

損傷脳組織の線維素溶解現象に関する実験的研究

——特に、グリア組織の線維素溶解物質の変動について——

東邦大学医学部第2外科学教室（指導：栗津三郎教授）

田 所 陽 興

（原稿受付：昭和52年3月7日）

Experimental Study on Fibrinolytic Phenomena of Injured Cerebral Tissues

——With Special Reference to the Changes in
Fibrinolytic Substances in Glia Tissues——

HARUOKI TADOKORO

Second Department of Surgery, School of Medicine, Toho University

(Director : Prof. Dr. SABURO AWAZU)

Experimental chronic head injuries were made in the cerebrum of mature dogs by incision, and the amount of reactively proliferated fibrinolytic substance in Glia tissues was determined. Further, the changes in the fibrolytic function following administration of various remedies against head injuries were investigated so that the intracellular distribution sites as well as status of distribution of the fibrinolytic substance could be studied by the intracellular fractionation.

1. Aggregation pattern of Glia cells was noted in coincidence with the injured area through photomicroscopic inspection of the cerebral tissues of the injured dogs.
2. The plasminogen activator and the proactivator occurring in the cerebral tissues of healthy dogs were found respectively to have been most concentrated into the lysosome fraction and the microsome fraction, while the trypsin inhibitor was found to be distributed within the granulocytes which indicated the maximum rate of control with the lysosome fraction.
3. Both plasminogen activator and proactivator were found to have been markedly increased, while trypsin inhibitor slightly increased both in the Glia tissues, but their locations and status of distribution within the granulocytes were found to be the different as in the healthy dogs.

Key words : Fibrinolytic phenomena of injured cerebral tissues, Fibrinolytic substances in Glia tissues
Present address : Second Department of Surgery, School of Medicine Toho University, Ota-ku, Tokyo, 143, Japan.

4. Both plasminogen activator and proactivator were found to have been increased, while trypsin inhibitor slightly increased both in the cerebral tissues of the controls, but their locations and status of distribution within the granulocytes were found to be the same as in the healthy dogs.
5. In the Glia tissues of dogs to which prednisolone and trans-AMCHA were administered, the control of plasminogen activator and drop in the proactivator were noted, whereas the effect for increasing trypsin inhibitor did not show any consistent trend. Also in the controls, the effect to control the plasminogen activator was noted, but the effect for reducing proactivator was poor and the effect to increase the trypsin inhibitor was not found out.

Both the effects for the maximum control of plasminogen activator and the maximum reduction of proactivator in the Glia tissues were noted at the locations of granulocytes in the Glia tissues of dogs to which the above-mentioned remedies were not administered.

6. In the Glia tissues of dogs to which cytochrome C and citicoline were administered, the effect for controlling plasminogen activator could be noted, but the effects to reduce proactivator or to increase trypsin inhibitor did not show any consistent trend. In contrast, the effects for reducing plasminogen activator and proactivator were found to have been poor, and these can not be therefore regarded as antifibrotic agents which would directly react upon fibrotic system.

I 研 究 史

近年、頭部外傷をはじめとする、種々頭部疾患の複雑な病態生理と線維素溶解現象（以下線溶現象）の関連性を解明しようとする研究が多く認められている。急死体では血液が凝固しないで流動性を保っていることを発見した¹⁾ のにはじまる線溶現象の歴史は、Macfarlane^{2),3),4)} の時代になり外傷、麻酔、手術、ショック等によって線維素溶解酵素（以下線溶素）が活性化されると報告して以来、広く臨床的に研究されるようになった。血液中の線維素溶解物質（以下線溶物質）の研究が進むにつれて組織内線溶物質の検索も行なわれ、Astrup & Permin⁵⁾ はフィブリン平板法を用いて動物組織中には血液中の Plasminogen（以下 Plg.）を活性化する組織 Activator（以下 Act.）が存在すると報告し、更に Astrup⁶⁾ は、Tillett, Garner⁷⁾ 等が発見した Streptokinase（以下 SK.）を用いて、Proactivator（以下 Proact.）の存在を認め、Todd^{8),9)} も動脈系に SK. で活性化される物質を認めて報告している。一方、線溶物質に対する諸種の抗線溶物質の

存在に関しては、Ascoli and Bezzola¹⁰⁾ が種々疾患の血中抗プロテアーゼ作用について、Gray¹¹⁾ 等は血中に抗プラスミン、抗トリプシン作用を示す物質を認めて報告している。組織線溶物質の細胞顆粒内局在部位の検索を目的とした細胞遠心分画による研究も行なわれ、Tagnon and Palade¹²⁾ はラット肺の Microsome 分画に Act. を、その上清に Inhibitor（以下 Inh.）を認め、Sasaki et al¹³⁾ は、人鼻粘膜 Mitochondria 分画中に Act. を認め、Ali and Lack¹⁴⁾ は、家兎腎の Lysosome 分画に多量の、Microsome 分画に少量の Act. の存在を認めている。Sugiyama & Okamoto¹⁵⁾ は、抽出液の濃度により Act. が検出される分画は異なるとし、ラット腎では、高モル濃度では主として Microsome 分画に、低モル濃度で Lysosome 分画に認めており、杉野¹⁶⁾ は犬の諸臓器を細胞分画して、Act. の活性値は Lysosome 分画、Microsome 分画に高く、Proact は Microsome 分画中に多量に存在し、Inh. 作用は、Lysosome および Mitochondria 分画で認められると報告している。脳組織線溶物質の研究は、Albrechtsen¹⁷⁾、Porter et al.¹⁸⁾ が脳硬膜、

軟膜に Act の存在を認め、竹内¹⁹⁾は、犬大脳組織中に Act および Inh を認め、種々の侵襲による活性値の上昇を報告し、美島²⁰⁾も侵襲により Act. が増加すると報告している。更に実験的に外傷脳を作成して脳組織の線溶現象を追求する試みがなされ、岡田²¹⁾は、外傷を加えて脳浮腫犬を作成、その組織を用いて線溶物質の測定を行ない、脳浮腫犬では Act. の亢進、および Trypsin inhibitor (以下 Try. Inh.) の増加を認め、細胞分画を行なうと、Act. の増加は Microsome 分画にはじまり、つぎに Mitochondria 分画のものが増加すると報告し、斎藤²²⁾は、硬膜外凍結法により脳浮腫犬を作成して線維素溶解能 (以下線溶能) を測定し、脳浮腫の状態では脳組織、脳脊髄液および血中の線溶能亢進を認めている。脳に損傷が加わると脳浮腫にはじまる病的現象を惹起し、ひいては神経細胞の変性、消失を認め²³⁾、損傷部位には反応性の Astrocyte の増殖による Gliosis を生ずる^{24), 25), 26)}経過をとることは損傷脳修復機序として現在広く認められており、上述の如く、脳浮腫の存在する急性期頭部外傷における病的状態と脳組織線溶現象との関連性は次第に解明されつつあるが、損傷脳修復過程に生ずる反応性に増殖したグリア組織の線溶現象に関する研究は全く認めていない。中野²⁷⁾、柴田²⁸⁾は、グリア組織は損傷を加えて1ヶ月後に完成されるとし、その組織を用いて生化学的検索を行ない、物質代謝の面で頭部外傷後遺症との関係を示摘していることから本実験では、成犬大脳皮質に切截手術を加え実験的慢性頭部外傷脳を作成して得たグリア組織を用い Littlefield 法²⁹⁾により細胞分画を行ない各分画について線溶物質の検索を行ない、さらに諸種の頭部外傷治療薬剤を投与して線溶能の変動および細胞顆粒内線溶物質の局在部位の変化について検討を加え、慢性頭部外傷脳即ち、グリア組織と線溶系との関連性を追求した。

Ⅱ 実験方法

1. 実験動物作成法

体重 10kg 前後の雑種成犬を雌雄の別なく使用、チオペンタール・ソーダ 25mg/kg を肢静脈より注入、静脈麻酔を行なった後、頭部を剃毛して消毒を行ない左側頭部に馬蹄状切開を加え、圧半球側頭骨に直径 2.0cm の骨窓を開け、硬膜切開後、眼科用尖刀を用いて脳軟膜及び血管を出来るだけ損傷しないようにして左半球側頭葉に切截手術を行ない硬膜を縫合、骨片を骨窓にもどして頭皮縫合を行なった。術後感染防止

目的で、テラマイシン 200mg/day を7日間、筋肉の内投与した。

2. 実験試料作成および組織学的検索法

損傷脳作成後1ヶ月間飼育し、チオペンタール・ソーダ静脈麻酔下に両側頸動静脈切断、急速に脱血を行なって両側大脳を速やかに摘出し、冷却した生理的食塩水 (以下生食水) で脳表に附着した血液を充分に洗滌除去し、低温室内で脳軟膜および血管を出来る限り取り除き、損傷側グリア組織の採取は手術創に一致して 1.0g の大脳灰白質を試料とし、対照側として右半球側頭部の手術創に相当する対称部位を使用した。組織学的には上記方法にて採取した損傷側、対照側について Penfield 染色を行なって光学顕微鏡的に検索した。

3. 細胞分画法

採取した検体をさらに冷却した生食水で洗滌して血液成分を出来るだけ除去し、濾紙で水分を吸いとり、検体 1.0g に 0.25M Sucrose 液 (pH 7.0) 10ml を加え Potter-homogenizer で氷冷しながら3分間 Homogenize し、4重にしたガーゼで濾過して得た組織 Homogenate 液 (以下 Tissue Homogenate) を Littlefield 法により、日立分離用高速遠心機 (40-P型、最高回転数 40000 r.p.m. 175000g) を用いて 800G、20分間遠心沈澱してその沈澱を Nuclei 分画とし、分離後の上清を 8000G、15分間遠心して沈澱を Mitochondria 分画とし、上清を 25000G、15分間遠心し、沈澱を Lysosome 分画³⁰⁾とし、さらに上清を 105000G、60分間遠心して、その沈澱を Microsome 分画とし、上清液を最終上清液 (以下 Supernatant) とした。

4. 試薬

Fibrinogen 液 (東邦大学生化学教室製) を pH 7.35 の Veronal Buffer で溶解して 0.2% 溶液とし、Thrombin (持田製薬) は、生食水を加えて 60U/ml とし、Trypsin (持田製薬) は生食水を加えて 64U/ml とした。SK. は、Varidase (Lederle Co.) の 10000 U/ml 生食水溶液を使用した。線溶物質抽出液として 0.25M Sucrose 液 (pH 7.0) を使用した³¹⁾。

5. Fibrin Plate 作成法

標準 Fibrin Plate は、Astrup & Müllert³²⁾ の方法に準じて、直径 9.0cm のペトリシャーレに上記方法で調製した、0.2% Fibrinogen 溶液 8.0ml ととり、Thrombin 液 3 滴 (0.06ml) を加えてよく混和し、室温で水平板上に30分間静置して作成した。加熱 Fibrin Plate は、Lassen³³⁾ の方法に準じ、標準 Fibrin

Plate を85°C, 30分間加熱し, その後室温に放置して作成した.

