炎症特に滲出液中の成分に関する研究 (第 1 報)

Biological Study of Inflammatory Exudation
(Ist. Report)

日本醫科大學衛生學教室 (八田貞義教授指導)

研 究 生 荻 生 三 雄
Ogyu Mituo

I. ま え が き

組織の異常増殖或は變質とともに炎症巢に於ける重要な要素の一つに血管外への液性成分の滲出がある。この炎症反應機構として示す血管の變化は生體の生化學的現象に幾多の異常作用を招來し、この血管運動の障害中特に毛細管壁の透過性の亢進と、白血球の游出とはこれの主徴を示すという事が出来る。従つて健全な生體の場合には Tryphanblau の様な色素液を靜脈内に注射しても何等の異常變化を認めないが、生體に炎症部位があるとその所に青色斑が現われ、まわりの正常組織と區別される。この血管の透過性亢進は神經の機作(反應)によるといふ説と化學的物質に重きを置く説とがある。今日では化學説の方が本態解明に容易である。

一方この炎症擴大に對する擴散因子(滲透因子)もよく解明され、炎症の起るべき場所の性質に関する問題についてはかなりつき進んだ研究がなされている。ところがこの炎症を起す本態については單に細菌毒素或は炎症因子と概括されるのみで検討の餘地が充分に残されている。そこで著者は炎症背後の質的根據を見出すべく炎症性滲出液を基材として炎症の本態的研究に入ることにした。同時にこの滲出液中に發熱因子の存在が Menkin 等により想定されているのでこの點に就いても併せて検討を加えた。

II. 炎症性滲出液の成分と
その分布状態

炎症性(結核性)滲出液がどのような成分々布及び成分量を有するかを知ることは重要なこと

である。實驗に先立ちますこの點を Tiselius の電氣泳動法¹⁻⁴⁾により量測した。對照として正常馬血清及び乾燥血漿の成分像の測定並びにこれ等との比較を試みた。

測定法はまず檢體の蛋白濃度を $1/10$ M 磷酸緩衝液(pH 7.8)で $1.5 \sim 3.0\%$ に稀釋し、これをセロハン膜に包み $1/20$ M 磷酸緩衝液(pH 7.8)の外液に一晝夜以上透析する。この間 Fibrin が析出している場合は、これを遠心分離して透明な蛋白質溶液を調製し、この檢體を Tiselius 電氣泳動装置によつて成分々布及び成分量を量測した。

檢體として用いた滲出液は大部分結核初感染の急性肋膜炎滲出液で、これらの患者にはストレプトマイシン、パス等の治療剤は投與されていない。一般に急性炎症ではその強さが増すにつれて pH 値も高まり局部的な酸性症を示してゐる。

これは組織の糖分解が進行し乳酸によるといわれる。しかしこの實驗に供した滲出液の pH は $7.8 \sim 8.3$ 附近のアルカリ域のものであつた(滲出液の pH は放置により單時間でアルカリ性となつてくる)。電氣泳動像は血清等の像と非常に類似して居り γ, β -Globulin 峰, Albumin 峰等一定の連峰が觀察された(第1表第1圖参照)。しかしこれらの蛋白分布の定量値をみるとかならずしも同一ではない。實驗例數の少いうらみはあるが一應の傾向は窺えよう。

即ち滲出液と血漿とでは、成分像及び蛋白總量等には大差はないが、一般に共通なのは Albumin 分層(以下 Alb. と略す)が減少し γ -Globulin(以下 γ -Glo と略す)と Alb との比が小さいことである。滲出液では Alb 43%に

對し γ -Glo 39% Total-globulin は57%, 膿胸では Alb 34.9%, γ -Glo 38.1%, Total-globulin は 65.2% と計測され, 正常人血清の Alb 55%, γ -Glo 11%, Total-globulin 45% に比較すると Alb 量は減じ γ -Glo 量が多い。即ち滲出液の A/G ratio は 1 以下を示す場合が多く経験された。滲出液は時を経て細胞成分が増加してくると γ -分屑が多くなるといわれ, 石川⁹⁾ は滲出性

肋膜炎の臨牀的所見として病巣感染形成としての體液滲出機轉が大きいほど蛋白濃度は大となると報告しているから, 成分量としての Alb 量は減少すると解するよりも, むしろ Glo 量の異常増加と解すべきであろう。なお Königen, Simpson, Häutemann¹⁰⁾ 等は滲出液の滯溜により肋膜を刺戟して免疫を產生させるという表参照)。

第 1 表 電気泳動法による滲出液及正常血清蛋白質の成分々布

成 分 々 布	検 體		滲 出 液		滲出液(濃胸)		正常血清 (人)		正常血清(馬)		乾燥血漿 (人)
	全蛋白質		濃 度		全蛋白質		濃 度		全蛋白質		全蛋白質
	(%)	(g/dl)	(%)	(g/dl)	(%)	(g/dl)	(%)	(g/dl)	(%)	(g/dl)	(%)
總 蛋 白 質		6.2		4.0		6.03~6.72		8.1			
Albumin	43	2.67	34.9	1.4	55	3.32~4.04	33	2.67	58.3		
Globulin α	7	0.43	8.9	0.36	14	0.79~0.84	20	1.62	7.7		
" β	11	0.68	10.0	0.4	13	0.78~0.81	21	1.70	8.8		
" ϕ			8.2	0.33					6.7		
" γ	39	2.42	38.1	1.52	11	0.66~0.74	26	2.11	18.7		
Fibrinogen					7	0.34~0.43					
Total globulin	57	3.53	65.2	2.61	45	2.71~2.72	67	5.43			

第
1
圖

滲 出 液

滲出液(濃胸型)

正常血清(人)

正常血清(馬)

乾燥血漿(東京都衛生研究所製品)

