

図1 凝固系カスケード反応と XI 因子の位置づけ
内因系 (緑色の四角) は陰性電荷表面, 外因系 (黄色の四角) は組織因子 (TF) の血流への露出で惹起される。両経路は IX 因子 (FIX) を IXa 因子 (FIXa) へと活性化する反応で合流し, 共通の経路 (青色の四角) でトロンビン (IIa) を生成する。XI 因子 (FXI) は内因系で機能するタンパク質で, 活性化 FXI (FXIa) が FIX を活性化する。FVII, VII 因子; FVIIa, 活性化型 FVII; HMWK, 高分子キヌノーゲン; FXIIa, 活性化型 XII 因子; FVIIIa, 活性化型 VIII 因子; FX, X 因子; FXa, 活性化型 FX; FVa, 活性化型 V 因子; II, プロトロンビン; Fbg, フィブリノーゲン; Fbn, フィブリン

面における一連の反応は「接触相における活性化」と呼ばれる。生成した活性化型 FXI (FXIa) は, 外因系由来の FVIIa-TF と同様に FIX を活性化してトロンビンの生成に至る。

2. FXI における各ドメインの機能

FXI (単量体) は 607 アミノ酸残基から成るセリンプロテアーゼ前駆体であり, 分子量 160kDa のホモ 2 量体として存在する。FXI の単量体は, タンパク質レベルでプレカリクレインと高い相同性を示す。血漿中における FXI の濃度は 3~7 $\mu\text{g/mL}$, 半減期は 52 時間である^{1) 2)}。

FXI は, N 末端側より 4 個のアップル (A1~A4) ドメインと 1 個のセリンプロテアーゼ (SP) ドメインから構成されている (図 2)^{3) 5)}。A1~A4 ドメインは, PAN (Plasminogen-Apple-Nematode) モジュールファミリーに属しており, 活性化因子や基質タンパク質, 補助因子の結合部位となっている (図 2)¹⁾。例えば, A1 ドメ

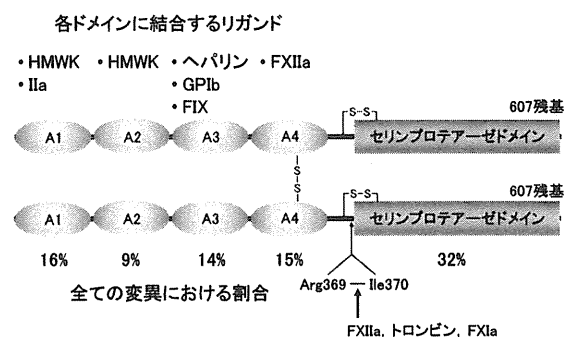


図 2 XI 因子のドメイン構造と機能

XI 因子は, アップル第 4 ドメイン (A4) 中の Cys321 を介した S-S 結合で 2 量体を形成している。また, A4 ドメインとセリンプロテアーゼドメイン (SP) の間にある Arg369-Ile370 結合が活性化型 XII 因子 (FXIIa), トロンピン, または活性化型 XI 因子 (FXIa) で分解されると, XI 因子は活性化される。上段は各アップルドメインに結合するリガンド, 下段はこれまでに報告された XI 因子の全変異に対する各ドメインの変異の割合を示している。なお, 全変異の中にはプロモーター領域やシグナル配列中の変異などが含まれるので, 図中の変異の割合の合計は 100% にならない。HMWK, 高分子キヌノーゲン; IIa, トロンピン; GPIb, 血小板糖タンパク質 Ib; FIX, IX 因子; A1~A3, アップル第 1~第 3 ドメイン

ンにはトロンピン (FXI の結合部位は残基 45-70) と HMWK (残基 56-86), A2 ドメインには HMWK, A3 ドメインには FIX (残基 183-191) や血小板糖タンパク質 Ib (GPIb) (残基 248-263), ヘパリン (残基 252-255), および A4 ドメインには FXIIa (残基 317-350) がそれぞれ結合する。一方, FXI の SP ドメインはトリプシン型で, 活性部位を構成するアミノ酸は His413, Asp462, および Ser557 である。

3. FXI の立体構造と活性化に伴うドメイン間の大きな空間的再編成

FXI の A1~A4 ドメインは, 90 または 91 個のアミノ酸残基から成る^{3) 5)}。アップルドメインは 7 本の β 鎖が逆並行に並んで“ゆりかご”状のシートを構成し, 1 本の α ヘリックスがシートの凹面 (ゆりかごの赤ん坊が入る場所) に位置している (図 3A)。A1 ドメインと A2 ドメインが縦に並び, 180° 反転して A3 ドメインと A4 ドメインが並んでいる。その結果, A1-A2 と A3-A4 は

