原 著

運動負荷による血中凝固・線溶系因子の変動

相馬 正幸* 前田 義久* 村上 昌弘* 田中 京子*
八木登志員* 笠倉 新平* 島田 逸人** 高島 英世**
高田 明和*** 高田由美子***

Changes of exercise induced coagulation and
fibrinolysis factors

Masayuki SOMA*, Yoshihisa MAEDA*, Masahiro MURAKAMI*,
Kyoko TANAKA*, Toshikazu YAGI*, Shinpei KSSAKURA*,
Hayato SHIMADA**, Eise TAKASHIMA**,
Akikazu TAKADA*** and Yumiko TAKADA***

Key words: exercise, plasminogen activator, factor VIII, protein C,
age-related decrease of PA activity

This study is designed to investigate exercise-induced change of coagulation and fibrinolysis systems. The plasma levels of both the fibrinolytic factors including tissue type plasminogen activator (t-PA) antigen urokinase-type plasminogen activator (u-PA) antigen, plasminogen activator (PA) activity and plasmin- α_2 plasmin inhibitor (plm- α_2 PI) complex, and the coagulation factors including factor VIII related antigen (VIII R: Ag), factor VIII activity (VIII: C) and protein C (PC) antigen were measured before exercise and immediately, 15 min, 30 min and 60 min after exercise on treadmill. The levels of VIII R: Ag and VIII: C rose slightly after exercise, but PC antigen did not change. The levels of t-PA antigen, PA activity and plm- α_2 PI complex elevated immediately after exercise and then decreased gradually. The levels of both t-PA antigen and PA activity returned to the control levels 60 min after exercise. In contrast, the level of u-PA antigen was not affected by exercise. These data suggest that the exercise-induced elevation of plasma PA activity may be caused

* 神戸市立中央市民病院臨床病理科 [〒650 神戸市中央区港島中町 4-6], Department of Clinical Pathology, Kobe City General Hospital, Kobe, Japan.

** 同 産婦人科, Department of Obstetrics and Gynecology, Kobe City General Hospital

*** 浜松医科大学第2生理学教室, Department of Physiology, Hamamatsu University School of Medicine, Shizuoka, Japan. 受付: 1988. 4. 25. 受理: 1988. 8. 23.

by t-PA but not by u-PA.

The degree of elevation of t-PA and PA activity in the plasma after exercise was lower in old aged group as compared with that in young aged group.

緒 言

運動に伴う凝固・線溶系の変動に関する研究は臨床病理学的見地からも重要である¹⁾²⁾. 本テーマにおいて、古くは半世紀以前に Biggs ら³⁾が運動にともない線溶系の活性化が生じると報告して以来、運動に伴う凝固線溶系の変動に関し現在までさまざまな研究成果が報告されている⁴⁾⁵⁾⁶⁾. さらにこの線溶活性化の原因追及も成されており、運動に伴う線溶活性亢進が、血管壁由来の外因性 tissue-type plasminogen activator (t-PA) の増加による可能性が強く示唆⁷⁾されている.

今回われわれは treadmill を用いた運動負荷を行い、運動前後での血中 t-PA antigen 量, euglobulin fraction 中の plasminogen activator activity (PA activity), urokinase-type plasminogen activator (u-PA) antigen, plasmin- α_2 plasmin inhibitor (plm- α_2 PI) complex, factor VIII activity (VIII: C), factor VIII related antigen (VIII R: Ag), および protein C(PC) antigen の測定を行い、運動に伴う線溶活性亢進が血中 t-PA もしくは u-PA の何れの増加に起因するか、および t-PA 同様血管内皮細胞由来因子である VIII R: Ag の運動に伴う血中動

態についても検討を行い、運動に伴う線溶系活性化機序および血管内皮細胞由来因子と運動との関係を考察したので報告する.

I. 材料および方法

1. 対象・運動負荷方法

測定対象は当院男性 職員 14 例 (平均年齢 34.3 ± 8.0 歳) とし、運動負荷は Bruce 法 treadmill にて実施した. 負荷量は対象個人の最大心拍数の 85% を target とし, treadmill 稼働後 target に至った後 1 分間負荷を継続させて運動を終了した. 採血は運動前に 1 時間安静にした時点, 負荷直後および負荷後 15, 30, 60 分後の 5 点で行った. 血液は 3.13% クエン酸血とし, 血漿分離後用時まで -80°C にて凍結保存した.

