

# Studies on Plasminogen Activator Inhibitor-1 in Plasma in Various Physiological and Pathological Conditions

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/2297/8351">http://hdl.handle.net/2297/8351</a>

## 血漿中プラスミノゲン・アクチベーター・インヒビター-1 の 種々背景因子, 疾患との関連

金沢大学医学部内科学第三講座 (主任: 松田 保教授)

定 梶 裕 司

(平成3年8月16日受付)

血漿中プラスミノゲン・アクチベーター・インヒビター-1 (plasminogen activator inhibitor-1, PAI-1) 抗原量を測定し, 生理的または病的条件下での動態を健常者ならびに各種疾患患者につき解析した. PAI-1 抗原量測定には酵素免疫法を用いたが, PAI 活性値と PAI-1 抗原量とは有意な正相関 ( $r=0.75$ ,  $p<0.001$ ) を示した. 若年健常者 8 人を対象として, 一日 7 回採血を行いその変動をみたところ, 深夜から早朝にかけて高値となり, 夕方に低値をとり, その差は有意 ( $p<0.05$ ) であった. 人間ドック受診者から, 健常人, ならびに耐糖能障害または高脂血症を有するが他の異常は有さない者を対象として種々因子と PAI-1 との関連について健闘した. PAI-1 は加齢とは無関係であったが, 男性が女性より有意 ( $p<0.01$ ) に高値であった. 肥満の指標であるボディ・マス・インデックス (body mass index, BMI, 体重  $\text{kg} \div$  身長  $\text{m}^2$ ) と PAI-1 との関連については, 両者の間に有意な正相関 ( $r=0.38$ ,  $p<0.001$ ) がみられた. 血清脂質の影響については, 血清トリグリセライド, HDL-コレステロールと PAI-1 との間に各々有意な相関 ( $r=0.54$ ,  $p<0.01$ ,  $r=-0.26$ ,  $p<0.05$ ) がみられた. 耐糖能障害に関しては, 75g 経口ブドウ糖負荷試験による正常耐糖能, 境界型糖尿病, 糖尿病の 3 群間に有意差はみられなかった. 一方, 血清インスリン値, 早朝空腹時血糖値と PAI-1 との間には各々有意な相関 ( $r=0.29$ ,  $p<0.05$ ,  $r=0.26$ ,  $p<0.05$ ) がみられた. 喫煙が PAI-1 に及ぼす影響については, 非喫煙者群と喫煙者群の 2 群で比較したが有意差はなかった. 眼底の Keith-Wagener (K-W) 分類を動脈硬化の指標として, K-W: 0, K-W: I, K-W: II の 3 群間で PAI-1 を比較したが有意差はなかった. 血小板中の PAI-1 が血漿中 PAI-1 濃度に影響を及ぼすか否かを検討する目的で特発性血小板減少性紫斑病および再性不良性貧血症例 (血小板減少群) を対象に検索を行ったが, 健常者に比し有意差はなかった. 脳血管障害急性期例および慢性期例を対象として, 急性期例は発症 48 時間以内を初回, その後ないし 4 日目, 7 日目, 30 日目に, 慢性期例は発症 3 月以後に PAI-1 を測定したが, 脳梗塞群および脳出血群とも急性期から慢性期にかけて有意な変動はなかった. しかし, 脳梗塞群と脳出血群の間で PAI-1 を比較すると第 3 ないし 4 病日には, 脳出血群が脳梗塞群よりも有意 ( $p<0.05$ ) に低値であり, 発症 7 日目までは前者が有意ではないものの低値の傾向を示した. 敗血症例の PAI-1 は健常者よりも有意 ( $p<0.01$ ) に高値であり, 一方, 敗血症例を生存例と死亡例に分類し PAI-1 を比較すると後者が有意 ( $p<0.01$ ) に高値であった.

---

**Key words** plasminogen activator inhibitor-1, enzyme-linked immunosorbent assay, circadian fluctuations, diabetes mellitus, sepsis

---

Abbreviations: BMI, body mass index; ELISA, enzyme-linked immunosorbent assay; HDL-cho, high density lipoprotein cholesterol; K-W, Keith-Wagener; PAI-1, plasminogen activator inhibitor-1; t-PA, tissue-type plasminogen activator; T-cho, total cholesterol; TG, triglyceride; u-PA, urinary -type plasminogen activator

線溶は血中プラスミノゲンがプラスミンに変換され、これがフィブリンポリマーを分解する過程であり、止血のために生じたフィブリンの残存による循環障害を阻止している。プラスミノゲンをプラスミンに変換する物質として、組織型プラスミノゲン・アクチベーター (tissue-type plasminogen activator, t-PA) とウロキナーゼ型プラスミノゲン・アクチベーター (urinary-type plasminogen activator, u-PA) の2種のセリンプロテアーゼが知られており、その活性はこれらの特異的インヒビターであるプラスミノゲン・アクチベーター・インヒビター (plasminogen activator inhibitor, PAI) により調節されている<sup>1)</sup>。t-PA や u-PA に対する生理的かつ特異的なインヒビターの存在は1960年代から指摘<sup>2)</sup>されていたが、1980年代に血管内皮細胞由来 PAI の存在<sup>3)</sup>が明らかとされた。その後の研究によりこれと同様の抗原性を持つインヒビターが、血小板・血漿・肝細胞由来細胞株<sup>4)</sup>等に次々と同定された。さらに PAI としては上記の PAI-1 の他、種々の組織や細胞由来の性質ならびに構造の異なる PAI-2, PAI-3, protease nexin<sup>5)</sup>が同定されたが、PAI-1 が最も重要<sup>6)</sup>と考えられている。PAI-1 には活性型 PAI-1 (active PAI-1) および不活性型 PAI-1 (inactive PAI-1) の少なくとも二つの型が存在することが知られており<sup>7)</sup>、このうち不活性型 PAI-1 は sodium dodecyl sulphate, 塩酸グアニジンや尿素等の蛋白質変性剤で活性化され得るために潜在型 PAI-1 (latent PAI-1)<sup>8)</sup>とも呼ばれる。線溶系の発現には、以上より PAI-1 とプラスミノゲン・アクチベーターのバランスが重要であると考えられ、臨床例からも PAI-1 の生理学的重要性が報告<sup>9)</sup>されているが未だ十分とはいえない。

本研究では、血漿中 PAI-1 抗原量を酵素免疫測定法により求め、その測定法の特異性および得られた抗原量と PAI 活性との関連性をまず確認した。その上で健康人ならびに疾患例において種々要因と PAI-1 との関連について検討した他、急性期並びに慢性期脳血管障害患者、敗血症患者における PAI-1 抗原量の動態を解明しその臨床的意義についても検討を加えた。

## 対象および方法

### I. 対 象

対象は、健康な当院職員 8 例 (平均年齢 29.0 ± 5.6 歳)、人間ドック受診者 95 例 (平均年齢 48.2 ± 7.7 歳)、特発性血小板減少性紫斑病および再生不良性貧血 23 例 (平均年齢 36.8 ± 13.8 歳)、慢性期脳血管障害 38 例 (脳梗塞 29 例、脳出血 9 例、平均年齢 70.1 ± 5.6 歳)、急性

期脳血管障害 17 例 (脳梗塞 10 例、脳出血 7 例、平均年齢 60.9 ± 9.6 歳)、敗血症 35 例 (平均年齢 55.6 ± 15.1 歳) である。

人間ドック受診者は全例に既往歴・家族歴・嗜好品の問診、一般血液検査、75g 経口ブドウ糖負荷試験、心電図、胸部レントゲン撮影、胃透視、腹部超音波、大腸内視鏡、眼底検査を施行し、健康者ないし血清脂質異常または耐糖能異常を有するがその他の異常は有しない者を選んだ。ただし、疾患を有する例はいずれも未治療かもしくは食事療法以外の治療を行っていない。特発性血小板減少性紫斑病および再生不良性貧血症例はいずれも安定した状態である。脳血管障害の診断は臨床経過・神経学的所見・頭部 CT・頭部 MRI を用いて行った。急性期脳血管障害例は発症 24 時間以内に入院となり保存的治療を施行した症例であり、その後の観察期間中に明らかな感染症を合併した例、死亡した例は含まれていない。慢性期脳血管障害例はその発症から 3 月以上経過した症例であり安定した状態のものである。敗血症の診断は血液培養にて菌が検出されるか、菌血症の可能性が高かつショック (収縮期血圧 90mmHg 以下または高血圧症で 30mmHg 以上の低下) を認め、さらに少なくとも次の所見 (乏尿、低酸素血症、呼吸性アルカローシス、代謝性アシドーシス) の 1 つ以上を伴う場合とした。

なお血漿は、通常の駆血法で採取した静脈血 9 容に対し直ちに 1 容の 3.8% クエン酸ナトリウムを加え凝固を阻止した後、氷冷し 4°C で遠心分離 (2,000 × g, 15 分) 後、上清を分離し -20°C で測定まで凍結保存<sup>10)</sup>した。日内変動の検討以外は、採血は早朝空腹時に行った。

