

## 血液凝固の最前線

## — 正しい理解のためのアップデート —

## 三室 淳

自治医科大学医学部分子病態治療研究センター 分子病態研究部：栃木県下野市薬師寺 3311-1 (〒 329-0498)

## キーワード

凝固, 組織因子含有マイクロパーティクル, プロテアーゼ活性化レセプター, ADAMTS13

## はじめに

ヒトの体は骨格, 筋肉, 種々臓器とそれらをつなぐ神経・心血管・ホルモン・血液などのネットワークが整然と機能している。血液凝固反応は, そのネットワークの一つである血流を維持する生体防御機構である。血管の中を血液が流れているということは一見あたりまえのようだが, 血管の中では血液は固まらず血管の外にできれば直ちに固まる(凝固する)という難しい命題を抱えている。この命題をなしとげているのが, 血小板・血液凝固と制御系・線溶系・血管である。

血液に接する血管内皮細胞はトロンボモジュリンに代表される抗血栓因子を産生して血栓ができるのを押さえ, 血流を保つように働く。血小板は血流中では安定した状態で流れているが, 出血が起こると真っ先に出血部位にフォン・ヴィレブランド因子を介して結合することで止血に働き, 活性化して凝集物質を放出することでさらに血小板を集めるとともに凝固反応の場を提供する。凝固因子は血液中を活性のない前駆体として流れていて, 出血がおこると凝固因子が活性化されて血小板とともに止血に働き, 最終的にはフィブリンをつくり止血する。凝固制御系は凝固反応を調節し, 血栓ができすぎて血管を塞がないように働いている。一方, 止血のためにできた血栓は出血部位が治るためには邪魔になる。この血栓を除去し治癒に向かわせる線溶系も通常は待機状態にあり, フィブリンができると適切な時期

にそれを溶かすように働き, 血栓が溶解されると線溶反応も終息する。すべてについて詳細に説明することはできないので, 凝固反応の最近の理解と凝固系が関わる血栓形成以外の生体反応について述べてゆく。

凝固因子の理解のための  
オーバービュー

凝固因子は酵素, 補因子・補酵素, 特殊な機能分子の三つに大別される。凝固因子(以下, それぞれの凝固因子については, 第II因子:プロトロンビン, 第VII因子をII, VIIのようにギリシャ数字で, またそれぞれの活性型凝固因子は, IIa:トロンビン, VIIaのようにaを付け略す)の大部分(II, VII, IX, X, XI, XIII)は酵素・酵素前駆体であり, これらを助ける補因子・補酵素(V, VIII)がある。凝固反応の最初と最後において特殊な機能分子(組織因子とフィブリノゲン)が働き, 組織因子(TF)は活性型VII因子(VIIa)を結合して凝固を開始し, フィブリノゲンはトロンビン(IIa)の作用でフィブリンとなり, フィブリン同士が結合してフィブリン血栓となり止血する。後述するように, 凝固因子の多くが酵素型であることは凝固反応を増幅させて速やかにフィブリンをつくり止血させる上で重要で, 補因子も活性化されることで飛躍的に補酵素活性が上がる。

## 凝固反応を開始する組織因子の最近の理解

血液凝固はVIIaがTFに結合することから始まる。血液中でVIIの一部はすでにVIIaとなっている。しかし、VIIaはそのままでは凝固反応を起こさず、TFに結合して初めて凝固系を活性化する。凝固反応を開始するTFは細胞膜に結合した膜蛋白で、血液と接しない細胞や組織（血管中膜の平滑筋細胞、血管外膜など）に発現している。細胞膜に結合していない可溶性TF分子が血液に見いだされているが、可溶性TFは凝固活性がほとんどない。このことが出血しなければ凝固反応が起こらないことの説明とされてきた。血中にも白血球由来のマイクロパーティクルに膜結合型TFが存在していること（TF含有マイクロ

