運動と線維素溶解酵素系

第2報 新鮮無処置尿と pH 2 処理尿の線維素溶解能とロダンカリ抽出ウロキナーゼ

東京女子医科大学泌尿器科学教室 河野南雄
(主任 梅津隆子教授)

日本女子体育大学体操研究室

松崎鈴子

EXERCISE AND FIBRINOLYTIC ENZYME SYSTEM

II The Fibrinolytic Activities of the Fresh Urine and The pH2-Treated Urine and The Urokinase

Namio Kôno

Department of Urology, Tôkyo Women's Medical College

Suzuko Matsuzaki

The authors were studying on the fibrinolytic enzyme system (F.E.S.) in the blood and the urine influenced by the exercise.

Since Macfarlane et al. (1947) reported on the presence of F.E. like substance in human urine, it was recognized that this substance is the activator of plasminogen (urokinase: UK).

The standard values of the fibrinolytic activities of fresh and acid-treated urine, U.K. extracted by thiocyanate in healthy human, and the relationship between these F.E.S. in urine and the exercise are described in this report.

1. It is pronounced that the UK involved in normal human urine is varied by age and sex.

In healthy women aged 18 or 19, the mean lysis-area of the fresh urine on the standard fibrin-plate was $262.3 \text{ mm}^2 (\pm 35.6 \text{ mm}^2)$ (155 cases), that of the acid-treated urine 57.5 mm^2 (74 cases), and that of UK $85.9 \text{ mm}^2 (\pm 35.6 \text{ mm}^2)$ (95 cases).

2. The change of F.E.S. in urine was influenced by the exercise:

1) The fresh urine;

In the group of its lysis-area below 300 mm^2 before the exercise, its activity increased after the exercise, and in the group of that over 300 mm^2 before exercise, it decreased.

2) The urokinase;

In the group of its lysis-area below 100 mm^2 before the exercise, its activity increased after the exercise, especially that below 50 mm^2 increased significantly. In the group of that over 100 mm^2 , its activity increased significantly after the exercise.

3) The acid-treated urine;

In the group of its lysis-area below 200 mm^2 before exercise, its activity increased after exercise, and in the group of that over 200 mm^2 before exercise, that decreased significantly.

These fibrinolytic activities of urine were observed to show tendency to approach normal values after exercise.

3. The relation between the change of microhematuria and the F.E.S. in urine was influenced by the exercise:

In the group where microhematuria appeared first after the exercise and where microhematuria after

the exercise was observed unchanged as before, the fibrinolytic activity of fresh urine increased after exercise. And in the group where the microhematuria was not observed before or after the exercise and where it decreased after the exercise, its activity decreased after exercise.

The activity of acid-treated urine decreased after the exercise in both groups, but in the group where the microhematuria after exercise was not observed, its decreasing tendency was stronger than in the other group.

On the contrary, the U.K. increased after the exercise in the group, where the microhematuria was not observed after the exercise, and the U.K. decreased in the other group.

In comparison of these activities with the involving grade of microhematuria without exercise, its activities of fresh urine and acid-treated urine was related to the involving grade of microhematuria.

4. The relation between the grade of the albuminuria and these activities:

The activity of fresh urine with albuminuria of 30 mg/100 ml was strongest, and the activity of acid-treated urine without protein was stronger than its activity of albuminuria.

The U.K. in the urine with protein of trace was most abundant, and that of protein of 30 mg/100 ml and without protein was low.

5. The relation between pH of urine and these activities:

The lysis-area of fresh urine ranged pH 6.6—7.0, below 5.0, 6.1—6.5, 5.1—5.5, and 5.6—6.0. The power of U.K. ranged from pH 6.1—6.5, to below 5.0, and that of acid-treated urine ranged pH 5.1—5.5, below 5.0, 5.6—6.0, 6.1—6.5, 6.6—7.0 of urine.

Especially, the lysis-areas of U.K. below pH 5.5 were more extensive than that of acid-treated urine.

6. There was no relation between these activities of fresh urine, acid-treated urine and U.K.

7. The relation between the menstrual cycle and these activities:

These activities in secretory phase were all stronger than that in proliferative phase, and the microhematuria brought out by exercise in secretory phase was more frequently than that in proliferative phase.

I はじめに

1890年 Bendersky¹⁾ は尿にトリプシン様物質が含まれることを指摘し, 1947年に Macfarlane²⁾ らは健康人尿中にプラスミン (以下 PL と略) に類似した線溶物質が存在することを報告した.

その後, 多数の研究者^{3)~5)} の努力によつて, 本物質がプラスミノゲン (以上 PLg と略) のアクチベータ (以上 Act. と略) であることが解明され, Guest³⁾ らによつてこの尿中 Act. はウロキナーゼ (以下 UK と略) と命名された.

また UK の混在物としてはウロベプシン, トリプシン阻止物質, トロンボプラスチン様物質があげられている.

尿を pH 2 に処理することにより尿中のウロベプシンノーゲンが活性化されてウロベプシンとなり, UK もその酵素作用をうけて活性度が低下するといわれる⁶⁾.

健康人の新鮮無処置尿ならびに pH 2 処理尿における線溶酵素系については著者⁷⁾ らがさきに報告したが, Astrup⁴⁾ らや Müllertz⁸⁾ は尿中の Act. は完全に水溶性であることを指摘しているし, また臨床家の立場より著者の一人河野は線溶能に関しては新鮮無処置尿について

のものを, 生理的病的尿の線溶能を反映するものと考えている.

運動負荷が血液線溶系に及ぼす影響についての研究は散見される. またわれわれも第 1 報において, とくに顕微鏡的血尿との関連について報告⁹⁾ したが運動負荷が尿の線溶系に及ぼす影響についての報告はみない.

