

0.1mg/kg をbolus投与し、6 µg/kg/minを持続で開始し、APTTが2.0~2.5倍となるようにする。また透析については10mgを回路内投与して25mg/hrで投与開始して用量を調節するとされているが、最近では5 mgを回路内投与し、7.5mg/hr持続投与により無事透析が行われている。肝機能障害のある場合にはこれらのアルガトロバン投与量を1/2~1/4に減量することとされている。ワーファリンはヘパリンと同様に血栓症患者に汎用される薬物であるが、HIT症例においてはワーファリンのプロテインC活性阻害作用により、トロンビン生成が促進される可能性があるため禁忌である。すでに投与されていた場合にはただちに中止し、ビタミンKを投与する必要がある。HITの既往をもつ患者に対するヘパリンの再投与については結論は得られていない。HIT抗体の陰性化した症例での成功例が報告されているが、前述の症例のように高力価のHIT抗体が認められた症例では治療により血小板減少や血栓症などの症状が軽快しても、その後長期にわたって抗体が検出されることや、いったん陰性化した症例でも再投与によりHIT抗体価が上昇することもあることから、基本的には使用を避けるべきものと考えられる。

### おわりに

現在ではヘパリンを汎用する臨床部門ではその重大な副作用であるHITの存在が認識され、適切に診断ならびにその治療が行われるようになってきているが、まだまだ十分とはいえないのが現状である。さらにヘパリンの使用経験が少ない部門ではHITの可能性を考慮することすら困難であるように思われる。そこで、われわれは血小板減少症の診断フローチャート(図2)<sup>22)</sup>を作成しており、これを用いることで血液専門医以外でも、HITなどの血小板減少症を的確に診断し、適切な治療が行われることを期待している。

### 文 献

- 1) Gollub S, Ulin AW. Heparin-induced thrombocytopenia in man. *J Lab Clin Med* 1962 ; 59 : 430.
- 2) Chong BH. Heparin-induced thrombocytopenia. *J Thromb Haemost* 2003 ; 1 : 1471.
- 3) Boehlen F, Clemetson KJ. Platelet chemokines and their receptors : what is their relevance to platelet storage and transfusion practice? *Transfus Med* 2001 ; 11 : 403.
- 4) Warkentin TE, Levine MN, Hirsh J, et al. Heparin-induced thrombocytopenia in patients treated with low molecular weight heparin or unfractionated heparin. *N Engl J Med* 1995 ; 332 : 1330.
- 5) Fareed J, Walenga JM, Hopensteadt DA, et al. Selectine in the HIT syndrome : pathophysiologic role and therapeutic modulation. *Semin Thromb Hemost* 1999 ; 25 Suppl 1 : 37.
- 6) Blank M, Shoenfeld Y, Tavor S, et al. Antiplatelet factor 4/heparin antibodies from patients with heparin-induced thrombocytopenia provoke direct activation on microvascular endothelial cells. *Int Immunol* 2002 ; 14 : 121.
- 7) Jang IK, Hursting MJ. When heparins promote thrombosis : review of heparin-induced thrombocytopenia. *Circulation* 2005 ; 111 : 2671.
- 8) Matsuo T, Tomaru T, Kario K, et al. Incidence of heparin-PF4 complex antibody formation and heparin-induced thrombocytopenia in acute coronary syndrome. *Thromb Res* 2005 ; 115 : 475.
- 9) Yamamoto S, Koide M, Matsuo M, et al. Heparin-induced thrombocytopenia in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 1996 ; 28 : 82.
- 10) Lee DH, Warkentin TE. Frequency of heparin-induced thrombocytopenia. In : Warkentin TE, Greinacher A, editors. *Heparin-induced thrombocytopenia*. 3rd ed. NY : Marcel Dekker ; 2004. p. 53.
- 11) Warkentin TE, Sheppard JI, Horsewood P, et al. Impact of the patient population on the risk for heparin-induced thrombocytopenia. *Blood* 2000 ; 96 : 1703.
- 12) Warkentin TE, Kelton JG. A 14-year study of heparin-induced thrombocytopenia. *Am J Med* 1996 ; 101 : 502.
- 13) Warkentin TE. Heparin-induced thrombocytopenia. *Circulation* 2004 ; 110 : 454.
- 14) 松尾武文, 和中敬子, 浅田玲子. ヘパリン起因性血小板減少症 病因, 検査, 治療. *臨床病理* 2006 ; 53 : 622.

- 15) 松尾武文, 松尾美也子, 島野ちか子, ほか. ヘパリン起因性血小板減少症のヘパリン・PF4複合体抗体の検出法の現況. 血栓止血学会誌 2002 ; 13 : 513.
- 16) Kato S, Matsumoto M, Matsuyama T, et al. Novel monoclonal antibody-based enzyme immunoassay for determining plasma levels of ADAMTS13 activity. *Transfusion* 2006 ; 46 : 1444.
- 17) Lewis BE, Wallis DE, Berkowitz SD, et al. ARG-911 Study Investigators. Argatroban anticoagulant therapy in patients with heparin-induced thrombocytopenia. *Circulation* 2001 ; 103 : 1838.
- 18) Greinacher A, Volpel H, Janssens U, et al. Recombinant hirudin provides safe and effective anticoagulation in patients with heparin-induced thrombocytopenia : a prospective study. *Circulation* 1999 ; 99 : 73.
- 19) Magnani H. Heparin-induced thrombocytopenia : an overview of 230 patients treated with organan. *Thromb Haemost* 1993 ; 70 : 554.
- 20) Okamoto S, Hijikata A, Kikumoto R, et al. Protein inhibitor of thrombin by the newly synthesized arginine derivative No.805. The importance of stereostructure of its hydrophobic carboxamide portion. *Biochem Biophys Res Commun* 1981 ; 101 : 440.
- 21) 鈴木俊示, 松尾武文. HITの治療. In : 岡本彰祐, 池田康夫・監修. HIT診療の手引き. 神戸 : HIT情報センター ; 2004.
- 22) 藤村吉博. 12. 小児内科領域の輸血 d. 血小板減少症. In : 大戸 齊, 遠山 博・編. 小児輸血学. 東京 : 中外医学社 ; 2006.

\* \* \*

## インテグリン阻害剤

大阪大学大学院医学系研究科血液・腫瘍内科

富山 佳昭

Yoshiaki Tomiyama  
(講師)

### はじめに

インテグリンは細胞-細胞あるいは細胞-細胞外マトリックスの接着を司る主要な細胞上の接着レセプターファミリーである。インテグリンを介した細胞接着は個体の発生過程、免疫反応、組織修復、炎症反応、癌の増殖・転移、止血や血栓形成、血管新生といったさまざまな生理的あるいは病的過程における中核をなしていることが明らかにされている<sup>1)~3)</sup>。インテグリンは $\alpha$ 鎖と $\beta$ 鎖の異なる2つのサブユニットが非共有結合したヘテロダイマーであり、一般的に $\alpha_v\beta_3$ という形で表現される<sup>1)</sup>。現在までに少なくとも18種類の $\alpha$ 鎖と8種類の $\beta$ 鎖が同定され少なくとも24種類のインテグリンが知られており、 $\beta$ 鎖の種類により $\beta_1 \sim \beta_8$ のサブファミリーに分類されている。そのなかには、フィブロネクチン、コラーゲン、ラミニン、ビトロネクチンなどの受容体が含まれている。インテグリンは上記のように種々の病的過程においてきわめて重要な役割を担っているため、疾病制御のための標

的分子として注目されてきた。インテグリン阻害剤としては、1994年に初めて血小板インテグリン $\alpha_{IIb}\beta_3$ (GP IIb-IIIaともよばれる)に対するヒト・マウスのキメラ抗体(Abciximab: Reo-Pro®)が臨床応用され、その優れた血栓発症予防作用が明らかにされた<sup>4)</sup>。現在、臨床応用されているインテグリン

阻害薬としては、 $\alpha_{IIb}\beta_3$ を標的とした抗血栓薬および $\alpha_v\beta_3$ を標的とした抗腫瘍薬である。本稿ではこれら $\beta_3$ インテグリンに対する阻害剤の概要を紹介する<sup>5)6)</sup>。

### インテグリンの構造と機能

$\beta_3$ インテグリンは球状の頭部と2

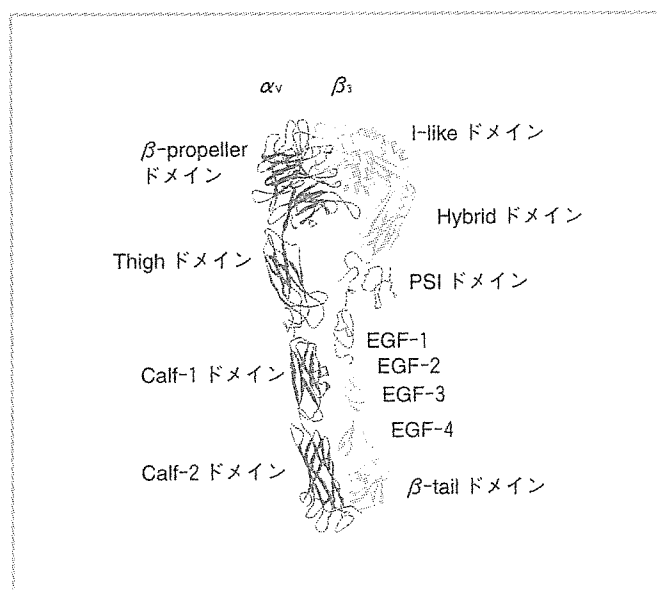


図1  $\alpha_v\beta_3$  の構造

$\alpha_v$ と $\beta_3$ はCaイオン依存性に1:1の複合体を形成している。 $\alpha_v$ の $\beta$ -プロペラドメインと $\beta_3$ のI-likeドメインが球状の頭部を形成し、この部分がグリカンド結合部位として機能する。

(文献6より改変して引用)

Surgery Frontier 13(1): 60-63, 2006

# What's New in SURGERY FRONTIER

表1 インテグリン阻害剤

$\alpha_{\text{nb}}\beta_3$ 阻害剤		
Abciximab (ReoPro®)	ヒト・マウスキメラ抗体 (Fab 分画)	冠インターベンション, 急性冠症候群
Eptifibatid (Integrilin®)	非ペプチド化合物	冠インターベンション, 急性冠症候群
Tirofiban (Aggrastat®)	非ペプチド化合物	冠インターベンション, 急性冠症候群
$\alpha_v\beta_3$ 阻害剤		
Vitaxin-1 および Vitaxin-2	ヒト化抗体	癌(Phase II)および関節リウマチ(Phase I)
Cilengitide	環状 RGD ペプチド  ( $\alpha_v\beta_3$ にも阻害作用あり)	膵臓癌, 肺癌(非小細胞癌), 神経膠芽腫(Phase II)

