



【日本血栓止血学会サイト お役立ちリンク集】

日本血栓止血学会サイトに掲載しているおすすめコンテンツのリンクをご紹介します。

- ・ [診療ガイドライン](#)
- ・ [研修医のお役立ち論文コンテンツ](#)
- ・ [用語集](#)

本編は次ページより掲載しております。

血小板の運命を司るクリアランス機構

齊藤 洋, 大森 司*

Mechanisms of clearance to control the fate of platelets

Hiroshi SAITOH, Tsukasa OHMORI



齊藤 洋

要約：止血反応，および血管内の統合性を保つために，生体では一日 10^{11} 個もの血小板が入れ替わる．巨核球は骨芽細胞性ニッチに存在する造血幹細胞から分化，成熟，増殖する．成熟した巨核球は血管性ニッチに移動し，細胞体の一部を血小板として放出する．血中の血小板は老化に伴い膜糖タンパク質の糖鎖が修飾され，肝細胞のガラクトース受容体 Ashwell-Morell receptor (AMR) や肝臓クッパー細胞のインテグリンにより除去される．AMR は血小板を除去するだけでなく，TPO 発現を亢進させ血小板産生シグナルを生み出す．さらに，血小板は無核の細胞にも関わらず，内在性のアポトーシス機構によって，その数を規定している．本総説では，最初に巨核球の分化・血小板産生のメカニズムを簡潔にまとめ，血小板クリアランス機構について近年の知見を中心に概説する．

Key words: thrombopoietin, stromal cell-derived factor-1, Ashwell-Morell receptor, desialylation

2010年

東京都保健医療公社東部地域
病院初期研修医

2012年

自治医科大学こども医療セン
ター後期研修医

2014年

地方独立行政法人小山市民病
院小児科

2016年

自治医科大学学生化学講座病態
生化学部門博士課程大学院生

1. はじめに

血小板は血管が破綻した際の一次止血反応に重要な血球である．血小板は，血中に約 $10 \sim 40$ 万/ μL の濃度で存在するが，1週間程度の寿命のため，血中の血小板数を維持するためには，1日に 10^{11} 個もの血小板が産生されなければならない．よって，血小板産生の破綻，または血小板寿命の短縮が，容易に血小板減少に繋がり出血傾向の原因となりうる．血小板が骨髄で造血幹細胞から巨核球分化を経て産生され，寿命を終えた血小板が網内系で排除されるという概念は知られているが，実際の血小板数は，より精巧な産生・排除機構によって調節されている．

2. 巨核球分化と血小板産生のメカニズム

骨芽細胞性ニッチに存在する造血幹細胞は巨核球前駆体，続いて多倍数性の成熟巨核球へと分化する．この過程は巨核球新生と呼ばれ，核内有糸分裂を伴う細胞周期を経て，染色体数の増加を伴い，細胞サイズが増大する¹⁾．成熟した巨核球は血管性ニッチに移動し，血管内へ血小板を放出する．骨芽細胞性ニッチ，血管性ニッチでの巨核球分化，および血小板産生はサイトカイン刺激などの液性因子，ならびに直接的な細胞接着により制御されている．

巨核球分化，増殖に最も重要なサイトカインはトロンボポイエチン (TPO) である．TPO は 1994 年にクローニングされたサイトカインで，主として肝臓細胞から産生されるが，骨髄間質細胞からも放出される¹⁾．この TPO は巨核球新生において，分化，増殖等多彩な機能を有する．巨核球新生には，液性因子としてケモカインである stromal cell-derived factor-1 (SDF-1) も重要である．血管性ニッチと骨芽細胞性

*責任者連絡先：

自治医科大学医学部生化学講座病態生化学部門
〒329-0498 栃木県下野市薬師寺 3311-1
Tel: 0285-58-7397, Fax: 0285-44-7817
E-mail: tohmori@jichi.ac.jp

