

2001年10月30日
独立行政法人 理化学研究所

血流停滞による血栓形成のメカニズムを解明

- "エコノミークラス症候群"予防につながる新知見 -

理化学研究所(小林俊一理事長)は、血液の流れが停滞することによって血栓が形成されるメカニズムを世界で初めて明らかにしました。理研超分子科学研究室(和田達夫主任研究員)の貝原真副主任研究員、岩田宏紀研究協力員(情報基盤研究部)らによる研究成果です。

血液が停滞し、血液粘度が上昇すると血栓が形成しやすくなることは臨床医学的な見地からすでに知られていますが、その形成機構は解明されていませんでした。研究グループでは、人工血管モデル中での血液凝固過程の解析および生化学的研究から、血液の流れが遅くなると血栓ができやすいことを科学的に証明しました。さらに、血液を凝固させる原因タンパク質が赤血液球膜に存在する「エラスターゼ」であり、血液凝固第 IX 因子^{*1}を活性化することを突き止めました。

血栓形成の引き金となる物質(トリガー物質)と考えられる「エラスターゼ」の第 IX 因子を活性化させる能力を調べることによって、航空機内での長期座位や、脱水による血液粘度の上昇にともなう血栓形成によって生じる“エコノミークラス症候群”を事前に診断・予防することが期待できます。

本研究は、岡山県産業振興財団からの委託研究の一環として行われ、11月1日から名古屋大学で開かれる「日本宇宙航空環境医学会」および11月21日から京都国際会議場で開かれる「日本血栓止血学会」で発表されます。

1. 背景

血液は、一般に生体内を循環するときには凝固したり血栓を形成したりはしません。しかしながら、血液の流れが停滞すると凝固が起こりやすくなることが臨床医学的には良く知られています。血流停滞による血栓形成によって引き起こされる疾患として最近注目されているのが“エコノミークラス症候群”です。“エコノミークラス症候群”は、飛行機の中で、長時間じっと座っていることで下肢の静脈が圧迫されて血液の流れが停滞し、さらに乾燥した機内で水分を十分補給しないことにより脱水を起こして血液の粘度があがります。その結果、下肢静脈に血栓が生じ、血栓が心臓を経由して肺の動脈を閉塞(へいそく)させる(肺塞栓症)ことによって、意識不明になり、ひいては死に至ることもあります。しかしながら、血液の流動が停滞することによって血栓が形成されるメカニズムは、まったく明らかになっていないのが現状です。“エコノミークラス症候群”の予防策としては、機内で足の運動を行い、血流を確保するなどの方法がありますが、その機構が明らかになれば、より効果のある対策が講じられると考えられます。

研究チームでは、人工血管の研究を通して、血液凝固過程の粘性や弾性を感度良く計測する装置を開発しました。その結果、培養内皮細胞を用いて構築した人工血管を用いた実験においても、血液の流れが停滞することによって血栓が生じること

を確認しました。本装置を用いて、血栓形成には血液中のどのような成分（白血球、赤血球、血小板など）が関与しているかを調べ、血液の凝固を引き起こす“トリガー”が何であるかをレオロジー（流れと変形に関わるサイエンス）的および生化学的に明らかにすることとしました。

2. 研究手法と成果

1) 血液凝固に関わる有形成分は赤血球

血液は、無形成分である“血しょう（タンパク質、各種凝固因子、塩類などを含む）”と、有形成分である“赤血球”、“白血球”、“血小板”とから構成されています。研究チームでは、まずこれらの成分のうち、血液凝固に関与する成分を特定しました。人工血管モデルと血液の流動性を計測するレオメーター^{*2}を組み合わせた血流停滞をシミュレーションする計測系を用いて、全血液およびそれぞれの成分のみで血栓が生じる時間を比較したところ、血液凝固に関与する有形成分は、赤血球であることが分かりました。

2) 血栓形成には赤血球による第 IX 因子活性化が重要

血液を凝固させるメカニズムには、内因系反応^{*3}と外因系反応^{*3}の2つの異なる経路があります。凝固因子が一つ欠乏する血しょうに、赤血球のみを混ぜ入れた試料の凝固を測定した結果、内因系における第 IX、第 X 因子が無い場合には、血流が停滞しても凝固が起こらなくなることが分かりました。さらに市販されている純粋な凝固因子を赤血球と接触させたときに、第 IX、第 X 因子のどちらが活性化するかを生化学的に解析したところ、赤血球によって第 IX 因子のみが活性化することが発見されました。