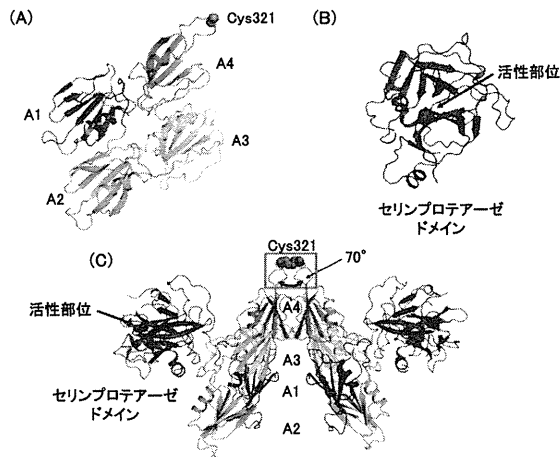


図3 XI因子の立体構造

(A) アップル第1～第4ドメイン (A1～A4) の立体構造。それぞれのアップルドメインは7本の β 鎖と1本の α らせんで構成されており、4個のアップルドメイン全体で平面構造をとっている。(B) セリンプロテアーゼドメインの立体構造。セリンプロテアーゼドメインは球状構造をしている。(C) XI因子全体の立体構造。セリンプロテアーゼドメインはA1～A4上に位置していることから、XI因子全体の構造は“cup (セリンプロテアーゼドメイン) & saucer (A1～A4)”に例えることができる。図C中の青色の四角は、フィンガー様ループ構造を示している

逆並行になり、これら4個のドメインは平面構造をとる(図3A)。平面の中央には大きな窪みが形成され、塩基性アミノ酸と芳香族アミノ酸が集中している。球状のSPドメイン(図3B)はその平面の上に位置している。したがって、FXIの立体構造は、SPドメインをコーヒーカップ、A1～A4ドメインをその受け皿に見立てた“cup & saucer”構造になっている(図3C)。

FXIの2量体は、単量体がCys321を介した分子間S-S結合で連結した構造をとる。2個の単量体の接触面はCys321を含むフィンガー様ループ構造をしており、2量体は70°の角度でつながった逆V字形をしている(図3C)。また、2量体の形成にはLeu284, Ile290, およびTyr329を含む疎水結合や片方の単量体のLys331と別の単量体のGlu287の間で形成される静電結合が必要である^{4)・7)}。このように、それぞれの単量体はA4ドメインだけで互いに接触している。

FXIが活性化される際、それぞれの単量体はArg369-Ile370結合の限定水解を受け、分子内

S-S結合で結ばれた2本鎖タンパク質となる(図2)。2量体化A4ドメインのNMR法による解析では、X線結晶解析法で決定されたA4ドメインに比べ、C末端部に1本の α ヘリックスが新たに形成されていた⁸⁾。このNMRの結果に加え、X線小角散乱法や電子顕微鏡観察における結果より、活性化されたFXIaではドメイン間に大きな空間的再構成が行われ、よりコンパクトな構造になることが明らかにされた。

4. FXIの2量体構造の意義

FXIはホモ2量体を形成している点で他の凝固因子と異なっているが、その意義についていくつか報告がある。まず、Phe283がLeuに置換しているFXI欠損症では単量体型が細胞内に蓄積して分泌されないことから(表1)^{2)・9)}、2量体化が細胞内におけるFXIポリペプチド鎖の成熟または細胞内輸送に重要と思われる。次に、単量体型の活性化速度は2量体型に比べて低いことから、2量体化によってFXIaへ効率よく活性化されることが考えられる⁶⁾。Wuらは、FXI活性化因子が片方の単量体に結合して、別の単量体を活性化するというトランス活性化機構を提唱している⁶⁾。

Smithらは2量体の片方のみが活性化されたFXIaを同定し、2量体がともに活性化されたFXIaと区別する意味で1/2-FXIaと名付けた¹⁰⁾。1/2-FXIaは血漿中でその存在が確認されたので、凝固系の反応初期における活性型FXIは、1/2-FXIaが主要な分子種かもしれない。

1/2-FXIaでは、活性化していない単量体に補助因子等が結合し、活性化している単量体には基質が結合するモデルが考えられる。実際、FXIaの基質であるFIXは、FXIではなくFXIaとのみ結合する¹¹⁾。対照的に、GPIIbはFXIaではなくFXIのA3ドメインと結合する¹⁾。血小板上でFXIaがFIXを活性化するかどうかは不明だが、1/2-FXIaの意義を考える上で、基質・補助因子とFXIまたはFXIaの結合性の差異は興味深い。

