

胎盤抽出液の線溶系阻害作用

金沢大学医学部第二病理学教室(主任 石川大刀雄教授)

川野 武彦

(昭和41年8月2日受付)

胎盤早期剝離, 羊水栓塞, 死児子宮内稽留, 流産などの妊娠異常に伴う重症の出血の主な原因について, 組織トロンボプラスチンの流入によるフィブリノーゲンの母体血管内凝固と母体血液の線溶活性の昂進とが指摘され多くの議論がなされてきた¹⁾²⁾³⁾. 最近, 血液凝固系の昂進が線溶活性の昂進を誘発するという考えを裏づける事実が増えつつあるが⁴⁾⁵⁾⁶⁾⁷⁾⁸⁾, たとえ線溶活性の昂進が二次的なものであるとしても, それが血液凝固機構を障害するには相違ないから, 出血現象における線溶系のもつ意義が小さいとは考えられていない⁹⁾¹⁰⁾¹¹⁾¹²⁾.

胎盤, 子宮, 羊水などに組織トロンボプラスチンが多量に存在することはよく知られている¹⁾. 一方 Astrup らによって着目された線溶系の組織性活性化因子 (tissue activator)¹³⁾ は卵巣¹⁴⁾¹⁵⁾¹⁶⁾, 子宮¹⁴⁾¹⁵⁾¹⁶⁾, 子宮内膜¹⁷⁾¹⁸⁾ および筋層¹⁸⁾ など妊娠に関する器官および組織に強力に存在することが示されている. 胎盤については Albrechtsen¹⁷⁾ および Beller¹⁹⁾ は全く活性がないと報告しているが, Lewis and Ferguson¹⁴⁾ および Phillips ら¹⁸⁾ は活性の認められる分画または場合のあることを報告し, また西村・渡辺²⁰⁾ は異常胎盤には軽度の活性を認めている. 一方 Niesert and Bachmann²¹⁾ は胎盤抽出液が clot lysis を阻害することを報告し, Lieberman²²⁾ は胎盤が組織性活性化因子に対する阻害作用を有することを指摘している. 著者は胎盤から組織性活性化因子の抽出を試み, 同時に尿に含まれる活性化因子(ウロキナーゼ)に対する阻害作用を観察したところ, Astrup らの標準的な抽出法²³⁾ (第1図) に従う各分画について, 線溶活性は全く認められず, 他方多かれ少なかれウロキナーゼに対する阻害作用が示された.

このような線溶系の阻害因子が胎盤に存在することは逆に妊娠・分娩時における線溶系の介入を暗示していると理解されようし, また胎盤について活性化因子の存在が明瞭に示されないのは阻害因子の共存のため

である可能性も強い. そこで著者は, ヒト胎盤からこの阻害因子を抽出し, 他の各種の阻害物質と比較することにより, 胎盤の有する線溶系阻害作用の特徴を明らかにするための検討を行なった.

実験方法

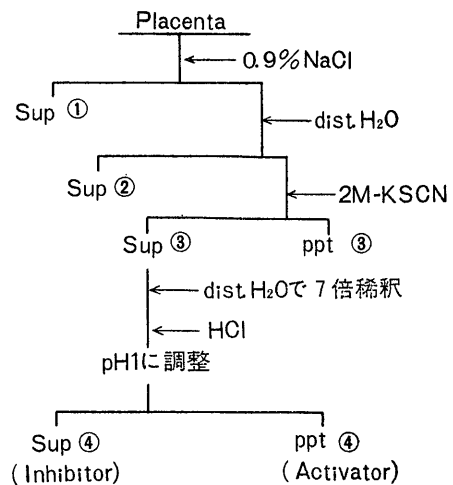
1. 実験材料

1) 胎盤抽出液 (PLE):

分娩直後のヒト胎盤を清潔なポリ袋に入れ -20°C に凍結保存する. 凍結胎盤200個を径 5 mm 以上の粗大片を認めなくなるまで碎き, 0.9% 食塩水 200 ml を加え30分間 $5\sim 10^{\circ}\text{C}$ で攪拌抽出する. この混合液を遠心分離にかけて固形物を除いた上清を PLE とする. Kjeldahl 法による蛋白態窒素は 3.75 mg/ml, 非蛋白態窒素は 0.27 mg/ml, また Wong 法²⁴⁾ によるヘモグロビン含量は 16.8 mg/ml であった. これを小分けして凍結しておき, 用時融解して使用した.

2) フィブリノーゲン:

第1図 胎盤成分の分画



Fibrinolytic Inhibition of Human Placental Extracts. **Takehiko Kawano**, Department of Pathology (Director: Prof. T. Ishikawa), School of Medicine, Kanazawa University.

人血漿の Cohn の分画 I²⁵⁾ (株式会社ミドリ十字製) から Blombäck and Blombäck²⁶⁾ の分画 I-O に相当するフィブリノーゲンを調製した。分画 I-O をクエン酸緩衝液に溶解し、バイアル瓶に均等に小分け、凍結乾燥し、冷室に保存した。1 瓶中の総蛋白質 1.00 g, 凝固性蛋白質 0.84 g (従って純度 84%), カゼイン分解法²⁷⁾によるプラスミノゲン量は 29 カゼイン単位 (C.U.) であった。用時冷室より取り出し、0.1M リン酸緩衝液 (pH 7.2) に溶解し 100 ml とした。

3) トロンビン:

Miller and Copeland²⁸⁾ の方法によるヒト・トロンビンの凍結乾燥品 (株式会社ミドリ十字製) を用いた。1 瓶中のトロンビン力価 500 NIH 単位, プラスミノゲン量は 5 C.U. であった。冷室に保存し、用時冷室より取り出し 0.1 M リン酸緩衝液 (pH 7.2) に溶解した。

4) イプシロン・アミノカプロン酸 (EACA):

キシダ化学製試薬, m.p. 202.5°C. 蒸留水に溶解し $5 \times 10^{-1} M$ (6.56%) を以て原液濃度とした。1 部の実験において、東京化成工業製の EACA および第 1 製薬工業製「5% イプシロン注」を併用したが、異なった成績は得られなかった。

5) 人血漿分画 IV-1 (Fr. IV-1):

Grob²⁹⁾ によって血漿のプラスミン阻害作用は、Cohn の分画 IV-1²⁵⁾ に強いことが報告され Norman and Hill³⁰⁾ によって確認されているので、Fr. IV-1 (株式会社ミドリ十字製) を比較に用いた。Fr. IV-1 ペースト 100 g をベロナール緩衝液 (pH 7.8) に溶解し 100 ml とした。蛋白態窒素 2.07 mg/ml, 非蛋白態窒素 0.88 mg/ml であった。-20°C に凍結保存し、必要に応じ融解して用いた。

6) 人血漿上清 III-2,3 (Eff III-2,3):

後記の Sgouris らの方法³¹⁾ によって人血漿分画 III³²⁾ (株式会社ミドリ十字製) からプラスミノゲンを調製する際、著者は屢々、分画 III よりも分画 III-2,3 においてストレプトキナーゼ添加後の総活性の高いことを認めた。従ってその間に分離・廃棄される Eff III-2,3 に阻害因子の含まれることを推測し使用した。蛋白態窒素 1.98 mg/ml, 非蛋白態窒素は検出されなかった。

7) Pig Lung Inhibitor (PLI):

新鮮な豚の肺臓から Astrup らの方法²³⁾ によって PLI を抽出し、-20°C に凍結保存し、必要に応じ融解して用いた。蛋白態窒素 0.042 mg/ml, 非蛋白態窒素 0.009 mg/ml であった。

8) Urinary Trypsin Inhibitor (UTI):

Astrup and Sterndorff の方法³³⁾ に従い新鮮なヒト尿のトリプシン阻害物質を分離し、-20°C に凍結保存した。蛋白態窒素 1.13 mg/ml, 非蛋白態窒素は検出されなかった。

9) ウロキナーゼ (UK):

Sgouris らの方法³⁴⁾ の一部変法によるヒト尿ウロキナーゼ (株式会社ミドリ十字製)³⁵⁾。力価は Ploug and Kjeldgaard の方法³⁶⁾ によって測定され、表示されている。蛋白 mg 当り約 2,000 PK 単位, カゼイン分解法で測定すると 375 ウロキナーゼ単位³⁴⁾ であった。冷室に保存し用時蒸留水に溶解した。

10) ストレプトキナーゼ (SK):

“Varidase” for local and tropical use (Lederle Laboratories) を蒸留水に溶解して用いた。SK の力価は Christensen 単位による表示に従った。

11) Pig Heart Activator (PHA):

新鮮な豚の心臓から Astrup らの方法²³⁾ によって調製し、2 M のチオシアン酸カリに溶解、-20°C に保存した。蛋白態窒素 0.41 mg/ml, 非蛋白態窒素 0.05 mg/ml であった。

12) プラスミノゲン (PIg) およびプラスミン:

人血漿の分画 III から Sgouris らの方法³¹⁾ の Hink and McDonald の変法³⁷⁾ によってプラスミノゲンを調製した。得た PIg は窒素 mg 当り 45 C.U. で Sgouris らの原報より 稍々比活性は低いが、0.1 M グリシン-塩酸緩衝液 (pH 2.9) での界面電気泳動 (Beckman/Spinco Model H による) では原報通り 2 成分であった。この PIg 液を除菌濾過後その 1 容に、0.2 M リン酸緩衝液 (pH 7.2) 1 容とグリセリン 2 容を混合して滅菌した液を加え、37°C 8 日間置いて自然活性化³⁸⁾を行なった。活性化前の PIg 量 37.3 C.U./ml, 活性化後はプラスミン 18.8 C.U./ml, PIg 19.2 C.U./ml で、活性化率約 50% に止まり、総力価の減少はなかった。この自然活性化液をプラスミンとし、-20°C に保存し使用した。

13) トリプシン:

Nutritional Biochemicals Corp 製の Trypsin 2× Crystal (Salt Free) を蒸留水に溶解して用いた。

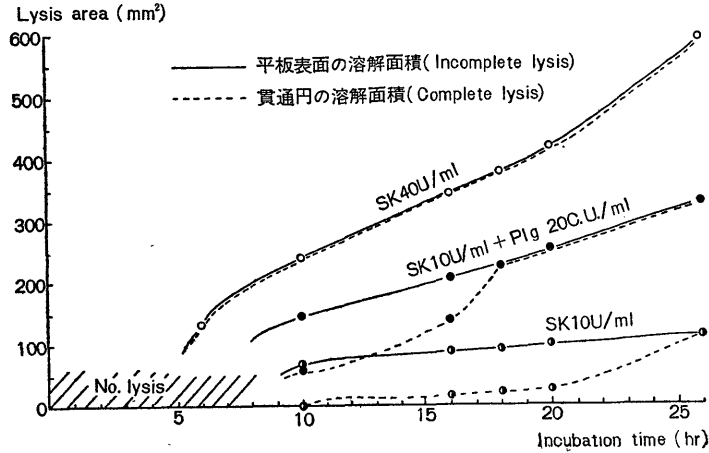
2. 実験方法

線溶活性の測定方法: ヒト・フィブリンの溶解作用を平板法ならびに溶解時間法によって測定した。

1) フィブリン平板法:

Astrup and Müllertz の方法³⁹⁾ に準じた。平板

第2図 インキュベーション時間と溶解面積



は厚さ 2.4 mm の均一な層で、主な組成は次の如く求められる：凝固性蛋白 0.4%，Plg 含量 0.15 C. U./ml，トロンビン（添加量）1.5 NIH 単位/ml。加熱平板の場合には Lassen の方法⁴⁰⁾に従い、上記のフィブリン平板を 80°C 60分加熱処理して Plg を破壊した。使用する平板の種類は、特に記述しない限り、活性化因子即ち UK, SK および PHA の場合には非加熱平板、活性酵素即ちプラスミンおよびトリプシンの場合には加熱平板である。

阻害作用を測定する場合には、線溶活性を有する試料と阻害物質試料とを等量混合しその 0.02 ml を平板につける。対照の場合には、活性を有する試料と阻害物質の溶媒とを等量混合しその 0.02 ml を平板につける。37°C 20時間インキュベートし、溶解円の直角な 2 直径の積を以て溶解面積 (mm²) を表わす。1 試料につき 3 つの測定を行ない平均値をとった。

線溶活性の弱い場合には溶解円が平板を貫通せず、表面のみに溶解が認められて判定に苦しむことがある。溶解の進行状況を時間的に観察すると、表面のみの不完全溶解の場合でも、表面の溶解面積を採用する方が妥当と考えられ (第 2 図)、以後そのような方法をとった。

2) フィブリン溶解時間法:

Loomis⁴¹⁾-Ambrus⁴²⁾の方法に従い、45°C においてフィブリンの凝固から凝塊中の気泡が液面に上浮するまでの時間を以て溶解時間とし、1 試料につき 3 回測定して平均値をとった。

活性化因子、阻害物質および Plg の濃度・添加順序などについては各実験の項で述べるが、それぞれの溶液 0.2 ml 宛の混合液 (0.6 ml) を作り、その 0.2

ml にトロンビン溶液 0.1 ml (10 NIH 単位) を加え、ついで 0.6% (凝固性蛋白) のフィブリノーゲン溶液 0.3 ml を吹き込んで凝塊を形成させる。従って測定系 (試験管内) での活性化因子、阻害物質および Plg の終濃度は、それぞれもとの試料の 1/9 となり、フィブリノーゲンは 1/2 となる。フィブリノーゲンおよびトロンビンに由来する Plg 量は試験管当たり 0.165 C.U. である。対照については阻害物質試料の代わりに蒸留水を用いた。

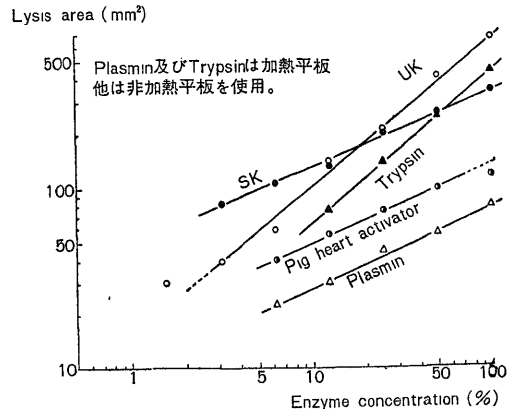
実験成績

I. 平板法による各種阻害物質との比較

1. 線溶活性の表示

酵素濃度の稀釈列について濃度と溶解面積との関係を求めると、両者の対数が直線関係になる (第 3 図)。即ち濃度 C と溶解面積 A との間には、Astrup and

第3図 酵素濃度と溶解面積



Müllertz³⁹⁾の指摘する如く $\log A = a \cdot \log C + b$ の一般式が成立する。この関係は毎常認められるが、勾配常数 a の値は一定条件においても厳密に一定でなく³⁹⁾⁴³⁾⁴⁴⁾、著者はUKについて0.67~0.97の変動を経験した。然しながら、溶解面積の値のままの表示では(対数関係が含まれるため)線溶性の相対的な比較の尺度として不適当なので、勾配常数 a の値を次の如く一定とし、対照の活性100%に対する試料群の活性をパーセントで表示することとした。

酵 素	勾配常数 a
UK	0.85
SK	0.43
PHA	0.45
プラスミン	0.45
トリプシン	0.87

2. ウロキナーゼに対する阻害

第4図はUKに対する阻害を图示したものである。阻害物質試料は、前に材料の項に述べた試料を原液とし、その10, 100, 1000 および 10000倍稀釈の5段階とした。稀釈液はEACA および Eff III-2,3 は蒸留水, PLE および UTI は食塩水, Fr. IV-1 および PLI はベロナール緩衝液(pH 7.8)である。図の上に対照(活性100%)の溶解面積を掲げた。

PLE は UK に対して非常に強い阻害を示した。EACA は原液および低濃度である程度の阻害を示した。Fr. IV-1 は低濃度では阻害を示すが、高濃度では活性増強作用が著しい。Eff III-2,3 および UTI は寧ろ高濃度での活性増強が顕著である。PLI は明瞭な影響をおよぼしていない。

3. ストレプトキナーゼに対する阻害

第5図に示される如く、SK に対しては EACA および Eff III-2,3 の阻害が強力で、また PLI も原液濃度で強い阻害を示した。PLE は SK に対して阻害を示さない許りでなく、極めて強い活性増強作用を示した。Fr. IV-1 および UTI では、UK に対する場合と同様強い活性増強作用が認められた。

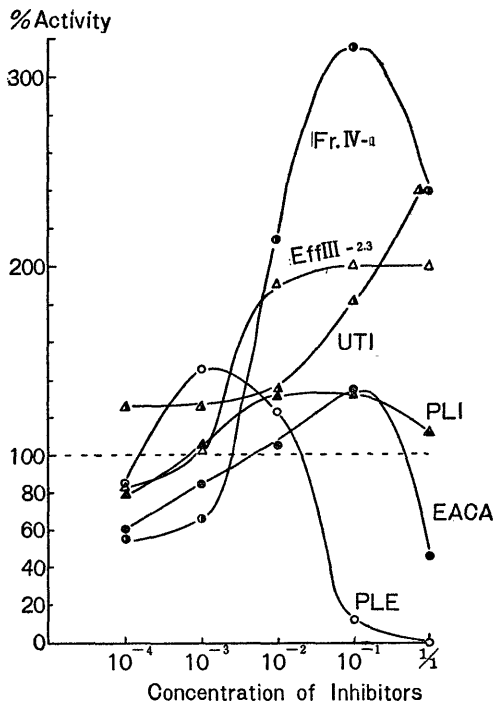
4. Pig Heart Activator に対する阻害

第6図に示される如く、Eff III-2,3 が高濃度で強い阻害を示し、PLE もそれに似た影響を示したが阻害の程度は余り強くない。また EACA および PLI は確実な阻害傾向を示した。Fr. IV-1 は原液濃度で可成り強い阻害を示し、UTI は明瞭な影響をおよぼしていない。