(文献 9, 11 より引用)

本の茎を有する構造をとるが、フレキシブルな構造のため、2001年によく  $\alpha_v\beta_3$  の構造が<sup>6)</sup>、続いて2004年に  $\alpha_{\text{nb}}\beta_3$  の構造が解明された<sup>7)</sup>。特に、 $\alpha$ 鎖の  $\beta$ -プロペラドメインと  $\beta_3$  の I-like ドメインがリガンド結合部位として機能しているが、これらの2つのドメインはインテグリンの球状の頭部を形成し、 $\alpha$ 鎖と  $\beta$ 鎖の接合部位においてひとつの機能部位として働いている(図1)<sup>6)</sup>。

$\alpha_{\text{nb}}\beta_3$  は血小板/巨核球系に特異的に発現しているインテグリンであり、フィブリノゲンおよび von Willebrand 因子のレセプターとして機能し、血小板の凝集に必須の蛋白である<sup>8)</sup>。一方  $\alpha_v\beta_3$  は、血管内皮、血管平滑筋、破骨細胞など種々の細胞に発現しており、腫瘍血管新生時に血管内皮細胞に過剰に発現すること、さらにマウスモノクローナル抗体 LM 609 により腫瘍血管

新生が抑制されることが動物実験により示されている。この成績より  $\alpha_v\beta_3$  阻害剤は抗腫瘍薬として注目されている<sup>9)</sup>。

また、これら  $\beta_3$  インテグリンとリガンドとの結合の一部はリガンド側に存在する Arg-Gly-Asp (RGD) 配列を介していることが明らかにされており<sup>1)</sup>、この RGD 配列を基盤として種々の低分子阻害剤が開発されている。

## インテグリン阻害薬

現在臨床応用されているインテグリン阻害薬は、すべてリガンドとの結合を直接阻害することによりインテグリン機能を阻止する薬剤である。阻害剤の種類としては、キメラあるいはヒト化抗体薬と低分子阻害剤に大別される(表1)。

$\alpha_{\text{nb}}\beta_3$  阻害薬、特にアブキシマブ(Abciximab)は、本邦では認可される

に至らなかったが、世界の多くの国々において使用されている薬剤である<sup>9)10)</sup>。アブキシマブは抗  $\beta_3$  マウスモノクローナル抗体(7E3)を鋳型にして遺伝子工学により抗体の可変部分を除く大部分をヒト型に変えたキメラ抗体の Fab 部分である。 $\alpha_{\text{nb}}\beta_3$  阻害薬はすべて注射薬であり、適応は冠動脈インターベンションおよび急性冠動脈症候群の治療である。特に冠動脈インターベンション後の心血管イベント抑制に対してその有効性が高く、急性冠症候群に対してはその効果が若干劣る(図2)<sup>9)</sup>。

$\alpha_v$  に関して  $\alpha_v\beta_1$ ,  $\alpha_v\beta_3$ ,  $\alpha_v\beta_5$ ,  $\alpha_v\beta_6$ ,  $\alpha_v\beta_8$  の5種類のインテグリンが存在するが、そのなかでも  $\alpha_v\beta_3$  を標的とした阻害薬は、主に抗腫瘍薬として臨床治験がすすめられている<sup>11)</sup>。マウスモノクローナル抗体(LM 609)からのヒト化抗体として Vitaxin-1、より親

# What's New in SURGERY FRONTIER

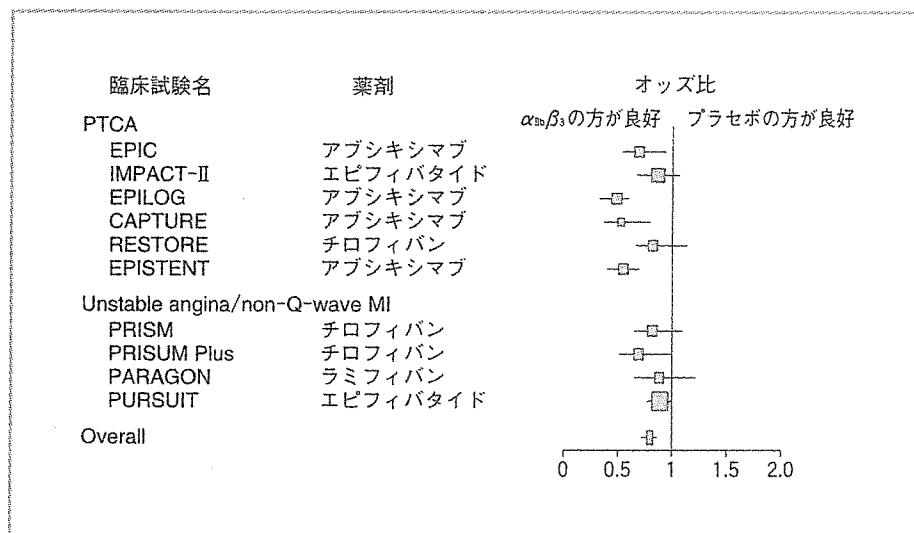


図2  $\alpha_{nb}\beta_3$  阻害薬の大規模臨床試験の成績

$\alpha_{nb}\beta_3$  阻害薬あるいはプラセボ投与後の30日目での臨床効果(死亡あるいは非致死的心筋梗塞の発生)

(文献9より改変して引用)

和性が高い第二世代の Vitaxin-2 が開発されている。一方、環状 RGD ペプチドの誘導体として Cilengitide が開発されている<sup>11)</sup>。これらの薬剤は、標準治療に抵抗性の進行癌を対象に臨床試験中である。Vitaxin の進行癌を対象とした Phase I 試験において、その安全性が確認され、評価可能であった14例中1例にて腫瘍の縮小がみられ、7例で病状の安定が得られたとの成績であった<sup>12)</sup>。

## おわりに

インテグリン阻害薬に関して  $\alpha_{nb}\beta_3$  阻害薬の抗血栓作用の有効性は確立しているが、 $\alpha_v\beta_3$  阻害薬の抗腫瘍効果に関しては現在臨床治験中であり、その成績が待たれる。また、他の抗腫瘍剤との併用など、その投与スケジュール

の検討も必要と考えられる。

## 文献

- 1) Hynes RO : Integrins : versatility, modulation, and signaling in cell adhesion. *Cell* 69 : 11-25, 1992
- 2) Shattil SJ, Newman PJ : Integrins : dynamic scaffolds for adhesion and signaling in platelets. *Blood* 104 : 1606-1615, 2004
- 3) Eliceiri BP, Cheresh DA : Adhesion events in angiogenesis. *Curr Opin Cell Biol* 13 : 563-568, 2001
- 4) The EPIC Investigators : Use of a monoclonal antibody directed against the platelet glycoprotein IIb/IIIa receptor in high-risk coronary angioplasty. *N Engl J Med* 330 : 956-961, 1994
- 5) Shattil SJ : Function and regulation of the  $\beta_3$  integrins in hemostasis and vascular biology. *Thromb Haemost*

74 : 149-155, 1995

- 6) Xiong JP, Stehle T, Diefenbach B, et al : Crystal structure of the extracellular segment of integrin  $\alpha_v\beta_3$ . *Science* 294 : 339-345, 2001
- 7) Xiao T, Takagi J, Collier BS, et al : Structural basis for allostery in integrins and binding to fibrinogen-mimetic therapeutics. *Nature* 432 : 59-67, 2004
- 8) 富山佳昭 : インテグリン  $\alpha_{nb}\beta_3$  (GP IIb-IIIa) とその異常症 : 血小板無力症. 一瀬白帝 (編) : 図説 血栓・止血・血管学 : 血栓症制圧のために. 中外医学社, 東京, pp 183-191, 2005
- 9) Topol EJ, Byzova TV, Plow EF : Platelet GP IIb-IIIa blockers. *Lancet* 353 : 227-231, 1999
- 10) 富山佳昭 : GP IIb/IIIa 阻害薬. 血栓と循環 13 : 50-55, 2005
- 11) Tucker GC :  $\alpha_v$  integrin inhibitors and cancer therapy. *Curr Opin Investig Drugs* 4 : 722-731, 2003

## What's New in SURGERY FRONTIER

- 12) Gutheil JC, Campbell TN, Pierce PR, et al : Targeted antiangiogenic therapy for cancer using Vitaxin : a humanized monoclonal antibody to the integrin  $\alpha_v\beta_3$ . Clin Cancer Res 6 : 3056-3061, 2000

# アスピリンの心筋梗塞発症予防のメカニズム 2

## アスピリンの pleiotropic 効果

富山佳昭

とみやま よしあき：大阪大学大学院医学系研究科 血液・腫瘍内科

### ● はじめに

アスピリン（アセチルサリチル酸）はシクロオキシゲナーゼ 1 (COX-1) の Ser529 残基を不可逆的にアセチル化することにより、血小板においてアラキドン酸からのトロンボキサン A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>) の産生を抑制し、抗血小板作用を示すことが明らかにされている。古くは、アスピリンはおもにこの抗血小板作用により心筋梗塞や脳梗塞の発症を抑制すると考えられていた。しかしながらアスピリンの抗血小板作用以外の作用が広く知られるようになり、これらはアスピリンの多面的 (pleiotropic) 効果と呼ばれている<sup>1)</sup>。アスピリンの多面的効果の機序の詳細はいまだ明らかではないが、アスピリンは直接的な抗血小板作用に加え、その多面的効果により心血管保護作用を発揮していると考えられている。

### ● 多面的効果

アスピリンの冠動脈閉塞モデルにおける抗不整脈作用は、血小板減少動物を用いた場合でも観察される<sup>2)</sup>。これらの成績は、アスピリンの臨床効果はその抗血小板作用のみを介しているわけではないことを示唆している。表 1 に現在までに示されているアスピリンの多面的作用、特に血管系に対する作用を示す。