2. 測定方法

t-PA antigen は既報⁸⁾ のごとく, ELISA 法にて行い, u-PA antigen は抗 HMW-uPA ポリクローナル抗体を用いた ELISA 法にて行った. PA activity は euglobulin fraction を用いて実施した⁹⁾. VIII R: Ag はヘキスト社製の抗ヒト AHG 抗血清を用いたローレル法, VIII: C は DADE 社製の欠乏血漿を用いた 1 段法にて行い, PC antigen はホモジニアス EIA 法¹⁰⁾によった. plasmin- α_2 plasmin inhibitor complex

Table 1 Exercise-induced changes of coagulation and fibrinolysis factors.

	before	after exercise (min)			
		0	15	30	60
t-PA antigen (ng/ml)	4.12 ± 0.58	$6.33 \pm 0.78^*$	5.15 ± 0.70	5.04 ± 0.70	4.14 ± 0.54
u-PA antigen (IU/ml)	0.0934 ± 0.0089	0.0986 ± 0.0111	0.0920 ± 0.0102	0.8886 ± 0.0069	$0.0783 \pm 0.0054^{**}$
PA activity (IU/ml)	4.07 ± 0.23	$4.96 \pm 0.24^*$	4.42 ± 0.21	4.09 ± 0.20	4.29 ± 0.23
VIII R: Ag (%)	76.1 ± 5.5	86.4 ± 6.8	83.6 ± 6.2	82.9 ± 6.2	83.4 ± 6.6
VIII: C (%)	101.1 ± 15.0	110.8 ± 13.7	110.0 ± 14.1	101.5 ± 13.7	102.0 ± 13.4
PC antigen (%)	95.4 ± 4.5	96.0 ± 4.2	91.7 ± 3.4	91.3 ± 3.9	94.8 ± 4.5

n=14 m $\pm$ SE * p<0.05 ** p<0.1

Fig. 1 Exercise-induced changes of t-PA antigen. Each points show mean $\pm$ SE.

Fig. 2 Exercise-induced changes of PA activity. Each points show mean $\pm$ SE.

Fig. 3 Exercise-induced changes of u-PA antigen. Each points show mean $\pm$ SE.

Fig. 4 Exercise-induced changes of VIII R: Ag. Each points show mean $\pm$ SE.

測定は帝人製の EIA キット¹¹⁾¹²⁾にて行った。

II. 成績

1. 線溶系・凝固系の変動 (表 1)

運動にともない t-PA antigen は運動直後に有意の増加 ($p < 0.05$) を示し、以降漸減し 60 分後に運動前値に復した (図 1). PA activity も同様に運動直後に有意の増加 ($p < 0.05$) を示し運動 30 分後に運動前値に復した (図 2). 一方 u-PA antigen は運動に伴う増加を示さず減

少傾向を呈した (図 3).

VIII R: Ag は運動にともない軽度増加し 60 分後においてもその値を維持した (図 4). VIII: C も VIII R: Ag 同様に軽度の増加を呈したが、30 分後に前値に復した (図 5). PC antigen は運動による変動を認めなかった (図 6). Plm- α_2 PI complex は運動直後に軽度の増加を示し、15 分後に運動前値に復した (図 7).

VIII ; C

Fig. 5 Exercise-induced changes of VIII: C. Each points show mean $\pm$ SE.

2. 線溶系変動の加齢による差異

血中 t-PA antigen は加齢に伴い増加する¹³⁾. この影響を除去し運動に伴う線溶活性化の加齢に伴う差異を検討するため, t-PA antigen および PA activity について, 運動前値を 100 % とした時の運動直後の増加率を各個人にて算出し 図 8A, B に示した. 増加率と年齢との相関は t-PA antigen では $r = -0.269$, PA activity は $r = -0.545$ と両者とも年齢と 逆相関を呈し, PA activity においてより著明であった. また測定対象を 20, 30, 40 歳代のグループ別にしその mean $\pm$ SD をも図 8A, B に図示した. 年代別での増加率の比較を行うと t-PA antigen, PA activity とも 20, 30 歳代のグループに比べ 40 歳代のグループにおいて, 運動に伴う有意の低下 ($p < 0.1$) が観察された.