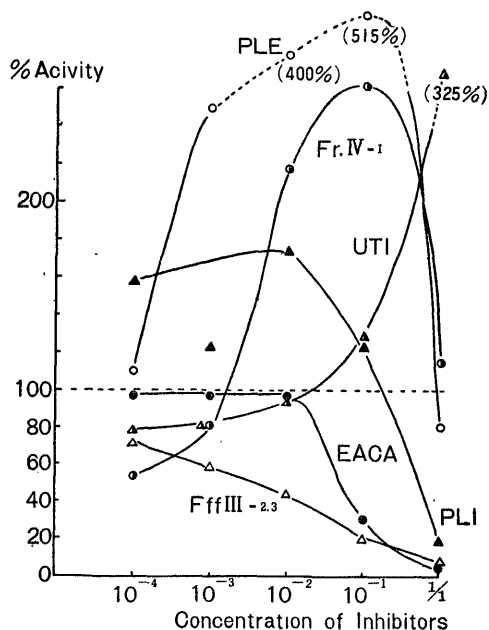
5. プラスミンに対する阻害

第7図に示される如く、PLI が強い阻害、Eff III-2,3 が可成り強い阻害を示した。PLE は UTI と同

第4図 UKの活性におよぼす影響
対照の溶解面積(mm²) PLE: 295, EACA: 285,
Fr.IV-1: 202, EffIII-2,3: 145, PLI: 194, UTI: 172



第5図 SKの活性におよぼす影響
対照の溶解面積(mm²) PLE: 116, EACA: 161,
Fr. IV-1: 129, Eff III-2,3: 153, PLI: 110, UTI:
172

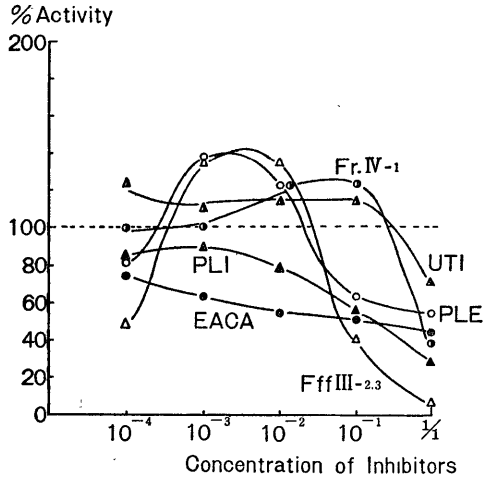


様、余り明瞭な影響をおよぼしていない。EACA はプラスミンに対して強い活性増作用を示した。Fr. IV-1は原液で若干阻害を示したが、低濃度での活性増強作用の方が明瞭である。

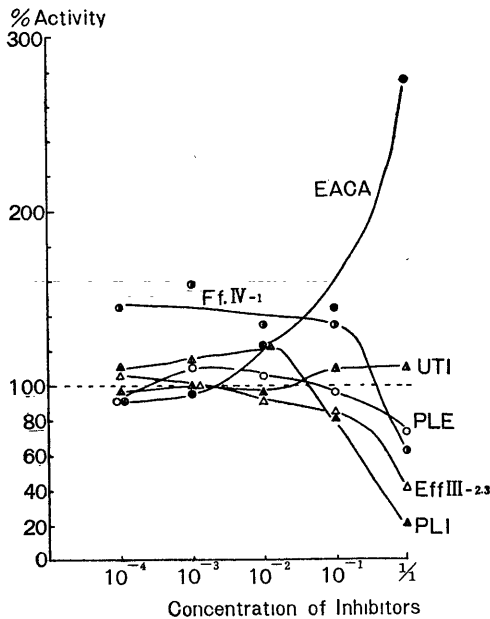
6. トリプシンに対する阻害

第8図に示される如く、PLE, Eff III-2,3 および

第6図 PHAの活性におよぼす影響
対照の溶解面積 (mm²) PLE: 59, EACA: 74,
Fr. IV-1: 62, Eff III-2,3: 69, PLI: 60, UTI: 40



第7図 プラスミンの活性におよぼす影響
対照の溶解面積 (mm²) PLE: 166, EACA: 166,
Fr. IV-1: 175, Eff III-2,3: 202, PLI: 190, UTI: 209



UTI がいずれも原液で強い阻害を示した。PLI は10倍希釈液での阻害が明瞭で、原液では却って阻害がなかった。EACA は殆ど影響せず、Fr. IV-1は弱い活性増強作用を示したのみで阻害は認められなかった。

7. 各阻害物質の影響の比較

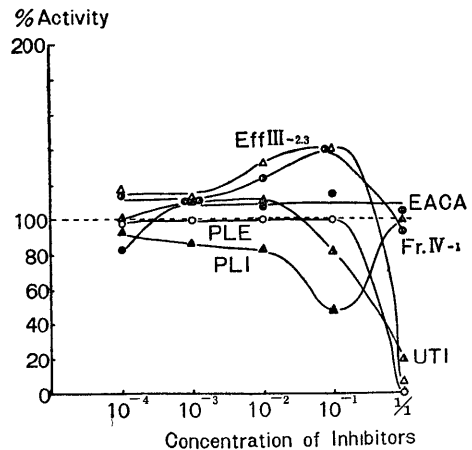
線溶系の阻害物質としてよく知られている EACA も、濃度によっては活性増強作用を現わす⁴⁵⁾⁴⁶⁾。また VonKaula は活性化作用を有する合成有機化合物が、高濃度においては逆に阻害的に働く⁴⁷⁾と述べている。更に SK が高濃度において線溶現象を阻害するが如く作用し、ヘパリンが低濃度においては活性増強、高濃度においては阻害作用を有することはよく知られている。著者の実験においては、試料が精製品でないことも一因であらうが、同一試料が濃度によって阻害と活性増強の両作用を示す例が少なくない。従って総合的に比較するために、次の判定基準を設けた。即ち阻害作用の程度の判定は

- a. 活性80%以下 1点……………±
- b. 活性80%以下 2点……………+
- c. 活性80%以下 3点以上または50%以下 1点
あるいは 2点……………++
- d. 活性50%以下 3点以上または20%以下 1点
……………+++
- e. 活性20%以下 2点以上……………++++

活性増強作用の判定に当っては、上記の80%、50%および20%以下の代りにそれぞれ120%、150%および200%以上を基準として同様な方法をとる。その結果をまとめたものが第1表である。

PLE は、UK に対する非常に強い阻害、トリプシ

第8図 トリプシンの活性におよぼす影響
対照の溶解面積 (mm²) PLE: 219, EACA: 268,
Fr. IV-1: 175, Eff III-2,3: 164, PLI: 270, UTI: 153



第1表 各阻害物質の影響

		U K	S K	PHA	プ ラ ス ミ ン	ト リ プ シ ン
P L E	阻 害	卍	—	+	—	卍
	活性増強	+	卍	+	—	—
EACA	阻 害	卍	卍	卍	—	—
	活性増強	+	—	—	卍	—
IV-1	阻 害	+	+	卍	±	—
	活性増強	卍	卍	+	卍	+
III-2,3	阻 害	—	卍	卍	卍	卍
	活性増強	卍	—	+	—	+
PLI	阻 害	±	卍	卍	卍	卍
	活性増強	+	卍	—	±	—
UTI	阻 害	—	—	—	—	卍
	活性増強	卍	卍	—	—	—

ンに対する相当強い阻害, SK に対する非常に強い活性増強作用, が特徴的である. PHA に対する影響は弱く, グリセリン活性化プラスミンには殆んど影響をおよぼさない. これと同様な態度を示すものは認められない. 例えば EACA は, UK に対する阻害よりも SK に対する阻害の方が強く, トリプシンを全く阻害せず, プラスミンに対しては活性増強作用が著しい.

比較に用いた各阻害物質の原液濃度は任意なもので相互に関連を有しないが, 濃度範囲が広いのでそれぞれの阻害傾向を掴めることはできていると思われる.

PLE は, 低分子の阻害物質 EACA, 人血漿の Fr. IV-1 および Eff III-2,3, 組織性阻害因子 PLI および尿に由来する UTI のいずれとも異なる独特な線溶解系への影響を有し, 特に UK に対しては最も強力な阻害作用を有する, と結論されよう. Brakman and Astrup⁴⁸⁾ は妊娠時の血液は正常血液に比較して, UK 阻害が強く, SK に対して活性増強作用を有し, グリセリン活性化プラスミンには影響を有しないことを報告しているが, 著者の PLE に関する成績はそれとよく一致している.

血漿性阻害因子について付言すると, これは従来分画 IV を含むアルブミン側に分離されると考えられていたが²⁹⁾³⁰⁾⁴⁹⁾, 著者の実験では Fr. IV-1 よりも寧ろ Eff III-2,3 に強い阻害が認められた. Fr. IV-1 に強い阻害の認められなかった理由として, 線溶解性試料と測定方法の相異が挙げられよう. 一方, 分画 III に阻害

因子の存在を示した直接的報告はないが, Shulman⁵⁰⁾ が euglobulin 分画から阻害物質を精製したのを始め, euglobulin 分画と阻害因子との関係を示唆する報告も少なくない³¹⁾⁵¹⁾⁵²⁾. 本実験の成績は, 分画 III から可成り強力な血漿性阻害因子の分離されることを明らかにした.

