

Title	全身照射家兔の血液凝固・線溶
Author(s)	伊藤, 要子; 菱川, 良雄; 宮田, 伸樹
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1984, 44(1), p. 73-87
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/18966
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

全身照射家兎の血液凝固・線溶

愛知医科大学放射線医学教室（主任：宮田伸樹教授）
伊藤 要子 綾川 良雄 宮田 伸樹

（昭和57年11月15日受付）
（昭和58年5月23日最終原稿受付）

Blood Coagulation and Fibrinolysis of the Whole-Body
Irradiated Rabbits

Youko Hishikawa Itoh, Yoshio Ayakawa and Nobuki Miyata
Department of Radiology, Aichi Medical University
(Director: Prof. N. Miyata)

Research Code No.: 400

Key Words: Fibrinolysis, Clotting time, Plasminogen, Whole
body irradiation

To study the effects of irradiation on blood coagulation and fibrinolysis, rabbits were irradiated with ^{60}Co γ -rays (whole-body: 0, 100, 400, 800, 1200 rads).

Clotting time, activity of plasmin and plasminogen, and fibrinogen contents of irradiated rabbit plasma were measured at 4 days before, immediately after, and at 1, 3, 7, 10, and 14 days after irradiation.

Both clotting times obtained by addition of (kaolin+phospholipid) which expressed effects on the total intrinsic coagulation system, and by addition of (Ca^{2+}) which expressed effects on the total extrinsic coagulation system, were prolonged with small dose irradiation (100 rads) immediately and 3 days after irradiation. However, with high dose irradiation (400–1200 rads), these clotting times were prolonged 1 day after irradiation. The times of manifestation of irradiation effects on clotting time were different in small and high dose irradiation.

Plasmin activity was decreased immediately, 1 day after and recovered 3 days after irradiation. Plasminogen activity was markedly increased in 800 and 1200 rads irradiated groups from 3 days after irradiation. Conversion of plasminogen into plasmin was impaired by irradiation.

Fibrinogen contents increased rapidly in all irradiated rabbits except for 100 rads from 1 day after irradiation.

These results revealed decreased coagulation and fibrinolysis activities in rabbit blood, irradiation injury of both coagulation and fibrinolysis activation systems, and accumulation of the precursors of fibrin and plasmin (i.e., fibrinogen and plasminogen).

結 言

放射線照射による血液凝固・線溶系への影響を検討した報告¹⁾²⁾は比較的少なく、その報告も凝固時間が延長³⁾⁴⁾するもの、短縮⁵⁾するものと種々である。また、Fig. 1に示した系に従って、放射線

による凝固・線溶系の変化を総合的に解析した報告は非常に少い。

血液凝固の開始は Fig. 1に示した如く、固相による XII 因子の活性化（内因系活性化）⁶⁾⁷⁾と組織 Thromboplastin による VII 因子の活性化（外因

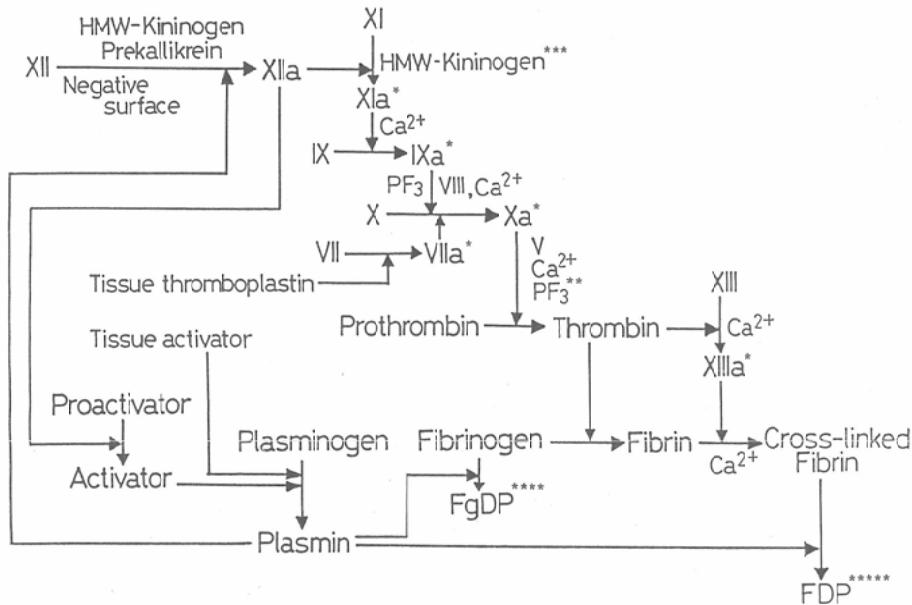


Fig. 1 Blood coagulation and fibrinolytic system.

* XIIIa, XIIa, XIa, Xa, VIIa---active form of XIII, XII, XI, IX, X, VII, ** PF₃---platelet factor 3, *** HMW-Kininogen---High Molecular Weight-Kininogen, **** FgDP---Fibrinogen Degradation Products, ***** FDP---Fibrin Degradation Products

系活性化)^{9,10})により始まる。そして線溶系も凝固系と同様、活性 XII 因子 (XIIa) (内因系活性化)^{10,11})および組織 Plasminogen activator (外因系活性化)¹²)によって活性化される。さらに Plasmin は Positive feed back¹²)により XII 因子を活性化するので、凝固・線溶系は更に活性化される (Fig. 1)。生体においては、このように凝固・線溶系は相互作用を及ぼしあいながら均衡を保持している。よって放射線照射後の凝固異常についても凝固系のみならず線溶系の影響をも同時に考慮する必要があると考えた。

今回、我々は放射線が血液凝固・線溶系に及ぼす影響を調査するため、家兎に⁶⁰Co γ 線を全身一時照射し、凝固時間、Fibrinogen 量および線溶酵素 Plasmin, Plasminogen 活性を蛍光基質を用いて、線量別および経時的に測定した。このうち凝固時間については、内因性凝固全体の影響を調査するため (カオリン+リン脂質) 添加凝固時間を、外因系凝固全体の影響を調査するため (Ca²⁺) 添加凝固時間を測定し、全身照射家兎血中における

凝固・線溶系の動態を調査した。

実験材料および実験方法

1. 実験動物

雄家兎 (体重2.5~3kg) に⁶⁰Co γ 線を各々 0, 100, 400, 800, 1,200rad 全身一時照射した。対照 (0rad) は照射以外は照射群と全く同様の操作 (照射室への運搬など) を行なった。照射実験は100, 400, 800, 1,200rad の各群とも 9 回行なった (家兎45羽使用)。なお、800, 1,200rad 照射で照射直後 2 羽が死亡したが、これらは実験成績から除いた。