6. 測定方法

1) Plasminogen activator (以下 Plg. act.)

上記細胞分画によって得られた各分画に, 0.25M Sucrose 液 0.5ml を加え, 充分混和し, Nuclei 分画, Mitochondria 分画, Lysosome 分画, Microsome 分画, Supernatant の検体とし, 更に細胞分画以前の Tissue Homogenate についても標準および加熱Fibrin Plate を用いて測定した. 検体はいずれも標準 Fibrin Plate 上で線溶能を示し, この標準平板上の活性物質を Plg.act とした. この検体は加熱平板上では全く溶解窓を示さず犬大脳組織中には Plasmin の存在を認めなかった.

2) Proactivator

各分画溶液 0.1ml に 10000U/ml の SK 0.1ml を加えたものを検体とし, 分画溶液 0.1ml に生食水 0.1ml を加えたものを対照として標準平板上で測定した.

3) Trypsin inhibitor

各分画溶液 0.1ml に 64U/ml Trypsin 0.1ml を混じたものを検体とし, 64U/ml Trypsin 0.1ml に生食水 0.1ml を混じたものを対照として加熱平板上における線溶能の抑制率を算定し, これを Try. Inh とした.

測定は各検体 0.03ml を平板上に静置し, 37.0°C, 18時間, incubation した後, 溶解面積を長径と短径の積 mm² で表わし, 同時に 64U/ml Trypsin 0.03 ml を滴下してこの溶解面積を基準として Trypsin % (以下T%) で線溶能を表わした.

7. 薬剤投与法

薬剤投与は, 損傷脳作成当日より25日間継続して行なった. Prednisolone は手術当日, 10mg/kg, 以後漸減し, 6日目より維持量, 2mg/kg を筋肉内投与した. trans-4-Aminomethylcyclohexane carboxylic acid (以下trans-AMCHA) は, 連日 30mg/kg を筋注し, Cytochrome C は, 手術当日 15mg/kg を静注, 以後, 30mg/kg を経口投与した. Citicoline は, 20mg/kg を連日筋注した. 尚, 大脳摘出までの5日間は薬剤による線溶現象への直接的影響を考慮して投薬を中止した.

8. 実験項目

以下の5項目について線溶物質の測定および細胞顆粒内局在部位の検索を行なった.

- 1) 健康犬大脳組織
- 2) 損傷犬グリア組織
- 3) 損傷犬対照側大脳組織
- 4) 薬剤投与損傷犬グリア組織
- 5) 薬剤投与損傷犬対照側大脳組織

Ⅲ 実験成績

1. 組織学的検索

切截手術1ヶ月後に大脳摘出, Penfield のグリア染色を行なって光学顕微鏡的に検索すると, 図1, に示す如く損傷部に一致して反応性に増殖したグリア細胞の密集像が認められた.

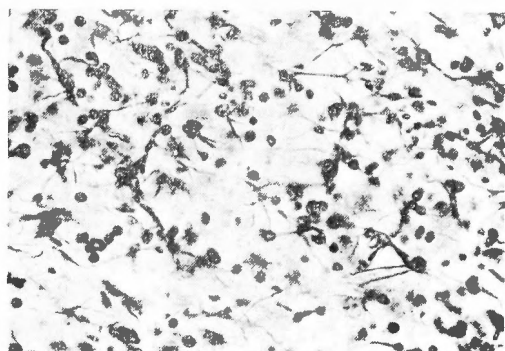


図 1

2. 健康犬大脳組織の線溶物質

Tissue Homogenate および各細胞分画の Plg. act, Proact, Try. Inh 値はそれぞれ標準平板と加熱平板で測定した値の平均値で表わした.

図2. に示す如く, 健康犬の Plg. act は, Tissue Homogenate で 22.7T %, 細胞分画では, Lysosome 分画で 36.0T % と最高値を示し, 以下 Mitochondria 30.4 T %, Microsome 22.0 T %, Nuclei 8.5 T %, Supernatant 4.2 T % と活性値は減少した. Proact は Tissue Homogenate に多量の存在が認められ, 細胞分画では Microsome に最も大量が認められ, Lysosome, Nuclei 分画にも少量が存在した. Try. Inh は, Tissue Homogenate 45.6 T %, 細胞分画によると, Lysosome 分画で 67.6 T % と抑制率は最も高く, 次いで Mitochondria 51.0 T %, Microsome 34.4 T %, Supernatant 21.7 T %, Nuclei 16.3 T % であった. 更にこれら線溶物質の細胞顆粒内局在部位および分布状態を見ると, 表1. に示す如く, 健康犬脳

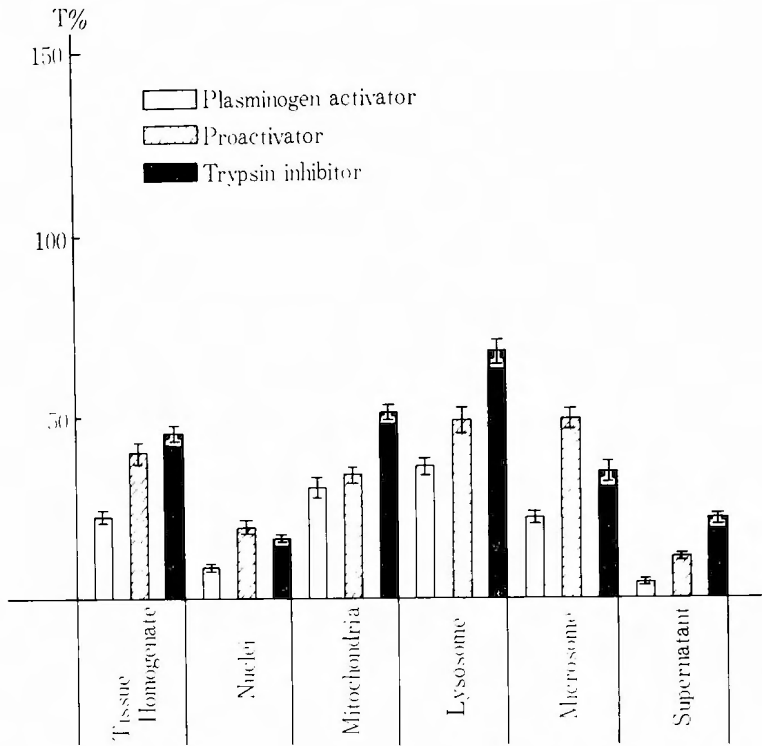


図2 健康犬大脳組織の線溶物質

表1 健康犬大脳組織線溶物質の測定値および細胞顆粒内分布状態（T%）

Plasminogen activator		Proactivator		Trypsin inhibitor	
細胞分画	活性値	細胞分画	活性値	細胞分画	抑制率
Lysosome	36.0 ± 2.12	Microsome	49.0 ± 2.83	Lysosome	67.6 ± 3.02
Mitochondria	30.4 ± 2.73	Lysosome	48.5 ± 3.47	Mitochondria	51.0 ± 2.00
Microsome	22.0 ± 1.41	Nuclei	19.6 ± 1.79	Microsome	34.4 ± 2.70
Nuclei	8.5 ± 0.68	Supernatant	11.0 ± 0.93	Supernatant	21.7 ± 1.66
Supernatant	4.2 ± 0.38	Mitochondria	34.2 ± 2.10	Nuclei	16.3 ± 0.91
Tissue Homogenate	22.7 ± 1.96	Tissue Homogenate	40.7 ± 3.12	Tissue Homogenate	45.6 ± 2.06

の Plg. act は Lysosome 分画が最大局在部位で、Mitochondria, Microsome, Nuclei, Supernatant と順次減少する分布状態を示し、Proact は、Microsome 分画が最大局在部位で、以下 Lysosome, Nuclei, Supernatant, Mitochondria 分画の順に減少して分布しており、Try. Inh は Lysosome 分画が最大抑制率を示し、Mitochondria, Microsome, Supernatant, Nuclei 分画の順に減少する分布状態を認めた。

3. 損傷犬グリア組織の線溶物質

損傷犬の切創創を中心に生ずるグリア組織の Plg. act は、図3の如く、Tissue Homogenate で43.1T %、細胞分画では Mitochondria 119.0T %、次いで Lysosome 97.6 T %、Supernatant 42.0 T %、Nuclei 16.5 T %で Microsome 分画 19.7 T %を除きいずれも健康犬に比較して著明な線溶亢進を認めた。Proact について見ると Tissue Homogenate に比較的多量 を認め、細胞分画では Lysosome, Microsome に多

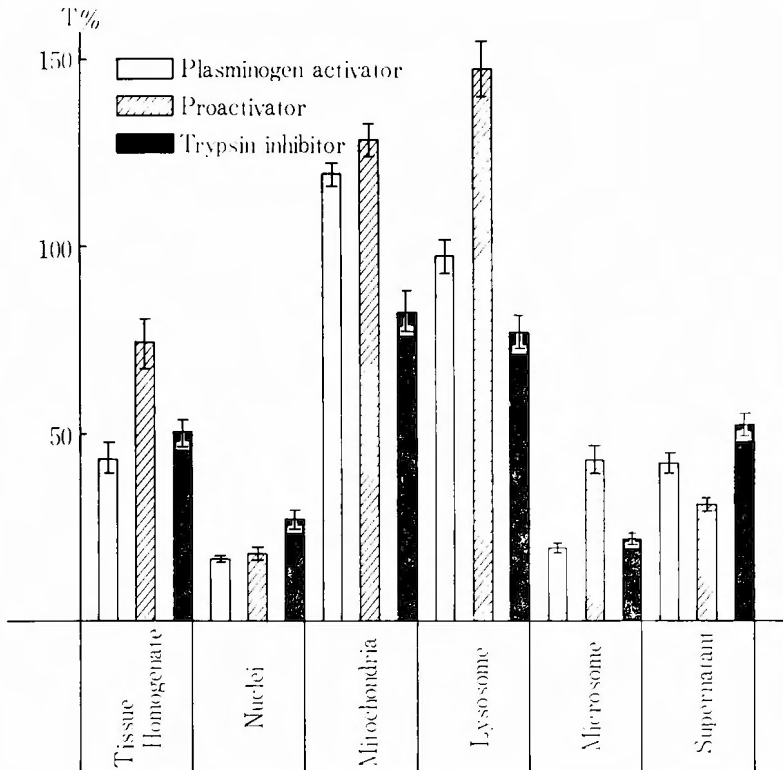


図3 損傷犬グリア組織の線溶物質

表2 損傷犬グリア組織線溶物質の測定値および細胞顆粒内分布状態 (T%)

