鼻副鼻腔粘膜における線維素溶解現象

第 3 報 ヒトおよびイヌ鼻副鼻腔粘膜線溶能の細胞内局在

おか にし のり ひこ
岡 西 紀 彦

緒 言

第 1 項 実験材料ならびに実験方法

A) 実試材料

B) 実験方法

第 2 項 実験成績

1) ヒト上顎洞粘膜

a) mitochondrial fraction

b) lysosomal fraction

c) microsomal fraction

d) final supernatant

2) イヌ鼻副鼻腔粘膜

a) mitochondrial fraction

b) lysosomal fraction

c) microsomal fraction

d) final supernatant

3) ヒト上顎洞粘膜細胞分画中の
proactivator4) イヌ鼻副鼻腔粘膜細胞分画中の
proactivator

考 按

結 論

参考文献

緒 言

組織が示す線溶活性の細胞内局在については、1949年、Tagnon and Petermann¹⁾ の報告以来多くの研究がある。この線溶活性は多くの場合 lysosomal fraction または microsomal fraction に局在すると言われている。

一方、ヒトの上顎洞粘膜の細胞顆粒の線溶能を研究した報告は少なく、わずかに佐々木²⁾、Miura³⁾ の報告があるのみである。ヒト上顎洞粘膜については、この両者の見解は異り、前者は mitochondria 分屑に、後者は mitochondrial fraction に主に、また microsomal fraction および lysosomal fraction にもその存在が認められたという。

著者は、鼻副鼻腔領域における線維素溶解現象の一連の研究の一環として、ヒトの上顎洞粘膜組織に於ける plasminogen (plg.) activator の局在を追求し、併せてイヌの鼻副鼻腔粘膜のそれを検索したので、本論文ではその比較検討について述べる。

第 1 項 実験材料ならびに実験方法

A) 実験材料

1) 被検材料：ヒト上顎洞粘膜は慢性副鼻腔炎の手術時に得られた比較的病変の軽度なものを使用した。イヌ鼻副鼻腔粘膜（鼻粘膜が大部

分をしめる）はネブタールの腹腔内注射により死亡させたものより採取して使用した。両者共採取組織の血液を生塩水で洗い落した後、氷冷 0.25M sucrose に保存し実験に供した。

Fibrinolytic Activity of Nasal and Paranasal Mucous Membrane. III. Fibrinolytic Activity of Cytoplasmic Granules of Nasal and Paranasal Mucous Membranes in Human and Dogs.
Norihiro Okanishi.

*広島大学医学部耳鼻咽喉科学教室（主任：黒住静之教授）

2) 分散媒体: 和光純薬工業株式会社の sucrose 特級を 0.25M 水溶液として使用した.

3) 抽出溶剤: 和光純薬工業株式会社の KSCN を 0.02 M tris buffer (pH 7.4) で 0.15M および 2.00M に溶解し使用した.

4) フィブリノーゲン (Fg): 第 1 化学薬品株式会社のウシの フィブリノーゲン (Cohn, Fract. I) を 0.2M 硼酸緩衝液 (pH 7.75) で 0.4% に溶解し, 使用した (0.4% Fg 液).

5) トロンビン (Th): 持田製薬株式会社のウシのトロンビンを 0.2M 硼酸緩衝液 (pH 7.75) にて 10u/ml に溶解 (Th 液) し使用した.

6) 緩衝液: 0.2M 硼酸緩衝液 (pH 7.75) および 0.02M tris buffer (pH 7.4) については前報に述べた.

7) ストレプトキナーゼ (SK): レダリー製薬株式会社のバリターゼを生塩水にて 1000u/ml に溶解使用した.