2. 放射線照射

家兎を固定箱に入れ無麻酔下で、コバルト治療装置 (RTGS-2DM 型) にて左右対向二門法で照射した。一方向からは所要線量の半量を照射し、合計して mid line dose で表わした。(field size: 30×15cm, SCD: 80cm, depth: 6cm, dose rate: 40.79rad/min)

3. 凝固時間測定法

採血は、照射 4 日前、照射直後、1, 3, 7,

10, 14日後に行なった。耳静脈より3.8%クエン酸ナトリウム1:血液9の割合で血液を採取し, 3,000rpm, 10°Cで10分間遠心して得た血漿を使用まで氷水中に浸漬し以下の実験に供した。なお, すべての実験は固相表面でのXII因子の活性化を防止するため, プラスチック製, またはシリコナイズした器具を使用した。

a. カオリン+リン脂質添加凝固時間 [(K+PL)] CT¹⁴⁾

リン脂質溶液の原液は, リン脂質(大豆リン脂質, Centrelex P) 0.2g, メタノール0.5ml, 0.01M Tris-HCl 0.15M NaCl pH 7.4 buffer 9.5mlの混液をポリトロン(キネマチカ社製)でホモゲナイズして作成し, 分注して凍結保存(-20°C)しておく, 使用時は, 0.02M Tris-HCl 0.9% NaCl pH 8.0 bufferで10倍希釈してリン脂質溶液とした。カオリン+リン脂質溶液は, このリン脂質溶液1mlにカオリン(acid washed, Fisher Scientific Company) 10mgを加えてよく混和して使用した。

(K+PL)CT測定に対して, カオリン+リン脂質溶液と家兎血漿の混液中で凝固因子が最大に活性化される最適反応時間を求めるために, Preincubation時間を検討した。家兎血漿0.1mlに37°Cに加温したカオリン+リン脂質溶液0.1mlを加え, 37°Cで0, 2, 4, 6, 8, 10, 14, 23, 30分Incubation後, 37°Cに加温した0.025M塩化カルシウム0.1mlを加えFibrometer (Becton Dickinson and Company)で凝固時間を測定した。結果はFig. 2に示した如く, 2分から急激に凝固時間は短縮しはじめ, 14分で最大に活性化され, その後は僅に延長を示した。よって(K+PL)CT測定に対するPreincubation時間を14分とし, 以後の実験を行なった。

b. カルシウム添加凝固時間 [(Ca²⁺) CT]

[K+PL]CTと同様にして最適Preincubation時間を検討したところ2分であった。よって(Ca²⁺)CT測定は, 家兎血漿0.1mlに37°Cに加温した生理食塩水(生食)0.1mlを加え, 2分間Preincubation後37°Cに加温した0.025M塩化カルシウム0.1mlを加え凝固時間をFibrometerで

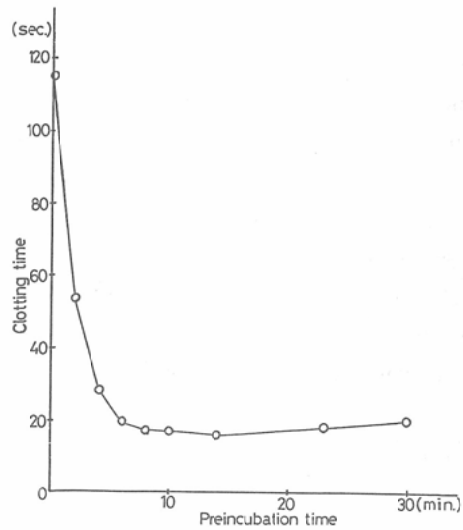


Fig. 2 Effect of preincubation time on clotting time by addition of the mixture of kaolin and phospholipid

測定した。

4. 蛍光基質を用いた酵素活性測定法¹⁵⁾

PlasminおよびPlasminogen (Plg.)の両活性測定に対する蛍光基質としてter-butoxycarbonyl-Glu-Lys-Lys-7-amino-4-methylcoumarinamide(蛋白質研究奨励会)を使用した。

a. Plasmin活性測定

家兎血漿40 μ lに37°Cに加温した基質液(0.1mM/0.05M Tris-HCl pH 8.0 buffer) 1mlを加え37°Cで10分間Incubation後, 17%酢酸2mlを加えて反応を停止させる。遊離したAMC(amino-methylcoumarin)を蛍光光度計(島津製作所, RF-501)を用いて, Excitation 380nm, Emission 460nmで測定する。氷水中に浸漬した基質液1mlに家兎血漿を加え直ちに17%酢酸2mlを加えて測定した値をBlankとし, 各測定値からBlankを差し引いた。

b. Plg.活性測定

生食にて10倍希釈した家兎血漿100 μ lにUrokinase(ミドリ十字)1,000単位/ml生食, 100 μ lを加え, 37°Cで10分間Incubation後その60 μ lに37°Cに加温した基質液(0.1mM/0.05M Tris-HCl pH 8.0 buffer) 1mlを加え37°Cで10分間Incubation後, 17%酢酸2mlを加え反応を停止させる。

Blank としては、10倍希釈血漿の代わりに生食100 μ lを用いて同様に操作し、各測定値からBlankを差し引いた。この測定法においてはPlasmin活性をも含まれるが、上記のPlasmin活性から算出すると無視し得る値(1/1000以下)であった。

実験成績は家兎血漿100 μ l当りの測定値に換算し、活性単位は、1単位=10⁻⁷M AMC/10分としてArbitrary単位で表記した。

5. Fibrinogen (Fibg.) 量測定¹⁶⁾

クロジンの操作に従い、家兎血漿0.2ml、0.4%塩化カルシウム0.2ml、トロンビン(持田製

薬)50単位/ml生食0.1mlを混和し、37°Cで約1時間Incubationする。できた凝塊を濾紙上に置き他の蛋白を濾紙に吸収させた後、凝塊を純水で2~3回洗浄する。これに水酸化ナトリウム(0.1g/ml)を0.2ml加え5分間煮沸後、純水約5ml、フェノール試薬(第一化学)1mlを加え、純水にて総量10mlとする。次に炭酸ナトリウム(0.2g/ml)3mlを加えよく混和し、15~30分室温放置後650nmでの吸光度を測定した。この値をクロジンの検量線よりFibg.量に換算して表示した。