II. 滲出液の劃分精製

次に起炎因子の存在をさぐるべく（滲出液並びに正常血清）の成分を硫酸安門劃分法により精製を行つた。檢體は結核初感染で、且つ初瀧溜の急性炎症性肋膜腔滲出液を用い、豫め家兎（Pro.kg3cc）に靜脈内注射して發熱陽性となつたものを檢體とした（正常血清は發熱陰性である）。1回精製量は300~500ccとし、まず檢體を硫酸安門 $1/3$ 飽和で沈澱する部分を遠心により集め蒸溜水に溶解し2~5日間透析すると透析中に析出してくる部分と溶解部とにわかれる。これを別々に Kober 等の方法により滲透による乾燥を行つた。この析出部を Glo 屑 I、溶解部を Glo 屑 I' とした。更に硫酸安門 $1/2.5$ 飽和で沈澱を起させこれを前分屑と同様に處理して Glo 屑 II（透析中に析出はない）を、更

に硫酸安門 $1/2$ 飽和により Glo 屑 III を得た。この Glo 屑を除いた上清に 0.4N 硫酸を終末 pH4.8 になるまで加え、約 48 時間放置して Alb を析出させた。

各分屑は共に滲透乾燥後は淡黄白色の粉末として得られ、Glo 屑 I は鹽類共存時にだけ溶解したが、他の分屑は水に易溶である。この Alb 析出後の残渣を透析後 Sevag 法で除蛋白を行い、上清について種々化學操作を加えたが、正常血清（人及び馬）では認むべき殘存部はなく従つて以後の劃分操作は無効であつたが、炎症性滲出液に於いては除蛋白操作後の上清から

Ethanol 劃分沈澱により蒸溜水易溶の最終部が得られた。各分屑の得量は檢體蛋白濃度量により異なり一定した値は得られなかつた（第2表参照）。

III. 分屑の生理作用

第 2 表 滲出液、正常血清劃分法

比較的急性に滲出された滲溜ではかなり特異の生理作用物質の共存が明かにされこのうち Menkin⁷⁻¹⁹⁾ は硫酸安門^{1/3} 飽和沈澱の Euglobulin 屑中から Necrocin 及び Pyrexin と呼ぶ2種の生理作用物質を得、このうち Necrocin は組織起炎性に、Pyrexin は生體發熱並びに白血球減少に働くといっている (Menkin は更に Pyrexin は鹽酸處理により發熱因子と白血球減少因子とに劃分されるという)。このうち Necrocin について著者もこれと類似作用をもつ物質の劃分を求め得たが、しかし Menkin のいう Pyrexin は硫酸安門沈澱後は水には全く不溶性で熱には安定、酸により不活性化されるというが、著者の實驗結果では硫酸安門^{1/3} 飽和沈澱物はいずれも不溶性で、不溶解性のものとしては Fibrin が存在し、これが析出した際に限られて居り該部より Pyrexin、即ち發熱因子の精製は出来ないという成績が得られた。これと類似の成績を柿沼¹¹⁾も報告している。

もつとも Menkin は犬を實驗對象としテルペンチン油を注入しこれにより生じた急性肋膜腔滲出液を基體としているので檢索對象物の相違ということも見逃し得ないところである。著者の實驗では Pyrexin と同じ様な發熱作用を示す分屑は Alb 屑抽出後の上清に存在し、Ethanol 劃分沈澱により分離することが出来、しかも急性炎症性の滲出液に限られている。以下著者の得た Pyrexin 及び Necrocin の生理作用を家兎及びマウスについて試みた成績を述べる。

1) 起 炎 性

まず健常家兎 (體重 2kg 前後) で各分屑の起炎性即ち皮膚障害作用についてみた。この成績は第3表に示したが、Glo 屑 I は5%食鹽水液に、その他の分屑は生理食鹽水で稀釋し、その0.1ccを豫め脱毛し洗滌した家兎の皮内に注射した。試験濃度は檢體により異なるが1~4%程度である。これを各分屑ごとに注射量とその得量を比較すると Glo 屑 I では 1:2,420, Alb 屑は 1:760, その外は 124~280 である。この滲出液 Glo 屑 I は少量の接種で著明な腫脹及

び發赤を起した。Glo I'、II、III、Alb 屑 Pyrexin 等は皮内注射によつても認むべき皮膚反應は起らない。たゞ間々散發的に注射部位に局限して軽度の發赤を認めることがあつた。しかしこの際でも腫脹等の現象は認められなかつた。

この點は Menkin の實驗と同様の結果である。一方正常血清中の Glo 屑 I も滲出液に比べれば幾分軽度ではあるが、同様に起炎性が認められた。これら以外の分屑では全く炎症を認めない。同じ Glo 屑 I でも炎症性滲出液と正常血清とでは、その發熱機轉の存在は類似しているが、この起炎量には明瞭な差異がみられた。

鈴木、河島¹²⁾は諸種藥劑の起炎性について詳細な検討を加え藥劑のうち細菌性製劑、SH 脱取劑、特殊酸化酵素等は著しい起炎性を認めるが、生理的な必須物質は特殊なものを除けば、高濃度でも起炎性が弱いという、興味ある報告をものしている。

しかし炎症が進展擴大するには、細胞周圍に存在する基質の通過が必要であり、この炎症因子を補佐し進展せしめるものとして擴散因子 (Spreading factor) が考えられる。これの基質通過の難易は炎症進展に影響するところが大きく擴散因子の増量は擴散性の増大となり、炎症は増強される。従つて擴散因子は炎症の初期及びそれ以後に於いて重要な役割をはたすことになる。しかし時には擴散因子の一時的な増量は逆に炎症因子の分散となり、かえつて起炎性は消失される。

この擴散因子は Duran & Reynals¹³⁾ が Virus を辜丸抽出液に浮遊させモルモットに注射した際に見出し、次いで Mc Clean¹⁴⁻¹⁵⁾ は辜丸エキスの速かな周圍組織内への擴散移行を認め、一名 Reynal's factor ともいわれる。Meyer & Palmer¹⁶⁾ によると細胞基質は結合組織細胞が分泌したムチン様物質よりなるといつており、特に Meyer は硝子體からヒアルロン酸を分離し、これが一種の多糖類と同一物質であることを明かにした。又 Chain & Duthie¹⁷⁻¹⁸⁾ は辜丸抽出液中にはヒアルロン

