

A<sub>2</sub> 施設で、1,181円、一番多い施設は 37-D<sub>2</sub> 施設で、2,234円で、物価上昇が経費に及ぼしていることが認められる。これを事業費目でみると、総事業費に対して補助金は 21.8%に過ぎず、市町村の直接負担となる一般財源は、40.1%にのぼっており、市町村の財政的負担が可成り高い現状にあることが認められる。

以上で県内における尿尿消化槽の概要について述べたが、適正な維持管理と消化機能について今後研究を続行する予定である。

### 参 考 文 献

- 1) 岐阜県：‘岐阜県統計書’（昭25, 30, 35, 38, 39, 40）
- 2) 農林省：‘農林省農林経済局肥料課資料’（昭41）
- 3) 岐阜県：‘岐阜県厚生部公衆衛生課資料’（昭36, 39, 40）
- 4) 日本下水道協会：‘公共下水道統計’1964版 第21号
- 5) 経済安定本部資源調査会：‘尿尿の資源科学的衛生処理勧告’第9号（昭和25年9月）
- 6) 日本環境衛生協会、全国都市清掃会議：‘第2回し尿処理技術研修会テキスト’（昭38）
- 7) 神奈川県：‘清掃事業ハンドブック’（昭35）
- 8) 全国都市清掃会議：都市清掃 **52**, 2（昭37）
- 9) 全国市長会：‘し尿処理の現状とこれからの方向’（昭和40年4月）日本都市センター刊
- 10) P. F. Morgan: Sewage and Industrial Wastes, **26**, 462(1954)
- 11) E. A. Cassell and C. N. Sawyer: Sewage and Industrial Wastes, **31**, 123(1959)
- 12) 竹村旭純 渡辺安雄：‘都市清掃’ **66**, 17（1965）
- 13) 日本環境衛生協会：‘清掃事業の実際’（1956）
- 14) 石橋多聞：水道協会誌, **314**, 41(昭35), **315**, 47(昭35), **316**, 41(昭36)

## 総 説

杉浦 衛, 田中英郎: 臨床酵素としての Plasmin について

Mamoru Sugiura, Hidero Tanaka: On Plasmin as Clinical Enzyme

1. Introduction
2. Plasmin system
3. Determination of Plasmin
4. Activator System of Plasmin
5. Inhibitor of Plasmin
6. Porcin Plasmin
7. Clinical significanse of Plasmin

### 1. 緒 言

1) 1893年 Dastreが, invitro で無菌的に一度凝固した血液が再び流動性となり溶解してしまう奇妙な現象を発見し, その現象を線維素溶解と名付けた. しかしその後, それ程の進展も見ずその生理学的意義についても全く不

明であったが、20世紀の初期、Nolf<sup>2)</sup>が肝を摘出したイヌにペプトンを注入したところ、その血液が線維素溶解を示すことを見出し、これが線維素溶解現象に関する最初の研究となった。それ以後はるかに遅れて Garner<sup>3)</sup>は溶連菌培養液より抽出される或る菌体外毒素が、ヒトの Fibrin を分解することを報告し、Bacterial fibrinolysin と命名、今日 Streptokinase の名で呼称される Activator の発見をなした。

ところが1937年、MacFarlane<sup>4)</sup>は再び Dastre と同じ現象に遭遇し線維素溶解反応を確認、これは血漿中に存在する一種の蛋白分解酵素によることを提唱し、それを線維素溶解酵素 Fibrinolysin と命名、1946年同じく彼が線維素溶解についての明確な解析を行ない、本酵素が線維素のみでなく他の蛋白質をも分解するところから、広く Plasmin と改称、現在の Plasmin 系の基本的概念を形成したのである。

Plasmin は、国際生化学連合の酵素委員会により 3.4.4 Peptide Peptidohydrolase と記載されているが、1964年我国における Plasmin 研究会では「Plasmin とは何か」との問題で研究会をもち、「Plasmin とは Streptokinase によって、その前段階物質から活性化される血清中の Protease である」と一応定義し、「血液中に存在して Streptokinase によって活性化され、Fibrin を分解する酵素、すなわち fibrinolysin を狭義の Plasmin とする」との提案がなされた。<sup>5)</sup>

しかし、線維素溶解による臨床例は、折りからの目ざましい血液化学の進展を背景に、出血との関連において Plasmin の生理学的意義を解明させ、本酵素の異常が生体の病的状態と密接な関連のもとに惹起されることを裏付ける事実を証明していった。

Plasmin が現今のごとき脚光を浴びるに至り、またそれに対する治療面の研究が広く論ぜられるようになったその研究企図は、出血との相関から血栓症の問題、動脈硬化と線溶現象、癌と線溶現象等であるが、これには未だ重大な問題が残されている。

以下、Plasmin について従来の研究を紹介しつつ、1965年9月東京で国際プラスミン学会が行われたので、これらの概要も合わせ総説とする。

## 2. Plasmin 体系について

生体内において、一定の割合いで形成された Fibrin は、種々の酵素反応により統制され絶えず溶解してゆくことにより、一種の平衡状態が保れている。周知のごとく Fibrin は蛋白質である為、Trypsin, Cathepsin, Pepsin 等一般の蛋白分解酵素によって水解を受け得るが、しかしながらこれら酵素の血中濃度はきわめて低い為、実際に Fibrin に作用するものは Plasmin 以外に存在し得ないと考えるのが妥当と思われる。Plasmin はこのように Fibrin を水解する蛋白分解酵素であるので、その体系について現在一応支持されている System の概略を要約することにする。(Fig. I)(Table. I)

### a) Plasmin

線維素 Fibrin を溶解し、Polypeptide にする一種の蛋白分解酵素であるが、その基質特異性については、Corticotropin-A<sup>6)</sup>を基質として検討された結果、Fig II に示すごとく、Arginine-Tryptophan, Lysine-Lysine の Peptide 結合を水解することが明きらかにされた。

別名 Fibrinolysin とも呼ばれるが、本酵素は不安定な為 Plasminogen<sup>7)</sup>に Streptokinase (以下 SK) を添加し Kline によってはじめて結晶化されたもので、Cohn 分層 I, III/3 に含まれ、 $\alpha_3$ -Globulin また  $\beta$ -Globulin

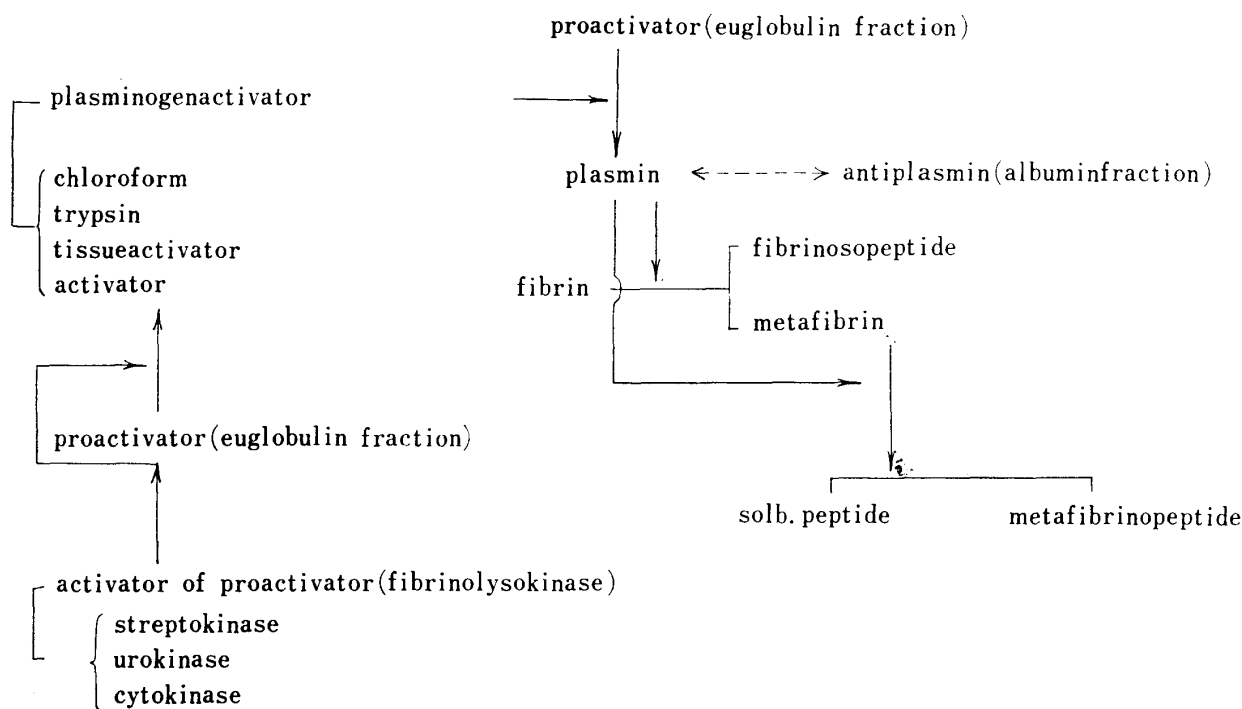


Fig. 1. Plasmin system.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Ser.	-Tyr.	-Ser.	-Met.	-Glu.	-His.	-Phe.	-Arg.	Try.	-Gly.	-Lys.	-Pro.
						13	14	15	16	17	
						Val.	-Gly.	-Lys.	Lys.	-Arg.	---

Fig. 1. Action of plasmin to corticotropin-A.

