

# 骨髓凝固 線溶活性に関する研究

## 第 2 編

### 骨髓線溶活性に関する研究

(骨髓穿刺液 Euglobulin による検討)

岡山大学医学部第2内科 (主任: 平木 潔教授)

久 山 栄 一

(昭和49年9月6日受稿)

#### 目 次

I 緒 言	4) 本態性血小板減少症
II 実験方法	5) 血管性紫斑病
III 実験成績	6) 本態性低色素性貧血
1) 健康人	7) 溶血性貧血
2) 白血病	8) 悪性貧血
I) 急性骨髓性白血病	9) Banti 氏症候群
II) 急性リンパ性白血病	10) 多発性骨髓腫
III) 単球性白血病	11) 巨大グロブリン血症
VI) 慢性骨髓性白血病	12) 真性赤血球增多症
V) 慢性リンパ性白血病	IV 総括並びに考案
3) 再生不良性貧血	V 結 論

#### I 緒 言

線維素溶解酵素 plasmin が臨床医学に登場した日が浅い。しかし plasmin の治療学上における有用性ととも本酵素に向けられている臨床家の関心には大なるものがある。しかしながら線溶系に関与する諸酵素の本態ならびに活性化機序<sup>1)2)3)</sup>も逐年解明されているとはいえなお完全なものではない。また臨床部門における各種疾患と線溶活性化の関連の有無についても多くの文献を見るが、臨床的に plasmin がいかなる生理学的意義を有するものかはなほ複雑な問題が多い。

著者は第1編<sup>4)</sup>において Thrombelastograph を用い骨髓穿刺液と末梢血液の線溶活性を動的、より生理的に捕えようと試み、末梢血液の産生母体である骨髓が末梢血よりも線溶活性の高いことを知ることが出来た。そこで本編では Euglobulin による検討を試み、前編同様、末梢血液と骨髓穿刺液につき

比較測定を行った。それは plasmin 活性と同様に、しばしば plasmin 活性が亢進する前立線、子宮、脾、肺等の諸臓器の tissue activator による plasminogen の活性化は周知のところであり、plasminogen を活性化する activator 系の存在に注目する必要があると考えた為である。そして、同時に Thrombelastograph で測定した事実の裏づけを行なわんとした。

#### II 実験方法

骨髓穿刺液は全例とも胸骨骨髓穿刺にて採取し、穿刺液は約 0.5~0.7 ml とし、可及的速やかに 1/10 Mol 蔞酸ソーダ 10 容と混合した。線溶活性測定方法は、Astrup による fibrin plate 法を用い、standard ならびに heated fibrin plate を使用した。測定検体は骨髓、肘静脈血ともに Euglobulin fraction (以下 Eug.) を作製して activator 及び plasmin 活性測定を行い、streptokinase (以下 SK) 1,000 単位/

mlを添加したSK加Eug.にて whole plasmin 値をも併わせ測定した。又 antiplasmin については、いくつかの疾患につき測定したが正常例の測定を欠いた為参考とした。対象は白血病を中心とする諸種血液疾患である。

### Ⅲ 実験成績 ( 回 1, 2, 3, 4, )

図 1 PB: Peripheral blood  
BM: Bone marrow

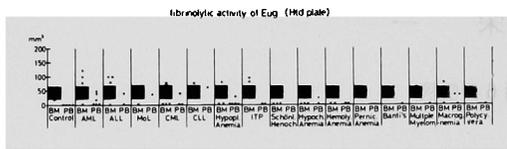


図 2

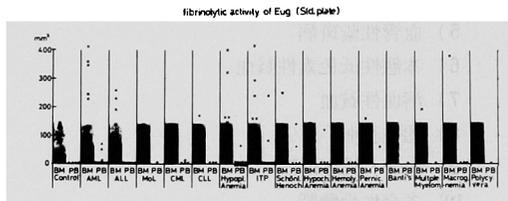


図 3

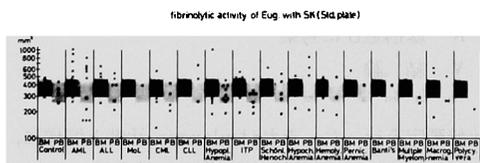
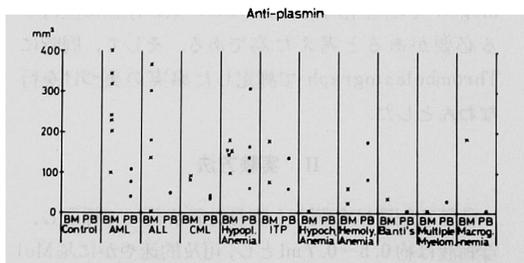


