◆トピックス◆

脳神経系と凝固線溶系

鏡 谷 武 雄*

Nervous System and Coagulation-fibrinolysis System

Takeo ABUMIYA*

Key words: Thrombin, Protease nexin, Tissue factor, Neuron, Astrocyte

はじめに

生体内の凝固線溶反応の程度は、血液中の凝固線溶因子の量や機能だけで決まるのではなく、反応が起こる組織の状態に大きく左右されることが考えられる。また、凝固線溶反応は、止血、血栓形成だけに止まらず、細胞増殖や組織修復にも関与すると考えられる。このような観点から、凝固線溶の動態を血液の中だけではなく、臓器、組織という枠組の中で捉え直すことは重要なことと考えられる。全身の臓器の中で、脳神経系は凝固線溶の動態に興味深い点が多い。本稿では、凝固線溶因子の中で、脳神経系での動態が注目されているものについて、特に発現の状態や神経組織に対する作用を中心に概説したい。

各凝固線溶因子の脳神経系での動態

1. 組織因子

凝固反応のイニシエーターである組織因子は脳組織内に豊富に存在する。その発現部位は、モノクローナル抗体を用いた免疫組織学的検討により、脳の灰白質領域、毛細血管を除く微小血管の周囲に多いことが明らかにされている¹⁾。さらにマウスを用いた in situ hybridization の検討で、組織因子 mRNA がアストロサ

イトで発現していることが明らかとなった²⁾。組織因子が正常状態でも豊富に存在する理由は明らかではないが、外傷や出血等の緊急時に、止血を早急に進めるという点で合目的に働いているのかもしれない。

組織因子の発現を増強させる作用を持つ Lipopolysaccharide (LPS) をマウスに静脈内投与すると、腎、肺では組織因子 mRNA の発現量が増加するが、一方、脳ではその発現量がほとんど変化しないことが報告されている³⁾。この臓器間での差の原因については、投与された LPS が腎や肺では組織内に蓄積されるのに対して、脳では組織内への進入が抑えられたためと考えられている³⁾。

ヒヒを用いた脳中大脳動脈の閉塞再灌流動物モデルで、抗組織因子モノクローナル抗体を前投与すると、閉塞再灌流後に生じる微小血管の循環障害を改善しうることが報告されている⁴⁾。そして、その投与された抗体の反応部位が微小血管の周囲であることも確かめられている⁵⁾。この結果より、再灌流障害時にみられる血栓形成に関して、特に微小血管周囲の組織因子が関与していると考えられる。

2. トロンビン

トロンビンの神経系への作用は、培養神経細胞およびグリア細胞に対してトロンビンを投与

* 国立循環器病センター研究所疫学部〔〒565 大阪府吹田市藤白台 5-7-1〕: National Cardiovascular Center Research Institute, Fujishirodai 5-7-1, Suita, Osaka 565, Japan.

図1 トロンビンとアゴニストペプチドの神経突起の収縮作用
 トロンビン 0.2 nM, SFLL (SFLLRNPNDKYEPF) 100 nM, FSL (SFLLRNPNDKYEPF) 100 nM (文献6より引用)

するという *in vitro* の実験系で検討されてきた。neuroblastoma cell にトロンビンを投与すると、神経突起の収縮が数分のうちに生じることが知られている⁶⁾。トロンビンの各誘導体の中では、 $\alpha > \beta > \gamma$ の順に収縮させる能力が強く、また、ヒルジンのようなトロンビン阻害薬を用いるとその効果が抑制されることから、トロンビンのプロテアーゼ活性がこの収縮反応には必要であると考えられた⁶⁾。また、さらにトロンビンレセプターのアゴニストペプチドでも同じ反応が引き起こされることより、この反応においてトロンビンレセプターが機能していることが明らかとなった(図1)。そして、このレセプターからの情報伝達において、低分子量 G 蛋白質のひとつである RhoA が機能していることが明らかとなっている⁷⁾。一方、培養アストロサイトでも、トロンビンを 1×10^{-11} M の濃度で投与すると、アストロサイトの星状突起は収縮するが、さらに、添加するトロンビンの濃度を 3×10^{-11} M 以上に上昇させると、増殖作用が生じる⁸⁾。

脳において実際にトロンビンが生成される場面として、ひとつには外傷や出血などの病的な状況が考えられる。その際、神経突起の収縮に

より神経伝達能力が低下する可能性が考えられる。また、トロンビンがグリア系の細胞に対し増殖作用を及ぼし、グリオシス形成に働いている可能性もあるだろう。

このような血液成分から由来する病的トロンビンの他に、脳組織内にもトロンビンの前駆体であるプロトロンビンが存在することが報告されている。ラットを用いた *in situ* hybridization の結果では、胎性期にプロトロンビン mRNA の発現が脳全体に認められ、その後、出生時に一時そのシグナルが低下するが、出生後は、嗅球、大脳皮質、線条体、視床、黒質等の神経細胞に一致して、その発現が認められている⁹⁾。このように脳の器官形成の時期において、発現の状態が変動することより、器官形成に際してプロトロンビンが何らかの機能を果している可能性が考えられている。このような脳組織に由来するトロンビンは次の項で述べる PN-1 と拮抗的に働いてその機能を果していると想像されている¹⁰⁾。