に属し, MW; 10800, Ip; 6.0 で中性にて最も強力な作用を示すものである。N<sub>2</sub>(Kjeldahl method); 14%, 超遠心的純度は 90~95%, 電気泳動では三種の成分を含むことがわかり, Antiplasmin と弱く結合し, 通常, 不活性型 Plasminogen として正常血漿中に存在している。

表示のごとく, 水には殆んど不溶性であるが, 生食水には比較的良く溶解する。熱には抵抗性が弱く, 50°C, 20 分 (水溶液) にて完全に破壊され, また酸性液にてはきわめて安定であるが, 中性液においては不安定である。臨床的に血漿より Plasmin を抽出するには, 精製水稀釈溶液の pH5.2 沈殿物を回収してとる。

b) Plasminogen

別名 Profibrinolysin と呼ばれ, Kline<sup>7)</sup> により結晶状に分離された MW; 140000 のもので, α<sub>3</sub> または β-Globulin に属し, Cohn 分層 I, III/2, 3 にはいり血液, 体液等種々の分泌液中に存在する。

本因子は Fibrinogen および Fibrin と親和性が強く, Plasminogen Activator により Plasmin となる。

c) Antiplasmin

Plasmin の抗酵素で, Ip; 3.75, Albumin, Globulin 分画中に存在し, 正常血漿中では Plasmin と Complex を形成し, Plasmin の不活性化に関与しているが, それは, それ程強い結合ではなく, 血漿の稀釈により平衡は破れ, さらにアセトン, アルコールのごとき有機溶媒により容易に破壊される。

Table I. Physico-chemical character of fibrinolytic substance.

	plasminogen (PLG)	plasmin (PL)	proactivator (Proact)	activator (Act)	streptokinase (SK)	urokinase (UK)	anti-plasmin (Anti-PL)	anti-streptoki- (Anti-SK) nase
分子 量	143000	120000						
形 (大きさ)	$279 \text{ \AA} \times 34 \text{ \AA}$	$250 \text{ \AA} \times 34 \text{ \AA}$						
等 電 点	5.6(5.5~6.0)	6.3~5.5	4.0(?)	3.8	4.2	4.5	3.75	
タン パ ク	$\beta$ -グロブリン または $\alpha_3$ -グロブリン	右に同じ	PLg とほとん ど同じ	細胞のミトコンドリアおよびミクロゾームの中にある	$\beta$ -グロブリン	グロブリン	$\alpha_1$ -グロブリン または アルブミン	グロブリン
Cohn 分 層	I, III/2, 3	I, III/3			核酸20%		V	II, III
成 分 比	チロジン 5.1% トリプトファン 2.7% 上の比 1.9 六炭糖 1.0%	チロジン 6.4% トリプトファン 3.6% 上の比 1.8 六炭糖 1.5%						
電泳遊走度 $10^{-5} \text{ cm}^2/\sqrt{\text{sec}}$	8.2~7.5 (pH 2.9)			4.2S	2~4個の峯	2個の峯		
超遠心係数 (Svedberg)	4.3S							
拡散係数 $10^{-7} \text{ cm}^2/\text{sec}$	2.92							
溶解性 { 水 食塩	とけにくい 割によくとける	右に同じ	とけにくい KSCN, NaCl にとけやすい	とけにくい 比較的とける	とける とける	とける とける	とける とける	
抵 抗 性	50°で25週(乾) 55°で30分(液) 保存できるが, 65°以上では変 性する。	50°で1時間(液) たえるが70°では 5分で変性	80°で5分, 56°で 30分たえる37°で は4時間 (アルカリ性)	2~10°では 18カ月(乾) 7日(液) 保存できる25°で は2日で変性	60°で10日たえる (活性化がおこる) 80°では50% 100° では15% (pH7.25) 活性がのこる	(乾)では25°で3年 間, 50°でも90日保 存。(液)中では25° で数日, 3°で2週, 65.5°では10分で 変性	56°で30分たえ る	
沈 殿 性	25~37%	5%, 33% + 塩化 亜鉛			65%	25~50%	50~70%	
備 考					Al(OH) <sub>3</sub> Noritに 吸着, Seitzでは 吸着されない	ケイ酸ではよく吸 着される BaSO <sub>4</sub> にも吸着される	クロロホルム, エ ーテルで破壊され る	

## d) Plasminogen Activator

Table I のごとき性質を有するものであるが、これには直接 Plasminogen に作用する外的因子としてのクロロホルム<sup>8)</sup>、その他の有機溶媒、Trypsin<sup>8)</sup>があり、生体内では組織蛋白と強く結合している Tissue Activator、および尿中に含まれる Activator (Urokinase)<sup>9)</sup>も挙げられる。

また、血液、乳中等に含まれる Proactivator が賦活された Activator (Plasma Activator) も存在する。これは、外科的手術、ショック、精神ストレス、Adrenalin<sup>10~12)</sup>等による線溶亢進の原因 Activator と理解されている。最近、Hageman factor<sup>14~15)</sup>は、間接的に Plasminogen の活性化に促進的に作用すると云われている。

## e) Proactivator

血液、涙、乳中に存在し、Activator of Proactivator によって賦活されて Plasminogen Activator となり Plasminogen の Plasmin への移項を促進する。

## f) Activator of Proactivator

Proactivator にはたらいでそれを賦活し、Plasminogen Activator とする Activator で、その中には種々のものがあるが、現在までに知られている主なものに、細菌由来のものとして Streptokinase<sup>16)~18)</sup>、また或る種のブドウ球菌の産生する Staphylokinase<sup>8)18)</sup>がある。

本物質は、水、食塩水に良く溶解し、 $\beta$ -Globulin、を蛋白として有する Ip4.2 の Activator である。

その他尿中に存在する Urokinase<sup>9)</sup>、血清中の Serokinase、組織に含まれる Cytokinase 等があるが、これらの Activated system については目下不明である。また他に Plasmin 活性化物質として、Thrombolyisin、Aktase、Chymotrypsin、Papain 等もある。

以上要約するに、Plasminogen の Plasmin への活性化は外科的手術、ショック、精神的肉体的緊張、さらに突発死等のストレス<sup>10)~12)</sup>でおこり、またアセチルコリン<sup>19)</sup>、セロトニン<sup>20)</sup>、ニコチン酸<sup>21)</sup>、発熱物質<sup>22)</sup>、アドレナリン等の投与によっても活性化が行なわれる。

さらに Plasmin と Antiplasmin の平衡は、脳下垂体—副腎系のホルモンによっても支配を受け、ACTH<sup>23)~25)</sup>、Cortisone 投与は血中 Antiplasmin 活性の上昇を来し、Jensen<sup>26)27)</sup>らの報告によると、その抗線溶能は、ACTH 110%、Cortisone 105%とされている。また逆に脳下垂体除去、副腎摘除は抗線溶能を低下するともいわれている。

このような生理作用をもつ Plasmin 系は、Euglobulin 分画に存在し  $\alpha_1$ 、 $\beta_2$ -Globulin 中の Plasminogen より Plasmin への活性化過程を阻害する反応系と  $\alpha_1$ 、 $\alpha_2$ -Globulin 分画中の Antiplasmin<sup>29)30)</sup>とが一つの平衡状態<sup>31)</sup>を保ち、全身性には血管内の血栓形成を抑制し、局所的には血管外の線維性滲出を調節すると云う生理学的意義<sup>32)</sup>を有すると考えられている。

### 3. Plasmin の測定法について

Plasmin は前述した如く Plasmin 性出血の発見により一段とその意義が注目されてきたが、もう一つの原因として Plasmin による血栓治療の企図が広く支持されるに至った為と云えよう。

血栓症のごとき血液凝固の異常促進にあつては、Fibrin 塊の除去手段として Plasmin の投与が最も理論的な方法と考えられるが、その際過剰の Fibrinolysis が発生し結果的に致命的な大出血を来す事態も十分予測され、また他方 Plasmin 自体の増加は云うにおよばず、抗 Plasmin の減少が疾病の発現と関連し、その結果病

態と見做されうる状態にまま遭遇する場合があるのでその為にも Plasmin 挙動の追求が, Plasmin 療法およびその他類似療法の実施に際して必要なことは論を待たないことであろう。

現在, 線維素溶解酵素の測定には多数の方法が報告され, 原理的測定には Lysine-polymer<sup>34)</sup> がすすめられているが, 一般に生体内における基質としては Fibrinogen, Fibrin が注目されている。

簡便な測定としては, 新鮮血液の凝固塊の溶解をしらべるのが最も初歩的な方法と云えるが, Plasmin の測定は各々の検体の意義によって種々の方法を引用, または併用することが望ましく, その為にも十分に測定法の意義を理解しておくことが必要である。

#### a) 血漿溶解法

血漿を  $Ca^{2+}$  または Thrombin で凝固させ, これを  $37^{\circ}C$  にて無菌的に incubate し, 凝塊の溶解の有無または溶解に至る時間を測定する方法であるが, この方法は定性的な意味が強い。

#### b) 稀釈系別法

3.8% クエン酸ナトリウムを, 血液 8 に対し 1 の比にて混合したものから Plasma を分離, この血漿を基準として一定の稀釈系列をつくり, 各々に Thrombin, または  $Ca^{2+}$  を添加して凝固させ,  $37^{\circ}C$ , 24hrs, incubate, 溶解のおこなっている最大稀釈率を測定する方法であるが, 活性増減の有無を検し得る程度で, 定量的な判定には不適である。

#### c) Fibrin 溶解時間の測定

検体に Fibrinogen および Thrombin を加えて凝固させ,  $37^{\circ}C$  にて溶解のおこるまでの時間を測定する方法である。この場合, Fibrinogen 中に Plasminogen が混在していると共存 Plasminogen activator により活性化されるおそれもあるのでこの点につき十分なる留意が必要である。

#### d) Fibrin plate test<sup>35)</sup>

Astrup, 安部らにより提唱された方法で酵素活性を定量的に測定し得る長所をもっている。Fibrinogen, および Thrombin より作成された Fibrin 膜を基質に使用し, これに検体を 1 滴滴下し,  $37^{\circ}C$  にて 12~24hrs 無菌的に incubate, 溶解した円すい窓の面積を測定する方法である。Fibrinogen を基質として用いる場合, Fibrinogen 中に Plasminogen や Proactivator が混在するので, これによって生成された Plasmin は検体中の Activator system によって生成された Plasmin 活性との和として表現される為, 検体中の Plasmin 活性のみ測定するには難点がある。

その為, Lassen は基質を  $85^{\circ}C$ , 30min 処理するという加熱 Fibrin 平板法<sup>36)</sup>を推奨し, Plasmin 活性と Activator 活性とを区別している。

#### e) Euglobulin の Plasmin 測定<sup>37)</sup>

岡本らはいわゆる endless bleeding 様の出血をみる場合, 肺, 前立腺, 子宮等に組織侵しゆうが認められる。そこで, イヌの hyperplasminaemia 実験より, 全血の線維素塊溶解は Activator system の最終段階におきるものであって, それ以前には Euglobulin 分層の Plasmin 活性の増加が認められるとして, Antiplasmin の除去と Euglobulin 分層の Plasmin 活性測定の必要性より本法を提唱している。

すなわち, クエン酸血漿または蓚酸血漿を浄水で 10 倍に稀釈, 酢酸にて pH5.2 とし, 30min 放置後遠沈し, 沈澱を得る。それを原血漿の 1/2 量の緩衝液に溶解, 一定基質の Fibrinogen 液, Thrombin 液と混じて Fibrin 塊をつくり,  $37^{\circ}C$  にて Fibrin 溶解の時間を測定する。本法は, 特に内科性出血性素因と深い相関性を有する

