

トロンビン注入による disseminated intravascular coagulation (DIC) の実験的研究

岡山大学医学部第二外科 (主任: 砂田輝武教授)

星 合 清 輝

(昭和51年9月8日受稿)

内容目次

- I 緒 言
- II 実験方法
 - II-1 実験手技
 - II-1-1 実験動物及びトロンビン注入方法
 - II-1-2 腎組織採取方法
 - II-1-3 尿採取方法
 - II-2 検査項目及び測定方法
 - II-2-1 腎組織検査
 - II-2-2 血液凝固系検査
 - II-2-3 血液線溶系検査
 - II-2-4 尿中線溶活性の測定
- III 実験成績
- IV 考 案
- V 結 語

症候群 hypercoagulability syndrome,¹⁾消費性凝固障害 consumption coagulopathy²⁾等であり,最も適確に病態生理を表現しているのは血管内凝固・線溶症候群 syndrome of disseminated intravascular coagulation-fibrinolysis であるが,今日では主として DIC の名称が広く用いられている。³⁾

さて DIC の反応の場が血液凝固系とこれにひき

第1表 DIC の病因 (誘発因子)
Müller-Berghaus¹⁾

1. Bacterial endotoxin
2. Particulate or colloidal matter
3. Antigen-antibody complex
4. Hypocirculation
5. Tissue thromboplastin
6. Intravascular hemolysis
7. Endothelial damage
8. Proteolytic enzymes

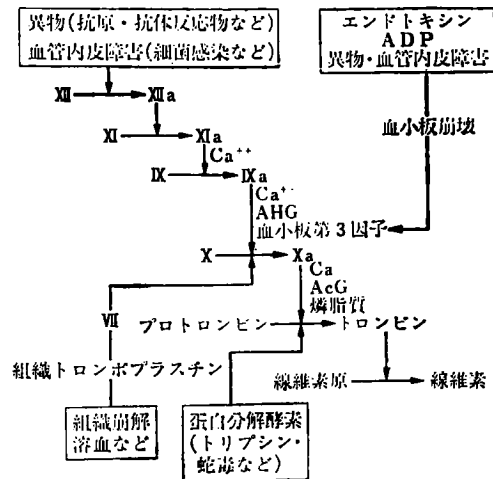
I. 緒 言

近年血液凝固と線維素溶解現象 (線溶) を軸として,血液学,病理学,さらに臨床各分野から注目されている一つの病態生理として統合された概念がある。

血液は血管系,凝固系及び線溶系の相互のバランスの上に流動性を保っているが,ある種の病的状態では,第1表に示すようないくつかの病因で¹⁾血液凝固系が活性化され,血管内で微小血栓が全身的に発生する。これが血管内血液凝固症候群 disseminated intravascular coagulation (DIC) と呼ばれる概念である。

DIC は多くの研究者の報告に基づいて,次の様な多くの同義語があり,それぞれに本症候群の病態の一面を表現しているがいずれも充分な術語とはなっていない。すなわち無線維素原血症 afibrinogenemia,²⁾線維素原病症 fibrinogenopathy,³⁾血管内凝固亢進

図1 凝固機序と誘発因子の作用点



続く線溶系であることは上に述べたところである。血液凝固系については、今日では Macfarlane⁷⁾ や Davie⁸⁾ らによって体系づけられた凝固機序があるが、この機序のどの段階から凝固が始まるかは第1表に示した誘発因子の種類によって作用点が異なるためまちまちである。これらの関係を大まかに示したものが第1図である。

一方線溶現象とはフィブリノーゲンまたはフィブリンが蛋白分解酵素であるプラスミンによつて分解される現象である。そしてフィブリノーゲンが分解される反応を fibrinogenolysis (一次線溶) といい、フィブリンの分解される反応を fibrinolysis (二次線溶) と呼び、その分解産物として前者からフィブリノーゲン分解産物 fibrinogen degradation product (FgDP)、後者からフィブリン分解産物 fibrin degradation product (FDP) ができる⁹⁾

そこで DIC においては fibrinolysis (二次線溶) によつて生ずる分解産物 (FDP) を検出することが、生体内で近い過去にフィブリンが生じたことを物語り証拠となるために特に意義がある。

これまで述べた如く DIC の誘因と凝固機序の関係は種々複雑であるが、必ず通る過程として血液中のフィブリノーゲンからフィブリンになる変化があるはずである。そこで著者はフィブリノーゲンの活性化因子であるトロンビンを動物の血管内に注入し、最も単純な DIC のモデルをつくりその本態であるフィブリン沈着物の出現と消失の過程を腎組織で観察し、血液凝固系及び線溶系との関係を経時的に検討した。さらに線溶系検査と関連して尿中プラスミン・アクチベータ (ウロキナーゼ) の測定を行い検討を加えた。

II 実験方法

II-1 実験手技

II-1-1 実験動物及びトロンビン注入方法

II-1-1-1 実験動物

雑種成犬で体重 9~15kg, 原則として雄を用いた (正確には性別を分けていないが、雌を用いる場合は非妊娠犬を使用した)。

II-1-1-2 麻酔及びトロンビン投与経路

pentobarbital sodium 25mg/kg で静脈麻酔を行い、気管内挿管後 room air で調節呼吸を行った。シリコン処理を施したポリエチレン・カテーテルを左頸動脈から挿入し、その先端部を下行大動脈に留置した。これに動脈内持続注入ポンプ (早川電機、

SIP-11) を設置した。

II-1-1-3 トロンビン投与量及び注入時間
牛トロンビン (持田) を生理食塩水に溶かし、体重あたり 50 単位を 30 分間で注入した。

II-1-1-4 採血方法及び採血時間

シリコン処理ポリエチレン・カテーテルを上大静脈に留置し、カテーテル内の血栓形成を防ぐために生理食塩水の点滴静注を行い、三方括栓から採血した。採血時間はトロンビン注入前値、注入開始後 10 分、20 分、30 分、45 分、60 分、90 分、120 分である。

II-1-2 腎組織採取方法

上に述べたトロンビン注入を行いながら、左側腹部の小切開で開腹し、採血時間に合わせて経時的に腎皮質から小片を採取し、採取部位に縫合糸をかけ止血した。

II-1-3 尿採取方法

同じくトロンビン注入を行いながら、右側腹部を開腹し尿管上部からシリコン・カテーテルを腎盂内に留置し、経時的に採尿した。

II-2 検査項目及び測定方法

II-2-1 腎組織検査 (フィブリン沈着の観察)

標本採取後直ちに 10% フォルマリン液で固定し、フィブリン特異染色法である phosphotungstic acid hematoxylin (PTAH) 染色及び hematoxylin & eosin (HE) 染色を施した。フォルマリン固定標本にも適用できる PTAH 染色法として、染色過程でヨード化を行う前に第 2 表に示す Anderson 氏液を用いる染色方法をとった。

II-2-2 血液凝固系検査

II-2-2-1 全血凝固時間: Lee-White 法

II-2-2-2 血小板数: Rees-Ecker 直接法

II-2-2-3 フィブリノーゲン量 (フェノー

第 2 表 Anderson 氏液

a 液	亜硫酸ナトリウム	10g
	蔞酸	5g
b 液	蒸留水 100ml で溶かし上清みを使用	
	結晶ヨード	5g
	ヨードカリ	10g
c 液	蒸留水	100ml
	塩化第二鉄	5g
	蒸留水	100ml

使用前 a 液 25ml と b 液 25ml に

氷酢酸 2.5 ml を加える。

さらに c 液 50ml を混合する。

ル試薬法) : Ratnoff-Menzie 法を真木⁶⁾が改変した方法によつた。

II-2-2-4 プロトロンビン時間 : Quick 一
段変法

II-2-2-3 血液線溶系検査

II-2-2-3-1 オイグロブリン溶解時間¹¹⁾

2重蔞酸0.4ml に対し血液3.6ml の割合に採血し、3000回転 4分間遠沈し血漿を分離する。50ml 入りフラスコに10ml の蒸留水を入れ、これに血漿 1ml を入れ泡立たせないよう振りながら炭酸ガスを4分間表面に流す。白濁した液を3000回転 3分間遠沈するとオイグロブリンは沈渣となり分離される。上清み

をすて 1ml の緩衝液、生食水混合液を加えて振ると約 1分間で沈渣は溶解する。この溶液を 2本の試験管に0.3ml ずつ入れ、これにトロンビン液0.02ml を加えて凝固させる。これを37℃恒温槽に入れて凝固してから完全に溶解するまでの時間を測定する。

II-2-2-3-2 serial thrombin time^{6) 12)}

血漿0.1ml を各々 3本の試験管にとり37℃恒温槽に入れ、1本の試験管には直ちにトロンビン溶液 0.2ml (1単位) を吹き込み秒時計を押し、凝固時間を測定する。これが普通のトロンビン時間である。他方の 2本の試験管は15分間および30分間、37℃に保つた後同様にトロンビン時間を測定する。これが

