日消外会誌 9（4）：490～495，1976年

実験的急性壊死性膵炎にみられる血液凝固能の異常

大阪市立大学医学部第1外科
佐竹克介　内間恭堅
土肥浩義　梅山馨

BLOOD CLOTTING ABNORMALITIES DURING EXPERIMENTAL ACUTE PANCREATITIS IN DOGS

Katsusuke SATAKE, Kyoken UCHIMA, Hiroyoshi DOHI and Kaoru UMEYAMA
From the First Department of Surgery. Osaka City Univ. Medical School

膵障害時に血液凝固能の異常が合併することはすでにいくつかの報告があるが，最近，激症膵炎患者および実験的急性膵炎時に，consumption coagulopathy あるいは Disseminated intravascular coagulation（以下 D.I.C.）と呼ばれる症候が併発するとの報告もある．

われわれは，自家胆汁，トリプシン，エラスターゼによる膵炎を作成した犬について血液凝固能を中心に検索し，併せて，膵外分泌酵素および組織学的検索を行つた．

種々の膵炎犬の血液凝固線溶系の検索では，程度の差こそあれ，血小板数の減少，血中 Fibrinogen 量の減少，Prothrombin time および partial thromboplastin time の延長，F.D.P. の著明な増加ならびに E.L.T. の短縮がみられた．

かかる膵炎犬の病理組織学的所見では，膵は全例に出血性壊死性膵炎像を示した．同時に，肺，ならびに腎において無数の小血栓の形成が認められた．

このような急性出血性壊死性膵炎にみられる血液凝固能異常の所見は，Disseminated intravascular coagulation による Consumption coagulopathy と理解されるもので，興味ある所見と考えられる．

はじめに

従来より，膵障害時に血液凝固能異常が合併してくることはすでにいくつかの報告があり，特に膵癌における血栓形成傾向の増大[1)2)3)]あるいは急性出血性膵炎時の Hyper[4)5)]あるいは Hypocoagulability[6)7)]のみられることが報告されている．

また，最近，激症膵炎患者および実験的急性膵炎時に出血と血栓という正反対と考えられる現象が合併し，Consumption coagulopathy あるいは Disseminated intravascular coagulation（以下 D.I.C.）と呼ばれる症候群の併発した2～3の報告がある[8)9)10)]．

われわれは雑種成犬を用いて，実験的急性膵炎を作成し，血液凝固能を中心に検索し，併せて，膵外分泌酵素および病理組織学的検索を行い，2～3の知見を得たので報告する．

実験材料および方法

雑種成犬（体重15～20kg）30頭を各10頭に分け，自家胆汁性急性膵炎群，trypsin 性急性膵炎群および elastase 性膵炎群の3群を作成した．

実験的急性膵炎の作成法は sodium pentobarbital 麻酔下にて開腹し，副膵管結紮後，主膵管にカテーテルを挿入し，おのおの，自家胆汁（0.5cc/kg），trypsin（1900-unit）および elastase（1800 unit）を高圧下で注入して作成した．

膵炎作成後，経時的に30分，1時間，その後1時間毎に5時間まで，大腿静脈より採血し，血液凝固能検査として，血小板数，血中フィブリノーゲン量，Prothrombin time, Partial thromboplastin time, Euglobulin lysis time

(E.L.T.), Fibrin degradation product (F.D.P.) を測定し，同時に，血液中の amylase, lipase, trypsin, elastase, 値を測定した．

検査方法

血液凝固能の検査では，血小板数は，Becker-Cronkite[11]氏法により算定し，Prothrombin time および Partial thromboplastin time はおのおの試薬として Thromboplastin Liquid (Hyland 社製) および Activated thrombofax Reagent (Ortho 社製) を用いて，血液凝固時間自動測定器 (Clotex, Hyland 社製) にて測定した．F.D.P. は F.D.P. kit (Wellcome 社製) を用いて行い，E.L.T. は Euglobulin clotvrlysis time recorder (Carmanan 社) を用いて測定した．Fibrinogen 量は nephelometry による TG-meter (中外社製) により測定した．

膵酵素では amylass は Blue starch 法[12], lipase は Cherry-Crandall[13] 法を用いて測定し，trypsinogen および trypsin は Benzoyl arginylparanitroanilide を用いて測定した．elastase は elastin-D.N.S. を用いて Rinderknecht 法[14]に準じて測定した．