### II. PAI-1 抗原量の測定

PAI-1 抗原量は Biopool 社 (Umea, Sweden) のキットを用い酵素免疫測定法 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)<sup>11)</sup>にて行った。測定法の概略は以下の通りである。一次抗体としてウサギ抗 PAI-1 モノクローナル抗体をコートした 96 穴マイクロ・テスト・プレートに、被検血漿及び標準溶液と二次抗体として同モノクローナル抗体を加え 60 分間インキュベート後洗浄し、酵素標識した PAI-1 に対する抗体液を加える。60 分間インキュベート後洗浄し、基質を加え遮光し 15 分間インキュベート後、吸光度計 (Bio Rad, California, America) にて吸光度を測定し、検量線から検体中の PAI-1 濃度を求め、被検血漿中の PAI-1 抗原量とする。

### III. PAI 活性測定法

PAI 活性は Biopool 社製<sup>12-14)</sup>のキットを用い発色合

成基質法にて行った。測定法の概略は以下の通りである。被検血漿に既知濃度の一本鎖 t-PA を加えると血漿中の PAI は t-PA と複合体を形成し、過剰量の t-PA が残存する。ここに可溶性フィブリン存在下にプラスミノゲンを加えると、残存 t-PA によりプラスミノゲンは活性化されプラスミンが生成される。生じたプラスミンの活性を、分解される合成基質の呈色を測定することにより検体中の PAI を推定するものである。

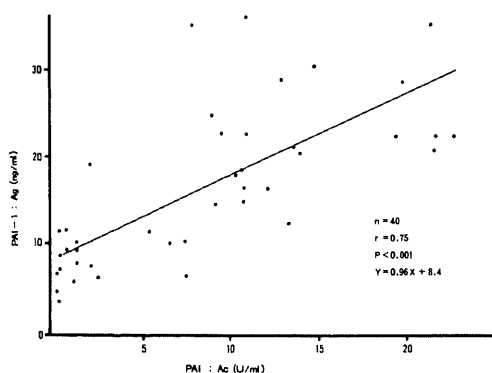


Fig. 1. Correlation between PAI-1 antigen levels and PAI activities in plasma.

#### IV. 遊離型 PAI-1 と t-PA/PAI-1 複合体の抗原量の比較

一部の人間ドック受診者を対象に血漿中の PAI-1 抗原量と PAI 活性を上記測定法によりそれぞれ測定した後、分注し凍結保存した同一者の血漿に次のような処理を行った。精製一本鎖 t-PA (Biopool) を 1.0M KHCO<sub>3</sub> 緩衝液に溶解しトリス緩衝液で希釈し最終的に 120IU/ml とする。この過剰と考えられる一本鎖 t-PA 溶液を被検血漿に同量加え攪拌し、37°C で 30分

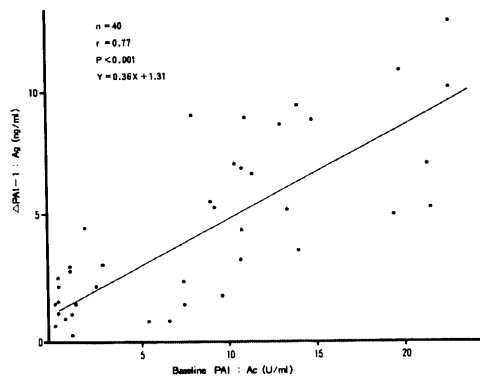


Fig. 2. Correlation between  $\Delta$  PAI-1 antigen levels and baseline PAI activities in plasma.

Table 1. PAI activities and PAI-1 antigen levels in plasma

Sample No.	PAI-1 Antigen levels (ng/ml)			Baseline PAI Activity(U/ml)
	Baseline	After Addition of 120 IU t-PA/ml	$\Delta$	
1	36.2	29.6	6.6	11.4
2	35.0	26.0	9.0	8.0
3	30.4	28.0	7.0	21.4
4	28.6	20.0	8.6	13.0
5	24.6	19.2	5.4	9.0
6	22.4	13.5	8.9	11.0
7	20.2	16.8	3.4	14.0
8	18.4	15.3	3.1	10.7
9	16.2	9.4	6.8	10.8
10	11.3	10.8	0.5	5.4
11	9.2	6.4	2.8	0.8
12	6.0	4.0	2.0	2.4
13	3.5	2.6	0.9	0.2
⋮	⋮	⋮	⋮	⋮
⋮	⋮	⋮	⋮	⋮
40	⋮	⋮	⋮	⋮

The correlation coefficient of the  $\Delta$  antigen levels with the baseline PAI activities, determined by linear regression analysis, is 0.77.

間インキュベーション後検体量を通常の2倍として再び PAI-1 抗原量を測定し、一本鎖 t-PA 溶液を加える前の値から減じた値と、一本鎖 t-PA 溶液を加える前に測定した PAI 活性値との相関を検討する。

#### V. 統計処理

各群の測定結果は平均値±標準偏差で表示した。各群の平均値の差の検定は、正規分布を示す場合には対応のない t 検定を用い、正規分布を示さない場合には Wilcoxon の順位和検定を用いた。ただし、日内変動の検定のみ Wilcoxon 符号付順位和検定を用いた。両側検定で危険率 5% 以下の差である場合を統計学的に有意とした。

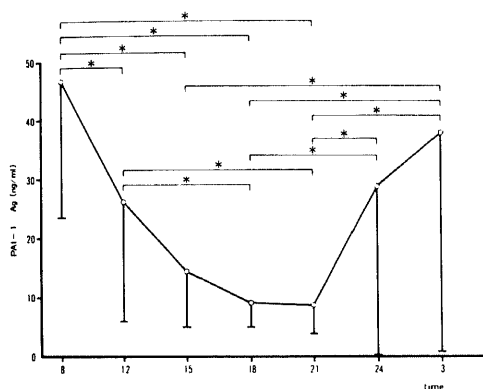


Fig. 3a. Fluctuations of the PAI-1 antigen levels during 24hr. Solid circles and bars indicate mean values and standard deviations, respectively. \* $p < 0.05$ .

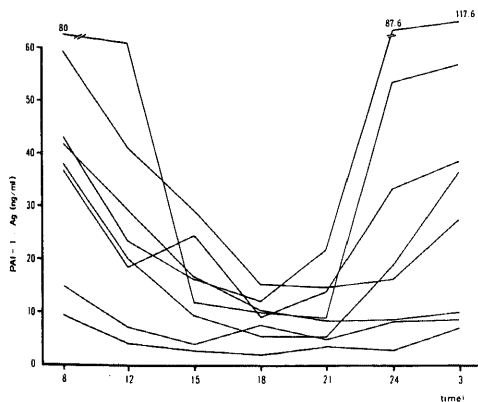


Fig. 3b. Fluctuations of the PAI-1 antigen levels during 24hr.

## 成 績

### I. PAI-1 抗原量測定に及ぼす t-PA/PAI-1 複合体の影響

#### 1. PAI-1 抗原量と PAI 活性値との関連

人間ドック受診者の内無作為に40名を選び、血漿中の PAI-1 抗原量と PAI 活性値との間の関連につき検討したところ、有意な正相関 ( $r=0.75$ ,  $p < 0.001$ ) を示した (図1)。

#### 2. 遊離型 PAI-1 と t-PA との複合体を形成した PAI-1 の認識の差異

この抗原量測定法の遊離型 PAI-1 と t-PA/PAI-1 複合体に対する認識の差異を検討した。人間ドック受診者の内無作為に40名を選び、血漿に過剰の t-PA 溶液を加えた後、この抗原量測定法でどれ程認識しうる PAI-1 抗原量が減少するかをみた。t-PA を加えて、すべての PAI-1 を t-PA/PAI-1 複合体とした後の PAI-1 抗原量を t-PA 添加前の PAI-1 抗原量から減じた値と t-PA 添加前の PAI 活性との間には、有意な正相関 ( $r=0.77$ ,  $p < 0.001$ ) を認めた (表1, 図2)。

### II. PAI-1 の日内変動

健常者8名を対象として、通常通りの生活を送りながら一日7回 (午前8時朝食前, 午前12時昼食前, 午後3時, 午後6時夕食前, 午後9時, 午後12時, 午前3時) 採血を行い、血漿中 PAI-1 抗原量の日内変動について検討した。午前8時朝食前  $46.3 \pm 22.6$  ng/ml, 午前12時昼食前  $26.0 \pm 20.2$  ng/ml, 午後3時  $14.2 \pm 9.3$  ng/ml, 午後6時夕食前  $9.0 \pm 4.0$  ng/ml, 午後9時  $8.6 \pm 6.2$  ng/ml, 午後24時  $28.6 \pm 28.9$  ng/ml, 午前

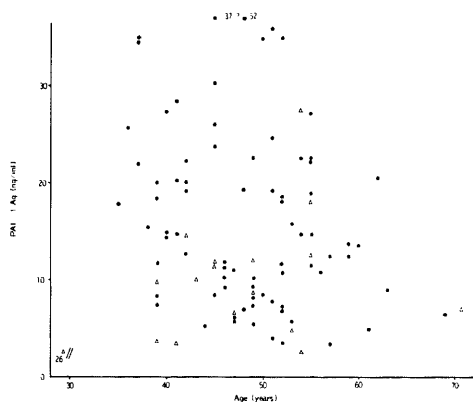


Fig. 4. Correlation between PAI-1 antigen levels and age. Closed circles and open triangles represent male subjects and female subjects, respectively.