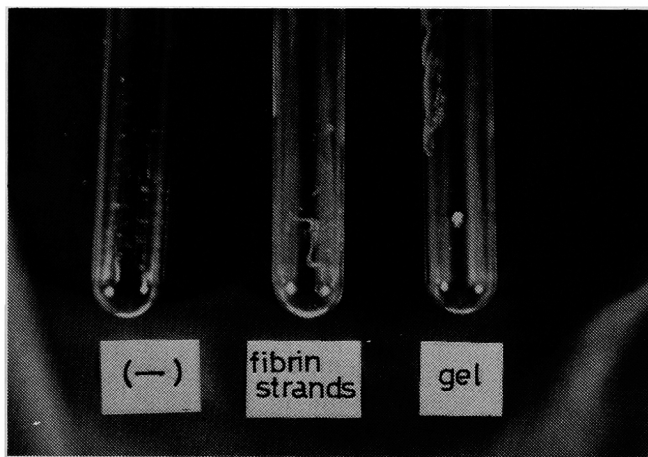
第 3 表 プロタミン試験濃度換算表

Niewiarowski²²⁾

Level in plasma			Protamin Test (final concentration of PS/ml)				
Fibrino- gen	FgDP	FDP (X°)	1 : 5 (1000 μg)	1 : 10 (500 μg)	1 : 20 (250 μg)	1 : 40 (125 μg)	1 : 80 (62.5 μg)
150-170	0.0	200	g	g	g	g	fs
150-170	0.0	100-200	g	g	fs	fs	+
150-170	0.0	50-100	fs	fs	fs	±	-
150-170	0.0	20	fs	fs	+	-	-
150-170	0.0	10	fs	+	-	-	-
150-170	0.0	5	fs	+	-	-	-
0.0	0.0	50-100	g	fs	fs	fs	-
0.0	0.0	20	fs	fs	-	-	-
0.0	0.0	10	fs	-	-	-	-
0.0	0.0	5	-	-	-	-	-

g = gelation } 反応陽性
fs = fibrin strands }
+ = coarse precipitate } 陰性
± = fine " }
- = clear " }

図 2 プロタミン試験の判定 (paracoagulation)



右 2 者が反応陽性

serial thrombin time である。

II-2-3-3 連続希釈硫酸プロタミン試験
serial dilution protamin sulfate test (SDPS)

^{13) 14)} 硫酸プロタミンを生食水で、1:5, 1:10, 1:20, 1:40, 1:80の割合に倍数希釈し、各々の0.2mlと血漿0.2mlを試験管内で混和し30分で判定した。糸状沈澱 fibrin strands とゲル状沈澱 gelation を反応陽性とした(第2図)。なお FDP 濃度への換算は Niewiarowski の示す表に依った(第3表)。

II-2-4 尿中線溶活性の測定

標準フィブリン平板法とプラスミンの証明法として従来使用されてきた加熱平板法に代って、近年開発されたプラスミノゲン・フリー・フィブリンノーゲンによる平板法とを使用した。^{15) 16)}

検体はII-1-3で述べた方法によつて採取した原尿及び血漿であり、各平板に対照として精製ウロキナーゼを用いた。

II-2-4-1 標準フィブリン平板法^{17) 18)}

試 薬

- a. phosphate buffer 0.1M pH 7.2
- b. 牛フィブリンノーゲン(Fraction I, SIGMA 社)
- c. 牛トロンビン(持田, 1000単位/バイアル)
- d. 精製ウロキナーゼ(UK)(ミドリ十字)

方 法

フィブリンノーゲン160mgを20mlのphosphate bufferで溶かす。またトロンビン1バイアル(1000単位)を10mlの蒸留水で溶かし、この溶液2mlにphosphate buffer 20mlを加える。平板に注ぐ直前にこれらフィブリンノーゲン溶液とトロンビン溶液を

図3 腎糸球体フィブリン沈着の経時的変化(PTAH染色)

10分



20分

糸球体血管内にフィブリン沈着が始まる。

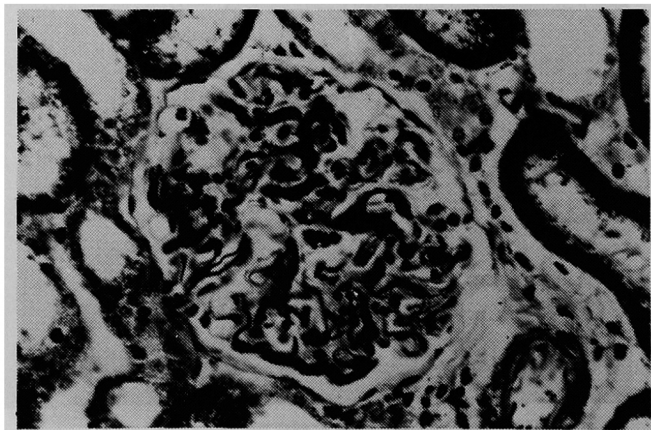
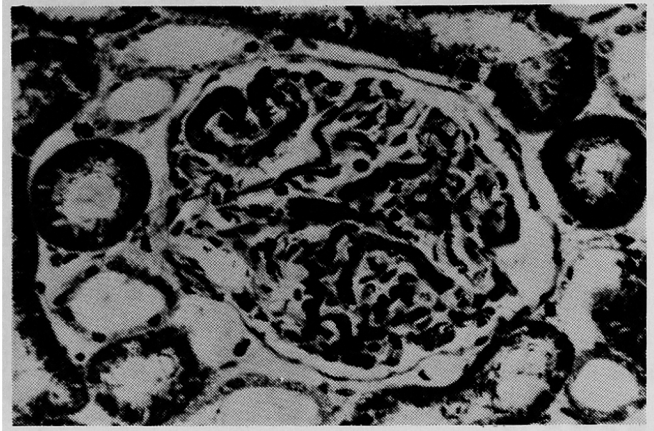
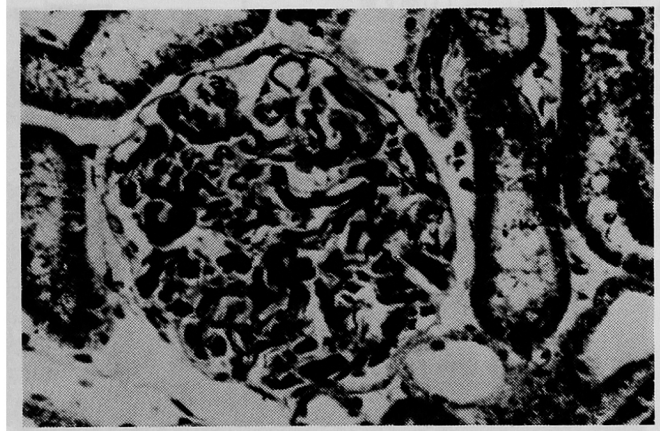


図3 30分



45分
フィブリン沈着が
最も強い



60分

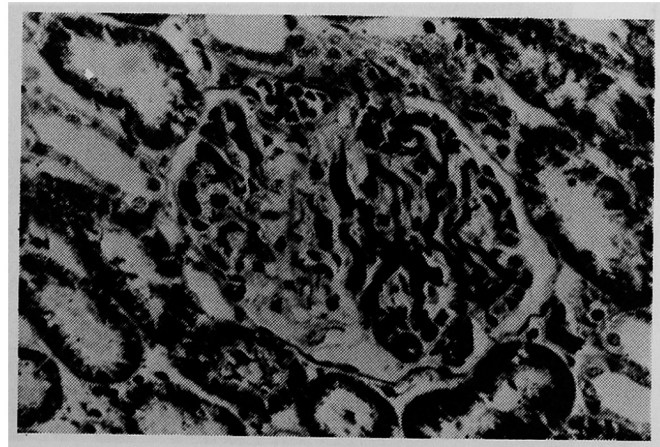
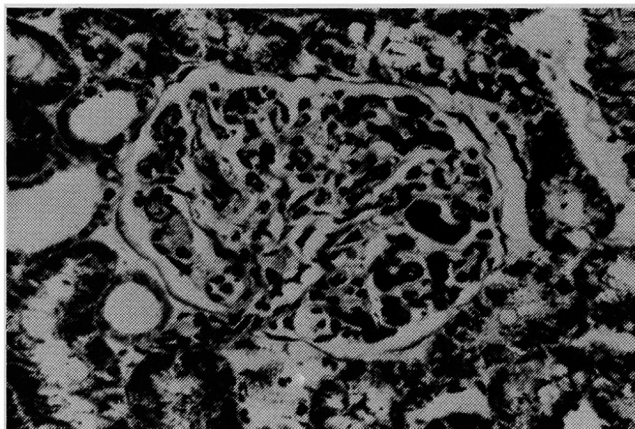
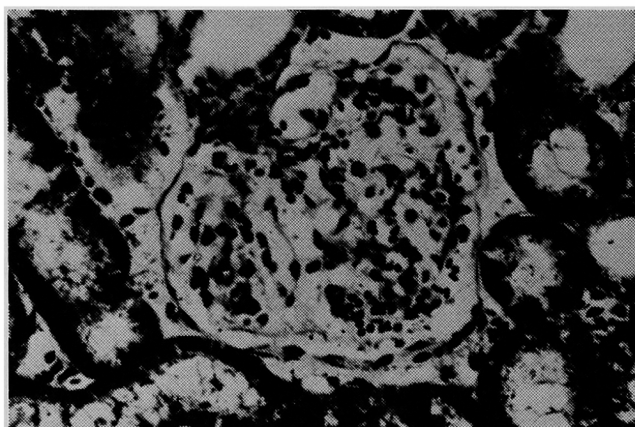