病理組織学的検索は，各膵炎作成5時間後に各膵炎犬を屠殺し，膵，腎，肺を摘出し，10%ホルマリン固定後，Hematoxylin-Eosin 染色を行い，光学顕微鏡下にて観察した．

実験成績

1) 膵酵素の変動

急性膵炎作成後，血中 amylase lipase は著明に上昇してくるが，自家胆汁性膵炎で検索した血中 trypsin および trypsinogen は軽度上昇するのみであつた (図1)．また，自家胆汁性および elastase 注入膵炎で検索した血中 total および free elastase の変動は，減少の傾向を示し，いずれの例においても上昇の傾向はみられなかつた (図2)．

2) 血小板数の変動

自家胆汁性急性膵炎の血小板数の変動は，術前 20.31 $\times 10^4/mm^3$ (±1.23 S.E.) であつたが膵炎惹起後，30分で 17.58 $\times 10^4/mm^3$ (±2.47 S.E.) と減少し，一次，回復の傾向がみられるが，漸次減少を示し，5時間後では，13.9 $\times 10^4/mm^3$ (±2.41 S.E.) と術前値に比較すると約7万前後の血小板数減少が認められた．同様に，trypsin および elastase 膵炎群でも，程度の差こそあれ，おのおの術前値 28.03 $\times 10^4/mm^3$ (±4.05 S.E.), 22.7 $\times 10^4/mm^3$ (±3.15 S.E.) が5時間後には，20.00 $\times 10^4/mm^3$ (±3.12 S.E.) および18.8 $\times 10^4/mm^3$ (±3.76 S.E.) と4～8万前後の減少がみられた (図3)．

図1　Trypsinogen and Trypsin 値の変動 (Mean±S.E.)

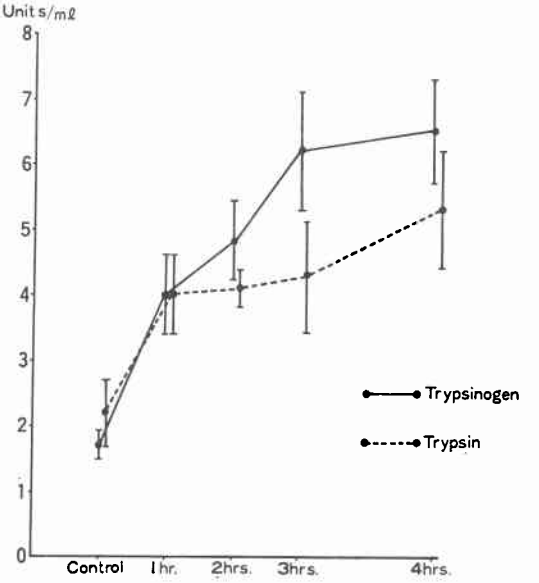
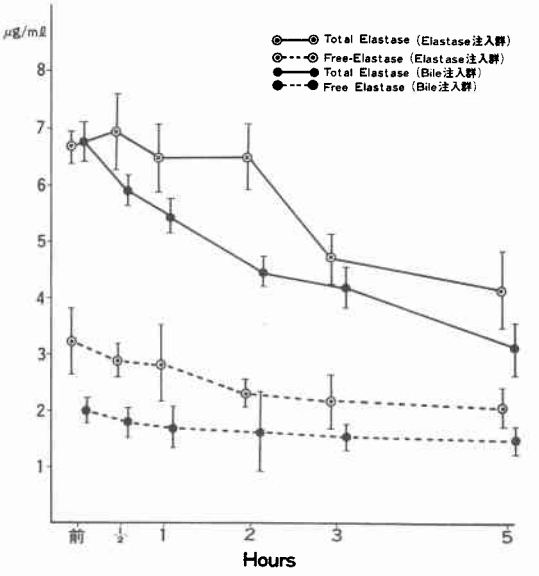


図2　Plasma Elastase の変動 (Mean±S.E.)



3) 血中 Fibrinogen 量の変動

血中 Fibrinogen 量の変動は，血小板数の変動と同様の傾向を示し，各膵炎群において，術前平均値 422.6mg/dl (±27.32 S.E.), 368.3mg/dl (±23.06 S.E.)および343.8

図3　実験的急性膵炎時の血小板数の変動
(Mean±S.E.)