3時  $37.6 \pm 36.7$  ng/ml であった。午前8時は午前12時、午後3時、午後6時、午後9時に比べて、午前12時は午後3時、午後6時に比べて、午後24時は午後6時、午後9時に比べて、午前3時は午後3時、午後6時、午後9時に比べて各々有意 ( $p < 0.05$ ) に高値であった (図3a)。また平均値では午前8時が最高値であり、午後9時が最低値であった。個人でみると最高値は午前8時もしくは午前3時であり、最低値は午後3時、午後6時、午後9時とばらつきはみられるものの、全体的な傾向としては深夜から早朝にかけて高値をとり夕方に低値を示した。さらに、日内変動の幅が大きい者とその幅が小さい者とがあった (図3b)。

### III. 加齢および性差との関連

人間ドック受診者例を対象として、加齢による血漿中 PAI-1 抗原量の変化を検討した。主として30歳代後半から60歳代前半の年齢分布がみられたが、加齢による一定の変化は認めなかった (図4)。受診者の男女比は男76例 (平均年齢  $48.2 \pm 7.1$  歳)、女19例 (平均年齢

$48.3 \pm 10.0$  歳) と男性が多数を占めているが、PAI-1 抗原量は各々  $16.4 \pm 9.8$  ng/ml,  $10.1 \pm 6.2$  ng/ml と男性が有意 ( $p < 0.01$ ) に高値であった。

### IV. 肥満との関連

人間ドック受診者例を対象として、肥満による血漿中 PAI-1 抗原量の変化を検討するために、ボディ・マス・インデックス (body mass index, BMI, 体重 kg ÷ 身長 m<sup>2</sup>) を肥満の指標として PAI-1 抗原量との関連につき検討した。両者は有意 ( $r = 0.38$ ,  $p < 0.001$ ) の正相関を示し、肥満の程度が強いほど、PAI-1 抗原量が高い傾向がみられた (図5)。

### V. 血清脂質の影響

人間ドック受診者例を対象として、血清脂質と血漿中 PAI-1 抗原量の関連を検討するために、血清中のトリグリセライド (triglyceride, TG), 総コレステロール (total cholesterol, T-cho), HDL コレステロール (high density lipoprotein cholesterol, HDL-cho) と PAI-1 抗原量との関連につき検討した。TG, HDL-cho と

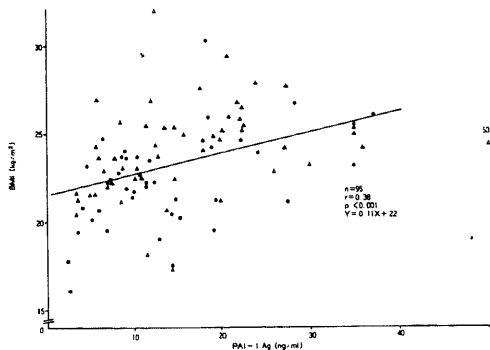


Fig. 5. Correlation between PAI-1 antigen levels and body mass index (BMI). Closed circles, triangles and open triangles represent the subjects with normal glucose tolerance, impaired glucose tolerance and diabetes mellitus respectively.

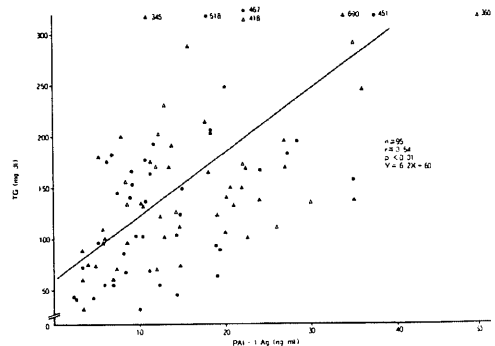


Fig. 6. Correlation between PAI-1 antigen levels and serum triglyceride. Closed circles, triangles and open triangles represent the subjects with normal glucose tolerance, impaired glucose tolerance and diabetes mellitus, respectively.

Table 2. Correlation matrix between various parameters

	BMI	FBS	Insulin	TG	T-CHO	HDL-CHO	PAI-1:Ag
Age	0.12	0.09	0.04	0.03	-0.003	-0.14	-0.14
BMI		0.25	0.56**	0.28*	0.05	-0.44**	0.38**
FBS			0.11	0.19	0.16	-0.23	0.26*
Insulin				0.08	0.10	-0.21	0.28*
TG					0.16	-0.46**	0.54**
T-CHO						0.08	0.10
HDL-CHO							-0.26*

\*  $p < 0.05$     \*\*  $p < 0.01$

PAI-1 抗原量との間には各々有意 ( $r=0.54$ ,  $p<0.01$ ,  $r=-0.26$ ,  $p<0.05$ ) の相関を認めるが, T-cho との間には有意な相関は認めなかった (図 6, 表 2).

#### VI. 糖代謝との関連

人間ドック受診者例を対象として, 耐糖能障害の有無, 早朝空腹時血糖, 血清インスリン値と血漿中 PAI-1 抗原量の関連につき検討した. 受診者を経口ブドウ糖負荷試験の結果より正常耐糖能, 境界型糖尿病, 糖尿病の 3 群に分類し, PAI-1 抗原量を比較した. 正常耐糖能群  $13.6 \pm 8.2$  ng/ml, 境界型糖尿病群  $15.3 \pm 9.1$  ng/ml, 糖尿病群  $19.6 \pm 12.8$  ng/ml と, 耐糖能が低下するに従い PAI-1 抗原量が高値となる傾向がみられたが有意ではなかった (図 7). 人間ドック受診者の一部 53 例では血清インスリン値と PAI-1 抗原量とを同時に測定したが, 両者の間に有意 ( $r=0.29$ ,

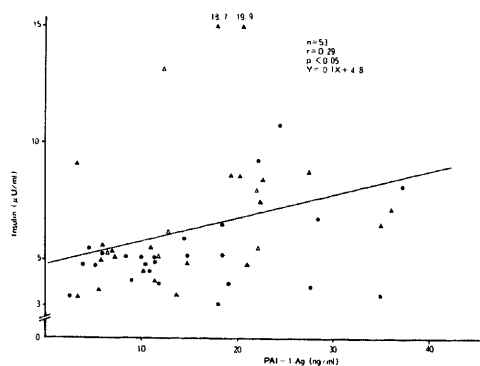


Fig. 8. Correlation between PAI-1 antigen levels and serum insulin levels. Closed circles, triangles and open triangles represent the subjects with normal glucose tolerance, impaired glucose tolerance and diabetes mellitus, respectively.

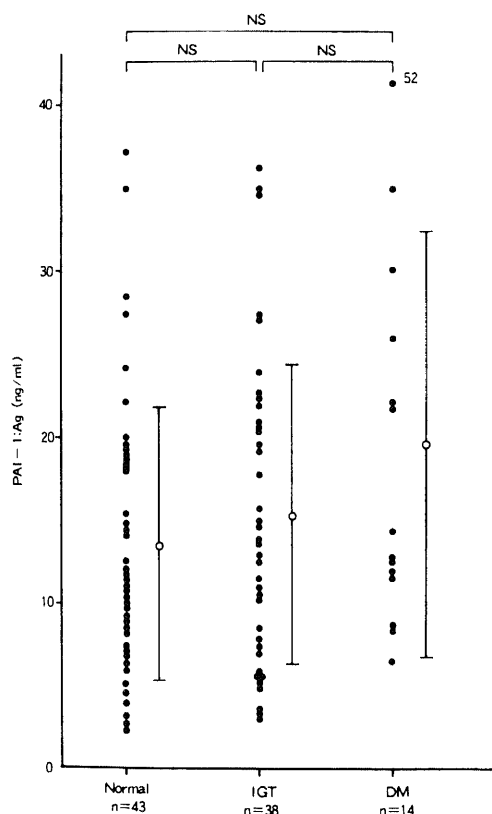


Fig. 7. Levels of PAI-1 antigen in the subjects with normal glucose tolerance, impaired glucose tolerance and diabetes mellitus, respectively. Solid circles and bars indicate mean values and standard deviations, respectively. NS, not significant.