なお、各実験において経時変化(Time)、照射線量(Irradiation doses)、サンプル数(N)、平均

Table 1 (Kaolin + Phospholipid) clotting time of irradiated rabbit plasma

Times	Irradiation doses	Sample N	\bar{X} (Sec.)	S	P<
Before	0	9	22.09	2.03	
	100	9	22.53	2.08	/
	400	9	23.52	3.33	/
	800	8	22.98	3.93	/
	1200	8	23.18	1.69	/
Immediately	0	9	21.92	1.20	
	100	9	27.92	2.81	0.005
	400	9	23.92	2.08	/
	800	7	23.03	3.39	/
	1200	7	22.64	3.01	/
1 day after	0	9	22.36	3.09	
	100	9	23.47	3.00	/
	400	8	27.99	3.13	0.005
	800	8	29.91	4.49	0.005
	1200	8	29.24	9.34	(0.10)
3 days after	0	9	21.24	2.02	
	100	9	25.08	2.22	0.005
	400	9	24.59	4.30	/
	800	8	28.24	3.87	0.005
	1200	8	24.80	4.05	/
7 days after	0	9	22.80	2.22	
	100	9	25.13	3.25	/
	400	9	23.60	2.78	/
	800	8	25.61	5.21	/
	1200	6	23.57	5.71	/
10 days after	0	9	22.47	2.91	
	100	9	24.69	2.66	/
	400	9	23.52	2.75	/
	800	6	24.63	3.39	/
	1200	4	24.20	4.00	/
14 days after	0	9	22.26	2.69	
	100	7	23.39	2.68	/
	400	9	23.98	3.09	/
	800	7	22.30	3.82	/

値 (\bar{X}), 標準偏差 (S), 有意差検定 ($P <$) を表 (Table 1~5) にまとめた。これらの結果を理解し易くする為に, Fig. 3~7 では各群で照射前の値に対する増減を求め, さらに対照群 (0 rad) の変化をそれぞれ 0 としてこれに対する増減で表わした。すなわち, 図の縦軸の指標 = [照射群の照射後の値 - 照射前の値] - [非照射対照群の操作後の値 - 操作前の値] (測定時期によりかなり変動している ← 表より) の平均値で示した (Fig. 3~7)。

実験結果

1. 実験動物の生存期間

^{60}Co γ 線全身一時照射後の家兎の生存期間は,

1,200rad 照射群において 8 例中 14 日以上 1 例, 10 日間 3 例, 7 日間 2 例, 3 日間 2 例であり, 800rad では 8 例中 10 日間 1 例の他はすべて 14 日以上生存した。また 1,200rad 照射においては全例に食欲減退が認められた。

2. 凝固時間

a. (K+PL) CT

照射家兎血漿の (K+PL) CT の経時変化を Table 1 および Fig. 3 に示した。なお, 縦軸 (Fig. 4 も同様) は, 凝固時間の変化量を示している。100 rad 照射群では照射直後から凝固時間は延長し, 照射 1 日後に一旦回復し再び 3 日後に延長し, そ

Table 2 (Ca^{2+}) clotting time of irradiated rabbit plasma

Times	Irradiation doses	Sample N	\bar{X} (Sec.)	S	P<
Before	0	9	108.34	26.83	
	100	9	103.13	20.86	/
	400	9	118.61	39.59	/
	800	8	120.30	35.79	/
	1200	8	145.48	43.31	/
Immediately	0	9	123.47	29.82	
	100	8	143.06	27.10	(0.25)
	400	9	115.38	27.41	/
	800	8	112.30	32.04	/
	1200	8	128.24	36.33	/
1 day after	0	9	126.08	23.71	
	100	9	117.86	31.27	/
	400	7	179.84	34.92	0.005
	800	6	205.98	31.15	0.005
	1200	8	180.43	39.61	0.01
3 days after	0	9	105.97	16.76	
	100	8	146.44	24.19	0.005
	400	9	154.86	37.29	0.005
	800	8	199.43	45.65	0.005
	1200	8	171.05	44.49	0.005
7 days after	0	9	114.74	20.26	
	100	7	129.46	26.21	/
	400	9	168.74	35.89	0.005
	800	8	225.13	56.74	0.005
	1200	6	250.55	103.46	0.005
10 days after	0	9	114.24	24.85	
	100	9	139.18	33.30	/
	400	9	158.97	57.03	/
	800	8	219.44	100.58	0.025
	1200	4	252.43	113.72	0.01
14 days after	0	9	116.80	22.99	
	100	7	153.50	30.69	0.025
	400	9	148.69	45.43	/
	800	7	200.66	58.21	0.005

Table 3 Plasmin activity of irradiated rabbit plasma

Times	Irradiation doses	Sample N	\bar{X} (Arbitrary Units)	S	P<
Before	0	9	0.484	0.178	
	100	9	0.487	0.217	/
	400	9	0.365	0.144	/
	800	8	0.410	0.204	/
	1200	8	0.424	0.143	/
Immediately	0	9	0.634	0.319	
	100	7	0.445	0.194	/
	400	9	0.323	0.144	0.025
	800	8	0.257	0.119	0.01
	1200	8	0.390	0.192	/
1 day after	0	9	0.483	0.272	
	100	9	0.582	0.475	/
	400	9	0.223	0.100	0.025
	800	8	0.246	0.117	0.05
	1200	8	0.170	0.162	0.025
3 days after	0	9	0.314	0.138	
	100	7	0.344	0.188	/
	400	9	0.209	0.251	/
	800	8	0.281	0.182	/
	1200	8	0.234	0.093	/
7 days after	0	9	0.345	0.149	
	100	9	0.361	0.186	/
	400	9	0.224	0.115	/
	800	8	0.269	0.160	/
	1200	8	0.144	0.057	0.025
10 days after	0	9	0.357	0.178	
	100	9	0.310	0.134	/
	400	7	0.229	0.060	/
	800	8	0.334	0.258	/
	1200	4	0.131	0.033	0.05
14 days after	0	9	0.259	0.191	
	100	8	0.318	0.174	/
	400	9	0.242	0.110	/
	800	7	0.410	0.294	/

の後徐々に回復する二峰性のグラフを示す。400, 800, 1,200rad照射では照射直後は変化なく1日後に急激に延長し、3~7日後回復しはじめた。低線量照射(100rad)では照射直後から凝固時間が延長するのに対し、比較的高線量照射(400~1,200rad)では照射1日後から延長を示し、低線量照射と高線量照射で放射線による影響の出現に差がみられた。

凝固時間が最大の変化を示す照射1日後についてみると、凝固時間の変化量は800radまで線量にほぼ比例して延長した(Fig. 3挿入図)。

b. (Ca²⁺) CT

カルシウムの添加により、100rad照射家兎血漿は(K+PL)CTと同様、照射直後および3日後凝固時間は延長するが、400~1,200rad照射では照射1日後より延長を示した。400rad照射では7日後まで延長がみられるのに対し、800, 1,200radではその後も延長を続けた。凝固時間の延長は、100, 400rad照射では40~50秒、800, 1,200rad照射では約100秒であった。また(K+PL)CTの結果と同様に低線量(100rad)照射と400rad以上の高線量照射では照射後の経時変化が異なっていた。し