5. FXI欠損症における変異と機能異常

FXI欠損症は、その表現型よりI型およびII

型に大別される (表 1)^{1) 2)}. I 型は FXI の抗原量がゼロもしくはほとんどない欠乏症で, FXI の活性も低い. このタイプは, I-1 (FXI の生合成低下), I-2 (FXI の 2 量体化不全による分泌低下), および I-3 (異常単量体と正常単量体の 2 量体化による分泌低下) に分類される. 一方, II 型は FXI の抗原量が正常であるにもかかわらず, 活性が低い分子異常症である. このタイプは II-1 (FXI の活性化異常) および II-2 (FXIa による FIX の活性化異常) に分類される.

FXI 欠損症における変異は, 各ドメインに分散している (図 2). 表 1 は I 型欠乏症と II 型分子異常症について, 変異と表現型を示したものである^{1) 2)}. II 型分子異常症では, 補助因子である HMWK (Gly155Glu 変異, A2 ドメイン) や血小板 (Ser248Phe 変異, A3 ドメイン) との結合低下, および基質である FIX との結合低下 (Ser576Arg 変異, SP ドメイン) 等, FXI の構造-機能相関に重要な情報を与えている.

6. FXI 活性化因子としてのトロンビンの重要性

凝固系カスケード機構が発見されてしばらくの間, FXIIa が生理的な FXI の活性化因子と考え

られていた^{1) 12) 13)}. しかし, FXI 欠損患者はある程度出血症状を示すにもかかわらず, FXII 欠損症では出血傾向が見られない. また, 血漿カリクレインや HMWK など, 内因系凝固反応に関係する他の分子の欠損症も FXII と同様に出血傾向を示さないことから¹⁾, *in vivo* における FXI の活性化因子は FXIIa 以外にも存在すると考えられた.

1991 年, 内藤と藤川¹⁴⁾ および Gailani と Broze¹⁵⁾ は, トロンビンが FXI を活性化することを報告した. また, プロトロンビンからトロンビンへの活性化過程で生じるメイゾトロンビンも FXI を活性化することがわかった¹⁶⁾. ただ, トロンビン単独では FXI の活性化速度が低く, トロンビンが生理的な活性化因子かどうかについて議論があった. 2010 年, Maas らは, 活性化型 V 因子 (FVa) がトロンビンによる FXI 活性化の補助因子であることを見出した¹⁷⁾. この結果, トロンビンが FXI を活性化し, FXIa が FIX の活性化を通じてトロンビン生成を増強するフィードバック機構が生体内で起こるものと考えられた (図 1). さらに, FXIa も FXI を自己活性化すると報告されている (図 1 および図 2)^{14) 18)}.

表 1 FXI 欠損症の分類と原因

欠損症の型	分類	変異	ドメイン	分子レベルにおける原因
I 型欠乏症	1	Glu117*	A2	肝臓における FXI の生合成量の低下
	2	Phe283Leu	A4	2 量体化の低下による細胞外への分泌低下
	3	Ser225Phe	A3	変異型と正常型ポリペプチドの 2 量体形成による細胞外への分泌低下
II 型分子異常症	<u>FXI の活性化異常</u>			
	1	Gly350Ala	A4	2 量体化の不全による FXI のトランス活性化の阻害
	1	Gly155Glu	A2	HMWK との結合低下
	1	Val371Ile	SP	活性化ループの変異
	1	Ser248Phe	A3	血小板との結合低下
	<u>FXIa による IX 因子の活性化異常</u>			
	2	Ser576Arg	SP	FIX との結合低下
	2	Gly555Glu	SP	触媒部位周辺の静電的環境の変化
	2	Thr575Met	SP	Ser557 との新しい水素結合の形成
	2	Pro520Leu	SP	FXIa の触媒活性の低下

FXI, XI 因子; A, アップドメイン; SP, セリンプロテアーゼドメイン; HMWK, 高分子キニノーゲン; FXIa, 活性化型 FXI; FIX, IX 因子. アミノ酸番号は成熟タンパク質のアミノ末端残基を 1 として表記した. アミノ酸変異は Human Genome Variation Society が推薦する表記にしたがった (<http://www.hgvs.org/mutnomen/recs-prot.html>).

7. FXI 活性化における生理的陰性電荷物質

FXII の活性化には陰性電荷物質が必要とされる^{1) 12) 13)}. *in vitro* の研究では, ガラスやカオリン, エラジン酸などの非生物物質, および細胞外 RNA や硫酸化糖脂質, タンパク質凝集体, I 型コラーゲン, グリコサミノグリカンなどの生物物質が FXII 活性化能をもつ. 以前より, FXII の活性化に血小板が重要であると指摘されており^{1) 13)}, 血小板が放出する物質が FXII の活性化に関係すると予想されていた¹⁹⁾.