パーティクル；tissue factor-bearing microparticle）が見いだされたが、生理的状态では潜在型あるいは埋没型となっていて、マイクロパーティクルのTFは凝固を起こすことがないと考えられている<sup>1,2)</sup>。レーザー照射で血管傷害を起こすと、傷害血管部位にできた血小板血栓へ組織因子をもつマイクロパーティクルが短時間のうちに集積しフィブリン血栓が形成される（この反応は血小板の活性化とPセレクトインとそのリガンド依存性である）。すなわち、まず傷害血管部位に血小板が結合して活性化され、そこにTF含有マイクロパーティクルが結合して血小板上で凝固が進行し血栓ができる<sup>3)</sup>。血管傷害が強く、血液が血管中膜や外膜のTFに接触すれば、そこでも凝固系が活性化される（図1）。

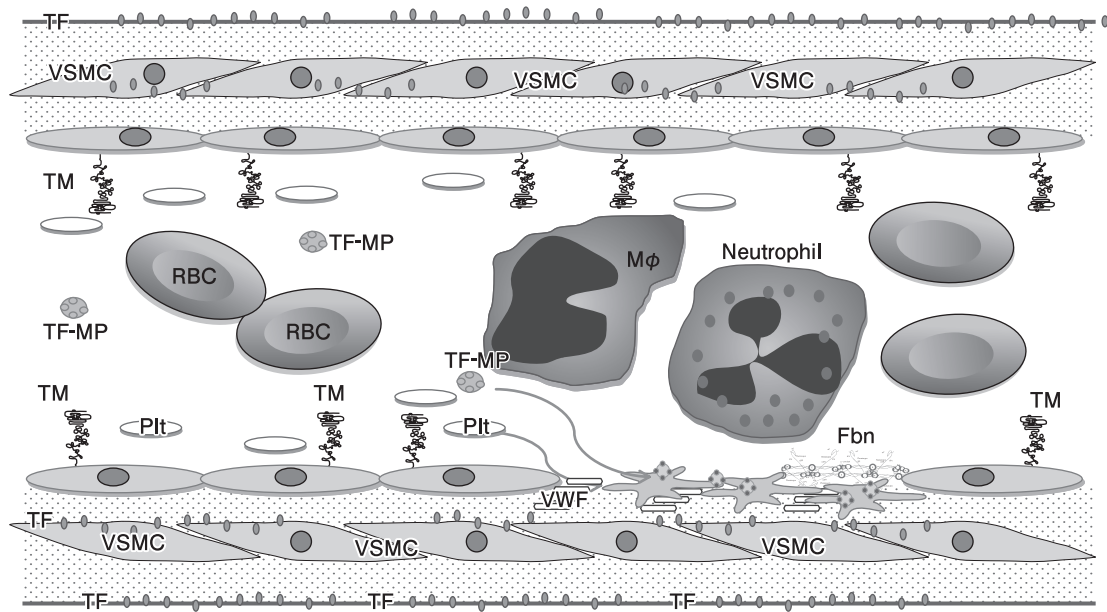


図1. 組織因子含有マイクロパーティクルによる凝固活性化

生体内で起こる凝固初期反応を模式図で示す。血管損傷から出血が起こると、まず血小板(Plt)がフォン・ヴィレブランド因子(VWF)を介して血管損傷部位に結合し活性化される。組織因子(TF)含有マイクロパーティクル(TF-MP)は活性化した血小板に結合し、TFがVIIaを結合して凝固反応が開始される。損傷が大きく血管平滑筋細胞(VSMC)や血管外膜に血液が接触すれば、それらに発現しているTFにもVIIaが結合して凝固反応が開始される。血管内皮細胞は抗血栓性因子トロンボモジュリン(TM)やアンチトロンピンを結合するプロテオグリカンなどを発現し血栓の進展を防いでいる(RBC, 赤血球; Mφ, 単球/マクロファージ; Neutrophil, 好中球; Fbn, フィブリン)。