3) 第 IX 因子を活性化させる酵素は「エラスターゼ」

第 IX 因子を活性化させる原因酵素（タンパク質）を赤血球膜から抽出しました。得られた酵素の N-末端アミノ酸配列を、理研物質基盤研究部生体分子解析室（瀧尾擴士室長）の協力を得て解析し、原因となる物質を探索しました。その結果、原因酵素が「エラスターゼ」であることを突き止めました。「エラスターゼ」は本来、赤血球膜には含まれない、もしくは含まれていても極微量であるといわれていましたが、「エラスターゼ」によって活性化する蛍光物質を用いて赤血球膜に存在することを確認しました。

4) 血流停滞および脱水は第 IX 因子の活性化を促進

人工血管とレオメーターを組み合わせた計測系により、第 IX 因子の活性化が引き起こされる状態をさらに詳しく検証した結果、血液の流れが速いときには活性化が起こらず、血流が停滞すると活性化が起こることが分かりました。また、脱水などによる赤血球数（ヘマトクリット）の増加は、第 IX 因子の活性化を促進することが分かりました。

以上のことから、赤血球膜に存在する「エラスターゼ」は、血流停滞による血栓形成のトリガー物質であることが確かめられました。さらに、第 IX 因子が内因系反応で活性化される際に第 XI 因子によって切断される部位と、「エラスターゼ」によって切断される部位とではわずかに異なっていることが分かりました。これは、血流停滞による血栓形成が、通常、知られている内因系反応のトリガー機構とは異

なった系で引き起こされる独特のメカニズムであると考えられます。

3. 今後への期待

血栓形成のトリガー物質である「エラスターゼ」の赤血球膜上での第 IX 因子を活性化する能力（第 IX 因子活性化能）を調べることによって、“エコノミークラス症候群”の診断・予防につながると期待されます。さらには、長期臥床や膝関節・股関節などの手術時における血流停滞によって引き起こされる血栓形成の診断・予防にも有効かもしれません。

今後は、血流停滞によってなぜ「エラスターゼ」が第 IX 因子を活性化させるのか、その分子機構を調べるのが重要になります。また、正常および血液凝固を起こしやすい人（糖尿病患者、妊婦など）における赤血球膜の構造・性質と第 IX 因子との活性化を調べるとともに、赤血球膜上で特異的に作用する阻害剤や抗体をつくることによって“エコノミークラス症候群”など血流停滞による血栓形成の予防薬の開発が期待できます。

(問い合わせ先)

独立行政法人理化学研究所

超分子科学研究室 副主任研究員

貝原 真

Tel : 048-467-9381 / Fax : 048-467-9389

(報道担当)

独立行政法人理化学研究所 広報室

嶋田 庸嗣

仁尾 明日香

Tel : 048-467-9272 / Fax : 048-462-4715

<補足説明>

※1 血液凝固因子

血液凝固に関与する因子で血しょう中に存在し、第 I から XIII (第 VI 因子は欠番) まで国際血液凝固因子名称委員会で 1954 年に命名された。フィブリノーゲン (第 I 因子)、プロトロンビン (第 II 因子) 以外は数字を用いて表す。フィブリノーゲン以外は酵素であり、血しょう中では非活性な酵素前駆体として存在し、血液凝固に際しては、これらが連続的に反応し活性酵素になる。例えば、遺伝的に第 IX 因子活性が低下、あるいは欠損していると出血傾向になる (いわゆる血友病)。