ことも併記している。

f) Whole Plasmin test (SK 活性化法)<sup>37)</sup>

0.1ml の Serum に SK100u (Lederle の Varidase) を加え、25°C にて一定量の Fibrin 溶解時間を測定する方法である。

これは血漿を用いた場合、血漿中の Plasminogen の増加、或いは、Anti-plasmin の減少により値は増加するから、この値と Fugloblin を用いた場合の SK 活性化法による成績とを比較すれば、Anti-plasmin の挙動を知る一つの目安とする事も可能である。

g) Casein を用いる方法

I<sup>131</sup> でラベルした Casein に検体を加え、37°C にて一定時間 incubate した後、TCA で Casein を凝固沈澱させ、滲液中に存在する I<sup>131</sup> radioactivity を測定する。本法は、基質中に Plasminogen や Proactivator を含まない為、検体中の活性を単独にしかも定量的に測定し得る利点がある。

その他、Casein TAME 等を基質として測定する方法もあるが、これらは Fibrin 分解酵素とは別の酵素活性を測定していることになる為 routin test として望ましくない。

以上、測定法について略述したが、Fibrin 溶解現象を用いる方法は感度が高いが純粋な Fibrin を得ることが難しく、また再現性に難点がある。Casein 法は感度においては劣るが、再現性にすぐれていつも一定の結果を得ることが出来る利点をもっている。

一般的に、これら基礎的な測定法の多くは、単独では臨床標品のごとく低活性の場合に用いられるが、複合系の Plasmin 測定には適切性を欠くようである。

特に臨床生理学的にその挙動を把握せんとする場合には、その意義に応じた測定を厳格に選定し、種々の方法を組み合わせることにより実施すべきである。

#### 4. Plasmin の賦活系について

Plasminogen から Plasmin への転換は、Plasminogen activator の作用により行われ、クロロホルム、トリプシン等は直接 Plasminogen に関与するものとして知られているが、生体内においては、組織細胞のリゾゾーム<sup>38)</sup>やマイクロゾーム分画に賦活体の存在することが、古くは、de Duve らによって 10 年前すでに認められている。<sup>39)</sup>

現在 Plasminogen activator は、大別して二種の Activator、すなわち組織 Activator と血漿 Activator に分類するのが一般に支持されている。

a) 組織 Activator

1947 年 Astrup & Permin<sup>40)</sup> らは、ヒトの種々の組織を濃 KCN で抽出したとき、Plasminogen におよぼす水に不溶性の粒子としての賦活体活性が認められることを発見した。

この組織賦活体も、直接 Plasminogen に作用するもので組織蛋白と固く結合していると云われるが、それは、de Duve らの変法により、(すなわち、0.15M-塩溶液を用い、37°C にて顆粒を incubate するとき) ラッテ腎の<sup>39)</sup>リゾゾーム分画より溶媒に可溶性型として抽出される。

最近、組織賦活体について杉山<sup>41)</sup>らは、ラッテ腎のチトプラズマ顆粒中の Plasminogen activator を研究し、水に可溶性の Activator の抽出に成功した。<sup>42)</sup> また Tagnon<sup>43)</sup>らは、Schneider 変法によってミトコンドリア(8500g)とマイクロゾーム(57000g) 両分画より賦活体を抽出したが、後 de Duve<sup>39)</sup>らの方法に従って行なったところ、リ

ゾゾームとマイクロゾーム分画に限り賦活体が特異的に存在することが判明した。ミトコンドリア分画には、その存在を認めなかったと報告している。

また、組織よりの Plasminogen activator の抽出は一般にそのイオン強度に比例して増大すると云われ、それを基準として杉山<sup>41)</sup>らは、Plasminogen activator には二つのタイプがあるとしている。すなわち、その一つは低濃度 (pH7.4 triss-buffer を含む 0.15M-Kclsol) の塩溶液で、リゾゾーム顆粒より得られるもので、他の一つは高濃度 (pH7.4, triss-buffer を含む 2 M-Kclsol) の塩溶液にてリゾゾームおよびマイクロゾーム両分画から抽出されるものに分けている。このことは、Plasminogen がマイクロゾームにて生成され、そのうちで未成熟型のもものは、顆粒と固く結合していわゆる「マイクロゾーム型 Activator」として存在し、十分発達した賦活体は、「リゾゾーム型 Activator」となり種々の条件にて顆粒より容易に遊離されるものであろう、としている。

一般に Plasminogen activator は、組織と結合している時比較的安定であるが、組織より分画、分離されたものは非耐熱性であると論じている。細胞内顆粒と密接な関係をもっている組織 Activator の動物組織における挙動については、種々の研究報告があるが、これは一種の活性化蛋白分解酵素に移項する Process である為、有機体にて詳細に追求することは甚だ困難とされている。

しかし Astrup & Permin<sup>40)</sup> は、動物正常細胞より、また Tagnon<sup>42)44)</sup> らは、Claude<sup>45)</sup> の方法を引用し、Defferential centrifugation によりラッテの肝では、主としてマイクロゾーム分画に局在することを認め、さらに Lewis & Ferguson<sup>46)</sup> とも同じくイヌの肝組織のマイクロゾーム分画に、佐々木<sup>47)</sup> は Schneider<sup>43)</sup> 分画により、ヒトの鼻組織のミトコンドリア分画に著しい Fibrin 分解活性を発見した。

Lack<sup>48)</sup> は、deDuve<sup>39)</sup> 変法によりウサギの腎のリゾゾームとマイクロゾームより試薬によって放出される賦活体を見出している。しかし三浦<sup>49)</sup> は、ヒトの副鼻粘膜表皮についての賦活体および前賦活体の溶解状態を Trowell<sup>50)</sup> 法の改変および種々の媒質中での incubate により研究を行ない、その溶出は媒質の生化学組成によっては影響を受けず、殆んど物理的過程によるもので、遊離型の Activator と結合型 Activator は Kcl sol にて組織より容易に抽出され、さらに超遠心によりミトコンドリア分画は遊離型を、またミトコンドリアとマイクロゾーム分画は結合型 Activator を含んでいると述べている。

さらに、この場合組織賦活体は上澄に認められた。しかし Fantl<sup>51)</sup> と Fitzpatrick<sup>47)</sup> は、Activator は組織より食塩水ではよく抽出されないとしているが、佐々木<sup>47)</sup> は鼻粘膜の生理食塩水抽出液中に、顕著な Fibrin 溶解活性を認めている。組織 Proactivator については、Albrechtsen<sup>52)</sup> により分泌液中に顕著であることも示されている。

#### b) 血漿 Activator

高田<sup>53)</sup> らはヒトの Proactivator の生物学的挙動を、SephadexG-200 を使用するゲル濾過法にて、それを Plasminogen より分離し、ヒトの血漿中には Proactivator A と B の二種が存在することを確認した。さらにこれらの Proactivator は、わずかの SK と反応し容易に Plasminogen activator に convert されると述べている。

元来、家兎、イヌ、天竺ネズミ、ラッテ、マウスの血漿では、Proactivator が存在しないため、SK の添加によっても Fibrin 溶解現象は全く弱い、殆んどないと云われているが、ヒト血漿グロブリンをそれらの動物に注入すると、SK に対する感受性が大きく増加し、時には 100~1000 倍になりそれらの循環血の Plasmin を高度に活性化することができる。<sup>54)</sup> この機構については、一般に SK によってヒト Globulin 中の Proactivator が Activator となり、それがウサギの Plasminogen を Plasmin に換えるものと考えられてはいるが、未だ不明確な点が多く、そこで高田<sup>55)</sup> らは、家兎にヒト血漿の Proactivator に対応する Proactivator 様成分の存在を予想し、



その成分の追求を試みた。

それによると、家兎血漿中にはヒト血漿の Proactivator A と挙動を同じくする Activator substance の存在を確認し、このものは Euglobulin に属し、SKとヒト Globulin の添加によって Fibrin 溶解作用を高度に促進するものであると報告している。

一方、ヒトの Proactivator B に対応する活生物質は認められていないが、阻害成分については、ヒト Proactivator B と挙動を共にするものを観察している。その他 Activator<sup>56)</sup> について、吉良らは関節腔の Activator の行動を追求し、関節腔内の Fibrin 沈着を防ぎ、腔内の血液凝固を抑制するのは腔内に面した滑液膜より放出される Activator の作用であると認め、続いて、関節液貯溜と Plasmin 系の関係を示唆する研究として、関節水腫に EACA を投与すると水腫が減少し、EACA 投与を阻止するとそれが増加する成績を提示している。また Lack<sup>57)</sup> は、アレルギー性関節炎において滑液膜に Activator が増加することを認めている。この問題は美原らにより、さらに腹水痛との関連において進展せられ、癌細胞の増殖と Activator の出現が平行関係にあることを提示し、彼等は、それを、生成された Activator が腹水中に放出され流血中より侵入した Plasminogen を活性化し、いわゆる腹腔内の局所線溶を惹起するものであると説明している。

このような局所線溶は、さらに Kinjo,<sup>59)</sup> Funahara<sup>60)</sup> による EACA, AMCHA 投与時、腹水の貯溜と腹腔内への出血を明きらかに抑制すると云う報告より裏付けられている。

これらの実験的事実は、何れも細胞機能と Activator との関係の一端を示す報告にすぎないが、今後一段の病態生理学の発展により、分泌、吸収機能との関係について、また炎症、アレルギー、腫瘍等と局所線溶の関係についても一層の追求が期待されるところである。

## 5. Plasmin の阻害剤について

一般に正常血液が抗 Plasmin 状態にあると云う現象は、正常血液が極度に強い Plasmin 抑制状態にあり、Anti-plasmin 作用が Plasmin 作用より強い関係にあることを示すことである。

しかしひとたび Plasmin 系に異常を生じ、Plasmin 活性の増加とそれに逆行する Anti-plasmin 作用の低下を来たした時は、すでに血液系における一種の病態とみなされその臨床的治療の必要性は、就中 Plasmin 性出血の止血機構に求められ、ひいては抗 Plasmin 物質の追求を余儀なくした。

前述のごとく Plasmin は Casein, Gelatin, Fibrin をはじめ ACTH のごときポリペプチドを水解する蛋白分解酵素で、すでにその基質特異性については、Mersky<sup>61)</sup> らが ACTH を用いて研究し、Trypsin は蛋白質、ペプチド分子中の塩基性アミノ酸、Lysine あるいは Arginine からなる結合を水解するが、Plasmin は、その結合の中でも Lysyllysine, Arginyltryptophane 結合を水解するとして Trypsin と明らかにその特異性を区別している。