#### 1 抗動脈硬化作用

アスピリンの抗動脈硬化作用に関して、Ranke らは患者頸動脈プラークの進展をアスピ

表 1 アスピリンのおもな pleiotropic 効果

- ・抗動脈硬化作用
- ・抗炎症作用
- ・抗酸化ストレス作用
- ・血管内皮機能の改善作用
- ・平滑筋の増殖抑制作用
- ・抗凝固作用
- ・抗腫瘍作用

リン 900 mg/日または 50 mg/日服用の 2 群間での無作為化比較試験により超音波エコーにて追跡した結果、アスピリンは動脈硬化進展に抑制的であり、アスピリン 900 mg/日群が 50 mg/日群に比べ、より有効であることを示している<sup>3)</sup>。また、高脂肪食にて飼育したアポリポ蛋白 E (apoE) 欠損マウスにアスピリン 500 mg/日を投与すると動脈硬化プラークが 35% 減少することが示されている。このようにアスピリンは抗動脈硬化作用を有している。

動脈硬化病変の形成・進展には血管内皮の機能障害、脂質の沈着、マクロファージの集積・泡沫化、血管平滑筋細胞の遊走・増殖、細胞外マトリックスの産生と分解などが相互に複合的に関与している。これらのさまざまな過程に対し、アスピリンは抑制的に働くと考えられている。一方、最近の研究にて血栓形成と動脈硬化は互いに密接に関連しており、活性化血小板からさまざまなサイトカインや増殖因子が放出され動

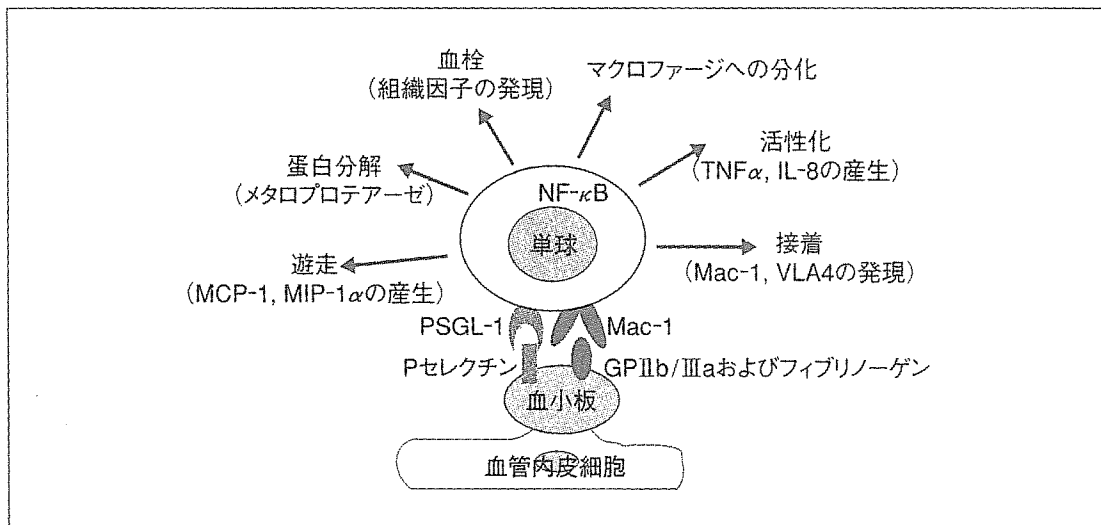


図 1 血小板による単球の接着および活性化

血管内皮に粘着し活性化した血小板は単球を接着し、さらに単球を活性化させ、MCP-1, MIP-1 $\alpha$ , TNF $\alpha$ などのケモカインやサイトカインの産生を誘導し炎症および動脈硬化を促進する。このように、血小板活性化は炎症や動脈硬化の進展に関与している。(文献4より引用改変)

脈硬化を進展させること、血管内皮への血小板粘着を抑制することにより動脈硬化進展が抑制されることが報告されており、動脈硬化血栓症(atherothrombosis)との概念が定着している<sup>4,5)</sup>。図1に示すように、血管内皮に粘着し活性化した血小板は、主として血小板上のPセレクトリンと活性化GPII b/III a(およびフィブリンノーゲン)を介して単球上のPSGL-1とMac-1に結合し、単球を接着させる。さらに単球を活性化させ、MCP-1, MIP-1 $\alpha$ , TNF $\alpha$ などのケモカインやサイトカインの産生を誘導し、炎症および動脈硬化を促進することが明らかにされている<sup>4,5)</sup>。このような理解より、次に述べるアスピリンの多面的効果の少なくとも一部は、アスピリンにより血小板の活性化が抑制される結果として、間接的に誘導されている可能性が考えられる。以下に現在考えられている具体的な作用を述べる。繰り返しになるが、これらの作用はそれぞれが独立した作用ではなく、アスピリンの抗血小板効果と互いに密接に関連しあっていると考えられる。

**a 抗炎症作用** 動脈硬化の発症・進展において、炎症機転はきわめて重要な役割を果たしており、とくに急性冠症候群の発症とCRPなどの炎症性マーカーの相関が示されている。健康人

を対象としたアスピリンの心筋梗塞一次予防作用は、CRPの低下と関連していること<sup>6)</sup>、動脈硬化患者においては好中球数および好中球遊走能が正常コントロールに比べ亢進しているが、アスピリンによりこの亢進が是正されることが示されている<sup>7)</sup>。このように、アスピリンは抗炎症作用を有すると考えられる。さらに、アスピリンは血管内皮においてTNF $\alpha$ によるNF- $\kappa$ Bの誘導を阻害することにより、VCAM-1やEセレクトリンの発現を抑制し、その結果、単球と血管内皮の接着を抑制することが示されている<sup>8)</sup>。

**b 抗酸化ストレス** 酸化ストレスは動脈硬化を含む心血管疾患の進展において、重要な役割を果たしている。LDLの酸化(酸化LDL)は動脈硬化の発症に関与している。酸化LDLは血管内皮の受容体に結合し、内皮細胞機能障害を誘導すると考えられている。酸化LDLは炎症作用を有しており、また血管内皮下にて単球/マクロファージに取り込まれ泡沫化細胞となり、動脈硬化の初期病変を形成する。アスピリンはLDLの酸化を抑制し、動脈硬化を抑制する作用も指摘されている<sup>9)</sup>。また、アスピリンの抗酸化作用に関して、モデル動物の大動脈や大動脈平滑筋を用いて活性酸素(スーパーオキシドアニ



オンラジカル)の産生を検討すると、長期のアスピリン投与により活性酸素の産生は低下し、さらに大動脈の弛緩能を回復させ、高血圧の発症を抑制させることが示されている<sup>10)</sup>。フェリチンは、活性酸素の生成を惹起する細胞内遊離イオンを吸収して細胞保護に働く。アスピリンの新たな抗酸化作用機序として、血管内皮においてフェリチンの発現を誘導することが示されている。この作用はアスピリン特異的であり、サリチル酸やインドメタシンにはこのような作用は認めない<sup>11)</sup>。また、ラットに酸化ストレスを与えると、肝脂質ペルオキシダーゼおよび血中コレステロールが増加するが、アスピリンはその抗酸化作用を介してこれらの増加を是正することが示されている<sup>12)</sup>。

c 血管内皮への作用 動脈硬化症患者においては、その血管内皮機能が障害されている。アスピリンはこの血管内皮機能障害を改善することが報告されている<sup>13)</sup>。また、アスピリンは、ニコチンによる血管内皮機能障害を是正し、高脂血症患者におけるアセチルコリン誘導性の前腕動脈拡張反応の障害を改善させる。急性冠症候群では血管内皮は活性化しており、向炎症性、向凝固性の反応が起こっており、この活性化をアスピリンが抑制することにより、血管機能の回復につながっていると考えられる。

d 血管平滑筋への作用 高濃度のアスピリンはヒト平滑筋の試験管内での増殖を抑制する。この効果は冠動脈インターベンション後の再狭窄の予防に作用する。また、アスピリンは虚血による冠動脈収縮を抑制することが示されている<sup>14)</sup>。

e 凝固系への作用 アスピリンは弱いワルファリン様作用を有する。アスピリンの代謝産物であるサリチル酸塩は、用量依存性にワルファリンのように凝固第II因子、第VII因子、第IX因子、第X因子のγカルボキシル基化を障害し、凝固活性を低下させる。また、アスピリンが線溶活性を増強させるとの報告もある。

## 2 抗腫瘍作用

上記の血管系への作用に加えて、アスピリンの抗腫瘍作用も報告されている。Sandlerらは結

腸直腸癌の既往のある患者635例を対象に、アスピリンの結腸直腸癌の前段階である腺腫の予防効果が無作為化二重盲検法にて検討している。プラセボ群では、1個以上の腺腫が27%の患者に検出されたが、325 mg/日のアスピリンの服用群では、17%にとどまり、アスピリン群では腺腫発症リスクを35%抑制したとしている<sup>15)</sup>。一方Baronらは、最近、直腸結腸腺腫が見つかった患者1121例に対してアスピリン325 mg/日群、81 mg/日群、プラセボ群の3群間での無作為化二重盲検法を行った。約3年弱の追跡調査にてプラセボ群では、1個以上の腺腫が47%の患者に検出されたが、81 mg/日のアスピリンの服用群では38%にとどまるも、325 mg/日服用群では、45%に検出された。つまり、直腸結腸腺腫の再発の相対リスクを81 mg/日アスピリンは19%減弱させるが、325 mg/日では抑制作用は明らかではなかった。さらにアスピリンの抗腫瘍効果は1 cm以上の腺腫や絨毛腺腫などの進行例により著明であり、81 mg/日群では相対リスクを40%減弱させたとの成績であった<sup>16)</sup>。上記の2つの研究の成績は若干異なるが、いずれにせよアスピリンは直腸結腸腺腫に対して抑制作用を有しているようである。しかしながら、その機序に関しては不明のままである。発癌にはCOX-2が関与しているが、低用量のアスピリンではCOX-2はほとんど抑制しないと考えられる。なんらかの機序でCOX-2の発現を抑制する、あるいはCOX抑制とは異なる機序で抗腫瘍効果を有している可能性が考えられている。

疫学調査により、アスピリンは乳癌の発症のリスクを20~40%抑制すると報告されている<sup>17)</sup>。アスピリンはCOX阻害によりプロスタグランジン(PG)の産生を抑制する。一方、乳癌にはエストロゲン感受性を有するものがあり、エストロゲンはエストロゲン合成酵素(アロマターゼ)によりテストステロンから合成される。PGE<sub>2</sub>はアロマターゼ遺伝子の発現を増強し、エストロゲン産生を促進するため、アスピリンはCOX阻害によりエストロゲン合成を阻害し、乳癌抑制に作用する可能性が指摘されて