図3 70分

フィブリンが
ほぼ消失



90分



120分

フィブリンが完全
に消失

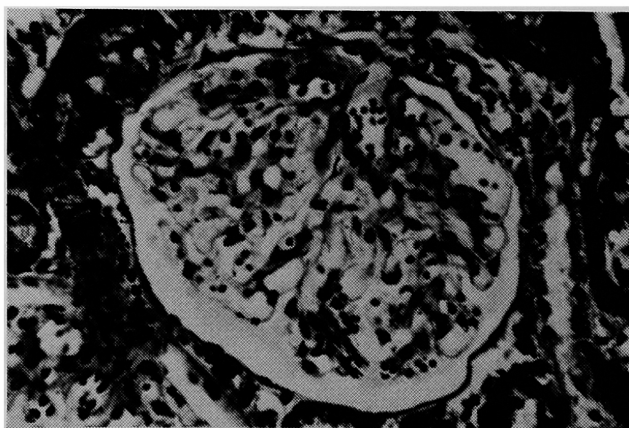
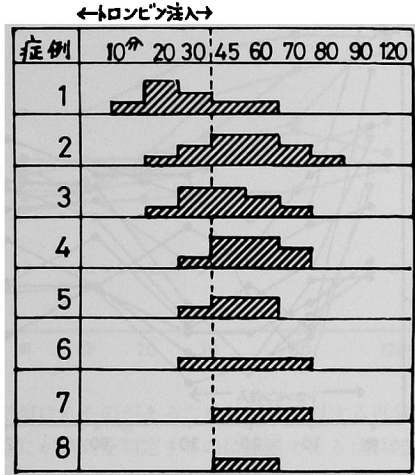


図4 腎糸球体フィブリン沈着の消長 (PTAH染色)



混合し、80×200×25mm 大の平板内で凝固させる。これに検体（尿及び血漿）0.01ml と対照の UK 0.01 ml を滴下する。溶解窓の直角に交わる長・短径の積を溶解面積として表わした。尚測定は室温で18時間後に行った。（第16図）

II-2-4-2 プラスミノーゲン・フリー平板法
試 薬

プラスミノーゲン・フリー・フィブリノーゲン
（第一化学薬品, Lot 405B）

方 法

標準平板と同様の操作で平板を作成し測定した。

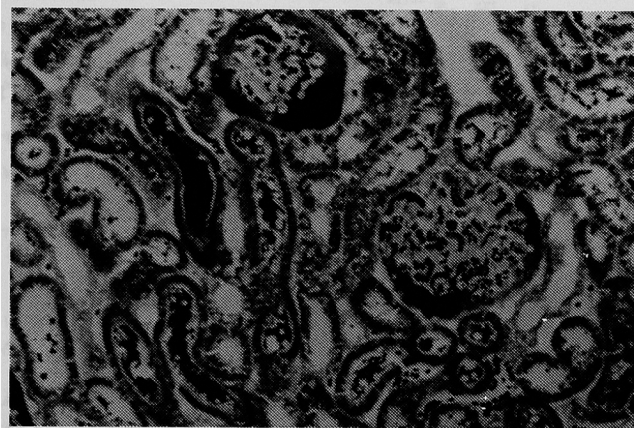
III. 実験成績

III-1 腎組織検査所見（糸球体フィブリン沈着の観察）

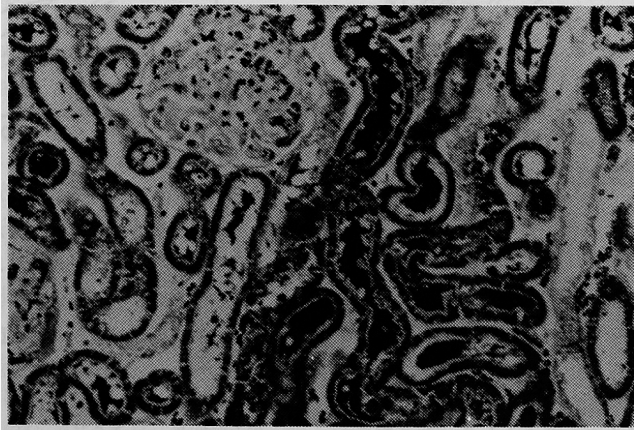
第3図はトロンビン注入早期よりフィブリン沈着の強い症例の糸球体での経時的变化を示したもので

図5 ホーマン囊及び尿管の所見 (PTAH染色)

a.



b.



ある。さらにこのフィブリン沈着の程度を症例毎に次の様に3段階に分けてみた。糸球体を15個以上数えて1段はその数個でフィブリンが沈着しているもの、2段は沈着のあるものとそうでないものがほぼ同数である状態、3段は沈着が軽度のものも含めてほぼ全部の糸球体で見られるものとした(第4図)

トロンビン注入を開始してから20分位で沈着が見られるものと、やや遅れるものがあり沈着の強さには個体差がある。一般に45分から60分の頃に沈着の程度が強いが、90分以内に全例でフィブリンが消失しており急速な変化であることを示している。

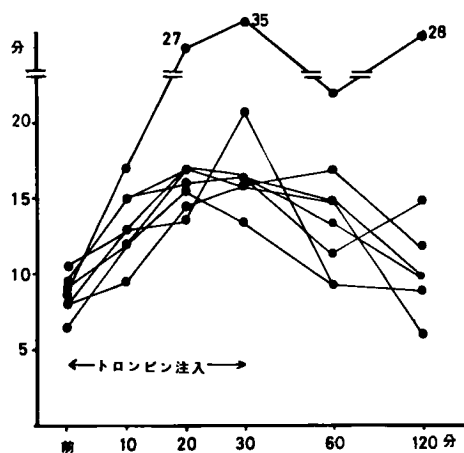
また一部にはフィブリン様物質がポーマン囊に透過していると思われる所見や、さらに尿細管内にフィブリンが集まって塊状となった所見が見られる(第5-a. b 図)

III-2 血液凝固系検査成績

III-2-1 全血凝固時間

徐々に延長するが再び短縮する傾向が見られる。この短縮する理由は、トロンビン注入開始後120分の採血で見られる試験管内 clot は、凝固の初まりを示す gel 状から進行しないものがあり、凝固の完結を判定するのが不能のため凝固の初まりを凝固時間としたためと考えられる(第6図)

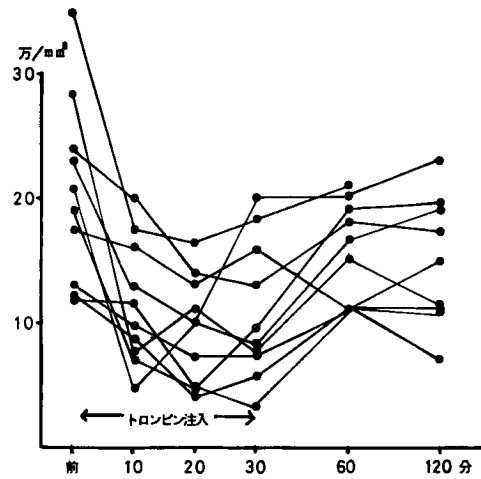
図6 全血凝固時間



III-2-2 血小板数

トロンビン注入直後より著明に減少し、60分経過した頃より増加する傾向が見られる。光学顕微鏡下の観察で、膨化したり血小板特有の緑色の光沢を失った血小板が増えることから、一度凝集したものが再び血流中に戻ったものと考えられる(第7図)

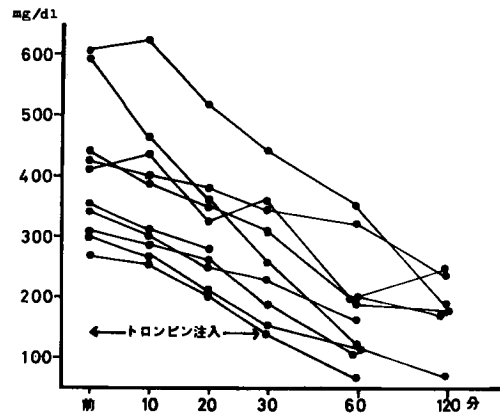
図7 血小板数



III-2-3 フィブリノーゲン量

トロンビン注入開始とともに漸減し、注入終了後もひき続き減少しておりトロンビンの作用が長く続くことを示しているが、一部には線溶現象による分解のためかもしれない(第8図)

図8 フィブリノーゲン量 (フェノール試薬法)



III-2-4 プロトロンビン時間

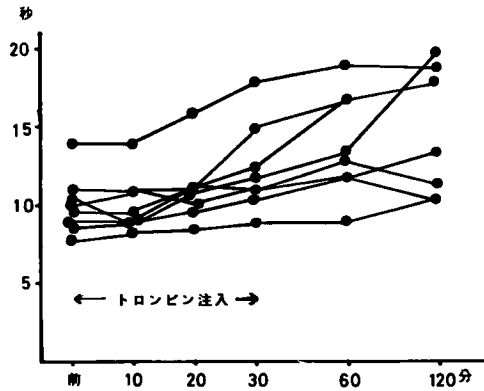
有意の変化を示さない。本実験ではトロンビンを体外から投与したものであるから、凝固機序で1段階上位にあるプロトロンビン因子に変化がないのはうなずける点である(第9図)

III-3 血液線溶系検査成績

III-3-1 オイグロブリン溶解時間

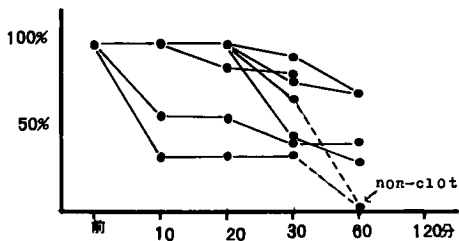
個体差によるばらつきが著明で、前値ですでに10

図9 プロトロンビン時間



数分で溶けるものがあるため、前値に対する百分率で示したが傾向を判定するのに困難である(第10図)