II イブシロン・アミノカプロン酸との比較

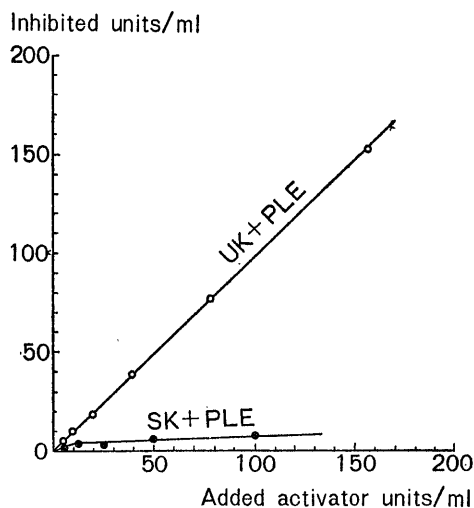
前 I, の実験において, 阻害物質の濃度を変化させフィブリン平板法によって, PLE の阻害作用を EACA を含む各種阻害物質と比較したが, 更にその特徴を明確にするために, UK および SK に対する態度を種々の角度から EACA と比較検討した.

1. 平板法における活性化因子濃度と阻害度との関係

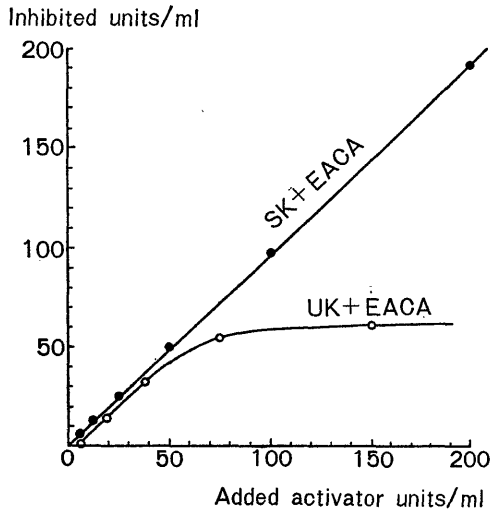
今回は PLE および EACA を阻害の強い原液濃度に限定し, 活性化因子の濃度を変化させて阻害状況を観察した. 測定方法は前の実験と同様であるが, 横軸に添加した UK または SK の試料の力価をとり縦軸に PLE または EACA によって活性発現の阻害された力価をとって図示した.

実験成績は PLE については第9図 EACA については第10図の如くであった. PLE の UK 阻害は強力な, UK 濃度に関係なく殆んど100%定量的に UK を阻害した. しかし SK 阻害は非常に弱く, 且つ SK 濃度が高くなるにつれ, 阻害力価が一定限度に達するので, 阻害率の低下が見られた. 他方 EACA の UK 阻害は余り強くなく, しかも PLE の SK 阻害の場合のように, UK が高濃度になるにつれて阻害率の低

第9図 PLEによる阻害. 活性化因子濃度と阻害度との関係 (平板法)



第10図 EACA による阻害. 活性化因子濃度と阻害度の関係 (平板法)



下が見られたが, SK 阻害は強力で SK 濃度に関係なく殆んど100%定量的に SK を阻害した。

以上の如く, PLE と EACA とは, UK および SK に対し全く対照的な阻害態度を示した。

2. 加熱平板における阻害

PLE の UK 阻害や EACA の SK 阻害が, Plg の活性化の阻害であるかまたは生じたプラスミンの蛋白分解作用の阻害であるかを明確にする目的で, PLE または EACA を Plg の活性化の前または後に添加し, 加熱平板における阻害を観察した (第2表)。その結果興味あることは, EACA が SK に対しても, また活性化の前に添加された場合にも, 全く阻害を示さず寧ろ活性増強作用を示すということである。

PLE は UK に対して非加熱平板同様阻害を示した。PLE を活性化後に加えても阻害作用はあるが, 活性化前に加えた方が阻害は大きい。従って PLE は活性化されたプラスミンの蛋白分解作用と Plg の活性化との両方を阻害しているように見える。

EACA に関する成績は, 前の実験と考え併せ, EACA の阻害の発現にフィブリン (基質) 中の intrinsic な Plg の存在の必要性を暗示している。このことは, EACA とグリセリン活性化プラスミンとの組合せにおいて, 加熱平板では活性増強作用のみが示されるが (第7図), 非加熱平板では Alkjaersig ら⁴⁵⁾の成績と同様 EACA の高濃度で阻害の示されることによって確められた。フィブリンを基質とした EACA のプラスミンに対する阻害の報告⁴⁵⁾⁵³⁾⁵⁴⁾ではいずれも Plg を含むフィブリンが用いられており, プラスミンの蛋白分解作用に対する阻害かまたはプラ

スミンによる Plg の活性化⁸⁾³⁸⁾⁵⁵⁾の阻害かは明確でない。第2表の成績は後者の可能性を示しており, 蛋白分解作用に関しては, Donaldson and Ratnoff⁵⁶⁾によって認められたように, 寧ろプラスミンの auto-lysis を阻害して保護的に働きプラスミンのフィブリンに対する作用を阻害してはいない, と解釈できる。

3. 溶解時間法における阻害物質濃度と阻害度との関係

フィブリン平板法には数々の長所⁵⁷⁾もあるが, 反応に時間がかかりまた溶解面積の増大によって薬剤の濃度低下を来す欠点がある。そこで著者は, 溶解時間法を用いて更に PLE と EACA の比較を試みた。

(1) 測定系は先ず UK または SK と Plg とを混合し, インキュベーション後 PLE または EACA を加え, 更にトロンビンおよびフィブリノーゲンを加えるものとした。

それぞれ25単位の UK または SK と 10 C.U./ml の Plg とを等量混合し, 37°C でインキュベートする。その後の阻害物質試料, トロンビン, フィブリノーゲンの添加は連続してできるだけ速かに行なう。阻害物質試料の代わりに蒸留水を用い, 先ずインキュベーションの時間と溶解時間との関係を求めると第3表の如くで, UK による活性化には少々時間を要する。安定性は, Blix⁵⁸⁾も示しているように, UK の場合は安定で SK の場合は次第に失活する。従ってインキュベーションは5分と定めた。また, UK あるいは SK 濃度を変えた標準曲線は, 例えば第11図の如く, 活性

第2表 加熱平板による成績

37 C, 60分	溶解面積
UK+Plg + PLE	86 mm ²
" " + EACA	324
" " + Saline	123
UK+PLE + Plg	68
" +EACA + "	292
" +Saline + "	116
SK+Plg + PLE	140 mm ²
" " + EACA	121
" " + Saline	98
SK+PLE + Plg	116
" +EACA + "	205
" +Saline + "	90

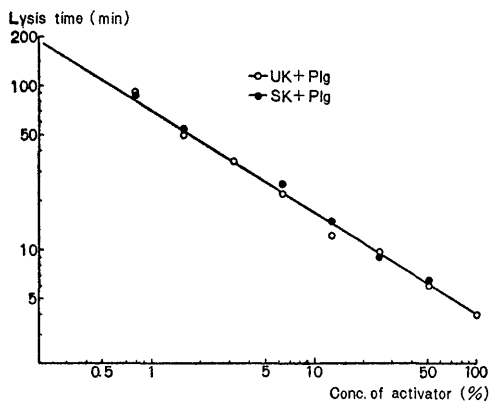
UK : 20 U/ml, SK : 20 U/ml,
Plg : 50 C.U./ml, PLE : 胎盤抽出原液,
EACA : 5×10^{-4} M in saline

化因子濃度と溶解時間との両対数は直線関係を示す。これは従来の報告⁵⁸⁾⁵⁹⁾と一致する。更に UK, SK ともに勾配が等しく、濃度の尺度を適当にとれば同一の

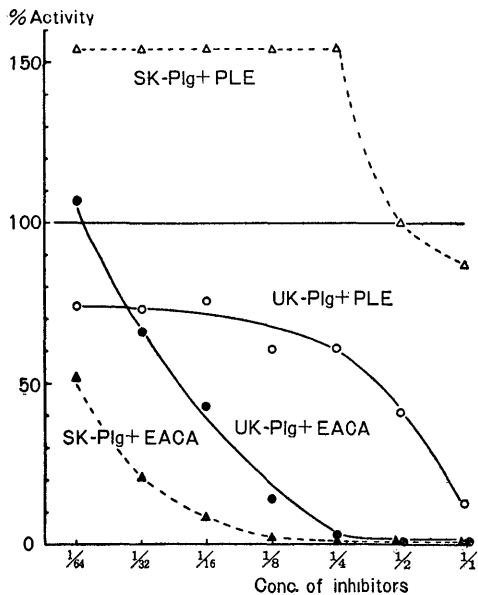
第3表 インキュベーション時間の影響

インキュベーション時間	溶解時間	
	UK	SK
0分	8分 00秒	5分 31秒
5	6. 30	6. 30
30	—	8. 10
60	6. 30	9. 40