## 臨床検査の表す凝固カスケードと生体内の凝固カスケードの差異

よく知られているように、臨床検査のプロトロンビン時間 (PT) と活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT) の組み合わせで、いずれの凝固因子が欠乏しているかおおよその推測ができる。しかし、PT と APTT で進む凝固反応は生体内で起こる凝固反応 (図2) を正しく反映していないことは意外と知られていない。生体内で起こる凝固反応は初期相と増幅相からなるが、初期反応では TF・VIIa 複合体により IX が活性化され、生じた IXa は VIII の補酵素作用をう

けて X を活性化し、Xa は V の補因子作用をうけてプロトロンビン (II) をトロンビン (IIa) とし、最終的にフィブリノゲンがフィブリンとなる。PT 試薬は組織トロンボプラスチン (TF) を大量に加えるので、TF・VIIa 複合体が高濃度で生成される。このため、TF・VIIa 複合体は X を直接活性化できてしまい、TF・VIIa 複合体による IX 活性化と IXa による X の活性化が PT に反映されない。しかし、生体内では TF は少量であるため、VIIa の生成量も少なく低濃度である。このため、VIIa は IX を活性化できるが、X の活性化は効率良く進まない (図2)。APTT でみると、血友病 A (VIII 欠乏症) と血友病 B (IX 欠乏症) は

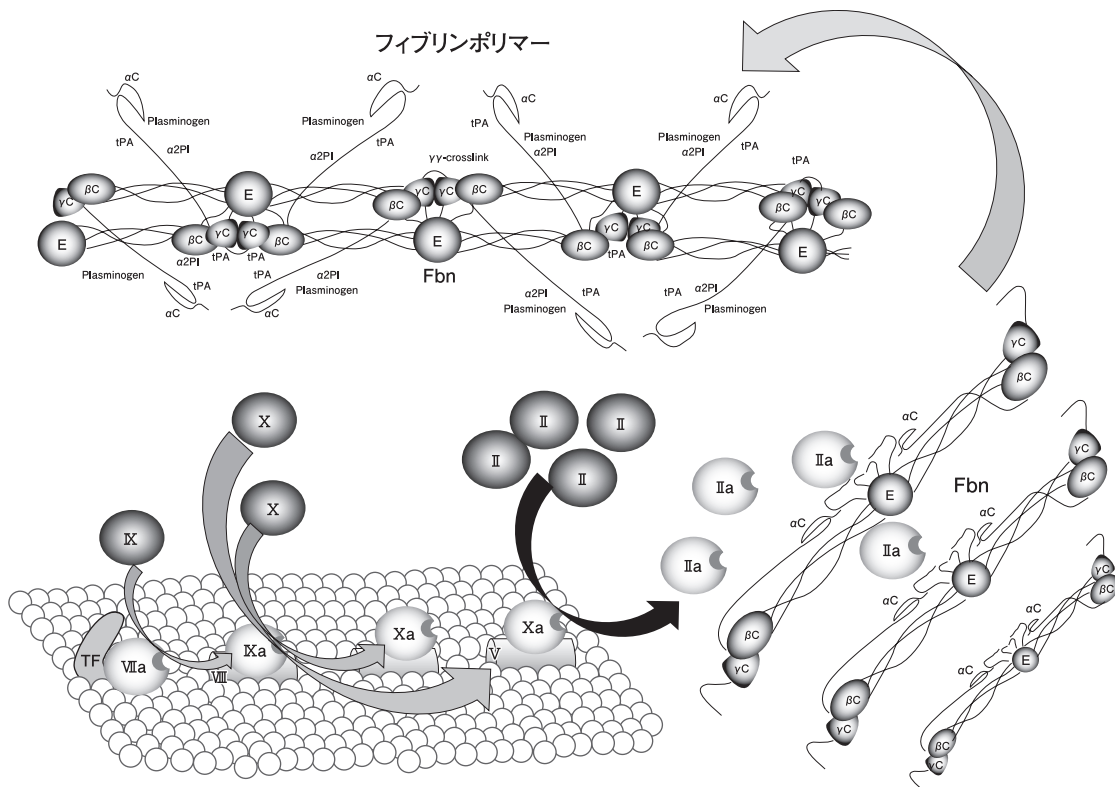


図2. 凝固初期反応

初期反応では、まず VIIa がマイクロパーティクル、あるいは血管中膜や外膜にある組織因子 (TF) に結合することから始まる。TF/ VIIa により IX の活性化が起こり、IXa は VIII の補酵素作用を受け X を活性化する。Xa は V の補酵素作用をうけて II (プロトロンビン) を活性化する結果 IIa (トロンビン) ができ、フィブリノゲン (Fbg) がフィブリン (Fbn) となる。フィブリン分子同士はお互いに強く結合するため、多数のフィブリン分子が結合したポリマーとなりフィブリン血栓が形成される。