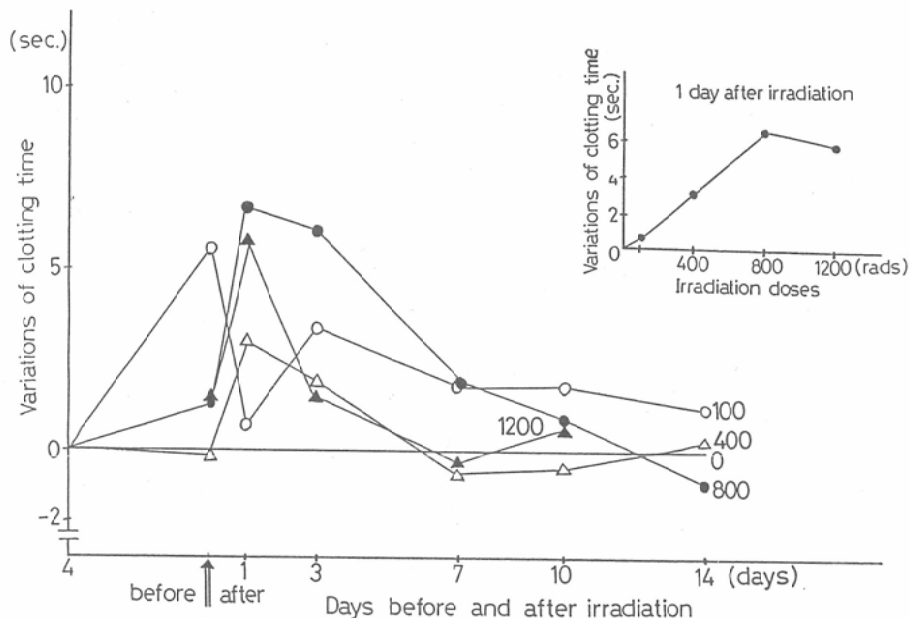


Fig. 3 Clotting time of irradiated rabbit plasma by addition of the mixture of kaolin and phospholipid

○—○ 100rads irradiation, △—△ 400rads irradiation, ●—● 800rads irradiation, ▲—▲ 1200rads irradiation

The insert shows the relationship between variations of the clotting time 1 day after irradiation and irradiation doses.

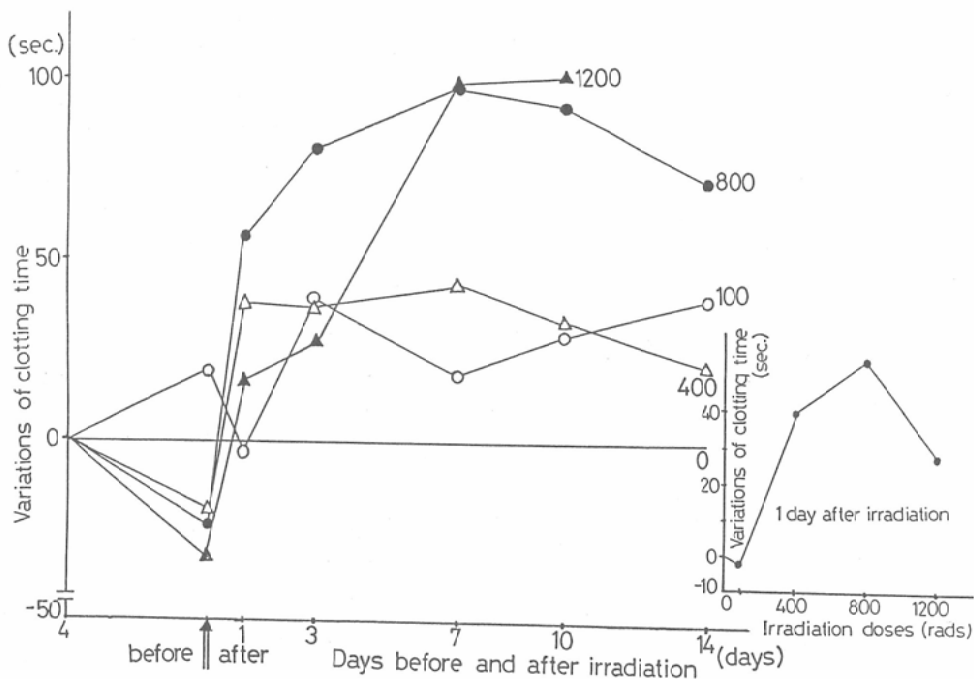


Fig. 4 Clotting time of irradiated rabbit plasma by addition of calcium

The footnotes are the same as Fig. 3.

Table 4 Plasminogen activity of irradiated rabbit plasma

Times	Irradiation doses	sample N	\bar{X} (Arbitrary Units)	S	P<
Before	0	9	5586.42	2361.45	
	100	9	5381.48	1824.85	/
	400	9	5527.16	2033.59	/
	800	8	5779.17	2145.69	/
	1200	8	5409.72	1256.02	/
Immediately	0	9	5411.11	2535.93	
	100	9	5038.27	1523.01	/
	400	9	5588.89	2858.22	/
	800	8	5498.61	1948.02	/
	1200	8	5375.00	1475.48	/
1 day after	0	9	5955.55	2597.58	
	100	9	5598.77	1810.15	/
	400	9	6661.73	2746.44	/
	800	8	5833.33	1773.98	/
	1200	8	5347.22	1773.10	/
3 days after	0	9	5587.90	1967.21	
	100	7	6044.44	427.62	/
	400	9	7919.75	3009.65	/
	800	8	7619.44	1712.66	0.05
	1200	6	8742.59	1832.93	0.01
7 days after	0	9	5091.36	1950.07	
	100	9	5150.62	1149.83	/
	400	9	7334.57	6323.45	/
	800	8	7220.83	2391.59	/
	1200	4	10363.89	3023.16	0.005
10 days after	0	9	5228.40	1144.55	
	100	9	5450.62	1474.04	/
	400	9	6898.76	4955.82	/
	800	8	6129.17	1492.86	/
	1200	4	9750.00	1832.60	0.005
14 days after	0	9	5206.17	2275.41	
	100	9	6016.05	1576.24	/
	400	9	5591.36	3031.56	/
	800	7	10085.72	6058.90	/

かし、(K+PL) CTの結果に比べ、(Ca²⁺) CTでは凝固時間の回復は遅いか、または回復がみられない。

また照射1日後の凝固時間の変化と線量の関係は、800radで最大変化を示した。

3. 蛍光基質による酵素活性

a. Plasmin 活性

400, 800rad 照射では照射直後より急激に Plasmin 活性は低下し、3日後活性は回復を示した。その後、Table 3より有意差は認められないが Fig. 5より、活性は14日後増加する傾向があるよ