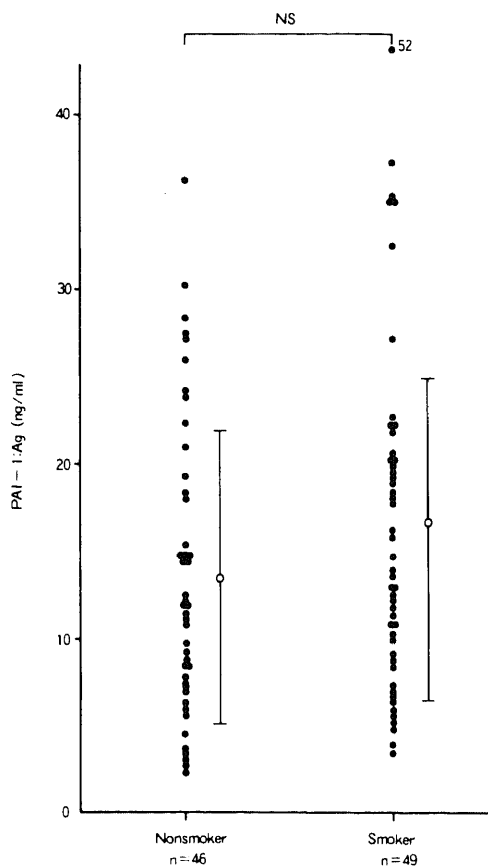


Fig. 9. Levels of PAI-1 antigen in non-smokers and smokers. Solid circles and bars indicate mean values and standard deviations, respectively. NS, not significant.

$p < 0.05$  の正相関を認めた (図 8). 人間ドック受診者全体を対象とする早朝空腹時血糖値と PAI-1 抗原量との間にも有意 ( $r = 0.26$ ,  $p < 0.05$ ) の正相関を認めた (表 2). なお, 早朝空腹時血糖は  $73\text{mg/dl}$  から  $124\text{mg/dl}$  の範囲であった.

#### VII. 喫煙と関連

人間ドック受診者全例を対象として, 喫煙習慣の有無と血漿中 PAI-1 抗原量との関連について検討した. 喫煙習慣の定義は, 人間ドック受診時に一日10本以上の喫煙歴が3年以上ある者とした. 非喫煙者群と喫煙者群の PAI-1 抗原量は, 各々  $13.5 \pm 8.4\text{ng/ml}$ ,  $16.7 \pm 10.2\text{ng/ml}$  であり, 喫煙群でやや高い傾向はみられるものの有意ではなかった (図 9).

#### VIII. 眼底の動脈硬化度との関連

人間ドック受診者全例を対象として, 動脈硬化と血漿中 PAI-1 抗原量との関連について検討した. 眼底検

査を施行し動脈硬化の程度を Keith-Wagener (K-W) 分類により判定したところ, K-W: 0 が42例, K-W: I が51例, K-W: II が2例であった. この3群の PAI-1 抗原量は各々  $14.3 \pm 8.4\text{ng/ml}$ ,  $16.0 \pm 10.5\text{ng/ml}$ ,  $11.4 \pm 2.0\text{ng/ml}$  であった. 3群間には有意差は認めなかった (図10). なお図には K-W: 0, I の群のみ表示した.

#### IX. 血小板数の影響

特発性血小板減少性紫斑病12例および再生不良性貧血症11例 (血小板減少群) を対象に, 血中血小板数と血漿中 PAI-1 抗原量との関連につき検討した. 図12において正常者とは, 人間ドック受診者の中から施行した諸検査いずれにも異常を示さなかった者全てを含む集団 (男25名, 女8名, 平均年齢  $46.2 \pm 7.5$  歳) である. 正常者群並びに血小板減少群の血小板数は各々  $23.7 \pm 10.9 \times 10^4/\mu\text{l}$ ,  $4.8 \pm 3.7 \times 10^4/\mu\text{l}$  であり, 前者は後

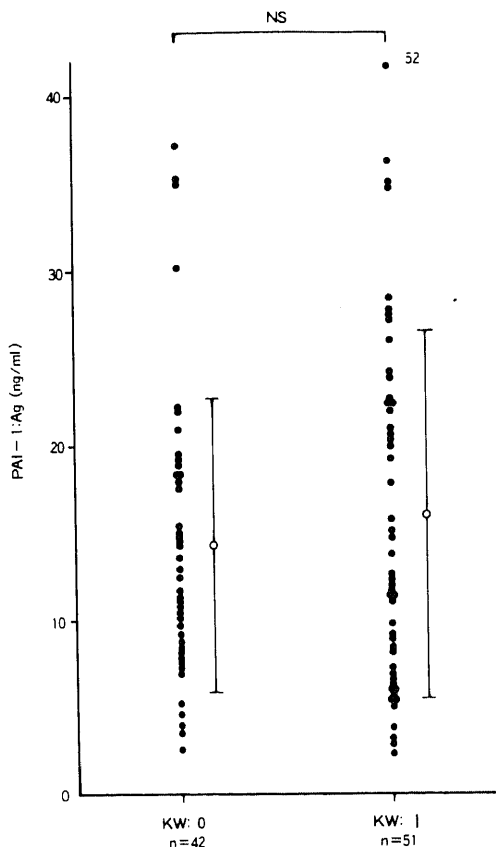


Fig. 10. Fundoscopic findings (Keith-Wagener) and PAI-1 antigen levels. Solid circles and bars indicate mean values and standard deviations, respectively. NS, not significant.

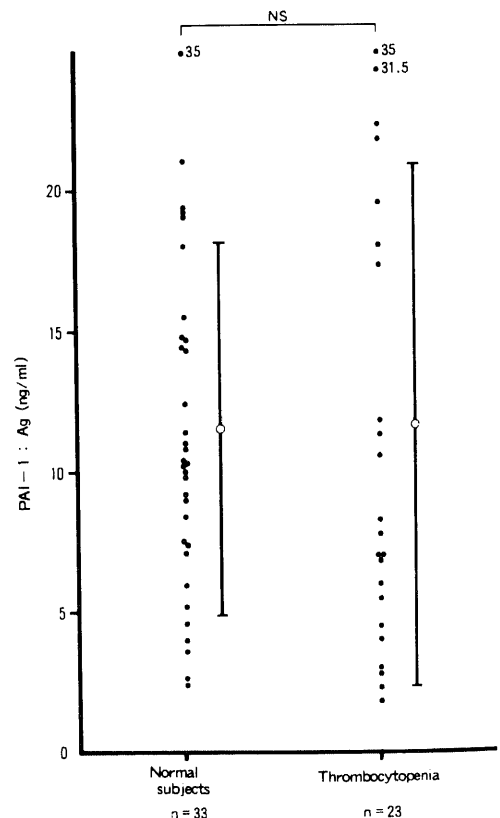


Fig. 11. Levels of PAI-1 antigen in normal subjects and patients with thrombocytopenia. Solid circles and bars indicate mean values and standard deviations, respectively. NS, not significant.



者に比べ有意 ( $p < 0.001$ ) に高値であった。一方, PAI-1 抗原量は正常者群  $11.5 \pm 6.6 \text{ ng/ml}$ , 血小板減少群  $11.6 \pm 9.3 \text{ ng/ml}$  (特発性血小板減少性紫斑病  $12.8 \pm$

Table 3. Changes of PAI-1 antigen levels in patients with acute stroke within 48 hr (first day), 3 (or 4), 7 and 30 days after the stroke

Period	Infarction	Hemorrhage
First day	$15.9 \pm 8.8$	$13.0 \pm 11.5$
3 or 4 day	$14.4 \pm 3.6^*$	$6.7 \pm 4.6$
7 day	$10.0 \pm 5.7$	$7.0 \pm 2.3$
30 day	$11.7 \pm 4.8$	$13.9 \pm 10.3$
n	10	7

Each value represents mean  $\pm$  standard deviation.  
\*  $p < 0.05$

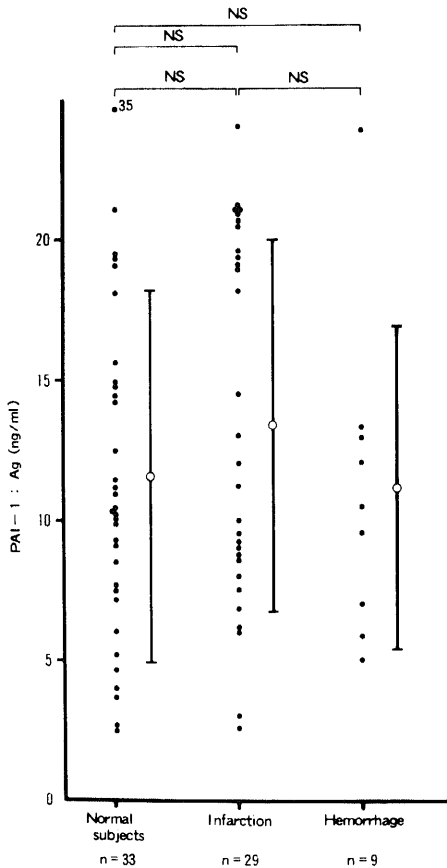


Fig. 12. Levels of PAI-1 antigen in normal subjects and the patients with cerebral infarction or cerebral hemorrhage. Patients with stroke were at chronic stage. Solid circles and bars indicate mean values and standard deviations, respectively.