B) 実験方法

de Duve⁴⁾の方法に準じて図 1 の如く細胞分画を行なった. 即ち, 被検材料に 10 倍量の氷冷 0.25M sucrose を加え glass homogenizer を使用してホモジェナイズ後, 0°C, 1,000 g,

10 分間, 遠沈を行ない, 沈渣 (Sd I) (large granules) より上清 (Spn I) を分離し, これを 0°C, 3,300 g, 10 分間, 遠沈を行なった. 沈渣 (Sd II) に対しては, 0.25M sucrose にて再分散し, これの再遠沈 (3,300 g, 10 分間) を 2 回繰り返す, 沈渣 (Sd III) を mitochondrial fraction とした. 上清 (Spn III) は最初の上清 (Spn II) に加え, 0°C, 25,000 g, 10 分間, 遠沈を行なった. また, 沈渣 (Sd IV) に対しては, 再分散 (0.25M sucrose), 再遠沈 (25,000 g, 10 分間) を 2 回繰り返す, 沈渣 (Sd V) を lysosomal fraction とした (以上の遠沈にはすべて久保田冷凍遠沈機 KR-66A を使用). 上清 (Spn V) は最初の上清 (Spn VI) に加え, 0°C, 60,000 g, 100 分間, 遠沈 (日立分離用高速遠沈機 24P-2 形, RPH 24-2) を使用し, 沈渣 (Sd VI) を microsomal fraction とし, 上清 (Spn VI) を final supernatant とした.

以上の如く分画した各 fraction に対し, ヒトでは最初の分散媒体と同量の抽出溶剤 (0.15M KSCN および 2.00M KSCN) を加え, イヌでは 1/10 量の抽出溶剤 (0.15M KSCN および 2.00M KSCN) を加え, 0°C および 37°C で 3 時間抽出したものについてその線溶活性をフィブリン平板法 (標準および加熱) で測定した. また, SK 反応性線溶活性の有無を検索する目的で, これらの各抽出液 および final supernatant 0.3ml に SK (1000u/ml) 0.3ml を加え, 37°C, 10 分間 incubate したものについて, その線溶能を標準フィブリン平板法および加熱フィブリン平板法で測定した. 対照としては SK の代りに生塩水を各抽出液に同量加えたものを使用した.

フィブリン平板法としては内径 8.5cm のペトリシャーレに 0.4% Fg 液を 8ml, 10u/ml Th 液を 4 ml 混入し, 室温に 30 分間, 放置したものを使用した. 加熱平板としては, 上記の標準平板を 85°C, 30 分間加熱したものを使用した. 上記の被検液 0.03ml を各検体につき 3 点づつ

図 1

フィブリン標準平板および加熱平板上に滴下し、37°C、18時間 incubate した後にフィブリン膜溶解環の長径 (mm) および短径 (mm)

を測定し、その積 (mm²) を3点につき平均したものでその被検液の活性値を表わした。

第2項 実験成績

1) ヒト上顎洞粘膜 (表1)

a) mitochondrial fraction : 標準平板法で線溶活性を調べたものは、0.15M KSCN 抽出液では 0°C に180分間、抽出したものが101mm² で、37°C に180分間抽出したものが127mm² であった。また 2.00M KSCN 抽出液では、0°C に180分間抽出したものが、207mm²、37°C に180分間抽出したものが200mm² であった。これらの成績から抽出温度によっては活性に大差がみられなかった。

次に、本活性が plasmin 又は他の protease でないことを確かめるために加熱平板法で活性を調べたが、殆んど線溶活性は認められなかった。

本分画による活性値は、他の分画に比べると最も低く、抽出条件では、温度差による差違は

あまり認められないが、0.15M KSCN と 2.00 M KSCN 抽出液 とでは明らかに、2.00 M KSCN 抽出液の方が高い活性を示した (表1)。

b) lysosomal fraction : 標準平板法により、線溶能を測定すると、0.15M KSCN 抽出液では、0°C に180分間抽出したものが、281mm² で、37°C に180分間抽出したものが、316mm² であった。しかしながら、加熱平板法では殆んど活性は認められなかった。

本分画では、全般的に他の分画に比べ最も高い活性値が認められ 2.00M KSCN 液にて、0°C に180分間抽出したものが、413mm² で全被検液中、最も高い値を示した。37°C に180分間抽出したものは314mm² を示した。また、温度差、塩濃度等の抽出条件による測定値の差異が認められ、0.15M KSCN 液では 37°C、

