高濃度フィブリノゲンの接着能

嘉悦 洋* 岡田 政久* 神窪 勇一*
宮本 誠二* 船津 昭信* 大橋 高明*

Adhesion of fibrinogen at high concentrations

Hiroshi KAETSU*, Masahisa OKADA*, Yuichi KAMIKUBO*,
Seiji MIYAMOTO*, Akinobu FUNATSU* and Kōmei ŌHASHI*

Key words: fibrinogen, adhesive force, fibrin gels,
 γ -chain cross-linking

Fibrin gels formed in the presence of thrombin have exhibited to be able to adhere plastics. This adhesion became a strong with increment of fibrinogen concentrations of the system, whereas changes in the thrombin concentrations gave a constant value. No significant effect of NaCl, CaCl₂ on the fibrin adhesion was observed. However, the adhesion is if anything slightly stronger for a fine than for a coarse gel. In the presence of plasmin, the adhesive force of fibrin became a weak with the degradation of fibrin deposits, indicating that the amount of fibrin clots itself is play a role on the force of adhesion.

An experiment of the fibrin adhesion during gelation process has showed that concomitant with increase in γ -chain cross-linking as judged by SDS-PAGE analysis, there is increase in the adhesive force. During this process, no cross-linking of α -chain occurred. These results have suggested that the γ -chain cross-linking is also important to the fibrin adhesion. This has been also supported by the experiment using Batroxobin which induces γ -chain cross-linking alone.

はじめに

高濃度フィブリノゲンにトロンビンを添加し

て形成するフィブリンゲルの膠着性に着目して、それを生体接着剤として臨床応用する研究が近年行われている¹⁻⁷⁾。われわれはフィブリ

---

* 働化学及血清療法研究所〔〒860 熊本市清水町大窪 668〕, The Chemo-Sero-Therapeutic Research Institute, Kumamoto, Japan.

ンゲル形成に影響する種々の因子の接着能に及ぼす効果を調べた。

I. 方 法

ヒト・フィブリノゲンは乾燥状態で加熱処理⁸⁾したものを用いた。その clottability は95%以上で、非加熱のものとはほぼ同じ性状および凝固能を示した⁸⁾。図2aに接着の測定法を示した。1) フィブリノゲンとトロンビンの混合液をプラスチック板に一定量塗りゲル化させ、2) 2時間後にそのプラスチック板を引き剥がすのに必要な“力”(g/cm²)をバネばかりで測定し、フィブリンゲルの接着能とした。

II. 結果および考察

図1aに示すように、フィブリンゲルの接着能はフィブリノゲン濃度に依存して増大し、約4%以上の濃度ではほぼ一定値となった。その接着能は添加するトロンビン濃度には依らず一定であった(図1b)。NaCl, CaCl₂の添加効果は小さいが、フィブリンゲルをfine化する条件は、その接着能を高める傾向を示した。プラスミン存在下では、clot形成後にフィブリンゲルは分解を受けて、そのゲル量が減少し、それに伴い接着能も低下した(図1d)。以上の結果より、フィブリンゲルの接着には、トロンビンによって形成されるフィブリンが重要であること

Fig. 1 Adhesive force of fibrin gels.

Fibrin gels were formed between two plastic surfaces and the adhesive force was measured after 2 hours of gelation. Gel formation was as follows: panel a, at different fibrinogen concentrations and 1NIH unit/ml of thrombin. panel b, at different thrombin concentrations and 39g/l of fibrinogen. panel c, at different factor XIII concentrations, 40 g/l of fibrinogen and 1NIH unit/ml of thrombin. Fibrinogen used in this experiment contains 0.15 U of F XIII/mg protein. panel d, at different plasmin concentrations (caseinolytic units/ml), 40 g/l of fibrinogen and 1NIH unit/ml of thrombin.

Fig. 2 Time-dependency of adhesive force of fibrin during gelation process.

panel a, apparatus for adhesion measurement. panel b, effect of PCMB on adhesion of fibrin gels. panel c, amounts of fibrin clot; % of original proteins. panel d, SDS-PAGE of reduced samples. Fibrinogen, thrombin and parachloromercury benzoate (PCMB) concentrations were 40 g/L, 1NIH unit/ml and 0.5 mM, respectively.