ポリリン酸は無機リン酸が直鎖状に結合したポリマーで, 血小板の活性化に伴い濃染顆粒からカルシウムイオンや ADP, セロトニンとともに放出される. ポリリン酸は, 内因系凝固反応の促進, 線溶系の遅延, 太いフィブリン線維の形成, といった性質を持ち, 凝固促進因子として注目されている. 2009 年, Müller らは, マウスモデルを用いて, ポリリン酸が生体内でも凝固系やキニン系の活性化を惹起すると報告した¹⁹⁾. さらに 2011 年, ポリリン酸存在下で FXI がトロンビンまたは FXIa で活性化されることが示された²⁰⁾.

ポリリン酸が凝固系で機能する際, その鎖長は大変重要である²¹⁾. 例えば, 微生物が産生するポリリン酸 (数百~数千個のリン酸基) は非常に高い内因系活性化能を示す. 一方, 血小板が放出するポリリン酸 (60~100 個のリン酸基) がもつ内因系活性化能は, 長鎖ポリリン酸 (1,000~2,000 個のリン酸基) の数千分の一程度である. 興味深いことに, V 因子 (FV) の活性化や組織因子経路インヒビター (TFPI) の阻害, トロンビンによる FXI 活性化などの効果では, 血小板由来ポリリン酸は微生物由来ポリリン酸と同等かそれ以上である. 血小板由来のポリリン酸は, 内因系の活性化と比べ, トロンビン生成のフィードバック機構により深く関係しているかもしれない.

Disclosure of Conflict of Interests

The authors indicated no potential conflict of interest.

文 献

1) He R, Chen D, He S : Factor XI : Hemostasis, thrombosis, and

- antithrombosis. *Thromb Res* **129** : 541-550, 2012.
 2) <http://www.factorxi.org>.
 3) Fujikawa K, Chung DW, Hendrickson LE, Davie EW : Amino acid sequence of human factor XI, a blood coagulation factor with four tandem repeats that are highly homologous with plasma prekallikrein. *Biochemistry* **25** : 2417-2424, 1986.
 4) Papagrigoriou E, McEwan PA, Walsh PN, Emsley J : Crystal structure of the factor XI zymogen reveals a pathway for trans-activation. *Nat Struct Mol Biol* **13** : 557-558, 2006.
 5) Emsley J, McEwan PA, Gailani D : Structure and function of factor XI. *Blood* **115** : 2569-2577, 2010.
 6) Wu W, Sinha D, Shikov S, Yip CK, Walz T, Billings PC, Lear JD, Walsh PN : Factor XI homodimer structure is essential for normal proteolytic activation by factor XIIa, thrombin, and factor XIa. *J Biol Chem* **283** : 18655-18664, 2008.
 7) Zucker M, Zivelin A, Landau M, Rosenberg N, Seligsohn U : Three residues at the interface of factor XI (FXI) monomers augment covalent dimerization of FXI. *J Thromb Haemost* **7** : 970-975, 2009.
 8) Samuel D, Cheng H, Riley PW, Canutescu AA, Nagaswami C, Weisel JW, Bu Z, Walsh PN, Roder H : Solution structure of the A4 domain of factor XI sheds light on the mechanism of zymogen activation. *Proc Natl Acad Sci USA* **104** : 15693-15698, 2007.
 9) Peyvandi F, Palla R, Menegatti M, Mannucci PM : Introduction. Rare bleeding disorders : general aspects of clinical features, diagnosis, and management. *Semin Thromb Hemost* **35** : 349-355, 2009.
 10) Smith SB, Verhamme IM, Sun MF, Bock PE, Gailani D : Characterization of Novel Forms of Coagulation Factor XIa : Independence of factor XIa subunits in factor IX activation. *J Biol Chem* **283** : 6696-6705, 2008.
 11) Aktimur A, Gabriel MA, Gailani D, Toomey JR : The factor IX γ -carboxyglutamic acid (Gla) domain is involved in interactions between factor IX and factor XIa. *J Biol Chem* **278** : 7981-7987, 2003.
 12) 宮田敏行, 喜多俊行 : VI. 凝固線溶系 3. 内因系凝固反応と血栓症, *Annual Review 血液* 2012, 東京, 中外医学社, 2012, 236-244.
 13) Müller F, Gailani D, Renné T : Factor XI and XII as antithrombotic targets. *Curr Opin Hematol* **18** : 349-355, 2011.
 14) Naito K, Fujikawa K : Activation of human blood coagulation factor XI independent of factor XII. Factor XI is activated by thrombin and factor XIa in the presence of negatively charged surfaces. *J Biol Chem* **266** : 7353-7358, 1991.
 15) Gailani D, Broze GJ Jr : Factor XI activation in a revised model of blood coagulation. *Science* **253** : 909-912, 1991.
 16) von dem Borne PA, Mosnier LO, Tans G, Meijers JC, Bouma BN : Factor XI activation by meizothrombin : stimulation by phospholipid vesicles containing both phosphatidylserine and phosphatidylethanolamine. *Thromb Haemost* **78** : 834-839, 1997.
 17) Maas C, Meijers JC, Marquart JA, Bakhtiari K, Weeterings C, DE Groot PG, Urbanus RT : Activated factor V is a cofactor for the activation of factor XI by thrombin in plasma. *Proc Natl Acad Sci USA* **107** : 9083-9087, 2010.
 18) von dem Borne PA, Meijers JC, Bouma BN : Feedback activation of factor XI by thrombin in plasma results in additional formation of thrombin that protects fibrin clots from fibrinolysis. *Blood* **86** : 3035-3042, 1995.
 19) Müller F, Mutch NJ, Schenk WA, Smith SA, Esterl L, Spronk HM, Schmidbauer S, Gahl WA, Morrissey JH, Renné T : Platelet polyphosphates are proinflammatory and procoagulant mediators *in vivo*. *Cell* **139** : 1143-1156, 2009.
 20) Choi SH, Smith SA, Morrissey JH : Polyphosphate is a cofactor for the activation of factor XI by thrombin. *Blood* **118** : 6963-6970, 2011.
 21) Morrissey JH, Choi SH, Smith SA : Polyphosphate : an ancient molecule that links platelets, coagulation, and inflammation. *Blood* **119** : 5972-5979, 2012.