Plasminogen activator		Proactivator		Trypsin inhibitor	
細胞分画	活性値	細胞分画	活性値	細胞分画	抑制率
Mitochondria	119.0 ± 3.00	Lysosome	147.0 ± 7.68	Mitochondria	82.6 ± 5.14
Lysosome	97.6 ± 4.66	Microsome	43.0 ± 3.82	Lysosome	77.1 ± 4.26
Supernatant	42.0 ± 2.83	Mitochondria	128.5 ± 4.46	Supernatant	52.5 ± 3.08
Microsome	19.7 ± 0.81	Nuclei	18.0 ± 1.96	Nuclei	27.4 ± 2.50
Nuclei	16.5 ± 0.25	Supernatant	31.1 ± 1.81	Microsome	21.8 ± 1.71
Tissue Homogenate	43.1 ± 3.93	Tissue Homogenate	74.1 ± 6.45	Tissue Homogenate	50.1 ± 3.32

量の存在を示すが, Nuclei, Supernatant には認められない. Try. Inh は, Tissue Homogenate で 50.1 T%, 細胞分画によると, Mitochondria 82.6 T%, Lysosome 77.1 T%, Supernatant 52.5 T%, Nuclei 27.4 T% で健康犬と比べていずれも高値を示したが Microsome 分画では 21.8 T% と低値を示した. グリア組織 Tissue Homogenate の Plg. act は健康犬より高値を示し, Proact も大量に増加したが, Try. Inh は軽度の増強を示すことが明らかとなった. さ

らに各細胞顆粒内線溶物質の変動を健康犬と比較すると, Plg. act はほとんどの分画で増加するが, Mitochondria 分画の増加が最大で, Microsome 分画では僅かに減少した. Proact は Lysosome 分画の増加が最大で, Nuclei 分画ではやや減少し, Try. Inh は Mitochondria 分画で最も増強し, Microsome 分画では最も減弱した. かかる細胞顆粒内線溶物質の増加, 減少にともない細胞顆粒内局在部位および分布状態にも変動を認め, 表2. に示す如く, Plg. act は最

大局在部位を Mitochondria 分画とする分布を、Proact は Lysosome 分画を最大局在部位とする、Try. Inh は Mitochondria 分画に最大抑制率を認める健康犬とは明らかに異なった細胞顆粒内線溶物質の分布状態を示した。

4. 損傷犬対照側脳組織の線溶物質

損傷を加えていない対照側脳では、図4に示した如く、Tissue Homogenate の Plg. act は 29.6 T % で健康犬より高く、Proact も増加するが、Try. Inh は

49.0T % で僅かに増強したにすぎない。細胞分画を行なうと Plg. act は、Nuclei 12.5 T %, Mitochondria 46.2 T %, Lysosome 72.0 T %, Microsome 32.0 T %, Supernatant 10.6 T % と全ての全画で健康犬より増加するが、最大増加分画は Lysosome であり、Proact は Tissue Homogenate に多量に存在し、細胞分画では、Microsome に大量の、Lysosome, Mitochondria, Nuclei で少量の存在を認め、全ての分画で健康犬より増加したが、Microsome 分画の増加が最

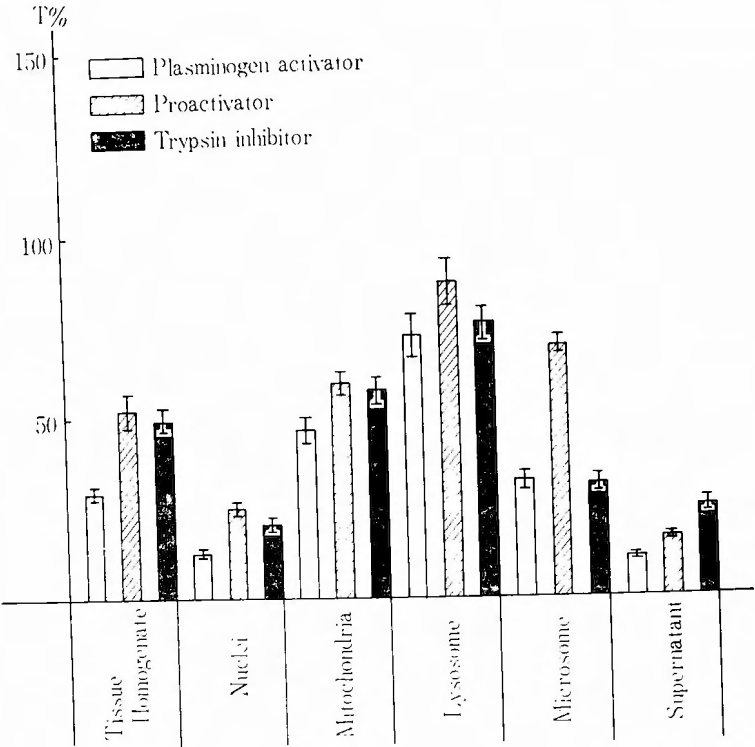


図4 損傷犬対照側大脳組織の線溶物質

表3 損傷犬対照側大脳組織線溶物質の測定値および細胞顆粒内分布状態 (T%)

Plasminogen activator		Proactivator		Trypsin inhibitor	
細胞分画	活性値	細胞分画	活性値	細胞分画	抑制率
Lysosome	72.0 ± 6.00	Microsome	86.4 ± 2.47	Lysosome	75.3 ± 4.38
Mitochondria	46.2 ± 3.45	Lysosome	68.8 ± 6.10	Mitochondria	57.3 ± 3.62
Microsome	32.0 ± 2.46	Mitochondria	59.0 ± 3.12	Microsome	38.7 ± 2.08
Nuclei	12.5 ± 1.02	Nuclei	24.6 ± 2.09	Supernatant	24.4 ± 1.93
Supernatant	10.6 ± 0.54	Supernatant	16.0 ± 0.74	Nuclei	20.4 ± 1.89
Tissue Homogenate	29.6 ± 1.49	Tissue Homogenate	52.3 ± 4.74	Tissue Homogenate	49.0 ± 2.70

大であった。Try. Inh は、Lysosome 分画で 75.3T% と最大抑制率を示し、以下 Mitochondria 57.3T%, Microsome 38.7 T %, Supernatant 24.4 T %, Nuclei 20.4 T % と健康犬より増強しており Lysosome 分画の増強が最大であった。対照側でも線溶物質の変動が認められたが、Plg. act の最大局部位は Lysosome 分画で、Proact は Microsome 分画、Try. Inh は Lysosome 分画とする健康犬と全く同じ細胞顆粒内分布状態を示した。(表 3)

5. 薬剤投与損傷犬グリア組織の線溶物質

頭部外傷には種々の薬物療法が試みられているが、本実験ではステロイド療法として Prednisolone, 線溶抑制効果を有する trans-AMCHA, 中間代謝促進剤として Cytochrome C, Citicoline を損傷犬に投与して線溶物質の変動を追求した。

1) Prednisolone

損傷犬に Prednisolone を投与してグリア組織の Plg. act を測定すると、図 5 に示す如く、Tissue Homogenate 31.0T%, 細胞分画では、Mitochondria 60.9T%, Lysosome 43.5T%, Supernatant 10.9T%。

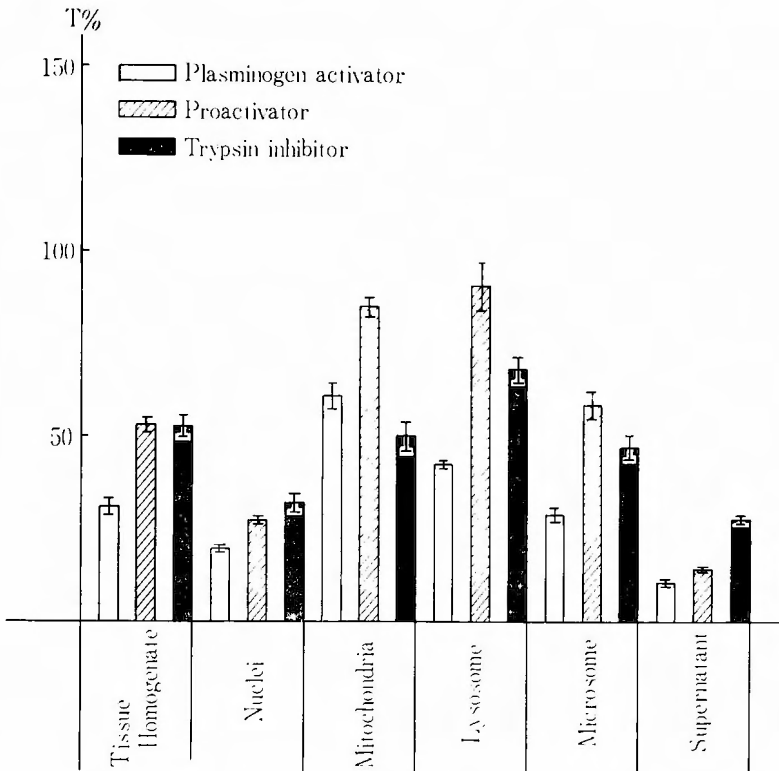


図 5 Prednisolone 投与グリア組織の線溶物質

表 4 Prednisolone 投与グリア組織線溶物質の測定値および細胞顆粒内分布状態 (T%)

Plasminogen activator		Proactivator		Trypsin inhibitor	
細胞分画	活性値	細胞分画	活性値	細胞分画	抑制率
Mitochondria	60.9 ± 3.37	Lysosome	90.6 ± 6.50	Lysosome	68.0 ± 3.46
Lysosome	43.5 ± 0.92	Microsome	58.5 ± 3.75	Mitochondria	50.1 ± 3.82
Microsome	29.0 ± 2.00	Mitochondria	85.0 ± 2.66	Microsome	47.1 ± 3.20
Nuclei	19.7 ± 1.06	Nuclei	27.4 ± 1.21	Nuclei	32.0 ± 2.40
Supernatant	10.9 ± 0.75	Supernatant	14.0 ± 0.90	Supernatant	27.6 ± 1.13
Tissue Homogenate	31.0 ± 2.17	Tissue Homogenate	53.0 ± 2.01	Tissue Homogenate	52.8 ± 2.86