ニッチ間の SDF-1、および酸素分圧の濃度勾配が、成熟巨核球の血管性ニッチへの遊走因子として機能する^{2,3)}。SDF-1 は巨核球の血管性ニッチへの主要な遊走因子として働くだけでなく、巨核球のインテグリン $\alpha_4\beta_1$ の発現を亢進させる。さらに、SDF-1 は巨核球表面の stem cell factor の発現を促進し、TPO と共に巨核球の成熟に寄与する^{4,5)}。

液性因子のみだけでなく、細胞接着も巨核球新生に重要である。骨芽細胞性ニッチにおいては 1 型コラーゲンが巨核球細胞表面のインテグリン $\alpha_2\beta_1$ を介した相互作用により、巨核球の成熟を阻害している¹⁾。一方、血管性ニッチにおいては、局所の von Willebrand 因子 (VWF) と巨核球上の GPIb/IX/V 複合体との会合が血小板産生に重要である¹⁾。また巨核球上のインテグリン $\alpha_4\beta_1$ と、そのリガンドであり類洞内皮細胞表面に存在する VCAM1 との結合により、巨核球が血管性ニッチに定着する^{1,6,7)}。ごく最近、巨核球細胞表面に発現する CLEC-2 は、その受容体であるポドプラニンを介し骨髓線維芽細胞様細胞を刺激し、CCL5 の分泌を促すことにより、巨核球の成熟を制御することが報告された⁸⁾。CLEC-2 は造血幹細胞を休止期に保つことで造血幹細胞を維持する機能も示されている⁹⁾。

成熟した巨核球細胞は血管性ニッチにおいて、類洞内皮細胞の間隙から血管内に細胞質の一部を胞体突起として伸長させ、一部を分離することにより血小板産生を行う。胞体突起は血小板前駆体 (proplatelets) と呼ばれ、分離されることで血小板となり、体循環に供給される¹⁰⁾。この巨核球からの血小板前駆体の産生には TPO や SDF-1 が重要である^{2,3)}。さらに、西村らは血小板前駆体を介さない血小板産生機構を明らかにした。炎症時などには急激な血小板増加が認められることがあるが、この急性炎症に伴う血小板産生には、IL-1 α が破裂型の血小板産生を引き起こすという¹¹⁾。

3. 血小板クリアランスのメカニズム

これまでは脾臓が、血小板クリアランスを担う主な臓器と考えられてきたが、近年では肝臓も血小板のクリアランスに大きな役割を演じていることが明らかとなっている。本章では、肝臓による血小板ク

リアランス機構として肝細胞上の Ashwell-Morell receptor (AMR) と Kupffer 細胞のインテグリン $\alpha_M\beta_2$ の重要性を述べ、無核の血小板寿命を規定するアポトーシスの機構、ならびに Fc 受容体を介したマクロファージによる貪食について概説する (図 1)。

1) 肝細胞 AMR による血小板クリアランス

肝細胞 AMR による血小板クリアランスには血小板膜糖タンパク質のシアル酸が鍵となる。AMR は肝細胞表面の膜貫通型糖タンパク質複合体であり、2 つの ASGPR1 と 1 つの ASGPR2 サブユニットから構成される。AMR は脱シアル酸化された糖タンパクの認識・結合・除去に関与する¹⁾。事実、ASGPR1 あるいは 2 欠損マウスでは脱シアル酸タンパクを結合しない¹⁾。血管性ニッチにおいて血小板前駆体から血小板が産生される際、血小板は細胞表面の GPIb/IX 複合体に、N-アセチル-D-グルコサミン (GlcNAc)、ガラクトース、シアル酸をこの順で外側に結合させた状態で血流に放出される (図 1)。シアル酸分解酵素である Neu 1 と Neu 3 はそれぞれ血小板顆粒、細胞膜に存在する¹²⁾。両者は GPIb α サブユニット上の glycan 上のシアル酸に親和性が高い。同酵素は血小板が老化した際にシアル酸分解に働く。すると、血小板膜糖タンパク質のシアル酸下に存在するガラクトース部分が露出し、肝細胞 AMR のリガンドとなりエンドサイトーシスによって血小板が除去される¹⁾。さらに、シアル酸転移酵素を欠損するマウスは AMR による血小板クリアランスが亢進し、血小板数が低下する^{13,14)}。敗血症時、または血小板の冷却により、シアル酸が減少し、肝細胞 AMR でのクリアランスが亢進することが、血小板減少や血小板寿命の短縮に結びつくとも推測されている¹³⁻¹⁷⁾。