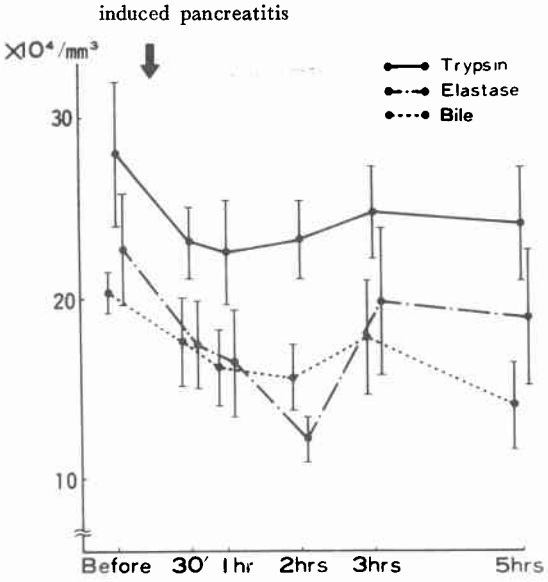
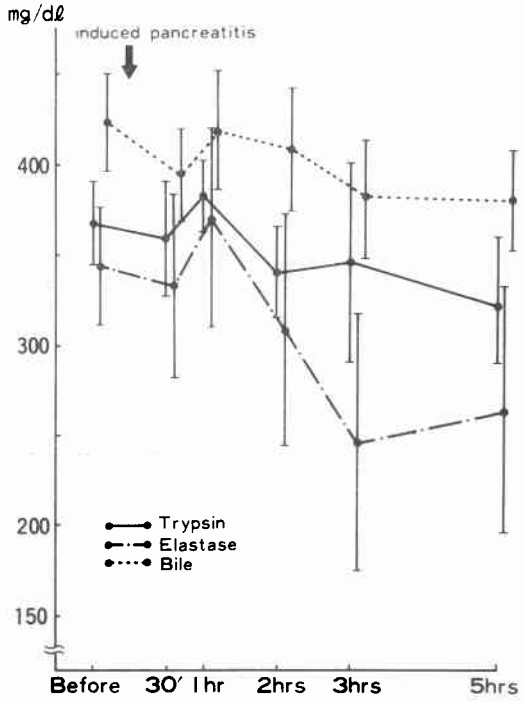


図4　実験的急性膵炎時のフィブリノーゲン量の変動 (Mean±S.E.)

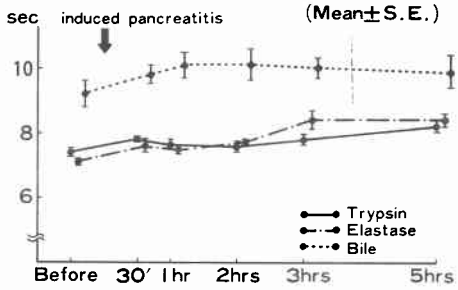


mg/dl (±32.34 S.E.) が，膵炎発生5時間後には，おのおの380.6mg/dl (±28.8 S.E.) 320.6mg/dl (±40.5 S.E.) および 263.2mg/dl (±67.9 S.E.) と約40～80mg/dlの減少がみられた (図4).

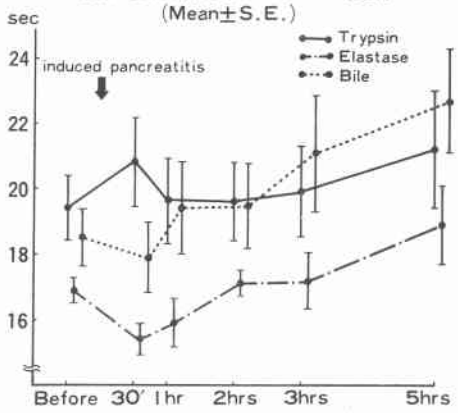
4) Prothrombin time および Partial thromboplastin time の変動

自家胆汁性急性膵炎時の prothrombin time は，術前平均値 9.2sec. (±0.4S.E.) が5時間には 9.9sec. (±0.5 S.E) と軽度延長を示し，trypsin および elastase 膵炎でも同様に5時間後に約1秒前後の延長が認められた (図5上). また，P.T.T. の変動も同様で，各膵炎犬において，膵炎作成5時間後に平均2から4秒の延長の傾向がみられた (図5下).

図　5
実験的急性膵炎時の Prothrombin Time の変動
(Mean±S.E.)



実験的急性膵炎時のP.T.T.の変動
(Mean±S.E.)