また健康人尿の線溶能についてのまとまった標準値がまだ出されてなく, 病的尿か否かの判断に苦しむのが現状である.

したがって健康人尿の線溶能の標準値と, 運動負荷が尿中線溶系に及ぼす影響をみるべく一連の研究を行なつた.

本論文においては, 新鮮無処置尿, Astrup¹⁰⁾ のロダシカリ抽出法による UK, pH 2 処理尿についての研究結果をまとめ, 尿性状とくに顕微鏡的血尿との関係について考察を加えた.

II 実験対象ならびに実験方法

第 1 報において詳しくのべたので簡略に記す.

A. 実験対象: 某女子体育大学 1~2 年生で, 18~19 才の健康な女性である.

B. 実験方法: 教科としての体操, 水泳, 陸上競技.

朝食前もしくは昼食前空腹時に 1,000 米疾走させた。運動前及び運動後約 10～30 分後に自然尿（可及的に中間尿）を採らせた。

III 検査方法

A. 尿の一般性状

1) 蛋白, 糖, pH: 採尿直後に Combistix (小野薬品 KK) を使用して検査した。なお pH が明らかでない場合には, 東洋濾紙の pH 比色紙を使用した。

2) 顕微鏡的検査

1) の検査終了後 1,500～2,000 r.p.m. にて 15 分間遠心して, その沈渣について光学顕微鏡 400 倍下に鏡検した。

B. 尿の線溶系

1) 準備

a. 新鮮無処置尿: 前記上清を用いた。

b. ロダンカリ抽出 UK: 上清尿 3 ml に 2 M-KSCN 4 ml を加えて 30 分間室温に放置後, 3,000 r.p.m. にて 15 分間遠心した。上清を採り, 1 N-HCl 約 1.0 ml を加えて pH 2.0 にして 30 分間室温に放置し, その後再度 3,000 r.p.m. にて 15 分間遠心して沈渣をとり, 2 M-KSCN 1 ml と, pH 7.4 磷酸緩衝液 3 ml を加えて溶解した。

C. pH 2 処理尿: 上清尿を 1 N-HCl にて pH 2 にして 30 分間室温に放置後, 1 N-NaOH にて中和した。

2) 測定

標準フィブリン平板上に上記検体を 0.03 ml 滴下し, 孵卵器中にて 37°C, 18 時間 incubate した。

なお標準酵素として 10 単位/ml U.K. 0.03 ml をおき (1, 2 例外については 100 単位/ml トリプシンを使用)。この溶解面積より先に報告⁷⁾した 10 単位/ml UK (100 単位/ml トリプシンの場合はそのの) 溶解曲線よりその都度補正算出した。

IV 実験成績ならびにその検討

1. 健康人尿線溶能の平均值 (表 1)

1) 無処置尿: 155 例の平均值は 262.3 mm² (標準偏差 71.09 mm²)

2) ロダンカリ抽出 UK: 95 例の平均值は 85.9 mm²

表 1. 健康人尿の線溶能 (mm²)

線 溶 能	例 数	平均値	標準偏差
無 処 置 尿	155	262.3	71.09
K S C N 抽出 UK	95	85.9	35.6
pH 2 処 理 尿	74	57.5	

図 1. 運動による尿線溶能の変動

(標準偏差 35.6 mm²) であった。

3) pH 2 処理尿: 74 例の平均値 57.5 mm² であったがバラツキが大きかった。(標準偏差 59.5 mm²)

2. 運動による尿線溶能の変動 (図 1)

水泳と陸上競技の例数が少なく, 運動の種目を問わず一括して, 運動による変動を検討した。

1) 無処置尿: 運動前に 100～200 mm² と 200～300 mm² の溶解面積を示した尿は, 運動後の線溶能は増強した。

しかし 300 mm² 以上の溶解面積を示した場合には, 運動後に減弱したがこれらは統計学的に有意差はなかった。

2) ロダンカリ抽出 UK: 運動前に 50 mm² 以下と 50～100 mm² のものは運動後に増大し, 前者は統計学的に有意の差を認めたが, (P < 0.05%) 後者には有意の差を認めなかった。

100 mm² 以上のものは有意の差をもつて運動後に減少した。

3) pH 2 処理尿: 運動前が 100 mm² 以下の値を示したものは運動後に増強し, 100～200 mm² のものは運動後に減少したが何れも有意の差はなかった。また 200 mm² 以上のものは有意の差をもつて減少した。

(小括) 何れの線溶能も, 運動前の溶解面積が平均値よりも大きい場合は運動後に減少し, 小さい場合には増大して, われわれが負荷した運動量では運動によっておのおのの平均値に近づく傾向を示した。

図2. 運動による尿中赤血球増減と無処置尿線溶能

注: ● 運動前 ○ 運動後
 — 平均値 (前後比較可能例)
 ++ 運動後にはじめて尿中に赤血球をみた場合
 + 運動前にも尿中赤血球をみるが運動後に増強した場合
 ± 運動前後ともに尿中赤血球がほぼ同じ程度の場合
 0 運動前後ともに尿中に赤血球をみない場合
 - 運動前に尿中赤血球をみたものが運動後に減少した場合

図3. 運動による尿中赤血球増減とロダンカリ抽出ウロキナーゼ

注: 図2に準ずる

3. 運動による尿中赤血球増減と尿線溶能との関係

1) 無処置尿 (図2): 運動によつてはじめて赤血球が出たり (以下++と略), 増強する群 (以下+と略) や, 運動前後ではほぼ同じ程度の赤血球を含む場合 (以下±と略) には, 運動後の線溶能は増強し, ++と±の場合は統計学的に有意の差をもつて増強した。

しかし, 運動前後ともに赤血球をみなかつたり (以下0と略), 運動前に赤血球をみるが運動後に却つてみなくなつた場合 (以下-と略) では, 何れも運動後の線溶能が減弱したが統計学的に有意差はなかつた。