III. 考 察

運動に伴う凝固系の変動は, activated partial thromboplastin time (APTT), antithrombin III (AT III), β -thromboglobulin (β -TG), fibrinopeptide A (FPA) 等がその指標¹⁴⁾として用いられ, また VIII 因子複合体に関しても多

PC antigen

Fig. 6 Exercise-induced changes of PC antigen. Each points show mean $\pm$ SE.

P I C

Fig. 7 Exercise-induced changes of PIC. Each points show mean $\pm$ SD.

くの検討結果が報告¹⁵⁾¹⁶⁾¹⁷⁾されている. 内因性凝固反応において Hyers ら¹⁴⁾は APTT の運動による短縮を報告しているが Mangum ら¹⁸⁾は partial thromboplastin time (PTT) は不変であるとしており, また Hyers ら¹⁴⁾は運動 10 分後に血中 FPA が 20~30 倍に増加したが, 血中 AT III, β -TG の変化は認めなかったとして

Fig. 8 Relationship between age and increasing ratio of t-PA antigen (A), and PA activity (B).

いる。また Gaur ら¹⁹⁾は XII 因子活性の亢進を報告している。このように運動に伴う凝固活性の変動に関してはさまざまな結果が報告されているが、VIII 因子の変動を観察した場合には、多くの研究者の結果¹⁵⁾¹⁶⁾¹⁷⁾²⁰⁾に一致が認められる。すなわち運動にともない VIII: C, VIII R: Ag はともに上昇するとしており、これは今回われわれが行った検討結果と同一であった。しかしこれら研究者の多くは VIII R: Ag に比べ VIII: C ・上昇がより著明であるとしているのに対し、われわれの観察結果において運動直後における VIII: C の増加率は対照全例の平均で 109.6%, VIII R: Ag では 113.5% となり、これら研究者の報告とは逆の結果を得た。本原因については不明であるが、VIII: C, VIII R: Ag に比べ高い増加率を呈する報告について、その運動負荷量を見ると、Stibbe ら²⁰⁾は 3 分間の全力疾走、Bromn ら¹⁶⁾は 1/3 マイルの全力疾走と、われわれが実施した運動負荷量に比べ遙かに大きな運動負荷を行っている。この点に関し Andrew ら¹⁷⁾は、VIII 因子複合体の増加は運動量に比例するとしており、本報告から推察すると、われわれの結果が他の研究者の結果と解離した原因とし

て、運動量が少なかった事実もその一因と考えられた。

さらに凝固活性亢進に伴う血中 thrombin 産生および血管内皮細胞膜面上の thrombomodulin の運動に伴う変化を観察するため PC antigen 測定も合わせ実施したが、運動に伴い PC antigen はほとんど変化せず、これら血中 thrombin 産生および thrombomodulin の動態については PC antigen の視点からは明確な結論を導き出せなかった。

運動に伴う線溶系の変動に関し Hyers ら¹⁴⁾は fibrin plate 法、Ferguson ら²¹⁾は ELT 法を、Wiman ら²²⁾は acidified plasma を用いて運動に伴う線溶活性の増加を報告している。これらはわれわれが観察した運動に伴う PA activity の亢進と同一の結果となった。また t-PA antigen および u-PA antigen の定量を行うことにより Booth ら²³⁾の報告と同じく、運動に伴う PA activity の亢進は t-PA の血中濃度増加に起因することが明らかとなった。

運動直後に血中 plm- α_2 PI complex 濃度の軽度増加が観察された。本事実、運動に伴う PA activity の亢進により血中の plasminogen (plg) が plasmin に転換される反応が生じたた

めと考えられた。Yamamoto ら²⁴⁾の報告では α_2 PI の存在下において運動負荷を行うと、血中の native form である Glu-plg が Lys-plg に変換されるとしている。また Wiman ら²²⁾は運動量の増加にともない血中での plasmin-anti-plasmin complex を認めるとしている。これらの結果はわれわれの得た成績と一致し、運動により亢進した PA activity により微量の plasmin 形成が生じていると考えられた。