$9.3 \text{ ng/ml}$ , 再生不良性貧血  $10.2 \pm 9.5 \text{ ng/ml}$ ) と両群間に有意差は認められなかった (図11).

X. 脳血管障害時の変動

急性期および慢性期脳血管障害例を対象として, 血漿中 PAI-1 抗原量を測定した。急性期脳血管障害例は, 発作後第1日, 第3ないし第4日, 第7, 第30日に採血を行い血漿中 PAI-1 抗原量を測定した。一方, 慢性期脳血管障害例は安定した状態の際に1回のみ採血し, 血漿中 PAI-1 抗原量を測定した。急性期脳梗塞例の PAI-1 抗原量は, 時間的経過で発作後第1日  $15.9 \pm 8.8 \text{ ng/ml}$ , 第3ないし4日  $14.4 \pm 3.6 \text{ ng/ml}$ , 第7日  $10.0 \pm 5.7 \text{ ng/ml}$ , 第30日  $11.7 \pm 4.8 \text{ ng/ml}$  であった。急性期脳出血例は同様に発作後第1日  $13.0 \pm 11.5 \text{ ng/ml}$ , 第3ないし4日  $6.7 \pm 4.6 \text{ ng/ml}$ , 第7日  $7.0 \pm 2.3 \text{ ng/ml}$ , 第30日  $13.9 \pm 10.3 \text{ ng/ml}$  であった。脳出血例では発作後約1週間にわたり PAI-1 抗原量が一過性に低下しているが, 症例数が少なく有意ではなかった (表3)。慢性期脳血管障害では正常者群 (上

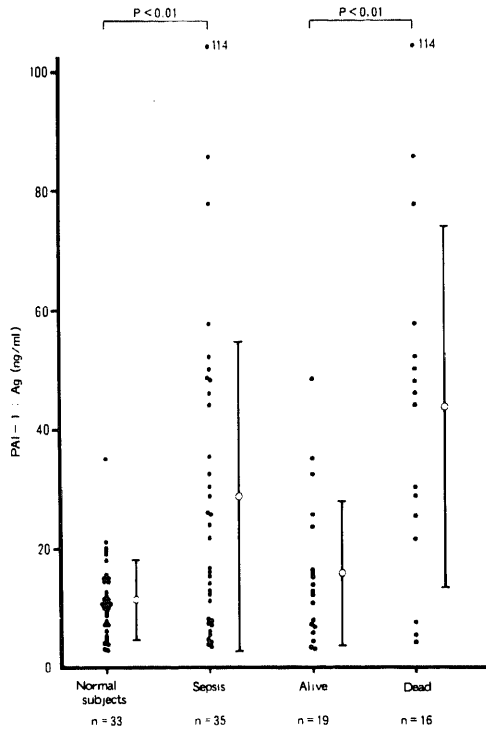


Fig. 13. Levels of PAI-1 antigen in normal subjects and patients with sepsis. alive: patients surviving their sepsis. dead: patients dying from sepsis. Solid circles and bars indicate mean values and standard deviations, respectively. NS, not significant.

記で述べた正常者), 脳梗塞群, 脳出血群の3群間で比較した. 各々 PAI-1 抗原量は  $11.5 \pm 6.6 \text{ ng/ml}$ ,  $13.3 \pm 6.5 \text{ ng/ml}$ ,  $11.1 \pm 5.7 \text{ ng/ml}$  といずれの群間にも有意差は認めなかった (図12).

#### XI. 敗血症例における変動

敗血症例を対象として血漿中 PAI-1 抗原量を測定した. 正常者群 (上記で述べた正常者)  $11.5 \pm 6.6 \text{ ng/ml}$ , 敗血症群  $28.6 \pm 26.1 \text{ ng/ml}$  と, 後者が有意 ( $p < 0.01$ ) に高値であった. さらに, 敗血症例を生存例と死亡例の2群に分け検討したところ, 生存群  $16.0 \pm 12.1 \text{ ng/ml}$ , 死亡群  $43.2 \pm 29.6 \text{ ng/ml}$  と, 後者が有意 ( $p < 0.01$ ) に高値であった (図13).

### 考 察

PAI-1 は  $\alpha_1$ -アンチトリプシンやアンチトロンビン III と類似の構造を持つ<sup>89)</sup>セリン・プロテアーゼ・インヒビター・スーパー・ファミリー (serine protease inhibitor super family) に属する分子量 54K の糖タンパク質である. t-PA および二本鎖 u-PA (urokinase) に対し, ほぼ同じ反応定数をもって 1:1 の複合体を形成し<sup>90)</sup>, これを特異的に阻害する. また, PAI-1 には少なくとも二つの型 (活性型 PAI-1 および潜在型 PAI-1) が存在することが知られており<sup>91)</sup>, 後者は生物学的活性を持たない. 線溶系の発現は t-PA または u-PA によってプラスミノゲンが活性化されてプラスミンとなることで開始されるが, この2種のプラスミノゲン・アクチベーターの活性はこれらの特異的インヒビターである PAI-1 によって主に制御されている. プラスミノゲン・アクチベーターと PAI-1 のバランスは線溶活性に重要な影響を与えると考えられるため, PAI-1 は血栓または出血に重要な意義を有すると考えられる.

本研究で用いた PAI-1 抗原量測定法は抗 PAI-1 モノクローナル抗体を使用した ELISA であるが, 血漿中 PAI-1 には遊離型と t-PA との複合型が存在し, 後者は生物学的活性を有さないために<sup>92)</sup>, このモノクローナル抗体がいずれをどの程度認識するかをまず明らかにする必要がある. そこで, t-PA に対する阻害活性で測定した血漿中 PAI 活性と, 同じ検体中の PAI-1 抗原量との間の関連について検討したところ有意な正相関を認めた. また, この測定法が遊離型 PAI-1 が t-PA と複合体を形成した時どの程度測定値に差異がみられるかにつき検討するため, 血漿に過剰の t-PA 溶液を添加した後この測定法で認識し得る PAI-1 抗原量がどの程度減少するかを求め, t-PA 添加前の PAI 活性との間の関連を検討したところ有意

な正相関を認めた. 以上の結果は, この測定法が遊離型 PAI-1 をより鋭敏に認識し, PAI 活性値を反映していることを示し, また PAI-1 産生・放出を的確に捉え得る可能性の高いことを示すものである.

線溶系の日内変動についてはすでにいくつかの報告があり, いずれも深夜から早朝に低く夕方に高いとの結果が得られている<sup>100)</sup>. このような線溶の変動に PAI-1 がどのような役割を果たしているかを検討した. その結果個々により最高値を呈する時間と最低値を呈する時間に多少のばらつきはみられたが, 全体的な傾向としては深夜から早朝にかけて高値をとり, 夕方に低値を示すというパターンがみられた. この PAI-1 の日内変動パターンは, 以前のユーグロプリン溶解時間を用いて検討<sup>101)</sup>した線溶系の日内変動が血漿中 PAI-1 の変化に対応したものであることを示すが, 日内変動の生理学的・病理学的意義については明らかではない. 急性心筋梗塞<sup>12)</sup>, 狭心症発作<sup>13)</sup>, 心源性突然死<sup>14)</sup>発症時間の調査によると午前7時から午前11時までの発症頻度が他の時間帯より高いこと, 脳梗塞発症についても同様に午前の発症頻度が高いとの報告<sup>102)</sup>があり, 午前中に血栓傾向が亢進するか否かを検討することは重要である. 血栓傾向の亢進は血小板凝集能亢進<sup>17)</sup>や凝固系の亢進<sup>103)</sup>のほか線溶能の低下<sup>20)</sup>によっても生じ得ると考えられる. 線溶能の低下の原因として主に二つの可能性が考えられており, 一つは血管内皮細胞からの t-PA 放出障害であり, 一つは血漿中 PAI 上昇である<sup>29)</sup>. したがって, 深夜から早朝にかけての血漿中 PAI-1 の上昇は, 生体内において血栓準備状態をもたらす虚血性心疾患ならびに虚血性脳血管障害発症に何等かの関与をしているものと考えられる. 一方, PAI-1 上昇と冠動脈, 脳動脈血栓発症の高頻度時間帯に数時間のズレを認めることは, PAI-1 上昇が必ずしも直接冠動脈ならびに脳動脈血栓に結びつかない可能性もある. この PAI-1 の日内変動を制御する機構としては, 潜在型 PAI-1 が血小板中に存在することから血小板凝集能の変動の影響, 日内変動をすることが知られているホルモンの影響が考えられるかもしれない. しかし, 24時間の血小板凝集能の検討では, 午前6時から午前9時にかけてのみ統計学的に有意に亢進し, その他の時間帯には有意な変化はみられないとの報告<sup>17)</sup>があるが, 血小板凝集能が亢進し血小板から PAI-1 が放出されるとしても, PAI-1 と凝集能の日内変動は必ずしも平行せず否定的であろう. また, 少なくともカテコラミンやステロイドの線溶系への直接の影響については否定的な報告<sup>23)</sup>があり, なお今後の研究が必要である.