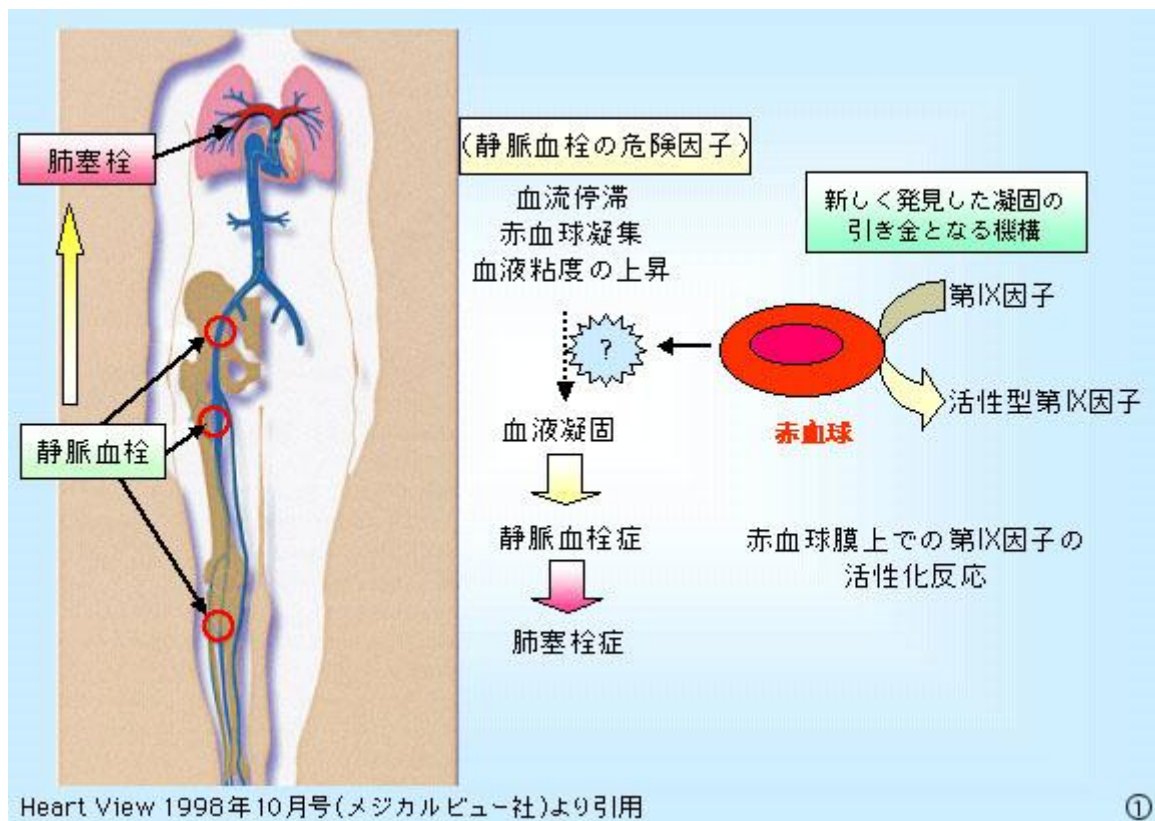
※2 人工血管モデルと血液の流動性を計測するレオメーター

ガラスチューブ (長さ 3cm、内径 1cm) の内面に回転培養法により培養内皮細胞を被覆した簡単なハイブリッド型血管モデルを作製し、その中の血液試料の凝固過程の流動性の変化を理研で開発した減衰振動型レオメータを用いて測定し、血液凝固開始時間を決定する。現在では、ハイブリッド血管モデルを使用する代わりに、ポ

リプロピレンチューブを用いている。レオメータとは、液体や溶液の粘性や粘弾性を測定する装置。減衰振動型レオメータは、もともと人工血管材料の抗血栓性を評価するために開発された。特徴として、高感度であり、試料容器の材質やサイズに関係なく使用できる。さらに、チューブ中の液体の流れは非常に遅いので、血流停滞をシミュレートした計測系として生体外の実験に用いることができる。