AMR は脱シアル化された老化血小板を単に除去するだけでなく、細胞内シグナルを介して TPO の産生を制御している。脱シアル酸化された血小板が ASGPR1/2 に結合し、JAK2-STAT3 のチロシンリン酸化、STAT3 の核内への移動が起こり、TPO mRNA の発現を促進する^{18,19)}。この反応は IL-6 受容体と類似しており、AMR が直接 JAK/STAT 系の活性化を引き起こすか、IL-6 受容体の経路を必要とするかは未だ不明である。マウス肝細胞やヒト HepG2 細胞に JAK1/2 阻害剤を投与すると、TPO mRNA の発現、分泌が低下することが近年示された¹⁸⁾。JAK 阻害薬

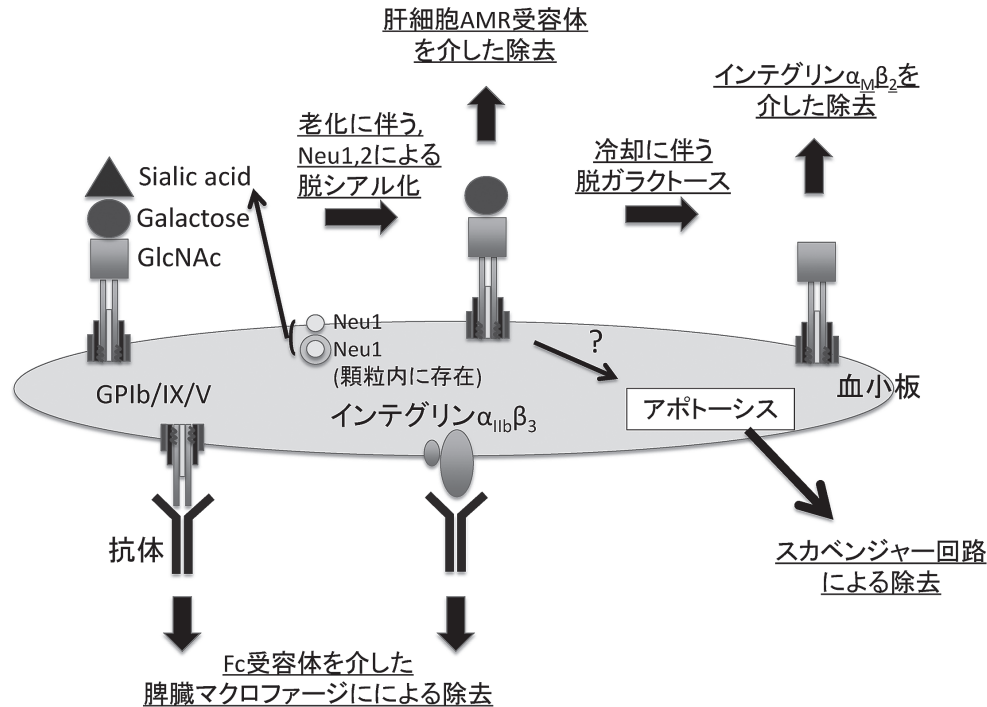


図1 血小板クリアランス

血小板老化に伴い、血小板糖タンパク質が脱シアル酸化を受ける。末端に露出されたガラクトースが肝細胞 AMR によって認識される。冷却刺激では、脱ガラクトースにより露出した N-アセチルグルコサミン (GlcNAc) がクッパー細胞上のインテグリン $\alpha_M\beta_2$ により認識される。免疫性血小板減少症 (ITP) では、抗体結合血小板が Fc 受容体を介し、マクロファージにより除去される (*Blood* 126: 1877-1884¹⁾ から引用・改変)。