いる。このことを検証するため、Terryらは、乳癌患者のケースコントロール試験にて、乳癌におけるエストロゲン受容体、あるいはプロゲステロン受容体発現の有無とアスピリンの抑制作用を検討し、アスピリンはホルモン受容体陽性乳癌の発症のリスクを24%減少させたのに対し、ホルモン受容体陰性乳癌の発症抑制効果はなかったとの成績を示している<sup>17)</sup>。

### ● おわりに

アスピリンは上記のように多面的に作用し、動脈硬化および血栓を抑制し、さらには腫瘍抑制作用も有する。しかしながら、その詳しい機序の解明は今後の課題であるといえる。

### 文献

- 1) Aude WY, Mehta JL. *Drugs Today (Barc)* 2002 ; 38 : 501-7.
- 2) Moschos CB, Lahiri K, Peter A, Jesrani MU, Regan TJ. *Am Heart J* 1972 ; 84 : 525-30.
- 3) Ranke C, Hecker H, Creutzig A, Alexander K. *Circulation* 1993 ; 87 : 1873-9.
- 4) Gawaz M, Langer H, May AE. *J Clin Invest* 2005 ; 115 : 3378-84.
- 5) Fuster V, Corti R, Fayad ZA, Schwitter J, Badimon JJ. *J Thromb Haemost* 2003 ; 1 : 1410-21.
- 6) Ridker PM, Cushman M, Stampfer MJ, Tracy RP, Hennekens CH. *N Engl J Med* 1997 ; 336 : 973-9.
- 7) Egger G, Burda A, Obernosterer A, Mitterhammer H, Kager G, Jurgens G, Hofer HP, Fabjan JS, Pilger E. *Inflammation* 2001 ; 25 : 129-35.
- 8) Weber C, Erl W, Pietsch A, Weber PC. *Circulation* 1995 ; 91 : 1914-7.
- 9) Steer KA, Wallace TM, Bolton CH, Hartog M. *Heart* 1997 ; 77 : 333-7.
- 10) Wu R, Lamontagne D, de Champlain J. *Circulation* 2002 ; 105 : 387-92.
- 11) Oberle S, Polte T, Abate A, Podhaisky HP, Schroder H. *Cir Res* 1998 ; 82 : 1016-20.
- 12) Fields M, Lewis CG, Bureau I. *Metabolism* 2001 ; 50 : 558-61.
- 13) Husain S, Andrews NP, Mulcahy D, Panza JA, Quyyumi AA. *Circulation* 1998 ; 97 : 716-20.
- 14) Toda N, Matsumoto T, Yoshida K. *Am J Physiol* 1992 ; 262 : H678-83.
- 15) Sandler RS, Halabi S, Baron JA, Budinger S, Paskett E, Keresztes R, et al. *N Engl J Med* 2003 ; 348 : 883-90.
- 16) Baron JA, Cole BF, Sandler RS, Haile RW, Ahnen D, Bresalier R, et al. *N Engl J Med* 2003 ; 348 : 891-9.
- 17) Terry MB, Gammon MD, Zhang FF, Tawfik H, Teitelbaum SL, Britton JA, et al. *JAMA* 2004 ; 291 : 2433-40.

# アディポネクチン欠損マウスを用いた血小板血栓の解析

富山 佳昭  
加藤 恒  
山本順一郎

大阪大学大学院医学系研究科血液・腫瘍内科講師  
大阪大学大学院医学系研究科血液・腫瘍内科  
神戸学院大学栄養学部生理学研究室教授

*Tomiyama, Yoshiaki*

*Kato, Hisashi*

*Yamamoto, Junichiro*

## はじめに

近年、心血管病変のリスクファクターとしてメタボリックシンドロームが注目されている。本シンドロームは、耐糖能異常、高脂血症、高血圧、肥満の異常が重複して存在する病態であり、それぞれの単独の異常にくらべ動脈硬化や血栓症のリスクが急激に増大することが示されている。メタボリックシンドロームの種々の病態は偶然に存在するというのではなく、内臓肥満がリスク重積の最上流に存在し、それにより耐糖能異常、高脂血症、高血圧などの病態が引き起こされていると考えられる<sup>1)</sup>。最近、脂肪細胞はTNF- $\alpha$ 、レプチン、PAI-1、レジスチン、アディポネクチンといった様々なアディポサイトカインを産生・分泌しており、これらの産生異常がメタボリックシンドロームさらには心血管病変を引き起こす分子基盤を形成し

ていることが明らかとなってきた<sup>2)</sup>。本稿では、アディポサイトカインの1つであるアディポネクチン(adiponectin : APN)の血栓症発症における役割に関して、アディポネクチン欠損マウス(APN-KO)を用いた解析結果を中心に概説する。

## 肥満とアディポネクチン(APN)

APNはC1qファミリーに属し、244アミノ酸からなる分泌蛋白でN末端側のコラーゲン様ドメインとC末端側のC1q様球状ドメインより構成され、血中に5~30 $\mu$ g/mLの濃度で存在している。興味深いことに、APNは脂肪細胞特異的に産生・分泌されるが、BMI (body mass index)とは逆相関を示す。つまり、肥満になり脂肪量が増加するとAPNの血中濃度は低下する。この機序の詳細は明らかではないが、TNF- $\alpha$ とAPNは互いに他の産生を

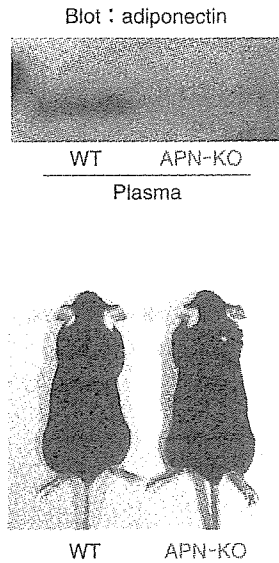
転写レベルで抑制するため、肥満によりTNF- $\alpha$ が増加しAPNの血中濃度が低下すると考えられている<sup>3)</sup>。

APNと疾患との関連であるが、血中APN濃度はBMIにて変動するため、年齢およびBMIを一致させ検討すると、糖尿病患者や冠動脈疾患において血中APN濃度が低下していることが明らかとなった<sup>2)3)</sup>。実際、APN欠損マウスを用いた研究にて、APNには抗糖尿病作用および抗動脈硬化作用を有することが示されている<sup>4)5)</sup>。APN欠損マウスは普通食餌では糖尿病などの代謝異常を呈さないが、高脂肪/高ショ糖食餌で飼育すると糖尿病を発症し、その機序としてはAPN欠損によりインスリン抵抗性になることが明らかにされている<sup>6)</sup>。言い換えるとAPNにはインスリン感受性を高める作用がある。またAPNは、血管平滑筋の増殖抑制、単球/マクロファージの機能抑制、血管内皮における接着分子発現の低下など、種々

の作用により抗動脈硬化作用を発揮する<sup>1)5)</sup>。

アディポネクチンの  
抗血栓作用

上記のように APN は抗糖尿病作用、抗動脈硬化作用を有し、この APN 作用の欠損が血管病変を進展させ、間接的に血栓症発症を促進すると考えられる。しかしながら、APN そのものが抗血栓作用を有するかは不明であったため、筆者らはこの点に関し検討を加えた<sup>6)</sup>。普通食餌で飼育した若齢(8～12 週齢)の APN-KO 雄マウスを用いて He-Ne レーザー惹起頸動脈血栓モデル



	WT	APN-KO	n	p
Platelet count (10 <sup>4</sup> /μL)	95.6±13.2	95.4±14.9	30	n.s.
PT (sec)	10.1±0.4	9.8±0.7	5	n.s.
APTT (sec)	38.6±1.3	42.0±4.0	5	n.s.
Fibrinogen (mg/dL)	143.3±15.3	136.7±33.8	5	n.s.

図1 アディポネクチン欠損(APN-KO)マウスにおける血小板数、止血系パラメーター

野生型(WT)マウスとの間に差を認めない。また、普通食餌での飼育のため APN-KO マウスの代謝系もほぼ正常である。

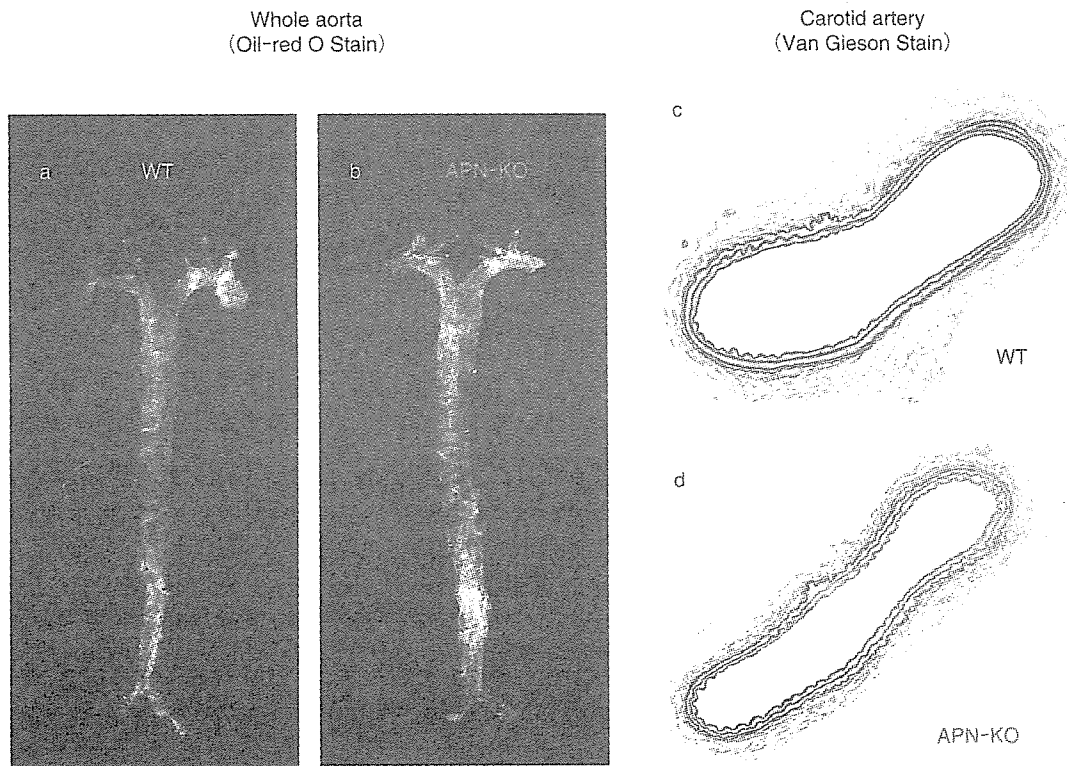


図2 APN-KO マウス(8～12 週齢)における大動脈の脂肪染色(b)および左頸動脈の横断面(d)

普通食餌で飼育した若齢 WT マウスおよび APN-KO マウスにおいては動脈硬化病変を認めない。

にて解析した。これらの APN-KO マウスでは代謝系はほぼ正常であり、血小板数や止血系のパラメーターも正常で(図1), 大動脈および頸動脈に動脈硬化病変は生じていない(図2).