図10 オイグロブリン溶解時間 (前値に対する百分率)



III-3-2 serial thrombin time (S. T. T.)
各症例別にトロンビン時間と対比して15分加温値、30分加温値の変化を示した。(第11-a, b, c 図). 各症例とも有意の変化を示すが、その発症時間に差がありプラスミン活性には個体差があることをうかがわせる。

III-3-3 連続希釈硫酸プロタミン試験

反応が陽性となった時間、その時の FDP の量及び120分値の量を示した。

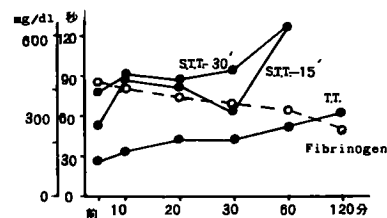
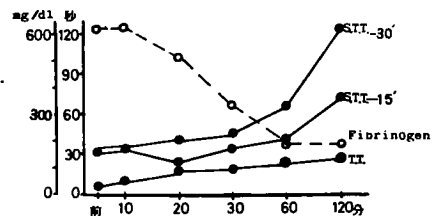
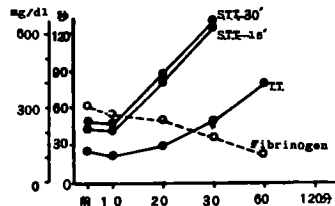
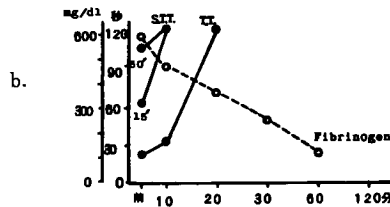
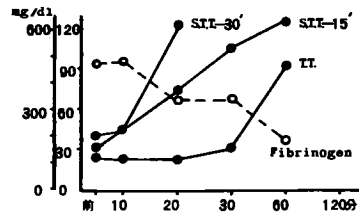
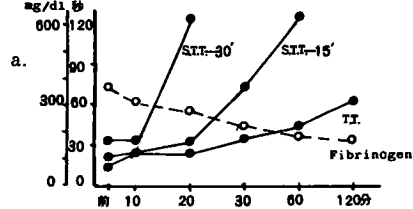
全例で陽性所見を示したが、30分以内に検出され時間の経過とともに反応が増強するもの、60分頃に発生し反応の強さの変らないもの、90分頃に初めて検出できしかも軽度のもの等がある(第4表)。このように検出量及び発生時間において個体差が大きいことがうかがわれた。

III-4 尿中線溶活性の測定成績

III-4-1 第12, 13図に示すように、標準平板の測定で尿中プラスミノゲン・アクチベータ(UK)の

図11 serial thrombin time (S.T.T.) 及びトロンビン時間の変化

トロンビン時間 (T.T.), serial thrombin time (S.T.T.) 及びフィブリノーゲン量



第4表 連続希釈プロタミン試験による FDP の変化

症例	発生時間	発生時の値	120分値
1	10分	20 mg/dl	200 mg/dl
2	10	20	100—200
3	30	20	100—200
4	60	20	20
5	60	20	50—100
6	60	20	20
7	90	20	20
8	90	5	20
9	90	5	20
10	90	5	5
11	90	20	50—100
12	90	50—100	50—100

図12 尿中 UK 濃度

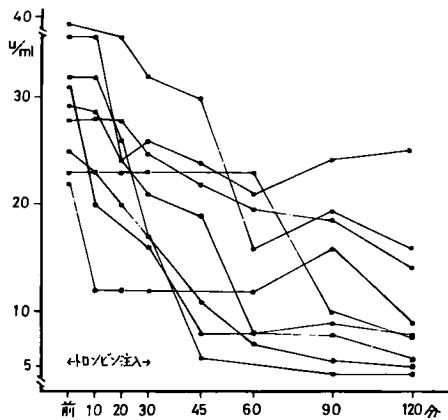


図13 尿中 UK 排泄量

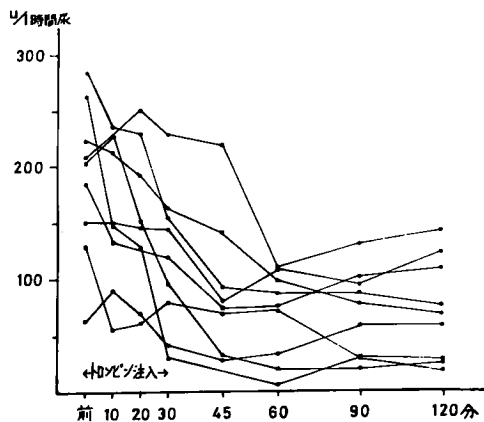


図14 プラスミン活性を示した尿中線溶活性の変化

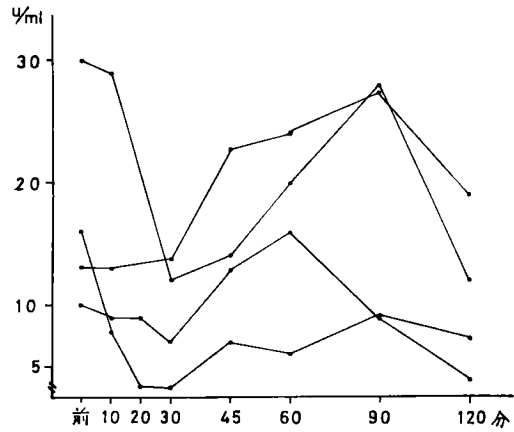
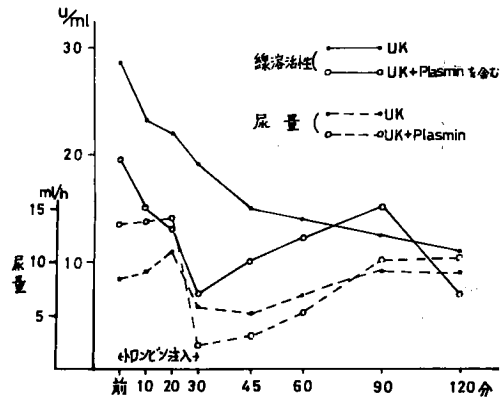


図15 尿中線溶活性及び尿量の変化 (平均値)



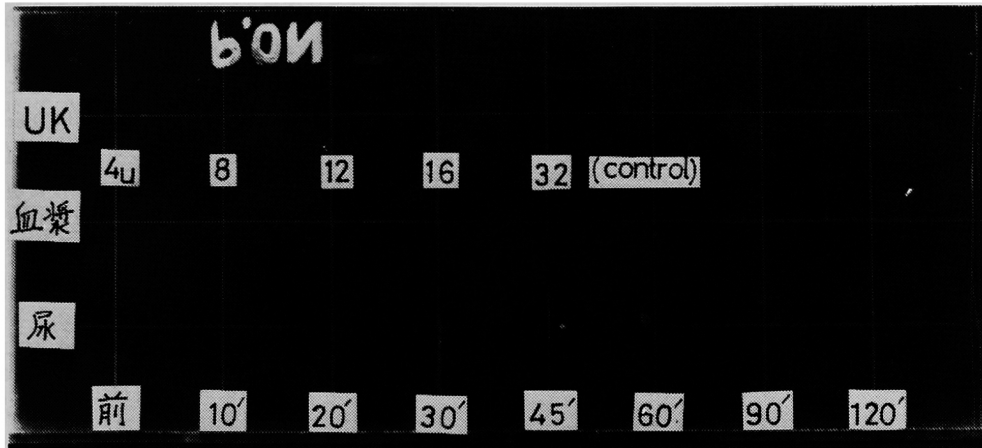
濃度及び排泄量がトロンビン注入後、時間の経過と共に漸減するグループ (13例中9例) と、第14図に示すようにトロンビン注入開始後30~90分の間でフィブリン平板の溶解窓が増大し、120分値では再び減少するグループ (13例中4例) がある。これら両グループの線溶活性を平均したものと、両グループの尿量平均値を示したものが第15図である。

III-4-2 この30~90分の間で溶解窓の増大する原因は、プラスミノゲン・フリー平板の測定でプラスミン活性による作用が加わったためであることが判明した (第16図)

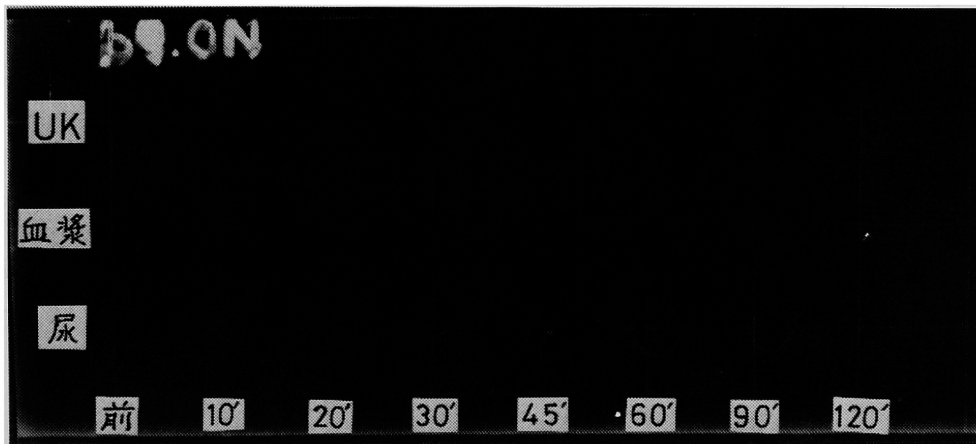
III-4-3 尿中にプラスミン活性を示したグループでは、すでに前値で UK 濃度が低い傾向がある