が確認できた。次に、系に加える XIII 因子濃度を増やした場合には、接着能の変化はなく一定であった (図 1c)。これはフィブリンゲルの接着にはフィブリノゲン中に含まれている XIII 因子濃度で充分であることを示唆している。そこで、トロンビン添加後の gelation process における接着能の変化をゲル量及びフィブリンの γ 鎖、 α 鎖の cross-linking との関連において調べた (図 2)。その接着能は 10 分後に最大値に達し、その後一定となった。これに対し PCMB 添加で XIII 因子活性を阻害した系⁹⁾では、約 20 分で一定となり、その最大接着能は PCMB 非存在の約半分であった (図 2b)。一方、これら両系の clot 量にはほとんど差がなかった (図 2c)。これらの結果はフィブリンゲルの接着にはフィブリンのみでなく、XIII 因子も作用していることを示している。図 2d の SDS-PAGE において、PCMB 存在下では A α 、B β 、 γ の 3 本鎖に変化はないが、非存在下では時間経過

と共に、 γ 鎖の減少と γ 鎖 dimer の生成がみられた。この間 α 鎖 polymer の生成はみられなかった。接着力の増大と γ 鎖 dimer 形成とが parallel であり、これは γ 鎖が接着能に寄与している結果と考えられる。事実、 γ 鎖のみの cross-linking を誘起する Batroxobin⁹⁾によるフィブリンゲルはトロンビンの場合とほぼ同程度の接着能を発揮し、 γ 鎖の重要性を裏付けている。また、この結果はゲル type の異なる Fibrin I ゲルと Fibrin II ゲル¹⁰⁾との接着能に差がないことを示唆している。

結 語

高濃度フィブリノゲンの接着は、トロンビンにより形成するフィブリンのみでなく、XIII 因子に基づく γ 鎖の cross-linking が重要である。

文 献

- 1) Young, J.Z. and Medawar, P.B.: Fibrin

- suture of peripheral nerves; measurement of the rate of regeneration, Lancet, **239**; 126~128, 1940.
- 2) Cronkite, E.P., Lozner, E.L., Deaver, J.M.: Use of thrombin and fibrinogen in skin grafting, J.A.M.A., **124**; 976~978, 1944.
  - 3) Tridrick, R.T. and Warner, E.D.: Fibrin fixation of skin transplants, Surgery, **15**; 90~95, 1944.
  - 4) Matras, H., Dinges, H.P., Lassman, H., Mamoli, B.: Zur nahtlosen interfascikulären Nerventransplantation im Tier-experiment. Wien. Med. Wochenschr., **122**; 517~523, 1972.
  - 5) Spängler, H.P.: Gewebeklebung und lokale Blutstillung mit Fibrinogen, Thrombin und Blutgerinnungs factor XIII. Wien. Klin. Wochenschr., **88** (Suppl. 4); 3~18, 1976.
  - 6) Akrami, R., Kalmar, P., Pokar, H., Tilsner, V.: Abdichtung von kunststoffprothesen beim Ersatz der Aorta im thorakalen Bereich, Thoraxchirurgie, **26**; 144~147, 1978.
  - 7) Lupinetti, F.M., Stoney, W.S., Alford, W.C., Burrus, G.R., Glassford, D.M., Petrcek, M.R., Thomas, C.S.: Cryoprecipitate topical thrombin glue, J. Thorac. Cardiovasc. Surg., **90**; 502~505, 1985.
  - 8) 平川百合香, 岡田政久, 嘉悦 洋, 宮本誠二, 船津昭信, 大橋高明: 第9回日本血栓止血学会抄録138, 加熱フィブリノゲンの性状. 1986.
  - 9) Okada, M., Blombäck, B., Chang, M.-D., Horowitz, B.: Fibronectin and Fibrin Gel structure, J. Biol. Chem., **260**; 1811~1820, 1985.
  - 10) Okada, M. and Blombäck, B.: Factors influencing fibrin gel structure studied by flow measurement, Ann. N.Y. Acad. Sci., **408**; 233~253, 1983.

●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

B5判 364頁 図207 表18 定価9,800円(千350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う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. 胃腸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. 輪状膜, 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. 消化管のポリプ, 23. 低血糖症, 脾島細胞腫, 24. 脾の胎生的遺残物, 25. 脾ヘルニア, 26. 鼠径ヘルニア, 27. 陰嚢水腫, 28. 停留睾丸, 29. 先天性胆道閉鎖症, 30. 胆管嚢腫, 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。