マウスの左頸動脈(直径 450 ~ 500 $\mu$ m)を露出し, エバンスブルーを静脈投与後 He-Ne レーザーを照射すると, 1 ~ 2 分後に血小板血栓を形成してくる. この実験系ではレーザーによる血管傷害は軽微であるため, 血栓は非閉塞性であり, 成

長した血栓は血管内腔狭小化に伴い増大したずり応力により崩壊し, その後また新たな血栓を形成する過程を繰り返す(図3). この血栓の大きさを経時的に記録し(図3), 10 分間に形成された血栓の面積の総和を血小板体積として表すと, APN-KO マウスでは血栓形成能が野生型マウスに比べ亢進していることが明らかとなった. さらにこの亢進はアデノウイルスベクターを用いて APN を補充することにより改善されたことより, APN 欠損がその原

因であることがわかる(図4).

APN の血管系への作用を除外して検討するため, 血管内皮非存在下でさらに検討を加えた. まず, 血小板凝集能に関して解析すると APN-KO マウスにおいては低濃度のアゴニスト刺激において血小板凝集の亢進が観察された(図5). 次に, コラーゲンを固相化したプレート上に全血を一定速度で流し, 流動条件下での血栓形成過程をリアルタイムで解析した. その結果, APN-KO マウスでは, *ex vivo* の血栓形成能が

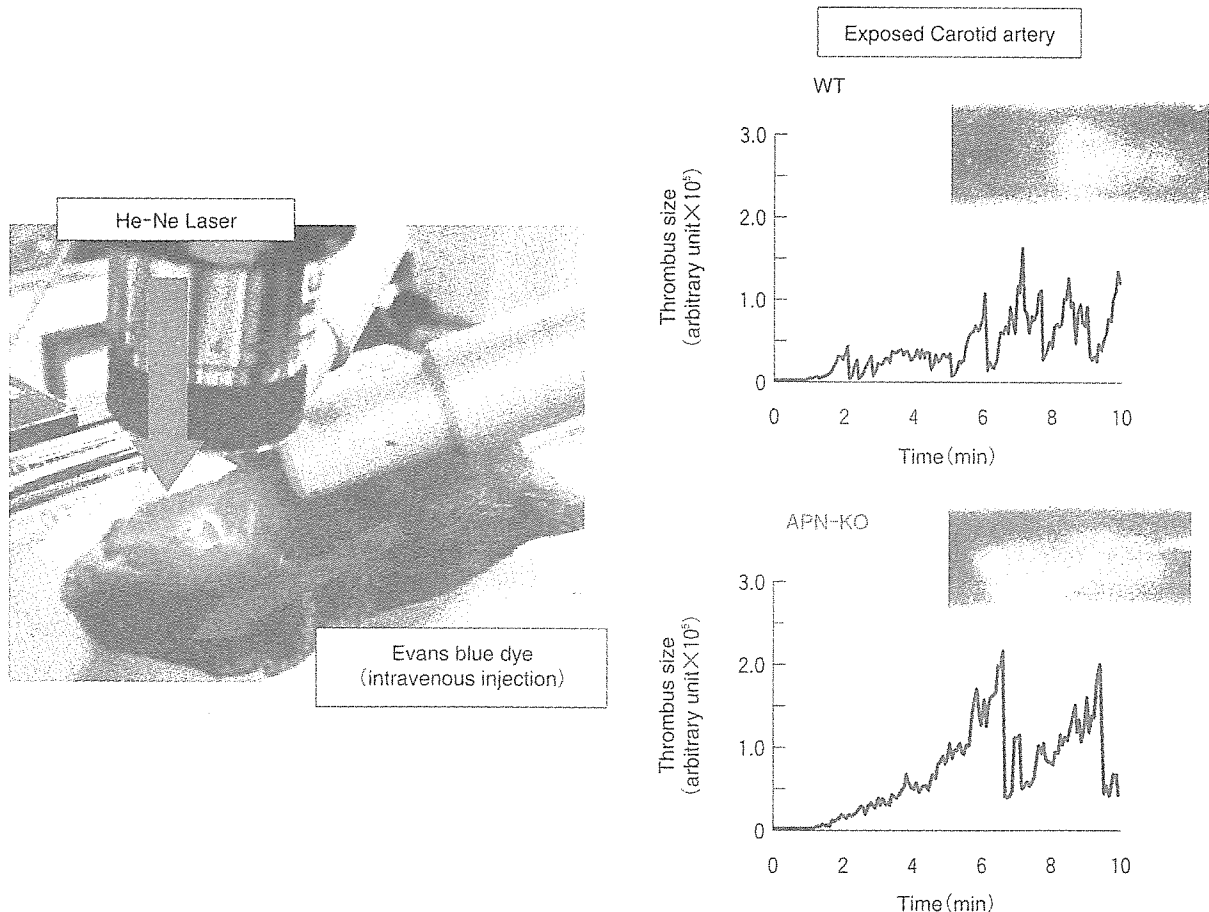


図3 He-Neレーザー惹起頸動脈血栓モデルでの血栓形成能の解析

左頸動脈を露出し, エバンスブルーを静脈投与後 He-Ne レーザーを照射し血小板血栓形成を惹起させる. このモデルでは血栓は非閉塞性であり, 増大した血栓は血管内腔狭小化に伴うずり応力が増大することにより崩壊し, その後また新たな血栓を形成する過程を繰り返す. 図に経時的に記録した血栓の大きさを示している. 挿入図は, 頸動脈内に形成された血小板血栓を示している.

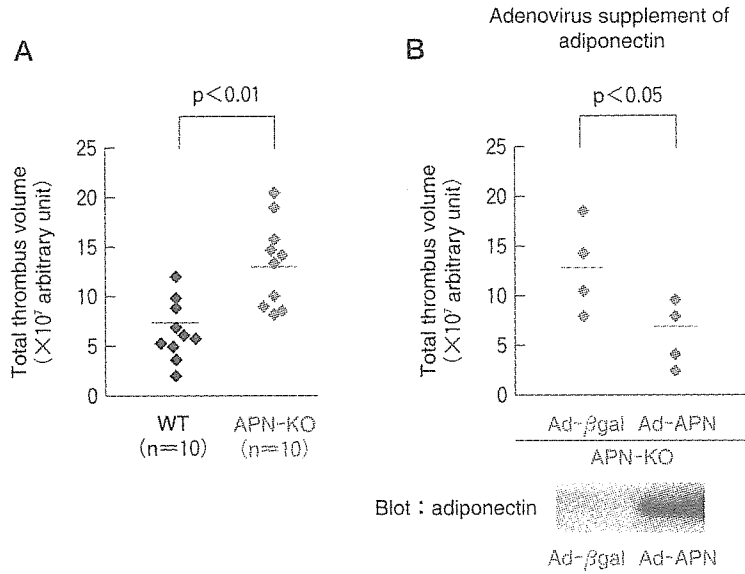


図4 He-Neレーザー惹起頸動脈血栓モデルでの解析結果

経時的に記録した血栓の大きさの総和を血小板体積として表すと、APN-KOマウスでは血栓形成能が野生型マウスに比べ亢進していた(A)。このAPN-KOマウスにおける血栓形成亢進はアデノウイルスベクターを用いてAPNを補充することにより改善された(B)。

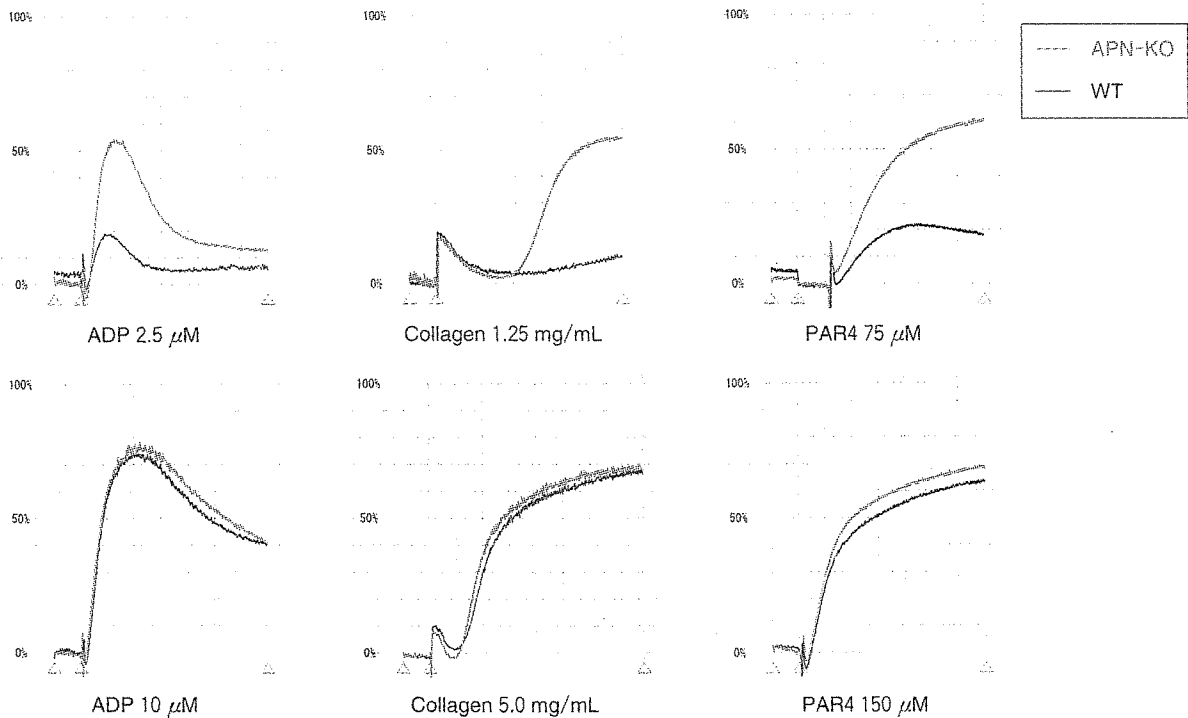


図5 APN-KOマウスにおける血小板機能亢進

APN-KOマウスにおいては低濃度のアゴニスト刺激において血小板凝集能が亢進していた。高濃度での刺激ではWTマウス、APN-KOマウスともに最大に凝集するため、両者には差を認めなかった。