図16 尿中線溶活性の測定 (フィブリン平板法)

a. 標準平板 (尿中 UK 及び血漿アクチベータの測定)



b. プラスミノノーゲン・フリー平板 (45~90分で見られる溶解窓は尿中プラスミン活性を示す)



(第15図)

III-4-4 両グループともトロンビン注入開始後20分頃から尿量の減少が見られるが、プラスミン活性を示したグループではその傾向がやや大である (第15図)

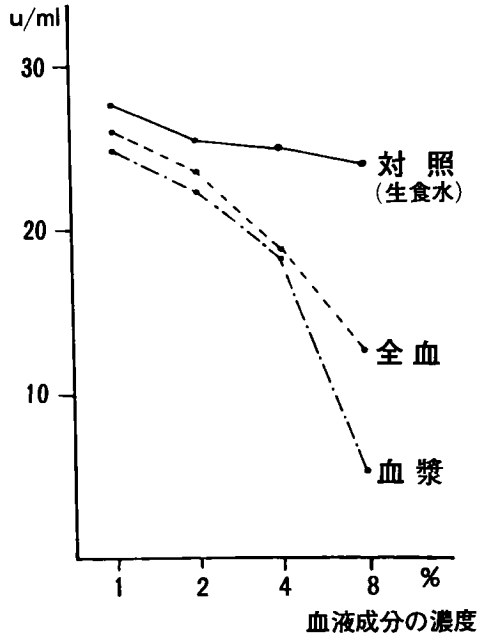
III-4-5 同時に行った血漿の測定では、両平板とも全経過を通じて溶解窓を示したものは全くなかった (第16-a, b 図)

III-4-6 血尿が UK に及ぼす影響を調べるため、尿に同一個体の血液成分を濃度を変えて加え UK の変化を見た (第17図) 血液の抗プラスミン作用が強いことがわかる。

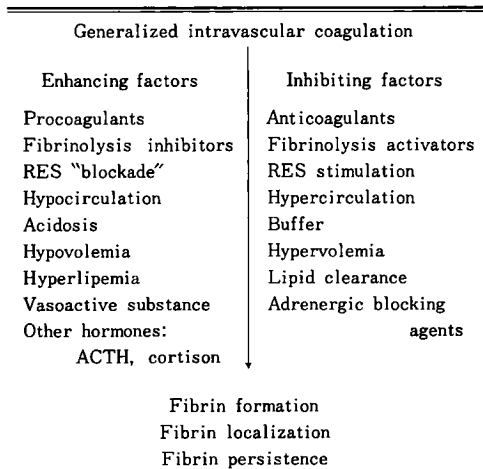
IV. 考 案

DIC の機転となる病因は単一なものではなく、種々なものがあることは緒言で述べた通りである (第1表)。これらの病因によってひとたび発生した DIC はさらに第18図に示す促進因子と抑制因子の拮抗する力の差によって、その進行が左右されると考えられている。これらの機序により血管内に微小血栓が生じることによって、大きく分けて二つの病変が見られる。すなわち(1)血液に見られる変化、(2)組織に見られる変化である。(1)の血液では凝固過程で消費される凝固因子(血小板、フィブリンノーゲン、プロトロンビン、第V因子、第VIII因子等)が低下し凝固障害による出血傾向を来すことがある。さらには微小血栓を溶かそうとする生体反応すなわち線溶現象の亢進がおこる。(2)の組織に見られる変化と

図17 血液成分の尿線溶活性に対する影響
(尿中UKの変化)



18図 DICの進行を左右する拮抗因子
Müller-Berghaus¹¹⁾



は、各組織に微小血栓が形成されることによるその部の循環障害に基づく変化である。

臨床的観察からDICの概念を提起するきっかけを与えたのは産科領域においてであった。1901年DeLee¹⁹⁾は胎盤早期剝離の患者で致死的大出血と血液の非凝固性をきたした例について報告し、1902年

Schmorl²⁰⁾は子癇で死亡した患者の小血管のみならず腎糸球体毛細血管内に微小血栓を認め、子癇の病因は凝固促進物質による自家中毒症であろうと推論している。さらに1922年Willson²¹⁾は死亡した胎盤早期剝離の約半数が血液の非凝固性を伴う出血傾向のためであると報告し、この高い死亡率のためにこの疾患に対する研究が盛んになった。1936年Dieckmann²²⁾は出血傾向の原因は低フィブリノーゲン血症のためであることを示唆し、また同時に腎皮質壊死を起こすことが多いと述べている。さらに1951年Fulton & Page²³⁾は低フィブリノーゲンの原因は血管内血液凝固のためであることを示唆し、この産科的合併症がDICの臨床的研究モデルとなった。また彼らは凝固をひき起こす機転となったのは、脱落膜や胎盤中のトロンボプラスチン物質が母体血中に流入したためであるとし、実験的にも確かめた。

一方これまで述べた産科領域とは別の分野でDICの概念に相当する疾患の報告が見られる。1930年Juergens²⁴⁾らは転移性前立腺癌に低フィブリノーゲン血症と著明な出血傾向を来たしたことを報告し、1940年Kasabach & Merritt²⁵⁾が巨大血管腫に同様な症状を観察している。

これら研究の変遷を経て、1965年Mckayら²⁶⁾は臨床例及び巾広い実験的研究に基づいてDICの概念をまとめ、異型輸血、腫瘍、体外循環における知見を説明することに成功した。また1966年Hardawayら²⁷⁾はショックの病態生理にDICの概念を適用し、明快な説明を与えた。

このようにDICの概念はほぼ確立されたにもかかわらず、複雑な病態生理のために未だはつきりした診断基準ないしは、検査による確定診断の目安がたっていないのが現状である。

著者はDICの本態をなすと考えられている微小フィブリン塊が、たとえ実験的なレベルであれ生体の血管内に存在するものかどうかに興味をもち、それを肉眼的に確かめた上、凝固・線溶系検査との関連でDICの一面の現象を観察した。

以下、IV-1. 腎糸球体でのフィブリンの消長、IV-2. フィブリン及びフィブリノーゲン分解産物、IV-3. 尿中プラスミノゲン・アクチベータ(UK)について考察してみたい。

VI-1. 腎糸球体でのフィブリンの消長について。

Regaeczi²⁸⁾はラビットでトロンピンを注入し、血管内でフィブリノーゲンをフィブリンに転化させ、その臓器分布を調べている。フィブリンの約4分の

1が腎にとりこまれ最も高い分布を示し、残りが肝、骨髄、肺の順に分布することを示しており、DICに於ては腎でのフィブリンの消長の問題が臓器の特殊性と相まって、生体にとって重要であることをうかがわせる。

腎糸球体に沈着したフィブリンが消退する機序について、Vassalliら²⁹⁾は次の3つの経路が考えられるとしている、1) reticuloendothelial system (RES)による喰食作用 2) 血管内での線溶による溶解 3) basement membraneを通る尿路系への透過である。彼らの電顕による観察では、内皮細胞や間質細胞の膨化の主因はその喰食作用によるものであるとし、RESの存在を強調している。³⁰⁾これに対しMckayら³¹⁾は同じく電顕的観察でエンドトキシンを注入した妊娠ラットの腎糸球体の内皮細胞の変化は軽度だとして、喰食作用を主役とする考えには否定的である。更にトロンビンを注入したラットの観察で³²⁾RESが循環血中のフィブリンモノマー・ポリマーを効果的に処理しているならば、全身臓器へのフィブリン分布は起こり得ないであろうと考えており、血管内フィブリンが突然消退することから線溶系による機序が強く示唆されるとしている。

一方線溶系の賦活酵素であるプラスミノゲン・アクチベータが腎小血管内皮由来の細胞で多量に造られ³³⁾しかもこの細胞がプラスミノゲンを含んだフィブリンに接触すると、5~10倍量のアクチベータが産生されることを観察したBernikらの報告がある³⁴⁾またischemiaが血管内皮から放出されるプラスミノゲン・アクチベータの強力な刺激となることも見ており³⁵⁾これらの知見から血管内フィブリンの消退に線溶が深く関わっていることは疑いをいれない。

フィブリン消退の経路として以上2つの外に尿路系への透過を示す報告は見あたらない。ところで著者は第5-a, b図で示す如く、糸球体ボーマン嚢及び尿細管内にPTAH染色でフィブリンと考えられる物質を観察している。さらにフィブリン平板法による尿の線溶活性の経時的測定でプラスミン活性を認めている。しかもプラスミン活性を示す時期が、同じく経時的に見た組織像のフィブリン消退期に一致しており、これらの所見は以下に述べる理由から、フィブリン様物質が尿路系に透過することを示唆する所見と考えられる。

もともと尿にはプラスミノゲンやプラスミンは含まれていない。尿中にプラスミン活性があるとす

ればそれはどんな場合であろうか。ここであらためて血栓溶解の機序についての諸説をふりかえってみよう。

Sherryら³⁶⁾によればフィブリン形成時にプラスミノゲンはフィブリン塊中にとり込まれる。一方プラスミノゲン・アクチベータもフィブリンに親和性がありフィブリン塊中に吸着されて内部にあるプラスミノゲンを活性化するので、フィブリン内に生じたプラスミンが周りのフィブリンを溶解するとされる。またAmbrus³⁷⁾の説によれば、血中で生じたプラスミンは抗プラスミンと複合体をつくり、流血中にはその活性を示さない。しかしこれがフィブリン塊に到達すると、プラスミンはフィブリンに親和性がついのでこの複合体から容易にはなれてフィブリンに吸着され、溶解を起こすとされる。