2) ロダンカリ抽出 UK (図3): ++, +, ±では運動後に減少の, 0と-では運動後に増強の傾向を示したが, 一のみが10%の危険率で有意差を認めるにすぎなかつた,

3) pH2処理尿 (図4): 何れの尿中赤血球変化群においても, 運動後の線溶能は減弱を示したが, とくに

図4. 運動による尿中赤血球増減とpH2処理尿線溶能

注: 図2に準ずる

図5. 無処置尿線溶能と尿中赤血球含有度

注: ()内は例数

++ , +ではこの減弱傾向は僅微であつた。また何れも統計学的に有意の差はみられなかつた。

4. 尿中赤血球含有度と尿線溶能との関係

尿中赤血球の含有度を, 毎視野1~数個, 数視野1個, 全視野に1~数個程度にみられるもの, 全視野に全くみられなかつたものに分けて, その線溶能を比較した。

1) 無処置尿 (図5)

毎視野のもの14例を除くと, 数視野, 全視野, 全くなしの順に無処置尿の線溶能は減弱して, 赤血球含有度とその線溶能とはある程度関連する傾向を示した。

2) ロダンカリ抽出 UK (図6)

全視野, 数視野, 全く赤血球なしの順序でウロキナー

図6. ロダンカリ抽出UKと尿中赤血球含有度

図7. pH 2 処理尿線溶能と尿中赤血球含有度

注: () 内は例数

ゼは少なかつた。

3) pH 2 処理尿 (図7)

無処置尿の線溶能と同じ傾向を示し、毎視野のもの10例を除くと、数視野、全視野、全くなしの順にその線溶能は減弱した。

(小括) 3, 4の結果より、運動による血尿の出現機序はむしろウロキナーゼを除いた他の線溶系と関連することが推測された。

5. 尿線溶能と尿蛋白量との関係:

尿中蛋白量は化学的に定量したものではなく、まして成熟婦人の自然尿であるので厳密な比較は困難である。Combistix により得られた尿中蛋白量との関係をみると、図8のごとくになった。

図8. 尿線溶能と尿中蛋白量との関係

注:

1. 数字は例数
2. 無処置尿
3. ウロキナーゼ
4. pH2処理尿

1) 無処置尿: 尿蛋白+ (30mg/dl) の場合は十や一の尿に比して、その線溶能が増強しており、卅は4例にすぎなかつたが却つて低下していた。

2) ロダンカリ抽出UK: 尿蛋白+, 十では一に比して増強しており、卅4例ではもつとも増大していた。

3) pH 2 処理尿: 尿蛋白一が卅, 十, 十に比してその線溶能が強く、卅, 十, 十ではほぼ等しい線溶能を示した。

(小括) 尿をpH 2に処理することによつて、ウロベプシンノーゲンの活性化によるUKの破壊もさることながら、無処置尿の線溶能が尿中蛋白+で、またUKが+, 十で強かつたこと、さらにpH 2 処理尿では尿蛋白一に線溶能が強かつたことより、酸処理により蛋白変性時にsolubleの線溶物質が変化をうけることが考えられる。そして尿中 Act. が単一でなく、またすべてがsolubleであるとも考えられず、組織 Act. が free form と bound form に分類され、また両者の相関関係について明らかにされていないようなことが尿の線溶系についても考慮すべきではないかと想像される。

6. 尿線溶能と尿pHとの関係:

比色紙使用のpHであるが、両者の関係を示すと図9のごとくになった。

図9. 尿線溶能とpHとの関係

1) 無処置尿: pH 5.6—6.0, 5.1—5.5, 6.1—6.5, 7.1—7.5, 7.6—8.0, 5.0以下, 6.6—7.0, 8.1以上の順にその線溶能が増強した。しかし例数が比較的多かつた pH 7.0以下についてみると, 5.1—6.0のものは線溶能が低く, 5.0以下や 6.1以上になると線溶能は増強している。

2) ロダンカリ抽出 UK: 比較的例子のまとまつた pH 6.5以下のものについてみると, pHが低値になるにしたがつて UK が少なくなった。

3) pH₂処理尿: 比較的例子のまとまつた pH 7.0以下の尿についてみると, UK の場合とは逆に, pHが低値になるにしたがつてその線溶能が増強する傾向を示した。とくに pH 5.5以下の尿では, 線溶能は UK の溶解面積よりも大きくなった。

(小括) 2)3)の結果より尿 pH が比較的低い場合には, 尿中のウロペプシノーゲンが僅かであっても, 自然に活性化され, UK が破壊されていることが想像され, とくに pH 5.5以下の尿では pH₂処理尿の溶解面積が UK の溶解面積よりも大きかつたことは, このことを一層支持する。

7. 無処置尿, ロダンカリ抽出 UK, pH₂処理尿間の関係

図10, 11にみられるように, 3者の間にとくに関連性はみられなかつた。

図10. 無処置尿, ロダンカリ抽出ウロキナーゼ, pH₂処理尿間の関係(運動前) 図11. 無処置尿, ロダンカリ抽出ウロキナーゼ, pH₂処理尿間の関係(運動後)

8. 性周期と尿線溶能及び尿性状

成熟婦人なる故に, 基礎体温が明らかであつた症例について検討を加えた。

1) 尿線溶能: (図12, 13) 無処置尿, ロダンカリ抽出 UK, pH₂処理尿とともにその溶解面積は高温相の方が低温相よりも大きかつた。

2) 運動による尿線溶能の変動: (図12, 13) 無処置尿では, 高, 低温相ともに運動によつて殆ど変化はなかつた。UK は低温相では変化がなかつたが, 高温相では僅かに増強する傾向を示した。pH₂処理尿では高温相ではその線溶能が著しく増強し, UK の溶解面積より大きくなつたのに対して, 低温相では却つて減弱した。