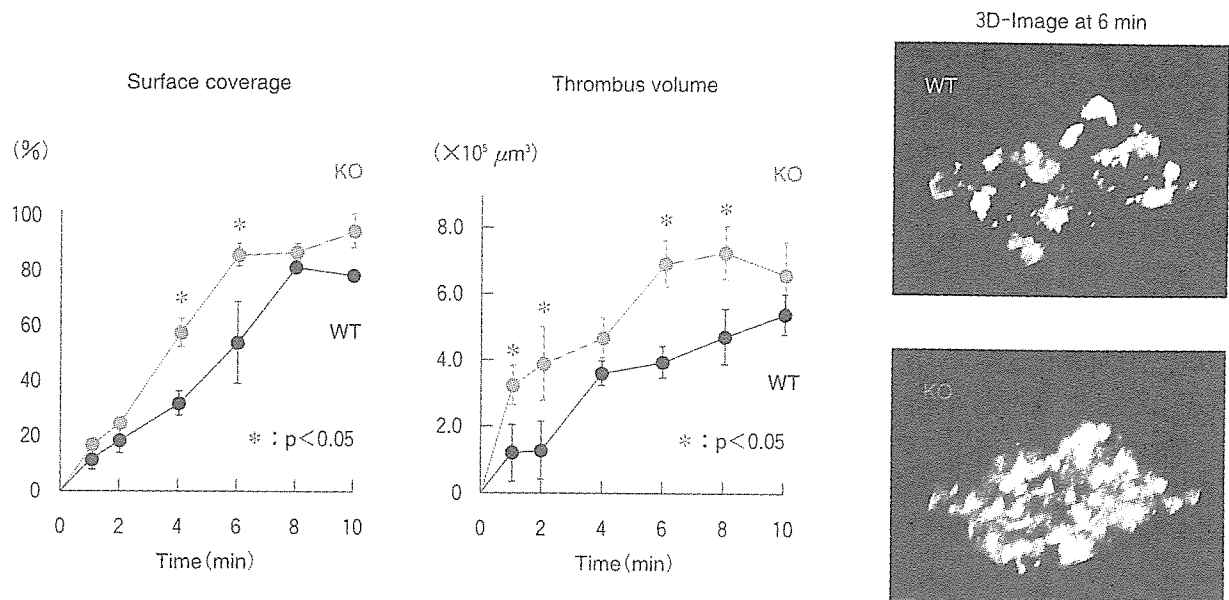


図6 流動条件下でのコラーゲン上での血栓形成能の解析

マウスより全血を採取しコラーゲン上での血栓形成能を流動条件下で解析した。APN欠損マウス由来の全血は野生型マウスと比較し、コラーゲン上での血栓の広がり(surface coverage)ならびに血栓の体積(thrombus volume)とも亢進していた。右図は6分後の血栓の三次元イメージ。

亢進していることが示された(図6)。これらの成績より、APNが血小板に直接作用し血栓形成に影響を与えていることが示唆された。

さらに、APNを野生型マウスに再び過剰発現させHe-Neレーザー惹起頸動脈血栓モデルにて解析すると、野生マウスにおいても血栓形成が抑制され、APNの抗血栓剤としての可能性が示された<sup>6)</sup>。

#### おわりに

脂肪細胞はAPNに代表されるように種々のアディポサイトカインを産生し、糖尿病や動脈硬化、さらには血栓症の発症に関与していることが分子レベルにて明らかとなってきた。適度な運動や食事による体重減少により、APNの異常が是正され

ることが示されており、心血管病変のリスクを改善しうる。メタボリックシンドロームの提唱は、これらのリスクファクターの早期発見と疾病発症予防に大きく貢献するものと考えられる。

#### 謝辞

本研究の一部は厚生労働科学研究費補助金および神戸学院大学学術フロンティア推進事業より助成を受けた。

#### References

- 1) Matsuzawa Y, Funahashi T, Kihara S, et al : Adiponectin and metabolic syndrome. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **24** : 29-33, 2004
- 2) Hotta K, Funahashi T, Arita Y, et al : Plasma concentrations of a novel, adipose-specific protein,

- adiponectin, in type 2 diabetic patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **20** : 1595-1599, 2000
- 3) Pischon T, Girman CJ, Hotamisligil GS, et al : Plasma adiponectin levels and risk of myocardial infarction in men. *JAMA* **291** : 1730-1737, 2004
  - 4) Maeda N, Shimomura I, Kishida K, et al : Diet-induced insulin resistance in mice lacking adiponectin/ACRP 30. *Nat Med* **8** : 731-737, 2002
  - 5) Matsuda M, Shimomura I, Sata M, et al : Role of adiponectin in preventing vascular stenosis. *J Biol Chem* **277** : 37487-37491, 2002
  - 6) Kato H, Kashiwagi H, Shiraga M, et al : Adiponectin acts as an endogenous antithrombotic factor. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **26** : 224-230, 2006

# インテグリンと病態

富山佳昭

インテグリンはダイナミックな接着現象を司る細胞上の主要な接着レセプターである。インテグリンは接着現象においてシグナル伝達分子として機能しており、細胞内から細胞外へ (inside-out シグナル)、また細胞外から細胞内へ (outside-in シグナル) とシグナルを双方向に伝達する。最近、インテグリンの結晶構造や、インテグリンの活性化機構の一部が明らかにされるなど、その分子機構に関して進展がみられる。本稿では、 $\beta_3$ インテグリンを中心にその欠損症である血小板無力症の病態と疾病制御の分子標的としてのインテグリンに関し概説する。

## はじめに

インテグリンは細胞表面に発現し、細胞-細胞間あるいは細胞-細胞外マトリックス間の接着を司る細胞上の主要な接着レセプターファミリーであり、特に細胞の接着-脱着機構において中心的な役割を果たしている<sup>1)</sup>。インテグリンは単に細胞を接着させるのみならずシグナル伝達分子としても機能している。細胞接着現象においてインテグリンの機能はきわめてダイナ

ミックに変化し、そのリガンド結合能は細胞が受ける種々の刺激に応じた細胞内からのシグナルにより制御されている (inside-out シグナルとよばれている)。一方、インテグリンがリガンドを結合することにより、細胞外の情報が細胞内に伝達され (outside-in シグナルとよばれている)、細胞の生死、増殖、遊走、形態変化などを引き起こす。このようにインテグリンは細胞内および細胞外の情報を双方向に伝達する細胞膜上のシグナル伝達分子であるといえる<sup>1) 2)</sup>。

### [キーワード&略語]

inside-out シグナル, outside-in シグナル, 血小板無力症, 白血球粘着不全症, 分子標的

CalDAG-GEFI : calcium- and diacylglycerol-regulated guanine nucleotide exchange factor I

CHO : Chinese hamster ovarian

DAG : diacylglycerol

EGF : epidermal growth factor

FERM : band 4.1-ezrin-radixin-moesin

Fg : fibrinogen (フィブリノゲン)

LAD I型 : leukocyte adhesion deficiency type I (白血球粘着不全症 I 型)

MIDAS : metal ion-dependent adhesion site

PKA : protein kinase A (A キナーゼ)

PKC : protein kinase C (C キナーゼ)

PSI : plexins, semaphorins and integrins

Rap : Ras-related GTP-binding protein

RGD : Arg-Gly-Asp

TXA<sub>2</sub> : thromboxane A<sub>2</sub> (トロンボキサン A<sub>2</sub>)

VWF : von Willebrand factor

(フォンビルブランド因子)

### Pathophysiological role of integrins

Yoshiaki Tomiyama : Department of Hematology and Oncology, Graduate School of Medicine C9, Osaka University (大阪大学大学院医学系研究科血液・腫瘍内科)



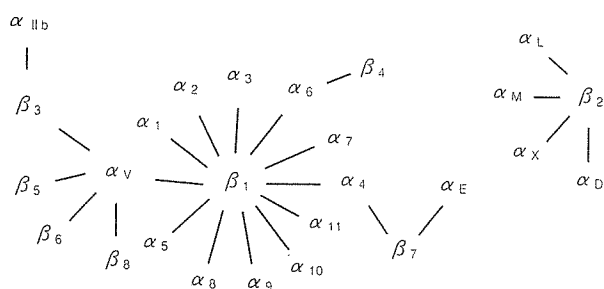


図1 哺乳類におけるインテグリンファミリー  
18種類の $\alpha$ 鎖と8種類の $\beta$ 鎖が同定され、少なくとも24種類のインテグリンが存在し、 $\beta$ 鎖により $\beta_1$ から $\beta_8$ のサブファミリーに分類されている。 $\beta_3$ インテグリンには $\alpha_{11b}\beta_3$ と $\alpha_v\beta_3$ が存在する

インテグリンを介した細胞接着は個体の発生過程、免疫反応、組織修復、炎症反応、癌の転移、止血や血栓形成といったさまざまな生理的あるいは病的過程における中核をなしている。このようにインテグリンの機能は多岐にわたるため、本稿では代表的なインテグリンとして研究が進んでいる $\beta_3$ インテグリンの機能に焦点をあて、インテグリンと病態につき概説する。

## ■ インテグリンの構造

インテグリンは $\alpha$ 鎖と $\beta$ 鎖の異なる2つのサブユニットが1:1の比率で非共有結合したヘテロダイマーであり、一般的に $\alpha_x\beta_y$ という形で表現される<sup>1)</sup>。現在までに哺乳類において18種類の $\alpha$ 鎖と8種類の $\beta$ 鎖が同定され少なくとも24種類のインテグリンが存在し、 $\beta$ 鎖により $\beta_1$ から $\beta_8$ のサブファミリーに分類されている(図1)。 $\alpha$ および $\beta$ サブユニットともI型膜糖タンパクで、そのほとんどが細胞外領域から構成されており、細胞内領域は20~60残基と短い( $\beta_4$ のみ例外的に細胞内領域は長い)。 $\beta_3$ インテグリンには $\alpha_{11b}\beta_3$ と $\alpha_v\beta_3$ が存在する。

インテグリンの立体構造は、その大きな細胞外領域のflexibilityが障害となり長い間不明であったが、2001年によく $\alpha_v\beta_3$ の細胞外領域の構造が、'04年には $\alpha_{11b}\beta_3$ の構造が明らかにされた(図2)<sup>3) 4)</sup>。