APTT が延長し強い出血傾向を示すが、同様に APTT が著明に延長する接触相因子 (XII, 高分子キニノゲン, プレカリクレイン) 欠乏では出血しない。

凝固反応の増幅は二つの機序で行われる。第一に、ある活性化凝固因子 (例えば Xa) が次の凝固因子 (例えば II) を活性化するときには、活性化される凝固因子 (例えば II) が基質であるため多くの凝固因子 (II) が活性化される (IIa) ことになる (Xa が 1 分子あれば IIa は短時間に 50 ~ 100 分子できる) (この増幅反応は初期相でもおこる)。第二には、トロンビン (IIa) が少量でも産生されると、IIa は VII, XI,

V, VIIIなどを活性化するため、VIIa による凝固開始、XIa による IX 活性化が加わり、Va, VIIIa となることでこれらの補酵素活性が高まる (VII は Xa でも活性化されるので、増幅される)。これらのポジティブフィードバックにより凝固反応は飛躍的に高まる (図 3)。XI はこのポジティブフィードバックに関わるが、初期相には関わらないため、XI 因子欠損症では出血傾向があるものの、血友病などに比較し軽症である。

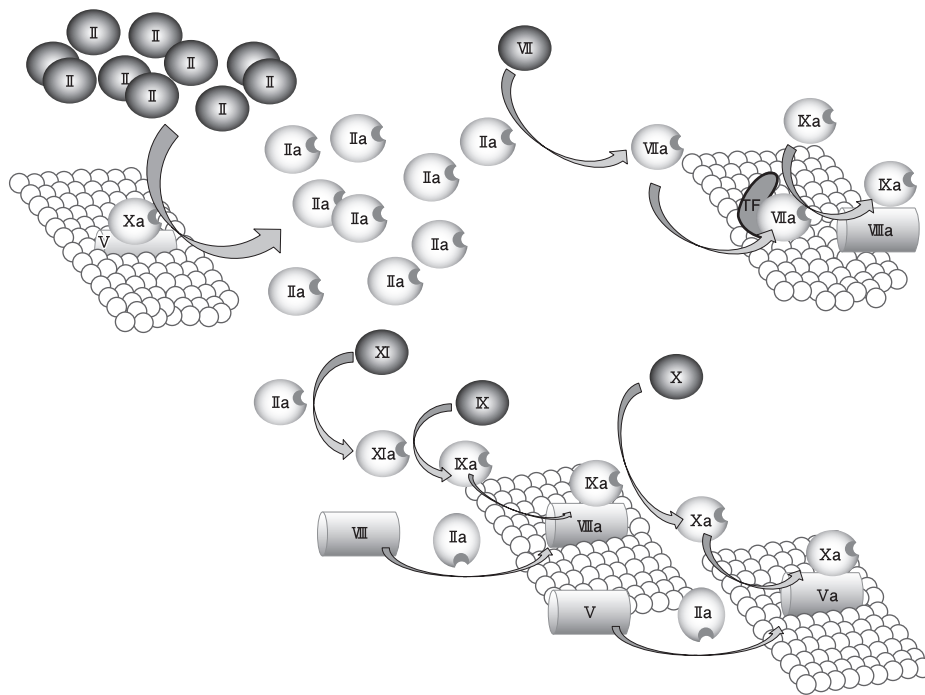


図3. 凝固反応の増幅機序

Xa が II (プロトロンビン) を活性化する過程を模式図として示す。Xa の 1 分子は多数の II 分子を活性化する。このように、酵素と基質の関係で凝固反応が増幅される。いったん IIa (トロンビン) ができると、トロンビンは XI を活性化し、生じた XIa は、TF/ VIIa とは別の経路で IX を活性化する。IIa (トロンビン) は V と VIII も活性化し Va, VIIIa とする。