図12. 性周期よりみた運動による尿線溶能の変動

図13. 性周期よりみた運動による尿線溶能変動の相互関係

図14. 性周期よりみた運動による尿中赤血球の増減

3) 尿変化 (図14) : 運動による尿中赤血球の増減をみると、高温相36例中、++13例 (36.1%), +8例 (22.2%), ±5例 (13.9%), 03例 (8.3%), -7例 (19.4%) で図12のごとくになった。低温相では34例中、++9例 (26.5%), +9例 (26.5%), ±5例 (14.7%), 07例 (20.6%), -4例 (11.8%) となった。++でみるように高温相の方が運動によって尿中の赤血球が出現し易く、その機序を先にのべた高温相の尿線溶能の変動とともに関連づけて考えられる。

運動による尿蛋白やpHの変動と、性周期との関連性は認められなかった。

9. 胃愁訴あるいは便秘と尿線溶能

ウロペプシンは胃に起因し、内分泌性機序によつてその一部が尿中に排泄されるといわれ、Afaunova¹¹⁾のごとく尿中のウロペプシンを測定して胃疾患診断の一助として提唱するものもある。また先述のごとく、UKとウロペプシンは密接な関係もあり、何らかの胃愁訴や便秘を有するものと、有しないものとに分けて検討した。症例が少なかつたが表2、3のごとき結果を得た。胃愁

表2. 胃愁訴と尿線溶能 (mm²)

胃愁訴		無処置尿		pH₂ 処理尿	
		運動前	// 後	// 前	// 後
+	平均値	259.8	281.3	72.2	68.7
	例数	3	3	3	3
-	平均値	226.7	200.2	35.1	74
	例数	27	24	30	28
総例数		30	27	33	31

表3. 便秘と尿線溶能 (mm²)

便秘		無処置尿		pH₂ 処理尿	
		運動前	// 後	// 前	// 後
+	平均値	285.3	57.5	78.8	68.7
	例数	3	2	4	3
-	平均値	229.1	212.1	67.3	72.9
	例数	26	24	29	28
総例数		30	26	33	31

訴のあるものは3例にすぎないが、無処置尿、pH₂ 処理尿ともに線溶能は多少高い傾向を示し、運動後の尿で、無処置尿では胃愁訴を有するものは増強の、有しないものは減弱の傾向を示し、逆にpH₂ 処理尿では胃愁訴を有するものは減弱の、有しないものは増強の傾向を示した。

便秘との関係は運動前の値のみを比較すると、無処置尿、pH 2 処理尿ともに、便秘をするものの方が線溶能が多少高い傾向を示した。

対象が18~19才の女子で、胃愁訴が胸やけなどの過酸症に起因するものであることと、便秘を過酸症との関連において考えれば当然な結果と考えられる。

V 総括ならびに考按

Bendersky¹⁾ は尿中にトリプシンとは異なつたトリプシン様作用を見出したが、Bamberg¹²⁾ はこの尿中トリプシン様作用を見出し得ず、その後暫くこの問題はかえりみられなかつた。1947年 Macfarlane²⁾ らは尿にフィブリノーゲンやフィブリンと同様に、アルブミンやカゼインを分解するトリプシン様作用があることを報告し、その後 Bjerrehuus¹³⁾ らはこの尿中因子と PL とが同一性格のものであることを報告した。

Astrup⁴⁾ らは尿が標準平板法で強い線溶を示すのに対して、加熱平板では線溶を示さず、この際尿に PLg を添加することによつて加熱平板をも溶解する事実より、PLg の Act. であることを明らかにした。この尿中 Act. は新鮮無処置尿だけでなく、0.9% NaCl で透析した尿でもみられ、この Act. は酸に対して敏感であるが、中性やアルカリでは安定であることを明らかにし、Bamberg らが、この尿中酵素を証明出来なかつたのは実験に用いた基質の再現が出来なかつたためと考えた。

この尿の強力な線溶系 Act. の存在は明らかに生理的意義を有し、排尿維持の点で尿路系での凝血形成が、血管内血栓形成と同じく哺乳動物では問題となり、尿中 Act. はこの尿路系における凝血塊の急速なる溶解を可能にするといひ、したがつてこの因子は単純な排泄物ではなくて、血清によつて活性化されるといわれる Abderhalden の尿中蛋白酵素—“Abwehrproteinases”, “Abwehrfermente” と同一に評価すべきであるが、この両酵素の性質は一部は一致し、一部は一致しない点もあることを指摘した。

Müllertz⁹⁾ もヒトの新鮮無処置尿だけではなく、0.9% NaCl に対する透析尿でも極めて高い活性を有するとのべ、UK は完全に soluble であり、組織中の Act. が構成蛋白と結合している点で、化学的に異なつた PLg-Act. であるということは多くの研究者によつて明らかにされた。

また最近では McConnel¹⁶⁾ らが UK は血液 Act. と異なることを指摘している。

先にも述べたごとく、UK の混在物としてはウロペプ

シン、トリプシン阻止物質、トロンプラスチン様物質があげられており、UK の抽出法が検討された。

Astrup⁴⁾ らは蛋白沈降反応により、Celander¹⁷⁾ らは泡沫法による UK の抽出を試みたが、不成功に終り、von Kaulla¹⁸⁾ は UK とトロンプラスチン様物質は磁性濾過器を通すと吸着され、2 M-KSCN で溶出され、また硫酸バリウムにも吸着されるので、再び溶出して純化出来ることを報告した。しかるに Ploug¹⁹⁾ らはシリカゲルでの吸着とアンモニアによる溶出、次いで pH 6.2 で Amberlite IRC-50 のクロマトグラフィーにかけて、はじめて純粋な UK を得、これは無色の蛋白質で 50°C で、pH 1—10 まで安定であり、30 分後にも活性の低下をみえない。高温でも酸に対しては最も安定であるが、酸性尿では急速に破壊されるという。UK を分析すると N : 14.11%, C : 46.55%, H : 7.35%, S : 1.50%, P : 0.30%, 灰 : 0.61% で、pH 4.63 では電気泳動で、A, B, C の 3 成分よりなり、それぞれの比は 22, 37, 41% で B 成分に UK 活性が局在すると報告した。この UK 標本について Kickhöfen⁵⁾ らも確かめている。