線溶系に及ぼす加齢の影響については、種々線溶系のパラメーターを用いた報告がいくつかみられるが一定の見解はえられていない<sup>29)</sup>。人間ドック受診者から健康者に一部高脂血症患者または耐糖能異常患者を対象とした今回の血漿中 PAI-1 の検討でも、一定の変化は認めなかった。しかし、手術後の深部静脈血栓症が高齢者に多いという報告<sup>25)</sup>と、深部静脈血栓症例では PAI が上昇しこのために血栓を生じ易くしているとする報告<sup>20,21)</sup>もあり、また、PAI-1 同様血管内皮から産生される von Willebrand 因子が加齢と共に上昇するという報告<sup>27)</sup>もあるので、PAI-1 と加齢の関連についてはさらに検討する必要があると思われる。性差による影響については、受診者の男女の構成が男76例、女19例と男性が多数を占める偏りのあるものだが、PAI-1 抗原量は男性が女性に比し有意 ( $p < 0.01$ ) に高値であった。これは虚血性心疾患の頻度が女性よりも男性に多いという報告<sup>28)</sup>の一因として、血漿中 PAI-1 高値が関与している可能性を示唆するものかもしれない。

肥満者では線溶能が低下するという報告<sup>29,30)</sup>があり、肥満と線溶能は密接な関連を持つことが以前より指摘されている。今回の検討で、血漿中 PAI-1 が肥満の指標とした BMI と有意な正相関を示したことは、肥満者の線溶能低下の一因として PAI-1 上昇が関与していることを示唆する結果と考えられる。

高コレステロール血症は動脈硬化ならびに虚血性心疾患の危険因子であることが広く知られており、同様に高 TG 血症も虚血性心疾患の危険因子の一つであること<sup>31)</sup>、HDL-cho 高値は虚血性心疾患発症を減少させること<sup>32)</sup>が知られている。また、動脈硬化の成因の一つとして血栓説<sup>33)</sup>があり、IV型<sup>11,34)</sup>ならびにII型<sup>35)</sup>高脂血症患者の線溶能は低下しているという報告もみられる。今回の検討では、血漿中 PAI-1 と TG との有意な正相関、HDL-cho との有意な負の相関を認めた。この結果は血清脂質と線溶能との関係において PAI-1 が、線溶能を左右して血栓症ならびに動脈硬化の発症に関与している可能性を示唆するものとする。ただし、血清脂質異常のない健康者の LDL は血管内皮細胞からの t-PA 産生・放出を増加させるが、高 TG 血症患者の LDL は増加させないという報告<sup>36)</sup>があり、PAI-1 ばかりでなく t-PA 産生・放出も含めた両者のバランスも考慮する必要がある。

糖尿病患者においては、線溶能が正常<sup>37)</sup>、低下<sup>38)</sup>また亢進<sup>39)</sup>しているという報告があり一致した見解は得られていない。今回の検討では、耐糖能が低下するに従い PAI-1 抗原量が高値となる傾向はみられるもの

有意ではなかった。早朝空腹時血糖、血清インスリン値と PAI-1 抗原量との間には有意な正相関を認めた。外因性インスリンおよび低血糖が線溶系に影響を与えするという報告<sup>40)</sup>があるが、今回の検討では外因性インスリンまたは経口糖尿病薬の投与が行われておらず、血糖値は70から120mg/dlの範囲内であることから低血糖の影響では無いと思われる。また、最近肝細胞培養系においてインスリン濃度依存性に PAI 活性が高値を示したとの報告<sup>41)</sup>があり、生体内でも血管内皮からではなく肝臓で PAI-1 が産生・放出される可能性も考えられ、血清インスリン自身が PAI-1 を介して線溶能に影響を及ぼすのかもしれない。耐糖能障害の程度と PAI-1 との間には有意な関連はみられなかったが、血清インスリンと空腹時血糖値との間には有意な関連を認めており、耐糖能障害時の動脈硬化の進展に線溶能がどのような役割を果たしているかを PAI-1 を含めさらに研究をする必要があると思われる。

喫煙は虚血性心疾患の危険因子<sup>42)</sup>として知られており、この疾患の成因を考える時喫煙習慣を有する者の線溶能を検討することは意義があると思われる。しかし、今回血漿中 PAI-1 での検討では喫煙者群が非喫煙者群よりもやや高い傾向はみられるものの有意ではなく、喫煙者で血小板粘着能が亢進していること<sup>43)</sup>や試験管内では血栓形成時間短縮がみられること<sup>44)</sup>など、線溶能と直接関連しない系が虚血性心疾患に関与しているのかもしれない。

以前から動脈硬化を生じている部位に血液が接触することにより血小板や凝固系が活性化される可能性が論じられており<sup>45,46)</sup>、動脈硬化自身が PAI-1 にどのように影響を及ぼしうるかは興味深く、これを眼底所見から動脈硬化の程度を判断して検討した。動脈硬化の高度な例が少ない点に問題はあがるが、動脈硬化の程度により血漿中 PAI-1 は変化しなかった。何等かの条件による PAI-1 上昇が動脈硬化をもたらす可能性はあっても、動脈硬化が進行することによりさらに PAI-1 が上昇するような相乗効果的な作用はないのかもしれない。PAI-1 は血漿中には全血中の7%しか存在せず残りの93%は血小板中に存在すること<sup>47)</sup>、血小板の活性化に伴い $\alpha$ 顆粒から PAI-1 が放出されること<sup>48)</sup>を考慮すると、少なくとも軽度の動脈硬化では血小板も軽度にしかな活性化されず、血小板からの PAI-1 放出もほとんどみられないので血漿中 PAI-1 量に影響を及ぼさないのかもしれない。

また、流血中の血小板数が血漿中 PAI-1 に影響を及ぼしうるかどうかについて、血小板数減少が著明な再生不良性貧血ならびに特発性血小板減少性紫斑病患者

を対象として検討した。しかし、いずれの疾病群においても血漿中 PAI-1 は低下しなかった。このことも血漿中 PAI-1 の産生・放出源として血小板よりも、血管内皮および肝細胞が重要であることを示している。

急性期脳梗塞患者では凝固・線溶系<sup>49)</sup>、血小板機能<sup>49)</sup>に異常を生じているという報告がいくつかみられる。今回は血漿中 PAI-1 を脳梗塞例と脳出血例について検討した。急性期から亜急性期における脳梗塞では、発症当初にやや高い傾向はあるものの血漿中 PAI-1 には有意の変動を認めなかった。脳出血では、第1回目と発症30日目の採血時期に比べその中間時期の値が低値である傾向はみられるものの有意ではなかった。このことは、この時期に脳出血例では多少とも線溶能が亢進していることを意味するものかもしれない。

敗血症ではしばしば凝固系が亢進し種々凝固因子が消費されさらに線溶系が低下し<sup>50,51)</sup>、播種性血管内凝固症候群発症の頻度が高い<sup>52)</sup>ことが知られている。敗血症の死因として微小循環系に生じた血栓による閉塞・循環不全による多臓器不全が関与するならば、敗血症例の線溶系の変動を検討することは意義のあることと思われる。今回の検討では、血漿中 PAI-1 抗原量は著しく増加していた。さらに、敗血症例を生存例と死亡例に分けたところ後者が有意に高値を呈した。この点、線溶能低下によって生じた血栓による循環不全が予後に影響を与えているのかもしれない。以上のことから血漿中 PAI-1 が敗血症例の新しい予後因子となりうるものと考えられ、さらに PAI-1 高値が予後に影響を及ぼすとすれば、この病態に対する治療の必要性について今後検討する必要があると考える。

## 結 論

血漿中プラスミノゲン・アクチベーター・インヒビター-1 (PAI-1) 抗原量を測定する際に用いた酵素免疫測定法の特異性を検討し、さらにこの測定法によってえられた PAI-1 の生理的・病的状態における変動を検討し、以下の結果を得た。

1. 今回用いた酵素免疫測定法は、遊離型 PAI-1 を t-PA/PAI-1 複合体よりも鋭敏に認識し、この測定法によりえられた血漿中 PAI-1 抗原量は血漿中 PAI 活性と良好な正相関を示した。このことより、この測定法でえられる血漿中 PAI-1 抗原量は線溶系を良好に反映し、PAI-1 抗原量の産生・放出を捉えうると考えられる。

