

フィブリノーゲンの欠損マウス

水口 純^{*1}, 中垣 智弘^{*1}, 岩永 貞昭^{*1,*2}

Fibrinogen Deficient Mice

Jun MIZUGUCHI^{*1}, Tomohiro NAKAGAKI^{*1}, Sadaaki IWANAGA^{*1,*2}

Key words: fibrinogen deficient mice, coagulation, hemostasis, wound healing

はじめに

フィブリノーゲンは生体が傷害を受けたときに血液を凝固する物質として働く。すなわち、損傷部位における血小板凝集反応に必要な粘着蛋白質であり、またフィブリンクロットの本体でもある。フィブリノーゲンの構造・機能・遺伝子・合成等について主要な点を記すと¹⁾、①分子量約34万の糖タンパク質であり、3種のポリペプチド鎖、 α 、 β 、 γ 鎖、がそれぞれ2本ずつ29個のジスルフィド結合で結ばれたホモダイマー構造から成る。②血小板凝集には γ 鎖のカルボキシル末端の5残基QAGDV配列が関与する²⁾。③フィブリンクロットを形成する際、トロンビンによるフィブリノペプチドAとBの特異的切断、生成フィブリンモノマーの重合、XIIIa因子によるクロスリンク、並びに α_2 プラスミンインヒビター等のクロット内への取り込みなどがある。④遺伝子は約50 kbの長さで第4染色体のq23-32上に $\gamma \rightarrow \alpha \leftarrow \beta$ の順で整列し、 β 鎖のみ転写方向が逆である。⑤転写制御には、HNF-1, C/EBP, IL-6, USFなどが関与している³⁾⁻⁵⁾。⑥フィブリノーゲン分子の肝でのアセンブリー・分泌には3種のポリペプチド

鎖全ての発現が必要で、サブユニット蛋白状態では分泌されない^{6,7)}。臨床的には血漿濃度が慢性的に3.2 mg/mlを越えると心疾患を招く危険があるという。一方、フィブリンクロットは止血の本体と言われながらも、その欠損患者の出血症状はVIII因子やIX因子を欠く血友病患者に比べて比較的軽いとされている。本稿では、フィブリノーゲン欠損マウスの生理と病態に絞って紹介する⁸⁾。

フィブリノーゲン欠損マウスからの情報

図1に正常と欠損マウスの血中でのフィブリノーゲン値を示す。フィブリノーゲンのA α 鎖遺伝子を破壊したホモ欠損マウス(A α ^{-/-})では、血管系の構築及び発生は正常であり、胎児期での致死も全く見られない。出生2日後から約30%の個体に腹膜内、皮下、関節周囲軟部組織、頭、首等の部位で出血症状を示すが、ほとんどの個体で最終的には止血し、組織を修復しつつ新生仔期を生き延びる。新生仔の全血や血漿にフィブリノーゲンは検出できないので、母親からの移行はないと推測される。しかし、成熟期(30~60日齢)に再び腹部に致命的な大出血をきたし約40%が死亡する(Strain 129/

*1 (財)化学及血清療法研究所 第III製造部〔〒860 熊本市大塚1-6-1〕:Third Production Department, The Chemo-Sero Therapeutic Research Institute

*2 藤田保健衛生大学 総合医科学研究所〔〒470-11 愛知県豊明市春掛町田楽ヶ窪1-98〕:Institute for Comprehensive Medical Science, School of Medicine, Fujita Health University

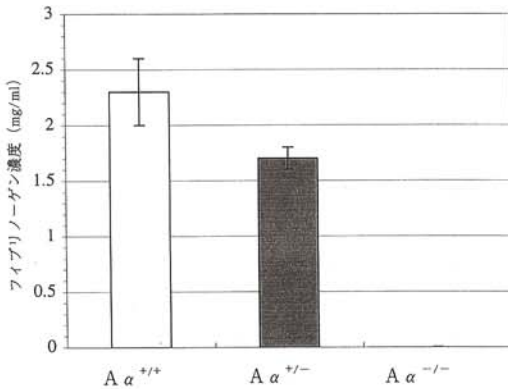


図1 ELISAによって測定した正常と欠損マウスの血漿フィブリノーゲン値。しれぞれ4匹の平均値±標準偏差。Aα^{-/-}マウスの血漿からは検出できなかった。(文献8より引用, 改変)

CF-1)。この現象は遺伝的背景(系統)に強く依存し、異なる系統(Strain C57Bl/6J)ではほとんど死亡しないという⁹⁾。肝臓および腎臓の皮膜下に血腫がしばしば観察されるが、肝皮膜下の血腫の破裂が上記の腹腔内出血の主要因の様である。この肝血腫は個体により0~12個以上とバラツキがあるものの、いずれの系統でも見られ、外傷により引き起こされると考えられる。また、通常の組織修復の際に見られる血腫内へのマクロファージや繊維芽細胞の浸潤が起きないことから、フィブリンは創傷部位への細胞移動に重要なマトリックスとして機能することが推測される。ホモ欠損雌マウスの排卵は問題ないが、妊娠は母体に致死的であり、妊娠後約10日目に致命的な出血が胚周囲の子宮内膜に見られる。これはこの時期に胎盤形成のため