表1 ヒト上顎洞粘膜

Fractions	0°C, 180min.		37°C, 180min.	
	Standard	Heated	Standard	Heated
Mitochondrial				
0.15M KSCN-0.02M tris buffer, pH 7.4	101 mm ²	0 mm ²	127 mm ²	0 mm ²
2.00M KSCN-0.02M tris buffer, pH 7.4	207	0	200	0
Lysosomal				
0.15M KSCN-0.02M tris buffer, pH 7.4	281	0	316	0
2.00M KSCN-0.02M tris buffer, pH 7.4	413	0	314	0
Microsomal				
0.15M KSCN-0.02M tris buffer, pH 7.4	280	0	257	0
2.00M KSCN-0.02M tris buffer, pH 7.4	363	0	321	0
Final Supernatant	266	0	238	0

2.00M KSCN 液では 0℃ にて抽出を行なったものの方が高い活性を示した。

c) microsomal fraction : 標準平板法にては, 0.15M KSCN 液では, 0℃ に 180 分間抽出したものが 280mm²で, 37℃ に 180 分間抽出したものが 257mm²であり, 2.00M KSCN 液では 0℃ に 180 分間抽出したものが 363mm²で, 37℃ に 180 分間抽出したものが 321mm²であった。この fraction も加熱平板法では殆んど活性は認められなかった。

本分画では, 全般的に mitochondrial fraction と lysosomal fraction のほぼ中間の活性値を示したが, 2.00M KSCN 液にて, 37℃, 180 分間抽出を行なったものは, 37℃ にて incubate した群の中では最高値を示した。抽出条件では, 0.15M KSCN 液および 2.00M KSCN 液共に, 0℃ にて抽出を行なったものにやや高い活性がみられた。又, 0.15M KSCN 液より 2.00M KSCN 液の方が, 0℃, 37℃ 共に高い値を示した。

d) final supernatant : 標準平板法にて 0℃ に 180 分間放置したものは 266mm², 37℃ に 180 分間放置したものは 238mm² の活性を示した。加熱平板では殆んど活性は認められなかった。

以上の事実から final supernatant は mitochondrial fraction について弱い活性がみられ, 最も強い活性をみたものは lysosomal fraction を 2.00M KSCN にて 0℃, 180 分間抽出したものであった。

2) イヌ鼻副鼻腔粘膜 (表 2)

a) mitochondrial fraction : 標準平板法を用いた線溶活性の測定では, 0.15M KSCN 抽出液で, 0℃ に 180 分間および 37℃ に 180 分間抽出したものに incomplete lysis が認められるに過ぎなかった。また, 2.00M KSCN 抽出液では, 0℃ に 180 分間抽出したものが 108mm²で, 37℃ に 180 分間抽出したものでは incomplete lysis を示した。加熱平板では活性は認められなかった。本分画は, 全般的に他の分画に比して最も低い活性を示した。温度差, 塩濃度等の抽

表 2 イヌ鼻副鼻腔粘膜

Fractions	0℃, 180min.		37℃, 180min.	
	Standard	Heated	Standard	Heated
Mitochondrial				
0.15M KSCN-0.02M tris buffer, pH 7.4	(65) mm ²	0 mm ²	(62) mm ²	0 mm ²
2.00M KSCN-0.02M tris buffer, pH 7.4	108	0	(79)	0
Lysosomal				
0.15M KSCN-0.02M tris buffer, pH 7.4	(68)	0	(74)	0
2.00M KSCN-0.02M tris buffer, pH 7.4	130	0	118	0
Microsomal				
0.15M KSCN-0.02M tris buffer, pH 7.4	144	(30)	176	(28)
2.00M KSCN-0.02M tris buffer, pH 7.4	127	0	0	0
Final Supernatant	(60)	0	(52)	0