2. PAI-1 の日内変動は、深夜から早朝にかけて高値となりその後徐々に低下するパターンを示した。

3. PAI-1 は男性が女性より高値を示したが、加齢、喫煙習慣、耐糖能障害の程度、眼底の動脈硬化の程度とは無関係であった。また、血清インスリンと有意な正相関を示し、HDL コレステロールと有意な負の相関を示した。また、PAI-1 が肥満、血清トリグリセライドと有意な正相関を示したことより、肥満、高トリグリセライド血症患者において PAI-1 上昇が線溶能低下をもたらしている可能性が示唆される。

4. PAI-1 は血小板数減少例と健常者とを比べても差がないことより、血漿中 PAI-1 濃度に血小板からの PAI-1 は影響を及ぼさないと考えられた。

5. 脳梗塞ならびに脳出血例の PAI-1 の変動を急性期から慢性期にかけて検討したところ、急性期においては脳出血が脳梗塞に比べ低値を示した。

6. PAI-1 は敗血症では健常者に比べ有意に高値であった。一方、敗血症を生存例と死亡例に分け比較すると後者が有意に高値であった。

7. 以上、この酵素免疫測定法を用いた血漿中 PAI-1 抗原量の結果より、PAI-1 抗原量の上昇が線溶能の低下をもたらす、血栓傾向を生じる可能性があると考えられる。

## 謝 辞

稿を終えるに臨み、終始研究の御指導と御校閲を賜りました恩師松田保教授に深甚なる感謝の意を表します。

研究に御協力頂きました金沢大学医学部第三内科凝固グループをはじめ教室員の各位ならびに関連病院の諸先生方に深謝致します。

なお、本論文の一部は、第52回日本血液学会(1990年)において発表した。

## 文 献

- 1) Sprengers, E. D. & Kluft, C.: Plasminogen activator inhibitors. *Blood*, 69, 381-387 (1987).
- 2) Declerk, P. J., Alessi, M.-C., Verstreken, M., Kruithof, E. K. O., Juhan-Vague, I. & Collen, D.: Measurement of plasminogen activator inhibitor 1 in biologic fluids with a murine monoclonal antibody-based enzyme-linked immunosorbent assay. *Blood*, 71, 220-225 (1988).
- 3) Ranby, M., Bergsdorf, N., Nilsson, T., Melbring, G., Winblad, B. & Bucht, G.: Age dependence of tissue plasminogen activator concentrations in plasma, as studied by an improved enzyme-linked immunosorbent assay. *Clin. Chem.*, 32, 2160-2165 (1986).
- 4) Juhan-Vague, I., Alessi, M.-C., Fossat, C.,

- Declerck, P. J. & Kruihof, E. K. O.: Plasma determination of plasminogen activator inhibitor 1 antigen must be performed in blood collected on antiplatelet/anticoagulant mixture. *Thromb. Haemostasis*, **58**, 1096 (1987).
- 5) Chmielewska, J., Ranby, M. & Wiman, B.: Evidence for a rapid inhibitor to tissue plasminogen activator in plasma. *Thromb. Res.*, **31**, 427-436 (1983).
- 6) Ranby, M., Norman, B. & Wallen, P. A.: A sensitive assay for tissue plasminogen activator. *Thromb. Res.*, **27**, 743-749 (1982).
- 7) Wiman, B., Melbring, G. & Ranby, M.: Plasminogen activator release during venous stasis and exercise as determined by a new specific assay. *Clin. Chim. Acta*, **127**, 279-288 (1983).
- 8) Sawdey, T. Ny., Lawrence, D. A., Millan, J. L. & Loskutoff, D. J.: Cloning and sequence of a cDNA coding for the human  $\beta$ -migrating endothelial cell-type plasminogen activator inhibitor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **3**, 6776-6780 (1986).
- 9) Pannekoek, H., Veerman, H., Lambers, H., Dieggaarde, P., Verweih, C. L., van Zonneveld, A. J. & van Mourik, J. A.: Endothelial plasminogen activator inhibitor (PAI): A new member of serpin gene family. *EMBO. J.*, **5**, 2539-2544 (1986).
- 10) Rosing, D. R., Brakman, P., Redwood, D. R., Goldstein, R. E., Beiser, G. D., Astrup, T. & Epstein, S. E.: Blood fibrinolytic activity in man. Diurnal variation and the response to varying intensities of exercise. *Circ. Res.*, **27**, 1711-1718 (1970).
- 11) Simpson, H. C. R., Mann, J. I., Meade, T. W., Chakrabarti, R., Stirling, Y. & Woolf, L.: Hypertriglyceridaemia and hypercoagulability. *Lancet*, **1**, 786-790 (1983).
- 12) Muller, J. E., Stone, P. H., Turi, Z. G., Rutherford, J. D., Czeisler, C. A., Parker, C., Poole, W. K., Passamani, E., Roberts, R., Robertson, T., Sobel, B. E., Willerson, J. T., Braunwald, E. & the MILIS Study Group.: Circadian variation in the frequency of onset of acute myocardial infarction. *N. Engl. J. Med.*, **313**, 1315-1322 (1985).
- 13) Muller, J. E., Ludmer, P. L., Willich, S. N., Tofler, G. H., Aylmer, G., Klangos, I. & Stone, P. H.: Circadian variation in the frequency of sudden cardiac death. *Circulation*, **75**, 131-138 (1987).
- 14) Rocco, M. B., Barry, J., Campbell, S., Nabel, E., Cook, E. F., Goldman, L. & Selwyn, A. P.: Circadian variation of transient myocardial ischemia in patients with coronary artery disease. *Circulation*, **75**, 395-400 (1987).
- 15) Marshall, J.: Diurnal variation in occurrence of strokes. *Stroke*, **88**, 230-231 (1977).
- 16) Kunitz, S. C., Gross, C. R., Heyman, A., Kase, C. S., Mohr, J. P., Price, T. R. & Wolf, P. A.: The Pilot Stroke Data Bank: definition, design and data. *Stroke*, **15**, 740-746 (1984).
- 17) Tofler, G. H., Brezinski, D., Scafer, A. I., Czeisler, C. A., Rutherford, J. D., Willich, S. N., Glaeson, R. E., Williams, G. H. & Muller, J. E.: Concurrent morning increase in platelet aggregability and the risk of myocardial infarction and sudden death. *N. Engl. J. Med.*, **316**, 1514-1518 (1987).
- 18) Mombelli, G., Hof, I., Haerberli, A. & Straub, P. W.: Effect of heparin on plasma fibrinopeptide A in patients with acute myocardial infarction. *Circulation*, **69**, 684-689 (1984).
- 19) an Hulsteijn, H., Kolff, J., Briet, E., van der Laarse, A. & Bertina, R.: Fibrinopeptide A and d-dimer-thromboglobulin in patients with angina pectoris and acute myocardial infarction. *Am. Heart J.*, **17**, 39-43 (1984).
- 20) Nillson, I. M., Ljunger, H. & Tengborn, L.: Two different mechanisms in patients with venous thrombosis and defective fibrinolysis: low concentration of plasminogen activator or increased concentration of plasminogen activator inhibitor. *Br. Med. J.*, **290**, 1453-1455 (1985).
- 21) Juhan-Vague, I., Valadier, J., Alessi, M. C., Aillaud, M. F., Ansaldi, J., Philip-Joet, C., Holvoet, P., Serradimigni, A. & Collen, D.: Deficient t-PA release and elevated PA inhibitor levels in patients with spontaneous or recurrent deep venous thrombosis. *Thromb. Haemostasis*, **57**, 67-72 (1987).
- 22) Vermynen, J. A. & Chamone, A. F.: The role of the fibrinolytic system in thromboembolism. *Prog. Cardiovasc. Dis.*, **21**, 255-266 (1979).
- 23) Hawkey, C. M., Britton, B. J., Wood, W. G., Peele, M. & Irving, M. H.: Changes in blood