Lesek²⁰⁾ らもヒト尿より UK を純粋な結晶の形で抽出し、分子量 53,000~54,000 であるといひ、Barlow²¹⁾ らも UK が S₁, S₂ の 2 成分よりなることを示し、分子量はそれぞれ 32,500 と、57,000 で、S₂ は polydispersity であるという。

Hamberg²²⁾ らはヒトおよびウサギの尿について、Sephadex G 200 ゲル濾過法の eluate が蛋白阻止物質を含まず、ウシ PLg を使つて UK の測定に利用出来ることをのべ、この分離酵素がリジン—メチルエステルに対するエステラーゼ活性を示し、またこの方法によつて得られた UK が極めて純粋な形のものであることを、ゲル濾過や buffer や 1 M-NaCl で安定化した溶媒中での sucrose density gradient. 超遠心法による sedimentation rate との比較によつても同一のものであつたという。

Kjeldgaard²³⁾ らは線溶分解と蛋白分解法によつて UK の PLg より PL への転化作用は第 1 次酵素反応であることを示し、至適 pH は 9.0 附近で、この活性化に際して原蛋白質の PLg から 16% の窒素の遊離²⁴⁾が、また Robbins²⁵⁾ らによると peptide とアミノ酸の遊離がみられるという。

Kline²⁶⁾ は SK 活性によつて PLg から生じた PL がカゼインやその他の基質によつて保護されるが、UK にもカゼインを基質にした場合にこれと同様なことがみられるという。

Kjeldgaard²³⁾ らは UK が Lee や TAME に対して、エステラーゼ活性を有しており、UK の PLG 活性がこれらのエステルによつて抑制されることよりプラスミノゲナーゼとエステラーゼ活性が同じ active site であると考えている。

ところで UK の生理的意義については先にのべたが、その排泄は年令、尿量^{27)~29)}、疾患²⁷⁾、性によつて異²⁹⁾なるものといわれる。

生体内での UK の生成は腎³⁰⁾³¹⁾³²⁾³³⁾においてであろうことは大体一致した意見である。河野^{34)~38)}もウサギの実験的腎出血との関連における腎組織 Act. と尿線溶系に関する一連の研究の結果よりこの意見を支持する。また村上³⁹⁾らは¹³¹I—UK の体内動態を観察して、UK の代謝は肝に比して腎が積極的役割を果たし、UK の起源として血中 Act. の尿中への漏出を否定している。

新鮮無処置尿の線溶能測定上、最も問題になるのはウロペプシノーゲンである。ウロペプシンは Brücke⁴⁰⁾ (1861) が強酸性尿でフィブリンを溶解する蛋白分解酵素をはじめて報告したが、ウロペプシンが完全に証明されたのは Grützner⁴¹⁾ のフィブリン法による研究であるといわれ、Sehrig⁴²⁾、Hoffmann⁴³⁾ らによつて健康な動物およびヒトの尿中に常に存在することが明らかにされた。

Mirsky⁴⁴⁾ らはペプシンの経口または静注投与によつてウロペプシンの増加はないが、ペプシノーゲンの静注投与ではウロペプシンの尿中排泄が著明に増加することを報告し、その後、ウロペプシノーゲンは胃粘膜の主細胞より99%は胃腔に、1%が内分泌性機序により循環血中に入り⁴⁵⁾、腎より尿中に排泄されること⁴⁶⁾が明らかとなつた。正常な場合、各人の日々の排泄量は一定しており、ストレスやある種疾患において可成り特徴的に変化し、ひいては胃癌や胃潰瘍の鑑別診断に供しようとする試みもある¹¹⁾。

ウロペプシンの測定法としては Anson⁴⁷⁾ のヘモグロビンを基質に用いる方法と、West⁴⁸⁾ らの牛乳酢酸塩緩衝液を用いペプシンの凝乳作用を利用する方法とがあるが、ウロペプシン測定上、蛋白や塩類の影響が指摘されている。

尿を酸性にするとウロペプシノーゲンがウロペプシンになり、pH 1.5~3.5で酵素作用を示し、UK の活性低下を招来する。Astrup らや Ploog¹⁹⁾ らが酸性尿では UK が不安定になることを指摘したのは、まさにこの事実によるのである。

それ故にこそ UK 標本からウロペプシノーゲンを除去

する方法が種々試みられた。

UK とウロペプシノーゲンとの相関々係を系統的に研究したのは Kickhöfen⁹⁾ らである。彼らは透析した尿や蛋白溶液 (A_2 -mucoprotein) についてウロペプシノーゲンを測定し、基質中の蛋白や塩類によつて影響されるのを見、Anderson, Locky, Macgalan の尿中蛋白 mucoprotein の保護膠質作用によつて説明を試みている。また尿を一度酸性にし、次いでアルカリにすることによつてウロペプシノーゲンの増加すべき不可逆性不活性化がその前値に達しないことや、尿をある期間アルカリにすると、ウロペプシノーゲンの30~35%はもはや活性化しなかつたといい、これは A_2 -mucoprotein のウロペプシノーゲンの成分を示すという。また尿中のウロペプシノーゲン pH 感度曲線で pH 10.5 と 11.0 の間で35%の損失を示した結果、ウロペプシノーゲンがアルカリ感度で区別される2つの成分よりなると考えている。さらに Kickhöfen らは UK が A_2 -mucoprotein 中にあるが、この中にも、また他の方法によつて抽出した UK の中にも少量のウロペプシノーゲンが混在することを示し、この両者の分離が DEAE-セルローズクロマトグラフィーや Träge Elektrophorese によつて可能であることを示し、前者による活性低下は UK が46%、ウロペプシノーゲンが33%で、後者による活性低下は UK は55%、ウロペプシノーゲンは45%であつたという。さらに彼らは2N-HCl で pH 3 にするとウロペプシノーゲンがウロペプシンになり、10~30分後に2N-NaOH で中和すると残つた UK の活性度が測定出来るとのべている。