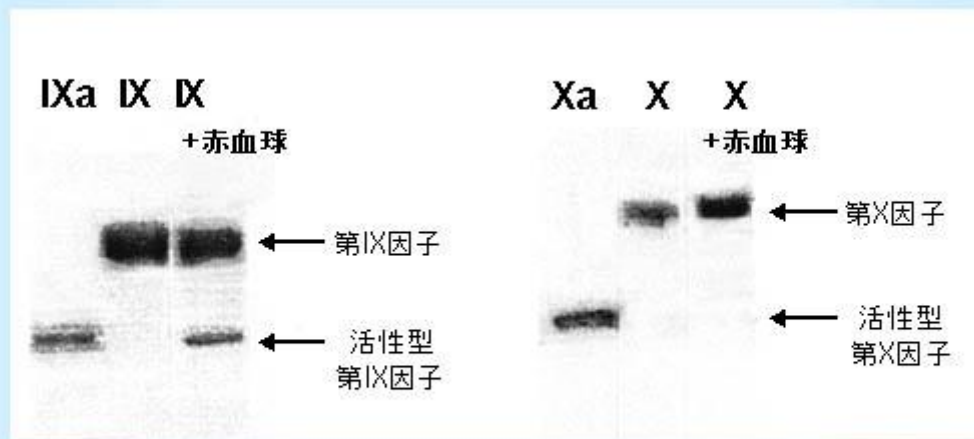
※3 外因系反応と内因系反応

外因系反応は、血管壁が損傷したときに引き起こされる反応で、生体内での凝固は主にこの反応によって引き起こされると考えられている。血管壁に存在する組織因子と第VII因子により第X因子が活性化。活性化型第X因子がプロトロンビンをトロンビンに変換し、フィブリンを形成。内因系反応は、負電荷を有するものに接することによって一つの凝固因子(第XII因子)が活性化すると、一連の凝固因子(第XI、IX、X)が次々と活性化され、最終的にトロンビンが生成され凝固する。しかしながら、生体内での内因系反応の重要性については良く分かっていなかった。



第IX因子

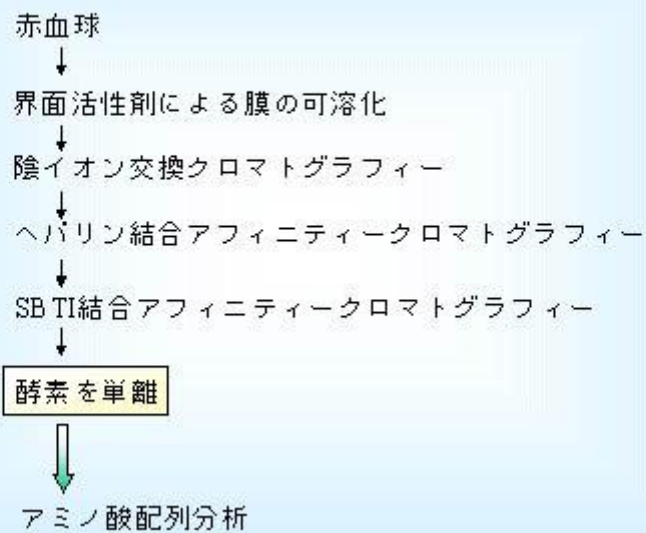
第X因子



赤血球膜による血液凝固因子の活性化の
SDS電気泳動法による解析

②

第IX因子活性化酵素の構造決定法



③

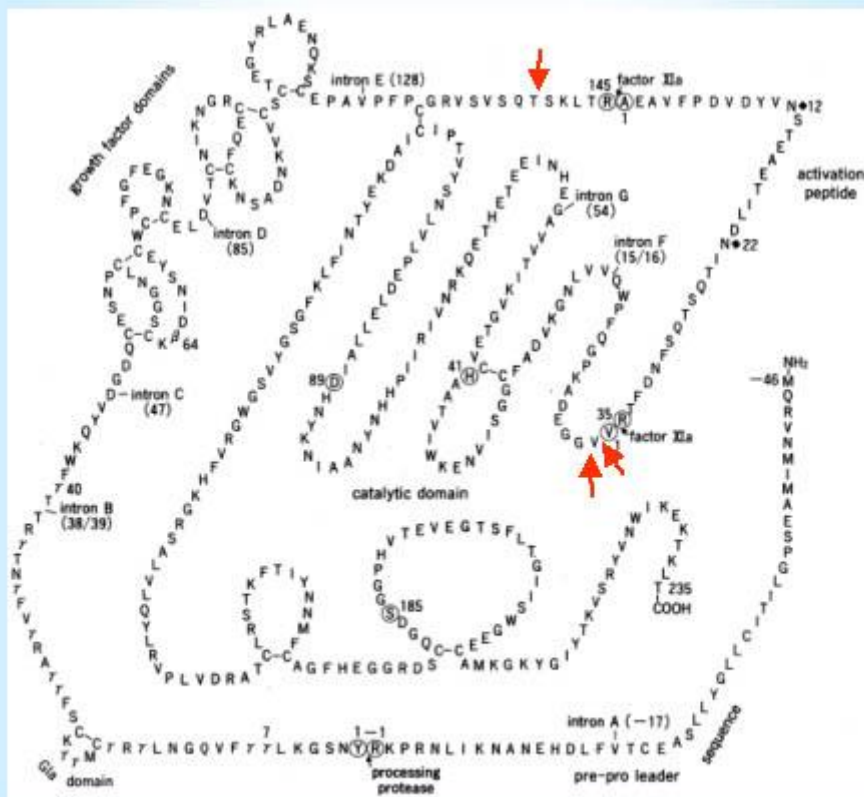
赤血球膜に存在する第IX因子活性化酵素のN末端アミノ酸配列分析と第IX因子の切断部位