5) Euglobulin lysis time の変動

自家胆汁性急性膵炎では，術前平均値 916.6分であつたものが，漸次短縮の傾向を示し，2時間後には 716.3分と約3時間前後の短縮を示し，5時間後では90分前後

図6　実験的急性膵炎時の E.L.T. の変動
(Mean+S.E.)

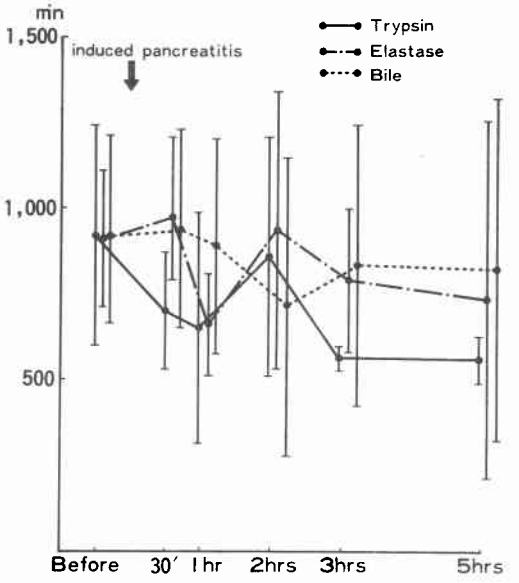
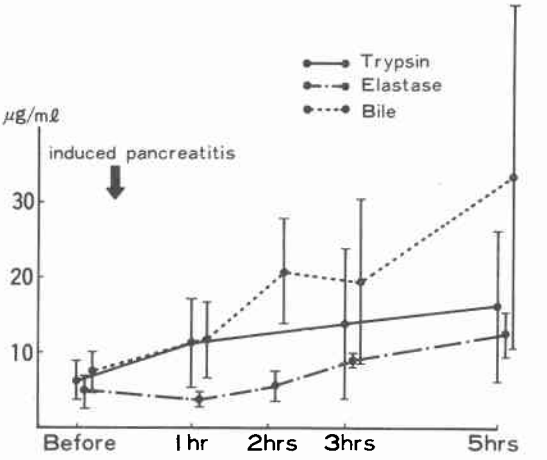


図7　実験的急性膵炎時の F.D.P. の変動
(Mean±S.E.)



の短縮を認めた．また，trypsin および elastase 膵炎でも同様に短縮傾向を示し，膵炎作成5時間後には約2時間から5時間の短縮がみられた（図6）．

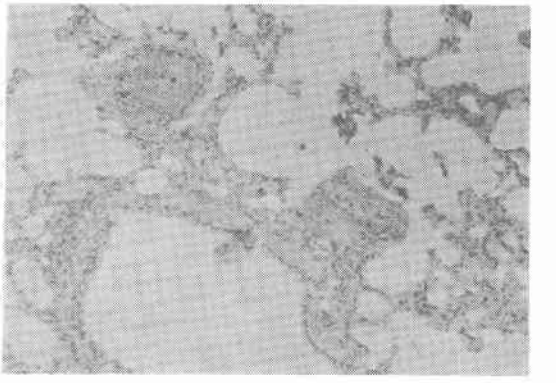
6)　Fibrin degradation product (F.D.P.) の変動

自家胆汁性急性膵炎群では，膵炎作成後 F.D.P. は経時的に増加し，術前平均値7.32μg/ml (±2.76 S.E.) が，5時間後には 33.57μg/ml (±22.9 S.E.) と著明な上昇がみられた．同様に，trypsin および elastase 膵炎群においても，術前平均値 6.25μg/ml (±2.5 S.E.) および4.87μg/ml (±2.4 S.E.) が，膵炎作成5時間後には16.25μg/ml (±10.3 S.E.) および 12.5μg/ml (±2.8 S.E.) と著明な上昇を示した（図7）．

7)　病理組織学的所見

膵炎作成5時間後に屠殺したこれら膵炎犬の膵の所見は壊死性変化が全例にみられた．同時に検索した肺および腎に無数の小血栓の形成がみられた（図8）．

図8　肺小血管の microthrombus 形成（膵炎発生5時間後）（× 100）



考　按

膵疾患には，臨床的に随伴症状として，出血あるいは血栓，栓塞がおこり易いという事実は古くから注目されており，膵癌全体ではその約1/3に静脈炎を合併し，膵体部および尾部に限つてみるとその合併率は50%にもおよぶといわれている．膵炎においても同様に血栓性静脈炎の合併率が高く，また，急性劇症膵炎では出血傾向がしばしばみられるとの報告がある．