第11図 活性化因子濃度と溶解時間 (Plg 量一定)



第12図 阻害試料濃度の影響. (1) 活性化後に試料を添加

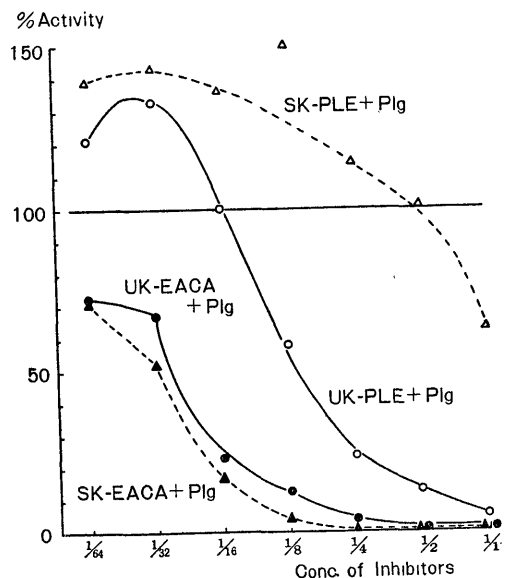


標準曲線を用いることができる。

次に、このような標準曲線によって、対照の活性を100%とし、原液から64倍稀釈までの PLE または EACA を加えた場合の活性を測定すると、第12図の如くであった。PLE の場合、SK に対する態度は平板法における成績と同様の傾向を示し、UK に対する阻害は平板法の場合より稍々弱まって見える。他方 EACA は、SK に対しては勿論のこと UK に対しても強力な阻害作用を示した。UK に対する阻害は、溶解時間法では平板法とは逆に、EACA の方が PLE より強力である。しかしなお、EACA だけについて言えば、UK よりは SK に対する阻害の方が強い。

(2) PLE また EACA による阻害が、Plg の活性化の段階で起るかまたはプラスミンの作用に対して起るかを見るために、試料の添加順序を変更し、先ず活性化因子と PLE または EACA とを混合し、37°C 5分間インキュベートした後、Plg、トロンビンおよびフィブリノーゲンを加えた。試料の濃度および量は前(1)の実験と同じである。結果は、PLE の高濃度領域および EACA の低濃度領域での UK 阻害が第12図に示されているよりも若干強く示されたが、Alkjaersig⁴⁵⁾が牛フィブリンを用い EACA について示したような、活性化の前または後に添加した場合の顕著な差は見られなかった(第13図)。これについては、藤井ら⁷⁹⁾が述べている牛の Plg と人の Plg との活性化機構の相異も一因として考えられる。

第13図 阻害試料濃度の影響. (2) 活性化前に試料を添加



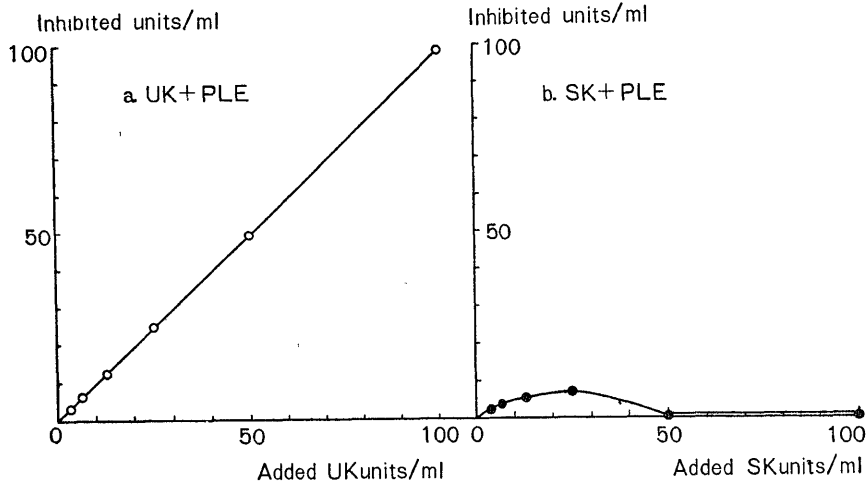
4. 溶解時間法における活性化因子濃度と阻害度との関係

前の実験では活性化因子濃度を一定とし、阻害物質の濃度を変えたが、今回は阻害物質の濃度を一定とし、活性化因子の濃度を変化させた。これは平板法による同様な実験(II-1)に対応する。阻害物質の濃度として、PLE の場合には原液、EACA の場合には原液と16倍または32倍希釈液を用いた。

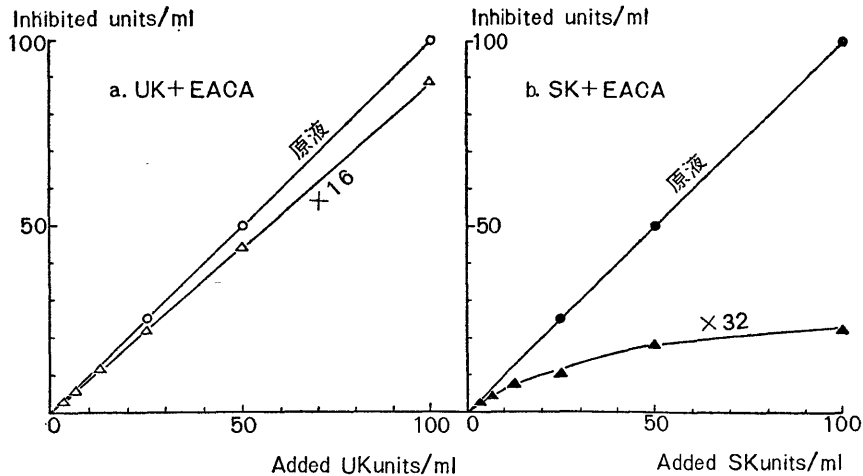
(1) PLE または EACA を活性化の前に加える前の実験(3-2)の手順によった。また Plg は 10 C.U./ml の液を終始用いた。その結果は第14図および第15図に示される如くであった。PLE の原液は、UK に対して、UK の濃度に関係なく、定量的に略々

100% の阻害を示したが、SK に対しては、50単位以下で極めて弱い阻害、しかも SK が高濃度になるにつれ阻害率は低下し50単位以上の濃度では阻害はなく、寧ろ活性増強作用が認められた。SK が高濃度になると阻害の様相が変わることは後の実験でも認められ(第17図および第18図)、SK による活性化機構の特異性(即ち Plg を直接的に活性化するものではないこと)によるものであろう。EACA による UK 阻害は、原液では勿論完全阻害であるが、16倍希釈液でも定量的に90%前後の阻害を示し、溶解時間法においては SK 阻害と大差のない強力な阻害であった。SK に対しては、原液では勿論完全阻害であるが、32倍希釈液では阻害は定量的でなく、SK が高濃度になるにつ

第14図 PLE による阻害。活性化因子濃度と阻害度の関係(溶解時間法)。
I. 活性化阻害+プラスミン阻害



第15図 EACA による阻害。活性化因子濃度と阻害度の関係(溶解時間法)。
I. 活性化阻害+プラスミン阻害



れ阻害率は低下した。

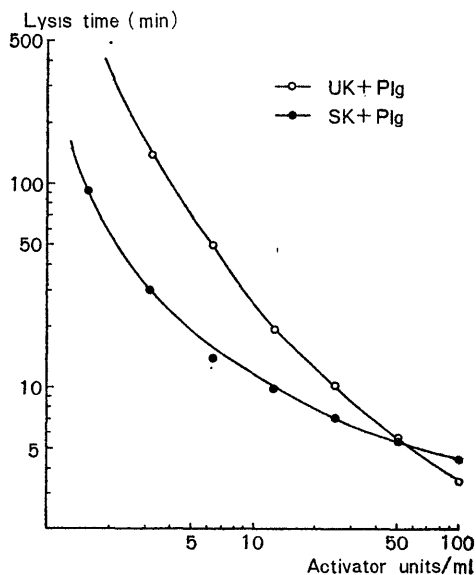
(2) 次に活性化されたプスミンに対する阻害を観察する目的で、前の実験(3-1)と同様な手順で実験を行なった。但しこの場合は **PIg** の添加量を一定とすることは、活性化因子の過剰領域で、フィブリノーゲンおよびトロンビンに由来する **PIg** の活性化が起り、それに対する阻害も結果に影響するであろうから、不適当と考えられた。UK および SK の初期反応速度は活性化因子の濃度に比例し⁶⁰⁾、しかも著者の実験ではインキュベーション時間が短いので、UK および SK と **PIg** との比を一定に保つ方が適当であると考えられた。

UK または SK の50単位に対し、**PIg** を10, 25, 50, 100, ……C.U. と加え活性化を行なわせると、溶解時間はある量以上の **PIg** を加えても殆んど短縮しなくなる。この時は **PIg** が過剰になったと理解される。そのような混合比は、UK の1単位に対して **PIg** の1C.U., SK の1単位に対して **PIg** の2C.U. と求められた。この混合比における標準曲線は第16図の如く、直線関係は成立せず、第11図と比較すると活性化因子低濃度での溶解時間の延長が著しい。これは、活性化因子低濃度では、生じたプラスミンによるフィブリン溶解時間が長いため、第11図の場合同時に活性化因子の触媒的な作用が現われるが、第16図の場合 **PIg** の量が相応して制限されているためそれ以上のプラスミンが生成されない。という理由によるものと思われる。