ADAMTS13とvon Willebrand因子

国立循環器病研究センター分子病態部部长 宮田敏行
奈良県立医科大学輸血部准教授 松本雅則

血漿中のプロテアーゼであるADAMTS13は、von Willebrand因子（VWF）切断酵素であり、血栓性血小板減少性紫斑病（thrombotic thrombocytopenic purpura：TTP）ではADAMTS13活性が著減する症例が多い。TTPの診断は、血小板減少と溶血性貧血の2徴候が重要視されているが、精神神経症状、腎障害、発熱を示す場合もあり、古典的5徴候として有名である。

TTPでは、先天性もしくは後天性にADAMTS13活性が著減する症例が存在する。ADAMTS13活性が著減することで、強い血小板凝集能を有する超高分子量VWFマルチマーが切断されずに血中に残存し、全身の微小血管内に血小板血栓が生じる。ADAMTS13はVWFの1カ所のペプチド結合を特異的に切断してVWFマルチマーを低分子化し、VWFマルチマーの血小板凝集能を抑制する。この切断には、直線状につながったVWFにずり応力が作用して、1つのサブユニット中央部のA2ドメインの立体構造が崩れる必要があり、ずり応力依存性の切断というきわめてめずらしい機構として注目される。

先天性TTPはUpshaw-Schulman症候群ともよばれ、ADAMTS13遺伝子異常のホモ接合体もしくは複合ヘテロ接合体が原因である。

後天性TTP患者では、血漿中にADAMTS13に対する自己抗体が検出され、TTP患者の約95%が後天性であると報告されている。現在、ADAMTS13を補充するには、新鮮凍結血漿しか製剤はなく、ADAMTS13活性著減によるTTPの場合は、血漿療法が有効である。特に、後天性TTP患者にはADAMTS13に対する自己抗体が産生されているので、血漿交換によって酵素を補充し自己抗体を除去することで病態が劇的に改善される。ADAMTS13活性と自己抗体の測定は、TTPの診断および治療効果を判定するうえで重要なマーカーとなっている。

現在までにADAMTS13遺伝子欠損（ノックアウト）マウスは、著者らを含めて2種類作成されている。このノックアウトマウスは、TTPを自然発症しないが、大腸菌O157が産生するシガ毒素やVWFの静注によりTTP様の症状を示す。ノックアウトマウスに実験的に脳梗塞や心筋梗塞を起こさせると、野生型に比べてその梗塞巣が大きくなる。さらに、このモデルに遺伝子組み換えADAMTS13を静注するとノックアウトマウスだけでなく野生型マウスでも梗塞巣が縮小することから、今後発売される予定のADAMTS13製剤の動脈血栓症への治療効果が期待されている。