Va, VIIIa は活性化されていない V, VIII と比較し補酵素活性が飛躍的に高く、それぞれ Xa, IXa による II, X の活性化反応を高める。トロンビンと Xa によって VII も活性化されるので VIIIa が高濃度になればさらに IX の活性化が進む。このように凝固は各凝固因子の活性化段階で増幅されるが、いったん初期反応でトロンビンが生ずると、トロンビンによる増幅反応で凝固反応は飛躍的に高くなる。

## 炎症と凝固

臨床的にも敗血症には DIC が高率に合併し、感染症時に心筋梗塞などの血栓症がおこることも多いことから分かるように、敗血症に代表される強い炎症があると凝固亢進状態となる。このメディエーターはエンドトキシンや炎症性サイトカインなどで、単球マクロファージや血管内皮細胞での組織因子発現を促して凝固系が活性化することが知られている。刺激を受けた血管内皮細胞はフォン・ヴィレブランド因子 (VWF) を放出するとともに、VWF 産生が亢進する。VWF を切断しマルチマー機能を制御している

ADAMTS13 はエンドトキシンの刺激で産生が低下し、また、白血球エラスターゼなどにより分解されるため、ADAMTS13 活性は低下する<sup>4,5)</sup>。この結果、VWF と ADAMTS13 の不均衡がおこり超高分子 VWF マルチマーが増え、血小板血栓形成に傾く。TF 含有マイクロパーティクル濃度も上昇する。凝固制御系の重要な分子であるトロンボモジュリンの発現が低下し、さらには線溶系の制御因子である PAI-1 の産生亢進がおこる<sup>6)</sup>。このように、凝固系ばかりでなく血管内皮細胞、血小板系さらには線溶系も含め、凝固亢進に強く傾いてゆく (図 4)。