() incomplete lysis

出条件による差異が認められ、2.00M KSCN 液にて 0℃ に 180 分間抽出を行なったもの以外は incomplete lysis を示した。

b) lysosomal fraction：0.15M KSCN 抽出液を標準平板法にて測定すると、0℃ に 180 分間および 37℃ に 180 分間抽出したものは共に incomplete lysis を示すに過ぎず、2.00M KSCN 抽出液では 0℃ に 180 分間抽出したものは 130 mm² で、37℃ に 180 分間抽出したものは 118 mm² であった。また、加熱平板法では活性は認められなかった。本分画では、全般的にみて、mitochondrial fraction と microsomal fraction の略々中間の活性値を示した。顆粒よりの抽出条件では、温度差による差異は余り認められないが、塩濃度により著しい差異が認められた。

c) microsomal fraction：標準平板法による測定では、0.15M KSCN 抽出液で 0℃ に 180 分間抽出したものは 144mm² で、37℃ に 180 分間抽出したものは 176mm² を示し、

2.00M KSCN 液では、0℃ に 180 分間抽出したものは 127mm² で、37℃ に 180 分間抽出したものでは活性を示さなかった。加熱平板法では、0.15M KSCN 抽出液で僅かに incomplete lysis を示したに過ぎなかった。本分画では、何れの分画よりも最も高い活性を示した。また抽出条件による活性の差異が顕著に認められ、0.15M KSCN 抽出液で高い活性を示し、37℃ にて抽出したものは全被検液中最高値を示した。更に、0℃ にて抽出したものは、0℃ 抽出群の内でも最高値を示した。これらに対し、2.00M KSCN 抽出液の活性値は低く、37℃ にて抽出したものは活性が認められなかった。

d) final supernatant：標準平板法にて、0℃ および 37℃ に 180 分間放置したものに incomplete lysis を認めたに過ぎず、加熱平板法では活性は認められなかった。

3) ヒト上顎洞粘膜細胞分画中の proactivator

表 3 に示すごとく、標準平板法を用いた上顎

表 3 ヒト上顎洞粘膜細胞分画中の Proactivator

Fractions	Standard plate			
	0℃, 180min.		37℃, 180min.	
	S K	対 照	S K	対 照
Mitochondrial				
0.15M KSCN-0.02M tris buffer, pH 7.4	86 mm ²	72 mm ²	108 mm ²	101 mm ²
2.00M KSCN-0.02M tris buffer, pH 7.4	156	162	156	145
Lysosomal				
0.15M KSCN-0.02M tris buffer, pH 7.4	152	153	161	170
2.00M KSCN-0.02M tris buffer, pH 7.4	337	306	246	252
Microsomal				
0.15M KSCN-0.02M tris buffer, pH 7.4	228	237	220	235
2.00M KSCN-0.02M tris buffer, pH 7.4	302	290	284	278
Final Supernatant	232	154	182	138

表 4 イヌ鼻副鼻腔粘膜細胞分画中の Proactivator

Fractions	Standard plate			
	0°C, 180min.		37°C, 180min.	
	S K	対 照	S K	対 照
Mitochondrial				
0.15M KSCN-0.02M tris buffer, pH 7.4	(79) mm ²	(88) mm ²	(66) mm ²	(53) mm ²
2.00M KSCN-0.02M tris buffer, pH 7.4	(85)	(80)	(70)	(68)
Lysosomal				
0.15M KSCN-0.02M tris buffer, pH 7.4	(63)	(53)	(50)	(41)
2.00M KSCN-0.02M tris buffer, pH 7.4	99	88	79	76
Microsomal				
0.15M KSCN-0.02M tris buffer, pH 7.4	108	112	128	136
2.00M KSCN-0.02M tris buffer, pH 7.4	(68)	(72)	0	0
Final Supernatant	(60)	(53)	(52)	(50)

() incomplete lysis

洞粘膜の細胞分画に対するストレプトキナーゼ (S K) による活性化は、各分画のどの抽出液にも明らかに認め難いが、final supernatant では、0 °C に 180 分間放置したものおよび 37 °C に 180 分間放置したものに共に認められるようである。加熱平板では、全被検液共殆んど活性を示さなかった。