酸を分解する酵素即ちヒアロンダーゼを證明し基質のヒアルロン酸が同酵素によつて分解されて粘稠度を減するため擴散作用が起るのであるとした。

この擴散因子は菌（葡萄球菌，肺炎菌，ウェルチ菌，連鎖球菌等）によつて產生されるが，最近ではこの因子は菌以外に變性組織の側にもあることが，柿原，宮入¹⁹⁻²⁰ 等により實證された。この様な毛細管壁の透過性亢進は，炎症像のほか治療藥劑の透過並びに擴散性にも關連がある。以上の如く炎症の場の問題はほゞ明かとなつたが，この Necrocin の發來狀態は明かでない。

この Necrocin の發炎機轉は化學療法劑の

作用機序の如く恐らく酵素系に存するのではなからうかと想像される。そこで Necrocin によつて惹起される發炎機轉本態の一部を知るべく Necrocin の蛋白分解能について檢べてみた。

試験方法は血漿より析出した Fibrin を精製し中性-Carmin で染色，檢體作用後の色素溶出により判定する Fibrin-Carmin 法によつた。

その結果滲出液の Glo 屑 I 即ち Necrocin は，著明な蛋白分解能を有し，0.5% では作用 1 時間後に早くも蛋白の分解が認められ，時間の進展に伴つてその蛋白分解性は増大した。

この他の分屑ではこの作用を全く認めなかつ

第 3 表 炎症能と蛋白分解能（その 1）

區分	分屑	炎症性滲出液						正常血清					
		炎症能				蛋白分解能		炎症能				蛋白分解能	
		判定	供試濃度	分屑總量	注射量總量	判定	供試濃度	判定	供試濃度	分屑總量	洋射量總量	判定	供試濃度
グロブリン屑	I	卅	1	2.42	1:2420	+	0.5	+	1	0.63~0.74	1:710	—	0.5
	I'	—	1~3			—	0.5	—	1~3			—	0.5
	II	—	4~7	0.68	1:1.24	—	0.5	—	4~7	0.78~0.81	1:148	—	0.5
	III	—	1~2	0.43	1:280	—	0.5	—	1~2	0.79~0.84	1:540	—	0.5
アルブミン屑		—	3~4	2.67	1:760	— (+)	0.8	—	3~4	3.32~4.04	1:1051	—	0.5
Pyrexin		—	1			—							
パンクレアチン		+	0.2			+	0.2						

（其 の 2）

分屑	グロブリン屑 I	
	滲出液	正常血清
注射量(%)		
1	卅	+
0.5	卅	—
0.25	+	—
0.125	—	—

- 註 (1) 炎症能
炎症面積が 9 cm 以上卅，4~8.9 cm 卅 2~3.9 cm 十，炎症を認めないものを — とした
- (2) 蛋白分解能
蛋白分解が認められたもの +，認められないものを — として表わした

た。たゞ例外として，實驗を數回繰返した際 Alb 屑（供試濃度 0.8%）が蛋白分解能を示す場合と示さない場合とがあつた。この現象の本態についてはいまなお明かでなく検討中である。

正常血清 Glo 屑 I による炎症は 1% 以上の濃度のときにみられ，0.5% 以下ではみられないので，この點の起炎性と蛋白分解性の共通性狀は興味深い。對照として用いた蛋白分解酵素であるパンクレアチンが顯著な分解能を示したのは勿論であるが，この酵素及び Glo 屑 I も共に 100°15 分の加熱により完全にその蛋白分解能は消失し熱操作により容易に不活性化された。

この炎症因子が著明な蛋白分解能を有することとは注目に値し、この點の追求は機作解明に希望を抱かせるものがある。

2) 發熱性

各分屑の發熱現象の究明は發熱性因子の存在確認の上からもまた Menkin のような Pyrexin fraction が得られなかつたことから、これと類似作用を有する Fraction を求めるべく、健常家兎を用い、發熱試験法（第6改正日本藥局方）により實施した。しかしこの發熱性の判定には、八田教授、青山、²¹⁾ 等により報告されている細菌性發熱物質即ち Bacterial pyrogenic substance と比較するため、同氏等が採用されている平均發熱度が注射前體温より一度以上上昇したものをもちて發熱陽性とする方法をとつた。

その結果一定分屑で同一發熱作用を示したのは、Glo 及び Alb 屑除去後の上清處理により

得られた分屑、即ち著者が Pyrexin と呼んでいる部分に属している（時として他の分屑にも散發的に陽性成績がみられた）。この Pyrexin の發熱量は pro,kg 500r 注射で發熱陽性、250r では發熱疑陽性で 100r 以下の場合陰性成績を示した。これは八田教授、青山、丹治等の細菌性發熱物質（大腸菌からは pro. kg 10r²²⁾ 腸チフス菌からは 50r、パラチフス菌では 75r で發熱陽性）に比較すると遙かに大量を必要としている。この發熱曲線は注射後 1~1.5 時間で最高に達し、約 1 時間前後持續して、徐々に體温は下降し 2~4 時間で舊に復した。

これにより炎症性滲出液中には發熱因子の存在することが明かになつたので、これを Pyrogen 即ち“外因性發熱因子”に對する“内因性發熱因子”ということが出來よう。このものは生體內で反應後は不活性化され循環系を経て排泄されるものと思われる。

第 4 表 Pyrexin の 發 熱 量

注射量 mg/pro.kg	發 熱 量							平均發熱量
1	+1.6	+1.8	+1.3	+1.2	+1.25	+1.5		+1.36
0.5	±0.95	+1.5	+1.2	±0.9	+1.6	+1.15	+1.05	+1.14
0.25	±0.8	±0.6	+1.15	±0.6				±0.78
0.125	-0.4	-0.5	-0.4					-0.43

IV. Necrocin と pyrexin の 理化學的性狀

上記のような興味ある生理作用をもつこの物質の理化學的性狀をみると、Necrocin（急性炎症滲出液，正常血清）は水及び稀酸に不溶，鹽類，弱アルカリに溶解し，硫酸安門 $\frac{1}{3}$ 飽和で鹽析される。第5表に示す如く試みたすべての蛋白の呈色並びに沈澱及び多糖體の Molisch 反應は陽性である。熱により變性並びに不活性化され 60°30 分の加熱により全くその起炎性は失われる。従つて Necrocin は蛋白質様物質と解される。Pyrexin は水，稀酸，稀アルカリ易溶の白色無晶形粉末で，熱に安定しており，蛋白の呈色反應は Biuret 及び Ninhydrin 反