うに思われた。100rad 照射においては、Table 3より有意差は認められなかったが、Fig. 5より、照射直後活性は低下し、3～7日後回復するという400, 800rad 照射の結果と類似した傾向を示すように思われた。

1,200rad 照射の場合は照射1日後低下した活性は、3日後回復するが再び7日後から活性は低下しはじめた、Fig. 5のグラフによる全体的傾向としては、照射直後、1日後と低下した Plasmin 活性は、ほぼ3日後回復を示すが、1,200rad 照射ではその後再び活性は低下する傾向があるように

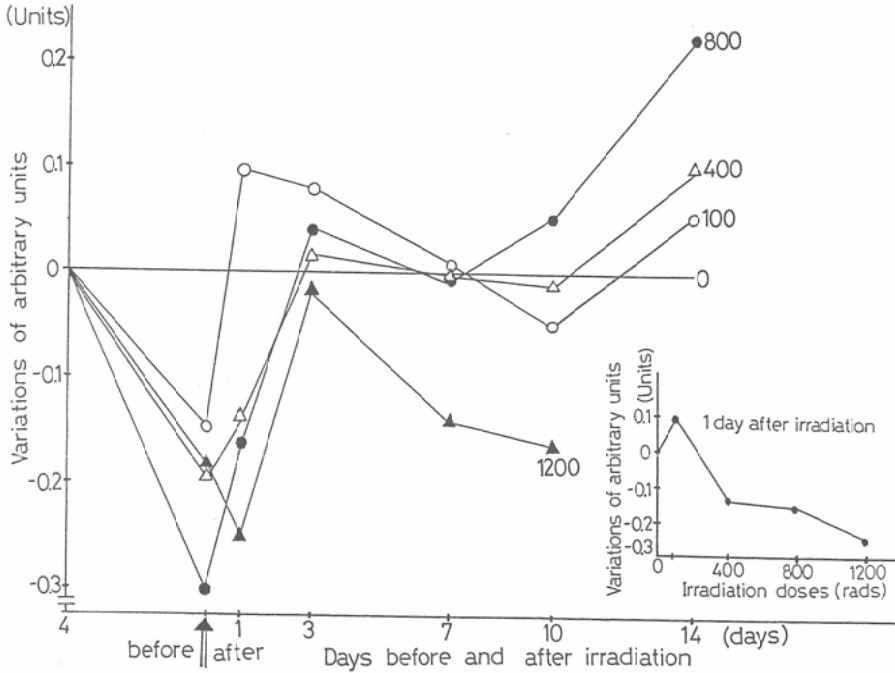


Fig. 5 Plasmin activity of irradiated rabbit plasma
 ○—○ 100rads irradiation, △—△ 400rads irradiation, ●—● 800rads irradiation, ▲—▲ 1200rads irradiation
 The insert shows the relationship between variations of activity of plasmin 1 day after irradiation and irradiation doses.

思われた。

照射1日後の Plasmin 活性の変化と線量の関係は、100rad 照射でやや増加する以外は、1,200rad まで線量に反比例して活性は低下した。

b. Plg. 活性

照射全群とも照射直後、1日後と著明な変化は認められない。100rad 照射ではその後も著変は認められないが、400rad 照射においては(有意差は認められなかったが) Fig. 6 のグラフで3日後より活性は増加傾向を示すように思われた。800, 1,200rad 照射では、3日後活性は増加し、800rad 照射では7日後より低下しはじめるが、1,200rad 照射では7日後まで急激な活性増加が認められた。全体の傾向を Fig. 6 で示すと、観察期間中において Plg. 活性の低下は見られず、照射3日後より活性増加傾向があるように思われ、特に1,200 rad 照射群においては著明な増加が認められた。

照射1日後の活性変化と線量との関係は400

rad で活性ピークを示した。

4. Fibg. 量

放射線照射による家兎血中 Fibg. 量の変化を Thrombin によって凝塊を形成し得る量として測定した。その結果、照射直後には著変はなく、100 rad 照射を除く照射群では照射1日後に Fibg. 量の急激な増加を示した。しかし、全体的な傾向を Fig. 7 で示すと、100rad 照射においても(有意差は認められないが) 増加傾向があるように思われた。400, 800rad 照射では、徐々に回復傾向を示したが、1,200rad 照射では更に増加を続け7日後には正常値の約3倍にまで増加した。

照射1日後の Fibg. の変化量と線量との関係は400rad まで増加しプラトーに達した。

考 察

近年、血液凝固の活性化機構については、凝固の引き金である XII 因子を介しての接触因子系の活性化に Fletcher 因子 (Prekallikrein)¹⁷⁾ およ

Table 5 Fibrinogen contents of irradiated rabbit plasma

Times	Irradiation doses	Sample N	\bar{X} (mg/dl)	S	P<
Before	0	9	313.53	70.00	
	100	9	270.25	54.55	/
	400	9	280.90	62.69	/
	800	8	325.34	88.45	/
	1200	8	363.13	105.43	/
Immediately	0	9	299.28	48.85	
	100	9	286.29	49.29	/
	400	7	304.46	70.82	/
	800	8	301.24	63.40	/
	1200	8	321.67	44.55	/
1 day after	0	9	301.91	49.78	
	100	9	318.61	48.49	/
	400	7	509.21	91.29	0.005
	800	6	520.46	60.22	0.005
	1200	8	519.11	73.56	0.005
3 days after	0	9	287.26	44.45	
	100	9	311.72	65.58	/
	400	7	439.89	62.44	0.005
	800	8	474.86	87.51	0.005
	1200	8	657.68	181.51	0.005
7 days after	0	9	280.76	52.10	
	100	9	314.49	60.46	/
	400	7	373.06	62.74	0.01
	800	6	435.44	75.71	0.005
	1200	4	760.48	96.56	0.005
10 days after	0	9	282.83	28.85	
	100	7	304.10	22.17	/
	400	7	335.38	63.91	/
	800	6	365.57	61.73	0.01
	1200	4	692.98	104.13	0.005
14 days after	0	9	271.50	41.23	
	100	7	340.96	86.46	/
	400	9	293.48	69.60	/
	800	7	494.99	150.11	0.005

び Fitzgerald 因子 (HMW-Kininogen)¹⁸⁾ の 2 つの血漿蛋白が関与していることが明らかとなった。このことが新しい凝固・線溶理論の進展の発端となり、内因系活性化機構が詳細に研究され解明されてきている。我々も従来より人血漿の線溶活性化機構を検討しており¹⁹⁾²⁰⁾、特に内因系活性化機構については Dextran Sulfate を用いて人血漿の凝固・線溶・Kinin 系に及ぼす影響²¹⁾を調査した。そこで今回は、このような見解にそって放射線照射による家兎血中の凝固・線溶系の動態の検討を試みた。

