

Title	血液凝固第一相における第IX因子活性化反応に対する辰巳因子の役割について
Author(s)	田中, 健一
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	<a href="http://hdl.handle.net/11094/29480">http://hdl.handle.net/11094/29480</a>
DOI	
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

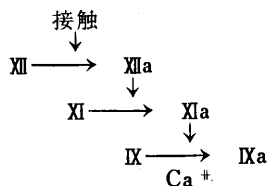
Osaka University

氏名・(本籍)	田 中 健 一 た なか けん いち
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	第 1 2 5 3 号
学位授与の日付	昭 和 4 2 年 6 月 1 2 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 2 項該当
学位論文名	血液凝固第一相における第 IX 因子活性化反応に対する辰巳因子の役割について
論文審査委員	(主査) 教授 陣内伝之助 (副査) 教授 山村 雄一 教授 曲直部寿夫

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### 〔目 的〕

血液凝固過程において第 IX 因子は活性化される。この第 IX 因子活性化反応は血液凝固第 1 相におい



て重要な位置を占めるが、まだ十分解明しつくされていない。

現在の所、左図の如く第 IX 因子は  $\text{Ca}^{++}$  存在下に活性第 XI 因子の酵素的な作用を受けて活性化するものと考えられているが、早田らは彼等の見出しに新しい凝固因子、辰巳因子がこの反応に関与すると主張している。

この研究は辰巳因子がどの様に第 IX 因子の活性化に参与するかを明らかにせんとするものである。

#### 〔方法ならびに成績〕

1) 辰巳因子欠乏血漿・血清は奈良医大吉田教授より、第 XI 因子欠乏血漿は東京医大福武教授より供与を受け、第 IX 因子欠乏血漿はわれわれが 10 数年来経過を追っている患者より得た。

2) (a) 第 IX 因子の活性化は活性第 XI 因子 (XIa) と  $\text{Ca}^{++}$  のみの存在下でおこるか否か (吉田らの主張は正しいか否かの検討)。辰巳因子欠乏血漿に  $\text{CaCl}_2$  を加えてガラス管中で凝固反応を進行させ、経時的に第 IX 因子活性を Rapaport の変法で測定すると、正常血漿に比べ第 IX 因子活性化の明らかな阻害が認められた。この辰巳因子欠乏血漿に第 IX 因子乏血漿を添加すると、その濃度に応じて第 IX 因子活性化の阻害は解除され、正常血漿と同様の第 IX 因子活性化を示すようになる。すなわち第 IX 因子欠乏血漿中に含まれ、辰巳因子欠乏血漿中に欠ける因子が血液凝固過程における第 IX 因子活性化に必要なことがわかる。

(b) 血漿そのままを用いなくて、目標とする凝固因子以外の凝固因子活性を除去した材料についての実験。活性第 XI 因子 (XIa) として Margolis の方法で作った activation product (AP), 辰

已因子 (TF) として第Ⅹ因子欠乏 exhausted plasma (第Ⅹ, Ⅺ因子を除去した血漿), 第Ⅹ因子として辰巳因子欠乏 exhausted plasma を用いた。なお活性第Ⅹ因子 (Ⅹa) は Schiffman らの方法で測定した。ⅩIa, TF, IX, Ca<sup>++</sup> の混液を37°シリコン管で incubate すると充分な Ⅹa が時間的経過に従って産生されるが, TF の存在しない場合には Ⅹa の産生は著明に阻害される。すなわち Ratnoff ら, Schiffman らの主張と異なり, Ⅹの活性化には TF の存在を必要とし, 吉田らの説を確認した。

3) Ⅹの活性化には Ⅹa と TF とが必要であるが, これら2つの因子を Ca<sup>++</sup> 存在下で preincubate してからⅩに加えると, その incubation の時間に従ってⅩの活性化の速度が増大する。すなわちⅩa と TF との間に Ca<sup>++</sup> 存在下におこる新しい反応大存在する可能性を示す。Ca<sup>++</sup> の存在しない系では preincubation によってかかる促進は見られない。

4) 上記の反応は辰巳因子の活性反応ではないかと考え, 著者等の考察した方法 (thromboplastin screening test を応用する方法) によって血清中と血漿中の活性化された辰巳因子の量を比較測定すると血清中の方が血漿中のそれより高く, 凝固過程で辰巳因子は活性化するものと考えられる。