$\alpha$ 鎖のN末端部分にはアミノ酸約60残基よりなる7枚の $\beta$ シート(W1~W7)により構成される $\beta$ -プロペラドメインが存在する(図2)。 $\alpha_{11b}$ 、 $\alpha_v$ 、 $\alpha_5$ などの $\alpha$ 鎖には機能部位としてのI(Inserted)ドメイン(後述)は存在しない。インテグリンの「頭部」を

形成する $\beta$ -プロペラドメインに対し「足」を形成するC末端部分に対してはThigh(大腿の意)ドメイン、Calf-1(ふくらはぎの意)ドメイン、Calf-2ドメインと名付けられた<sup>3)</sup>。一方、 $\alpha_2$ 、 $\alpha_L$ 、 $\alpha_M$ 、 $\alpha_X$ などの $\alpha$ 鎖では、 $\beta$ -プロペラドメインの2番目(W2)と3番目(W3)の $\beta$ シート構造の間(W3 4-1ループの部分)に約200アミノ酸からなるIドメインが存在しリガンド結合部位として機能している。結晶構造解析により $\alpha$ 鎖のIドメインは低分子量Gタンパク質などと同種の立体構造(Rossmann-fold)をとり、そこに存在するMIDASモチーフ(metal ion-dependent adhesion site)が二価イオン(この場合 $Mg^{2+}$ )の結合およびリガンド結合に重要であることが明らかにされている<sup>5)</sup>。

$\beta_3$ のN末端はPSI(plexins, semaphorins and integrins)ドメインを形成し、それに引き続きHybridドメイン、そして $\alpha$ 鎖での機能部位であるIドメインと類似構造であるI-likeドメインがHybridドメインに挿入された形で存在し、EGF(epidermal growth factor)-1, EGF-2, EGF-3, EGF-4,  $\beta$ -tailドメインより成り立っている<sup>3)</sup>。

Iドメインを有さない $\alpha_{11b}\beta_3$ や $\alpha_v\beta_3$ では、 $\alpha$ 鎖の $\beta$ -プロペラドメインと $\beta$ 鎖のI-likeドメインがリガンド結合部位として機能しているが、これらの2つのドメインはインテグリンの球状の「頭部」を形成し、 $\alpha$ 鎖と $\beta$ 鎖の接合部位において1つの機能部位として働いている。 $\alpha_{11b}\beta_3$ 、 $\alpha_v\beta_3$ 、 $\alpha_5\beta_1$ などのインテグリンとリガンドとの結合の一部はリガンド側に存在するRGD(Arg-Gly-Asp)配列を介しているが、R(Arg)の側鎖が $\alpha$ 鎖の $\beta$ -プロペラドメインと、D(Asp)の側鎖が $\beta$ 鎖のI-likeドメインのMIDASモチーフと結合することが示されている<sup>4)</sup>。

## ■ 血小板無力症の病態

インテグリンの代表的な先天性欠損症としては、 $\alpha_{11b}\beta_3$ の先天性異常に起因する出血性疾患、血小板無力症(Glanzmann thrombasthenia)が知られており、常染色体劣性遺伝形式をとる<sup>6) 7)</sup>。一方、誌面の都合で詳細は割愛するが、 $\beta_2$ インテグリンは白血球に発現しており、 $\beta_2$ 鎖の先天性異常により $\alpha_L\beta_2$ (LFA-1)、 $\alpha_M\beta_2$ (Mac-1)、 $\alpha_X\beta_2$ (p150/95)、 $\alpha_D\beta_2$ のすべての $\beta_2$ インテグリンが欠損する疾患として白血球粘着

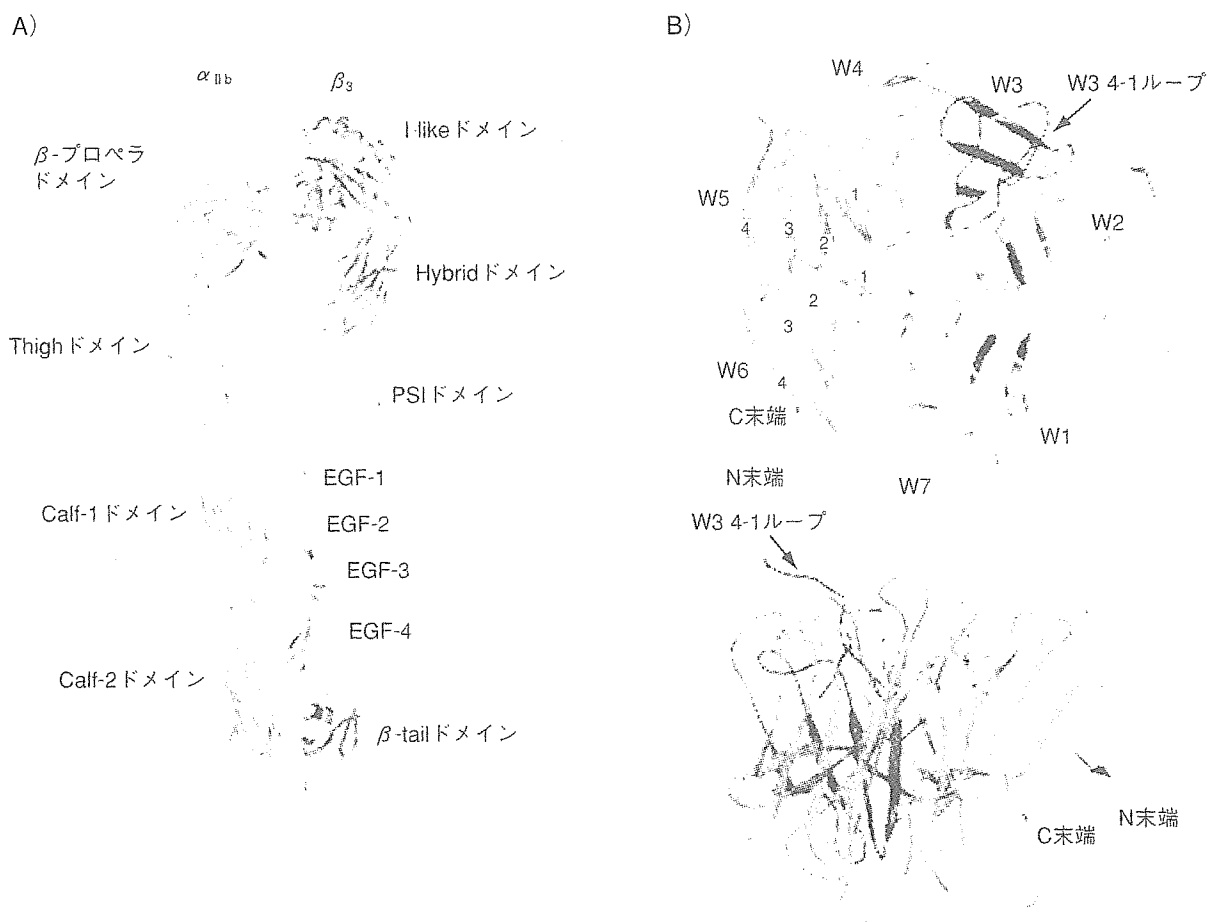


図2  $\alpha_{IIb}\beta_3$ の立体構造（巻頭カラー図10参照）

A)  $\alpha_{IIb}\beta_3$ の細胞外領域の立体構造（文献3より改変引用）。B)  $\beta$ -プロペラドメインの構造。上図：上面から見た $\beta$ -プロペラドメイン。7枚の $\beta$ シート（W1～W7）がプロペラを構成している。 $\alpha_2$ や $\alpha_1$ などでは $\beta$ -プロペラドメインの2番目（W2）と3番目（W3）の $\beta$ シート構造の間（W3 4-1ループ）に約200アミノ酸からなるIドメインが挿入されている。下図：側面から見た $\beta$ -プロペラドメイン

不全症I型（leukocyte adhesion deficiency type I：LAD I型）<sup>\*)</sup>が知られている（常染色体劣性遺伝形式）。LAD I型では、生後より易細菌感染性、創傷治癒遅延を示し、末梢血中の好中球数は著しく増加する。 $\beta_2$ インテグリン欠損好中球では接着能、遊走能、貪食能が著しく低下しており、結果として白血球の血管外への遊走、炎症部位への集簇・浸潤が障害されている。このことから $\beta_2$ インテグリンは生体防御においてきわめて重要な機能を担っていることが理解できる<sup>8)</sup>。

※1 白血球粘着不全症の分類

白血球の血管内皮への粘着には、セレクトインとそのリガンドである sialyl Lewis x 型糖鎖が初期のローリングに、 $\beta_2$ インテグリンとそのリガンドである intercellular adhesion molecule (ICAM)-1 などがその後の強固な粘着に必要である。 $\beta_2$ インテグリンの欠損をLADI型、セレクトインのリガンドに異常があるものをLADII型と分類している。

$\alpha_{IIb}\beta_3$ は血小板/巨核球系に特異的に発現しGP IIb-IIIaともよばれており、血小板あたり約80,000分子と血小板において最も豊富な接着レセプターである。 $\alpha_{IIb}\beta_3$ はフィブリノゲン（Fg）、von Willebrand 因子（VWF）のレセプターとして血小板機能の中核を担っている。血小板無力症では幼少時より皮膚粘膜出血を中心とした出血傾向を呈することより、 $\alpha_{IIb}\beta_3$ が血小板機能において重要であることは明らかである<sup>6) 7)</sup>。

生体内やフローチャンバーを用いた血流下での実験結果により、止血栓形成（ならびに病的血栓形成）過程は、①血小板粘着、②血小板活性化と放出反応、③血小板凝集の3段階により構成されていることが示されている（図3）<sup>9)</sup>。これらの過程は、細胞外基質やずり応力など外部環境の急激な情報変化に対応して血小板が非活性化状態から活性化状態に変化する過程と