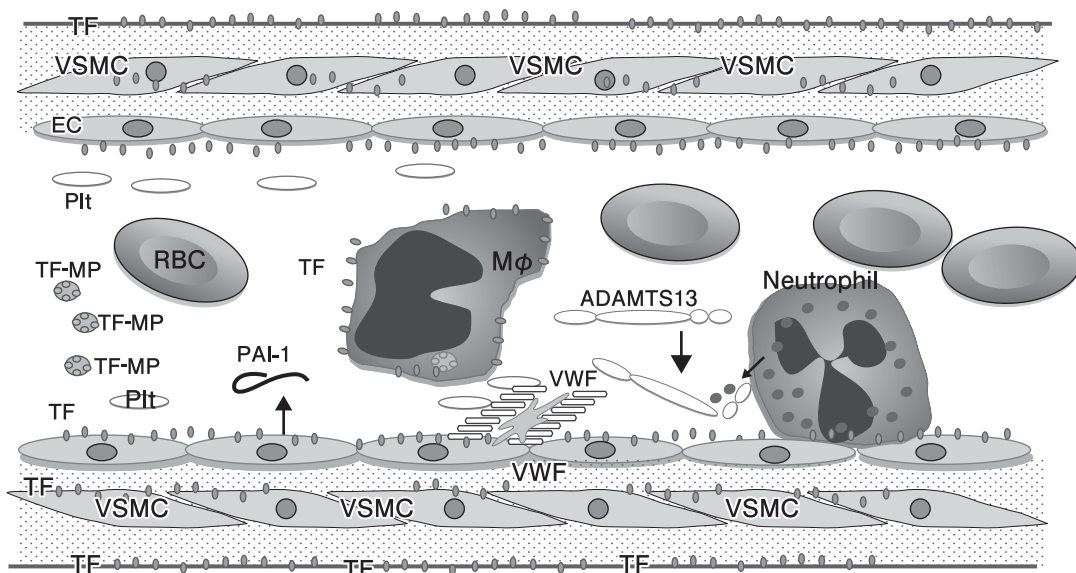


図 4. SIRS における凝固亢進

エンドトキシンや単球/マクロファージや免疫系細胞から放出される炎症性サイトカインなどの刺激により、単球/マクロファージや血管内皮細胞での組織因子 TF 発現を起こし凝固系活性化が起こる。刺激された血管内皮細胞は接着因子を産生し白血球を結合、VWF を放出するとともに VWF 産生が亢進する。VWF を切断しマルチマーを制御している ADAMTS13 はエンドトキシンの刺激で産生が低下することと白血球エラスターゼ (NE) などにより分解されるため、ADAMTS13 活性が低下する。この結果、VWF と ADAMTS13 濃度の不均衡がおこり超高分子 VWF マルチマーが増え血小板血栓形成に傾く。凝固制御系の重要な分子であるトロンボモジュリンの発現が低下し、さらには線溶系の制御因子である PAI-1 の産生亢進がおこる。

## 凝固反応と細胞シグナル

トロンビン（IIa）により活性化されるプロテアーゼ活性化レセプター1（protease activated receptor-1；PAR-1）の発見以後，PARファミリーが同定され細胞内シグナル伝達における重要性が報告されてきた。上述のように凝固因子の多くは活性化されて酵素proteaseとなる。これら活性化凝固因子とPARファミリーの関係が明らかとなり，凝固因子は単に血栓をつくるばかりでなく様々な生体反応の担い手であることが分かってきた。

トロンビン（IIa）はPAR-1を介して血小板の活性化とともに血管内皮細胞に働き血管透過性を亢進させることで，敗血症における死亡率を上昇させる。一方，凝固制御因子の一つの活性化プロテインC

（aPC）は血管内皮プロテインCレセプター（EPCR）の介在下にPAR-1を活性化することで，血管透過性を逆に下げ敗血症における死亡率を低下させる<sup>7)</sup>。同じPAR-1を介する反応であるが，細胞内の下流のシグナルは異なり，生体に逆の結果を起こす。実際，遺伝子組換え活性化プロテインC製剤は重症血症治療において有効性が示されている。

PAR-2は凝固系因子ではXaあるいはVIIaにより活性化される。PAR-1活性化はTFへ結合したVIIaで行われ，癌細胞の転移や癌における血管新生の促進に働く。XaはTF/VIIaと結合し3分子からなる複合体を形成し，PAR-2の活性化を効率よく起こす。このPAR-2シグナル伝達にEPCRも関与していると考えられている。