したがつて、著者らが試みた pH 2 処置尿によつても残つた UK の活性度は測定出来るかと考えるが、著者らが先に発表せるとく pH 2 処理尿には、UK やトリペプシンを作用させた結果より、ウロペプシンの作用で残つた UK のほかに線溶酵素系の前駆物質的なものをも考慮すべきである。

運動負荷による血液線溶系の変動に関しては著者⁹⁾ らの報告を含めて散見されるが、運動によつて運動器官はもちろん、呼吸循環系をはじめ全身諸臓器に当然変化がみられ、この中には線溶系の変動をみるものも推測される。

運動の腎に及ぼす影響は当然腎自体の線溶系、ひいては尿の線溶系に及ぶと考えられる。また運動の消化器に及ぼす影響は尿中のウロペプシノーゲンに、さらに尿の線溶系へと変化をもたらすこととなる。かつて疲労測定の一法として応用された Donaggio 反応陽性物質が尿

中の mucoprotein にあるといわれることは、UK やウロペプシノーゲンと α_2 -mucoprotein との関係より興味あることである。

運動負荷による新鮮無処置尿の線溶能をみると、健康人平均値は 262.3mm^2 であるが、運動前のそれが 200mm^2 以下、及び $200\sim 300\text{mm}^2$ のものは運動後に線溶能は増大傾向を、 300mm^2 以上を示したものは運動後に減少傾向を示した。

また pH 2 処理尿では、運動前の線溶能が 200mm^2 以下のものは、運動後に増強の傾向を、 200mm^2 以上のものは有意の差をもつて減弱した。

ロダンカリ抽出 UK も運動前に 100mm^2 以下のものは運動後に増強し、とくに 500mm^2 以下では有意の差をもつて増強し、 100mm^2 以上のものは有意の差をもつて減弱した。以上 3 者の線溶能に共通してみられたことは、われわれが負荷した運動量は、運動前に比較的低い線溶能を示す場合には運動後に増強し、比較的高い値を示したものは運動後に減弱して、平均値に近くなる傾向を得た。これら尿線溶能に関する結果よりみれば、この程度の運動量は生理的範囲のものであり、逆に生体にとって要求されるべき運動量ともいえる。Gray⁴⁹⁾ らはウロペプシン活性値の消長をストレス学説との関係において論じ、消化性胃潰瘍を代表的ストレス疾患として、情緒的、身体的慢性緊迫状態が、その主病因となると唱えた。すなわちかかるストレスが迷走神経中枢と迷走神経を介する神経原性のものと、大脳皮質に起源し、視床下部を経て、下垂前葉より ACTH の分泌を促し、副腎皮質よりコルチコイドを分泌させてこれが胃粘膜を刺激して酸及びペプシンの分泌を促進する内分泌性とに分けて論じられる。もちろん自律神経系と内分泌系が不可分の関係にあることは論じるまでもない。松田⁵⁰⁾ は各種運動負荷によるウロペプシンの動態を研究し、すべての運動後にその排泄が増加することを報告している。

因みに 1000 米疾走前後の尿を 1 N-HCl により pH 2 に処理して、酸性尿のまま標準平板上においた場合、フィブリンの溶解が急速に進行するのがみられた。

図 15 にみるごとく、酸処理 10 分ならびに 30 分間室温 (32°C) に放置後フィブリン平板上においたものは、運動後の溶解面積の方が運動前のものより大きく、60 分放置後のものはむしろ運動後のものが小さかつた。このフィブリン溶解は UK を主とする尿の線溶物質と活性化したウロペプシンの作用を示し、酸処理の時間的経過とともに活性化したウロペプシンによる UK の消化は進行する

図 15. pH 2 処理尿のフィブリン平板における溶解

であろうし、かかる見解よりすれば、酸処理 10 分ならびに 30 分後のものは、狭義の尿線溶能を、60 分後のものはウロペプシノーゲン量を示すと大まかな解釈を下せないこともない。そうすると酸処理 10 分ならびに 30 分後のものは、今までのべた運動による尿の線溶能の変動と、酸処理 60 分後のものは松田のウロペプシンの実験成績と、符合する。いわゆる特発性腎出血における尿線溶能の増強は、米瀬⁵¹⁾や河野⁵²⁾の報告もあり、加療により血尿が好転するとともに尿の線溶能も減弱してくる。ウサギにおける実験的腎出血を尿の線溶能より検討すると、レーリー現象における場合には、血尿と尿線溶能は平行せず、ブラディキニンを大量投与した場合には、血尿と尿線溶能が平行した³⁸⁾。かかる事実より河野はいわゆる特

発性腎出血を尿の線溶能よりみた場合、現在の時点ではブラディキニン投与における腎性血尿のタイプに属せしめるべきかと考えている。

過労時の一徴候としての血尿は古くから指摘されている。運動による顕微鏡的血尿といわゆる特発性腎出血は同一には論じられない。いわゆる特発性腎出血における血液線溶系では活性化もしくは活性化傾向を示すものが多く、運動による顕微鏡的血尿と血液線溶系との関連性は著者らが先に報告したごとくである⁹⁾。

