人大動脈における Factor XIII と Transglutaminase 活性について

吉 峯 徳* 葛 谷 文 男*

Robbins が XIII 因子の存在を示唆し、その後10年程前よりこれに関する種々の報告がなされている。XIII 因子は血液凝固機転において、トロンビンとともに Fibrinogen→Fibrin monomer の作用に関与している。Ca⁺⁺ およびトロンビン存在下で XIII 因子は Transglutaminase (以下 T-GLase と略) となり Fibrin monomer→Fibrin polymer に関与する。このメカニズムが血管壁自体にも上記物質が存在して起こりうるのか、あるいはまた、血中より Fibrinogen が血管壁に侵入して初めて起こりうるのかについての詳細は不明である。今回われわれは人大動脈を用いて XIII 因子および T-GLase を測定し、動脈硬化との関連について検索したので報告する。

実験材料および実験方法

死後15時間以内に剖検された年齢29歳より85歳の事故死10例の大動脈を用い、肉眼的に硬化度を硬化病変なしの0度より高度の硬化性病変を有する4度まで5段階に分類し、大動脈弓部、胸部大動脈および腹部大動脈より各段階の病変を選び、その内、中膜を使用した。XIII 因子測定法としては抗原抗体反応を用いるパルチゲン法を使用した。すなわち 1.5% Agarose 液 14ml にそれぞれ、Anti-Factor XIII Subunit A serum (Anti-A) および Anti Factor XIII Subunit S Serum (Anti-S) 0.2ml を 52°C～55°C で加え、孔径 3mm のホール 12ヶを有する円形プレートを作成した。大動脈切片は生食により20%ホモジネートとし、

4°C で 24時間透折したのち、10,000rpm, 15分間遠沈し、その上清 40μl を使用し、48時間後に生じたほぼ円形の直径を測定し、さらに 5% タンニン酸で染色して再度計測した。T-GLase 活性の測定には Dvilansky, A. らの方法に準じて行った。Isotope には Cadaverine-1, 5-¹⁴C-Dihydrochloride 2.5μCi を用い、30°C にてインキュベートし、0分、30分、60分、120分、180分および240分の各時間における活性を5% TCA にて脱蛋白し、Liquid Scintillation counter にて測定した。大動脈は 0.3M Tris Butter (pH=7.5) を用いて、10% ホモジネートを作成し、その0.1ml を使用した。蛋白定量には Lowry らの方法を用いた。

結 果

図1に XIII 因子量を示す。各例のそれぞれ Anti-A および Anti-S における XIII 因子量を、縦軸にその直径で示し、横軸に硬化度を示してある。いずれの硬化度においても XIII 因子の存在が認められるが、硬化度の軽度の部位でやや高値を示す傾向がみられた。図2は T-GLase 活性を示すもので、硬化1度10例、硬化2度6例、硬化3度6例および硬化4度2例の平均で図示してある。図にみられるごとく、硬化2～3度の活性は、硬化1度の酸素活性に比してやや低値を示し、硬化4度ではさらに低値を示した。年代別による変化は例数の関係上後日検討を要すると考えている。

*名古屋大学医学部第3内科学教室

Fig. 1 Factor XIII in Human Aorta

考案および結論

今回われわれは人大動脈を用いて XIII 因子および T-GLase 活性を測定し、これが動脈壁中に存在することを認めた。Laki らは硬化性変化のある部位で酵素活性の高いことを報告し、この活性の大部分が血中由来のものであらうと述べている。XIII 因子の動脈壁での役割については、動脈壁での fibrin 沈着が一樣でないこと、およびこれが XIII 因子活性の変化によることが報告されており、動脈壁への fibrin 沈着を動脈硬化発症と考える Thrombogenic Theory と考え合わせるとき、XIII 因子および T-GLase は fibrin と fibrinolysis とのバランスを保つ上に重要な役割を演ずるものと考えられる。今回のわれわれの成績からは動脈壁内に XIII 因子および T-GLase が認められたことから、これらの変化と動脈硬化性変化との間に何らかの関連性が想定され、さらに今後検討を加える予定である。