考 按

細胞顆粒の線溶能については、昌頭に述べたごとく、1949年、Tagnon and Petermann¹⁾ がネズミの肺で Claude⁵⁾ の方法に準じて細胞分画を行ない測定したのを始めとして、1950年 Tagnon and Palade⁶⁾、1950年 Lewis and Ferguson⁷⁾、1964年 Sugiyama and Okamoto⁸⁾、1965年 Sugiyama⁹⁾、1965年 Ali and Lack¹⁰⁾、1967年 杉野¹¹⁾、1968年 Nakahara and Celander¹²⁾、1968年 Beard, Montuori, Donas and Busuttil¹³⁾、1969年 Beard, Car-

roll and Donas¹⁴⁾、1971年 Nakahara¹⁵⁾ らの各種臓器についての報告がみられる。Ali and Lack¹⁰⁾ はウサギ、ハツカネズミの腎、肝に対し Duve⁴⁾ の変法により、細胞分画を行ない、nuclear fraction (800g, 5min), mitochondrial fraction (5,000g, 10min), lysosome-rich fraction (15,000g, 20min), microsomal fraction (140,000g, 60min), supernatant に分画しフィブリン平板法および線維素塊溶解時間法にて線溶活性の測定を行ない、活性は主に lysosome-

rich fraction に存在し, microsomal fraction にも少し認められたと述べている. この際, lysosome-rich fraction に Triton X-100 の如き表面活性化剤を加えない場合には, activator および protease activity は殆んど認められなかったと報告している. Sugiyama ら⁸⁾ はネズミ (rat) の肝, 脳, 腎, ウサギの胃, 犬の耳下線に対し de Duve⁴⁾ の変法にて細胞分画を行ない, mitochondrial fraction (3,300g, 10min), lysosomal fraction (25,000g, 10min), microsomal fraction (60,000 g, 100 min), final supernatant に分画し, 種々な抽出条件, 即ち温度は 0℃および 37℃, 抽出溶剤としては, 等張塩液 (0.15M KCl) および高張塩液 (2.00M KCl) を用い, 3 時間抽出を行なったものについて, その線溶活性をフィブリン平板法にて測定した. その結果 0℃, 2.00M KCl 抽出液では全般的に高い activator 活性を示すが, lysosomal および microsomal fraction は mitochondrial fraction より高い活性を示した. 又, 37℃, 0.15M KCl 抽出液では腎, 脳, 耳下線の lysosomal fraction より抽出液は高い活性を示すが, 肝の lysosomal fraction は活性が認められなかった. 同条件下でイヌの耳下線およびウサギの腎の microsomal fraction も又, 高い活性を示したが, その他では, lysosomal fraction は mitochondrial fraction および microsomal fraction より高い活性を示したと述べている. 杉野¹¹⁾ は分散媒体として, 0.15M KSCN を用い, 犬の諸臓器より de Duve⁴⁾ の方法に準じて細胞分画を行ない, 各分画に対し, 0.15M KSCN にて抽出を行なった. その結果, 「plasminogen activator は mitochondria 分画では副腎, リンパ腺, 甲状腺に高値を, lysosome 分画では副腎, リンパ腺, 甲状腺に高値を, microsome 分画では副腎, 脾, リンパ腺, 胸腺に高い線溶能を認めた」と報告している.