図 4



#### 1) 健康人

健康人 4 例では、まず heated fibrin plate (以下 Htd. P.) で骨髄穿刺液はその溶解面積が最大値 56 mm<sup>2</sup> (以下 mm<sup>2</sup>略), 最小値 16 で末梢血液が全例 0 であるのに比較して明らかに高値を示している。

次に standard fibrin plate (以下 Std. P.) で骨髄穿刺液は最大値 144, 最小値 0 であった。しかし最小値を示したものは 4 例中 1 例 (以下 4 例の如く略す) であった。又末梢血液は全例 0 を示し、これも Htd. P. と同様明らかに骨髄穿刺液が末梢血液よりもその活性の高いことを示している。続いて Std. P. において SK 加 Eug. を滴下し活性を比較してみると、その値は骨髄穿刺液、末梢血液ともに 500~250 の間にあり両者の間に差を認めず、又この値は末梢血液の正常値が示す範囲にあった。

#### 2) 白血病

以下各疾患について各々の線溶系の測定値を比較検討する。

I) 急性骨髄性白血病: 本症において Htd. P. に滴下した Eug. は骨髄穿刺液で最大 121, 最小 0, 末梢血液では最大 49, 最小 0 を示し、その拡がりは骨髄穿刺液で末梢血液の倍以上を示した。これを対照と比較すると骨髄穿刺液も、末梢血液もともに高値を示すものが多く、しかも末梢血液においてすら正常範囲を超えているものが半数を占めている。次に Std. P. における Eug. は Htd. の場合より更にその傾向は著明で骨髄穿刺液で最大 900 を示したが、最小値は 0 であった。又その半数は対照よりも高値を示し、残りの半数のうち 2 例のみが 0 を示したにすぎなかった。末梢血液では 10 例中 8 例は 25 以下と正常範囲にあったが 2 例は高値を示した。続いて Std. P. における SK 加 Eug. では骨髄、末梢血ともに 500 を超えるものが半数を占めた。最後に Anti plasmin 活性は末梢血液が全例 108 以下であるのに比較して、骨髄穿刺液では 200 以上を示したものが 7 例中 6 例を占めた。本症では後述する他の血液疾患群と比較し全てにおいてきわめて高度な活性値を示す症例が多い。

II) 急性リンパ性白血病: 本症の Htd. P. における Eug. の活性は急性骨髄性白血病と同様の傾向を示したが、その最大値は急性骨髄性白血病と比較するとやや低値を示した。次いで Std. P. における活性は骨髄穿刺液においては Htd. P. で認められた如く急性骨髄性白血病と同様の傾向を示したが、末梢血液では全例 0 と正常値を示した。続いて SK 加 Eug. では骨髄、末梢血ともに対照より高い値を示すものが多かったが急性骨髄性白血病と比較すると同様にやや低い値を示した。Anti plasmin 値は骨髄穿刺液で急性骨髄性白血病と同様高値を示すものが認められたが比較するとやや低値を示した。末梢血

液では正常範囲にとどまった。

Ⅲ) 単球性白血病：本症は1例のみであるがHtd. P.におけるEug.の活性は骨髄穿刺液で0、末梢血液で36と高く逆の態度を示した。次にStd. P.における活性は骨髄穿刺液144、末梢血0であった。続いてSK加Eug.では骨髄、末梢血ともに500以内であった。

Ⅳ) 慢性骨髄性白血病：本症のHtd. P.におけるEug.活性は骨髄は5例中2例がやや高値を、残りの3例が0を示した。末梢血液では3例中1例が高値を示した。次にStd. P.では骨髄、末梢血ともに対照と比べ変化を認めずSK加Eug.でも同様であった。Anti plasminについては共に100以下の値を示したが骨髄の方が末梢血より高い傾向を示した。

Ⅴ) 慢性リンパ性白血病：本症ではHtd. P.における活性は骨髄、末梢血ともに高値を示したが、末梢血は1例の測定しか行っていない。しかしその活性値は急性白血病程ではなかった。次にStd. P.における活性は骨髄ではほぼ対照と同じ、末梢血液では0を示した。続いてSK加Eug.の活性は1例が672を示し、残り2例は500以下の値を示した。