(K+PL) CT は家兎血漿をカオリンとリン脂質との混液で活性化した凝固時間であり、XII 因子の活性化から始まる内因系凝固全体に及ぼす影響を示している。生体内では、XII 因子を活性化するカオリンの作用は Collagen などの内皮組織が、そしてリン脂質としては血小板第 3 因子 (PF₃) 及び組織 Thromboplastin が作用している。White 等²²⁾は、放射線照射で減少した血小板 (すなわち PF₃) の代用として大豆リン脂質を用いて、X 線照射犬の全血凝固時間が大豆リン脂質の添加で短縮すると報告している。(K+PL) CT

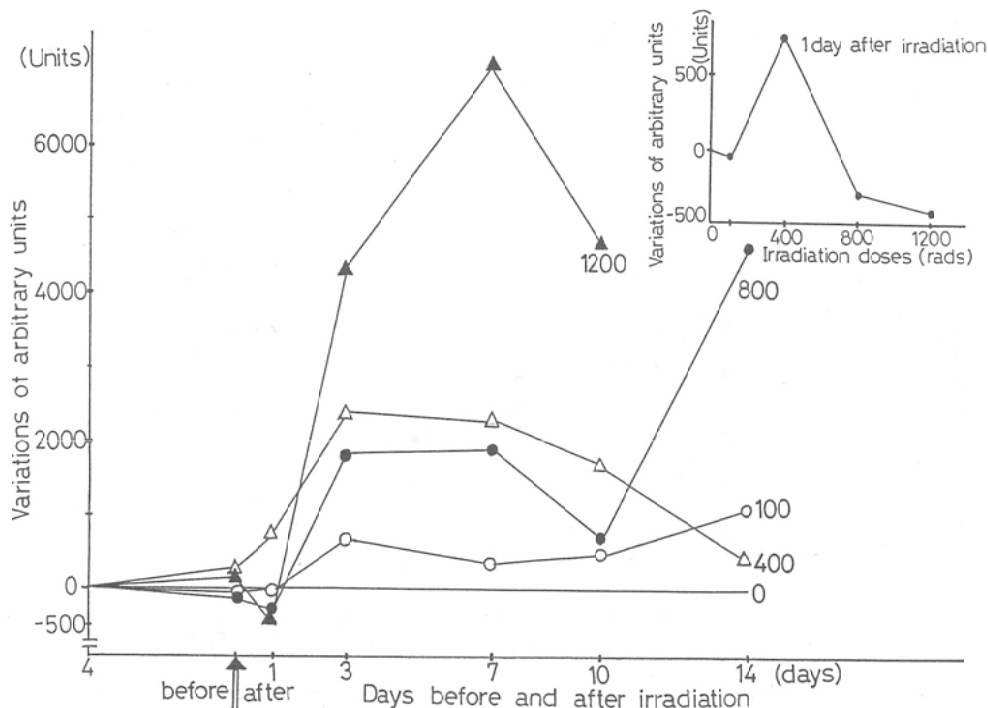


Fig. 6 Plasminogen activity of irradiated rabbit plasma

○—○ 100rads irradiation, △—△ 400rads irradiation, ●—● 800rads irradiation, ▲—▲ 1200rads irradiation

The insert shows the relationship between variations of activity of plasminogen 1 day after irradiation and irradiation doses.

の結果は、照射全群とも凝固時間延長の傾向を示した。低線量照射では照射の影響が直ちに表われ照射直後に凝固時間は延長し、1日後回復し3日後再び延長した。高線量照射では照射1日後急激に延長し、その後回復してゆく。

Ca²⁺は凝固系の必須因子として、また安定化作用として重要な働きをしほとんど全因子に影響を及ぼしている。(Ca²⁺) CT測定に対しては活性化剤は無添加であるので、この結果は主に組織ThromboplastinによるVII因子の活性化から始まる外因系凝固全体に及ぼす影響を示すと思われる。(Ca²⁺) CTにおいても(K+PL) CTと同様凝固時間延長傾向を示し、低線量と高線量で放射線照射による影響の出現に差が認められた。しかし、(K+PL) CTに比し凝固時間延長からの回復は遅く回復しない場合もあり、より強く影響を受けたものと思われる。

外因系凝固系の活性低下は、組織Thromboplastin活性の低下が主因であり、内因系凝固系の活性低下はXII因子の活性低下、Prekallikrein, HMW-Kininogenの減少が主因である。両系の活性低下は、主として両系に共通した因子、Thrombin, Xa活性などの活性低下が原因と思われる。これらのうち、XII因子に対する放射線の影響については、J. Pospíši等²³⁾およびP. Klív等²⁴⁾²⁵⁾がXII因子の活性化剤であるEllagic acidを用い凝固時間の短縮を報告している。Kallikrein-Kinin系についてはP. Poučková等²⁶⁾が照射ラットのKininogen, Prekallikreinレベルの増加を報告している。

(K+PL) CTおよび(Ca²⁺) CTでの低線量照射における照射直後の凝固活性低下は血中凝固因子が受ける照射の直接影響による活性低下であり、3日後の活性低下は照射による肝障害によっ

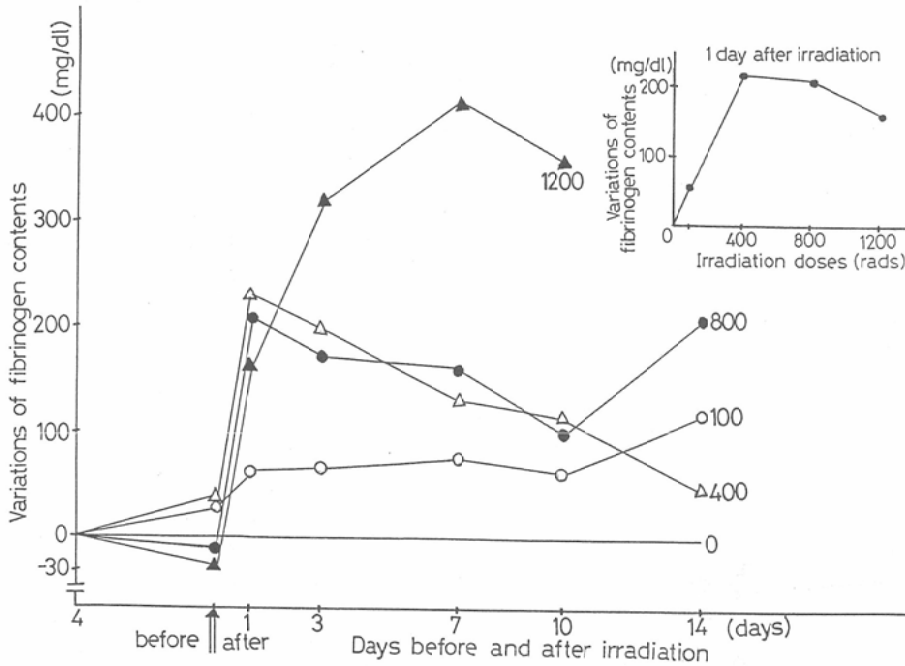


Fig. 7 Fibrinogen contents of irradiated rabbit plasma
 ○—○ 100rads irradiation, △—△ 400rads irradiation, ●—● 800rads irradiation, ▲—▲ 1200rads irradiation
 The insert shows the relationship between variations of fibrinogen contents 1 day after irradiation and irradiation doses.