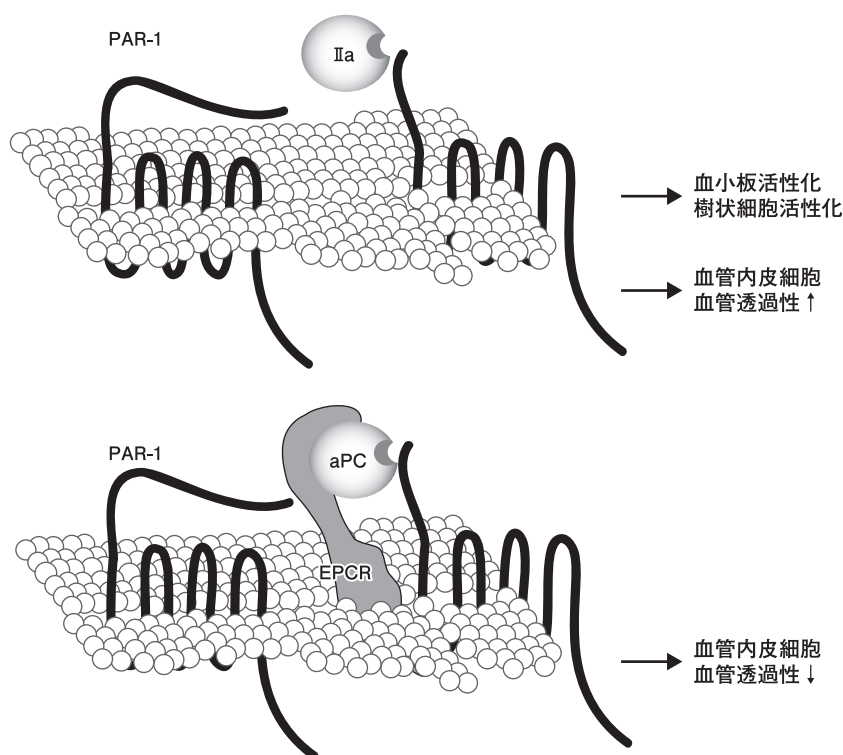


図5. PAR-1の活性化

トロンビンはPAR-1の一部を切断することで活性化させる。トロンビン（IIa）はPAR-1を介して血小板の活性化とともに血管内皮細胞に働き血管透過性を亢進させることで敗血症における死亡率を上昇させる。また，免疫系の樹状細胞を活性化させSIRS発症にも関与する。一方，凝固制御因子の一つの活性化プロテインC（aPC）は血管内皮プロテインCレセプター（EPCR）の介在下にPAR-1を活性化することで血管透過性を逆に低下させ敗血症における死亡率を低下させる。

## 免疫と凝固

凝固線溶系と免疫系のクロストークも提唱されてきている。PAR-1 ノックアウトマウスの解析から、免疫系の樹状細胞からのサイトカイン放出には PAR-1 シグナルが関与し、トロンビン (IIa) によるリンパ組織の樹状細胞の PAR-1 活性化は全身性の炎症反応を惹起する。すなわち、敗血症では凝固系の活性化は血液中ばかりでなくリンパ管でもおこり、樹状細胞の PAR-1 のトロンビン (IIa) による活性化シグナルは SIRS (全身性炎症反応症候群) 発症へ繋がる<sup>8)</sup> (図5)。

## おわりに

凝固反応の最近の知見を中心に出血性疾患や血栓症発症の機序を述べた。難しいと敬遠されがみの凝固反応の理解の助けになれば幸いである。血小板、凝固制御機構、線溶系については説明しえなかったが、多くの総説があるので、それらを参考にさせていただきたい。

## 参考文献

- 1) Del Conde I et al. Tissue-factor-bearing microvesicles arise from lipid rafts and fuse with activated platelets to initiate coagulation. *Blood*. 2005; **106** (5): 1604-1611
- 2) Zwicker JI et al. Tissue factor-bearing microparticles and thrombus formation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2011; **31** (4): 728-733
- 3) Furie B, Furie BC. Mechanisms of Thrombus Formation. *N Engl J Med*. 2008; **359** (9): 938-949
- 4) Ono T et al. Severe secondary deficiency of von Willebrand factor-cleaving protease (ADAMTS13) in patients with sepsis-induced disseminated intravascular coagulation: its correlation with development of renal failure. *Blood*. 2006; **107** (2): 528-534
- 5) Mimuro J et al. Unbalanced expression of ADAMTS13 and von Willebrand factor in mouse endotoxemia. *Thromb Res*. 2008; **122** (1): 91-97
- 6) Madoiwa S et al. Plasminogen activator inhibitor 1 promotes a poor prognosis in sepsis-induced disseminated intravascular coagulation. *Int J Hematol*. 2006; **84** (5): 398-405
- 7) Ruf W, Furlan-Freguia C, Niessen F. Vascular and dendritic cell coagulation signaling in sepsis progression. *J Thromb Haemost*. 2009; **7** Suppl 1: 118-121
- 8) Niessen F et al. Dendritic cell PAR1-S1P3 signalling couples coagulation and inflammation. *Nature*. 2008; **452** (7187): 654-658

# Recent Advance in Blood Coagulation

Jun MIMURO

Division of Cell and Molecular Medicine, Center for Molecular Medicine, Jichi Medical University,  
3311-1 Yakushiji, Shimotsuke-shi, Tochigi 329-2085

### Key Words

Blood coagulation, tissue factor bearing microparticle, protease activated receptor, ADAMTS13