で非投与例と比較すると活性値は減少し明らかな抑制効果が認められたが、Nuclei 19.7T%, Microsome 29.0T% と抑制が認められなかった。活性値が最も減少し、最大抑制効果を認めた分画は Mitochondria であった。Proact は、Tissue Homogenate, Mitochondria, Lysosome 分画で減少し、Nuclei, Microsome, Supernatant で僅かに増加したが、Lysosome 分画の減少が最大で、Microsome 分画で最も増加し

た。Try. Inh は、Tissue Homogenate 52.8T% で、非投与例と変わらず細胞分画によると、Mitochondria 50.1T%, Lysosome 68.0T%, Supernatant 27.6T% と抑制率は減少し、Nuclei 32.0T%, Microsome 47.1T% と増加するが、最も減弱したのは Mitochondria 分画で、最も増強したのは Microsome 分画であった。その結果、Plg. act の最大局在部位は非投与例と同じ Mitochondria 分画に認めたが、細胞顆粒内分布状態

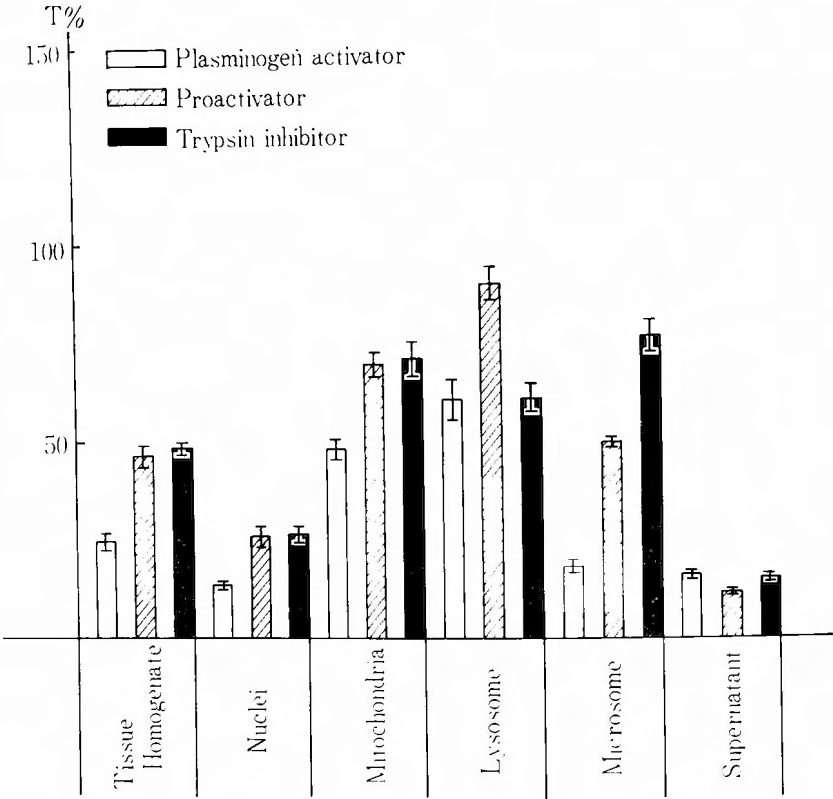


図6 trans-AMCHA 投与ゲリア組織の線溶物質

表5 trans-AMCHA 投与ゲリア組織線溶物質の測定値および細胞顆粒内分布状態 (T%)

Plasminogen activator		Proactivator		Trypsin inhibitor	
細胞分画	活性値	細胞分画	活性値	細胞分画	抑制率
Lysosome	60.4 ± 5.27	Microsome	49.6 ± 1.07	Microsome	76.5 ± 3.61
Mitochondria	48.0 ± 2.74	Mitochondria	69.7 ± 3.08	Mitochondria	71.0 ± 4.20
Microsome	18.1 ± 1.55	Lysosome	79.7 ± 4.11	Lysosome	60.6 ± 3.75
Supernatant	16.0 ± 1.02	Nuclei	26.0 ± 2.06	Nuclei	26.4 ± 2.06
Nuclei	14.8 ± 0.80	Supernatant	11.7 ± 0.41	Supernatant	16.1 ± 1.07
Tissue Homogenate	24.6 ± 1.02	Tissue Homogenate	46.5 ± 2.37	Tissue Homogenate	48.7 ± 1.14

は変化を示し, Proact は Lysosome 分画を最大局在部位とする非投与例と同じ分布を認めたが, Try. Inh は Lysosome 分画で最大局在部位, 分布状態ともに変化を示した。(表4)

2) trans-AMCHA

図6の如く, trans-AMCHA を投与してグリア組織の Plg. act を測定すると, Tissue Homogenate で24.6T%と強い Plg. act 抑制効果を示し, 細胞分

画では, Nuclei 14.8T%, Mitochondria 48.0T%, Lysosome 60.4T%, Microsome 18.1T%, Supernatant 16.0T% と全ての分画で著明な抑制傾向を認め, 最大抑制効果は Mitochondria 分画に認めた. Proact は, Tissue Homogenate で減少, 細胞分画を行なうと, Lysosome の減少が最大で, Nuclei, Microsome で増加するが, Mitochondria 分画の増加が最大で, Supernatant は変化を示さなかった. Try. Inhは,

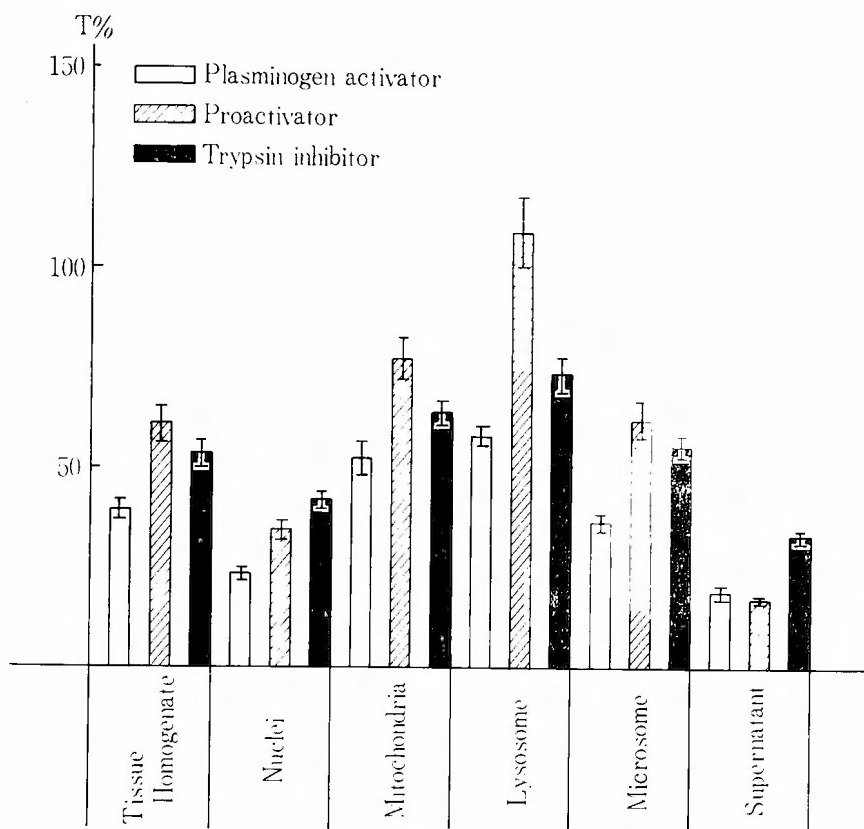


図7 Cytochrome C 投与グリア組織の線溶物質

表6 Cytochrome C 投与グリア組織線溶物質の測定値および細胞顆粒内分布状態 (T%)

Plasminogen activator		Proactivator		Trypsin inhibitor	
細胞分画	活性値	細胞分画	活性値	細胞分画	抑制率
Lysosome	58.0±2.22	Lysosome	109.0±8.81	Lysosome	73.7±3.90
Mitochondria	52.3±3.81	Microsome	62.0±4.27	Mitochondria	64.0±3.05
Microsome	36.3±1.61	Mitochondria	77.1±5.30	Microsome	55.7±2.19
Nuclei	23.6±1.08	Nuclei	34.5±2.01	Nuclei	42.1±1.88
Supernatant	19.0±1.52	Supernatant	17.0±0.75	Supernatant	33.0±1.40
Tissue Homogenate	39.4±3.00	Tissue Homogenate	60.9±4.34	Tissue Homogenate	53.4±3.10

Tissue Homogenate 48.7T%, Nuclei 26.4T% で非投与例にくらべて変化なく, Mitochondria 71.0T%, Lysosome 60.6T%, Supernatant 16.1T% と減弱し, Microsome 分画では 76.5T% と最も増強 Supernatant で最も減弱した. したがって, Plg. act は Lysosome 分画を最大局在部位とする, Proact は Microsome 分画, Try. Inh は, 最大抑制率を Microsome 分画に認める非投与例とは異なった最大局在部位および細胞顆粒内分布状態を示した. (表5)

3) Cytochrome C

図7に示す如く, Cytochrome C 投与グリア組織の Plg. act は, Tissue Homogenate 39.4T%, 細胞分画によると Mitochondria 52.3T%, Lysosome 58.0T%, Supernatant 19.0T% と非投与例より活性値は減少し, 僅かな Plg. act 抑制効果が認められ, 最大抑制効果は Mitochondria 分画に認めたが, Nuclei 23.6T%, Microsome 36.3T% と活性値は増加し抑制作用を認めない. Proact は Tissue Homogenate で減少, 細胞分画では Supernatant で変化なく, 他の全ての分画で増加したか, Mitochondria 分画の増加が最大で, Try. Inh は, Tissue Homo-

genate 53.4T%, Lysosome 73.7T% で非投与例と変わらず, Mitochondria 64.0T%, Supernatant 33.0T% と減弱したが, Nuclei 42.1T%, Microsome 55.7T% と増強を示し, Supernatant で最も減弱, Microsome 分画で最も増強した. その結果, 細胞顆粒内 Plg. act は最大局在部位を Lysosome 分画とする, Try. Inh も Lysosome 分画に最大抑制率を示す非投与例とは異なる分布状態を認めたが, Proact は Lysosome を最大局在分画とする非投与例と同じ分布状態を示した. (表6)

4) Citicoline

Citicoline を投与したグリア組織の Plg. actは, 図8に示した如く, Tissue Homogenate 35.1T%, 細胞分画によると Mitochondria 94.1T%, Lysosome 84.7T%, Supernatant 13.3T% で非投与例より活性値は減少し軽度の抑制効果を認め, 最大抑制効果は Supernatant に認めるが, Microsome 分画では 39.0T% と増加, Nuclei 分画では 17.5T% と変化を示さず抑制効果は認められない. Proact は, Tissue Homogenate, Lysosome および Microsome 分画で減少, Nuclei, Supernatant では増加するが, Lysosome

