骨髓，脾細胞由来の酸可溶性蛋白の 凝固系に対する作用

—ヘパリンおよびトロンビンへの影響—

平田 陸正* 角田 伸子* 稲田 捷也* 吉田 昌男*

Effects of acid soluble protein (ASP) of bone marrow or spleen cells on heparin and thrombin

Michimasa HIRATA*, Nobuko TSUNODA*
Katsuya INADA* and Masao YOSHIDA*

Key words: acid soluble protein, bone marrow cells,
spleen cells, heparin, thrombin

Acid soluble protein (ASP) isolated from bone marrow or spleen cells prolonged the clotting times of human or mouse plasma in proportion to the amount added. The anticoagulant property of ASP was demonstrated in both APTT and PT, and the property was thought to be due to the inhibition of Xa generation or to the inhibition of prothrombinase (Xa · V · phospholipid · Ca complex) formation.

ASP had an anticoagulant activity, as heparin did, however, ASP and heparin neutralized the activity with each other.

In a modified APTT system, the anticoagulant effect of 1 unit of heparin was neutralized by 300–900 μ g ASP.

ASP also neutralized the antithrombin activity of heparin in the thrombin-plasma system.

On the contrary, ASP significantly enhanced plasma or fibrinogen clotting caused by small amounts of thrombin (0.1 unit/ml).

ASP could precipitate soluble fibrin monomer complexes (SFMC), as protamine sulfate did.

Endotoxin has been shown to cause strong cytotoxic and necrotic damages of bone marrow cells, therefore, these findings suggest that DIC manifestation in endotoxemia and also in other inflammatory diseases accompanied by destruction of tissues or cells are controlled by the ASP.

* 岩手医科大学医学部細菌〔〒020 盛岡市内丸 19-1〕, Department of Bacteriology, School of Medicine, Iwate Medical University, Morioka, Japan.

はじめに

内毒素血症の際には骨髓、脾の細胞膜由来の凝固活性が高まると同時に、細胞質内由来の凝固阻害活性が高まる¹⁻⁶⁾、前者の本態は組織トロンボプラスチンであり¹⁻⁵⁾、後者の阻害作用には酸可溶性蛋白 (ASP) が関与することを報告した^{4,6)}。今回は、その阻害の作用点ならびにヘパリン、トロンビンへの影響を調べた。

I. 材料および方法

細胞由来の ASP は Zeya⁷⁾ および Saba⁸⁾ の方法により抽出し、阻害作用は ASP を標準プラズマに加えて得た凝固時間 (APTT, PT など) を対照と比較して表現した。

II. 結 果

1) プロトロンビンを含まない系、すなわち吸着プラズマと血清との混合液に phospholipid (PL) と CaCl_2 を加えてインキュベートすると

時間の経過と共に Xa および Prothrombinase ($\text{Xa} \cdot \text{V} \cdot \text{PL} \cdot \text{Ca}$ 複合体) 量が増加する。この反応液をプロトロンビンを含む正常プラズマに加えると生成されたこれらの量に依存して凝固時間が短縮する (図 1, ○—○)。ASP が共存している場合 (●—●) は凝固時間の短縮はみられなかった。

2) ASP による APTT, PT の延長をみると、1,000 μg の ASP の抗凝固作用がヘパリン 1 単位のそれと同程度であった。ASP とヘパリンを混合すると互いに中和し合い、それぞれのもつ抗凝固作用が消失した。ASP を一定濃度としヘパリン量を変えた系では、900 μg の ASP が 1 単位のヘパリンを中和した。逆の系では図 2 に示すように、300 μg の ASP が 1 単位のヘパリンを中和した。

3) トロンビンプラズマ系では、16.5 μg の ASP は 0.1 単位のヘパリンの示す抗トロンビン作用を中和した。硫酸プロタミン (PS) は 1.25 μg で 0.1 単位のヘパリンを中和した。

Fig. 1 Effect of acid soluble protein (ASP) on thromboplastin generation

Fig. 2 Interaction of heparin and acid soluble protein (ASP) in a modified APTT system.

Each APTT mixture contained: 0.1 ml plasma; 0.05 ml buffer or heparin (1.6 units/ml); 0.05 ml buffer or ASP; 0.1 ml Actin; 0.1 ml CaCl_2 (50 mM).