の副作用に血小板数低下が知られているが¹⁾、これが肝臓 TPO mRNA 発現の抑制によるものかどうかは、今後の検討が必要である。

2) インテグリン $\alpha_M\beta_2$ による血小板クリアランス

AMR 以外の肝血小板クリアランスメカニズムとして肝臓クッパー細胞の重要性が報告されている。冷却刺激により、血小板はシアル酸除去に引き続きガラクトースが切断されると GlcNAc が露出する (図 1)。ガラクトースが露出した血小板は前述の機序で AMR のリガンドとなり除去される。一方、 β GlcNAc が露出した血小板はクッパー細胞上のインテグリン $\alpha_M\beta_2$ に認識され除去される^{15,20)}。血小板輸血製剤は赤血球と違い冷却保存ができない。これは、冷却血小板のクリアランスが極めて速いことによる。血小板を冷所保存すると、血小板細胞膜上の GPIb/IX/GPV の複合体の集簇が起こり、末端に β GlcNAc やガラクトースを持つ N-glycan の密度が GPIb α サブユニット上で上昇する。これが其々、インテグリン $\alpha_M\beta_2$

によるクッパー細胞、AMR を介した肝細胞で除去される。当初、インテグリン $\alpha_M\beta_2$ を介した血小板排除機構を抑制するために、ガラクトース添加による GlcNAc のガラクトシル化した血小板の臨床試験が行われたが、実際のクリアランス改善には至らなかった²¹⁾。これには上述の AMR による機序が働いているためと推測されている。

3) 血小板アポトーシス

無核の血小板においてもアポトーシス機構が血小板クリアランスに関与することが報告されている。アポトーシスには内因性と外因性の経路がある²²⁾ (図 2)。血小板では内因性アポトーシス経路が血小板寿命を規定する重要な経路である。内因性アポトーシスにおいては Bcl ファミリーが重要な役割を果たす。Bcl ファミリーは Bcl ホモロジーを少なくとも 1 つ以上持つタンパクで、主に 3 つに分類される。1) 内因性アポトーシスを促進する Bak-1 と Bax、2) アポトーシス抑制因子 (Bcl-2, Bcl-XL, Bcl2-LL2,