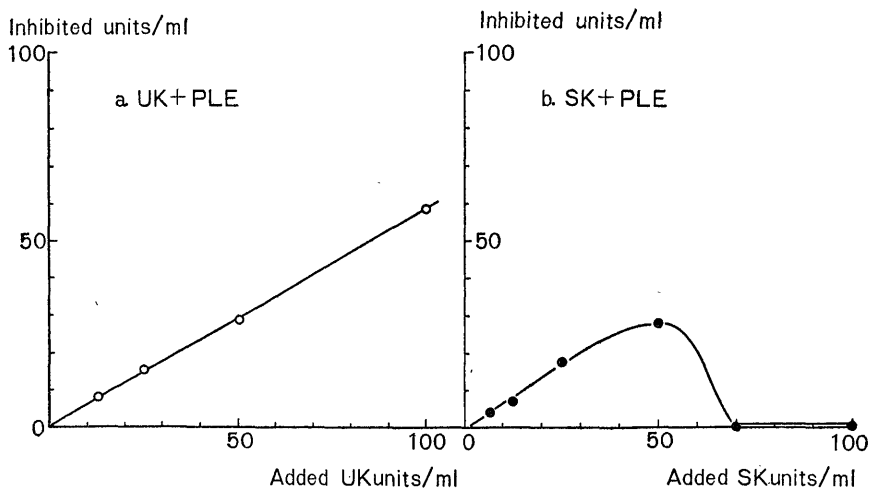
PLE または EACA による阻害は、第17図および第18図に示される如くであった。PLE は UK に対し、

定量的に60%弱の阻害を示した。活性化因子の濃度に関係なく一定の割合で阻害の示されることは、ある平衡関係の成立を示唆している。SK に対しては、50単位以下では60%弱の阻害を示したが、それ以上の高濃度では阻害は急速に消失した。EACA の原液は、UK に対しても SK に対しても略々100%の阻害を示したが、UK に対する16倍稀釈液は前の実験(第15図)よりも弱い、50%前後の阻害に止った。また、SK に対する32倍稀釈液の阻害は、PLE の場合と同様、SK の高濃度で消失した。

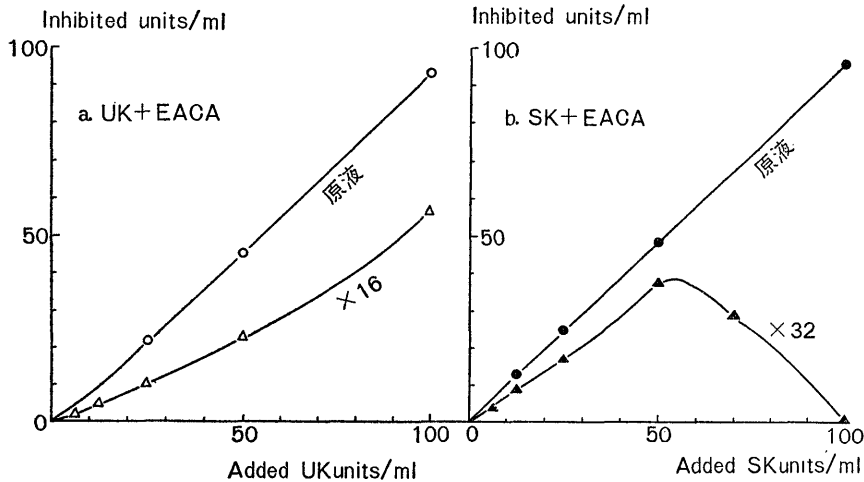
第16図 活性化因子濃度と溶解時間
(**PIg**/Activator 比一定)



第17図 PLE による阻害. 活性化因子濃度と阻害度の関係(溶解時間法),
II. プラスミン阻害



第18図 EACA による阻害. 活性化因子濃度と阻害度の関係(溶解時間法),
II. プラスミン阻害



考 察

妊娠に伴って血液中の線溶系阻害活性が高まり線溶活性が低下することは、Niesert⁶¹⁾、Biezanski and Moore⁶²⁾、Naidoo ら⁶³⁾、Brakman and Astrup⁴⁸⁾、Shaper ら⁶⁴⁾ および Brakman⁶⁵⁾ と多くの報告によって認められた。しかし SK-プラスミンに対する阻害は妊娠中も増加しない⁶⁶⁾かまたは減少する⁶⁷⁾ことも報告された。これらの不一致の原因は、妊娠中に増加する阻害因子が UK に対して特異的に作用することを示した Brakman and Astrup⁴⁸⁾によって解明された。更に、死児子宮内稽留の患者について、他の線溶系因子については差を認めず、UK 阻害因子のみが正常妊婦に比較して著しく弱いことを認めた Brakman and King⁶⁸⁾の報告は、産科領域の出血と関連して、正常な妊娠・分娩時における線溶系阻害因子の役割の重要性を示している。

胎盤の線溶系阻害に関しては、Niesert and Bachmann²¹⁾の spontaneous fibrinolysis に対する阻害と Lieberman²²⁾の組織性活性化因子に対する阻害の報告があるが、いずれも詳細な検討はなされていない。著者は、胎盤の各分画(第1図参照)が UK に対する阻害作用を有し、それは特に食塩水抽出液(PLE, 第1図の Sup 1)に強いことを認めた。

この胎盤から抽出される阻害因子は、透析によって除かれられないので、高分子物質と推定される。また Astrup らの分画法²³⁾およびタングステン酸処理¹⁷⁾によって除去されないため、通常の組織性阻害因子とは異なる。更に、アセトン処理によって阻害作用が減弱し

ないので、脂質とは関係がないように思える。

著者は、この胎盤から抽出される阻害因子の特徴を明らかにするために、数種の線溶系活性化因子に対する PLE の作用を、他の阻害物質と比較検討した。その結果、フィブリン平板法によって、PLE の阻害作用が妊娠血の阻害作用と同じ特徴を有することが示された。即ち UK で導入される線溶活性に対する強力な阻害、SK に対する活性増強作用およびグリセリン活性化プラスミンに対しては影響のないこと、が示された。更に、トリプシンに対する阻害が強く、豚心臓活性化因子に対する阻害が弱いことも示された。このような阻害作用は、比較的用いたイプシロン・アミノカプロン酸、(EACA)、人血漿 Fr. IV-1 および Eff III-2,3、豚肺臓阻害因子、ならびに人尿のトリプシン阻害因子のいずれとも異なったものであった。

PLE に含まれる阻害因子は、妊娠血液中に増加する阻害因子と同一であらうと推測される。しかし、Brakman and Astrup⁴⁸⁾の成績によると、阻害の最も強い妊娠7カ月以降においても、UK の完全阻害は大部分の患者について血漿の4倍稀釈までとなっている。一方、PLE の蛋白窒素量からヘモグロビン窒素量を差し引き、6.25を乗じて血漿蛋白濃度を求めると、約0.6%であって血漿の10倍稀釈程度である。PLE は200個の胎盤混合物から得られているので、これは平均的な値と考えてよいが、第4図の成績は PLE 原液が UK を完全に阻害し、その10倍稀釈液(血漿の約100倍稀釈)でも90%程度の阻害が示されており、明らかに妊娠血の阻害作用よりも遙かに強力である。従って PLE の阻害作用が、PLE に含まれる血液成

分のみによるものではない、と結論できる。このことは、血液成分を充分除いた後の胎盤分画についても UK 阻害の認められることによって裏づけられる。

妊娠時に低下する線溶活性は分娩後速やかに正常に戻るが、Niesert⁶¹⁾によると1時間以内、Biezenski and Moore⁶²⁾によると3時間以内であり、胎盤娩出による阻害因子の血中からの消失が考えられる。この阻害因子が、胎盤に非常に大量に存在することと考え併せ、胎盤において産生されている可能性が高い。

妊娠中血清のトリプシン阻害因子の増加することも知られており⁶⁰⁾、PLE はトリプシン阻害作用も強いので、線溶系同様トリプシン阻害因子の増加は充分首肯できることである。トリプシン阻害物質の多くは精製された後もプラスミンを阻害する²⁹⁾⁵⁰⁾⁷⁰⁾⁷¹⁾が、PLE の場合には精製されていないので、厳密に同じ因子が線溶系とトリプシンの両方を阻害しているかどうかは明らかでない。

UK, 組織性活性化因子, ならびに血液活性化因子 (blood activator) の間の相互関係は未だ明確にされていない。しかし、Niezert and Bachmann²¹⁾は胎盤抽出液が plasma clot の spontaneous fibrinolysis を阻害することを認めた。また著者の実験では、Astrup らの方法²³⁾による豚心臓活性化因子に対する PLE の阻害は強くはなかったが、高度に精製された組織性活性化因子は種々な点で UK によく類似していることが報告されている⁷²⁾。妊娠血における UK 阻害因子の重要性を示す前記の Brakman and King の報告⁶⁸⁾と考え併せ、胎盤から抽出される UK 阻害因子が、in vivo で病理的な血液線溶活性の昂進を抑制していることは充分考えられる。