細胞分画を行なう際に用いられる分散媒体としては, 1947年に Hogeboom et al.¹⁶⁾ によって

蔗糖が導入されて以来, 一般に蔗糖が用いられており, 線溶物質の検索にあたっては Schneider¹⁷⁾, de Duve⁴⁾, Lack and Ali¹⁰⁾, Beard et al.¹³⁾¹⁴⁾, 佐々木²⁾, Sugiyama⁹⁾, Miura³⁾ らも, 等張 (0.25M) 蔗糖液を用いている. 一方, 杉野¹¹⁾ はイヌの諸組織について細胞分画を行なっているが, 分散媒体として 0.15M KSCN を用いている. また, 各分画の線溶物質抽出溶剤としても, 0.15M KSCN を用いた結果を得ている. これには 2 つの問題点があるように考えられる. その第一は, 塩類溶液を分散媒体として用いた点である. Hogeboom et al.¹⁶⁾ はネズミの肝臓を生塩水にて分散した場合に mitochondria が異常な形態となるばかりでなく, 核や未破碎細胞などと凝集を起すことを認め, 他の電解質 (KCl, K₂SO₄, 磷酸緩衝液) でも同じことが認められたと述べている. 佐藤¹⁸⁾ は, 「一般に細胞分画のための媒体のイオン強度は低い方が望ましい.」と述べ, 更に Hers¹⁹⁾ らの文献を引用し「イオン強度の高い媒体, たとえば塩類水溶液を用いると, 多くの細胞内構造成分が凝集を起し, その後の遠心力による分離が極めて不明瞭になってしまうからである.」と述べている. 第二は分散媒体として用いた 0.15M KSCN 液自体が, この場合線溶物質の抽出溶剤として最適のものであり, 各分画よりの抽出溶剤として同じく, 0.15M KSCN 液を用いている点である. 即ち, この場合, 分画操作の各段階で線溶物質が多量に分散媒体により抽出され上清へ移行すると考えられないだろうか.

次に, 研究者により成績の異なるのは, 分画操作およびそれによる各分画の分類が, 研究者によりまちまちである点が考慮されなければならない. 例えば, 佐々木²⁾ は mitochondria 分層 (8,500g, 10min) と microsome 分層 (18,000 g, 60min) とに分画したが, この mitochondria 分層は著者の分画による mitochondrial fraction (3,300g, 10min) および lysosomal fraction (25,000g, 10 min) の一部が含まれてい

ると考えられる。又、microsome 分層には lysosomal fraction の一部 および microsomal fraction (60,000g, 100min) の一部が含まれていると考えられる。又、分画過程で分離される各沈渣に対する再分散 (resuspension), 再遠沈 (recentrifugation) の施行の有無, 施行回数などの条件などによっても, 各分画の性状が異ってくると考えられる。従って, 各研究者による成績を比較する場合には, これらの点も十分に考慮に入れなければならないだろう。

私の実験では, 各分画に対する線溶物質の抽出方法は Sugiyama⁸⁾の方法を参考とし, 抽出溶剤としては, 等張塩液 (0.15M KSCN) および高張塩液 (2.00M KSCN) を用い, 0℃に, 180分間, および37℃に180分間, 抽出を行なったものについて検索した。

第一報に述べた如く, 線溶物質は, ヒト上顎洞粘膜, イヌ鼻副鼻腔粘膜共に 2.00M および 0.15M KSCN にてよく抽出されることが知られていたので, 抽出溶剤としては, これらを用いた。杉野¹¹⁾は, イヌの諸組織について線溶物質抽出溶剤の検討を行ない, 2M KSCN, 2M KCl, 30% sucrose および 0.9% NaCl で抽出しフィブリン平板法にて測定し, 2M KSCN が最適であり, 更に諸 Mol 濃度の KSCN 溶液にて抽出検討した処, 0.15M KSCN が最適であったと述べている。これらのことは, 私の前報における諸抽出液に関する検討の結果とも一致する。

final supernant に関しては線溶物質抽出のための incubation は不必要と考えられるが, 他の分画に対する抽出条件と同一条件下に比較する目的で 0℃および 37℃に 180分間放置したものについて測定を行なった。

proactivator に関しては, 全ての分画に亘って存在は認められず, ヒトの final supernatant にのみ S K 反応物質の多少の存在が窺われるが, これには血液中の proactivator の移行の可能性も一応疑わなければならないだろう。然るに Miura³⁾はヒトの上顎洞粘膜より 0.15