3) 再生不良性貧血：本症のHtd. P.における活性値は骨髄穿刺液では10例中8例が36～81の間であった。末梢血液では1例が30を示したが、残り4例は0を示した。次にStd. P.における活性は骨髄穿刺液では12例中11例が61～400の間であった。これに対し末梢血では1例が64を示したが、残り10例は0を示した。続いてSK加Eug.では骨髄、末梢血ともに500以下を示し両者の間に差が認められなかった。Anti plasminについても同様で両者200以下を示したものが殆んどであった。

4) 本態性血小板減少症：本症のHtd. P.における活性は骨髄穿刺液で36～90の間に7例全てがあり、急性白血病群に次いでその活性が高い。しかし末梢血液での測定は2例しか行っていないが、すべて0を示した。次にStd. P.における活性は骨髄では8例中7例が441～100の間にあり、急性骨髄性白血病と同じ程度の高活性値を示した。末梢血液では8例中2例が81, 299を示したが他の6例は全て0を示した。続いてSK加Eug.値については再生不良性貧血群と似て骨髄の1例を除き500以下に骨髄、末梢血ともにあり、両者に差を認めなかった。Anti plasminについては両者200以下を示したが骨髄の方がやや高い活性値を示す傾向にあった。

5) 血管性紫斑病：本症のHtd. P.の活性は骨髄

穿刺液で5例中2例が36, 49を示し他は0を示した。末梢血液では測定していない。次にStd. P.における活性値は骨髄で1例が256と高値を示したが他は0であった。又末梢血では5例中2例が64, 144とやや高値を示した。続いてSK加Eug.の活性は両者1例づつを除き500以内の値を示した。

6) 本態性低色素性貧血：本症ではHtd. P.のEug.活性は骨髄と末梢血の間に差が認められず共に0～25の間であった。Std. P.では4例中1例が両者とも1例ずつ中等度の上昇が認められたが他は0を示した。続いてSK加Eug.の値は骨髄穿刺液では500以下の値を示したが、末梢血液では今までの症例群とことなり4例中3例が841～513の間にあり高値を示した。

7) 溶血性貧血：本症のHtd. P.における活性は骨髄で3例中1例が64を示したが他は0であった。また末梢血は全て0を示した。Std. P.のEug.活性は骨髄で4例中2例が36, 144を示し、末梢血は全て0を示した。続いてSK加Eug.活性は骨髄、末梢血ともに500以下で両者に差を認めなかった。Anti plasminは両者200以下を示したが、骨髄よりも末梢血の活性が高値を示した。

8) 悪性貧血：本症1例ではHtd. P.のEug.活性は骨髄36を示した。Std. P.でも骨髄は165で対照と比較して変わらなかったが末梢血液は64を示した。又SK加Eug.の値は骨髄600、末梢血400であった。

9) Banti氏症候群：本症の1例ではHtd. P.における活性値は骨髄36、末梢血0。Std. P.で骨髄121、末梢血0、SK加Eug.値は骨髄、末梢血ともに500以下、Anti plasminは200以下を示したが骨髄が37、末梢血0を示した。

10) 多発性骨髄腫：本症2例を経験したが、Htd. P.では、骨髄が36と64、末梢血では0であった。次にStd. P.のEug.活性は骨髄で196と64、末梢血で0を示した。SK加Eug.では両者共に500以下であったが骨髄の方が末梢血よりもやや高い値を示した。Anti plasminではやや末梢血が骨髄よりも高値を示したがその値は高くなかった。

11) 巨大グロブリン血症：本症1例を経験し3回測定を行った。Htd. P.におけるEug.活性は骨髄72, 36, 0、末梢血36, 36, 0と末梢血の活性値が、対照と比較し高いのが認められた。Std. P.では骨髄が361, 121, 0、末梢血はすべて0を示した。SK加Eug.値は骨髄では3回のうち2回は500以上で576, 625とかなりの高値を示した。末梢血は3回とも500

以下の値を示した。Anti plasmin は骨髄で264と高い値を示したが、末梢血は0であった。

12) 真性赤血球増多症：本症の1例の測定では Htd. P. の Eug. 活性は骨髄で36, 末梢血で0, Std. P. での活性は共に0, SK 加 Eug. の値は共に500以下を示した。