第5表 炎症因子及發熱因子の定性試験

定性反應		炎症因子	Pyrexin
呈色反應	Biuret	+	+
	Xanthoprotein	+	—
	Adamkiewtz	+	—
	Millon	+	—
	Ninhydrin	+	+
沈澱反應	100°30 分加熱	+	—
	Trichlor acetic acid	+	+
	Tannic acid	+	+
Molisch		+	+
Fehling		—	—

註 測定濃度は 1% とした

應以外は陰性である。沈澱反應の Trichlor acetic acid. Tannic acid は共に陽性で，Pyrexin

は比較的簡単な糖を含んだ Polypeptide 様の物質ではないかと思われる。

V. む す び

炎症に随伴して起こる炎症性滲出液の成分を硫酸安門劃分法により分割した結果、この滲出液中に皮膚障害作用を起させる炎症因子 Necrocin と生體（家兎）に發熱を起させる發熱因子（Pyrexin）との二種物質の存在を知るにいたつた。このうち Necrocin には蛋白分解酵素が共存し、このものが起炎作用に関係あることを知つた。

この兩作用因子は理化學的性狀より、Necrocin は蛋白質様物質、Pyrexin は糖を含む Polypeptide 様物質と概想される。

引 用 文 献

1. 吉 川: 生體の科學 1. 19. 1949
2. 吉 川: 化學の領域 3(3). 94. 1949
3. 平井, 島尾: 生化學 21(2). 54. 1949
4. 平井, 島尾: 生化學 21(3). 109. 1949
5. 石 川: 東京醫事新誌 67(8). 58. 1950
6. 今 村: 結核性肋膜炎腹膜炎並腦膜炎 1942 より引用
7. Menkin: Am. J. Physiol., 134. 517. 1941
8. Menkin: Am. J. Pathology 13. 1. 1937
9. Menkin: Am. J. Physiol., 138. 396. 1943
10. Smith: Proc. Soc. Exper. Biol & Med., 59. 116. 1945
11. 柿 沼: 昭和 25 年 12 月. 注射薬及内服薬の
販用醫藥品中の微生物及びその有害物
質の調査研究委員會講演
12. 鈴木, 河島: 最新醫學 5(11). 59. 1950
13. Duran & Reynals: J. Exp. Med., 50. 327. 1929
14. Mc Clean: J. path & Bac., 33. 1045. 1930
15. Mc Clean: J. path & Bac., 42. 477 1936
16. Meyer & Palmar: J. Biol. Chem., 107. 629. 1943
17. Chain. & Duthie: J. Exp. Path., 21. 324. 1940
18. Chain. & Duthie: Nature, 133. 977. 1939
19. 榊 原: 東京醫事新誌 67(2). 17. 1950
20. 榊 原: 綜合醫學 7(14). 7. 1950
21. 八田, 青山, 丹治: 綜合醫學 7(1). 27. 1950
22. 八田, 青山, 丹治, 本多, 中島: 日本細菌學
會關東支部總會講演 昭和 25 年 11 月
23. 八田, 青山, 丹治: 日本醫事新報 1326. 9. 1949

炎症特に滲出液中の

成分に關する研究 (第2報)

Biological Study of Inflammatory Exudation (2nd Report)

日本醫科大學衛生學教室 (八田貞義教授指導)

荻 生 三 雄

Ogyu Mituo

I. ま え が き

最近炎症部位に於ける組織或は滲出液から 1, 2 の活性物質¹⁻²⁾が分離されようやく炎症に對する起炎機序の系統的檢索が試みられようとしている。

著者³⁻⁴⁾も先きに炎症性 (結核性) 滲出液中の成分並に生理作用物質の存在を理化學的に追究し, Necrocin, Pyrexin 等の活性因子を分離し本態的考察を加えると共に, 滲出液中に蛋白分解酵素の介在することを見出した。

この炎症性滲出液中の酵素についての報告は餘りみられないが, Dastre⁵⁾(1893)は健常血漿中に蛋白溶解即ち線維素が一定の條件で溶解する事實を發見し, これを Fibrinolysis と名付け, Nolf(1905, 1921)は In vitro でかかる現象の觀察に成功している。その他 Tagnon et al.⁶⁾ Christensen & Mac-Leord⁷⁾ 等幾多の先人の報告がみられが特に Macfarlane & Pilling⁸⁾はこの Fibrinolysis を Plasmin と名付け, 生體含有量と臨床上の外傷, 火傷等にみられる線維素の量的減少を追究し興味ある解析を試みている。

そこで著者は新たに酵素學的な觀點から滲出液中の成分について健常血漿と對比しつつ検討を進めることとした。

II. 基質精製並に實驗方法

線維素溶解現象の定量には Thrombin が線維素原に作用して出来る線維素凝固塊を一定の時間に溶解する檢體の最大稀釋倍數を以つて求めたが, この術式として谷島⁹⁾は Tillet & Garner の方法を基として谷島法を考案しこれにより溶

血性連鎖球菌の線維素溶解能について測定している。著者も先きの實驗で炎症性因子共存の蛋白分解酵素を (Fibrin を Carm. in で染色した) Fibrin Carmin 法によつて證明したが, 今回は Macfarlane が試みた定量法に基いて行つた。

(1) Fibrinogen は靜脈血に $\frac{1}{10}$ 容に Citrat (5%) を加え遠心して血漿を分離し, これに等量に飽和食鹽水を加え生じた沈澱を遠心により集め更に元の量に生理食鹽水を加えて Fibrinogen を作つた。