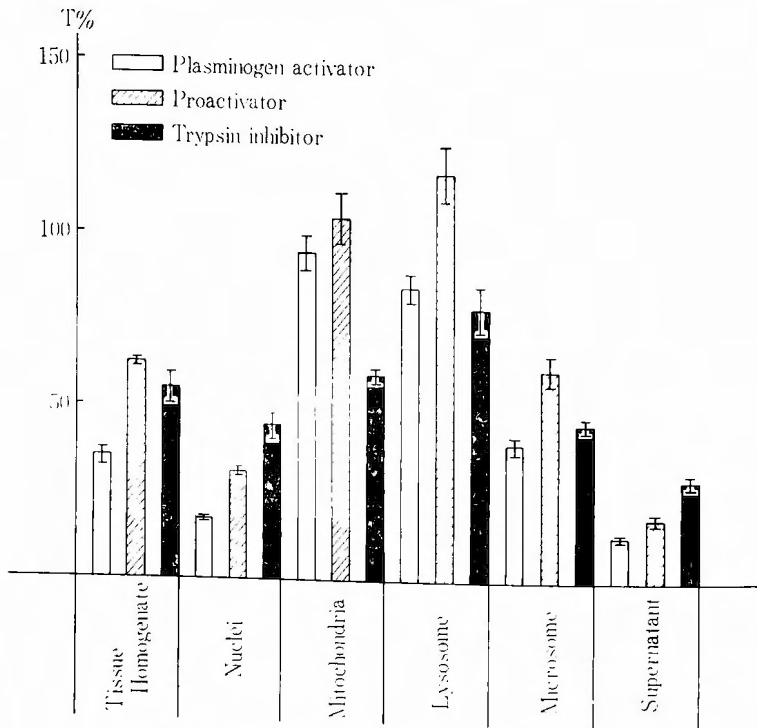


図8 Citicoline 投与グリア組織の線溶物質

分画で最も減少し、Nuclei 分画で最も増加、Mitochondria 分画では変化を認めない。Try. Inh は、Tissue Homogenate 55.4T%, Lysosome 分画 78.0 T% と非投与例と比較して変化を認めず、Mitochondria 59.1T%, Supernatant 29.0T% と減弱するが、Nuclei 44.7T%, Microsome 45.0T% と増加し、Supernatant で最も減弱、Microsome 分画で最も増強した。細胞顆粒内 Plg. act は最大局在部位を Mitochondria 分画とする、Proact は Lysosome 分画とする、Try. Inh は最大抑制率を Lysosome 分画に認

める非投与例とは異なる分布状態を示した。(表7)

6. 薬剤投与損傷犬対照側大脳組織の線溶物質

1) Prednisolone

Prednisolone 投与対照側脳の Plg. act は、Tissue Homogenate 25.1T%, Mitochondria 38.3T%, Lysosome 52.8T%, Microsome 26.2T%, Supernatant 8.3T% と活性値は非投与例より減少し、Prednisolone は対照側においても抑制作用を示した。最大抑制効果は Lysosome 分画で認めた。Proact は、非投与例と比較すると Microsome 分画で最も減少し、

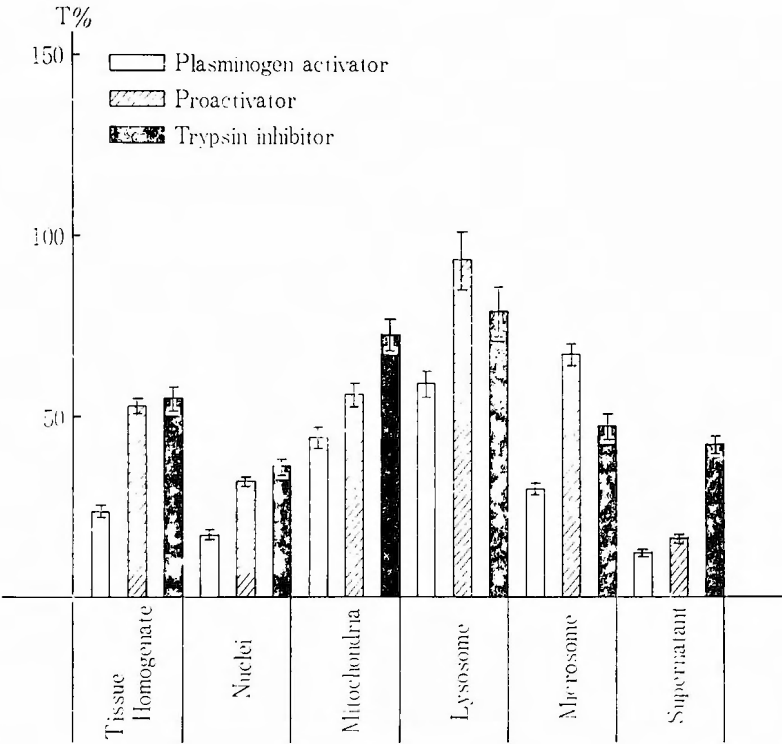


図9 Prednisolone 投与損傷犬対照側大脳組織の線溶物質

表7 Citicoline 投与グリア組織線溶物質の測定値および細胞顆粒内分布状態 (T%)

Plasminogen activator		Proactivator		Trypsin inhibitor	
細胞分画	活性値	細胞分画	活性値	細胞分画	抑制率
Mitochondria	94.1±5.01	Lysosome	116.6±8.00	Lysosome	78.0±6.50
Lysosome	84.7±4.29	Microsome	60.8±4.06	Mitochondria	59.1±2.10
Microsome	39.0±2.57	Nuclei	31.0±1.21	Microsome	45.0±2.00
Nuclei	17.5±0.19	Mitochondria	104.0±7.06	Nuclei	44.7±3.91
Supernatant	13.3±0.83	Supernatant	18.4±1.41	Supernatant	29.0±1.95
Tissue Homogenate	35.1±2.34	Tissue Homogenate	62.6±1.19	Tissue Homogenate	55.4±4.37

Lysosome 分画で最も増加するが, Tissue Homogenate および他の分画では有意の差を認めていない. Try. Inh は, Tissue Homogenate 52.0T%, Nuclei 23.9T%, Microsome 40.3T% で著明な変化を認めないが, Mitochondria 68.0T% と増強し, Supernatant では 36.6T% と最も増強した. Lysosome 分画では 66.3T% と非投与例と比較して最も減弱している. (図9) その結果, 細胞顆粒内 Plg. act は最大局在部位を Lysosome 分画とする, Proact は Microsome 分画とした非投与例と同一の分布状態を示したか,

Try. Inh は最大抑制率を Mitochondria 分画に認める非投与例とは異なる分布状態を示した. (表8)

2) trans-AMCHA

図10. に示す如く, trans-AMCHA を投与した対照側脳の Plg. act は, Tissue Homogenate 21.7T%, 細胞分画では Nuclei 13.1T%, Mitochondria 34.6T%, Lysosome 46.7T%, Microsome 20.0T%, Supernatant 6.7T% で非投与例に比較して明らかな抑制を認め, 最大抑制効果は Lysosome 分画に認めた. Proact は, Tissue Homogenate, Nuclei, Microsome

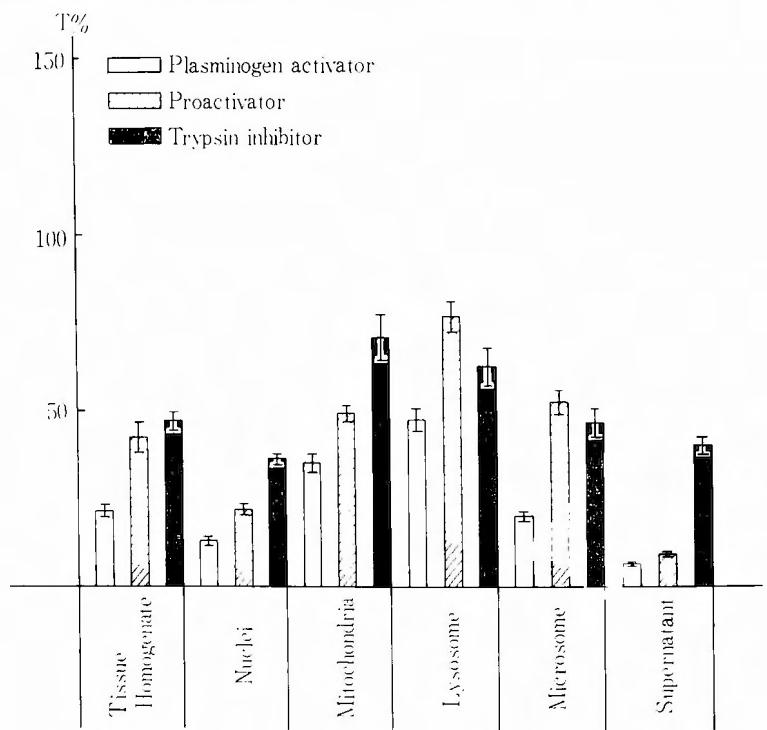


図10 trans-AMCHA 投与損傷犬対照側大脳組織の線溶物質

表8 Prednisolone 投与損傷犬対照側大脳組織線溶物質の測定値および細胞顆粒内分布状態 (T%)

Plasminogen activator		Proactivator		Trypsin inhibitor	
細胞分画	活性値	細胞分画	活性値	細胞分画	抑制率
Lysosome	52.8 ± 2.05	Microsome	55.9 ± 2.40	Mitochondria	68.0 ± 4.95
Mitochondria	38.3 ± 0.76	Lysosome	81.7 ± 4.07	Lysosome	66.3 ± 5.24
Microsome	26.2 ± 1.77	Mitochondria	54.9 ± 3.19	Microsome	40.3 ± 3.56
Nuclei	15.0 ± 0.80	Nuclei	25.5 ± 1.01	Supernatant	36.6 ± 3.01
Supernatant	8.3 ± 0.20	Supernatant	11.0 ± 0.44	Nuclei	23.9 ± 1.36
Tissue Homogenate	25.1 ± 1.14	Tissue Homogenate	49.0 ± 1.20	Tissue Homogenate	52.0 ± 4.60

me 分面で減少し, Mitochondria, Supernatant では変化を認めず, Lysosome 分面で最も増加し, Microsome 分面で最も減少した. Try. Inh は, Tissue Homogenate 47.1T%, Nuclei 分面 26.3T% と非投与例とほぼ同じで, Lysosome 分面では 62.1T% と最も減弱し, Mitochondria 分面 70.4T%, Microsome 分面 46.0T%, Supernatant 39.6T% と増強したが, 最も増強したのは Supernatant であった. 細胞顆粒内 Plg. act は Lysosome 分面を最大局在部位とする, Proact は Microsome 分面とする非投与