このような Plasmin の基質特異性の研究は、抗 Plasmin 剤の探索において通常基質中のペプチド結合部分に類似した構造を有する化合物が競争的に Plasmin 活性の阻害剤となり得るのではないかと云う考えから出発するのが妥当とされている。

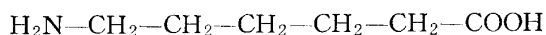
従来から線溶系に対する Inhibitor は、大別して作用上 Plasminogen 活性抑制と Anti-plasmin に分類され、すでにその阻害剤について、有機リン化合物、色素類、アミン類等数多くの化合物の報告があるが、いずれも毒性の面で難点があり臨床面へ容易に応用することは不可能な実情であった。

また 1915 年に Jobling,<sup>63)</sup> および 1938 年には Roseman<sup>63)</sup> らが Antifibrinolytic agents の探索をおこなっていたが、いずれもたいした手掛りはつかめなかった。

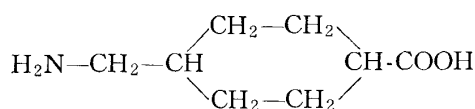
しかし Plasmin の機構的な研究の進展と相まって、徐々にその臨床的意義が解明されショック、アレルギー、炎症、毛細管透過性の促進等の原因的因子となり得る Plasmin 作用を特異的に抑制し、しかも生体に無害なる化合物が抗 Plasmin 剤として最適とされるに至った。1948 年岡本らは、この意義において研究をすすめ、Plasmin 作用と構造の関係より合成抗 Plasmin 剤の追求を開始し、長沢らの合成グループとの共同にて 300 余種におよぶ化学成物質を検索、ついに 1953 年イブシロンアミノカプロン酸 (EACA)<sup>65)</sup> が強力な抗 Plasmin 作用を有することを発見した。

この合成剤は、Fig. III に示すごとくアミノ酸の一種である Lysine と類似した骨格を有する化学構造を示し

Fig. III. Structure of EACA, AMCHA.

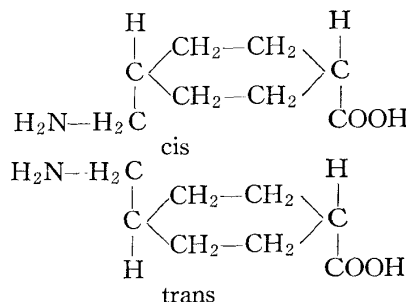


$\epsilon$ -Aminocaproic acid



1-(Aminomethyl)-cyclohexane

4-carboxylic acid



ている。この阻害機構について Ablondi<sup>66)</sup> らは Trypsin および Plasmin による Casein 分解を EACA が拮抗的に阻害することを認め、また Alkjaersig<sup>67)</sup> らは、EACA の高い濃度では Plasmin の阻害は非拮抗的であり、低濃度では逆に Plasmin の蛋白分解能を促進すると報告している。

EACA は Plasmin の阻害剤として最初に報告されたが、これのみでなくむしろ Plasminogen が in vitro にて SK によって活性化される反応を拮抗的に阻害することが後になって明らかにされた。

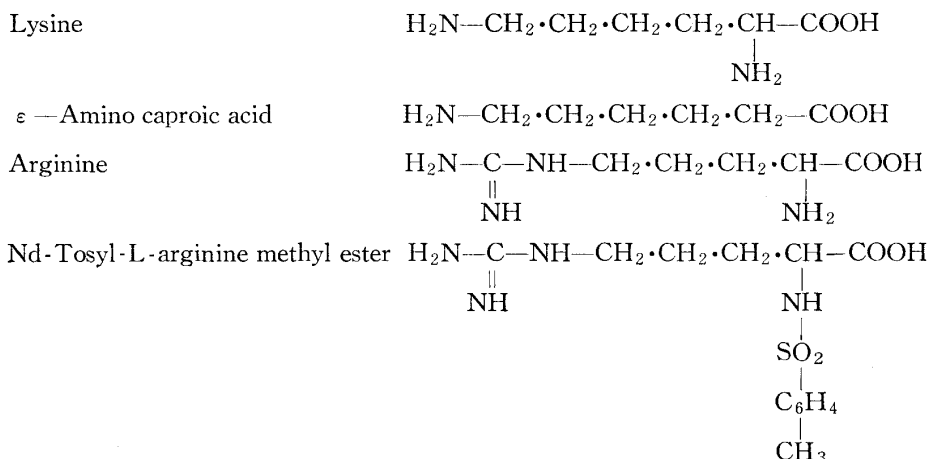
しかし Trypsin による Plasminogen の活性化反応には非拮抗的であることから Activated system<sup>67)</sup> には異った機作があり、その結果分子構造の異った Plasmin が形成されるのではないかと考えられている。とにかく EACA は、Lysine の関与するペプチド結合の水解に対する拮抗的阻害剤と考えられるため、一般に Lysine および Arginine 誘導体が抗 Plasmin 剤としてその作用を発揮することは十分推察されることである。

最近永松<sup>68)</sup> は EACA 誘導体、Lysine および Arginine 誘導体について抗 Plasmin 作用を研究し、EACA のエステルについては村松<sup>69)</sup> らの報告と同様に、エステルの炭素鎖が長い程その阻害作用は強く、Lysine 誘導体では、Lysine の 2 つの  $-\text{NH}_2$  を保護した。

N,N'-Dicarbobenzyloxyl-1-Lysine が特に高い阻害を示し、さらに Arginine エステル類では、メチル、エチルエステルが Tosyl-1-Arginine methylester より阻害率が高いことを報告している。(FigIV)

しかしこれらはいずれも基質として Casein を使用した場合の成績であるため、in vivo における効果とする

Fig. IV. Structure of antiplasmin substance and basic amino acid.



ことは早計であるが、モルモットの卵白アルブミンによるアナフィラキシーショックを Lysine 誘導体が高い抗<sup>68)</sup>ショック率を示すことから、少くともその作用は期待できると思われる。

他の化学物質については、Kaulla<sup>70)</sup>が抗生物質について、また Mounter<sup>62)</sup>らが燐酸化合物の効果について述べているが、いずれも毒性が大であるに対し、抗 Plasmin 剤は、人体に対し毒性はなく、Plasmin 性出血を強く抑制する特性を有し、国外でも広く臨床面に利用されている。その端緒は、米国では Miller<sup>71)</sup>が最初に実験を試み、<sup>72)</sup>我国では、佐藤らが婦人科疾患およびアレルギー疾患において Plasmin の活性化時、EACA の投与が極めて有効であることを発見し、また三方、長谷川らは、再生不良性貧血や白血病にて認められる症状に対し、さらに中島、佐藤らは子宮出血において EACA の効果を立証している。<sup>73)</sup>岡本らは動物実験的に、Plasmin 性出血に対する EACA の効果を検討するため、動物に endless bleeding をつくり出し、EACA の投与を行ったところ確実に Plasmin 作用を抑制し、同時に出血傾向が制御されることを観察し、それにより線維素溶解作用の亢進が、出血の原因的 factor であることを原理的に証明するに至った。

これに関しては大根田<sup>74)</sup>も、脳出血において同様のことを認めている。<sup>75)</sup>Zweifach らは、ウサギの皮膚に出血巣をつくり、EACA の出血抑制効果を検討し、体重 kg 当り 100mg の EACA によって顕著な止血効果を示す旨を認めている。その後さらに Sarker<sup>76)</sup>および横井<sup>77)</sup>らは、Plasmin の阻害効果と化学構造の面より、EACA のときイブシロン化合物が最も強い阻害作用を示すことを再確認したが、Alkjaersig<sup>67)</sup>らは、一定量以下では逆に Plasmin 活性が促進されることを指摘している。いわゆる出血の亢進した Fibrinolysis を抑制するには、相当大量の投与を要するため、EACA よりさらに作用の強い阻害剤の必要に迫られ、岡本、<sup>78)79)</sup>万行<sup>80)</sup>らが 1962 年もう一つの阻害剤アミノメチルシクロヘキサンカルボン酸 (AMCHA) を発見した。

化学構造は、Fig. III に示すごとくである。

mp 237~8°C、水に易溶物質である AMCHA は、EACA に比し、合成が著しく困難である短所を有するが、毒性はきわめて弱く、静脈投与、および経口的に有効で、特に EACA の大量投与を要するとき、AMCHA の使用は、より効果的であるとされている。

このように AMCHA の優秀性は、すでに認められているが、その広い臨床的応用は未だ不十分で、それら阻害剤の線維素溶解現象に対する機序についても現段階では、明白に実証されている例は以外と少ないようで

ある.

過去 Ablondi & De Renzo<sup>81)</sup> らが, *in vitro* にて EACA が血漿 Plasminogen の活性化抑制を実験的に認めた例があるが, 最近では, 岡本<sup>78)</sup>の報告がある. その中で彼は, AMCHA は EACA と同様に Plasmin よりも Plasminogen-SK-activated system に強い作用を示し, むしろ精製 Plasmin 標品には, その作用がきわめて弱いことを述べている.

また TAME が, Plasmin の合成基質として知られているところから, TAME esterase activity におよぼす阻害剤の効果を検討し, 両阻害剤いずれも Serum eugloblin SK 系における TAME esterase activation Process に効果を示さなかったことも追述している.

一方美原<sup>82)</sup>は, SK によって活性化された Protease system において, その Protease の各基質に対する AMCHA の作用を, EACA と比較しながら検討を行っている.

それによると両阻害剤は, SK-activated Protease の Casein 分解に対しその阻害作用を示したが, TAME のエステル分解には, その効果をもたずその過程にあつては, AMCHA が EACA より明らかに強く作用すると述べられている. しかし永松<sup>83)</sup>らは, EACA は Dicarbobenzyloxyl-L-Lysine とは逆に Casein 分解の場合より Fibrin 溶解に強い阻害効果を示すと報告し, また Cacciola<sup>84)</sup>らは, EACA は Fibrin 溶解に抑制作用を示すが, Fibrinogen 分解にはその効果が表われないとしている.

さらに岡本<sup>78)</sup>、万行<sup>79)</sup>らの発見した AMCHA は, EACA と同様に Casein 分解, TAME esterase activity には殆んど効果は無いが, AMCHA は Fibrin, Fibrinogen 分解の場合には, EACA より阻害効果が強大であるとされている.

このように基質の差によって阻害剤の作用効果が異なるために, もし線溶現象を抑える目的のみで応用される場合, はたしてどの程度の価値があるか疑問とされ, この点に関しては今後十分検討が加えられる必要がある.