(2) Thrombin 溶液には血漿に炭酸ガスを飽和になるまで通じ製する方法 (A) があるが (第 1 表参照), これは Protease の吸着が多く, 形成した Fibrin clot が放置により自然に溶解するので, 實驗にはむしろ次の方法 (B) を用いた。即ち乾燥血漿 7g を 100cc の 0.1% Citrat 水に溶解し 2 倍量の Aceton を加えて蛋白を沈澱させる。遠心により沈澱を集め, Aceton, Ether 等量混合溶媒で 2 回洗滌して眞空乾燥する。この Aceton 處理粉末 3g を NaHCO_3 によつて pH を 7.4 とした稀アルカリ溶液 100cc で約 2 時間溶出する。後遠心により沈澱を除去, その上清に 2% の CaCl_2 を $\frac{1}{10}$ 容加えて翌日折出した Fibrin を除去して Thrombin 溶液を作つた, この Thrombin を用いて凝塊させた Fibrin は放置により自然に溶解するようなことはなく, 酵素即ち檢體が加えられた時に於て始めて溶解がみられる。

次に Plasmin であるが, この線維素溶解は Glo 層に於てみられるので特にこの Glo 層を精製し, これを Chloroform で活性化する方法をとつた。すなわち檢體 (血漿又滲出液) を蒸留水で 20 倍に稀釋しこれを 1% CH_3COOH

第 1 表 基 質 精 製 法

で pH 5.2 としこの際生じた沈澱を集め $\frac{1}{4}$ 量に $\frac{1}{20}$ M 磷酸緩衝液 (pH7.1) を加えて溶解する。これに等量の Chloroform を加え 1~3 分間強く振盪し 25° の恒温器に 18 時間放置すると澄明な溶液が得られる。この上清に $\frac{3}{4}$ 量に $\frac{1}{20}$ mol 磷酸緩衝液 (pH7.1) を加えると Plasmin 溶液が出来る。

以上は主に基質の精製法であるが、次に線維素溶解或は溶解阻止の試験方法について述べる。

① 線維素溶解力測定法: 檢體 (滲出液或は

血漿を生のみ或は Chloroform で活性化した Plasmin も共に pH7.1 の $\frac{1}{20}$ mol 磷酸緩衝液で倍數稀釋し、豫め Fibrinogen 0.2cc 宛を分注してある Wasserman tube にその 0.2cc を加え、更に Thrombin 溶液 0.1cc 宛を加えてよく振盪し、2~3 分放置すると、Fibrin-clot を形成する。

この上清に少量の Toluol を重層し 37° の環境内に放置すると一度凝塊した線維素の溶解が認められる。しかし觀察時間は 24 時間迄とし、このときの成績を以て示した。線維素溶解酵素の存在する時は Fibrin-clot は澄明に溶解したが、該酵素陰性のときは Fibrin-clot はそのまゝ存在した。

② 線維素溶解阻止力測定法: 檢體の液性を 1%CH₃COOH で pH5.5 とし、豫め Glo 屑 (Globulin 屑 I 及び I' 即ち Euglobulin を完全に除去するを要す) を除去したものを線維素溶解の阻止因子含有分屑 (大部分は Albumin 屑に属するので便宜上以下 Alb 屑と呼ぶ) とし、線維素溶解酵素としては、Chloroform 活性滲出液又は血漿を用い、この溶解酵素原液に同量宛に倍數稀釋 Alb 屑を加えた (兩者とも 2 倍に稀釋される)。この混合液を檢體とし、以下の術式は線維素溶解力測定法のとくと同一方法によつた。

第 2 表
線維素溶解力並に抑制力

症 例	氏 名	年 令	性 別	状 態			分			解 刀			抑 制 力	
				体温	咳嗽	盗汗	血凝時間 (分)	pH	血液	溶解性	溶解性	溶解性	Alumina	Alumina
正常血漿		31	♂				7.0	7.8	1/6	1/3	1/3	1/3	1/3	1/3
		26	♂				7.0	7.8	1/35	1/25	1/25	1/25	1/25	1/25
		22	♀				6.8	7.8	1/5	1/5	1/5	1/5	1/5	1/5
		30	♂					7.8	1/25	1/25	1/25	1/25	1/25	1/25
		23	♀					7.7	1/35	1/35	1/35	1/35	1/35	1/35
		27	♂				6.2	7.8	1/5	1/5	1/5	1/5	1/5	1/5
		25	♀				6.5	7.4	1/25	1/25	1/25	1/25	1/25	1/25
		33	♂				6.2	7.6	1/25	1/25	1/25	1/25	1/25	1/25
肺結核性膿胸(急性)		31	♂	38.5~39.0	+	熱中	70.3	7.2	1/40	1/40	1/40	1/40	1/40	1/40
肺結核症(急性)		35	♂	38.3~38.7	+	+	65.2	7.2	1/42	1/20	1/20	1/20	1/20	1/20
増殖性肺結核症(慢性)		35	♂	36.2~36.4	+	+	22.5	7.6	1/55	1/20	1/20	1/20	1/20	1/20
右増殖性肺結核症(慢性)		32	♂	36.7~37.4	+	+	68.8	7.0	1/54	1/20	1/20	1/20	1/20	1/20
増殖性肺結核症		35	♂	36.2~36.4	+	+	22.5	7.6	1/56	1/25	1/25	1/25	1/25	1/25
肺結核症		33	♂	37.8~37.8	+	+	42.5	7.4	1/60	1/25	1/25	1/25	1/25	1/25
渗出性肋膜炎		24	♂	36.8~37.6	++	+	36.4	7.6	1/50	1/25	1/25	1/25	1/25	1/25
肺結核症		31	♀	37.0~37.5	+	+	20.0	7.8	1/60	1/25	1/25	1/25	1/25	1/25
結核性上葉炎		24	♀	37.0~37.2	+	+	19.0	7.0	1/60	1/25	1/25	1/25	1/25	1/25
肺結核症		34	♂	36.2~37.2	+	+	70.5	7.8	1/48	1/25	1/25	1/25	1/25	1/25
渗出性肋膜炎		21	♀	37.5~37.5	+	+	23.0	7.8	1/50	1/25	1/25	1/25	1/25	1/25
肺浸潤		26	♀	36.8~37.5	+	+	22.0	7.8	1/50	1/25	1/25	1/25	1/25	1/25
肺結核症		33	♂	36.4~37.6	+	+	42.5	7.4	1/68	1/25	1/25	1/25	1/25	1/25
肺浸潤		26	♀	36.8~37.5	+	+	22.5	7.6	1/50	1/25	1/25	1/25	1/25	1/25
混合型肺膀		21	♀	35.7~36.0	+	+	60.5	7.8	1/50	1/25	1/25	1/25	1/25	1/25
増殖性肺結核症		35	♂	37.0~37.4	+	+	22.5	7.4	1/50	1/25	1/25	1/25	1/25	1/25
結核性肺浸潤		25	♂	36.2~36.8	+	+	34.5	7.2	1/40	1/25	1/25	1/25	1/25	1/25
渗出性肋膜炎		24	♂	36.8~37.7	++	+	35.0	7.2	1/46	1/25	1/25	1/25	1/25	1/25