これらの説に対しOgston³⁸⁾はSherryとは異なり、フィブリン形成段階でプラスミノゲンがフィブリンに積極的に吸着されるのではなく、周囲の血中より拡散によつてとり込まれるとした。またAmbrusの説とも異なり、抗プラスミン複合体はフィブリンに接してもこれを溶解しないとされた。したがって血栓の溶解は血中のプラスミンによるのではなく、血栓周囲から拡散によつてフィブリンへとり込まれたプラスミノゲンとアクチベータとの相互反応によるもので、血栓中にプラスミン転換が引き起こされた時のみ有効に溶解が見られるとした。

これらの説は血中での反応形式を考えたものであるが、尿中のフィブリンに適用した場合、いずれの説にしろ尿中にでたフィブリンもいくらかはプラスミノゲンを含んでおると考えられ、これに尿中のプラスミノゲン・アクチベータ(UK)が加わって、Ogstonの説をとれば拡散によりフィブリン内に侵入し、血中では溶けなかつたものが溶解を起こすことは充分考えられる。

一方、尿中でプラスミン活性を示すかもしれない別の場合として、血中に多量に存在する抗プラスミンより優位になる程プラスミンが生じたため、尿路系に排出されたとする考えである。もし血中に抗プラスミン以上にプラスミンが存在するとすれば、尿と同時に採血した血漿でもプラスミン活性を示すはずであるが、そのような例は全くなかった。

またこの実験でしばしば見られた溶血や血尿と尿中線溶活性の関係については後述するが、必ずしも血尿を示したものでプラスミン活性を認めてはいない。尿中にプラスミン活性を示すのは、フィブリン

ないし凝血が混入した時であり尿路系の手術後に見られるというのはうなずける。⁴⁰⁾

従って著者の観察した尿中のプラスミン活性は、腎糸球体から尿路系へ微細なフィブリンが透過されたためと考えられ、フィブリン消退の機序として RES 系、線溶系だけでなく尿路への透過という現象も存在することが示された。

それでは尿中にプラスミン活性を示した群 (13例中 4 例) と示さなかった群 (13例中 9 例) との差は何であろうか。前者では実験前値で UK 濃度が低い傾向にあり、またトロンビン注入後の尿量減少の傾向が後者に比し強い (第15図)。従って前者では糸球体でのフィブリン沈着が強く且つ線溶能も低いため、腎盂で採取した尿にフィブリンが到達したと推定される。

以上考察した如く、フィブリン消退に関する 3 経路のうちやはり主役を演じているのは線溶であろうと考えられる。著者が糸球体のフィブリン沈着を組織像で見た成績でも沈着の軽度のものが半数で見られ、生じたフィブリンが次々と溶かされていると推定され (第 4 図)、また沈着の強いものでも短時間内に消失することは、何よりも線溶による溶解を考えさせられる。

ところで Attar ら⁴¹⁾ はショックによる急性死亡例で、死亡前の凝固線溶系検査で DIC を充分疑わせるのに、病理学的検索では 1 例もフィブリンの存在を認めなかったと報告している。著者の実験ではフィブリンが光学顕微鏡で識別できるのは 45~90 分以内であり、急性変化で線溶系が充分な予備力を持った状態であればフィブリンの消失は早く、臨床的観察でこれを証明することは困難なことが予想される。

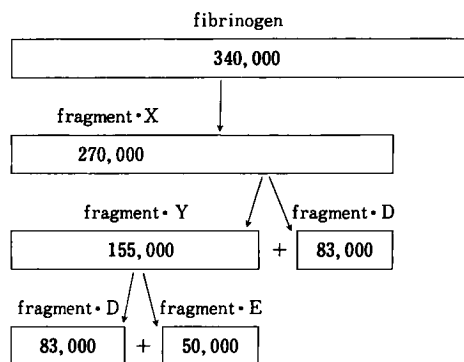
IV-2 フィブリン及びフィブリノーゲン分解産物について

前述のごとく、フィブリン及びフィブリノーゲンの分解産物を証明することは、線溶現象が介在したことを確認するものとして脚光を浴びるようになった。

分解産物の物理化学的及び免疫学的性状を研究したのは 1961 年 Nussenzweig ら⁴²⁾ であり、1963 年 Ferri⁴³⁾ 1964 年 Steichele ら⁴⁴⁾ は臨床例で免疫電気泳動法を用いて 2 つの component を区別した。その後生化学的分野での研究が相次ぎ、1969 年 Marder ら⁴⁵⁾ 1970 年 Niewiarowski ら⁴⁶⁾ によって分解初期に生ずる early FgDP (X, Y 分画) と分解後期に生ずる late FgDP (D, E 分画) とに分類され、その

分子量も決定された (第19図)。

第19図 FgDP 分解過程における分画と分子量
Marder, V.J. ⁴⁵⁾



さらにフィブリノーゲン由来の FgDP とフィブリン由来の FDP との差についても研究が進められた。Blombäck ら⁴⁷⁾ はフィブリノーゲンがフィブリンに転化する時、フィブリノーゲン分子 N 末端構造からフィブリノペプチド (fp) を遊離することを観察しており、この知見に基づき Niewiarowski らは FgDP と FDP の分子構造上の差異を fp の有無であるとしている。さらに 1972 年 Pizzo⁴⁸⁾ や 1973 年 Peyer ら⁴⁹⁾ により各分画の解明が進み、FgDP の X, Y, E 分画は fp を含むので各々 X^{fp}, Y^{fp}, E^{fp} と記し (D 分画のみ fp がないので単に D と記す)、他方 FDP は fp を含まないので X^o, Y^o, D^o, E^o と記すことができるとされている。しかしこれら分子構造については未解決の部分が多く、今後の研究がまたれるところである。

さてフィブリノーゲンからフィブリンになる過程をやや詳しく記してみると、トロンビンの作用でフィブリノーゲンからフィブリノペプチド (fp) が遊離されることはすでに述べた通りである。この fp がはずれた残りがフィブリンモノマーと呼ばれ、これが重合反応によってフィブリンになるとされている。しかし重合反応に進まなかつたフィブリンモノマーは、もう一方でフィブリノーゲン又は FgDP と可溶性複合体 soluble fibrin monomer complex をつくり血漿中を流動していると考えられている。^{50) 51)}

この可溶性フィブリンモノマー複合体と FDP のうちの初期分画 (X^o, Y^o) とが硫酸プロタミンで糸状沈澱物を生じたり、ゲル化して paraclot を形成することが見いだされ、この現象が paracoagulation

と呼ばれた。^{51) 52)}先に Lipinski らは一定濃度のプロタミンを加え FDP やフィブリンモノマーを検出する方法を報告したが、1971年 Niewiarowski ら¹¹⁾は硫酸プロタミン濃度を連続的に倍数希釈して血漿成分と反応させた時、paracoagulation 反応の強さは FDP の場合はプロタミン濃度に比例するが、フィブリンモノマー複合体ではプロタミン濃度を希釈するとかえって反応が鋭敏になることを報告した。これを連続希釈硫酸プロタミン試験と呼んでいる。この paracoagulation を利用した方法が DIC の検査法として有力なのは、トロンビンの作用を受けて生じる物質を検出できる点にある。すなわち一次線溶の結果生じたフィブリノーゲン分解産物 (FgDP) では paracoagulation は起こらない。

著者はこの連続希釈硫酸プロタミン試験を動物実験に応用して第4表に示す結果を得た。トロンビン注入開始後20~30分以内に検出したものは主としてフィブリンモノマーであり、90~120分で増量して検出できたものは FDP の初期分画 (X⁰) であろうと考えられる。またこの所見は組織像で見た糸球体のフィブリン沈着物が消失する時期と一致しているところである。

しかしこの検査法で経時的に見た時、早期に陽性に出たものが陰転する場合も見られた。この陰転する理由として考えられるのはフィブリンモノマーが重合反応のため濃度が減少したためであろう。このように DIC が進行中であるのに反応が陰性を示すことを念頭において、診断のためにはこの検査法をくり返し行う必要がある。また一方では陰転することが感度という点で問題とすればこの方法の限界と考えられる。

FgDP 及び FDP の作用には今まで述べた paracoagulation の外に、次の様な生物活性があるとされる。⁹⁾すなわち抗トロンビン作用 (抗トロンビン VI といわれる)、血小板凝集阻止作用、赤血球沈降速度遅延作用である。抗トロンビン作用については Y 分画がその作用が強いといわれる。この性質を利用したものが serial thrombin time であり、著者の実験でも簡単に施行でき、有力な検査法であると認められた。

IV-3 尿中プラスミノーゲン・アクチベータ (UK) について

プラスミノーゲン・アクチベータである UK が尿中に排出されることに着目し、著者の実験でトロンビン注入によりその尿中濃度及び単位時間当たりの

排泄量ともに漸減することを観察した。その減少する理由については次の様な事柄が考えられる。1) フィブリンを溶解するために消費された。2) 沈着したフィブリンによる血流障害で細胞の産生力が低下した。3) 血液及び血漿成分が尿中に透過したため、その抗プラスミン作用による抑制作用等である。