5) 正常血漿に Ca<sup>++</sup> を加えてガラス管中で凝固反応を起こさせ, 経時的に ⅩI, TF, Ⅹ, の活性を調べるとまず第Ⅹ因子が活性化され, ついで辰巳因子の活性化がおこり, それよりずつとおくれて第Ⅹ因子が活性化される。なお, 第Ⅹ因子の活性化しないシリコン試験管では正常血漿に CaCl<sub>2</sub> を添加しても辰巳因子は活性化されない。

6) 3) で述べた如く ⅩIa, TF, Ca<sup>++</sup> の37°Cでの incubation はⅩを活性化する activity の増大をもたらす。この activity の産生される量は, Ca<sup>++</sup> を至適濃度にし, ⅩIa の量を一定にするとき, 反応系に与える TF の量によって規定される。またこの activity の産生される速さは至適 Ca<sup>++</sup> 存在下で TF を一定にするとき, ⅩIa の濃度が至適温度より減少するに従って漸次おそくなる。このことからこの実験条件では TF が基質として ⅩIa が酵素的に働くものと考えられる。すなわち4) で考えたように ⅩIa による TF 活性化反応を想定したい。

7) この TF 活性化反応の初速度 (反応開始15秒間に生成される TFa の量), と ⅩIa 濃度との間には直線的関係がみられ, また反応速度の逆数と TF 濃度の速数との間には直線的関係が得られた。すなわち ⅩIa による辰巳因子活性反応は Michaelis 型の反応と考えられる。

8) ⅩIa, TF, Ca<sup>++</sup> を incubate して得た活性辰巳因子は相当不安定で37°C, 1時間保温で活性の2/3を失う。

9) ⅩIa, TF, Ca<sup>++</sup> の incubation による辰巳因子活性化反応をクエン酸ソーダ添加により時間的に中断して37°C, 4時間保温し, 辰巳因子のすでに活性化している部分を失活せしめ, 残存 TF を新しく ⅩIa, Ca<sup>++</sup> を与えて測定すると, 初めに活性化された TF と残存 TF は相補的な関係になる。このことから活性 TF は TF に由来すると思われる。

10) 6) 冒頭で述べた Ca<sup>++</sup> 存在下にⅩを活性化させる activity すなわち TFa によるⅩの活性化反応を検討した。ⅩIa, TF, Ca<sup>++</sup> の incubation で生成された活性辰巳因子 (TFa) を種々の濃度とし, 第Ⅹ因子を一定量とした反応系, および TFa を一定量とし, 第Ⅹ因子を種々の濃度とした反応系の2系について, それぞれ第Ⅹ因子活性化反応を行ない, 第Ⅹ因子活性を Schiffman らの方法

で測定すると、TFa はこの反応の速度を、第Ⅺ因子は生成される活性第Ⅺ因子の量を規定する。これはⅪa はⅪ 由来するという Nossel の説、またⅪ 活性反応において基質となるものはⅪであるという Ratnoff らおよび Schiffman らの説に一致する。

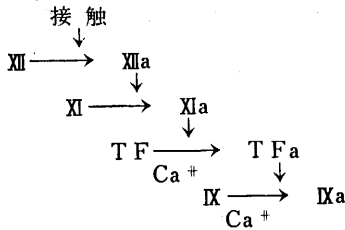
11) 10) で用いた TFa に oxalate を添加してから第Ⅺ因子に作用させても第Ⅺ因子は活性化されない。このことから TFa F a による第Ⅺ因子活性化反応にも  $Ca^{++}$  が必要であると思われる。

「総括」

血液凝固第1相において、第Ⅺ因子が活性化する以前に活性第Ⅺ因子 (Ⅺa), 辰巳因子 (TF)

$Ca^{++}$  の関与する新らしい凝固反応が存在する。

この反応は Ⅺa による TF の活性化反応で、この活性化された辰巳因子 (TFa) が第Ⅺ因子を  $Ca^{++}$  存在下に活性化するものと考えられ左図の如き第Ⅺ因子活性化機序を提唱したい。



#### 論文の審査結果の要旨

本論文は血液凝固第1相における第Ⅺ因子活性反応に及ばず辰巳因子の役割を論じ、辰巳因子が  $Ca^{++}$  存在下に活性第Ⅺ因子により活性化され、活性辰巳因子が  $Ca^{++}$  存在下に第Ⅺ因子を活性化するものと考えられる新知見を得たものである。特に辰巳因子活性化反応は血液凝固機序の上で今まで知られていなかった新しい凝固反応で、本論文は血液凝固学上価値あるものと認められる。