註：表中(一)陰性成績を、(+)は陽性成績を示す。
(不)は實驗不能を示す。

III. 實驗成績

この實驗成績は第2表に示したが、正常血漿についての線維素溶解現象については、谷島¹⁰⁾岡本¹¹⁾、米田¹²⁾、Macfarlane¹³⁾等幾多の報告がみられるが、滲出液についての報告はほとんどなされていない。著者が實驗に用いた檢體は正常血漿の8例、滲出液は結核性助膜腔滲出液の18例について試みた。

これら檢體の pH は血漿、滲出液共に大體 7~7.8 の弱アルカリ性で總蛋白量（日立製の蛋白計¹⁴⁾で量測した）は 4~7% の間である。これらはいずれも生のまゝでは線維素溶解はみられないが、これを Chloroform で活性化すると血漿及び滲出液では $1/2.5 \sim 1/10$ 程度まで認められた。滲出液のうち初感染で且急性に滯溜したものではこの溶解力は強く、 $1/20 \sim 1/40$ 倍稀釋においてもみられた。これを先きの第1表に示した Plasmin の方法で Glo 屑を分離し、Chloroform 活性化したもの、しないものについて試みたところ活性化操作を加えないものは生のときと同様全く溶解作用はみられないが、Chloroform 活性により $1/2.5 \sim 1/10$ 程度まで認められた。

この際一部では精製操作により幾分、分解能の減弱がみられた。

Alb 屑は生及び Chloroform 活性によるも線維素溶解能はみられない。ところが逆に Alb はこの溶解を阻止する抑制力を有した。

この成績は非常に興味深く線維素溶解が最も強くみられた急性初回滯溜液所謂急性滲出液（本實驗では増殖性肺結核症、右増殖性肺結核症のものをを用いた）は逆にこの抑制能は弱く大體 $1/40$ 稀釋程度まで、正常血漿はこれにつき $1/40 \sim 1/160$ 稀釋でもみられ、慢性滲出液は、最高 $1/160$ 乃至それ以上の稀釋でも抑制力を有し性滲出液のうち 1, 2 のものは溶解力が甚だ弱た。しかし炎症く實驗範圍では測定不能のものがあ、これは急性型のものに於ても時として認められた。なお抑制力に於て檢體の不足から試験不能のものも幾分みられた。

この抑制因子は Chloroform 活性後は全くその作用を消失するので、この抑制因子は Chloroform により不活性化されるか或は除去されるようである。

そこで正常血漿、慢性滲出液、急性滲出液及び膿性滲出液の一部代表例について溶解及び抑制力を比較すると第3表に示す如く溶解力は急性滲出液、膿性滲出液が最も強く血漿及び慢性滲出液は大體類似している。この抑制力も慢法滲出液と正常血漿とは類似しているが急性滲出液は前二者に比べると幾分弱い。次に血漿並に慢性、膿性、及び急性滲出液の各線維素溶解酵素に血漿及び各滲出液の Alb 屑を組合せて作用させ異種檢體酵素との關係を追究してみた。これによると血漿及び慢性滲出液の Alb 屑は同屑の溶解酵素（即ち血漿の場合には血漿中の線維素溶解酵素をさす）に對しては、大體類似程度の抑制力を示すが、急性滲出液は同屬或は類屬のものには抑制的に働き、他種のもの（例えば慢性滲出液、正常血漿等）には餘り抑制力を示さないという興味ある性格がみられ、炎症性滲出液中の成分特に酵素の存在がその症状、或は病型によりかなり差異のあることを知つた。

第 1 圖
Albumin の抑制力

そこで一症例の患者について滲出液滯溜ごとに線維素の分解並抑制の状態について測定してみた。

① 35 才 男、病名: 増殖性肺結

核症，病歴：昭和 16 年 9 月 X 線診断により右肺浸潤といわれ，3 ヶ月自宅療養す，以來勤務し昭和 18 年 5 月喀血 (500cc) 38° の發熱あり，約 3 ヶ月絶對安靜，X 線結果により以後勤務，昭和 19 年 5 月血痰 4 ヶ月靜養後勤務，昭和 25 年集團檢診により小指頭大の空洞を認め，喀痰中には菌を認めず，不完全氣胸を行う，昭和 26 年 1 月國立中野療養所入院療養す。

上の患者について入院 14 日目 (T.36.2°~36.4°，P.74~80，A.17~19)，22 日目 (T.36.2°~36.4°，P.72~78，A.19~20)，42 日目 (T.37.0°~37.4°，P.102~108，A.22~23) に採取した滲出液について試験した。

この症例は入院中滲出液の急性瀦溜を認め，以後再三瀦溜した。滲出液の酵素作用は第 1 回目 (入院 14 日初回瀦溜) は Plasmin は $1/10$ 倍稀釋までみられかなり溶解酵素が認められたが，一方抑制因子も $1/40$ 程度まで測定された。しかし第 2 回及び第 3 回では，Plasmin 量は著しく減少していた。このときの抑制因子は検體の不足のため測定不能であつた。