急性膵炎時にみられる血液凝固能の異常について，Sinowara[4] らは，Factor V，Ⅷおよび血中 Fibrinogen 量の増加に伴う血栓形成傾向の増大することを報告し，また，Gabryelwicz および Niewiarowski[9] は，それに加えて血液凝固時間の短縮および血漿 fibrin 溶解現象の抑制を認めたと報告している．第Ⅷ因子，血中 fibrinogen 量の増加，血液凝固時間の短縮および血漿 fibrin 溶解現象は Hypercoagulability の状態であり，一般に急性膵炎にみられる凝固系異常の所見と考えられている．一方，その急性期には線溶系の亢進，例えばプラスミノーゲンの低下，F.D.P. の高値などの血管内血液凝固過程に伴う二次的線溶亢進を推定せしめる現象が報告されている．

Kwaan[8] らはこれら Hypercoagulability の状態に coagulant material が血中に入ると血管内血液凝固過程を亢進させ，二次的線溶亢進を起こし，hypocoagulability 状態を作ると推定している．Bridgwater[15] は胆汁膵炎犬作成24時間以内に plasminogen および plasmin が増加すると報告しており，Rush[16] は，24時間以内に6頭中5頭が死亡するという重症の胆汁膵炎犬をつくり，この場合は2～8時間で plasmin 活性の上昇を認めている．

一方，臨床においても，Kwaan[8] らは，3例の重症膵炎患者に，血中 fibrinogen 量の減少，第Ⅷ因子および血小板の減少，E.L.T. の短縮，Thrombin time の延長などの血液凝固異常を認めており，死亡した患者の剖検では，肺，腎などの臓器に無数の小血栓を認めている．また，そのうち1例では heparin 療法を行うことによつて，血液凝固能異常を正常に戻しえたと述べている．これらの所見は，激症膵炎患者に合併した Disseminated intravascular coagulationによる Consumption coagulopathy であろう．Gabryelwicz[10] らは犬の膵管に胆汁と trypsin の混合液を注入することにより，激症膵炎を作成し，臨床例にみられるような Disseminated intravascular coagulation の所見がえられたと述べているが，Kwaan[8] らは trypsin を注入した膵炎では，このような所見はみられない事実から，この違いは注入物質の差によるものと推定している．

本実験では，自家胆汁，trypsin および elastase を注入して実験的膵炎を作成したが，程度の差こそあれ，いずれも血小板数の減少，血中 fibrinogen 量の減少，Prothrombin time および P.T.T. の延長，E.L.T.の短縮および F.D.P. の増加がみられ，同時に検索した肺，腎の病理組織学的所見では無数の小血管血栓の存在を認めた．この事実は D.I.C. による Consumption coagulopathy と考えられ，臨床例や Gabryelewicz[10] の実験にみられた所見と同様であるが，Kwaan らが述べているような膵管内注入物質の差異によつて起るとは考え難い．

これら，急性膵炎に伴う D.I.C. の原因としては，古くから trypsin が推測されている．事実，trypsin は in vivo および in vitro の実験にて，fibrinogen を活性化して fibrin に変化させることが知られている．しかもその関係は fibrinogen 含有物質中の trypsin 濃度によるものと考えられている．しかし，血液や膵液，および膵臓中に多くの trypsin inhibitor の存在することが知られており，in vivo の実験では fibrinogen の含有と trypsin の比が fibrinogen 活性に大きく作用するものといわれる．Kwaan[8] および Innerfield[17] らは30,000unit/kg の trypsin を静脈内に注入することによつて consumption coagulopathy の状態を実験的に作成しうるが，それより低値の trypsin 注入ではこれら所見はみられなかつたと述べている．

本実験で行つた自家胆汁性膵炎における血中 trypsin 値の上昇は著明でなく，少なくとも30,000unit/kgを静脈内投与した時のような高値ではないことから本実験にみられた Consumption coagulopathy が trypsin に原因の1つがあることは否定できないとしても trypsin のみによるとは考え難い．また，市川[18] はオリーブ油で膵障害犬を作成し，その際にみられた血液凝固能異常の原因について，trypsin に主役を求めうるとは考え難いと述べている．われわれの実験においても，trypsin を含まない急性膵炎時の腹水を注入しても，血液凝固能異常をきたすことから，これら急性膵炎にみられる D.I.C. の原因としてはさらに種々の因子が関与するものと考えられ，この点さらに今後の検索にまちたい．