例と同一の分布状態を示し, Try. Inh は, 最大抑制率を Mitochondria 分面に認める分布状態に変化した. (表 9)

3) Cytochrome C

Cytochrome C 投与対照側脳の Plg. act は, Tissue Homogenate 24.1T%, Lysosome 分面 59.0T% と非投与例より減少するが, Nuclei 分面 17.1T%, Mitochondria 分面 44.0T%, Microsome 分面 30.1T%, Supernatant 12.2T% で変化を認めない. 最大抑制効果は Lysosome 分面に認められた. Proact は,

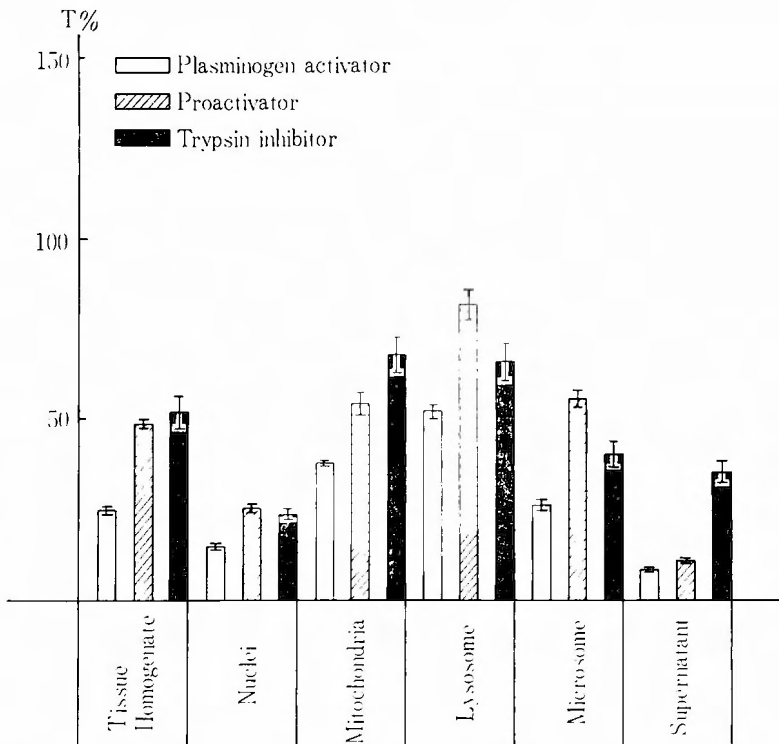


図11 Cytochrome C 投与損傷犬対照側大脳組織の線溶物質

表 9 trans-AMCHA 投与損傷犬対照側大脳組織線溶物質の測定値および細胞顆粒内分布状態 (T%)

Plasminogen activator		Proactivator		Trypsin inhibitor	
細胞分面	活性値	細胞分面	活性値	細胞分面	抑制率
Lysosome	46.7±3.01	Microsome	52.0±3.14	Mitochondria	70.4±6.60
Mitochondria	34.6±2.54	Lysosome	76.1±4.25	Lysosome	62.1±5.21
Microsome	20.0±1.31	Mitochondria	49.0±2.64	Microsome	46.0±4.00
Nuclei	13.1±1.22	Nuclei	22.0±1.71	Supernatant	39.6±2.52
Supernatant	6.7±0.40	Supernatant	8.8±0.25	Nuclei	26.3±1.53
Tissue Homogenate	21.7±1.91	Tissue Homogenate	42.2±3.92	Tissue Homogenate	47.1±2.83

Tissue Homogenate, Lysosome 分画で増加したが、その他の分画では有意の変化が認められず、Lysosome 分画の Proact が最も増加した。Try. Inh は、Tissue Homogenate 54.5T%、細胞分画を行うと、Nuclei 36.1T%、Mitochondria 72.4T%、Microsome 47.4T%、Supernatant 42.0T% で非投与例より増強したが、Lysosome 分画では 77.0T% と変化を示しておらず、Supernatant の Try. Inh が最も増強した。（図11）その結果、細胞顆粒内 Plg. act は、Lysosome 分画を最大局在部位とする、Try. Inh も

最大抑制率を Lysosome 分画に認める非投与例と同一の分布状態を示すが、Proact は、Microsome 分画を最大局在部位とし、非投与例とは異なる分布状態を示した。（表10）

4) Citicoline

図12. に示した如く、Citicoline 投与対照側脳の Plg. act は、Tissue Homogenate 30.1T%、細胞分画では、Nuclei 19.4T%、Mitochondria 40.6T%、Microsome 32.1T%、Supernatant 13.0T% で非投与例と比較して有意の変化を認めないが、Lysosome

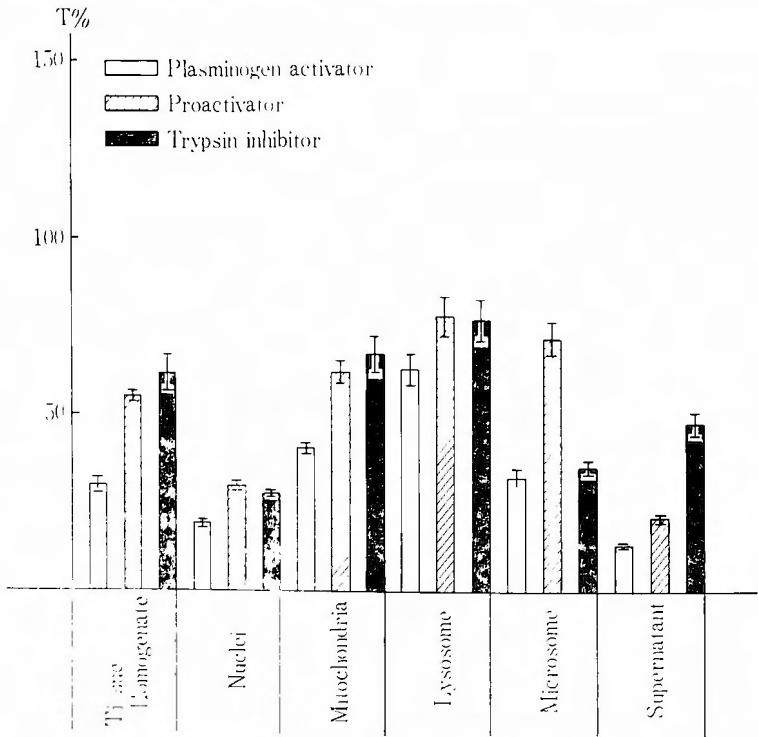


図12 Citicoline 投与損傷犬対照側大脳組織の線溶物質

表10 Cytochrome C 投与損傷犬対照側大脳組織線溶物質の測定値および細胞顆粒内分布状態 (T%)

Plasminogen activator		Proactivator		Trypsin inhibitor	
細胞分画	活性値	細胞分画	活性値	細胞分画	抑制率
Lysosome	59.0 ± 3.65	Microsome	67.4 ± 3.00	Lysosome	77.0 ± 6.70
Mitochondria	44.0 ± 2.97	Lysosome	93.3 ± 7.94	Mitochondria	72.4 ± 4.19
Microsome	30.1 ± 1.63	Nuclei	32.0 ± 1.11	Microsome	47.4 ± 3.41
Nuclei	17.1 ± 1.08	Mitochondria	56.1 ± 3.24	Supernatant	42.0 ± 2.57
Supernatant	12.2 ± 0.81	Supernatant	15.8 ± 1.10	Nuclei	36.1 ± 2.02
Tissue Homogenate	24.1 ± 1.91	Tissue Homogenate	52.7 ± 2.01	Tissue Homogenate	54.5 ± 3.29

分画では 62.4T% と僅かに減少し、最大抑制効果は Lysosome 分画に認められ、Nuclei 分画は抑制されていない。Proact は、Mitochondria 分画で増加したが、Tissue Homogenate および他の分画では非投与例と比較して変化を認めない。Proact が最も増加したのは Mitochondria 分画で、Nuclei 分画で最も減少している。Try. Inh は、Tissue Homogenate 61.9T%、細胞分画では、Nuclei 27.7T%、Mitochondria 67.1T%、Supernatant 47.0T% と増強したが、

Lysosome 分画 76.6T%、Microsome 分画 35.0T% で非投与例と比較して有意の変化を認めていない。Try. Inh が最も増強したのは Supernatant であった。細胞顆粒内 Plg. act は最大局在部位を Lysosome 分画とする非投与例と同じ分布を示し、Proact は最大局在部位を Microsome 分画、Try. Inh は最大抑制率を Lysosome 分画に認めるが、非投与例とは異なる細胞顆粒内分布状態を示した。(表11)

表11 Citicoline 投与損傷犬対照側大脳組織線溶物質の測定値および細胞顆粒内分布状態 (T%)

Plasminogen activator		Proactivator		Trypsin inhibitor	
細胞分画	活性値	細胞分画	活性値	細胞分画	抑制率
Lysosome	62.4±4.31	Microsome	71.0±4.71	Lysosome	76.6±5.88
Mitochondria	40.6±1.02	Mitochondria	62.0±3.14	Mitochondria	67.1±4.90
Microsome	32.1±2.30	Lysosome	77.5±5.01	Supernatant	47.0±3.23
Nuclei	19.4±1.11	Nuclei	29.8±1.31	Microsome	35.0±1.90
Supernatant	13.0±0.65	Supernatant	20.6±0.98	Nuclei	27.7±1.04
Tissue Homogenate	30.1±2.08	Tissue Homogenate	55.1±1.69	Tissue Homogenate	61.9±5.13

IV 総括ならびに考按

生体に種々の侵襲が加わると線溶現象に変化を生じ、外科的侵襲に際しては、破壊された組織中の Plg. act が血中に流入して Plasminogen を活性化し、Plasmin に変化させて Fibrinolysis を示す場合と、破壊された臓器の Lysokinase が血中に入り、血中の Proact が Plg. act に変化しそれによって Plasminogen が Plasmin に変化して起す場合の2つの過程が考えられている³⁴⁾。脳組織中にも他の臓器同様線溶物質が存在し、頭部外傷や脳に対する手術などの侵襲により全身的、局所的線溶に変化を生ずることが知られており、著者は、健康成犬大脳組織の線溶能を測定し、細胞顆粒内線溶物質の局在部位、分布状態を検索し、さらに損傷犬、薬剤投与と損傷犬についてそれらの変動を追求した。

1. 健康犬大脳組織の線溶物質について

健康犬大脳組織に Plg. act が存在し、種々の侵襲により活性値は増加すると報告^{19),20),21),22)}され、著者も 0.25M Sucrose を用いて、Plg. act の存在を認めた。組織 Proact の存在は Astrup⁶⁾ により報告されて以来、本邦では、Miura³⁵⁾ が人の鼻粘膜中に認めているが、一方では Proact の存在を疑問視する報告も多