② 34 才男 病名：肺結核症，病歴：昭和 25 年 3 月發熱並咳嗽により東大内科で診断の結果左肺結核症と決定，入院早速氣胸を實施 (3 回)，翌年社團法入淨風園に入院治療を受けた。この症例は比較的慢性型を辿つていたので滲出液の酵素作用は比較的輕度で，Plasmin 量は前 2 回はほとんど試験範圍ではみられなかつたが，3 回目 (入院 42 日目) に於て $1/2.5$ 程度にみられた。一方抑制力は 2~3 回に於て $1/20 \sim 1/10$ 程度にみられ慢性型に於て多く經驗された溶解力よりも抑制力に於て強いという傾向を示した (第 4 表参照)。

試験對象が都合により上の 2 例に止まつたため，決定的な判定には遠いが，滲出液中の酵素は病症の推移狀態を鋭敏に反映するというようなことはないようである。しかしいずれにしても慢性型を示すものでは比較的抑制因子の増殖現象が窺われた。

以上の試験成績より，次のことが豫想される。即ち線維素溶解酵素は，Glo 屑に介在し Chloroform 處置はこれを活性化する。一方抑制因子は 2 種の抑制因子の存在が豫想され，この主部は，Alb 屑に認めることが出来る。しかし，Glo 屑の Chloroform 處置後にみられる活性化は眞の線維素溶解酵素の Activity とも考えられるが，逆に線維素溶解酵素に抑制因子が結合しておりこれが Chloroform 處置により除去されることによりその作用が活性化したとも考えられ，一應 2 種の抑制因子が想像された。この問題は將來實驗の進展に伴つてはつきりと解明したい。

IV. 理化學的影響と酵素能

滲出液或は血漿中にみられる線維素溶解酵素並に抑制因子についての理化學的影響がこれの生理作用に及ぼす變化について 2，3 の検討を加えてみた。

① 酸及びアルカリによる影響

まず酵素の活性を示す至適 pH についてみると中性乃至弱アルカリでは Fibrin-clot を生ずるが，pH を酸性側に調製すると基質 pH に基因して Fibrin-clot を生ぜず，基質は溶液の狀態となる。したがつて基質 pH は中性乃至弱アルカリ性が好適である。そこで酸及びアルカリによる傷害度を次の如くして判定した。即ち豫

第 4 表 病症と滲出液の酵素作用

患者名 經 過 日 數	區 分		經 過 日 數		
	Plasmin	抑制因子	Plasmin	抑制因子	
入院後 14 日目	$1/10$	$1/40$	入院後 22 日目	$1/1.5$	不
" 22 日目	$1/1.25$	不	" 34 日目	$>1/2.5$	$1/20$
" 42 日目	$1/2.5$	不	" 50 日目	$1/2.5$	$1/10$

第 5 表 耐酸, 耐アルカリ試験

(その1) 線維素溶解酵素

検體	試験管番 希釋 pH 倍數	1	2	3	4	5	6	7	8
		1/2.5	1/5	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320
活性 血漿	2	—	—	—	—	—	—	—	—
	4	—	—	—	—	—	—	—	—
	5	+	+	—	—	—	—	—	—
	7	+	+	—	—	—	—	—	—
	8	+	+	—	—	—	—	—	—
	9	—	—	—	—	—	—	—	—
活性 急性 滲出液	2	+	+	+	—	—	—	—	—
	4	+	+	+	±	—	—	—	—
	5	+	+	+	+	—	—	—	—
	7	+	+	+	+	+	—	—	—
	8	+	+	+	+	+	±	—	—
	9	+	+	+	+	±	—	—	—
活性 慢性 滲出液	2	—	—	—	—	—	—	—	—
	4	+	+	—	—	—	—	—	—
	5	+	+	±	—	—	—	—	—
	7	+	+	+	—	—	—	—	—
	8	+	—	+	—	—	—	—	—
	9	+	±	—	—	—	—	—	—

(+) Fibrin-clot の完全に溶解したもの

(±) Fibrin clot の僅かに残存せるもの

(—) Fibrin-clot の全く溶解せざるもの

第 5 表 (其の2) 抑制因子

Albumin		1/10	1/20	1/40	1/80	1/160
正解 酵素 (制定 24 時間 線維素溶)	2	+	+	+	+	+
	4	—	+	+	+	+
	5	—	—	—	±	+
	7	—	—	—	—	+
	8	—	—	—	—	+
	9	—	—	—	—	+
パ ン ク レ ア チ ン 一 時 間 %	2	+	+	+	+	+
	4	+	+	+	+	+
	5	—	+	+	+	+
	7	—	—	+	+	+
	8	—	—	+	+	+
	9	—	—	+	+	+

め N-HCl 又は N-NaOH で酵素液を pH 2, 4, 5, 7, 8, 9 に修整し 24 時間に 37° 放置後, 液性を pH 7.0 に修整して抑制力を, 溶解力はこれを Chloroform で活性したもの

を加えて行つた。この結果を第 5 表その 1 に示す如く, 線維素溶解酵素は pH 7 及び 8 では作用に餘り影響がみられないが, pH 4 以下の酸性及び pH 9 のアルカリ側では程度の差はあるがいずれも作用の減弱乃至消失がみられた。

抑制因子 (第 5 表その 2 参照) は比較的アルカリ側では安定性を示したが, 酸によつては顯著な傷害度がみられた。

② 熱による影響

一定時間加熱後の検體について線維素の溶解力を調べたところ, 該酵素は熱に對して甚しく不安定で, 40° では 10 分間作用にて安定しているが, 56° 以上になると全く不活性化された。

③ 防腐劑が及ぼす影響

この線維素溶解酵素は血清或はワクチンの防腐劑に用いられる 2, 3 の藥物によりどの程度の阻害を受けるかを試験した。

第6表 耐 熱 試 験

作と 用時 温間 度	稀釋倍數 檢 體						
		1/2.5	1/5	1/10	1/20	1/40	1/80
40°C	血 漿 (佐藤)	卅	卅	—	—	—	—
	急性滲出液(矢島)	卅	卅	卅	卅	—	—
	膿性滲出液(神林)	卅	卅	卅	卅	—	—
	慢性滲出液(岡田)	卅	卅	—	—	—	—
56°C	血 漿 (佐藤)	—	—	—	—	—	—
	急性滲出液(矢島)	—	—	—	—	—	—
	膿性滲出液(神林)	—	—	—	—	—	—
	慢性滲出液(岡田)	—	—	—	—	—	—
60°C	血 漿 (佐藤)	—	—	—	—	—	—
	急性滲出液(矢島)	—	—	—	—	—	—
	膿性滲出液(神林)	—	—	—	—	—	—
	慢性滲出液(岡田)	—	—	—	—	—	—
對 照	血 漿 (佐藤)	卅	卅	—	—	—	—
	急性滲出液(矢島)	卅	卅	卅	卅	—	—
	膿性滲出液(神林)	卅	卅	卅	卅	—	—
	慢性滲出液(岡田)	卅	卅	—	—	—	—