PLE の阻害作用を EACA と比較した実験において、両者に対照的な点が2, 3示された。先ず非加熱平板の成績では、UK 阻害は PLE の方が EACA より強力であるが、SK 阻害の強さは逆の関係になることが示された。次に加熱平板を用いた場合には、PLE ではやはり UK 阻害が示されたが、EACA は UK のみならず SK をも全く阻害せず、非加熱平板を用いた場合とは著しく異なった成績であった。更に、平板法における UK 阻害の強さの関係は溶解時間法については成立せず、EACA の方が PLE より強い阻害作用を現わした。

非加熱平板において、PLE が UK に、EACA が SK に、より強い阻害作用を有することは、活性化の機構または活性化されたプラスミンと阻害因子との選択的な関係として理解される。また、加熱平板において EACA が阻害作用を現わさない理由として、EA

CA の阻害の発現にフィブリン (基質) 中の P1g の存在の必要性を指摘した (実験成績 II-2)。しかし、その後の溶解時間法による成績は、EACA が基質であるフィブリンに含まれて存在する場合により強い阻害作用の発揮されることを示した。加熱平板では非加熱平板よりもフィブリンの構造は堅固になるので、EACA のフィブリン中への滲透が妨げられ阻害作用が発揮されない、というもう1つの可能性も考えられる。

PLE と EACA の UK 阻害の強さが平板法と溶解時間法とで逆の関係になるのは、EACA の阻害が溶解時間法で強く現われるためである。両方法における阻害物質の終濃度と阻害度とを比較してみよう。平板法では、阻害物質の終濃度は溶解面積の増大によって低下し、一定に保たれる訳ではないので、反応初期の終濃度をとる。反応系 (測定系) では、平板法によるときは2倍、溶解時間法によるときは9倍、に試料が希釈されるので、平板法の10倍希釈 (終濃度20倍希釈) と溶解時間法の2倍希釈 (終濃度18倍希釈) とが略々見合う濃度になる。それぞれのデータを、平板法については第4図、溶解時間法については第13図から求めて比較すると、第4表の如く、明らかに EACA の方に原因がある。

第4表 平板法と溶解時間法における UK 阻害の比較

測定法	終濃度	PLE	EACA
		阻害率	阻害率
平板法	20倍希釈	88 %	- 35%*
溶解時間法	18倍希釈	87 %	100%

* 35%の活性増強作用

溶解時間法では EACA は基質に含まれているが、平板法では基質に含まれていない。従って EACA は基質 (フィブリン) に含まれている場合に阻害作用が強いと考えられる。前述のように、これが加熱平板で阻害の現われない原因であるかもしれない。また、EACA の阻害が proteolysis よりも fibrinolysis に対して強い⁴⁵⁾⁵⁶⁾⁷³⁾⁷⁴⁾ことも理解できる。EACA 投与により線溶活性に対して抵抗性の強い血栓の形成される危険がある⁷⁵⁾⁷⁶⁾⁷⁷⁾が、一方妊娠後期には、阻害因子の増加に静脈うっ血などの機械的因子が加わるにも拘わらず、血栓症の頻度は高まらない⁶⁵⁾⁷⁸⁾。これもまた、EACA はフィブリンに含まれている場合に阻害が強まり、PLE ではそのような阻害増強の起らないことと関連しているように思える。

次に、PLE の UK 阻害が活性化の段階で起るのか、またはプラスミンの作用に対して起るのか、という問題について考察してみたい。加熱平板による成績(第2表)では、プラスミンに対する阻害もあるが、活性化前に加えられた方が阻害は大きいので、両方の段階で阻害が起っていると考えられる。溶解時間法でPLEの濃度を変化させた場合、PLE高濃度(原液~4倍稀釈液)では活性化前に加えられた方が阻害は強かったが、低濃度では逆の成績で、結論的なことは示されなかった(第12図および第13図)。しかしPLE原液を用いてUK濃度の方を変えた実験では、活性化前に加えた場合の阻害が略々100%であるのに対し、活性化後に加えた場合の阻害は約60%に止まり、やはり活性化の段階とプラスミンの作用との両方を阻害していると考えられる(第14図および第17図)。この2つの実験では系のPlg量が必ずしも等しくはないが、Plg量の等しい点(即ち第17図のUK 10 U./ml)でも上記のことが当てはまっている。

以上述べてきたように、胎盤には独特な線溶系阻害因子が含まれているので、組織性活性化因子の検出に当っては、そのことが充分考慮されなければならない。

結 論

著者は、ヒト胎盤について強い線溶系阻害作用を認めたので、胎盤の食塩水抽出液について、他の阻害物質と比較しながらその阻害作用の特徴を調べ、次のような知見を得た：

(1) フィブリン平板法によると、胎盤抽出液の阻害作用はウロキナーゼに対して非常に強力であり、トリプシンに対しても相当に強力であるが、豚心臓活性化因子に対しては余り強くなく、グリセリン活性化プラスミンに対しては影響なく、ストレプトキナーゼに対しては寧ろ活性増強作用が著しい。このような特徴は、比較に用いたイブシロン・アミノカプロン酸、人血漿分画 IV-1 および上清 III-2.3、豚肺臓阻害因子ならびに人尿トリプシン阻害因子のいずれとも異なっていた。

(2) イブシロン・アミノカプロン酸と比較すると、胎盤抽出液はウロキナーゼに対する阻害が強くストレプトキナーゼに対する阻害は弱いが、イブシロン・アミノカプロン酸はウロキナーゼに対する阻害は余り強くなく、ストレプトキナーゼに対する阻害が強い点で対照的であった。

(3) 加熱平板では、胎盤抽出液のウロキナーゼに対する阻害は認められたが、イブシロン・アミノカプロン酸はウロキナーゼのみならずストレプトキナーゼ

に対しても阻害を示さず、活性増強作用を示した。

(4) しかし、フィブリン溶解時間法によるときは、イブシロン・アミノカプロン酸の阻害作用は、ストレプトキナーゼのみならずウロキナーゼに対しても、胎盤抽出液より強力であった。これは、胎盤抽出液の阻害作用が平板法でも溶解時間法でも大差ないのに対し、イブシロン・アミノカプロン酸の阻害作用は、それが基質であるフィブリン凝塊に含まれる溶解時間法において、より強く現われてくるためである。

(5) 胎盤抽出液の阻害作用は、妊娠時の血液の阻害作用と同じ特徴を示す。然しながら、そのウロキナーゼ阻害の強さは、胎盤抽出液の血漿濃度に基くものよりも遙かに大きく、胎盤抽出液の阻害作用が血液成分のみに由来するものとは思われない。

(6) 胎盤抽出液による阻害は、ウロキナーゼによるプラスミノゲンの活性化と、生じたプラスミンの作用との、両方に対して起っていると考えられる。

終りに、御懇篤な御指導を賜わった石川大刀雄教授ならびに多大なる御教示をいただいた倉田自章助教授に深謝致します。また、材料の調製および分析に便宜を計っていただいた株式会社ミドリ十字内藤良一博士ならびに森本和郎氏に謝意を表わします。

文 献

- 1) Weiner, A. E., Reid, D. E., & Roby, C. C. : Am. J. Obstet., Gynecol., 66, 475 (1953).
- 2) Ratnoff, O. D., Pritchard, J. A., & Colopy, J. E. : New Engl. J. Med., 253, 63 (1955).
- 3) Schneider, C. L., Engstorm, R. M., & Miyazaki, Y. : Proc. Intern. Congr. Hematol., 8 th. (Tokyo), 3, 1618 (1962).
- 4) McKay, D. G., Kliman, A., & Alexander, B. : New Engl. J. Med., 261, 1150 (1959).
- 5) Iatridis, S. G., & Ferguson, J. H. : J. Clin. Invest., 41, 1277 (1962).
- 6) Seegers, W. H., Landaburn, R. H., & Johnson, J. H. : Science, 131, 726 (1960).
- 7) Merskey, C., Johnson, A. J., Pert, J. H., & Wohl, H. : Blood, 24, 701 (1964).
- 8) Ronwin, E. : Canad. J. Biochem. Physiol., 40, 57 (1962).
- 9) Beller, F. K., & Glas, P. : Proc. Intern. Congr. Hematol., 8 th. (Tokyo), 3, 1694 (1962).
- 10) Fletcher, A. P., Alkjaersig, N., & Sherry, S. : J. Clin. Invest., 41, 896 (1962).
- 11) Sharp, A. A. : Brit. Med. Bull., 20, 240 (1964).
- 12) 品川信良 : 最新医学, 21, 292 (1966).