く、Proact と Plasminogen は同一物質であり^{36),37)} SK. 活性化機構において Proact の存在は必要でないとされ³⁸⁾、浅田³⁹⁾も SK による Plasminogen の活性化は他の Activator による活性化とは異なっているが、Proact の存在はまだ解決されていないと報告している。しかしながら、安部⁴⁰⁾は前立腺組織中に Proact を認め、Plasminogen と Proact は物質論的にも区別があると報告し、杉野¹⁶⁾も犬の諸臓器で SK により活性化される物質として Proact の存在を認めており、著者も脳組織 Proact の抽出を試みた結果、脳組織に SK を加えることにより線溶能は著明に亢進し Proact の存在を認めた。脳組織の線溶抑制物質については、竹内¹⁹⁾、岡田²¹⁾、が成犬大脳に Try. Inh を認めて報告しているが、健康人血中の Anti-Plasmin は Plasminogen の2ないし3倍量が存在して線溶の動的平衡を保つと報告⁴³⁾されており、Anti-Plasmin の線溶現象における重要性を示唆するものと考えられるが、Plasmin inhibitor は単一物質ではなく多数存在し、さらに測定方法にも種々問題が提起されており⁴⁴⁾、これらの研究を困難なものとしているが、著者は成犬大脳に Try. Inh の存在を認めた。脳組織の細胞分画による細胞顆粒内線溶物質の変動、局在部位および分布状態の検索は、その生成、移行、貯蔵なら

びに細胞外遊出機序の解明に必要と考える。岡田²¹⁾は、健康犬脳の Plg. act は Microsome 分画に最大局在部位を認め、Mitochondria 分画、Nuclei 分画と順次減少する分布状態を示し、著者の成績とは異なるが、細胞分画法の違いを考慮しなければならない。

2. 損傷犬大脳組織と線溶物質について

脳に傷害が加わると損傷部の脳に局所的に出血や塞栓、神経細胞の破壊を生じ脳浮腫が発生するが、この外傷性局所性脳浮腫のほかに脳全体に浮腫が発生することが知られておりその原因は脳循環不全による脳の酸素欠乏と考えられている。かかる急性期頭部外傷の病的状態における脳組織の Plg. act は健康例より増加しており²¹⁾²²⁾、Try. Inh の増強も認められている⁴¹⁾。脳組織に破壊の現象または脳圧亢進を惹起する Process のある時はまず脳組織の Tissue activator の増加に引きつづいて髄液中に Plasmin, Proact, Activator が増加し、更に血中の線溶亢進も生ずると報告されており²⁶⁾、損傷脳組織内では、Proact より Activator への変化が進行して組織内の Activator が増加し、細胞分画を行なうと Supernatant の Activator の増加が認められることより増加した Activator は Supernatant より脳脊髄液及び血中に放出される過程が急性期頭部外傷における線溶現象発現機序の1つとして考えられている⁴⁵⁾。一方、急性期を経過した損傷脳組織は、神経細胞の変性、消失を経て損傷組織部に生ずる肉芽組織により創傷修復が完成され、組織学的にはグリア細胞の反応性増殖が認められるといわれ²⁷⁾、著者は中野²⁷⁾の方法に準じて成犬大脳に損傷を加え、1ヶ月後の光学顕微鏡的検索でグリア組織による創傷修復が完成されているのを認め、この組織を用いて慢性期頭部外傷における線溶系の変動を追求した。グリア組織では、Plg. act および Proact が健康犬より著明に増加しており、Try. Inh の増強も認め、その結果これらの線溶物質の最大局在部位の変動を惹起せしめて細胞顆粒内分布状態でも明らかな変化が認められた。損傷犬対照側脳組織でも、Plg. act, Proact は健康犬より増加し、Try. Inh も僅かに増強しているが、細胞顆粒内最大局在部位および分布状態は健康犬と同一の傾向を示した。岡本⁴⁶⁾は、組織 Plg. act の存在部位および放出機序に関して、Plg. act は Microsome 分画で合成され結合型の Activator として存在し、つぎに Lysosome 分画に移行して遊離型の Activator に変化して貯えられると述べ、杉野¹⁶⁾は、Lysosome 分画に多くの Plg. act が認めら

れ、Microsome 分画に多量の Proact が存在することより、Microsome 分画で生成された Proact は何らかの過程を経て Plg. act として Lysosome 分画に移行、貯蔵され必要に応じて細胞外に放出されると報告し、さらに栗津⁴⁵⁾は、急性期損傷脳組織内で増加した Activator は比重の大きな分画から小さな分画に移動して上清分画を経て血液中または脳脊髄液中に放出されると述べており、グリア組織で認められた最大局在部位の変動と細胞顆粒内分布状態の変化は、線溶物質の貯蔵および放出を目的として細胞顆粒間で行なわれている複雑な移行機構の存在を思わせると同時にグリア組織における線溶系発現機序の一因であることを示唆するものと考えられる。

3. 薬剤投与損傷脳の線溶物質について

副腎皮質ホルモンは脳浮腫の治療として有効であることは古くから知られているが、損傷修復過程に対する効果についても Clemmence⁴⁷⁾ は、ラットの損傷脳で Cortison に結合組織の抑制作用を認め、井草⁴⁸⁾ は、反応性 Astrocyte の増殖を抑制すると報告している。さらに副腎皮質ホルモンと線溶の関連について Unger⁴⁹⁾ は、動物に副腎皮質ホルモンを注射すると Antiplasmin が増強するのを認め、安部⁴⁰⁾ は、ACTH および Prednisolone には中枢性の作用機序による線溶抑制効果を認め、さらに Prednisolone 投与により線溶亢進は妨げられるが、Inhibitor の増強はあまりおこらないと報告している。著者も Prednisolone 投与グリア組織で Plg. act 抑制効果、Proact 減少効果を認めたが、Try. Inh. の増強作用は認められず、対照側でも Plg. act 抑制、Proact 減少効果が認められた。グリア組織での Prednisolone の線溶抑制機序として、それ自体が有する線溶抑制効果に加え損傷治療の促進、グリア細胞の代謝異常改善効果⁵⁰⁾ を考慮しなければならない。頭部外傷の治療目的で trans-AMCHA の投与が試みられたのは線溶抑制および抗炎症作用など副腎皮質ホルモン類似の作用を有するためであるが、血液脳関門の防衛能は認められていない⁵⁰⁾。岡本⁴⁶⁾は、組織 Activator に対する抑制効果を認め、高田⁵¹⁾も動物に投与された trans-AMCHA は容易に組織内に移行して Proact または Plasminogen の産生、放出を抑制し、血中の inhibitor も増加させると報告している。さらに Plasmin は ACTH を不活性化するが⁵²⁾、損傷脳に trans-AMCHA を投与すると Plasmin の作用を抑制して ACTH の分解を防ぎ、ACTH 自体が有する線溶抑制効果⁴⁰⁾も

期待し得ると考える。trans-AMCHA 投与グリア組織および対照側では Plg. act 抑制, Proact 減少効果を認めたが, Try. Inh 増強効果に関しては一定の傾向を示していない。Cytochrome C は、組織賦活酵素として知られており酸素欠乏に基づく諸種疾患において細胞内の酸化機構を改善する効果が認められており、グリア組織および対照側の Plg. act 抑制効果が軽度認められるが、Proact 減少, Try. Inh 増強効果はともに一定の傾向を示さず、Cytochrome C は線溶系に直接作用する抗線溶薬剤とは考えられない。Ungar⁵⁴⁾ は、細胞の Hypoxia あるいは Anoxia は線溶を亢進せしめると報告しており、Cytochrome C の Plg. act 抑制効果は細胞内の酸化機構改善の結果と考えられる。損傷脳に対する Citicoline の投与は、磷脂質であるレシチンの減少と生合成障害による脳組織の破壊や機能喪失からの回復に有効とされ、さらに Mitochondria の呼吸機能を改善する効果なども認められている。Citicoline 投与グリア組織では Plg. act の僅かな抑制効果を認めるが、Proact 減少, Try. Inh 増強効果は投与薬剤中最も弱く、対照側では Try. Inh の増強効果を認めたが、Plg. act 抑制, Proact 減少効果はともに一定の傾向を示さず、線溶抑制の機序は Cytochrome C と同様脳代謝改善による間接的效果であると考えられる。

4. グリア組織と線溶

頭部外傷急性期を経過し、反応性に増殖したグリア細胞により損傷部の修復が完成した。慢性期頭部外傷グリア組織は高い線溶活性を示すことが著者の実験により明らかとなった。かかるグリア組織の線溶現象について明らかな根拠を提示し得ないが、一般に、グリア細胞は脳組織における栄養物の貯蔵場所であり、血液から脳組織への物質輸送の主役を演ずると考えられ、正常脳ではグリア細胞の酵素活性は低く、神経細胞の活性が高いが、外傷を加えると反対にグリア細胞の酵素活性が増大することが知られている⁵³⁾。中野²⁷⁾ は、反応性に増殖したグリア組織に高い代謝活性を認め、Rubinstein⁵⁵⁾、Friede⁵⁶⁾ は損傷後数百日以上経過しても Astrogria の酵素活性は亢進したままであると報告しており、さらに Osterberg⁵⁷⁾ は、このような反応性グリア細胞における酵素活性の亢進をウサギで損傷後 426 日、ヒトで手術後 4 年経過したものでも認めていることより、一旦障害の起った中枢神経系ではグリア細胞の代謝の面からみても機能異常がながく残ると考えられ、グリア組織の代謝的特異性と頭部

外傷後遺症の関連も示唆されている²⁸⁾。さらに頭部外傷後遺症と線溶について斎藤は²²⁾、後遺症患者の脳脊髄液中に Activator および Proactivator が増加するのを認めており、グリア組織が示した線溶現象はその代謝的特異性に起因する機序をも合せて考慮しなければならない。

V 結 語

成犬大脳に切截手術を加え、実験的慢性頭部外傷を作成し、反応性に増殖したグリア組織の線溶物質を測定、さらに諸種の頭部外傷治療薬剤を投与して、健康犬脳および対照側脳と比較しながら線溶能の変化を追求し、細胞分画を行なって線溶物質の細胞内局在部位および分布状態の変動を検索して次の結果を得た。

1. 損傷犬大脳組織の 1 ヶ月後の光学顕微鏡的検索で創傷部に一致してグリア細胞の密集像が認められた。

2. 健康成犬大脳組織の Plg. act は、Lysosome 分画、Proact は Microsome 分画を最大局部位とし、Try. Inh は Lysosome 分画で最大抑制率を示す細胞顆粒内分布状態を認めた。