実際にトロンビンが細胞に対して生物活性を示すためには、その細胞の側にレセプターの発現が必要である。トロンビンレセプター mRNA の発現についても、脳の器官形成と関連して検討がなされている¹¹⁾。それによると胎児期から出生時にかけては、脳全体に発現量が多いが、出生後シグナルは減弱し、大脳皮質、間脳、脳幹部において神経細胞に特異的に発現が認められるという。

3. protease nexin-1 (PN-1)

PN-1 は 43KDa のプロテアーゼインヒビターであり、トロンビン、ウロキナーゼ、プラスミンなどに対し阻害反応を示す。グリア系細胞が産生する Glia-derived nexin (GDN) とは同一の物質である。PN-1 は、神経細胞に対して神経突起を伸長させるが、これはトロンビンに対する阻害により生じていることがわかっている⁸⁾。

脳での発現は、アストロサイトと細動脈下の微小血管で認められている¹²⁾。発現調節については neuroblastoma の cell line を用いた検討で IL-1, TNF- α , TGF- β , PDGF が発現を増加させることがわかっている¹³⁾。このよう

な組織障害に関連するサイトカインや増殖因子によって PN-1 の発現が増強されることは、組織障害の際に同時に生じているであろうトロンビンの過剰状態を是正するという生体防御の意味合いがあるのかもしれない。

PN-1 についても脳組織の発生との関連で検討がなされているが、ラットにおける *in situ* hybridization の結果では、出生早期にグリア細胞の新生される時期に一致して、全脳的に一時的に発現が増強するが、その後成長するにつれて、嗅脳、皮質第 5 層の錐体細胞、線条体、視床核、黒質に陽性細胞を認め、グリア細胞以外でも神経細胞のあるサブセットも陽性になることが明らかとなっている¹⁴⁾。

4. protease nexin-2 (PN-2)

PN-2 は線維芽細胞などから産生され、トリプシン、キモトリプシンなどを効果的に阻害するプロテアーゼインヒビターとして知られていた。その後、アミロイド蛋白質前駆体 (amyloid β -protein precursor, APP) のうち Kunitz 型インヒビタードメインを有する分泌型と同一のものであることが明らかとなり、神経系での動態が注目されるようになった。抗 PN-2/APP 抗体を用いたヒトにおける免疫組織学的検討では、アルツハイマー病では老人斑に、また、アミロイドーシスを伴うオランダ型遺伝性脳出血においては脳血管に PN-2/APP が強陽性であった¹⁵⁾。PN-2/APP の凝固因子に対する阻害は、第 XI 因子の他に第 IX 因子も阻害し、第 IX 因子に関しては AT-III の 70 倍以上の阻害の強さを持つとされており、アミロイドーシスを伴うオランダ型遺伝性脳出血において脳血管に豊富に存在する PN-2/APP が止血機転を遅らせ、脳出血の拡大化に関与している可能性が考えられている¹⁶⁾。

5. その他の因子

Thrombomodulin は、血管内皮細胞で産生されるが、他臓器に比べ、脳での発現は少ない。また、同様に血管内皮細胞で産生される Tissue factor pathway inhibitor (TFPI) も脳での発現は少ないと考えられている。

線溶系因子については、培養細胞の検討において、アストロサイトで uPA, PAI-1 が、また、

ミクログリアで uPA, プラスミノーゲンが産生されることが確かめられている。これら線溶系は、細胞外マトリックスを分解し、細胞の遊走、神経突起の進展に働く可能性が考えられている。また、tPA の免疫染色の検討では、神経系細胞には陰性で、毛細血管を除く微小血管で陽性であったと報告されている。

おわりに

神経系での凝固線溶因子の動態を組織因子、トロンビン、PN-1, 2 を中心に述べた。このうちトロンビンと PN-1 は、拮抗的に働いて神経系の器官形成に関与している可能性が高く、発生との関連で今後さらなる検討が期待される。一方、疾患との関連では、紙面の関係で詳細を省略するが、アルツハイマー病において、組織因子¹⁷⁾、トロンビン¹⁸⁾、AT-III¹⁹⁾ が老人斑などの病変部位で増加し、PN-1²⁰⁾ が海馬で減少することが報告されている。これらの変化が何を意味しているか未だ不明であり、病変形成の原因か結果かもわかっていない。今後、このような脳疾患と凝固線溶因子との関係についても究明が望まれる。