4) 5単位/mlのトロンビンの作用(基質としてフィブリノーゲンおよびプラスマ使用)に対してASPは125 $\mu\text{g/ml}$ 以上の濃度で量依存性をもってトロンビン時間を短縮させた。微量のトロンビン(0.1単位/ml)に対しても同様の作用を示した。

5) ASPはPSと同様に可溶性フィブリンモノマー(SFMC)に作用し不溶のフィブリンComplexを生成させた。ASPのSFMCに対する不溶化作用はPSの約1/8であった。

III. 考 察

ASPの抗凝固作用(APTT, PTの延長)はXaの生成阻害あるいはprothrombinase (Xa·V·PL·Ca Complex)の生成阻害にもとづくことが示唆される。また、ASPはヘパリンの抗凝固作用を中和することが認められた。一

方、ASPはトロンビンの作用を促進し、これはSFMCに対する結果によるものと考えられる。内毒素血症時には、とくに骨髓細胞に強い壊死、破壊などがみられることから¹⁻³⁾、細胞由来のASPが内毒素血症さらに組織や細胞破壊を伴う他の疾患におけるDIC発症を支配している可能性が示唆される。

文 献

- 1) 平田陸正, 角田伸子, 稲田捷也, 毛利英満, 工藤一顕, 吉田昌男: 内毒素投与による骨髓内細胞毒性と骨髓細胞の凝固亢進作用. 血液と脈管, 11: 609~612, 1979.
- 2) 平田陸正, 角田伸子, 稲田捷也, 吉田昌男: 内毒素血症における骨髓細胞のProcoagulant活性の亢進(その本態について). 血液と脈管, 12: 285~288, 1980.

- 3) Hirata, M., Inada, K., Tsunoda, N. and Yoshida, M.: Relationship between cells in bone marrow and intravascular coagulation in endotoxiosis. Bacterial Endotoxins and Host Response; Elsevier/North-Holland Biomedical Press, p. 255~272, 1980.
- 4) Hirata, M., Tsunoda, N., Inada, K. and Yoshida, M.: Procoagulant and anticoagulant activities of mouse bone marrow and spleen cells in endotoxiosis. Japan. J. Med. Sci. Biol., **35**; 108, 1982.
- 5) 平田陸正, 角田伸子, 稲田捷也, 遠藤重厚, 吉田昌男: 内毒素血症と血液凝固系 1. 脾細胞の procoagulant 活性とその性状. 血液と脈管, **13**; 233~236, 1982.
- 6) 平田陸正, 角田伸子, 鈴木善明, 稲田捷也, 吉田昌男: 内毒素血症と血液凝固系 2. 骨髄, 脾細胞由来の Anticoagulant 活性. 血液と脈管, **13**; 237~240, 1982.
- 7) Zeya, H. I. and Spitznagel, J.K.: Cationic proteins of polymorphonuclear leukocyte lysosomes. II. Composition, properties, and mechanism of antibacterial action. J. Bacteriol., **91**; 755~762, 1966.
- 8) Saba, H.I., Roberts, H.R. and Herion, J.: The anticoagulant activity of lysosomal cationic proteins from polymorphonuclear leukocytes. J. Clin. Invest., **46**; 580~589, 1967.

●自分で実際にやれる手術書!

植田小児外科

大阪市立保健センター外科 植田 隆著

B 5 判 364頁 図207 表18 定価9,800円(〒240円)

知識として知っていることと、自分で実際巧くやれるということには随分開きがあるものである。僅かの小児外科の訓練を受けただけの一般外科医が、どんな症例なら自分でこなせるか、どんな症例なら専門医に転送しなければならないか、記述の重点を診療の実際面におき、高名なる著者が実地臨床に役立つことを念じて執筆した名著である。

●内容: [総論] 1. 新生児, 乳幼児手術の術前, 術中, 術後管理, 2. 乳児手術の一般的注意, 3. 胃瘻造設の適応と手術法, 4. 結腸瘻造設の適応と手術法, 5. 新生児, 乳児手術の死亡要因, [各論] 1. 新生児期手術概説, 2. 先天性食道閉鎖症, 3. 先天性食道狭窄症, 4. 噴門痙攣症, 食道無弛緩症, 5. 横隔膜ヘルニア, 6. 直腸肛門奇形, 7. 後天性肛門疾患, 8. ヒルシュスプルング病, 9. 臍帯ヘルニアまたは内臓脱出症, 10. 新生児腸閉塞症概説, 11. 十二指腸閉鎖および十二指腸狭窄, 12. 輪状臍, 13. 腸回転異常症または腸回転不全症, 14. 小腸閉鎖, 15. 胎便性イレウス, 16. 胎便栓塞症候群, 17. 腹膜炎および消化管穿孔, 18. 先天性肥厚性幽門狭窄症, 19. 腸重積症, 20. 消化管重複症, 21. メッケル憩室, 22. 消化管のポリープ, 23. 低血糖症, 臍島細胞腫, 24. 臍の胎生的遺残物, 25. 臍ヘルニア, 26. 鼠径ヘルニア, 27. 陰嚢水腫, 28. 停留睪丸, 29. 先天性胆道閉鎖症, 30. 胆管囊腫, 31. 漏斗胸, 32. 皮膚面に開口する種々なる先天性瘻, 33. 半陰陽, 34. 小児の悪性腫瘍, 35. 中枢神経系の奇形。