3. グリア組織では Plg. act および Proact が著明に増加し、Try. Inh も軽度増強した結果、健康犬とは異なる細胞顆粒内局在部位と分布状態を示した。

4. 対照側脳組織では、Plg. act, Proact の増加と Try. Inh. の僅かな増強が認められたが、細胞顆粒内局在部位および分布状態は健康犬と同一であった。

5. Prednisolone, trans-AMCHA 投与グリア組織では Plg. act の抑制, Proact の減少効果を認めるが、Try. Inh 増強作用は一定の傾向を示さなかった。対照側でも Plg. act の抑制効果を認めたが、Proact 減少効果は弱く、Try. Inh 増強作用は認められない。グリア組織の Plg. act 最大抑制および Proact 最大減少効果はそれぞれ非投与グリア組織の細胞顆粒内最大局部位において認められた。

6. Cytochrome C, Citicoline 投与グリア組織では、Plg. act 抑制効果を認めるが、Proact 減少, Try. Inh 増強効果については一定の傾向を認めず、対照側の Plg. act 抑制, Proact 減少効果は弱く線溶系に直接作用する抗線溶薬剤とは考えられない。

稿を終るにあたり、御指導・御校閲を賜った栗津三郎教授、竹内節夫助教授に深甚なる謝意を表するとともに、種々御協力下さった教室員各位に厚く感謝いたします。

なお、本稿の要旨は第27回日本脳神経外科学会総会、第31

回日本血液学会において発表した。

参 考 文 献

- 1) Morgagni, G. B. : De Sedibus et Causis Morborum per Anatomen Indegates. 2nd Ed., 1761, London Vol. III Book IV. "The Seats and Causes of Disease, cited from Biggs, R., Macfarlane, R. G. : Human Blood Coagulation and its Disorder. 3rd Ed., Charles, C. Thomas, Springfield, III, U. S. A., 1962.
- 2) Macfarlane, R. G. : Fibrinolysis following operations. *Lancet*, **1** : 10, 1937.
- 3) Macfarlane, R. G., Biggs, R. : Observation on fibrinolysis spontaneous activity associated with surgical operations, trauma, etc., *Lancet*, **II** : 862, 1946.
- 4) Macfarlane, R. G., Pilling, J. : Fibrinolytic activity of normal urine. *Nature*, **159** : 779, 1947.
- 5) Astrup, T., Permin, P. M. : Fibrinokinase and fibrinolytic enzymes. *Nature*, **161** : 689, 1948.
- 6) Astrup, T., et al. : Proteolytic enzyme in blood. *Acta Physiol. Scand.*, **21** : 238, 1950.
- 7) Tillett, W. S., Garner, R. L. : The fibrinolytic activity of hemolytic streptococci. *J. Exper. Med.*, **58** : 485, 1933.
- 8) Todd, A. S. : Fibrinolysis autographs. *Nature*, **181** : 495, 1958.
- 9) Todd, A. S. : Some topographical observations on fibrinolysis. *J. Clin. Path.*, **17** : 324, 1964.
- 10) Ascoli, M. und Bezzola, C. : Das Verhalten des antitryptischen Vermogens des Blutserums bei der croupen Pneumonie. *Berl. Klin. Wschr.*, **40** : 391, 1903.
- 11) Gray, J. L., et al. : Isolation and characterization of a proteolytic inhibitor from bovine blood. *J. Biol. Chem.*, **235** : 56, 1960.
- 12) Tagnon, H. J., Palade, G. E. : Activation of proplasmin by a factor from mammalian tissue. *J. Clin. Invest.*, **28** : 317, 1949.
- 13) Sasaki, Y., et al. : Some observations on a remarkable fibrinolytic activity in the extract of nasal tissue and the related tissues. *Keio J. Med.*, **8** : 235, 1959.
- 14) Ali, S. Y., Lack, C. H. : Studies on the tissue activator of plasminogen distribution of activator and proteolytic activity in the subcellular fractions of rabbit kidney. *Biochem. J.*, **96** : 63, 1965.
- 15) Sugiyama, Y., Okamoto, S. : Plasminogen activator in the cytoplasmic granules of rat kidney Studies on extraction by isotonic and hypertonic salt solutions, *Kobe J. Med. Sci.*, **10** : 257, 1964.
- 16) 杉野津朗 : 線維素溶解現象の生理的動脈に関する研究. *名古屋市大医誌*, **17** : 333, 1966.
- 17) Albrechtsen, O. K. : Fibrinolytic activity in the organism. *Acta Physiol. Scand.*, **47** : 1, 1959.
- 18) Porter, J. M., et al. : Fibrinolytic activity of the spinal fluid and meninges. *Surg. Forum*, **17** : 425, 1966.
- 19) 竹内節夫 : ショックの際の血液及び臓器組織の Plasmin 系及び Activator系, それら Inhibitor に関する実験的研究. *日外宝*, **32** : 825, 1963.
- 20) 美島利通 : 外科的侵襲による臓器組織の線溶系の変化に関する実験的研究. 特に低体温麻酔に関して, *東邦医会誌*, **15** : 504, 1968.
- 21) 岡田价弘 : 外傷及びショックの際の脳組織 Plasminogen Activator 系及びそれらの Inhibitor 系に関する実験的研究. *日外宝*, **37** : 387, 1968.
- 22) 斎藤守男 : 脳神経外科的疾患の線維素溶解現象に関する研究 (特に脳浮腫に対する各種治療法との関連について). *日外会誌*, **70** : 1775, 1969.
- 23) Cajal, S., Ramon, Y. : Degeneration and regeneration in the nervous system. 2 vols., transl. from Spanish ed. of 1913. Oxford Univ. Press. London : Humphrey Milford 1928.
- 24) Penfield, W. G. : Meningocerebral adhesions. A histological study of the result of cerebral incision and cranioplasty. *Surg. Gynec. and Obst.*, **39** : 803, 1924.
- 25) Wilson, R. B. : Brain repair. *Arch. Neurol. and Psychiat.*, **15** : 75, 1926.
- 26) Penfield, W. : The mechanism of cicatricial contraction in the brain. *Brain*, **50** : 499, 1927.
- 27) 中野重徳 : 外傷脳の生化学的研究. (特に切截グリア組織の代謝的特徴について) *日外宝*, **37** : 177, 1968.
- 28) 柴田家門 : 損傷脳に発生する反応性グリオース組織の生化学的研究. *脳と神経*, **25** : 329, 1973.
- 29) 赤堀四郎 : 酵素研究法. No. 4, 朝倉書店, 昭34.
- 30) de Duve, C., et al. : Tissue fractionation studies ; intracellular distribution patterns of enzymes in rat-liver tissue, *Biochem. J.*, **60** : 604, 1955.
- 31) Claude, A. : Fractionation of mammalian liver cells by differential centrifugation. II. Experimental procedures and results. *J. Exp. Med.*, **84** : 61, 1946.
- 32) Astrup, T., Müllertz, S. : The fibrin plate method for estimating fibrinolytic activity. *Arch. Bioche. Biophys.*, **40** : 346, 1952.
- 33) Lassen, M. : Heat denaturation of plasminogen in the fibrin plate method. *Acta Physiol.*

Scand., 371, 1952.

- 34) 栗津三郎：手術による線維素溶解系の変動. 外科治療, 3 : 395, 1960.
- 35) Miura, M. : Activators and proactivator of fibrinolytic system in paranasal mucous membrane of man : Two forms of activator of plasminogen and proactivator responsible to streptokinase. Kobe J. Med. Sci., 11 : 13, 1965.
- 36) 山村雄一：線溶現象. 序説. 最新医学, 21 : 1, 1996.
- 37) Alkjaersig, N. : The purification and properties of human plasminogen. Biochem. J., 93 : 171, 1964.
- 38) 藤井節郎, 他：プラスミンの活性化機構. 最新医学, 21 : 9, 1966.
- 39) 浅内敏雄, 他：線維素溶解現象の生化学. 最新医学, 21 : 5, 1966.
- 40) 安部英：線維素溶解現象. 日医会誌, 46 : 435, 1961.
- 41) 田中正忠：脳脊髄液及び脳実質中の Plasmin 系に関する研究. 日外宝, 29 : 447, 1960.
- 42) 小林端：慢性硬膜下血腫の成因に関する研究. 特に線維素溶解現象との関係について. 名市大医誌, 19 : 214, 1968.
- 43) 寺島剛：線溶と Affinity Chromatography (II) Plasmin, Plasmin Inhibitor の臨床的検討. 第13回. プラスミン研究会報告集.
- 44) 柴忠明：Affinity Chromatographyによる組織, 体液中の Plasminogen Activator の分離および測定法に関する検討. 東邦医会誌, 20 : 285, 1973.
- 45) 栗津三郎：脳外科と線溶. 抗プラスミン療法, 560, 第一製薬株式会社. 1969.
- 46) 岡本彰祐：線溶現象の基礎と臨床. 医学書院, 昭和41.
- 47) Clemmente, C. D. : Structural regeneration in the mammalian central nervous system and the role of neuroglia and connective tissue. In : Regeneration in the central nervous system. edited by Windle, W. F., C. C. Thomas. Springfield. III 147, 1955.
- 48) 井草直樹：大脳皮質における創傷修復機序に関する研究, 日大医誌, 31 : 657, 1970.
- 49) Ungar, G., Mist, S. H. : Observation on the release of serum fibrinolysin by specific antigen, pepton and certain polysaccharides. Med., 90 : 39, 1949.
- 50) 佐野圭司, 他：脳浮腫のステロイド療法. 最新医学, 18 : 2478, 1963.
- 51) 高田由美子 : In vitro および in vivo における線溶抑制物質の抑制効果の差異. 日生理誌, 28 : 59, 1966.
- 52) 佐藤智：線維素溶解現象とは. 中外医学双書, 1964.
- 53) 畠中坦：脳浮腫と Blood-Brain Barrier. 医学のあゆみ. 64 : 688, 1968.
- 54) Ungar, G. : Inflammation and its control ; A biochemical approach. Lancet, 2 : 742, 1952.
- 55) Rubinstein, L. J., et al. : Histochemical observations on oxidative enzyme activity of glial cells in a local brain injury. J. Neuropath. exp. Neurol., 21 : 16, 1962.
- 56) Friede, R. L. : The cytochemistry of normal and reactive astrocytes. J. Neuropath. exp. Neurol., 21 : 471, 1962.
- 57) Osterberg, K. A., Wattenberg, L. W. : Oxidative histochemistry of reactive astrocytes. Arch. Neurol., 7 : 211, 1962.