#### IV 総括ならびに考索

骨髄穿刺液および末梢血液の Htd. P. についてみると、健康人骨髄ではその最大値56, 最小値は16で、末梢血液の活性値が全て0であるのに較べ明らかに高い。これ等健康人の末梢血 Eug. では Std. P. においてすらも活性値が0であって、骨髄では末梢血液よりも Plasmin 活性値の閾値が高いものと考えられる。血液疾患群では、健康人と同様、末梢血と比較して骨髄穿刺液の plasmin 活性値 level の亢進が認められたが、骨髄 plasmin 活性値につき血液疾患群の各々を比較してみると、健康人の最大値を超えた値を持つ疾患には、急性骨髄性及びリンパ性白血病、本態性血小板減少症、巨大グロブリン血症、慢性骨髄性及びリンパ性白血病、再生不良性貧血等があり、特に最初の3つの疾患ではその値が高いものが目立った。中でも急性白血病群では正常骨髄中には認められない程の高い plasmin 活性値を示す症例が存在した。一方血管性紫斑病、本態性低色素性貧血、真性赤血球増多症、溶血性貧血、悪性貧血、Banti 氏症候群等では殆んど健康人例との間に差が見られなかった。同様の傾向は末梢血液の plasmin 活性についてもある程度認められるが骨髄程著明でなかった。

骨髄穿刺液 Eug. の示す fibrinolytic activity が末梢血液のそれよりも高いということは、常に骨髄内で血液は線溶系の活性化をうけているものと推測される。また造血という特殊な場における骨髄の plasmin 単独の変化を研究した報告は見られないが前述の如く、骨髄内で健康人および各種血液疾患の骨髄 plasmin 活性値の亢進していることは生理学的にいかなる意義を有するものであろうか。就中急性白血病、本態性血小板、減少症、再生不良性貧血、巨大グロブリン血症、多発性骨髄腫等の疾患に著明な骨髄 plasmin 活性値を呈する症例の多いことは、病態生理学的に骨髄 plasmin がなんらかの意義を有しているものと思われる。骨髄での血中 plasminogen の賦活、すなわち plasminogen-activator か proactivator の賦活、すなわち proactivator-activator の存在か、解決すべき問題は多い。

次に Eug. の Std. P. における線溶活性値について検討してみると、健康人骨髄では前述した如く最大値144, 最小値0と、末梢血が全て0を示すのと比較し、より高い線溶活性値を示している。Std. P. における線溶活性値は Htd. P. における線溶活性値の如く plasmin 単独を測定しているのと異なり、Eug. 中の plasminogen, fibrin plate 中の fibrinogen に含まれる plasminogen および proactivator の介入もあり、それらを加味した測定値を得るという複雑な問題を含んでいる。各種血液疾患の場合においても骨髄の方が末梢血よりも高い線溶活性を示していることは本編の実験からも、又第1編における Thrombelastograph を使ったの結果からも明らかであり、特に急性骨髄性白血病、本態性血小板減少症、巨大グロブリン血症等では高い線溶活性値を示した。また概して、これ等血液疾患群の骨髄線溶活性値は Std. P. 及び Htd. P. における線溶活性の高いものにおいて亢進している様である。

Eug. に SK (Proactivator-activator) を添加した whole plasmin 値では、健康人では骨髄穿刺液と末梢血液との間に有意の差は認め得なかったが、各種血液疾患のうちでも急性白血病、巨大グロブリン血症、末梢血液では慢性リンパ性白血病、本態性低色素性貧血等に線溶活性の亢進を認めた。これ等は、骨髄において末梢血より plasmin, plasminogen, activator, proactivator 等全てを総括した線溶系のレベルが一般に高いことを示すものである。

1915年 Fleisher, Loeb<sup>1)</sup>等は動物の凝血塊が組織に接触すると溶解することを知り、動物組織に線溶活性があると考えた。1948年 Mac Farlane, Biggs<sup>2)</sup>等も同様の結果を報告したが、これ等の報告では人の生理食塩水抽出液中に plasmin が存在するのか activator が存在するのかは明らかでない。1947年 Astrup, Permin<sup>3)</sup>は動物および人の組織に plasminogen-activator 存在を認め、ついで1952年 Astrup, Stage は tissue activator の抽出に成功した。1956年 Astrup, Sterndorff<sup>4)</sup>は人では2種類の plasminogen-activator が存在し、1つは安定な tissue-activator であり、1つは血中の proactivator より lysokinase によって生成される不安定な activator であるという。著者の測定した骨髄穿刺液は、骨髄という特殊な場であり、常に血中の proactivator にも接触しているところであり、また tissue activator に血液が接触している場所でもある。したがって他の臓器とは異なり activator の吟

味は複雑である。Albrechtsen<sup>11)</sup>は1957 plasmin - ogen-activator は子宮, adrenal glands, リンパ腺, 前立腺, 甲状腺, 肺, 卵巣に豊富であり, 脳下垂体, 腎, 筋, 心, 睾丸, 脾には中等量であり, 肝の抽出物にはほとんど陰性であるという。