最近に至って, 阻害剤の作用をその化学構造の面より追求する研究が徐々に進められている. これに関し岡本<sup>85)</sup>は, 阻害剤の立体異性体の抗 Plasmin 作用を研究し, AMCHA は EACA の炭素鎖構造に反し Cyclohexane ring を有しているため, その立体構造を仮想するとき, 二つの異った Conformation が存在し, 一般に Chair type と Boat type において Fig. V に示すごとく  $-NH_2$  と  $-COOH$  の距離の違いにより, 抗 Plasmin 活性が支配されると説明している. すなわち抗 Plasmin 性異性体は, Cyclohexane ring において Chair type の trans-AMCHA であることを提唱し, これは清水, および Melander によっても支持されている.

また Johnson<sup>86)</sup>らは, L-Lysine 誘導体および EACA の抗 Plasmin 作用を, Fibrin 基質にて線溶現象に対する阻止作用を観察し, EACA のごとく第一級アミノ基と末端にカルボキシ基をもつことが必須で, これらの基が他の radical にて置換されると阻害作用が減少し, アミノ酸の  $\alpha$ -アミノ基を何かの基で保護すると, Plasminogen の活性化に対し阻害効果を示すと報告している. さらに Astrup<sup>87)</sup>は, Lauryl benzyldimethylammonium chloride が高濃度にて Plasmin 作用を抑制すると報告し, このことは EACA の末端アミノ基を第4級アンモニウムイオンにすると, Plasmin に対し阻害作用を示すと云う Johnson<sup>86)</sup>らの研究と一致している. その他, 抗 Plasmin 作用物質について, Plasmin, Trypsin による Plasmakinin 生成を抑制すると云われる Soy<sup>88)</sup> bean trypsin inhibitor, Detergents 等が研究され, 中でも界面活性剤について Astrup<sup>89)</sup>は, Sodium laurylsulfate が Plasmin 活性を阻害すると説明している. このことより永松<sup>90)</sup>はヒントを得て, L-Lysine の誘導体の Deter-

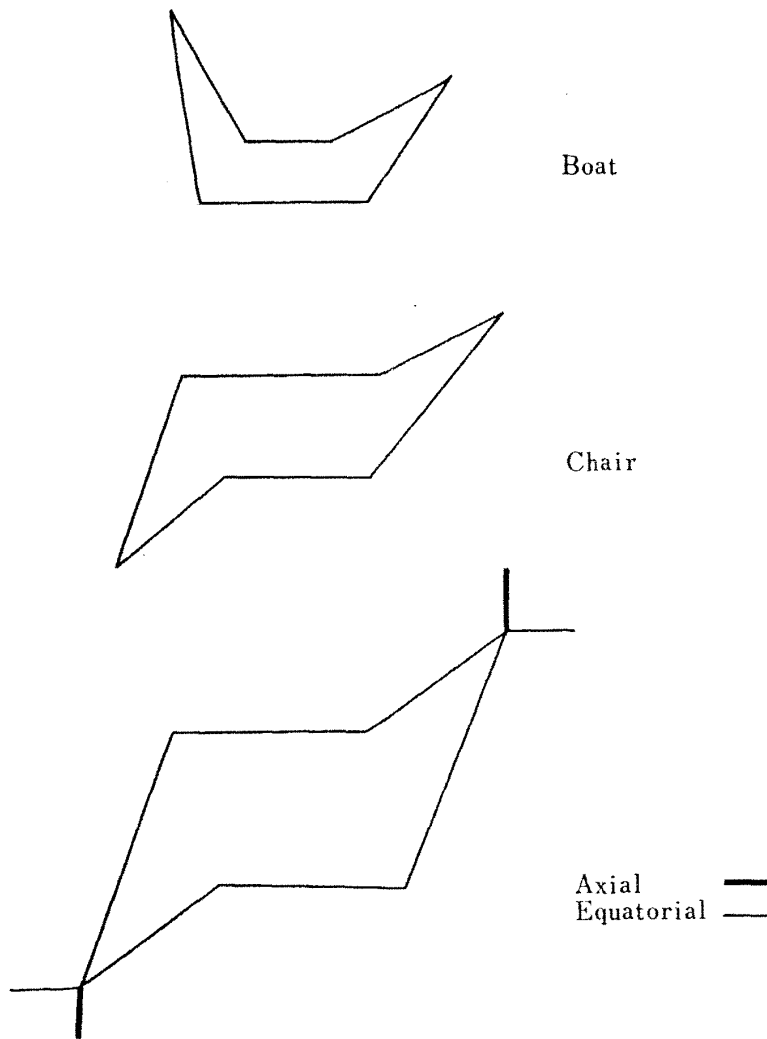


Fig. V. Models of the stereo-isomers of AMCHA.

この種の問題が解決されれば、Plasmin のもつ生理的機能も加速的に解明され、抗酵素療法として種々の疾病の治療に果す阻害剤の役割はより大きく、密接な関係を保つことになろう。

## 6. Porcin Plasmin について

Plasmin の阻害剤の研究は、EACA, AMCHA の出現により急速に発展したが、Plasmin 自身を治療へ応用する研究は殆どなされていない現状である。ただ生体内にある Plasminogen を活性化する SK, Urokinase 等が使用されているに過ぎない。Plasmin を人血から取り出すことが非常に困難であること、多量の人血の入手が難しいこと等によると思われる。

最近、Denmark Copenhagen の Novo Industry では、豚の血液から、Plasmin を製造することに成功した。この Plasmin をイヌに使用してもアレルギー症状を起こさず、臨床実験においても何んら過敏症をおこさぬことが証明され脚光を浴びてきている。

最近著者らの研究室にも Novo Industry より Plasmin を入手したのでこの Porcin Plasmin についてその性質を紹介する。

製造法は豚の血液から Fibrin を除去し、アルコール分別沈澱を行ない次いでイオン交換樹脂処理により Pl-

gents 作用物質を合成し、1-Lysine の両アミノ基をアシル基で保護した場合、炭素鎖の増加に従い界面活性作用は上昇することを確認し、炭素数8ヶ以上の脂肪酸残基で保護した場合、その作用は Dicarbobenzyloxyl-1-Lysine と匹敵する旨を述べている。

以上のごとく、線維素溶解現象に対する阻害剤の研究は、抗酵素療法の一つとして出血の原因的治療の進展を促し、その効果価値もすでに種々の出血症例に広く認められているが、Plasmin の酵素的特性を把握する意義においては現在のところ未だ不明な点が多い。

たとえば、Plasmin 活性に対する阻害剤の作用基が質によって異なることなどから見ても、Plasmin という酵素は一つのものでなく、酵素活性は同一で分子構造の異った Plasmin が二つ以上形成されている酵素であろうとも想像されるが、現段階にてそれを簡単に定義することは一考を要する問題である。今後、血液化学の進展に伴って

asminogen を精製し, これに Trypsin を作用させて活性化 Plasmin とする方法である.

#### a) 酵 素 性 質

Porcin Plasmin は至適 PH7~8 で, Fibrin, Casein のごとき蛋白質をよく分解する. 分析法は, Casein 基質に PH7.5, 35°C にて Plasmin を作用せしめ, PCA で反応を停止, PCA 溶液の吸収の増加を波長 275m $\mu$  で測定する. この条件下で 20 分間 1 O.D 変化する酵素量を 1 単位とする.

Plasmin は PH6 附近に等電点を有する一種の Globulin で, Kjeldahl 法で測定した N は約 14%, 比活性 7~8 Novo U/mgN である.

酸性溶液では非常に安定であるが, 中性溶液では不安定である. 標品の超遠心による結果は, 殆んど均一で純度は 90~95%, MW は 80000~100000 と推定される.<sup>91)</sup>

#### b) 安 定 性

酸性にした Plasmin 液 (PH1~3) が数ヶ月間安定であるに反し, 中性溶液は非常に不安定である. EACA および塩基性アミノ酸が非常に低濃度においても Plasmin に阻害的に作用することが報告されているが, Belgian PatentNo, 779 では, これらのアミノ酸が比較的高濃度においてのみ阻害的にはたらくが, 低濃度においてはむしろ安定化の性質を発揮することを認めた.

そこで著者らは,<sup>92)</sup> 中性において Porcin Plasmin が安定性, 溶解性において悪く, 水溶液で臨床に応用できない為, 塩基性アミノ酸の一種である Lysine を Novo の標品に添加したところ, 溶解度, 安定性を増加させることが出来た. 添加量は, 0.08mM Lysine/UPlasmin を PH7.5 Phosphate buffer に溶解した. その結果, Fig. IX に示すごとく非安定化 Plasmin は 5 時間後で 60% 活性が減少するが, Lysine 安定化 Plasmin は約 20% の減少にとどまった.

今後, この Novo Industry より生産される Porcin Plasmin を用いての臨床的意義が解明されるのもそんなに遠くはないと考えられる.

なお現在, 実験に使用される Plasmin は基質, 阻害物質, 熱等に対する反応態度が必ずしも一致しないことより, Plasmin の多様性が疑われ, 現今では少なくとも, 2~3 種類の Plasmin の存在することが推定されている.<sup>93)94)</sup> また最近, 電気泳動所見より Plasmin の isozyme の存在も報告されている.<sup>95)</sup>

### 7. Plasmin の臨床的意義について

1938 年 MacFarlane<sup>96)</sup> は, 血液に線維素原を欠きしかも出血傾向の著明な一患者に遭遇し, それはその家族にも同様の傾向を持たらしめることを発見した. これが線維素溶解による出血に関連した臨床的な, 報告の最初であった. その後 Plasmin の生物学的意義の解明につれて Plasmin 活性化による出血の臨床例は, 1952 年以後急激に相継いで報告され, 同年 Soulier, Mathey らは肝手術, 人工流産において Plasmin の活性化による致死的な出血について発表した.

Rantnoff<sup>97)</sup> および Stefani<sup>98)</sup> も Plasmin の活性化が紫斑病の直接原因と見なされることを述べ, 経験した臨床例より何れも大量出血が直接 Plasmin の強度の活性化によることを知り, これらは従来の止血剤, ヘパリン, デクマロール等が全く無効であることを発見した.