用いた薬劑はフェニール水銀アセタート、ホルマリン及び石炭酸で、それぞれ溶解酵素液にフェニール水銀アセタートの場合は 0.1% 及び 0.05%, ホルマリンは 1%, 石炭酸は 0.5% になる様に加え室温 (10°±2°) に一夜 放置後試験した。

第7表に示す如くこの程度の薬物濃度(防腐濃度)では酵素の作用には全く影響を興えない。たゞフェニール水銀アセタートはこの濃度が 0.1% 以上になると沈澱を生じた。しかしこれは酵素作用には餘り影響を興えないようである。

第 8 表 分 解 物 (透 析 外 液) の 定 性 反 應

試 験 檢 體	螢 光 反 應		呈 色 反 應				
	無處置	硫酸處理	Biuret	Ninhydrin	Xanthoprotein	Millon	Molisch
活性血漿 (福田)	卅青綠	—	—	—	—	—	—
活性急性滲出液(石川)	卅青綠	—	—	—	—	—	—
活性膿性滲出液(神林)	卅青綠	—	—	—	—	—	—
活性慢性滲出液(和田)	卅青綠	—	—	—	—	—	—
對 照	Thrombin	—	＋黄綠	—	—	—	—
	Fibrinogen	—	＋黄綠	—	—	—	—
	Thrombin ＋Fibrinogen	—	—	—	—	—	—

第7表 防腐劑による影響

供試藥 檢體	フェニール水銀 -アセタート		ホルマリ ン	石炭酸	對 照
	0.1%	0.05%	1%	0.5%	
活性血漿(福田)	卅	卅	卅	卅	卅
活性急性滲出液 (和田)	卅	卅	卅	卅	卅
活性慢性滲出液 (矢島)	卅	卅	卅	卅	卅

る。

① 線維素分解試験

滲出液或は血漿中の線維素溶解酵素が Fibrin-clot をどの程度迄分解するかについて實驗を行つた。即ち酵素液をセロハン膜で18時間流水で透析し、比較的 low molecular weight のものを除きこの酵素液に Fibrinogen 及び Thrombin を加えて Fibrin-clot とする。これを 24 時間 37° の孵卵器内で完全に Fibrin-clot を溶解させ、この溶解液を新たにセロハン膜に包み 24 時間透析し、この外液について Aminoacid 及び Peptid の呈色反應及び定性的螢光反應試験を行つた。

この結果分解物の透析外液の定性反應は蛋白質、糖、及びアミノ酸の反應はいずれも陰性であつた。これより線維素溶解酵素は、蛋白質をアミノ酸までには分解しないことが知られる。

V. む す び

著者は炎症性滲出液中の成分として、線維素溶解酵素並にこれの抑制因子の存在を知り、正常血漿と各種結核性滲出液とについて生物學的な定量により、それらの比較検討を試みた。そ

の結果、個々の成績では幾分特異的な成績がみられたが、大體急性初回滲溜滲出液、膿性滲出液では線維素溶解酵素の含有が多く、慢性型の滲出液及び正常血漿では大體類似した定量成績が得られた。

一方この線維素溶解酵素に Anti に働く所謂抑制因子を Alb 分屑に證明し、この線維素溶解酵素抑制力についてみたところ、この抑制因子の強さは、一部の例外を除くと多くの場合慢性滲出液が最も強く、正常血漿これに次ぎ、急性滲出液は同屬滲出液（急性滲出液）ではかなり抑制するが、他屬のもの（慢性滲出液又は正常血漿）にはその抑制力が弱いか或は全く抑制しないという興味ある成績が得られた。

更にこの溶解酵素及び抑制因子が理化學的影響を受けた場合の傷害程度について精査したが溶解酵素は、強酸 (pH4)、強アルカリ (pH9) により著しく不活性化され、(抑制因子は強アルカリ—pH9—では幾分安定性を示したが、強酸—pH4 以下—では不安定であつた) 熱により容易に作用を消失した。しかし、フェニール水銀アセタート、ホルマリン、石炭酸等の防腐濃度範囲では、顯著な影響は受けない様である。

なおこの線維素分解酵素は、線維素をアミノ酸までは分解しないことを知つた。

終りに臨み日本醫科大學々長鹽田先生に敬意

を表すると共に、終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜つた恩師八田教授に對して深甚なる謝意を捧げます。なお種々御支援を得た國立衛生試験所細菌部青山技官、丹治技官及び小澤茂子氏本學藥理學教室の土屋學士の各位に對し深謝致します。また材料等について種々御助力を得た國立中野療養所中井技官、山本技官にも衷心より感謝致します。

文 献

1. Menkin: Am J. Pathology 13. 1. 1937
2. Menkin: Am J. Physiol. 134. 517. 1941
3. 八田, 荻生: 日本醫事新報 1404. 15. 1951
4. 荻生: 日本醫科大學雜誌掲載豫定
5. Dastre, Macfarlane: Lancet 1. 10. 1937 より引用
6. Tagnon, Levevson & Davidson: Am J. Med. Sci. 211. 88. 1946
7. Christensen & Mac Leord: J. Gen. physiol. 28. 559. 1945
8. Macfarlane & Pilling: Lancet 2. 562. 1937
9. 谷島: 日本傳染病學會誌 12(10). 971. 1938
10. 谷島, 前出:
11. 岡本, 塚田, 本田: 日本生理學雜誌 11(11). 28. 1949
12. 米田: 醫學と生物學 18(1). 13. 1951
13. Macfarlane, 前出
14. 吉川: 東京醫事新誌 66(9). 23. 1949