骨髄の線溶系に関しては第1編でも述べた如く, 1961年 Björkman,<sup>12)</sup> Nilsson 等の「骨髄は labile type の activator に基づく高度な線溶活性値を有する」という報告がある。彼等は whole marrow 及び marrow plasma を使用しているが, 著者は marrow plasma より Eug. を作製して精細に骨髄の線溶系酵素について検討した。その結果, 骨髄穿刺液には plasmin のほかに, たしかに広義に activator 系 (Björkman のいう labile type の activator かもしれない) と解される物質が豊富であると考えられ, これがために骨髄穿刺液中では末梢血よりも plasmin 活性値の level は高いのであろうと考えた。すなわち骨髄内では血中の plasminogen より plasmin への活性化を促進しているものと推測される。骨髄穿刺液という特殊な局在性を有する一種の血液が, 骨髄内で plasmin 系の活性化を呈しているとする, これに対する inhibitor の問題も考慮しなければならないが, 著者が行った anti plasmin の

測定では各疾患でみるところ, 多くは線溶系と呼応して抗線溶系も変動し微妙に balance をとっている様に考えられる。ともかくも, かくの如く, 骨髄内での線溶系酵素の変化というものが生理学的に, あるいは病態生理学的にいかなる意味を有するものか, 殊に造血機能といかなる関係を有するものか, はなはだ興味深い問題を示唆しているものと思われる。

## V 結 論

骨髄穿刺液より Euglobulin fraction を作り, standard および heated fibrin plate にて線溶系の検索を行った。骨髄穿刺液では正常及び病的骨髄において, とともに末梢血よりも高い plasmin 活性 level を示した。また activator 様物質も骨髄では高活性値を示していることがわかった。殊に急性骨髄性及びリンパ性白血病, 再生不良性貧血, 本態性血小板減少症, 巨大グロブリン血症では顕著な activator 様活性を認めた。又 antiplasmin 値も線溶活性の高いものではそれに一致して高い値を示す事が認められた。

稿を終るに臨み終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜った恩師平木潔教授, 並びに直接御指導戴きました半沢敦正講師に深く感謝の意を表します。

## 参 考 文 献

- 1) 藤井節郎: プラスミンの活性化機構, 最新医学21: 238~250, 1966.
- 2) 岡本彰祐他: プラスミン (生理化学), 代謝2: 188~194, 1965.
- 3) 岡本彰祐, 船原芳範: 線溶現象の生理学—その最近の知見—, 最新医学21: 251~259, 1966.
- 4) 安部 英, 風間睦美: 内因性および外因性線維素溶解現象, 最新医学21: 260~273, 1966.
- 5) 本文第1編
- 6) Fleisher, M. S. & Loeb, L.: On tissue fibrinolysis. J. Biol. Chem., 21: 477~501, 1915.
- 7) Mac Farlane, R. G. & Biggs, R.: Fibrinolysis; Mechanism and significance. Blood, 3: 67~1189, 1948.
- 8) Astrup, T. & Permin, P. M.: Fibrinolysis in the animal organism. Nature, 159: 681~682, 1947.
- 9) Astrup, T. and Sterndorff, I.: The plasminogen activator in animal tissue. Acta physiol. Scand. 36: 250~255, 1956.
- 10) id.: Fibrinolysokinase activity in animal and human tissue. Acta physiol. Scand. 37: 40~47, 1956.
- 11) Albrechtsen, O. K.: The fibrinolytic activity of human tissue. Brit. J. Haemat. 3: 284~291, 1957.
- 12) Björkman, S. E. & Nilsson, I. M.: Demonstration of a fibrinolytic activator in red bone marrow. Acta haemat., 26: 273~280, 1961.

**Studies on the fibrinolytic activity of bone  
marrow aspirates.**

**II. Euglobulin fraction method.**

by

**Eiichi KUYAMA**

Department of Internal Medicine, Okayama University Medical School

(Director : Prof. Kiyoshi Hiraki)

The englobulin fraction was extracted from bone marrow aspirates and peripheral blood of patient with various blood diseases. The fibrinolytic activity of this fraction was measured by the standard and heated fibrin plate method. The fibrinolytic activity of bone marrow aspirates was found to be always higher than that of peripheral blood in normal and pathological conditions. The level of plasminogen activator of bone marrow aspirates was also higher than that of peripheral blood, particularly in leukopoietic and thrombopoietic disorders as well as in dysproteinemias. This finding suggested that plasminogen might be activated to plasmin in bone marrow.