運動負荷による顕微鏡的血尿と尿線溶能との関係をみると、ロダンカリ抽出UKよりも無処置尿そのものの線溶能と関係があつた。

また性周期でみると、高温相では低温相よりも尿線溶能が高くなる傾向を示し、また運動による尿中赤血球も出現し易い傾向を得た。また、尿中の線溶系は酸性尿では、ウロペプシノーゲンが自然に活性化され、したがって尿中の UK はある程度消化修飾されるものと考えられ、腎性血尿の出現機序の複雑性を知った。

VI むすび

女子体育大学の教科としての運動が、血液ならびに尿中線溶系に及ぼす影響を研究中であるが、本論文においては、新鮮無処置尿とpH 2 処理尿の線溶能と、ロダンカリ抽出UKの健康人の標準値を出し、これらと運動による変動を尿の一般性状とくに顕微鏡的血尿との関連を検討した。

1. UKは年齢、性によつて異なるといわれるが、18～19才の健康女子のこれら線溶能の平均値をみると、新鮮無処置尿では $262.3\text{mm}^2(\sigma 71.1\text{mm}^2)$ (155例)、ウロキナーゼは $85.9\text{mm}^2(\sigma 35.6\text{mm}^2)$ (95例) で、pH 2 処置尿は 57.5mm^2 (74例) であつたがパラツキが大きかつた。

2. 運動による尿線溶能の変動:

1) 新鮮無処置尿: 運動前に 300mm^2 以下の溶解面積を示した場合には運動後に増大の、 300mm^2 以上の場合には減少の傾向を示した。

2) ウロキナーゼ: 運動前に 50mm^2 以下の場合と $50\sim 100\text{mm}^2$ のものは運動後に増加し、前者は有意差を認めた。しかし 100mm^2 以上のものは有意差をもつて運動後に減少した。

3) pH 2 処理尿: 運動前に 200mm^2 以下の線溶能を示す場合には、運動により増大の傾向を示し、 200mm^2 以上のものは有意差をもつて減少した。

以上3者の線溶能は、われわれが負荷した運動量によつてむしろそれぞれの平均値に近づく傾向を示す。

3. 運動による尿中赤血球増減と尿線溶能との関係: 運動によつてはじめて血尿が出たり(++)、増強したり(+)、運動前後ともに同じ程度の血尿であつた(±)群と、運動前後ともに血尿がなかつたり(0)、運動後に却つて血尿がなくなつた(—)群に分けて検討すると、無処置尿の線溶能は前者では運動後に増強し、とくに++、±では有意の差を認め、後者では減弱傾向を示した。UKは++、+、±で運動後に却つて減少し、0と—では増強し、とくに—では10%の危険率をもつて増強した。

pH 2 処理尿では何れの群も運動後の線溶能は減弱傾向を示したが、++、+ではこの減少傾向は他の群に比べて弱かつた。しかしUKは血尿の増減によつて、逆にUKは減少や増加の傾向を示した。

ちなみに尿中赤血球含有度とこれら3種の線溶能をみると、無処置尿とpH 2 処理尿は赤血球含有度とある程度関連性を示すが、UKは関係なかつた。

運動による血尿の出現機序にはウロキナーゼ以外の尿中線溶系が関連している。

4. 尿蛋白との関係: 無処置尿の線溶能は $30\text{mg}/100\text{ml}$ 程度の蛋白尿は痕跡もしくは陰性のものよりも増強し、ウロキナーゼは尿中蛋白が痕跡程度のもの、次いで $30\text{mg}/100\text{ml}$ 陰性のものの順に大きかつた。

pH 2 処理尿では尿蛋白陰性のものが痕跡以上の蛋白を含む尿の線溶能よりも大きかつた。

5. 尿pHとの関係: 無処置尿の線溶能はpH 5.6—6.0, 5.1—5.5, 6.1—6.5, 5.0以下, 6.6—7.0の順に強くなり、ウロキナーゼはpH 6.1—6.5, 5.6—6.0, 5.1—5.5, 5.0以下の順に弱くなつた。pH 2 処理尿ではpH 5.1—5.5, 5.0以下, 5.6—6.0, 6.1—6.5, 6.6—7.0の順に弱くなり、とくにpH 5.5以下の尿ではウロキナーゼの溶解面積がpH 2 処理尿のそれよりも大きかつた。尿のpHが比較的低い場合には尿中のウロペプシノーゲンが僅かながらも自然に活性化され、UKも消化されるのではないかと考えられた。

6. これら3者の線溶能の間に関連性はなかつた。

7. 性周期との関係: これら3種の線溶能は何れも、高温相が低温相よりも強く、運動による血尿も高温相の方が出現し易い傾向をしめした。

無処置尿線溶能は運動によつて高、低温相ともにほとんど変化はなかつた。UKは低温相では変化はなかつたが、高温相では運動後に増加する傾向を示した。pH 2 処理尿では、高温相では運動後に線溶能は増強し、低温相では減弱した。

(御校閲を頂いた、恩師梅津隆子教授、御協力を頂いた
蛭名秀人学士ならびに日本女子体育大学々生、統計処理
に御協力頂いた第一製薬学術課高木薬学士に深謝する)