- 13) Astrup, T., & Permin, P. M. : *Nature*, 159, 681 (1947). 14) Lewis, J. H., & Ferguson, J. H. : *J. Clin. Invest.*, 29, 1059 (1950). 15) Albrechtsen, O. K. : *Acta Physiol. Scand.*, 39, 284 (1957). 16) Albrechtsen, O. K. : *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 10, 91 (1958). 17) Albrechtsen, O. K. : *Acta Endocrinol.*, 23, 207 (1956).
- 18) Phillips, L. L., Butler, B. C., & Taylor, H. C. : *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 71, 342 (1956). 19) Beller, F. K., Goessner, W., & Herrschlein, H. J. : *Obstet. Gynecol.*, 20, 117 (1962). 20) 西村敏雄・渡辺栄三 : 産婦人科治療, 11, 576 (1965). 21) Niezert, H. W., & Bachmann, F. : *Zentr. Gynäkol.*, 78, 649 (1956). 22) Lieberman, J. : *New Engl. J. Med.*, 265, 363 (1961). 23) Astrup, T., & Albrechtsen, O. K. : *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 9, 233 (1957). 24) Wong, S. Y. : *J. Biol. Chem.*, 77, 409 (1928).
- 25) Cohn, E. J., Strong, L. E., Hughes, W. L., Jr., Mulford, D. J., Ashworth, J. N., Melin, M., & Taylor, H. L. : *J. Am. Chem. Soc.*, 68, 459 (1946). 26) Blombäck, B., & Blombäck, M. : *Arkiv Kemi*, 10, 415 (1957). 27) Sgouris, J. T., Inman, J. K., McCall, K. B., & Anderson, H. D. : *Vox Sanguinis*, 6, 53 (1961). 28) Miller, K. D., & Copeland, W. H. : *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 111, 512 (1962). 29) Grob, David : *J. Gen. Physiol.*, 33, 103 (1950).
- 30) Norman, P. S., & Hill, B. M. : *J. Exp. Med.*, 108, 639 (1958). 31) Sgouris, J. T., Inman, J. K., McCall, K. B., Hyndman, L. A., & Anderson, H. D. : *Vox Sanguinis*, 5, 357 (1960). 32) Onclay, J. L., Melin, M., Richert, D. A., Cameron, J. W., & Gross, P. M., Jr. : *J. Am. Chem. Soc.*, 71, 541 (1949). 33) Astrup, T., & Sterndorff, I. : *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 8, 239 (1955). 34) Sgouris, J. T., Storey, R. W., McCall, K. B., & Anderson, H. D. : *Vox Sanguinis*, 7, 739 (1962).
- 35) 古田幸一 : 特許公報, 昭40-27830 (1965). 36) Ploug, J., & Kjeldgaard, N. O. : *Biochim. Biophys. Acta*, 24, 278 (1957). 37) Hink, J. H., Jr., & McDonald, J. K. : 特許公報, 昭40-9863 (1965). 38) Alkjaersig, N., Fletcher, A. P., & Sherry, S. : *J. Biol. Chem.*, 233, 81 (1958). 39) Astrup, T., & Müllertz, S. : *Arch. Biochem. Biophys.*, 40, 346 (1952). 40) Lassen, M. : *Acta Physiol. Scand.*, 27, 371 (1952). 41) Loomis, E. C., George, C., Jr., & Rider, A. : *Arch. Biochem.*, 12, 1 (1947). 42) Ambrus, C. M., & Markas, G. : *Am. J. Physiol.*, 199, 491 (1960). 43) Auerswald, W., & Doleschel, W. : *Throm. Diath. Haemorrh.*, 5, 112 (1961). 44) Brakman, P., Albrechtsen, O. K., & Astrup, T. : *Brit. J. Haematol.*, 12, 74 (1966). 45) Alkjaersig, N., Fletcher, A. P., & Sherry, S. : *J. Biol. Chem.*, 234, 832 (1959). 46) De Nicola, P., Soardi, F., & Gibelli, A. : *Proc. Intern. Congr. Hematol.*, 8th. (Tokyo), 3, 1594 (1962). 47) VonKaulla, K. N. : *J. Med. Chem.*, 8, 164 (1965). 48) Brakman, P., & Astrup, T. : *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 15, 603 (1963). 49) Loomis, E. C., Rider, A., & George, C., Jr. : *Arch. Biochem.*, 20, 444 (1949). 50) Shulman, R. : *J. Biol. Chem.*, 213, 655 (1955). 51) Olesen, E. S. : *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 13, 410 (1961). 52) Brakman, P., & Astrup, T. : *Lancet*, 2, 10 (1964). 52) Brakman, P., & Astrup, T. : *Lancet*, 2, 10 (1964). 53) Ablondi, F. B., Hagan, J. J., Philips, M., & De Renzo, E. C. : *Arch. Biochem. Biophys.*, 82, 153 (1959). 54) Fukutake, K., Shida, K., Arakawa, T., & Kato, K. : *Blood*, 15, 690 (1960). 55) Norman, P. S. : *Am. J. Cardiol.*, 6, 390 (1960). 56) Donaldson, V. H., & Ratnoff, O. D. : *J. Exp. Med.*, 115, 695 (1962). 57) Astrup, T. : *Blood*, 11, 781 (1956). 58) Blix, S. : *Acta Med. Scand., Suppl.*, 386, 1 (1962). 59) Guest, M. M., Ware, A. G., & Seegers, W. H. : *Am. J. Physiol.*, 150, 661 (1947). 60) Alkjaersig, N., Fletcher, A. P., & Sherry, S. : *J. Biol. Chem.*, 233, 86 (1958). 61) Niesert, H.

- W. : Arch. Gynäk., 187, 144 (1955).
 62) Biezenski, J. J., & Moore, H. C. : J. Clin. Pathol., 11, 306 (1958). 63) Naidoo, S. S., Hathorn, M., & Gillman, T. : J. Clin. Pathol. 13, 224 (1960). 64) Shaper, A. G., Macintosh, D. M., Evans, C. M., & Kyobe, J. : Lancet, 2, 706 (1965).
 65) Brakman, P. : Am. J. Obstet. Gynecol., 94, 14 (1966). 66) Biezenski, J. J. : J. Clin. Pathol., 13, 220 (1960).
 67) Ruckstuhl, L., Bellet, S., Sandberg, H. & Gelber, L. : Am. J. Obstet. Gynecol., 84, 424 (1962). 68) Brakman, P., & King, A. E. : Am. J. Obstet. Gynecol., 92, 221 (1965).
 69) Faarvang, H. J., & Lauritsen, O. S. : Nature, 199, 290 (1963). 70) Nanninga, L. B., & Guest, M. M. : Arch. Biochem. Biophys., 108, 542 (1964). 71) Winterstein, A., & Strässle, R. : Proc. Intern. Congr. Hematol., 8 th. (Tokyo), 3, 1708 (1962). 72) Bachmann, F., Fletcher, A. P., Alkjaersig, N., & Sherry, S. : Biochemistry, 3, 1578 (1964). 73) 永松淳雄 : 最新医学, 21, 320 (1966). 74) Beck, E., Schmutzler, R., & Duckert, F. : Throm. Diath. Haemorrh., 10, 106 (1963). 75) McNicol, G. P., Fletcher, A. P., Alkjaersig, N., & Sherry, S. : J. Lab. Clin. Med., 58, 34 (1961). 76) Naeye, R. L. : Blood, 19, 694 (1962). 77) Council on Drugs, U. S. A. : J. Am. Med. Assoc., 191, 489 (1965). 78) Rogers, J. H. : Lancet, 2, 699 (1964). 79) 藤井節郎・村松 睦 : 最新医学, 21, 238 (1966).

Abstract

Human placenta showed no fibrinolytic activity but potent inhibitory activity against urokinase (UK). This inhibitor was removed neither by dialysis, by hydrochloric acid treatment according to Astrup et al., by tungstic acid precipitation according to Albrechtsen nor by acetone washing. In order to reveal the inhibition characteristics, the inhibitory activity of saline extracts from placentas was compared with those of other inhibitors, and the results obtained were as follows:

(1) By the normal fibrin plate method, placental extracts showed strong inhibition against UK, strong but somewhat less inhibition against trypsin, weak inhibition against pig heart activator, no influence against glycerol-activated human plasmin, and marked enhancement of streptokinase (SK) activity. These characteristics were different from those of epsilon aminocaproic acid (EACA), human plasma Fraction IV-1 and Effluent III-2,3, pig lung inhibitor and human urinary trypsin inhibitor.

(2) These inhibition characteristics of placental extracts seemed to be the same as those of pregnancy blood according to Brakman and Astrup. The inhibitory activity against UK, however, was much stronger than the estimated activity based on plasma concentration of placental extract.

Therefore, it is unlikely that all inhibition was derived from blood component (s) in placental extract.

(3) EACA preferably inhibited SK to UK and was in contrast with placental extract which inhibited UK selectively.

(4) By the heated fibrin plate method, placental extracts still inhibited UK-system, while EACA inhibited neither UK- nor SK-system.

(5) By the fibrin lysis time method, EACA was a more potent inhibitor than placental extracts not only against SK but also against UK. This was due to the fact that inhibition of EACA proved stronger by the lysis time method than by the normal fibrin plate method, while inhibition of placental extract was exhibi-

ted to the nearly same extent by both methods.

(6) It appeared that inhibition of placental extracts occurred both in the stage of plasminogen activation by UK and in the fibrinolytic action of activated plasmin.