また Tagnon<sup>69)100)</sup> および Crane<sup>101)</sup> は前立腺癌において, さらに Frick<sup>102)</sup> は癌に, Duchaine<sup>103)</sup> および Wilson & Munnell,<sup>104)</sup> そして Soulier<sup>104)</sup> らは人工妊娠中絶の婦人に著しい出血傾向, 線維素溶解酵素活性の増強, Fibrinogen 量の著減

を認めている。

元来出血という現象は、通常凝固因子ならびに血小板の異常による場合が多いが、たとえこれが正常であつても線溶系の亢進を認めたときは、出血が異常におこってくる。すなわち、Plasmin 活性の上昇が低 Fibrinogen 血症を誘発し血液の凝固機構が障害され、出血の素因となり得ることは十分考えられるところである。

これに関し、Sherry<sup>105)</sup>らは SK 活性化 Plasminogen の静注により血漿の Proteolytic activity が著増することを認め、同時に Prothrombin 量と Fibrinogen 量が低下し血液が全く凝固しなくなることを認めた。<sup>106)</sup>

また Rabe,<sup>107)</sup> Opitz<sup>108)</sup>らの先天性無線維素原血症の症例報告後、後天性急性無線維素原血症が分娩または外科手術の際に併発し、血中の Fibrinogen の顕著な減少と共に Plasmin の著しい活性化がおこり、出血傾向の増大することが報告された。

この傾向は、Weiner<sup>109)</sup>が胎盤早期剝離、胞状奇胎において報告しているが、この場合線溶系現象の亢進の結果か、或は Thromboplastin like substance が血中に移行し、凝固系で Fibrin を消費した為か鑑別に困難な場合が多い。しかし損傷を受けた組織は、たしかに Thromboplastin と Plasminogen を遊離し、Fig. VI に従つて低 Fibrinogen 血症をおこすものと考えられている。

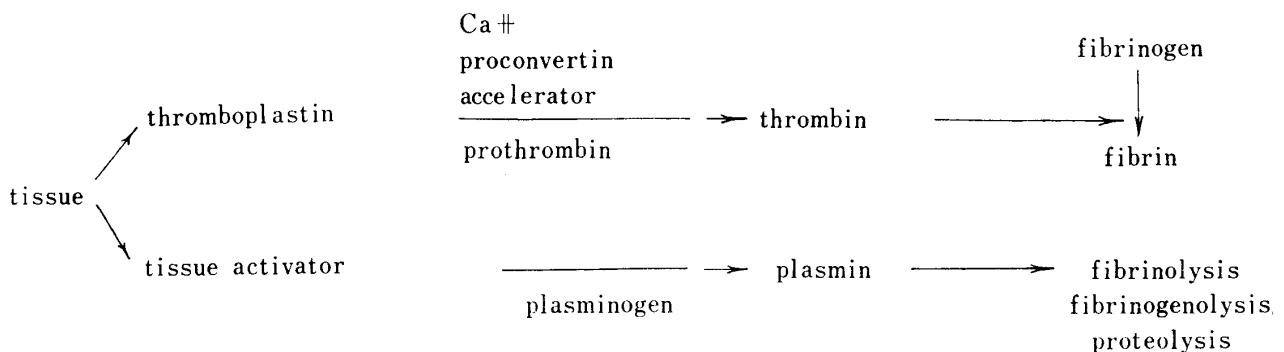


Fig. VI. Action of tissue on blood coagulation and fibrinolysis.

このように Fibrinogen 代謝は、一般に化学炎症、腫瘍に認められ、これについて Mutschler<sup>110)</sup>は実験腫瘍をもつラットでは I<sup>131</sup> fibrinogen の半減期が促進することを報告している。しかもこの場合、EACA 投与により半減期が正常値に戻るとされ、その結果局所線溶の抑制と I<sup>131</sup> fibrin の沈着が予想される。周知のごとく、血中の Plasmin 活性は生理的に局所的と全身的反応の何れかの機作により調節を受け、しかも Antiplasmin とは Fig. VII のごとき平衡を保って存在し、左への平衡移動が出血現象を誘発するものとみなされている。

すなわち出血は、Plasmin 活性の上昇に伴う線溶現象の過剰の結果と考えられるが、岡本はこれをさらに追求し、次のごとく説明している。Plasmin には少なくとも2つの型が存在するとして、何れも SK によって Plasminogen から Plasmin に活性化されるが、その一つは Fibrin を分解し阻害剤 EACA で抑制されるという「Fibrinolysin 型 Plasmin」、他の一つは、同じく SK によって活性化され Casein や TAME を分解し Fibrin 分解作用は弱いか殆んど無く、また EACA で阻害されないいわゆる「非 Fibrinolysin 型 Plasmin」で、前者が紫斑病の発生および出血性素因の Factor に関与するに反し、後者は関連を持たないものであると併記している。<sup>111)</sup> さらに前者では、紫斑病に関して Copley<sup>112)</sup>らが血液の生理学的立場よりイヌの創面出血、或いはウサギの熱

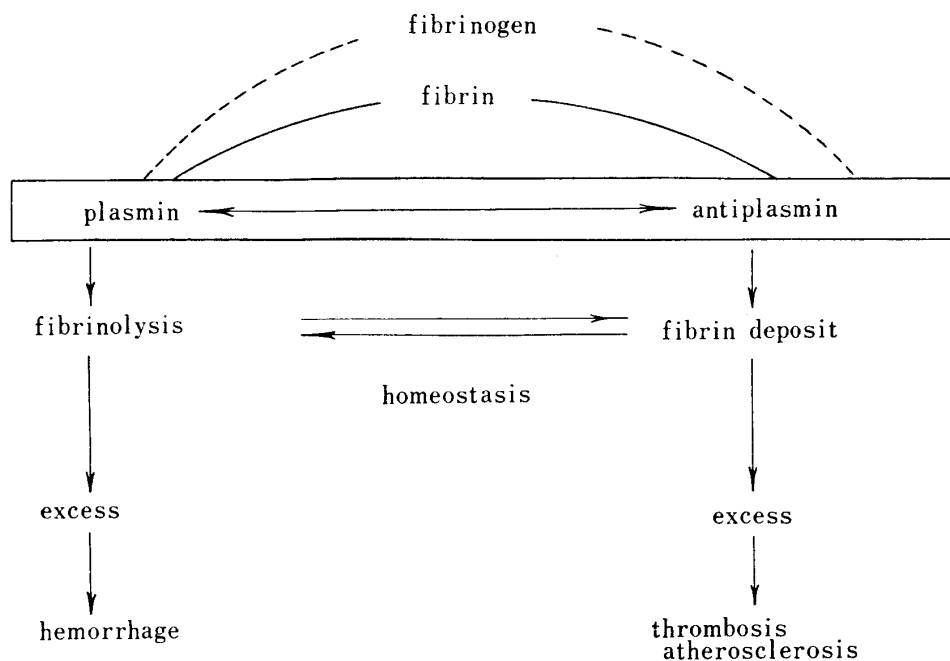


Fig. VII. Hemorrhage and Thrombosis

傷部位での皮下出血の実験より, その循環血の Plasmin が強度に活性化され, それが強い Fibrin 溶解能を示すところから典型的線維素溶解を伴う紫斑病との命名を提示し, 白血病また再生不良性貧血に伴う線溶性紫斑病と区別して強調している.

Fig. VII において右への移動は, Fibrin 沈着をきたす血栓現象への変化と理解される. 従来より, 血管壁の変化が血栓生成因子の一つとして重視されているが, Duguid<sup>113)</sup>らは血管内皮細胞別に Fibrin が沈着し, その結果生じた壁在血栓により血管壁の脂肪変性を召来し血栓が持続されると主張している. Fibrin 沈着と壁在血栓の因果関係については多くの議論があるが, 何れにしても Plasmin-Antiplasmin 平衡の移動が血栓形成に影響をおよぼすことは確かであり, 血栓の生成は抗線 溶能を亢進する ACTH, Cortisone によっても多く認められている.

これについて Mole, Astrup<sup>114)</sup>は, Plasmin 活性の低下時組織が損傷を受けた場合, Thromboplastin が放出され, 血管壁に持続的に沈着した Fibrin が血管壁の内膜および中膜への血流を妨害し, Nekrose およびそれに伴う反復機転が働きその結果, 結合織の増殖, 硬化を見ると解き, 動脈硬化病変の第一段階としてその意義の重大性を強調している. また冠状脈硬化病症の中にも, Antifibrinolytic 活性の増加が顕著なものと云われている.<sup>115)</sup>最近, 大根田は,<sup>116)</sup>高血圧実験において動脈壁の I<sup>131</sup> fibrinogen の回転が著しくなりそれが EACA で抑制されることから, 動脈壁の Plasmin 活性が亢進し, その結果血管内膜の透過性が増進, Fibrin が血管壁内に侵入して動脈硬化病を惹起するであろうと述べている.

逆に Fearnly<sup>117)</sup>らは, 流血中の Antiplasmin の増加がその原因になると云う立場を示している.

また Back<sup>118)</sup>らは, 別の見解より血圧との関係を検討している. すなわち Kline<sup>119)</sup>の方法により分離精製したヒト Plasminogen を SK で活性化し, イヌに静注したところ活性化 Plasminogen は血圧の下降を来たし, その血圧降下は Plasmin 量と並行する旨を確認した. このことは, Plasmin が血漿蛋白より遊離される血中降圧物質の為であろうと推論されている.



Plasmin→Antiplasmin への平衡移動の結果，招来した Fibrin 沈着が血栓の形成を促進し，それがひいては動脈硬化症を惹起すると云う一連の論説は，臨床的意義の効用からすれば仮説の域を脱し得ない向きも多々存在すると推察されるが，少なくとも血栓症が線溶系に帰因するものであらうと云う考えは多くの臨床例によって証明されている．血栓を溶解するには，大別して Plasmin 製剤と Activator 療法の二つが注目されるが，その中で Plasmin 投与は，生体内にて Antiplasmin と結合すると考えられる為，その効果に疑問が持たれるがこれについて Ambrus<sup>120)</sup> は，Plasmin-Antiplasmin 結合体は血栓部位，すなわち Fibrin 沈在部にて再び解離すると考えられ，陳旧な血栓に対してはその効果は無いとしている．

しかし，Astrup は血栓の新旧に関係なく効果があるとしている．また Activator 療法に関しては，Alkjaersig は血栓中 Plasminogen の活性化が血栓治療のポイントであると解き，Plasminogen activator の投与を推奨している．それには，例へば SK が注目されるが，その場合標品精度と抗体の存在が問題となる．

また一方目を転じて，Plasmin が一種のショック酵素であるとする概念は，古く Nolf が Plasminogen より Plasmin への形成を，ショック現象と関連付けたのに初まった．その後，MacFarlane<sup>121)</sup> が，精神的疲労においても Plasmin の活性化を認めた旨を報告し，また Ungar<sup>122)</sup> は 1947 年，in vitro にて抗原抗体反応をこころみ，その際 Plasmin の活性化が亢進することを確認し，Plasmin とアレルギーの相関についての有望な示唆を示した．