質問 田中征喜 (九大病理)

- 1) 肉眼的に正常な部の活性はどうでしたか。
- 2) 動脈壁におけるフィブリンの局在と Factor XIII の局在との関係はどうですか。血管壁内の血漿成分の透過ならびにフィブリノーゲンのフ

Fig. 2 Transglutaminase Activity in Human Aorta

文 献

- 1) Robbins, K.C.: The conversion of fibrinogen to fibrin. *Amer. J. Physiol.*, **142**: 581 (1944).
- 2) Dvilansky, A. et al.: Factor XIII assay by an isotope method. I. Factor XIII (Transamidase) in plasma, serum, leukocytes, erythrocytes and platelets, and evaluation of screening tests of clot solubility. *Brit. J. Hemat.*, **18**: 339 (1970).
- 3) Dvilansky, A. et al.: Factor XIII assay by an isotope method. II. Heparin inhibition of Factor XIII activation. *Thromb. Diath. Haemorrh.*, **24**: 256 (1970).
- 4) Lowry, O.H. et al.: Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**: 265 (1951).
- 5) Bray, G.A.: A simple efficient liquid scintillation for counting aqueous solutions in a liquid scintillation counter. *Ann. Biochem.*, **1**: 279 (1960).
- 6) Laki, K. et al.: Clot stabilization and atherosclerosis. *Ann. N.Y. Acad. Sciences*, **202**: 235 (1972).
- 7) Woolf, N.: The distribution of fibrin within the aortic intima. An immunohistochemical study. *Amer. J. Path.*, **39**: 521 (1961).
- 8) Haust, M.D. et al.: Electron microscopy of fibrin in human atherosclerotic lesions. Immunohistochemical and morphologic identification. *Exp. Molec. Path.*, **4**: 205 (1965).

ィブリンへの変換の部位と Factor XIII の局在との関係が重要だと思います。

回答 吉峯 徳

- 1) 正常の血管として10歳以下の材料が望ましいと思いますが、今回は残念ながら正常部位の検

人大動脈における Factor XIII と Transglutaminase 活性について

討ができませんでした。また材料として、内膜、中膜を同時に使用しております。

2) フィブリノーゲン量については今回まだ手をつけてありません。

質問 金出英夫 (九大循環器内科)

この血管壁にある Transglutaminase は plasm-

er 由来か tissur 由来かどうお考えでしょうか。

回答 吉峯 徳

われわれも血管壁中の Factor XIII の由来は大部分プラズマからと考えていますが、全部そうとはいえないと考え検討してみたいと思います。

Summary

Factor XIII and Transglutaminase Activity in Human Aorta

Noboru YOSHIMINE and Fumio KUZUYA

The 3rd Department of Internal Medicine, School of Medicine Nagoya University

Robbins reported the existence of Factor XIII and thereafter many investigators have reported the role of factor XIII in coagulation mechanism. This enzyme has, also, some actions on atherosclerotic changes in arterial intima. In order to clarify the relation between the enzyme activity and the atherosclerotic severity, we measured the activity of factor XIII and transglutaminase in human aortas.

Materials and methods

- A) materials: Relatively fresh 10 human aortas were selected from forensic autopsy. The intima-media preparation was made from aortic arch, thoracic and abdominal aorta.
- B) measurement of factor XIII: Partigen method.
- C) measurement of transglutaminase activity: Modification of Dvilansky et al.

Results

We found both factor XIII and transglutam-

inase activity in each stages of atherosclerosis. Factor XIII seemed to be higher, but there were no significant increases. In transglutaminase activity, however, there was lower activity in stage 4.

Conclusion

In early stages of atherosclerosis, we found the some degree of enzyme activity. Laki et al reported the same result in animals, but they could not ascertain whether they were dealing with the tissue or the plasma enzyme. We also imagine that the large parts of enzyme in arterial wall may come from blood plasma, but some parts of it come from tissue itself. Factor XIII may have the important role in the dynamic balance of fibrinogen-fibrin system both in blood plasma and in arterial walls.

Key word: Factor XIII, Transglutaminase, Atherosclerosis