M KCl にて抽出を繰り返し行ない, 第 1 回目の抽出液には多量の proactivator を認め, 第 5 回目の抽出液迄 proactivator の存在を認めており, 更に第 6 回目に 2.00M KCl にて bound-form activator の抽出を行ない, activator と共に proactivator をも抽出し得たと述べている。著者はヒトの上顎洞粘膜より諸抽出液, 即ち 0.02M tris buffer, (pH 7.4) および NaCl, KCl, KSCN を 0.02M tris buffer (pH 7.4) にて等張 (0.15M) および高張 (2.00M) に溶解した液にて 0℃に, 2時間抽出を行なったものについて proactivator を検索した処, 表 5 の如く, 2.00M KSCN 抽出液以外では著明な量の proactivator の存在を認めた。そこで本実験成績との差違が問題となるがこの点に関しては, 更に検索を重ねることが必要であろうと考えられる。しかし実験条件の上で大きな差違があげられ, このことが要因と推定されるように思う。即ち, 細胞分画では, その各段階で図 1 にみられる如く, 再分散 (resuspension), 再遠沈 (recentrifugation) を繰り返し行なうため, もし, proactivator が鼻副鼻腔粘膜の細胞顆粒に殆んど由来しないものであるならば,

表 5 ヒト上顎洞粘膜よりの諸抽出液中の Proactivator

	S K	対 照
0.02M tris buffer, pH 7.4	335 mm ²	114 mm ²
0.15M NaCl-0.02M tris buffer, pH 7.4	307	132
2.00M NaCl-0.02M tris buffer, pH 7.4	414	182
0.15M KCl-0.02M tris buffer, pH 7.4	378	128
2.00M KCl-0.02M tris buffer, pH 7.4	461	188
0.15M KSCN-0.02M tris buffer, pH 7.4	427	147
2.00M KSCN-0.02M tris buffer, pH 7.4	255	219

上清へと移行し、次第に希釈されるため final supernatant においてヒトの場合に幾分 proactivator の存在が窺われるに過ぎない程度になる可能性である。

既述したごとく、各分面の性状（目的とする細胞顆粒の含有される割合など）が被検試料や分面方法の条件の差異などによって異なってくることも考えられるので、目的上正確を期することが必要と考えられる場合には、「純度の検定」（形態学的検定法 および 生化学的検定法）

も必要とされよう。

私の実験結果からは、以上のような点を考慮に入れても、少くとも従来の報告のごとく、ヒト上顎洞粘膜では線溶活性がmitochondrial 分層或は lysosomal 分層に局在するという成績には必ずしも一致せず、lysosomal fraction に主に、全てのfractionに存在すると言う成績が得られ、イヌの鼻副鼻腔粘膜では、microsomal fraction に最も強い線溶能が認められたと言う結果が得られた。

結 論

1) ヒト上顎洞粘膜では各 fraction に強い plg. activator 活性が認められたが、lysosomal fraction は全般的に強い活性を示し、中でも 2.00M KSCN にて 0℃ に 180 分間抽出を行なったものは最も強い活性を示した。

2) イヌ鼻副鼻腔粘膜では、各 fraction に plg. activator 活性が認められるが、microsomal fraction が比較的強い活性を示し、0.15M KSCN にて 37℃ に 180 分間抽出を行なったものは最も強い活性を示した。

3) ヒトおよびイヌ鼻副鼻腔粘膜の各 fraction は加熱平板では活性を殆んど示さなかった。

4) ヒトおよびイヌ鼻副鼻腔粘膜の各 fraction には、SK 反応物質は含まれなかった。但し、ヒトの final supernatant には、幾分 SK 活性化物質 (proactivator) の存在が窺われた。