- 赤血球から精製した第IX因子活性化酵素のN末端アミノ酸配列（下線部）

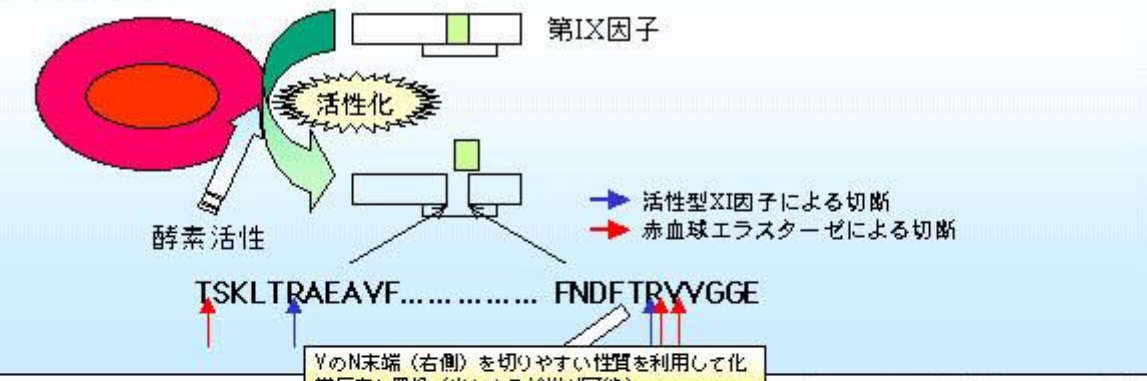
1 ivggrarph awpfmvslql rgghfcgatl iapnfvmsaa hcvanvvr vrvlgahnl
 61 sreptrqvfv avqrifengy dpvnllndiv ilqlngsati nanvqvaiql aqgmrlngy
 121 qclamgwlll gmngiasvl qelnvtvvtl lrrsnvcti vrgnqagvcf gdsqspvcn
 181 glhngiasfv rggcasglyp dafapvaqfv nwidsiix

好中球エラスターゼのN末端アミノ酸配列と一致した

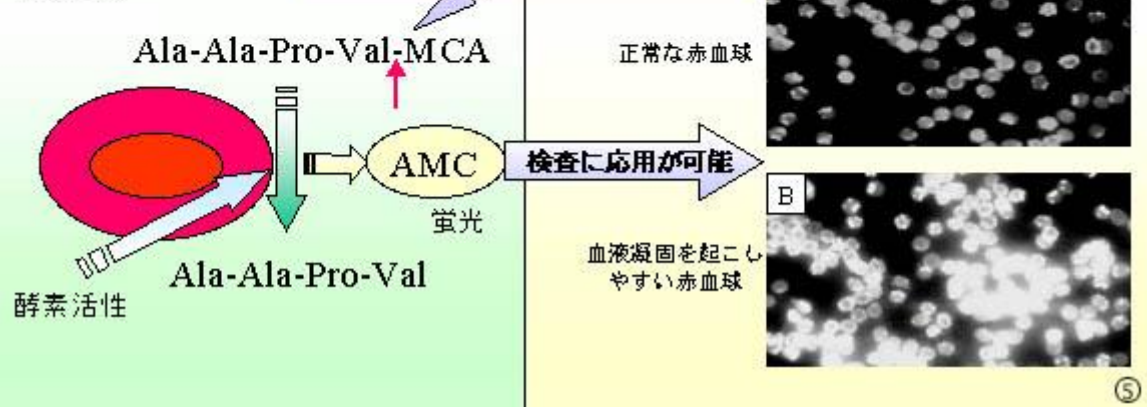
- 赤血球膜抽出物による第IX因子の切断部位



血液凝固反応



化学反応



外因系凝固反応