て生じる間接影響（凝固因子の減少）が原因と思われる。そして高線量照射における照射1日後の活性低下は肝障害によるものと思われる。凝固因子の多く（組織 Thromboplastin, VIII 関連因子以外）は肝臓で合成されることから、放射線照射による肝臓での凝固因子（特に Prothrombin, X）の産生障害が凝固時間の遅れに対する原因の一つと考えられる。

最近開発された蛍光基質¹⁵⁾は従来の合成基質に比し感度も高く特異性の面でも非常に優れている。この蛍光基質を用いて測定した Plasmin 活性は、全体的傾向として (Fig. 5) 照射直後、1日後に最低となり3日後回復する傾向があるように思われた。Plasmin の前駆体である Plg. は全体的傾向として (Fig. 6) 3日後に活性が増加する傾向にあると思われた。これらの結果より Plg. から Plasmin への転換が抑制されているものと考えられた。Plg. は Fig. 1 に示した如く、XIIa によ

て活性化された Activator および組織 Plg. Activator によって活性化される。そして多くの臓器で組織 Plg. Activator は検出²⁷⁾²⁸⁾されている。放射線による組織 Plg. Activator の影響については、G.B. Gerber 等^{29)~31)}ラットの片肺へ1KR 又は3KR 照射することにより線溶活性は減少し、650RX 線全身照射ラット肺の線溶活性は増加すると報告している。L. Svanberg. 等³²⁾は放射線照射後の患者の血管壁 biopsy 標本の線溶活性を組織化学的な方法で測定し、対照に比し非常に低下 ($p < 0.001$) すると報告し、これは組織 Plg. Activator が合成される endothelium の細胞が放射線により直接障害されるためであると述べている。また B. Åsted 等³³⁾は照射ラットの血管壁の線溶活性は非照射ラットのそれに比し非常に減少すると報告し、Grodzka³⁴⁾は照射ラットの Euglobulin lysis time が延長すると報告している。これらの報告は我々の Plg. 活性の増加、Plasmin 活

性の低下から推察される Plg. Activator 活性の低下を支持するものと考えられる。

放射線照射による血中 Fibg. 量の変化に関しては、現在までの報告では増加³⁵⁾、減少³⁶⁾と一定の結論に達していないが、我々の結果では著明な増加を示した。Kamat 等³⁷⁾は In vitro における Fibg. への放射線照射により、Fibg. 中の Cystein, Methionine 残基が Cystic acid, Methionine sulfone に酸化され、凝固時間は延長し、凝固性が減少すると報告している。しかし、これは500KR と生体では照射が不可能な高線量による影響である。また我々は Clot を形成し得る量として Fibg. 量を測定しているのでこのことが上述の凝固時間延長の原因とは考えがたい。このような血中 Fibg. レベルの増加の原因としては、Fibg. から Fibrin への転換抑制、Fibg. の合成の増加および分解の低下など Fibg. 代謝に対する影響が考えられる。John 等³⁸⁾は X 線照射ラットの Fibg. 合成速度が増加することを報告している。また同時に行なった我々の Plasmin 活性測定の結果より Fibg. 分解系の低下も考えられる。人においては、Fibg. 増多症では血中 Fibg. レベルが700~800mg/dl (増加量としては300~400mg/dl) に達すると40%が死亡する³⁹⁾など、このような Fibg. の著明な増加は生体に重大な影響を与えると思われる。

以上の如く、家兎の⁶⁰Co γ 線全身照射は、凝固時間の延長、Plasmin 活性の低下、Plg. 活性と Fibg. 量との増加をきたし、これは凝固・線溶系両者の活性低下を示している。このうちで凝固系は、内・外因系がともに抑制されており、これは照射により、主に肝臓での凝固因子の産生が障害されるためと思われた。また線溶系においては、Plg. の増加、Plasmin 活性の低下より、Plg. から Plasmin への転換が障害されているものと思われた。

凝固系の最終反応物 Fibrin の前駆体である Fibg. と、線溶系酵素 Plasmin の前駆物質である Plg. とは、類似した増加パターンを示し、凝固・線溶系ともに前駆物質の段階で蓄積されていると考えられ、これは凝固・線溶系ともに直ちに活性化され得る状態にあることを示しており、一旦活性化された場合、凝固・線溶系ともに非常に高い

活性を示す危険性を示唆していると考えられる。

本実験に御協力いただいた本学附属病院加藤秀起診療放射線技師主任、石塚晃診療放射線技師をはじめ中央放射線部の方々に感謝致します。

文 献

- 1) Bertrand, H.: Effects of ionizing radiations on blood coagulation and fibrinolysis. Experimental study in the rat. *Hemostase*, 6: 167—184, 1966
- 2) Denicola, P., Lüscher, E.F., Gibelli, A., Soardi, F. and Cipolli, P.L.: Effects of platelet extracts alone and in combination with antifibrinolytic agents on bleeding time and intensity, on prothrombin consumption, and fibrinolysis in irradiated rats. *Coagulation*, 1: 141—148, 1968
- 3) 内藤博行: 凝血学的立場より見たるレ線障害についての実験的研究. *日本医放会誌*, 19: 2234—2265, 1960
- 4) Jackson, D.P., Cronkite, E.P., Leroy, G.V. and Helpert, B.: Further studies on the nature of the hemorrhagic state in radiation injury. *J. Lab. Clin. Med.*, 39: 449—461, 1952
- 5) Ponomarev, J.T.: Zur Frage der Bedeutung von Störungen des Koagulations- und Fibrinolyse systems des Blutes in der Pathogenese der Blutungsbereitschaft bei der akuten Strahlenkrankheit. *Radiol. Radiother*, 7: 47—54, 1966
- 6) Nossel, H.L.: The contact system. (In) Biggs, R., ed.: *Human blood coagulation, haemostasis and thrombosis*. 81—142, 1976, Blackwell Scientific Pub., London
- 7) Revak, S.D., Cochrane, C.G. and Griffin, J.H.: The Binding and cleavage characteristics of human Hageman factor during contact activation. *J. Clin. Invest.*, 59: 1167—1175, 1977
- 8) Radcliffe, R. and Nemerson, Y.: Mechanism of activation of bovine factor VII, products of cleavage by factor Xa. *J. Biol. Chem.*, 251: 4797—4802, 1976
- 9) Jesty, J. and Nemerson, Y.: The tissue pathway of coagulation. (In) Ogston, D. and Bennett, B., ed.: *Haemostasis, biochemistry, physiology and pathology*. 91-104, 1977, John Wiley and Sons, New York, London, Sydney and Toronto
- 10) Laake, K. and Venneröd, A.M.: Factor XIII-induced fibrinolysis. Studies on separation of prekallikrein, plasminogen proactivator, and factor. XI. in human plasma. *Thrombos. Res.*,