稿を終るにあたり、御懇切なる御指導および御校閲を賜った恩師黒住静之教授ならびに終始御指導、御鞭撻を頂いた原田康夫助教授に衷心より謝意を捧げます。

本実験に直接、御指導御協力を頂いた神戸学院大学岡本歌子教授および神戸大学岡本彰祐教授に深甚なる謝意を表します。

また、実験に際し快く御指導、御協力を頂いた皮膚科学教室矢村卓三教授、細菌学教室松尾吉恭教授、生化学教室川崎尚教授および教室員諸兄に厚く感謝致します。

最後に本研究を行うにあたり多大な便宜をお計い頂いた三菱三原病院長小園昇博士に厚く感謝の意を表します。

本論文の要旨は第11回日本鼻副鼻腔学会総会において発表した。

参 考 文 献

- 1) Tagnon, H.J. and Petermann, M.L. : Activation of proplasmin by a tissue fraction. Proc. Soc. Exper. Biol. & Med., 70 : 359, 1949.
- 2) 佐々木好久 : 上顎洞粘膜各分層中の線維素融解能についての分析. 日耳鼻 63 : 925, 1960.
- 3) Miura, M. : Activators and proactivator of fibrinolytic system in paranasal mucous membrane of man. Kobe J. Med. Sci., 11 : 13, 1965.
- 4) deDuve, C., Pressman, B.C., Gianetto, R., Watiaux, R. and Appelmans, F. : Tissue fractionation studies : 6. Intracellular distribution patterns of enzymes in rat-liver tissue. Biochem. J., 60 : 604, 1955.
- 5) Claude, A. : Fractionation of mammalian liver cells by differential centrifugation ; Problems, methods and preparation of extract. J. Exper. Med., 84 : 51, 1946.

- 6) Tagnon, H.J. and Palade, G.E. : Activation of proplasmin by a factor from mammalian tissue. *J. Clin. Invest.*, **29** : 317, 1950.
- 7) Lewis, J.H. and Ferguson, J.H. : Studies on a proteolytic enzyme system of the blood : II. Fibrinolysokinase activators for profibrinolysin. *J. Clin. Invest.*, **29** : 1059, 1950.
- 8) Sugiyama, Y. and 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.
- 9) Sugiyama, Y. : Plasminogen activator in the cytoplasmic granules from different organs of mammals : Studies on intracellular localization, releasing and molecular size of two kinds of the activators. *Kobe J. Med. Sci.*, **11** : 151, 1965.
- 10) Ali S.Y. and 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.
- 11) 杉野律朗 : 線維素溶解現象の生理的動態に関する研究, 犬の諸臓器細胞顆粒内線溶糸物質の検索. *名市大医誌* **17** : 333, 1967.
- 12) Nakahara, M. and Celander, D.R. : Properties of microsomal activator of profibrinolysin found in bovine and porcine heart muscle. *Thromb. Diath. Haemorrhag.*, **19** : 483, 1968.
- 13) Beard, E.L., Montuori, M.H., Donas, G.J. and Busuttill, R.W. : Plasminogen activator activity of rat lysosomes. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **129** : 804, 1968.
- 14) Beard, E.L., Carroll, G.F. and Donas, G.T. : Release of plasminogen activator from rat liver lysosomes induced by stress related enzymes. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **131** : 438, 1969.
- 15) Nakahara, M. : Effect of intestinal pronase administration on plasminogen activator in intestinal mucosa. *Pharmacolog.*, **5** : 74, 1971.
- 16) Hogeboom G.H., Schneider, W.C. and Pallade, G.E. : Cytochemical studies of mammalian tissues, I. Isolation of intact mitochondria from rat liver ; Some biochemical properties of mitochondria and submicroscopic particulate material. *J. Biol. Chem.*, **172** : 619, 1948.
- 17) Schneider W.C. : Intracellular distribution of enzymes, III. The oxidation of octanoic acid by rat liver fractions. *J. Biol. Chem.*, **176** : 259, 1948.
- 18) 佐藤了編 : 細胞分画法, 岩波書店 1972.
- 19) Hers, H.G., Berthet, J., Berthet, L. and de Duve, C. : 18) 佐藤了編 : 細胞分画法より引用.

(原稿到着 : 昭和49年12月26日)

(別刷請求先 : 岡西 紀彦)

(〒734 広島市霞町 1-2-3)

(広島大学医学部耳鼻咽喉科学教室)