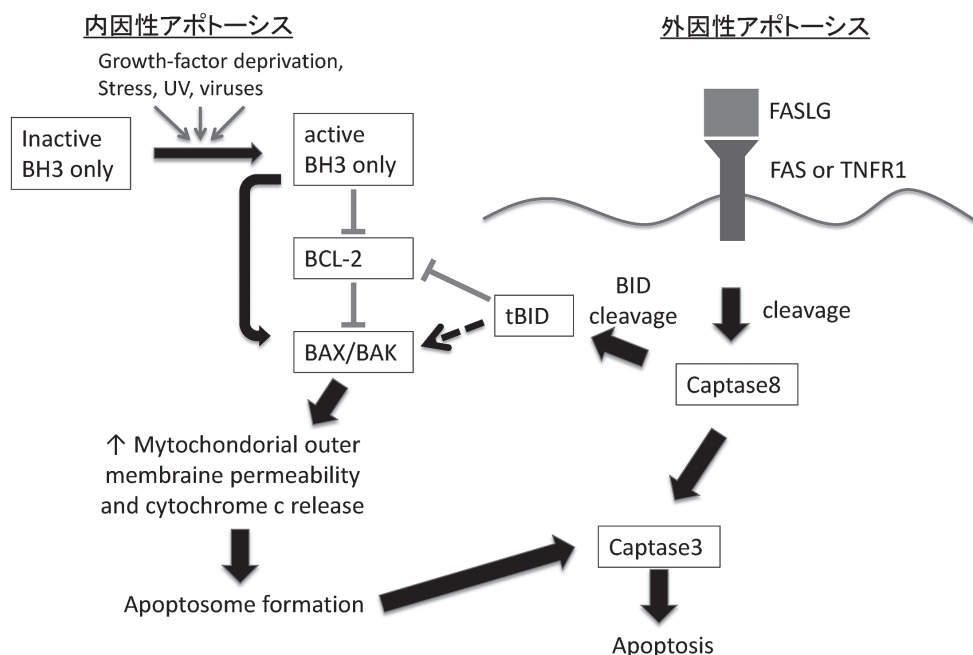


図2 アポトーシス回路

外因性アポトーシスは Fas リガンド (FasL) を介する。内因性アポトーシスは BH3 により Bax や Bak-1 を活性化し、アポトーシスを引き起こす。Bcl-2 を始めとするアポトーシス抑制因子はこれを抑制的に制御する。血小板においては内因性アポトーシス経路が重要な経路である (*Nature reviews Molecular cell biology* 9: 47–59²²⁾ から引用・改変)。

Mcl-1, Bcl2-A1), 3)BH3 である (図2)。通常では、Bcl-2 が Bak-1 と Bax を抑制し、血小板の生存が保たれる。Bak や Bax 欠損マウスでは血小板寿命が延長し、逆に Bcl-2, Bcl-XL, Mcl-1 欠損マウスでは血小板クリアランスが亢進した^{23–25)}。さらに、BH3 類似体である ABT-737 を投与すると血小板クリアランスが亢進する^{24, 25)}。これらの Bcl ファミリーが血小板表面のシアル酸を変化させ、血小板をクリアランスさせるかは分かっていない。

4) 免疫反応による血小板クリアランス機構

免疫性血小板減少症 (ITP: immune thrombocytopenia) の際に見られる血小板クリアランス機構である。ITP は、血小板特異的膜糖タンパク質である GPIIb/IIIa や GPIb/IX/V に対する自己抗体が生じることによる疾患である。抗体が結合した血小板は、脾臓においてマクロファージ Fc 受容体によって認識され、捕食される。しかし、GPIIb/IIIa 抗体を有する ITP とは対照的に、GPIb/IX/V 複合体に対する抗体を有する ITP では、免疫グロブリン大量療法による Fc 受容体のブロック、あるいは脾摘に対して治療効果が乏

しい場合がある。よって、Fc 受容体を介さない ITP 発症メカニズムがあることが推測されていた。最近、ある種の GPIIb 抗体が GPIIb サブユニット上の glycan の脱シアル酸化を引き起こし、これが肝細胞 AMR を介して血小板減少を引き起こす可能性が示された^{26, 27)}。脱シアル酸化の機序は未知であるが、GPIIb 抗体が結合すると血小板活性化後に活性型の Neu 1 や Neu 2 を分泌している可能性が高い¹²⁾。現行の ITP 治療に抵抗性を示す一部の症例においては、肝細胞 AMR の抑制が効果的な治療となるかもしれない。

4. おわりに

「血小板の誕生と死」というテーマの中で、血小板クリアランスメカニズムを中心に概説した。近年、新たな血小板クリアランス機序として、肝細胞 AMR を介する除去等が明らかになったものの、その調節メカニズム、あるいは相互作用の詳細に関しては解明されていない点が多い。例えば、脱シアル化血小

板による AMR 刺激によって ASGPR が JAK を直接活性化するのか、内因性アポトーシスにおいて、Bcl ファミリーのメンバーが血小板糖タンパク質のシアル酸を変化させるのか、アポトーシスに陥った血小板がどこで除去されるか、はとくに興味深い点である。また、血小板産生のメカニズムと、これらの血小板クリアランスのプロセスがどのように相互作用して、何を指標に、止血に必要な血小板数を至適な範囲に保つのかといった点についても、今後の解明が待たれる。

