血液凝固過程のレオロジー的研究

—血小板, 第XIII因子, ϵ -アミノカプロン酸の影響について—

貝原 真* 深田 栄一* L.V. McIntire**

Rheological study on blood during clotting

—Effects of platelets, factor XIII and

 ϵ -aminocaproic acid on dynamic rigidity of clot—

Makoto KAIBARA,* Eiichi FUKADA* and L.V. McIntire**

Key words: dynamic rigidity, clot retraction, factor XIII inhibitor,
factor XIII deficient plasma, platelet

The effects of platelet, factor XIII inhibitor and plasmin inhibitor on the dynamic rigidity of plasma clot were examined. The dynamic rigidity (G') of clot for a mixture of factor XIII deficient platelet poor plasma (PPP) and normal platelets obtained from healthy human was much larger than that for factor XIII deficient PPP. The value of G' for platelet rich plasma (PRP) from patient with Glanzman's disease was smaller than that for normal PRP. A higher value of G' for PRP was ascribed to the clot retraction. The contractile force of platelets brings about the reorientation or reconstitution of fibrin fibers attached to platelets and caused the elevation of rigidity of clot.

After reaching a maximum value of G' , a relaxation of the clot occurred with subsequent decline in G' . The decrease in G' after attaining a maximum value was almost abolished by adding 0.3 mol ϵ -aminocaproic acid (plasmin inhibitor). A extremely sharp drop in G' was observed for PRP containing 5 or 10 mM glycine ethyl ester (factor XIII inhibitor). From these results, it is assumed that the rate and magnitude of decrease in G' are determined by the counterbalance between the formation of α -crosslinks and platelet fatiguing, fiber slippage or fibrinolysis.

* 理化学研究所 [〒351 和光市広沢 2-1], The Institute of Physical and Chemical Research, Wako, Saitama, Japan.

** Rice University, Houston, Texas, USA.

はじめに

凝固ゲルの粘弾性の値は、種々の因子の影響を受ける¹⁾。本研究では、血漿の凝固過程の粘弾性に及ぼす各種凝固関連因子（特に第XIII因子、血小板、プラスミン）の影響について検討した。

I. 方 法

クエン酸ナトリウムを抗凝固剤として、健康な人から得た血漿（PPP と PRP）、第XIII因子欠損血漿（PPP）および Glanzman's disease の血漿（PPP と PRP）を用いた。第XIII因子阻害剤としてヒドロキシルアミンとグリシンエチルエステルを用いた。プラスミン阻害剤には ϵ -アミノカプロン酸を用いた。

凝固過程の動的ずり弾性率 (G') と損失弾性率 (G'') は、平行板型動的粘弾性装置²⁾（理化学研究所で試作）を用いて行った。

II. 結 果

図1に第XIII因子欠損血漿 PPP (-XIII) とそれに正常なO-型血液の血小板を加えたPRP、および正常血漿 (normal PPP) の凝固に伴う G' の変化（凝固曲線）を示す。血小板数の増

加と共に G' の最大値は増加した。

正常な PRP（血小板数 2×10^5 個/ μ l）凝固ゲルの G' の値は $2,500 \sim 4,000$ dyne/cm² で、PPP の G' の値の3～5倍であった。Glanzman's disease の PRP 凝固ゲルの G' は正常な PRP の約1/3で、凝固曲線の形は PPP と同じであった。

図2はグリシンエチルエステル (GEE) を含む PRP の凝固曲線を示す。濃度の増加と共に G' の値は低下した。また G' が最大値に達した後の G' の低下が顕著になった。SDS-gel electrophoresis の結果は、GEE の濃度の増加に伴い、フィブリン分子間 α -架橋形成量が減少することを示した。また γ -架橋の形成量はわずかに減少した。

PRP 系で、 G' が最大値に達した後、続いて起こる減少は、0.3 mol ϵ -アミノカプロン酸を加えるとほとんど起こらなくなった。

III. 考察とまとめ

血漿の凝固ゲルの弾性は、本質的にはフィブリン網目によって生ずるが、フィブリン網目自身が弾性に寄与する割合は少ない。第XIII因子によるフィブリン分子間架橋の形成は、フィブリンの stiffness を増加し、フィブリン間のス

Fig. 1 A comparison in clotting curves of G' among normal platelet poor plasma (PPP), factor XIII deficient PPP [PPP(-XIII)] and factor XIII deficient plasma containing platelets obtained from healthy human with O-blood type, which were coagulated at 37°C under the shear strain of 0.11 and the frequency of 1 Hz. The time zero was taken when CaCl₂ solution was added to plasma.

Fig. 2 The dependence on glycine ethyl ester concentration of the dynamic rigidity G' of PRP during clotting.

リップを減少させる。

血小板はフィブリンと結合し、凝固ゲルの弾性率を著しく高める。第XIII因子によるフィブリン分子間架橋形成のない PRP 凝固ゲルでも、その G' は PPP の G' よりかなり高い値を示した。この点は Cohen ら³⁾の報告と異なる。

フィブリン分子間架橋数の減少は、clot retraction によって増加した G' のその後の緩和を促進した。この G' の減少は、フィブリンと結合した個々の血小板が能動的に retraction を起こす過程で ATP が消費され、フィブリンの緊張が緩和するためと考えられる⁴⁾。しかしこの G' の低下には、プラスミンによるフィブリンの切断が寄与している可能性が示唆される。

文 献

- 1) Kaibara, M. and Fukada, E.: Rheological study on network structure of fibrin clots under various conditions. *Biorheology*, **18**; 23~35, 1981.
- 2) Fukada, E. and Kaibara, M.: Rheological measurements of fibrin gels during clotting. *Thrombosis Res., Suppl. II*, **8**; 49~58, 1976.
- 3) Cohen, I., Gerrard, J.M. and White, J.G.: Ultrastructure of clots during isometric contraction. *J. Cell Biology*, **93**; 775~787, 1982.
- 4) Kuntamukkula, M.S., McIntire, L.V., Moake, J.L., Peterson, D.M. and Thompson, W.J.: Rheological studies of the contractile force within platelet-fibrin clots: Effects of prostaglandin E_1 , dibutyl-cAMP and dibutyl-cGMP. *Thrombosis Res.*, **13**; 957~969, 1978.