文 献

- 1) Bendersky, J.: Arch. Path. Anat. u. Physiol., 121, 554, 1890.
- 2) Macfarlane, R.G. and Pilling, J.: Nature, 157, 779, 1947.
- 3) Sobel, G.W., Mohler, S.R., Johnes, N.W., Dowdy, A.B.C. and Guest, M.M.: Am. J. Physiol., 171, 768, 1952.
- 4) Astrup, T. and Sterndorff, I.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 81, 675, 1952.
- 5) Williams, J.R.B.: Brit. J. exp. Path., 32, 530, 1951.
- 6) Kickhöfen, B., Struwe, F.W., Bramesfeld, B. & Westphal, O.: Biochem. Z., 330, 467, 1958.
- 7) 河野南雄, 松崎鈴子: 日泌尿会誌, 59, 463, 1968.
- 8) Müllertz, S.: Acta physiol. Scand., 25, 93, 1952.
- 9) 河野南雄, 松崎鈴子: 日泌尿会誌, 59, 877, 1968.
- 10) Astrup, T. & Müllertz, S.: Arch. Biochem. Biophys., 40, 346, 1952.
- 11) Afaunova, V.I.: Vrach Delo, 49, 16, 1967.
- 12) Bamberg, K.: Z. exp. path. Pharmacol., 5, 742, 1909.
- 13) Bjrrhuus, I.: Scand. J. clin. Lab. Invest., 4, 179, 1952.
- 14) Astrup, T. & Permin, P.N.: Nature, 159, 681, 1947.
- 15) Tagnon, H.J., Mary, L. & Petermann, N.: Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 70, 359, 1949.
- 16) Mc Connell, D., Johnston, J.G., Holemans, R. & Cohen, L.A.: Fed. Proc. 25, Part I, 33, 1429, 1966.
- 17) Celander, D.R., Langlinais, R.P. & Guest, M. M.: Arch. Biochem. Biophys. 55, 286, 1955.
- 18) von Kaulla, K.N.: J. Lab. clin. Med., 44, 944, 1954.
- 19) Ploug, J. & Kjeldgaard, N.O.: Bioch. Biophys. Acta, 24, 278, 1957.
- 20) Lesek, A., Terminiello, L. & Traver, J.H.: Fed. Proc. 25, Part I, 35, 1966.
- 21) Barlow, G.H., Mozen, M.M. & White, W.F.: ibid, 36, 1966.
- 22) Hamberg, U. & Savolainen, M.: Acta Chem. Scand., 20, 2551, 1966.
- 23) Kjeldgaard, N.O. & Ploug, J.: Bioch. Biophys., 24, 283, 1957.
- 24) Celander, D.R. & Guest, M.M.: Am. J. Cardiol., 6, 409, 1960.
- 25) Robbins, K.C. et al.: Studies of the mechanism of activation of human plasminogen by urokinase, 13th. Ann. Symp. on Blood, Detroit, 1965.
- 26) Kline, D.L.: Yale J. Biol. Med., 26, 356, 1954.
- 27) Symrnotis, F.E., Fletcher, A.P., Alkjaesig, N. and Sherry, S.: Thromb. Diath. Haemorrhag., 3, 257, 1959.
- 28) Boomgaard, J., Deggeler, K., Bleyenbergh, A. & Vreeken, J.: Clin. chim. Acta, 13, 493, 1966.
- 29) Boomgaard, J., Vreeken, J., Bleyenbergh, A. & Deggeler, K.: ibid, : 484, 1966.
- 30) Astrup, T. & Sterndorff, I. Acta Physiol. Scand., 36, 250, 1956.
- 31) von Kaulla, K.N. & Riggenbach, N.: Thromb. Diath. Haemorrhag., 5, 162, 1961.
- 32) Buluk, K. & Malofiejew, M.: Acta Physiol. Pol., 14, 371, 1963.
- 33) Worowski, K., Niewiarowski, S. & Prokopowicz, J.: Thromb. Diath. Haemorrhag., 12, 87, 1964.
- 34) 河野南雄: 日泌尿会誌, 53, 179, 1962.
- 35) 河野南雄: 日腎誌, 6, 159, 1964.
- 36) 河野南雄: 日泌尿会誌, 56, 297, 1965.
- 37) 河野南雄: 日泌尿会誌, 57, 1156, 1966.
- 38) 河野南雄: 日泌尿会誌, 58, 1202, 1967.
- 39) 村上元孝, 黒田満彦, 恩地一彰, 越村康明, 保志場一郎, 能登稔: 臨床血液, 7, 288, 1967.
- 40) Brücke, E.: Sitzungsber. d. k. Akad. d. Wissensch. Math-naturw. cl., Wien, 43, 618, 1861.
- 41) Grützner, P.: München. med. Wchsch., 34, 946, 1887.
- 42) Sehrig, F.: Arch. f. d. ges. Physiol., 38, 35, 1886.
- 43) Hoffmann, H.: ibid, 41, 148, 1887.
- 44) Mirsky, I.A. et al.: J. clin. Invest., 27, 818, 1948.
- 45) Janowitz, H.D. & Hollander, F.: Gastroenterol., 17, 591, 1951.
- 46) Frouin, A.: Comp. rend. Soc. de biol. Par., 56, 204, 1904.
- 47) Anson, M.L.: J. Gen. Physiol., 22, 79, 1938.
- 48) West, P.M., Ellis, F.W. & Scott, B.L.: J. Lab. & clin. Med., 39, 159, 1951.
- 49) Gray, S.J.: Adrenal Influence upon the Stomach and the Gastric Response to Stress. Fifth Annual Report of Stress, 138—160, MD Publications, Inc., New York (1955/56)
- 50) 松田竜幸: 体質医研報, 12, 484, 1961.
- 51) 米瀬泰行, 杉浦式, 郷路勉, 岡田清己, 安部英, 佐藤智, 風間睦美: 日泌尿会誌, 54, 787, 1963.
- 52) 田村一, 河野南雄: 日泌尿会誌, 56, 754, 1965.
- 53) 河野南雄: 慶応医学, 42, 91, 1965.

(昭和43年3月6日受付, 特別掲載)