- 4: 285—302, 1974
- 11) Bouma, B.N. and Griffin, J.H.: Deficiency of factor XII. dependent plasminogen proactivator in prekallikrein-deficient plasma. *J. Lab. Clin. Med.*, 91: 148—155, 1978
 - 12) Astrup, T. and Permin, P.M.: Fibrinolysis in animal organism. *Nature*, 159: 681—682, 1947
 - 13) Cochrane, C.G., Revak, S.D. and Wuepper, K.D. Activation of Hageman factor in solid and fluid phase. A clinical role of kallikrein. *J. Exp. Med.*, 138: 1564—1583, 1973
 - 14) 鈴木友二, 加藤久雄, 堀内邦祐: ハーゲマン因子欠血漿を用いる方法. 生化学実験講座5. 酵素研究法上, 日本生化学編, 東京化学同人, 88—99, 1975
 - 15) Kato, H., Adachi, N., Ohno, Y., Iwanaga, S., Takada, K. and Sakakibara, S. New Fluorogenic peptide substrates for plasmin. *J. Biochem.*, 88: 183—190, 1980
 - 16) 松岡松三: Tyrosine法による血漿フィブリノーゲンの定量法. 臨床検査, 2: 61, 1958
 - 17) Wuepper, K.D.: Prekallikrein deficiency in human plasma. *J. Exp. Med.*, 138: 1345—1355, 1973
 - 18) Griffin, J.H. and Cochrane, C.G.: Mechanisms for the involvement of high molecular weight kindinogen in surface-dependent reaction of Hageman factor. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 73: 2554—2558, 1976
 - 19) Itoh, Y.H.: Purification and properties of proactivator (proenzyme of plasminogen activator) from human serum. *Nagoya. Med. J.*, 23: 122—147, 1978
 - 20) Itoh, Y.H., Sugie, I., Kato, H. and Iwanaga, S.: Streptokinase-dependent potentiating factor (SK-potentiator) for plasminogen activation from human plasma. Its identification as a fibrinogen degradation product. *J. Biochem.*, 92: 1129—1140, 1982
 - 21) 伊藤要子, 綾川良雄, 宮田伸樹, 相江 勇: Dextran Sulfate の凝固・線溶・Kinin 系に及ぼす影響について. 最新医学, 36: 571—577, 1981
 - 22) White, S.G., Lagen, J.B., Aggeler, P.M. and Geyer, R.P.: Effect of soybean phosphatide on blood coagulation defect following total body X-irradiation in the dog. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 83: 384—387, 1953
 - 23) Pospíšil, J., Skala, E. and Dienstbier, Z.: The influencing of post-traumatic haemorrhage by ellagic acid in rats whole-body irradiation with 600 R. *Strahlentherapie*, 138: 607—610, 1969
 - 24) Klír, P., Skala, E., Pospíšil, J. and Dienstbier, Z.: Altration of the post-irradiation disturbance of haemostasis by means of ellagic acid. *Strahlentherapie*, 144: 234—241, 1972
 - 25) Klír, P., Pospíšil, J., Skala, E., Dienstbier, Z. and Tachečl, O.: Factor XII and blood platelets after whole-body irradiation. *Strahlentherapie*, 146: 713—717, 1973
 - 26) Poučková, P., Pospíšil, J. and Dienstbier, Z.: Changes of the kallikrein-kinin system in the course of the postirradiation syndrome in rats and guinea pigs. *Czechoslovak Medicine*, 1: 238—246, 1978
 - 27) Astrup, T.: Fibrinolysis in the organism. *Blood*, 11: 781—806, 1956
 - 28) Svanberg, L., Limell, F., Pandolfi, M. and Åstedt, B.: Plasminogen activators in ovarian tumors. *Acta. Pathol. Microbiol. Scan. Sect. A.*, 83: 193—198, 1975
 - 29) Gerber, G.B., Danciewicz, A.M., Bessemans, B. and Casale, G.: Biochemistry of late effects in rat lung after hemithoracic irradiation. *Acta. Radiol. Therapy. Physiol. Biol.*, 16: 447—455, 1977
 - 30) Danciewicz, A.M., Mazanowska, A. and Gerber, G.B.: Late biochemical changes in the rat lung after hemithoracic irradiation. *Radi. Res.*, 67: 482—490, 1976
 - 31) Danciewicz, A.M. and Kubicka, T.: Late biochemical changes in the rat lung after whole body irradiation. *Nukleonika*, 21: 1029—1035, 1976
 - 32) Svanberg, L., Åstedt, B. and Kullander, S.: On radiation decreased fibrinolytic activity of vessel walls. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.*, 55: 49—51, 1976
 - 33) Åstedt, B., Bergentz, S.-E. and Svanberg, L.: Effect of irradiation on the plasminogen activator content in rat vessels. *Experimentia*, 30: 1466, 1974
 - 34) Kočmierska-Grodzka, D.: Studies on kinin-forming activity in post-irradiation sickness. Part 1: Blood and tissues enzymatic activity. *Radiobiol. Radiother.*, 13: 443—451, 1972
 - 35) Cronkite, E.P., Halpern, B.H., Jackson, D.P. and Leroy, G.V.: A study of the hemorrhagic state in dogs after a lethal dose of two million volt X-rays. *J. Lab. Clin. Med.*, 36: 814, 1950
 - 36) 吉田静夫: X線照射の家兎凝血因子に及ぼす影響について. 金沢医理学叢書, 55: 127—151, 1954
 - 37) Kamat, H.N. and Nadkarni, G.B.: Correlation of structural alterations in bovine fibrinogen and loss of clotting properties after gamma irradiation. *Radiation Res.*, 49: 381

-389, 1972

- 38) John, D.W. and Miller, L.L. : Effect of whole-body X-irradiation of rats on net synthesis of albumin, fibrinogen, α -acid glycoproteins and

α_2 -globulin by the isolated perfused rat liver. J. Biol. Chem., 243: 268-273, 1968

- 39) 山田外春: フィブリノーゲン. 日本臨床, 38: 1199-1208, 1980 (春季増刊)
-