これら UK の排泄量が減少する理由について考える時、UK が尿中に存在する生理的意義や特にその産生部位について言及する必要がある。

UK が尿中に排出される生理的意義は、尿路系におけるフィブリン附着や凝血を溶解し尿路の開放性を維持するためとする考え方が一般的である。⁶⁴⁾しかし UK が生体内の線溶系の変化でいかほどの役割を分担しているか、またその産生部位はどこかについては不詳の部分が多く、いくつかの説が出されている。それらは大別して血液アクチベータの腎濾過説^{55) 56) 57)}と腎または尿路系の組織アクチベータの放出説^{58) 59) 60)}の2つであり、近年後者が有力視されていた。ところが1962年 Painter⁶¹⁾らに始まる腎組織培養法による特異な研究によって、やや様相が異なってきた。すなわち彼らは腎組織培養液中に放出されるアクチベータの検索を行い、この培養液中のアクチベータが組織アクチベータ (今までの組織アクチベータが尿中に出たものが UK と考えられていた) よりも、より UK に似ていることを報告した。前述した如く Bernik & Kwaan⁶²⁾らは培養液中に放出されたアクチベータは腎の小血管由来の内皮細胞から多量に産生され、しかもその産生能力は生きた細胞にのみ見られるとして、組織片等から抽出した組織アクチベータとは異なることを示唆した。また Kucinski ら⁶³⁾はモルモットを用いてヒト UK に対する抗血清を作り、Bernik らの見た腎組織培養液中のアクチベータは免疫学的にヒト UK と同一性を示すが、ヒト血漿アクチベータやヒト副腎から得た組織アクチベータとは免疫学的に異なることを報告した。さらに Bernik ら⁶³⁾はより詳細な実験をくり返し、UK 産生能力を有する細胞は腎組織に限ったものではなく、体組織に広く分布する細胞にも少量ではあるが存在することを証明した。同時に心肺組織の培養では、培養液中に UK inhibitor の存在までも示した。このように UK は一部は体組織でも産生されているが、主として腎小血管内皮で産生されていると考えられ、また血中にも UK inhibitor が存在するという報告もあり、^{64) 65)} UK が血中で線溶系に関与している可能性は濃厚である。血液アクチベ

ータの濾過説とは異なった意味で、UK が糸球体で血液から尿中へ濾過されることも考えられる。また今まで有力視されていた腎の組織アクチベータそのものが尿中に放出される説とは異なった意味で、主として腎による UK の産生説はもはや疑う余地のないところであるが、それでも尚いかなるメカニズムで尿路に排出されるかは不詳である。

このような知見に基づいて尿中 UK の減少する理由を考えてみる時、トロンビン注入早期より減少するのは血中での酵素反応による速やかな消費と考えたい。早期より細胞障害を起こす程の完全な血流遮断がフィブリン沈着によつて起こるとは考えにくい。たしかに腎血流量減少を示す早期の尿量減少は見られるが、短時間の経過で尿量は回復傾向を示すのに UK 濃度の減少は続いている (第15図)

また血中フィブリノーゲン量が時間の経過とともに漸減しており、一部にはトロンビン作用によるフィブリンへの転化が続いていることが考えられるが、フィブリン沈着の増加は認められないところから、線溶の活性化があり UK の消費による減少が続いていると考えたい。

Graeff⁶⁰⁾ はウサギにエンドトキシンを投与し、腎糸球体にフィブリン沈着が認められたグループでは尿中 UK が減少し、同時に行った Todd 法によつて腎切片で髄質に本来存在するはずのアクチベータが消失していることを報告している。もっともこのアクチベータは組織アクチベータで UK そのものではないかもしれない。いずれにしろ彼はその消失する原因を消費のためか、細胞障害のためか結論できないとしている。彼の実験では注入時間も12時間に及ぶので、細胞障害の要素も充分考えられたためかもしれない。

最後に血尿と UK の関係について考える。in vitro で全血及び血漿を尿に加えて UK の変化を見ると、全血、血漿ともにその濃度に反比例して UK は減少する。すなわち血液の抗プラスミン作用が強いことがわかる (第17図)。

ところで著者が行った尿中 UK 測定総数13例中5例に血漿での溶血とそれによる血色素尿が見られた。また溶血はなく肉眼的赤血球尿が13例中3例に見られ、そのうち1例で尿中にプラスミン活性がみいだされた。

これら症例のうち尿中に全血または血漿成分の透過が考えられる場合は、肉眼的赤血球尿を起こすような状態に附随すると思われる。従って全症例で見

られた UK の減少傾向を説明する根拠として、血漿の混入による抗プラスミン作用は考えにくい。

またすでに述べた尿中にプラスミンを示した症例について、血尿との関係について補足すると、プラスミン活性を示した4例のうち1例で肉眼的赤血球尿を認めたが、他の3例では認めていない。従って尿中に赤血球をみとめた例で必ずしもプラスミンを証明しておらず、前述した様にプラスミン活性を示す条件はフィブリンの混入が必要であると考えられる。

V. 結 語

実験的に犬にトロンビンを注入する方法で DIC モデルをつくり、腎糸球体でのフィブリン沈着の消長を経時的に観察し、同時に血液凝固系・線溶系検査と尿中の線溶活性の測定を行い、つぎのような知見を得た。

1. 光学顕微鏡的に腎糸球体のフィブリンを識別できる時間は45～90分以内であり、その消退は速やかなものである。

2. 血管内からフィブリンが除去される機序は、血液凝固系・線溶系検査や尿中線溶活性の測定により、線溶系が重要な役割りを演じていると推定された。

3. 尿の線溶活性の測定で、一部の症例で尿中プラスミン活性を認め、尿中へフィブリンが透過する機序も存在することが示された。また尿中 UK 濃度及び排泄量が減少する理由は線溶系の活性化のために消費されたものと推定された。

4. DIC の発症を示す線維素分解産物 (FDP) を証明する方法として、連続希釈プロタミン試験が有力であることが分った。

稿を終るに臨み、御指導、御校閲を賜った恩師砂田輝武教授に深甚の謝意を捧げるとともに、直接御指導いただいた大本武千代博士に感謝の意を表します。またたえず御援助をいただいた第三研究室の諸氏にお礼申し上げます。

(本論文の要旨は、第14回日本脈管学会総会において発表した。)

文 献

- 1) Müller-Berghaus, G.: Pathophysiology of disseminated intravascular coagulation, In:(A*)p.45 (A*)Mammen, E.F., Anderson, G.F., G Barnhart, M.I.: Disseminated intravascular coagulation, F.K. Schattauer Verlag, Stuttgart-New York, 1969.
- 2) Hardisty, R.M., Pinner, J.L.: Congenital afibrinogenemia: Further observation on the blood coagulation mechanism, Brit. J. Haemat., 2:139, 1956.
- 3) Beller, F.K., Glas, P.: Fibrinogenolysis as a cause of obstetric hemorrhage, Amer. J. Obstet. Gynec., 82:620, 1961. 6)より引用
- 4) 松岡松三: 血管内凝固亢進症候群, 脈管学, 8:335, 1968.
- 5) Lasch, H.G.: Therapeutic aspects of disseminated intravascular coagulation, In: A*p. 281.
- 6) 真木正博: 血管内血液凝固症候群, 金原出版社:東京, p. 5, 1970.
- 7) Macfarlane, R.G.: An enzyme cascade in the blood clotting mechanism and its function as a biochemical amplifier, Nature, 202:498, 1964.
- 8) Davie, E.W., Haugie, C., Lundbald, R.L.: Mechanism of blood coagulation, In: Poller, L.: Recent advance in blood coagulation, p. 13, J.A. Churchill, London, 1969. 6)より引用
- 9) 藤巻道男, 池松正次郎, 加藤正俊: 線溶分解物 (FDP), 臨床病理, 21:31, 1973.
- 10) Verstraete, M.: Fibrinogen degradation products, Scand. J. Haema. Suppl., 13. 1970.
- 11) vonKaulla, K.N., Schultz, R.L.: Methods for the evaluation of human technics, Amer. J. Clin. Path., 29:104, 1958.
- 12) 松岡松三, 品田章二, 塚田恒安, 桜川信男, 野村穰一, 米山泰夫: Serial thrombin time の検討, 臨床血液, 9:567, 1968.
- 13) Niewiarowski, S., Gurewich, V.: Laboratory identification of intravascular coagulation: The serial dilution protamine sulfate test for the detection of fibrin monomer and fibrin degradation products, J. Lab. Clin. Med., 77:665, 1971.
- 14) Gurewich, V., Hutchinson, E.: Detection of intravascular coagulation by a Serial-Dilution Protamine Sulfate Test, Ann. Int. Med., 75:895, 1971.
- 15) 五十嵐紀子, 松本光民, 大久保由子, 爪田有三, 竹内節夫, 浅田敏雄: リジンセファロースを用いて得られたプラスミノゲン・フリーフィブリノーゲン, 東邦医学会誌, 20:78, 1973.
- 16) 五十嵐紀子, 松本光民, 竹内節夫, 浅田敏雄: アフィニティクロマトグラフィーを用いる線溶能の検査, 臨床検査, 17:713, 1973.
- 17) Astrup, T., Müllertz, S.: The fibrin plate method for estimating fibrinolytic activity, Arch. Biochem. Biophys., 40:346, 1952.
- 18) Plaug, J., Kjeldgaard, N.O.: Urokinase, An Activation of plasminogen from human urine, Isolation and properties, Biochem. et Biophys. Act. 24:278, 1957.
- 19) De Lee, J.B.: A case of fatal hemorrhagic diathesis, with premature detachment of the placenta, Amer. J. Obstet. Dis. Wom., 44:785, 1901. 44)より引用
- 20) Schmorl, G.: Zur Lehre von Eklampsie, Arch. Gynak., 65:504, 1902. 44)より引用
- 21) Willson, P.: Uteroplacental apoplexy (Hemorrhagic infarction of the uterus) in accidental hemorrhage, Surg. Gynec. Obstet., 34:57, 1922. 44)より引用
- 22) Dieckman, W.J.: Blood chemistry & renal function in abruptio placentae, Amer. J. Obstet. Gynec., 31:734, 1936. 44)より引用
- 23) Fulton, L.D., Page, E.W.: The cause of the blood coagulation defect following abruptio placentae, Amer. J. Obstet. Gynec., 61:1116, 1951. 44)より引用

