低分子フィブリノゲンの臨床的研究

飯島 憲司* 福田千佐子** 中村 克己***

Clinical study on low molecular weight fibrinogen

Kenji IJIMA*, Chisako FUKUDA** and Katsumi NAKAMURA***

Key words: fibrinogen heterogeneity, FDP, SDS-PAGE,
thrombin, plasmin

Plasma fibrinogen is heterogeneous with respect to molecular weight; high molecular weight fibrinogen (HMW, 340,000) and low molecular weight fibrinogen (LMW, 305,000). It has been showed the LMW is formed *in vivo* by degradation of -COOH terminal end of α -chain of HMW.

Plasma fibrinogen was obtained from 12 normal volunteers, and analyzed by 8 M Urea-SDS-PAGE migrated in the following three major position, α -(MW 67,000), β -(MW 55,000) and γ -chain (MW 43,000). In 20 specimens of plasma fibrinogen from 36 patients, another component of 60,000 in molecular weight was revealed. That was recognized as modified α -chain. The plasma fibrinogen of the other 16 patients consisted of normal three chains.

The former 20 patients presented significantly higher concentration in FDP than the other 16. It could be assumed that the formation of LMW by degradation of HMW occurred in the process of blood coagulation and fibrinolysis.

Therefore, we have attempted some fibrinogen amidolysis. The purified fibrinogen was catabolized by thrombin, Reptilase, Xa and plasmin. But the low molecular weight α -chain was not detected by SDS-PAGE in the process of proteolysis. Some other endothelial cell or leucocyte proteases are expected to explain this fibrinogen heterogeneity in further investigations.

* 鳥取大学医学部附属病院検査部 [〒683 米子市西町36-1], Department of Clinical Laboratory, Tottori University Hospital, Tottori University School of Medicine, Yonago, Japan.

** 鳥取大学医療技術短期大学部衛生技術科, Department of Medical Technology, Tottori University College of Medical Care Technology, Yonago, Japan.

*** 鳥取大学医学部臨床検査医学, Department of Laboratory Medicine, Tottori University School of Medicine, Yonago, Japan.

はじめに

フィブリノゲン (Fbg) 分子の不均一性に関する研究が幾つか報告されており、その中で正常 Fbg (HMW) の分子量は 340,000 とされているが、その他に分子量 305,000 あるいは 270,000 のいわゆる低分子 Fbg (LMW) の存在が注目されている。この LMW は Fbg α 鎖の一部がペプチド分解されて生じたものと考えられている¹⁾が、その成因についてはほとんど判明していない。われわれは、この Fbg の低分子化が一連の凝固線溶系因子の反応過程に関連して生じる可能性について検討した。

I. 対象および方法

対象は健常者 12 例、患者 36 例 (悪性腫瘍 11 例、脳血管障害 7 例、動脈疾患 2 例、肝疾患 2 例、その他 14 例) であった。

Fbg の精製はクエン酸加血漿 1 ml より Vila²⁾の方法に従って行い、精製 Fbg を 8 M 尿素および 2 ME で還元後、SDS-PAGE にかけた。

Fbg のペプチド分解実験には 500 mg/dl Fbg (bovine, type II, 第一化学), 5 U/ml トロンビン (bovine, Dade), 7 U/ml レプチラーゼ (ゼリア新薬), 10 U/ml Xa (Diagnostic Reagents Ltd) およびプラスミン (ミドリ十字) を用い、

Fig. 1 Fibrinogenolysis induced by plasmin

top graph: Measurement of released peptide by Folin-Lowry method
bottom figure: Observations of fibrinogenolysis in contrast with normal (N) and patient (P) plasma fibrinogen contained LMW by 8 M Urea-SDS-PAGE.

Table 1 Comparison of fibrinogen, FDP and SFMC between patients with high molecular weight fibrinogen (HMW) and those with both high and low molecular weight fibrinogen (LMW) in SDS-PAGE.

SDS-PAGE	No.	Fbg (mg/dl)	FDP (μ g/ml)	SFMC	
				positive	negative
HMW	16	273 $\pm$ 125	31 $\pm$ 40	1	15
{HMW LMW	20	290 $\pm$ 145	84 $\pm$ 61	4	16
T-test		N.S.	p<0.01		

遊離ペプチドの測定には Folin-Lowry 法³⁾を用いた。

II. 成 績

健常者12例は全例正常の α , β , γ 鎖を示し、分子量はそれぞれ 67,000, 55,000, 43,000 であった。一方、患者対象 36 例中 20 例に正常の α , β , γ 鎖に加えて、分子量 60,000 の位置に α 鎖が低分子化したと思われる一本のバンドを認めた。他の16例は正常の泳動像を示した(図1)。これら患者群の FDP 値は正常 Fbg を示した群に対して LMW を含む群は有意 ($p < 0.01$) に増加していた(表1)。

精製 Fbg にトロンビンあるいはレプチラーゼを添加すると、フィブリノペプチドを遊離するとともに、凝固反応を開始し、3分後には一部 clot を形成し、7分後には完全に凝固した。しかしながら、SDS-PAGE 像ではそれらの影響は認められなかった。Xa では Fbg のペプチド分解は生ぜず、SDS-PAGE 像にも変化はみられなかった。プラスミン添加による Fbg の一次線溶過程では、まず α 鎖が分解され、次いで β 鎖が分解されていったが、 α 鎖の低分子化は観察されなかった(図1)。

III. 考察およびまとめ

健常者には認められない分子量 60,000 の低分子 α 鎖をもつ、いわゆる低分子 Fbg の存在

を、FDP 高値を示す患者血漿において高頻度に認めたことは、低分子 Fbg の生成に直接的あるいは間接的に凝固線溶系因子が関与していることを示唆する。しかしながら、Fbg を基質とするトロンビン、レプチラーゼ、プラスミンの単独添加では α 鎖の低分子化は認められず、血管内皮細胞あるいは白血球内酵素の作用⁴⁾ について検討する必要があると考えられた。

文 献

- 1) Holm, B., et al.: Evidence that low molecular fibrinogen (LMW) is formed in man by degradation of high molecular weight fibrinogen (HMW). *Thrombosis*, **41**; 879~884, 1986.
- 2) Vila, V., et al.: A rapid method for isolation of fibrinogen from human plasma by precipitation with polyethylene glycol 6,000. *Thromb. Res.*, **39**; 651~656, 1985.
- 3) Gralnick, H.R., et al.: A new congenital abnormality of human fibrinogen. *Fibrinogen Bethesda II. Thromb. Diathes. haemorrh. (Stuttg)*, **29**; 562~571, 1973.
- 4) Bilezikian, S.B. and Nossel, H.L.: Unique pattern of fibrinogen cleavage by human leukocyte protease. *Blood*, **50**; 21~28, 1977.

●周産(生)期感染症の臨床指針書!

妊婦・胎児・新生児の感染症

編集 日本周産(生)期医学研究会 専門医91氏分担執筆

B5判 289頁 図102 表175 定価9,800円(〒350円)

〒101 東京都千代田区神田多町2-11

科学評論社

振替口座東京 7-102026
電話 03-252-7768