胚のトロホプラストが子宮内膜内へ侵入するためである。発生過程の胚自体での出血はないといわれる。Aα^{-/-}マウスの血液学的性状はヒトの欠損患者と類似しており、とくに際立った差は見られない。Aα^{-/-}マウスの血液を分析した結果を表1示す。全血・血漿は30分たっても凝固せず、ADPによる血小板凝集も見られなかった。当然のことながら新たにフィブリノーゲンを加えると、血漿は凝固し、血小板も凝集した。肝細胞におけるα鎖のmRNAやα鎖ポリペプチドは検出されなかったが、βとγ鎖の発現はAα^{+/+}の場合と同程度である。

おわりに

以上を要約すると、①Aα^{-/-}マウスは正常に出生するが、生後2日目から約30%に腹部、皮下、関節周辺等に出血を認める。これらの殆どは最終的には止血し、新生仔期を生き延びる。②成熟期の機械的侵襲により肝皮膜下血腫が発生しやすく、この破裂により腹部大出血を起こす事があり、これ以降の生存率は系統によって異なる。③組織修復の際に通常見られる血腫内への細胞浸潤は起きないので、フィブリンは創傷部位への細胞移動に重要なマトリックスとしての機能することが推測される。④妊娠すると10日目に致死性の子宮内出血を生じる。⑤新生仔と成熟マウスの血液にはともにフィブリノーゲンは検出されず、また凝固もせず、出血時間は著しく延長した。⑥α鎖を破壊しても肝細胞でのβ、γ鎖の転写及び翻訳機能は保持される。これは、3本のポリペプチドが揃わないと肝細胞から分泌されないという*in vitro*の結果と一

表1 フィブリノーゲン欠損マウスの血液分析(文献8より引用, 改変)

	Aα ^{+/+}		Aα ^{+/-}		Aα ^{-/-}	
血小板(×10 ⁹ /liter)	1075±319	(3)	1012±47	(3)	887±239	(5)
赤血球(×10 ¹² /liter)	8.4±0.4	(3)	8.3±0.2	(3)	8.8±0.8	(5)
白血球(×10 ⁹ /liter)	3.3±0.9	(3)	4.0±1.9	(3)	4.4±2.0	(5)
ヘマトクリット(%)	45.1±3.3	(3)	44.0±1.1	(3)	45.3±3.7	(5)
ヘモグロビン(g/%)	15.0±0.8	(3)	14.9±0.4	(3)	15.1±1.1	(5)
トロンビン時間	16±1sec	(3)	14.1±1sec	(3)	>30min*	(3)
出血時間**	4.0±2.0min	(5)	2.3±1.1min	(3)	>15min	(3)

カッコ内の数字は匹数、データはその平均値±標準偏差を示す。

*37°Cで30分以上インキュベーションしてもフィブリンクロットは形成されなかった。

**出血時間の測定は爪床侵襲試験法を用いた。

致する。⑦ β , γ 鎖の遺伝子発現レベルは循環血中のフィブリノーゲン濃度とは無関係の様である。

謝辞：御校閲を戴きました山本哲郎先生（熊本大学医学部教授）に深謝いたします。

文 献

- 1) Susan TR: Fibrinogen (High KA, Roberts HR, eds): Molecular basis of Thrombosis and Hemostasis. New York, Marcel Dekker, Inc., 51-74, 1995.
- 2) Holmbäck K, Danton MJS, Suh TT, Daugherty CC, Degen JL: Impaired platelet aggregation and sustained bleeding in mice lacking the fibrinogen motif bound by integrin $\alpha_{11b}\beta_3$. : EMBO J 15 : 5760-5771, 1996.
- 3) Chao-Hong H, Harris JE, Chung DW, Davie EW : Characterization of the 5'-flanking region of the gene for the α chain of human fibrinogen. J Biol Chem 270 : 28342-28349, 1995.
- 4) Huber P, Laurent M, Dalmon J: Human beta-fibrinogen gene expression. Upstream sequences involved in its tissue specific expression and its dexamethasone and interleukin 6 stimulation. J Biol Chem 265 : 5695-5701, 1990.
- 5) Mizuguchi J, Chao-Hong H, Zhiyun C, Loeb KR, Chung DW, Davie EW : Characterization of the 5'-flanking region of the gene for the γ chain of human fibrinogen. J Biol Chem 270 : 28350-28356, 1995.
- 6) Huang S, Mulvihill ER, Farrell DH, Chung DW, Davie EW : Biosynthesis of human fibrinogen. Subunit interactions and potential intermediates in the assembly. J Biol Chem 268 : 8919-8926, 1993.
- 7) Roy SN, Procyk R, Kudryk BJ, Redman CM : Assembly and secretion of recombinant human fibrinogen. J Biol Chem 266 : 4758-4763, 1991.
- 8) Suh TT, Holmbäck K, Jensen NJ, Daugherty CC, Small K, Simon DI, Potter SS, Degen JL : Resolution of spontaneous bleeding events but failure of pregnancy in fibrinogen-deficient mice. Genes Dev, 9 : 2020-2033, 1995.
- 9) Sibilina M, Wagner EF : Strain-dependent epithelial defects in mice lacking the EGF receptor. : Science 269 : 234-238, 1996