- 24) Juergens, C., Trautwein, H.: Ueber Fibrinopenie beim Erwachsenen nebst Bemerkungen ueber die Herkunft des Fibrinogens, Dtsch. Arch. klin. Med., **169**: 28, 1930.
- 25) Kasabach, H.H., Merritt, K.K.: Capillary hemangioma with extensive purpura, Amer. J. Dis. Child., **59**: 1063, 1940.
- 26) McKay, D.G.: Disseminated intravascular coagulation, Harper & Row, Publishers, Inc., New York, 1965.
- 27) Hardaway, R.M.: Syndrome of disseminated intravascular coagulation, Charles C. Thomas, Illinois, 1966.
- 28) Regaeczki, E., Brain, M.C.: Organ distribution of fibrin in disseminated intravascular coagulation, Brit. J. Haemat., **17**: 73, 1969.
- 29) Vassalli, P., Simon, G., Rouiller, C.: Electron microscopic study of glomerular lesions resulting from intravascular fibrin formation, Amer. J. Path., **43**: 549, 1963.
- 30) Walsh, R.T., Barnhart, M.I.: Clearance of coagulation and fibrinolysis products by the reticuloendothelial system, In: A* p. 83
- 31) McKay, D.G., Margaretten, W. and Csavossy, I.: An electron microscope study of the effects of bacterial endotoxin on the blood-vascular system, Lab. Invest., **15**: 1815, 1966.
- 32) Margaretten, W., Csavossy, I., McKay, D.: An electron microscopic study of thrombin-induced disseminated intravascular coagulation, J. Haemat., **29**: 169, 1967.
- 33) Bernik, M.B., Kwaan, H.C.: Origin of fibrinolytic activity in cultures of the human kidney, J. Lab. & Clin. Med., **70**: 650, 1967.
- 34) Warren, B.A.: Fibrinolytic properties of vascular endothelium, Brit. J. Exper. Path., **44**: 365, 1962.
- 35) Bernik, M.B., Kwaan, H.C.: Stimulation of fibrinolytic activity in human cells in culture, Clin. Reser., **18**: 398, 1970.
- 36) Kwaan, H.C., McFadzean, A.J.: On plasma fibrinolytic activity induced by ischemia, Clin. Sci., **15**: 245, 1956.
- 37) Sherry, S., Fletcher, A.P.: Developments in fibrinolytic therapy for thrombo-embolic disease, Ann. Intern. Med., **50**: 560, 1959.
- 38) Ambrus, J.L.: Clinical and experimental studies on fibrinolytic enzyme, Ann. Y.N. Acad. Sci., **68**: 97, 1957.
- 39) Ogston, D., Ogston, C.M., Fullerton: The plasminogen content of thrombi, Throm. Diathes., **15**: 220, 1966.
- 40) 杉浦式: 尿中線溶活性に関する研究, 血尿に於ける線溶活性について, 日泌尿会誌, **56**: 1302, 1965.
- 41) Attar, S., Hanashiro, P.: Intravascular coagulation-reality or myth?, Surg., **68**: 27, 1970.
- 42) Nussenzweig, V., Seligmann, M., Pelmont, J., Grabar, P.: Les produits de degradation fibrinogene humain par la plasmine, Ann. Inst. Pasteur, **100**: 377, 1961. 44) より引用
- 43) Ferri, R.G., Ferreira, H.C.: Immunochemical studies of the circulating products of fibrinogenolysis in certain pathological conditions, Vox Sang. (Basel), **8**: 356, 1963.
- 44) Steichele, D.F.: Consumption coagulopathy in obstetrics and gynecology, In: A* p. 177.
- 45) Marder, V.J., Shulman, N.R.: High molecular weight derivatives of human fibrinogen produced by plasmine, 1. physiochemical and immunological characterization, J. Biol. Chem., **244**: 2111, 1969.
- 46) Niewiarowski, S.: Formation of highly ordered polymers from fibrinogen and fibrin degradation products, Biochem. Biophys. Acta, **221**: 326, 1970.
- 47) Blombäck, B., Blombäck, M., Edman, P., Hessel, B.: Human fibrinopeptides isolation, cha-

- racterization and structure, *Biochem. Biophys. Acta*, **115**:371, 1966.
- 48) Pizzo, S.V., Schwartz, M.L., Hill, R.L., McKee, P.A.: The effect of plasmin on the subunit structure of human fibrinogen, *J. Biol. Chem.*, **247**:636, 1972.
- 49) Peyer, A.: Release of fibrinopeptides from fibrinolytic fibrinogen fragment E, *Throm. Diath. Haemorrh.*, **29**:300, 1973.
- 50) Shainoff, J.R., Page, I.H.: Significance of cryopro-fibrin in fibrinogen-fibrin conversion, *J. Exp. Med.*, **116**:687, 1962.
- 51) Lipinski, B., Wegrzynowicz, Z., Budzynski, A.Z., Kopeć, M., Kowalski, E.: Soluble unclotable complexes formed in the presence of fibrinogen degradation products during the fibrinogen-fibrin conversion and their potential significance in pathology, *Thromb. Diath. Haemorrh.*, **17**:65, 1967.
- 52) Kopeć, M., Kowalski, E., Stachurski, J.: Studies on paracoagulation. Role of antithrombin VI, *Thromb. Diath. Haemorrh.*, **5**:285, 1960.
- 53) Lipinski, B., Worowski, K.: Detection of soluble fibrin monomer complexes by means of protamine sulfate test, *Throm. Diath. Haemorrh.*, **20**:44, 1968.
- 54) Astrup, T., Sterndorff, I.: An activator of plasminogen in normal urine, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **81**:675, 1952.
- 55) vonKaulla, K.N., Swan, H.: Clotting deviations in man during cardiac bypass; Fibrinolysis and circulating anticoagulant, *J. Thorac. Surg.*, **36**:519, 1958.
- 56) Smyrniotis, F.E.: Urokinase excretion in health and its alteration in certain disease states, *Thromb. Diath. Haemorrh.*, **3**:257, 1959.
- 57) Celandier, D.R., Guest, M.M.: Biochemistry and physiology of urokinase, *Amer. J. Cardiol.*, **6**:409, 1960.
- 58) Williams, J.R.B.: The fibrinolytic activity of urine, *Brit. J. Exper. Path.*, **32**:530, 1951.
- 59) 安部英: 内科疾患における線維素溶解現象の消長, 特に腎疾患を中心として, *日血会誌*, **28**:345, 1965.
- 60) 野村穰一: 尿線溶活性に関する研究. *日血会誌*, **31**:1040, 1968.
- 61) Painter, R., Charles, A.: Characterization of a soluble plasminogen activator from kidney cell cultures, *Am. J. Physiol.*, **202**:1125, 1962.
- 62) Kucinski, C.S., Fletcher, A.P.: Effect of urokinase antiserum on plasminogen activators: Demonstration of immunologic dissimilarity between plasma plasminogen activator and urokinase, *J. Clin. Invest.*, **47**:1238, 1968.
- 63) Bernik, M.B., Kwaan, H.C.: Plasminogen activator activity in cultures from human tissues. An immunological and histochemical study, *J. Clin. Invest.*, **48**:1740, 1969.
- 64) Lauristen, O.S.: Urokinase inhibitor in human plasma, *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, **22**:314, 1968.
- 65) Brakman, P., Astrup, T.: Selective inhibition in human pregnancy blood of urokinase induced fibrinolysis, *Scan. J. Clin. Lab. Invest.*, **15**:603, 1963.
- 66) Graeff, H., Mitchell, P.S., Beller, F.K.: Fibrinolytic enzyme system of the kidney related to renal function after infusion of endotoxin in rabbits, *Lab. Invest.*, **19**:169, 1968.

**The experimental study on the thrombin induced disseminated
intravascular coagulation**

Seiki HOSHIAI

The 2nd Department of Surgery Okayama University Medical School

(Director : Professor Terutake Sunada)

Disseminated intravascular coagulation (DIC) models were made by intra-aortic infusion of thrombin (50 units/kg. body weight) during 30 minutes in the dogs.

Histological study of glomerular fibrin deposition was taken on the specimens which were collected by the renal biopsy. Changes of blood coagulation system and fibrinolytic factors of blood and urine were studied during 120 minutes.

These results were summarized as follows:

1. With the light microscope disappearance of all glomerular fibrin deposits were observed 90 minutes after initial infusion.
2. These results suggest that major mechanism of fibrin removal from capillaries was the intravascular fibrinolysis.
3. In addition, as the another mechanism of fibrin removal the transglomerular passage into urinary space was revealed.
4. Urokinase excretion in urine was reduced continuously until the end of experiment.
5. FDP was measured by serial dilution protamine sulfate test for the estimation of fragement X⁰ and soluble fibrin monomer complexes.