結　語

自家胆汁性膵炎，trypsin 膵炎および elastase 膵炎を雑種成犬に作成して血液凝固能を中心に検索した結果，以下の成績を得た．

1) 各膵炎犬において，程度の差こそあれ，血小板数の減少，血中 fibrinogen 量の減少，Prothrombin time および Partial thromboplastin time の延長，E.L.T. の短縮および F.D.P. の著明な増加を認めた．

2) これら膵炎犬の病理組織学的検索で，膵は全例出血性壊死性膵炎の像を呈し，同時に検索した肺，腎においては無数の小血栓が認められた．

以上本実験結果から急性出血性壊死性膵炎にみられる血液凝固能異常は，Disseminated intravascular coagulation による Consumption coagulopathy と解され興味ある所見と考えられる．

本論文の要旨は，第75回日本外科学会総会にて発表した．なお，本研究の一部は文部省科学研究費の補助によつた．

文　献

1) Lafler, C.J. and Hinerman, D.L.: A morphologic study of pancreatic carcinoma with reference to multiple thrombi. Cancer, **14**: 944, 1961.
2) Mckay, D.G., Massell, H. and Hertig, H.T.: Carcinoma of body of pancreas with fibrin

thrombosis and fibrinogenopenia. Cancer, **6**: 862, 1953.

3) Sproul, E.E.: Cancer and Venous thrombosis: frequency of association of carcinoma in the body and tail of the pancreas with multiple venous thrombosis. Am. J. Cancer, **34**: 566, 1938.

4) Shinowara, G.Y., Stutman, L.J., Walters, I.I., Ruth, M.E. and Walker, E.J.: Hypercoagulability in acute pancreatitis. Am. J. Surg., **105**: 714, 1963.

5) Richman, A.: Acute pancreatitis. Am. J. Med., **21**: 246, 1956.

6) Machella, T.E.: Useful diagnostic laboratory procedures in pancreatitis. Arch. Int. Med. **96**: 322, 1955.

7) Beisel, W.R., Herndorn, E.G., Myers, Jr., J.E. and Stones, L.: Acute renal failure as a complication of acute pancreatitis. Arch. Int. Med. **104**: 534, 1957.

8) Kwaan, H.G., Anderson, M.C. and Gramatica, L.: A study of pancreatic enzymes as a factor in the pathogenesis of disseminated intravascular coagulation during acute apncreatitis. Surgery, **69**: 663, 1971.

9) Gabryelewicz, A. and Niewiaroski, S.: Activation of blood clotting and inhibition of fibrinolysis in acute pancreatitis. Thromb. Diath. Haemorrh., **20**: 409, 1968.

10) Gabryelewicz, A., Niewiaroski, S. and Prokopowicz, J.: Heparin and protease inhibitors in the prevention of experimental acute pancreatic necrosis in dogs. Digestion, **2**: 7, 1969.

11) Brecher, G. and Cronkite, E.P.: Morphology and enumeration of human blood platelets. J. Appl. Physiol., **3**: 365, 1950.

12) Ceska, M., Birath, K. and Brown, B.: A new and rapid method for the Clinical determination of alphaamylase activites in human serum and urine. Clin. Chim. Acta., **26**: 437, 1969.

13) Cherry, I.S. and Crandall, L.A.: The specificity of pancreatic lipase: Its appearance in the blood after pancreatic injury. Am. J. Physiol., **100**: 266, 1932.

14) Rinderknecht, H., Geakas, M.C., Silverman, P. and Haverback, B.J.: Determination of elastolytic activity in blood and normal subjects and patients with acute pancreatitis. Clin. Chim. Acta., **19**: 89, 1968.

15) Bridgwater, A.B. and Necheles, H.: Plasminogen in pancreatic disease and in pancreatic secretion. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., **95**: 84, 1957.

16) Rush, B. and Cliffton, E.E.: Trypsin in acute haemorrhagic pancreatitis. Surgery, **31**: 349, 1952.

17) Innerfield, I., Schwarz, A. and Angrist, A.: Intravenous trypsin: Its anticoagulant, fibrinolytic and thrombolytic effects. J. Clin. Invest., **31**: 1049, 1952.

18) 市川澄夫：実験的膵障害犬における凝固，線溶系の変動．第2編，凝固活性，とくに antithrombinⅢ 活性の変動．信州医誌，**16**：595，1967.