文 献

- 1) del. Zoppo, G.J., Yu, J.Q., Copeland, B.R., Thomas, W.S., Schneiderman, J. and Morrissey, J.H.: Tissue factor localization in non-human primate cerebral tissue. *Thromb Haemostas.* **68**: 642-647, 1992.
- 2) Eddleston, M., de la Torre, J.C., Oldstone, M.B. A., Loskutoff, D.J., Edgington, T.S. and Mackman, N.: Astrocytes are the primary source of tissue factor in murine central nervous system. A role for astrocytes in cerebral hemostasis. *J Clin Invest* **92**: 349-358, 1993.
- 3) Mackman, N., Sawdey, M.S., Keeton, M.R. and Loskutoff, D.J.: Murine tissue factor gene expression in vivo. Tissue and cell specificity and regulation by lipopolysaccharide. *Am J Pathol* **143**: 76-84, 1993.
- 4) Thomas, W.S., Mori E., Copeland, B.R., Yu J.Q., Morrissey, J.H. and del Zoppo, G.J.: Tissue fac-

- tor contributes to microvascular defects after focal cerebral ischemia. *Stroke* **24** : 847-854, 1993.
- 5) Okada, Y., Copeland, B.R., Fitridge, R., Koziol, J. A. and del Zoppo, G.J. : Fibrin contributes to microvascular obstructions and parenchymal changes during early focal cerebral ischemia and reperfusion. *Stroke* **25** : 1847-1854, 1994.
- 6) Suidan, H.S., Stone, S.R., Hemmings, B.A. and Monard, D. : Thrombin causes neurite retraction in neuronal cells through activation of cell surface receptors. *Neuron* **8** : 363-375, 1992.
- 7) Jalink, K., van Corven, E.J., Hengeveld, T., Morii, N., Narumiya, S. and Moolenaar, W.H. : Inhibition of lysophosphatidate-and thrombin-induced neurite retraction and neuronal cell rounding by ADP ribosylation of small GTP-binding protein Rho. *J Cell Biol* **126** : 801-810, 1994.
- 8) Cavanaugh, K.P., Gurwitz, D., Cunningham, D.D. and Bradshaw, R.A. : Reciprocal modulation of astrocyte stellation by thrombin and protease nexin-1. *J Neurochem* **54** : 1735-1743, 1990.
- 9) Dihanich, M., Kaser, M., Reinhard, E., Cunningham, D.D. and Monard, D. : Prothrombin mRNA is expressed by cells of the nervous system. *Neuron* **6** : 575-581, 1991.
- 10) Smirnova, I.V., Ho, G.J., Fenton, II J.W. and Festoff, B.W. : Extravascular proteolysis and the nervous system : Serine protease/serpin balance. *Semin Thromb Hemost* **20** : 426-432, 1994.
- 11) Niclou, S., Suidan, H.S., Brown-Luedi, M. and Manard, D. : Expression of the thrombin receptor mRNA in rat brain. *Cell Mol Biol* **40** : 421-428, 1994.
- 12) Choi, B.H., Suzuki, M., Kim, T., Wagner, S.L. and Cunningham, D.D. : Protease nexin-1. Localization in the human brain suggests a protective role against extravasated serine proteases. *Am J Pathol* **137** : 741-747, 1990.
- 13) Vaughan, P.J. and Cunningham, D.D. : Regulation of protease nexin-1 synthesis and secretion in cultured brain cells by injury-related factors. *J Biol Chem* **268** : 3720-3727, 1993.
- 14) Reinhard, E., Suidan, H.S., Pavlik, A. and Monard, D. : Glia-derived nexin/protease nexin-1 is expressed by a subset of neurons in the rat brain. *J Neurosci Res* **37** : 256-270, 1994.
- 15) Rozemuller, A.J.M., Roos, R.A.C., Bots, G.T.A.M., Kamphorst, W., Eikelenboom, P. and Van Nostrand, W.E. : Distribution of β /A4 protein and amyloid precursor protein in hereditary cerebral hemorrhage with amyloidosis-Dutch type and Alzheimer's disease. *Am J Pathol* **142** : 1449-1457, 1993.
- 16) Schmaier, A.H., Dahl, L.D., Rozemuller, A.J.M., Roos, R.A.C., Wagner S.L., Chung R. and Van Nostrand W.E. : Protease nexin-2/Amyloid β protein precursor. A tight-binding inhibitor of coagulation factor IXa. *J Clin Invest* **92** : 2540-2545, 1993.
- 17) McComb, R.D., Miller, K.A. and Carson, S.D. : Tissue factor antigen in senile plaques of Alzheimer's disease. *Am J Pathol* **139** : 491-494, 1991.
- 18) Akiyama, H., Ikeda, K., Kondo, H. and McGeer, P.L. : Thrombin accumulation in brains of patients with Alzheimer's disease. *Neurosci Lett* **146** : 152-154, 1992.
- 19) Kalaria, R.N., Golde, T., Kroon, S.N. and Perry G. : Serine protease inhibitor antithrombin III and its messenger RNA in the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Am J Pathol* **143** : 886-893, 1993.
- 20) Wagner, S.L., Geddes, J.W., Cotman, C.W., Lau, A.L., Gurwitz, D., Isackson, P.J. and Cunningham, D.D. : Protease nexin-1, an antithrombin with neurite outgrowth activity, is reduced in Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci USA* : **86** : 8284-8288, 1989.