著者の利益相反(COI)の開示：

大森 司：委託研究費(バイエル薬品株式会社)

齊藤 洋：本論文発表内容に関連して開示すべき企業との利益相反なし

文献

- Grozovsky R, Giannini S, Falet H, Hoffmeister KM: Regulating billions of blood platelets: glycans and beyond. *Blood* **126**: 1877–1884, 2015.
- Chen Z, Naveiras O, Balduini A, Mammoto A, Conti MA, Adelstein RS, Ingber D, Daley GQ, Shivdasani RA: The May-Hegglin anomaly gene MYH9 is a negative regulator of platelet biogenesis modulated by the Rho-ROCK pathway. *Blood* **110**: 171–179, 2007.
- Chang Y, Auradé F, Larbret F, Zhang Y, Le Couedic JP, Momeux L, Larghero J, Bertoglio J, Louache F, Cramer E, Vainchenker W, Debili N: Proplatelet formation is regulated by the Rho/ROCK pathway. *Blood* **109**: 4229–4236, 2007.
- Broudy VC, Lin NL, Kaushansky K: Thrombopoietin (c-mpl ligand) acts synergistically with erythropoietin, stem cell factor, and interleukin-11 to enhance murine megakaryocyte colony growth and increases megakaryocyte ploidy in vitro. *Blood* **85**: 1719–1726, 1995.
- Broudy VC: Stem cell factor and hematopoiesis. *Blood* **90**: 1345–1364, 1997.
- Avraham H, Cowley S, Chi SY, Jiang S, Groopman JE: Characterization of adhesive interactions between human endothelial cells and megakaryocytes. *J Clin Invest* **91**: 2378–2384, 1993.
- Fox NE, Kaushansky K: Engagement of integrin $\alpha 4\beta 1$ enhances thrombopoietin-induced megakaryopoiesis. *Exp Hematol* **33**: 94–99, 2005.
- Tamura S, Suzuki-Inoue K, Tsukiji N, Shirai T, Sasaki T, Osada M, Satoh K, Ozaki Y: Podoplanin-positive periaarteriolar stromal cells promote megakaryocyte growth and proplatelet formation in mice by CLEC-2. *Blood* **127**: 1701–1710, 2016.
- Nakamura-Ishizu A, Takubo K, Kobayashi H, Suzuki-Inoue K, Suda T: CLEC-2 in megakaryocytes is critical for maintenance of hematopoietic stem cells in the bone marrow. *J Exp Med* **212**: 2133–2146, 2015.
- Junt T, Schulze H, Chen Z, Massberg S, Goerge T, Krueger A, Wagner DD, Graf T, Italiano JE, Shivdasani RA, von Andrian UH: Dynamic visualization of thrombopoiesis within bone marrow. *Science* **317**: 1767–1770, 2007.
- Nishimura S, Nagasaki M, Kunishima S, Sawaguchi A, Sakata A, Sakaguchi H, Ohmori T, Manabe I, Italiano JE, Ryu T, Takayama N, Komuro I, Kadowaki T, Eto K, Nagai R: IL-1 α induces thrombopoiesis through megakaryocyte rupture in response to acute platelet needs. *J Cell Biol* **209**: 453–466, 2015.
- Jansen AJ, Josefsson EC, Rumjantseva V, Liu QP, Falet H, Bergmeier W, Cifuni SM, Sackstein R, von Andrian UH, Wagner DD, Hartwig JH, Hoffmeister KM: Desialylation accelerates platelet clearance after refrigeration and initiates GPIIb α metalloproteinase-mediated cleavage in mice. *Blood* **119**: 1263–1273, 2012.