事実，外傷性，出血性ショックおよびアナフィラキシーショックにおいて Plasmin 作用が出現することは，多くの論説の一致するところであるが，線溶現象とショックとの因果性については議論が分かれている．これについて MacFarlane<sup>123)</sup> は，線溶現象はショックを誘発するとは考えられないと述べ，また逆に，Rocha e Silva<sup>124)</sup> らは，Plasmin によってヒスタミン様のペプチドが生成され，それによってアナフィラキシーショックが惹起されることを提示し，これは Ungar<sup>122)</sup>，北村らによっても強く支持されている．

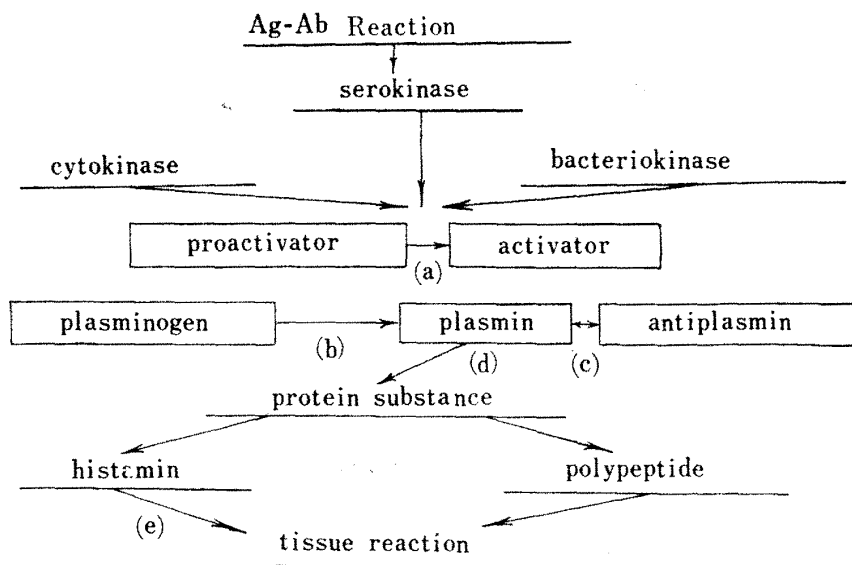


Fig. VIII. Action of plasmin on allergic tissue reaction and inflammation.

そこで Ungar<sup>122)</sup> は, Fig. VIII のときメカニズムを示し Plasmin によるアナフィラキシーの発生機序を説明した. また実験的にも, Plasmin 或いは Trypsin を注射するとショックが起こることが報告されているところから, 線溶現象が二次的にショックの誘発に意義を示すものであることは疑いのない論説であると思われる.

それでは, 線溶現象の二次的な生理作用とは如何なることであろうか. それについて Rocha e Silva<sup>123)</sup> は, serum globulin を他の, Protease (Proteolytic enzyme) にて分解した結果, 平滑筋刺激作用を有するペプチドが生成されることを発見し, それらに bradykinin の呼称を与え, また畔柳も, 蛋白質から毛細管透過性亢進因子を含むポリペプチドが遊離されるとし, これがアレルギー性組織反応に何んらかの意義を有するものであることを提唱した.

bradykinin の発見以来, 血漿蛋白質の分解物が注目されるに至り, 1957年 G, P, Lewis<sup>125)</sup> は, Plasmin を血漿蛋白に作用させると, 血管拡張, 腸管収縮をおこすポリペプチドが生成されることを見出し, 一括して plasmakinin<sup>126)</sup> と命名し, この生理的活性を有する peptide が, アレルギーの誘発に関与する作用因子であることを提唱した.

すなわち, 彼は plasmakinin 形成に関与する酵素群を, 作用上の遅速面より, また Plasmin inhibitor による態度より区分し, その一つとして, 唾液, 涙液等の quick acting enzyme<sup>127)</sup> は, Antiplasmin, Soy bean trypsin inhibitor<sup>127)</sup> によって抑制されず, 腺活動において速やかに plasmakinin を形成し, 血管拡張に関与するものであるとの推論を下した.

一般の Plasmin 類は, slow acting enzyme で Plasmin 抑制物質によって阻害され, これは病的症状に大いに関係するものであるとしている. 換言すれば, 組織傷害→ヒスタミン様物質が遊離→血管透過性亢進→Plasminogen が循環系より細胞間液に移動→Plasmin→plasmakinin 生成と云う機構によって, その作用が示されるものと見なしている. また, これとは別に, 岡本<sup>128)</sup> は Fibrinogen を Plasmin で分解すると或る血管作用因子が生成されることを見出し, F因子と仮称, これは摘出腸管を強く収縮すると同時に, 毛細管の透過性を

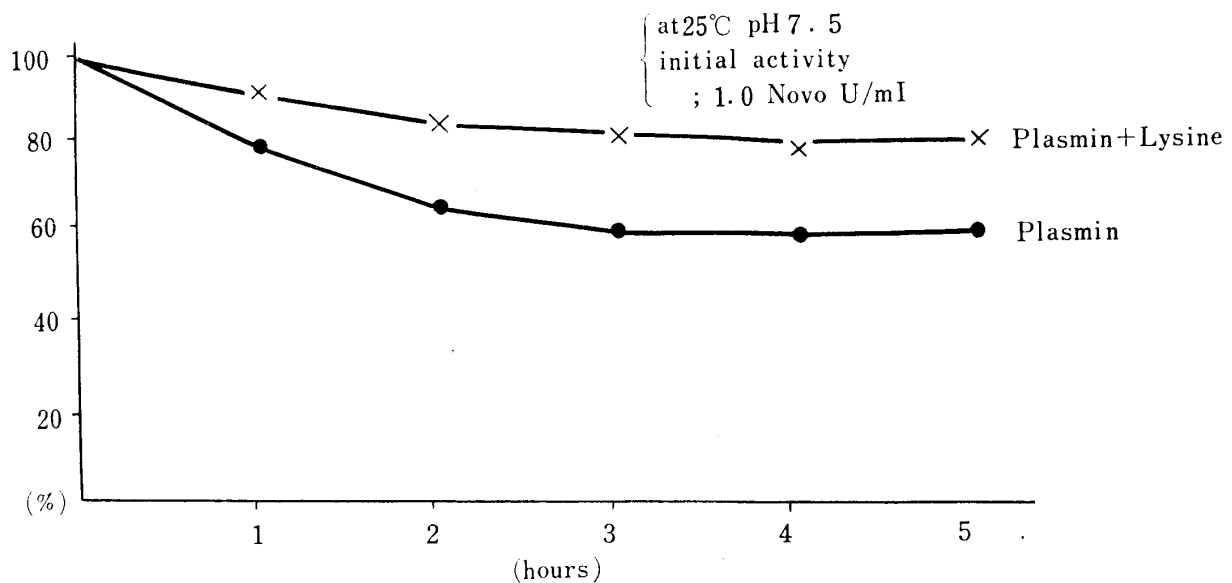


Fig. IX. Stability of Porcin Plasmin.

亢進させる一因子があると報告している。さらに彼は、動物実験を行ない、このような血管系の一過性循環障害を招来するF因子は、LewisのPlasmakininとは抗ヒスタミン剤に対する拮抗作用の面で区別されるものであり、またRocha e Silvaのbradykininは、F因子よりむしろLewisのplasmakininと類似していることを附記している。

北村<sup>129)</sup>もヒスタミン様物質の遊離を報告している。このように、Plasminの活性上昇は、単に血液の凝固機構が障害を受け出血の素因となるに止まらず、アレルギーショックとの相関において、分解物ポリペプチドの生理作用の意義をわずかながらも解明させ、その生物学的活性は二次的に脈管系の異常を誘発する血管障害因子として注目されるに至った。また最近の研究によれば、血管壁と流血の接触面に薄い流血フィルムがあり、微細なFibrin形成とこの崩壊がPlasmin系酵素の動的な平衡によって調節されており、この平衡の破れた時に血栓の形成が生じ病態を惹起するとの説が唱えられている。この様に循環器系疾患発生と密接な関係を有するPlasmin<sup>130)131)</sup>は、さらにLipoprotein Lipaseと類似した脂血症の清澄作用をも有することが山本、佐々木らにより報告され<sup>132)</sup>、脂質代謝にも影響をおよぼす可能性を示している。しかし、その生理的、病理学的意義は、未だ不十分な現状で今後の研究にまつべき問題が多く残されていると云えよう。

### おわりに

最近、臨床酵素として注目を浴びてきているPlasminについて著者らの知見も入れ、その解説をこころみた。Plasminと線溶現象の研究が世界で初めて行われて以来30余年を数えるが、特に近年の研究成果は目を見張るべきものが多く、長足の進歩を遂げたと云えよう。もとより生体内の線溶現象は、動的平衡の中に保たれており、それをあらゆる角度から常に総合的に理解し、それに沿った研究として進められなければならない。そして今後一層の研究発展により、Plasminと線溶現象の臨床的意義が一步一步解決されることを望んで止まない。

### 文 献

- 1) Dastre, A; Arch de physiol. Norm et path. Paris, **5**, 661 cited from (9)(1893)
- 2) Nolf, P; Arch, Intern de physiol. **3**, 1(1905)
- 3) Tillet. W.S and Garner, R.L; J. Exp. Med. **58**, 485(1933)
- 4) MacFarlane, R.G; Lancet, **1**, 10(1937)
- 5) 大柴; 第3回プラスミン研究会報告集 p2(1964)
- 6) White, W.F; J.A.C.S **79**, 1141(1957)
- 7) Kline, D.L; J. Biol. Chem. **204**, 949(1953)
- 8) Astrup, T; Lancet, 565(1956)
- 9) vonKaulla, K; Acta. haematol, **16**, 315(1956)
- 10) MacFarlane, R. G; Blood, **3**, 1167(1948)
- 11) Steffanii. M; The Hemorrhagic Disorders(1955)
- 12) Biggs, R; Human Blood coagulation and its Disorders, second edition 1957.  
Charles, C, Thomas, Springfield I 11.
- 13) Westphal, U; Proc. Soc. Expll. Biol. Med, **75**, 862 (1950)
- 14) Niewiarowski, S; Thromb. et Diath. Haemorrh, **3**, 593 (1959)
- 15) Latridis, G. G; J. Clin. Invest, **41**, 1277 (1962)