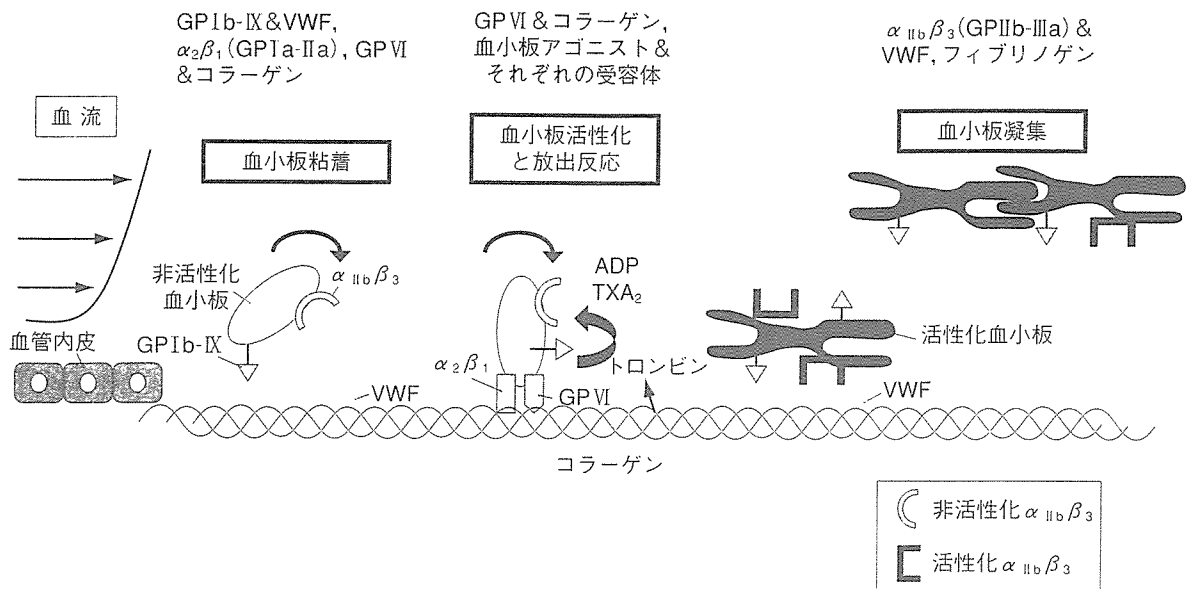


図3 血栓形成過程の分子機構

止血栓形成（ならびに病的血栓形成）過程は血小板粘着→血小板活性化と放出反応→血小板凝集の3段階により構成されている。 $\alpha_{IIb}\beta_3$ は血小板と血小板の細胞間接着現象である血小板凝集に必要な不可欠な分子である

理解することができる。血小板表面にはさまざまな接着レセプターが発現しているが、その分子機構として血流下での血小板粘着（正確にはtethering, “鎖でつなぐ” という意味）にはVWFとその受容体であるGPIIb-IX, およびコラーゲンとその受容体であるインテグリン $\alpha_2\beta_1$  (GPIa-IIa) およびGPVI (免疫グロブリンファミリーに属する) が重要である。また、血小板活性化にはコラーゲンとGPVIの結合および血小板から放出されるADPや新たに産生されるトロンボキサン $A_2$  (TXA $_2$ ), トロンピンが重要で、その結果 $\alpha_{IIb}\beta_3$ が活性化しVWFやFgと結合することにより、血小板は伸展し血流に抗してより強固に粘着し (firm arrest), それを足場として流血中の血小板を巻き込み血小板どうしが凝集し、血栓が増大し止血する。

以上より、 $\alpha_{IIb}\beta_3$ は血小板と血小板の細胞間接着現象である血小板凝集に必要な不可欠な分子であり、血小板無力症では血小板粘着後の扁平, 伸展化の低下と血小板凝集塊形成の欠如がその病態を形成している。

### 3 血小板無力症における分子異常

血小板無力症の分子異常は $\alpha_{IIb}\beta_3$ の量的異常（欠損）と質的異常（variant型）に分類することができる。量的異常の解析はインテグリンの合成過程の解明

に、質的異常の解析はインテグリンの機能発現機構の解明に有用である。

#### 1) $\alpha_{IIb}\beta_3$ の量的異常

$\alpha_{IIb}$ と $\beta_3$ はそれぞれ異なる遺伝子産物である。 $\alpha_{IIb}\beta_3$ が巨核球で生合成され細胞表面に発現するためには小胞体 (ER) で $\alpha_{IIb}$ の前駆体 (pro $\alpha_{IIb}$ ) と $\beta_3$ が安定な複合体を形成することが必要であり、 $\alpha_{IIb}$ 鎖もしくは $\beta_3$ 鎖のどちらか一方に異常があり安定な複合体が形成できないと、 $\alpha_{IIb}\beta_3$ はGolgi装置に移行することなく、早期に分解される。つまり、 $\alpha_{IIb}$ あるいは $\beta_3$ のどちらか一方の遺伝子異常により $\alpha_{IIb}$ および $\beta_3$ の両者が欠損するようになる。現在までに約70種類の血小板無力症の遺伝子異常が明らかにされている<sup>7)</sup>。

#### 2) $\alpha_{IIb}\beta_3$ の機能異常

##### i) $\alpha_{IIb}\beta_3$ の機能発現機構

インテグリンの構造解析の進歩により、 $\alpha_{IIb}\beta_3$ の活性化の分子基盤に関する詳細が明らかにされつつある。 $\alpha_{IIb}\beta_3$ がそのレセプター機能を最大限に発現するためには、① $\alpha_{IIb}\beta_3$ の活性化 (inside-outシグナル), ②リガンド結合, ③リガンド結合後の変化 (outside-inシグナル), の少なくとも3つの過程が必要であると考えられている。しかしながら、どのような構造変化により $\alpha_{IIb}\beta_3$ が活性化するかは不明であった。最近の

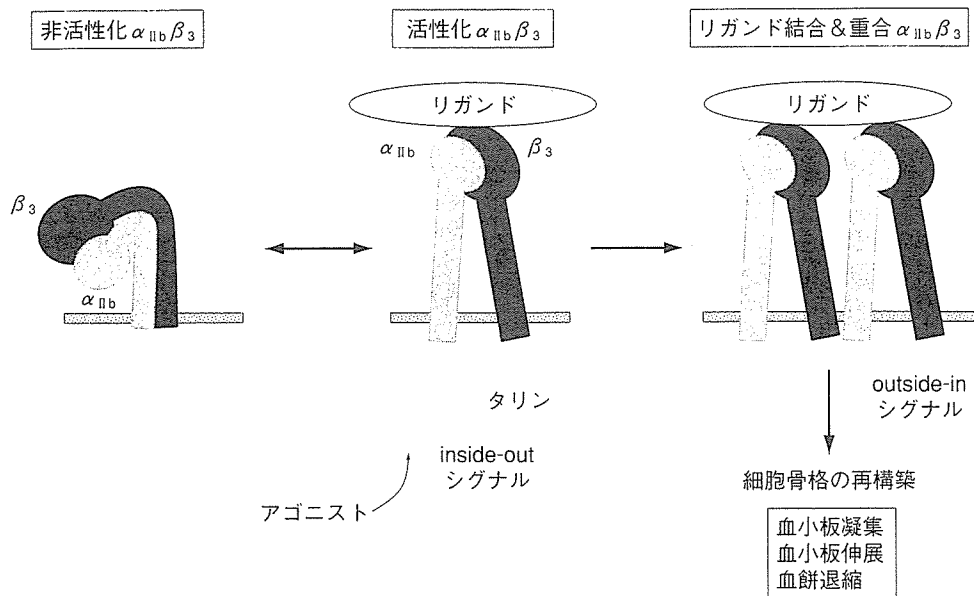


図4 インテグリンの機能発現機構

$\alpha_{IIb}\beta_3$ がそのレセプター機能を最大限に発現するためには、①  $\alpha_{IIb}\beta_3$ の活性化 (inside-out シグナル)、②リガンド結合、③リガンド結合後の変化 (outside-in シグナル)、の少なくとも3つの過程が必要である

構造生物学的解析にて、図4に示すように非活性化  $\alpha_{IIb}\beta_3$ では機能部位であるインテグリン頭部が細胞膜の方へ折れ曲がっておりリガンドを結合できないが、inside-out シグナルにより頭部が「ジャックナイフ」のように起き上がり、さらにHybridドメインが外側に回転することにより、活性化しリガンドを結合するとのモデルが示されている<sup>4) 10)</sup>。

ii) inside-out シグナル

$\alpha_{IIb}\beta_3$ の活性化は主としてADPやトロンビン受容体などGタンパク質共役型受容体からのinside-outシグナルにより調節されており、PKC (protein kinase C) 活性化や細胞内 $Ca^{2+}$ の上昇、cAMPの低下が重要であることが示されているが、これらの下流の分子で  $\alpha_{IIb}\beta_3$ 活性化に関与する分子として、最近Rap1bやタリンの重要性が明らかになってきた。Rap1bはRasファミリーに属しPKA (protein kinase A) の基質であるが、Rap1bの活性化のみではインテグリンは活性化しないものの、その活性化が  $\alpha_{IIb}\beta_3$ 活性化を増強することがES細胞から分化させた巨核球を用いた実験で示された<sup>11)</sup>。一方、血小板においてCalDAG-GEFI (calcium- and diacylglycerol-regulated guanine nucleotide exchange factor I) はRap1に結合し、 $Ca^{2+}$ の上昇およびdiacylglycerol (DAG) によりRap1

を活性化するが、CalDAG-GEFI欠損マウスでは、ADP、トロンボキサン $A_2$ 、Caイオノフォアなど多くのアゴニストによるRap1の活性化が著明に障害されるとともに、 $\alpha_{IIb}\beta_3$ の活性化および血小板の $\alpha$ 顆粒の放出反応も障害されていた<sup>12)</sup>。さらに、Rap1bの欠損マウスでも  $\alpha_{IIb}\beta_3$ の活性化が障害されている<sup>13)</sup>。しかし、その障害程度はCalDAG-GEFI欠損マウスほど著明ではなく、さらなる解析が必要であると思われる。

一方、 $\alpha_{IIb}\beta_3$ の機能異常に起因するvariant型血小板無力症の解析にて  $\beta_3$ の細胞内領域において752番SerのProへの変異を有する例や  $\beta_3$ が724番目でtruncateされている例が同定されている<sup>14)</sup>。これらの症例の血小板では、リガンド結合部位は保たれているが、 $\alpha_{IIb}\beta_3$ がアゴニストからのinside-outシグナルに不応性になる。このことより、 $\beta_3$  (ならびに  $\alpha_{IIb}$ ) の細胞内領域を介してinside-outシグナルが  $\alpha_{IIb}\beta_3$ を活性化させることは明らかである。 $\alpha_{IIb}\beta_3$ の細胞内領域は短くキナーゼドメインも存在しないため、これらに会合する分子を介してinside-outシグナルが伝達されると考えられる。最近になり、inside-outシグナルの伝達分子としてタリンの重要性が明らかにされた。タリンは分子量約27万の細胞内タンパク質で、二量体を形成し  $\beta_3$ の細胞内領域と結合する。さらに、タリンの