運動にともない血管内皮細胞由来の VIII R: Ag, t-PA antigen の血中濃度増加は認められ、一方 PC antigen および u-PA antigen の増加は認められなかったが、運動に伴う凝固・線溶系の変動は血管内皮細胞機能と密接な関係を有する事実が示唆された。運動に伴うこれら因子の血中濃度増加原因に関しては、Mangum ら¹⁸⁾の指摘するごとく血流の増大によるものか、Wheeler らの報告²⁵⁾にあるごとく血中 lactate が関与しているのかを明確にするのは困難であるが、Marsh ら⁶⁾、Wheeler ら²⁵⁾の指摘するように、運動に伴うこれら内皮細胞由来因子の血中濃度増加は、血管内皮細胞よりの放出が原因であると考えられた。

t-PA antigen の運動後の動向は、運動直後に有意の増加を示したが15、30分後では運動前に比べれば増加しているものの有意なものでなく、60分後には運動前値に復した。本事実より運動刺激に対する血管内皮細胞からの t-PA の放出は一過性のものと思われ、Marsh らの報告⁶⁾と同様であった。

測定対象を年代別のグループにわけ各年代での t-PA antigen および PA activity の運動に伴う増加率を比較すると、40歳代では、20、30歳代に比べ有意の低下を認めた。本事実は加齢に伴う血栓症発症頻度増加に関し意義ある事実の一つと考えられ、労作性に発症する心筋硬塞発作とも関与している可能性があると思われた。

IV. 結 語

運動に伴う凝固・線溶系の動態を検討するため、treadmill を用い健康成人での VIII: C,

VIII R: Ag, PC antigen, t-PA antigen, u-PA antigen, PA activity および plm- α_2 PI complex の変動を検討した。

結果、VIII: C および VIII R: Ag は運動にともない軽度の上昇を呈するが、PC antigen は不変であった。線溶系においては t-PA antigen および PA activity は運動にともない有意の増加を呈し、それぞれ60分後および30分後に運動前値に復し、平行して変化した。plm- α_2 PI complex も運動直後に軽度の増加を示し、15分後に運動前値に復した。しかし u-PA antigen は運動に伴う増加を認めず減少傾向を示した。

これらより運動に伴う凝固・線溶系の変動に関し、血管内皮細胞機能の関与の重要性が示唆された。また運動に伴う PA activity の亢進は t-PA の血中濃度増加に起因することが明らかとなった。さらに運動に伴う PA activity の亢進および t-PA antigen 量の増加は加齢にともない減少する事実を認め、これは加齢に伴う血栓症発症頻度増加に関し意義ある事実の1つと考えられ、労作性に発症する心筋硬塞発作とも関与している可能性があると思われた。

本研究は中央市民病院医学振興事業費によった。

文 献

- 1) Walker, I.D., Davidson, J.F., Hutton, I. and Lawrie, T.D.V.: Disordered "Fibrinolytic potential" in coronary heart disease. *Thromb. Res.*, **10**: 509~520, 1977.
- 2) Paffenbarger, R.S. Jr. and Hyde, R.T.: Exercise as protection against heart attack. *N. Eng. J. Med.*, **302**: 1026~1027, 1980.
- 3) Biggs, R. and Macfarlane, R.G.: Observation on fibrinolysis Experimental activity produced by exercise or adrenaline. *Lancet*, **1**: 402~405, 1947.
- 4) Davis, G.L., Abilgaard, C.F., Bernauer, E.M. and Britton, M.: Fibrinolytic and hemostatic changes during and after maximal exercise in males. *J. Appl Physiol*, **40**: 287~292, 1976.
- 5) Collen, D., Semeraro, J., Tricot, J.P. and Vermynen, J.: Turnover of fibrinogen, plasminogen, and prothrombin during exercise in man. *J. Appl. Physiol.*, **42**: 865~873, 1977.