- catecholamine levels and blood coagulation and fibrinolytic activity in response to graded exercise in man. *Br. J. Haematol.*, **29**, 377-384 (1975).
- 24) **Menon, I. S., Smith, P. A., White, R. W. B. & Dewar, H. A.** : Diurnal variations of fibrinolytic activity and plasma-II-hydroxycorticosteroid levels. *Lancet*, **2**, 531-533 (1976).
- 25) 松田 保 : 加齢, 老化と血液. *臨床血液*, **28**, 1085-1092 (1987).
- 26) **Flanc, C., Kakkar, V. V. & Clarke, M. B.** : Postoperative deep-vein thrombosis. Effect of intensive prophylaxis. *Lancet*, **1**, 477-478 (1969).
- 27) **Ogston, D.** : The physiology of Hemostasis, 1st ed., p.219-240, Croom Helm, London, 1983.
- 28) **Kuller, L. H.** : Epidemiology of cardiovascular diseases: Current perspectives. *Am. J. Epidemiol.*, **104**, 425-462 (1976).
- 29) **Ogston, D. M. & Andrew, G. M.** : Fibrinolysis in obesity. *Lancet*, **2**, 125-1207 (1964).
- 30) **Almer, L. O. & Janzon, L.** : Low fibrinolytic activity in obesity. *Thromb. Res.*, **6**, 171-175 (1975).
- 31) **Castelli, W. P.** : The triglyceride issue: A view from Framingham. *Am. Heart J.*, **112**, 432-437 (1986).
- 32) **Castelli, W. P., Garrison, R. J., Wilson, P. W. F., Garrison, R. J., Wilson, P. W. F., Abbott, R. D., Kalousdian, S. & Kannel, W. B.** : Incidence of coronary heart disease and lipoprotein cholesterol levels: the Framingham study. *JAMA.*, **256**, 2835-2838 (1986).
- 33) **Fulton, W. F. M.** : Coronary thrombotic occlusion in myocardial infarction and thrombus in pathogenesis of atherosclerosis. In L. A. Carlson, R. Paoletti, C. R. Sirtori & G. Weber (eds.), In the Conference on Atherosclerosis, 1st ed. p.75-95, Raven Press, New York, 1978.
- 34) **Hamsten, A., Wiman, B., De Faire, U. & Blomback, M.** : Increased plasma levels of a rapid inhibitor of tissue plasminogen activator in young survivors of myocardial infarction. *N. Engl. J. Med.*, **313**, 1557-1563 (1985).
- 35) **Andersen, P., Arnesen, H. & Hjermer, I.** : Hyperlipoproteinaemia and reduced fibrinolytic activity in healthy coronary high-risk men. *Acta Med. Scand.*, **209**, 199-202 (1981).
- 36) **Booyse, F. M., Bruce, R., Gianturco, S. H. & Bradley, W. A.** : Normal but hypertriglyceridemic very low-density lipoprotein induces rapid release of tissue plasminogen activator from cultured human umbilical vein endothelial cells. *Semin. Thromb. Hemostasis*, **14**, 175-179 (1988).
- 37) **Almer, L. O., Sundkvist, G. & Lilja, B.** : Endothelial factors, toe temperature and leg circulation in diabetics with and without autonomic neuropathy. *Thromb. Res.*, **26**, 119-128 (1982).
- 38) **Sharma, S. C.** : Platelet adhesiveness, plasma fibrinogen and fibrinolytic activity in juvenile onset and maturity on set diabetes mellitus. *J. Clin. Pathol.*, **34**, 501-503 (1981).
- 39) **Bern, M. M., Cassani, N. P., Horton, J., Rand, L. & Davis, G.** : Changes in fibrinolysis and factor VIII coagulant antigen and ristocetin co-factor in diabetes mellitus and arteriosclerosis. *Thromb. Res.*, **19**, 831-839 (1980).
- 40) **Juhan-Vague, I., Vague, P., Poisson, C., Aillaud, M. F., Mendez, C. & Collen, D.** : Effect of 24 hours of normoglycaemia on tissue-type plasminogen activator plasma levels in insulin-dependent diabetes. *Thromb. Haemostasis*, **51**, 97-98 (1984).
- 41) **Kooistra, T., Bosma, P. J., Tons, H. A. M., van den Berg, A. P., Meyer, P. & Princen, H. M. G.** : Plasminogen activator inhibitor 1: Biosynthesis and mRNA level are increased by insulin in cultured human hepatocytes. *Thromb. Haemostasis*, **62**, 723-728 (1989).
- 42) **Doyle, J. T., Dawber, T. R., Kannel, W. B., Kinch, S. H. & Kahn, H. A.** : The relationship of cigarette smoking to coronary heart disease. *JAMA.*, **190**, 886-890 (1964).
- 43) **Hawkins, R. I.** : Smoking, platelet and thrombosis. *Nature*, **236**, 450-452 (1972).
- 44) **Engelberg, H.** : Cigarette smoking and the in vitro thrombosis of human blood. *JAMA.*, **193**, 1033-1035 (1965).
- 45) **Tanaka, K.** : Thrombosis and vascular wall reaction. *Acta Haematol. Jpn.*, **46**, 789-796 (1983).
- 46) **Adelman, B., Sterman, M. B. & Handin, R. I.** : Interaction of platelets and fibrin with injured rabbit aortic neointima. *Arteriosclerosis*, **3**, 141-148 (1983).
- 47) **Booth, N. A., Simpson, A. J., Croll, B. &**

- MacGregor, I. R. : Plasminogen activator inhibitor (PAI-1) in plasma and platelets. *Br. J. Haematol.*, **70**, 327-333 (1988).
- 48) Lane, D. A., Wolff, S., Ireland, H., Gawel, M. & Foadi, A. : Activation of coagulation and fibrinolytic system following stroke. *Br. J. Haematol.*, **53**, 655-658 (1983).
- 49) Shah, A. B., Beamer, N. & Coull, B. M. : Enhanced in vivo platelet activation in subtypes of ischemic stroke. *Stroke*, **16**, 643-647 (1985).
- 50) Smith-Erichsen, N., Aasen, A. O., Gallimore, M. J. & Amundsen, E. : Studies of components of the coagulation systems in normal individuals and septic shock patients. *Circ. Shock*, **9**, 491-497 (1982).
- 51) Hellgren, M., Egberg, N. & Eklund, J. : Blood coagulation and fibrinolytic factors in critically ill patients. *Intensive Care Med.*, **10**, 23-28 (1984).
- 52) 松田 保: DIC の臨床, 第3版, p.23-24, 新興医学出版, 東京, 1981.

**Studies on Plasminogen Activator Inhibitor-1 in Plasma in Various Physiological and Pathological Conditions** Hiroshi Jokaji, Department of Internal Medicine (III), School of Medicine Danazawa University, Kanazawa 920-J. *Juzen Med Soc.*, **100**, 868-882 (1991)

**Key words** plasminogen activator inhibitor-1, enzyme-linked immunosorbent assay, circadian fluctuations, diabetes mellitus, sepsis

**Abstract**

Changes in plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) antigen levels in plasma, in different physiological and pathological conditions, were studied in more than 200 subjects. The PAI-1 levels were measured with an enzyme-linked immunosorbent assay. The assay was more sensitive to free PAI-1 than to the PAI-1/tissue-type plasminogen activator (t-PA) complex. A positive or strong correlation was observed between PAI activity and PAI-1 antigen ( $r=0.75$ ,  $p<0.001$ ). Daily fluctuations of PAI-1 were measured in 8 healthy young volunteers. PAI-1 levels decreased throughout the day in all subjects, reaching a minimum at 6 P. M. and 9 P. M., then increased to its peak values at 3 A. M. and 8 A. M.. Ninety-five subjects who were healthy or had impaired glucose tolerance and/or hyper-lipidemia, but who otherwise had no other diseases, were chosen from subjects on short-term admission for health checks. There was no age-related change in PAI-1 but PAI-1 levels were significantly higher in males than in females ( $p<0.05$ ). There was a significant correlation between levels of PAI-1 and body mass indices (weight/height<sup>2</sup>) ( $r=0.38$ ,  $p<0.001$ ). Levels of PAI-1 also correlated significantly with serum triglyceride or HDL-cholesterol levels ( $r=0.54$ ,  $p<0.01$ ,  $r=-0.26$ ,  $p<0.05$ , respectively). There was no significant difference in PAI-1 levels between the subjects with or without abnormal glucose tolerance. There was a significant correlation between levels of PAI-1 and serum insulin or fasting blood-sugar levels ( $r=0.29$ ,  $p<0.05$ ,  $r=0.26$ ,  $p<0.05$ ). PAI-1 levels in smokers and non-smokers were the same. Arteriosclerotic changes of eye fundi did not affect PAI-1 levels. To evaluate whether PAI-1 released from platelet influences the level of PAI-1 in plasma, 23 patients with idiopathic thrombocytopenic purpura or aplastic anemia were studied. These patients had approximately normal PAI-1 levels in plasma. Levels of PAI-1 were measured in 55 patients who had suffered strokes (infarction and hemorrhage). Levels of PAI-1, within 48 hr, and on the 3rd or 4th, 7th and 30th day following the stroke, and on the 3rd or 4th day following the development of cerebral hemorrhage, showed a transient decline. In the patients who had suffered a chronic stroke, PAI-1 levels

obtained at least 3 months following the stroke showed no significant changes. Levels of PAI-1 in 35 patients with sepsis significantly increased ( $p < 0.01$ ). Notably, PAI-1 levels rose markedly in patients with poor prognosis ( $p < 0.01$ ). From this study, it is suggested that the immunological assay of PAI-1 in plasma reflects PAI-1 activity and that levels of PAI-1 increase in the thrombophilic state.