- 16) Milstone, H; J. Immunol, **42**, 109 (1941)
- 17) Müllertz, S; Acta Physiol, Scandinav, **38**, Suppl. 130 (1956)
- 18) Astrup, T; Blood, **11**, 781 (1956)
- 19) Soulier, J. P; Constant occurrence of fibrinolysis during acetylcholine induced shock Sang, **19**, 362 (1948)
- 20) Kwaan, H. C. Lo. R; Clin. Sci., **16**, 225 (1957)
- 21) Weiner, M; Proc. Soc. Exptl. Biol. Med, **98**, 755 (1958)
- 22) vonKaulla, K; Intravenous protein free pyrogen, Circulation, **17**, 189 (1958)
- 23) Ungar, G; Endocrinology, **49**, 805 (1951)
- 24) Gray, E. J; Endocrinology, **52**, 228 (1958)
- 25) Moll, F. C; J. Exp. Med, **103**, 363 (1956)
- 26) Blatt, W. F; Circulation Research, **6**, 314 (1958)
- 27) Schaefer, E. H; Proc. Soc. Exper. Biol. Med, **98**, 354 (1958)
- 28) Melchior, J. B; Cancer Reserch, **14**, 677 (1954)
- 29) Innerfield, I; Enzyme in clinical Medicine, 1960 McGraw-Hill Book Co, New. York
- 30) Jensen, H; Exper. Med. & Surg, **14**, 189 (1956)
- 31) Ablondi, F. B; The Enzymes, **4**, 175 (1960)
- 32) Kline, D. L; Ann, New. York. Acad. Sci, **68**, 25 (1957)
- 33) Westphal, U; Proc. Soc. Exptl. Biol. Med, **75**, 862 (1950)
- 34) Walton, P. L; Private communication (Okamoto)
- 35) Astrup, T; Arch. Biochem. Biophys, **40**, 346 (1952)
- 36) Lassen, M; Acta. Physiol. Scandinav, **27**, 371 (1952)
- 37) 岡本; 臨床病理, **11**, 500 (1963)
- 38) Astrup, T; Lancet, 565 (1956)
- 39) de Duve, C; Biochem. J, **60**, 604 (1955)
- 40) Astrup, T, and Permin, P. M; Nature, **159**, 681 (1947)
- 41) Sugiyama, Y; Kobe. J. Med. Sci, **10**, 257 (1964)
- 42) Tagnon, H. J; Proc. Soc. Expl. Biol. and Med, **70**, 359 (1949)
- 43) Schneider, W. C; J. Biol. Chem, **176**, 259 (1948)
- 44) Tagnon. H. J and Palade, G. E; J. Clin. Invest, **29**, 317 (1950)
- 45) Claude, A; J. Exper. Med, **84**, 61 (1946)
- 46) Lewis, J. H, and Ferguson, J. H; J. Clin. Invest, **29**, 1059 (1950)
- 47) Sasaki, Y; Keio. J. Med, **8**, 235 (1959)
- 48) Lack, C. H, and Ali, S. Y; Nature, **201**, 1030 (1964)
- 49) Miura, M; Kobe J. Med. Sci, **11**, 13 (1965)
- 50) Trowell, O. A; Exp. Cell. Research, **16**, 118 (1959)
- 51) Fantl, P, Fitzpatric, M; Brit. J. Exp. Path, **31**, 131 (1950)
- 52) Albrechtsen, O. K; Acta. Physiol. Scand, **47**, 78 (1959)
- 53) Takada, A; Keio. J. Med, **13**, 187 (1964)
- 54) Okamoto, S; 日本皮膚科学会雑誌, **73**, 474 (1963)
- 55) Takada, A; Keio. J. Med, **14**, 37 (1965)
- 56) Kira, S; Subjected to be published in Kobe. J. Med. Sci.
- 57) Lack, C. H; Brit. Med. Bull, **20**, 217 (1964)
- 58) Mihara, H; In press, Kobe. J. Med. Sci.

- 59) Kinjo, K; Kobe, J. Med. Sci, **9**, 151 (1963)
- 60) Funahara, Y; Subjected to be published in Kobe, J. Med. Sci.
- 61) Mirsky, I. A; J. Clin. Invest, **38**, 14 (1959)
- 62) Mounter, L. A; J. Biol. Chem, **231**, 855 (1958)
- 63) Jobling, J. W; J. Exp. Med, **23**, 401 (1915)
- 64) Rosenmann, M; Biochem. Z, **296**, 186 (1938)
- 65) Mitsubishi kasei Kogyo Co. Ltd; Refer to British Patent, 1957, No, 770, 693, field in 1953  
Okamoto, S, Nagasawa, F, etal; Refer to United States Patent, 1960, No 2939 817, field in 1953
- 66) Ablondi, F. B; Arch. Biochem. Biophys, **82**, 153 (1959)
- 67) Alkjaersig, N; J. Biol. Chem, **234**, 832 (1959)
- 68) Nagamatsu, A; J. Biochem, **54**, 491 (1963)
- 69) 村松; 第16回酵素化学シンポジウム (1964)
- 70) Kaula, K. N; Klin. Wschr, **31**, 40 (1953)
- 71) Miller, J. M; A. M. A. Arch of Surgery, **78**, 33 (1959)
- 72) Sato, S; Keio, J. Med, **8**, 267 (1959)
- 73) Okamoto, S; Keio. J. Med, **8**, 247 (1959)
- 74) Oneda, G; 第1回日本脈管学会特別講演 (1960)
- 75) Zweifach, B. W; J. Exper. Med, **113**, 437 (1961)
- 76) Sarker, N. K; Proc of the 4 th Inter. Cong of Biochem, 165, Vienna, (1958)
- 77) 横井; 日本生理学雑誌 **22**, 1098, 1103, 1109 (1960)
- 78) Okamoto, S; Keio. J. Med, **11**, 105 (1962)
- 79) Oshiba, S, and Okamoto. S; Ibid, **11**, 117 (1962)
- 80) 万行; 生化学, **36**, 735 (1964)
- 81) Ablondi, F. B, & De Renzo, E. C; Proc. Soc. Expl. Biol. Med, **102** 717 (1959)
- 82) Mihara, H; Kobe. J. Med. Sci, **9**, 169 (1963)
- 83) Nagamatsu, A; Metabolism and Disease, **2**, 200 (1965)
- 84) Cacciola, E; Bull. Soc. Ital. Biol. Sper, **37**, 1179 (1961)
- 85) Okamoto, S; Keio. J. Med, **13**, 177 (1964)
- 86) Johnson, A. J; Fed. Proc, **22**, 442 (1963)
- 87) Astrup, T; Nature, **169**, 314 (1952)
- 88) Lewis, G. P; J. Physiol, **140**, 285 (1958)
- 89) Astrup, T; Nature, **165**, 565 (1951)
- 90) 永松; 第11回日本生化学会九州支部会 (1964)
- 91) 杉浦, 田中; 未発表
- 92) 杉浦, 田中; 未発表
- 93) 大柴; 第3回プラスミン研究会報告集, 2 (1964)
- 94) 岡本, 山村; 第4回プラスミン研究会報告集2 (1964)
- 95) 山村; 第27回日本血液学会総会発表 (1965)
- 96) MacFarlane R. G; Lancet, **234**, 309 (1938)
- 97) Ratnoff, O. D; J. Clin. Invest, **31**, 521 (1952)
- 98) Stefanini, M; Blood, **7**, 10 (1952)
- 99) Tagnon, H. J; Cancer, **5**, 9 (1952)
- 100) Tagnon, H. J; Cancer, **6**, 63 (1953)
- 101) Crane, J. J; J. Urol, **73**, 379 (1955)

- 102) Frick, P. G; Acta. haemat. Basel, **16**, 11 (1956)
- 103) Duchaine, P; Am. J. Obst, **73**, (6)1195 (1957)
- 104) Soullier, J. P; Rer. Haemat, **95**, 531 (1952)
- 105) Sherry, S; Tran. Assoc. Am. Physicians, **70**, 288 (1957)
- 106) Grossi, C; Blood, **9**, 310 (1954)
- 107) Rabe, F; Dtsch. Arch. Klin. Med, **132**, 240 (1920)
- 108) Opitz, H; Dtsch. Med. Wschr, **47**, 504 (1921)
- 109) Weiner, A. E; Am. J. Obestr & Gynec, **60**, 379 (1950)
- 110) Mutschler, L. E; Proc. Soc. Exp. Biol. Med, **115**, 1019 (1964)
- 111) 岡本; 日本皮膚科学会雑誌**73**, 474 (1963)
- 112) Copley, A. L; Arch interm Pharmacodyn, **99**, 426 (1954)
- 113) Duguid, J. B; Brit. M. Bull, II 36 (1955)
- 114) Mole, B; Brit. M. J, **1**, 1343 (1949)
- 115) Guest, M. M; J. Clin. Invest, **27**, 793 (1948)
- 116) 大根田; 日本臨床, **17**, 711 (1959)
- 117) Fearnley, C. R; Nature, **172**, 544 (1953)
- 118) Back, N; Circulation. Res, **4**, 440(1956)
- 119) Kline, D. L; Yale J. Biol & Med, **26**, 365 (1954)
- 120) Ambrus, C. M; Fed. Proc, **19**, 59 (1960)
- 121) MacFarlane, R. G; Fibrinolysis. Blood, **3**, 1167 (1948)
- 122) Ungar, G; J. Exp. Med, **90**, 39 (1949)
- 123) Rocha e silva, M; Am. J. Physiol, **156**, 261 (1949)
- 124) 北村; アレルギー **7**, 367 (1959)
- 125) Lewis, G. P; J. Physiol, **135**, 7 (1957)
- 126) Lewis, G. P; J. Physio, **140**, 285 (1958)
- 127) Lewis, G. P; J. Physiol, **147**, 458 (1959)
- 128) Okamoto, S; 最新医学, **16**, 1359 (1961)
- 129) 北村; 昭和35年文部省総合研究報告 (1961)
- 130) 太田; 医学のあゆみ, **51**, 453 (1964)
- 131) Astrup, T, 松岡; 興和医報, **7**, 6 (1963)
- 132) 山本, 佐々木; 臨床と研究, **43**, 377 (1966)

---

杉浦 衛, 市原嘉夫, 酒井利侑: 酵素剤の研究 (18) \*<sup>1</sup>

軟膏剤中の各種起源酵素の活性変化について\*<sup>2</sup>

Mamoru Sugiura, Yoshio Ichihara, Toshiyuki Sakai: Studies on Enzyme Preparations. (XVIII) on the Enzyme Activity of Various Origin Enzyme in Ointment Agents.

---

\*<sup>1</sup> (17)報は薬剤学投稿中

\*<sup>2</sup> 本研究は昭和40年11月東海薬学会総会において発表した。