- 6) Marsh, N.A. and Gaffney, P.J.: Exercise-induced fibrinolysis—fact or fiction? *Thromb. Haemostas.*, **48**: 201~203, 1982.
- 7) Marsh, N.A. and Gaffney, P.J.: Some observations on the release of extrinsic and intrinsic plasminogen activators during exercise in man. *Haemostasis*, **9**: 238~247, 1980.
- 8) 相馬正幸, 前田義久, 上田昌典, 笠倉新平, 島田逸人, 高島英世, 高田明和, 高田由美子: ELISA 法による血中 t-PA antigen 測定について. *臨床病理*, **39**: 1027~1031, 1987.
- 9) 相馬正幸, 村上昌弘, 前田義久, 上田昌典, 笠倉新平, 島田逸人, 高島英世: Euglobulin fraction を用いた血漿中 PA activity 測定法の検討. *臨床病理*, **36**: 957~961, 1988.
- 10) 前田義久, 相馬正幸, 村上昌弘, 笠倉新平: ホモジニアス EIA 法による Protein C 抗原の測定と加齢に伴う生理的変動. *臨床病理*, **36**: 1079~1084, 1988.
- 11) 青木延雄, 武永 強, 長谷川淳, 小熊 豊, 小林紀夫, 坂田洋一, 藤巻道男, 池松正次郎, 細莊和子, 松田 保, 伊藤恵子, 藤原研司, 富谷知明, 林 茂樹, 中村克巳, 飯島憲司, 鷺見芳彦, 小池行也, 鈴木英明, 細田健治: EIA 法による α_2 PI (TD-80) および α_2 PI プラスミン複合体 (TD-80 C) 測定キットの基礎的検討. *臨床病理*, **35**: 1275~1281, 1987.
- 12) 高橋芳右, 滝沢慎一郎, 花野政晴, 帯刀 亘, 小池 正, 笹川康夫, 水戸将郎, 和田 研, 柴田 昭: 血漿プラスミン- α_2 プラスミンインヒビター複合体による線溶亢進状態の評価: 播種性血管内凝固症候群, 血栓性血小板減少性紫斑病, 一次線溶亢進および線溶療法での検討. *血液と脈管*, **19**: 82~92, 1988.
- 13) 相馬正幸, 前田義久, 上田昌典, 笠倉新平, 島田逸人, 高島英世, 高田明和, 高田由美子: 加齢に伴う線溶機能の生理的変動と血栓症発症におけるその役割. *臨床血液*, **28**: 1922~1927, 1987.
- 14) Hyers, T.M., Martin, B.J., Pratt, D.S., Dreisin, R.B. and Franks, J.J.: Enhanced thrombin and plasmin with exercise in man. *J. Appl. Physiol.*, **48**: 821~825, 1980.
- 15) Prentice, C.R.M., Forbes, C.D. and Smith, S.M.: Rise of factor VIII after exercise and adrenaline infusion, measured by immunological techniques. *Thromb. Res.*, **1**: 493~506, 1972.
- 16) Brown, J.E., Baugh, R.F. and Hougre, C.: Effect of exercise on the factor VIII complex: a correlation of the von Willebrand antigen and factor VIII coagulant antigen increase. *Thromb. Res.*, **15**: 61~67, 1979.
- 17) Andrew, M., Carter, C., O Brodovich, H. and Heigenhauser, G.: Increase in factor VIII complex and fibrinolytic activity are dependent on exercise intensity. *J. Appl. Physiol.*, **60**: 1917~1922, 1986.
- 18) Mangum, M.E., Haymes, E.M. and Lipner, H.: Coagulation and fibrinolytic responses to exercise and cold exposure. *Aviat. Space Environ. Med.*, **55**: 291~295, 1984.
- 19) Gauer, S., Datta, S., Bhargava, R.P. and Rao, S.V.: Effect of exhaustive ergometric exercise on blood coagulation, platelet adhesiveness and fibrinolytic activity in untrained young men and woman. *Ind. J. Physiol. Pharmac.*, **26**: 65~68, 1982.
- 20) Stibbe, J.: Effect of exercise on F VIII-complex: Proportional increase of ristocetin cofactor (von Willebrand factor) and F VIII-AHF. *Thromb. Res.*, **10**: 163~168, 1977.
- 21) Ferguson, E.W., Barr, C.F. and Brenier, L.L.: Fibrinogenolysis and fibrinolysis with strenuous exercise. *J. Appl. Physiol.*, **47**: 1157~1161, 1979.
- 22) Wiman, B., Mellbring, G. and Ranby, M.: Plasminogen activator release venous stasis and exercise as determined by a new specific assay. *Clin. Chem. Acta*, **127**: 279~288, 1983.
- 23) Booth, N.A., Walker, E., Manghen, R. and Bennett, B.: Plasminogen activator in normal subjects after exercise and venous occlusion: t-PA circulates as complexes with C1-inhibitor and PAI-1. *Blood*, **69**: 1600~1604, 1987.
- 24) Yamamoto, J., Okamoto, M. and Kawasaki, H.: Production of Lys-plasminogen in urokinase-activated human plasma. *Acta Haematol. Jpn.*, **49**: 131~135, 1986.
- 25) Wheeler, M.E., Dabis, G.L., Gillespie, W.J. and Bern, M.M.: Physiological changes in hemostasis associated with acute exercise. *J. Appl. Physiol.*, **60**: 986~990, 1986.