- Sørensen AL, Rumjantseva V, Nayeb-Hashemi S, Clausen H, Hartwig JH, Wandall HH, Hoffmeister KM: Role of sialic acid for platelet life span: exposure of beta-galactose results in the rapid clearance of platelets from the circulation by asialoglycoprotein receptor-expressing liver macrophages and hepatocytes. *Blood* **114**: 1645–1654, 2009.
- Grewal PK, Uchiyama S, Ditto D, Varki N, Le DT, Nizet V, Marth JD: The Ashwell receptor mitigates the lethal coagulopathy of sepsis. *Nat Med* **14**: 648–655, 2008.
- Rumjantseva V, Grewal PK, Wandall HH, Josefsson EC, Sørensen AL, Larson G, Marth JD, Hartwig JH, Hoffmeister KM: Dual roles for hepatic lectin receptors in the clearance of chilled platelets. *Nat Med* **15**: 1273–1280, 2009.
- Grewal PK, Aziz PV, Uchiyama S, Rubio GR, Lardone RD, Le D, Varki NM, Nizet V, Marth JD: Inducing host protection in pneumococcal sepsis by preactivation of the Ashwell-Morell receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* **110**: 20218–20223, 2013.
- Grewal PK: The Ashwell-Morell receptor. *Meth Enzymol* **479**: 223–241, 2010.
- Grozovsky R, Begonja AJ, Liu K, Visner G, Hartwig JH, Falet H, Hoffmeister KM: The Ashwell-Morell receptor regulates hepatic thrombopoietin production via JAK2-STAT3 signaling. *Nat Med* **21**: 47–54, 2015.
- Eulenfeld R, Dittrich A, Khouri C, Müller PJ, Mütze B, Wolf A, Schaper F: Interleukin-6 signalling: more than Jaks and STATs. *Eur J Cell Biol* **91**: 486–495, 2012.
- Hoffmeister KM, Felbinger TW, Falet H, Denis CV, Bergmeier W, Mayadas TN, von Andrian UH, Wagner DD, Stossel TP, Hartwig JH: The clearance mechanism of chilled blood platelets. *Cell* **112**: 87–97, 2003.
- Wandall HH, Hoffmeister KM, Sørensen AL, Rumjantseva V, Clausen H, Hartwig JH, Slichter SJ: Galactosylation does not prevent the rapid clearance of long-term, 4 degrees C-stored platelets. *Blood* **111**: 3249–3256, 2008.
- Youle RJ, Strasser A: The BCL-2 protein family: opposing activities that mediate cell death. *Nat Rev Mol Cell Biol* **9**: 47–59, 2008.
- Mason KD, Carpinelli MR, Fletcher JI, Collinge JE, Hilton AA, Ellis S, Kelly PN, Ekert PG, Metcalf D, Roberts AW, Huang DC, Kile BT: Programmed anuclear cell death delimits platelet life span. *Cell* **128**: 1173–1186, 2007.

-
- 24) Josefsson EC, James C, Henley KJ, Debrincat MA, Rogers KL, Dowling MR, White MJ, Kruse EA, Lane RM, Ellis S, Nurden P, Mason KD, O'Reilly LA, Roberts AW, Metcalf D, Huang DC, Kile BT: Megakaryocytes possess a functional intrinsic apoptosis pathway that must be restrained to survive and produce platelets. *J Exp Med* **208**: 2017–2031, 2011.
- 25) Debrincat MA, Josefsson EC, James C, Henley KJ, Ellis S, Lebois M, Betterman KL, Lane RM, Rogers KL, White MJ, Roberts AW, Harvey NL, Metcalf D, Kile BT: Mcl-1 and Bcl-x(L) coordinately regulate megakaryocyte survival. *Blood* **119**: 5850–5858, 2012.
- 26) Li J, van der Wal DE, Zhu G, Xu M, Yougbare I, Ma L, Vadasz B, Carrim N, Grozovsky R, Ruan M, Zhu L, Zeng Q, Tao L, Zhai ZM, Peng J, Hou M, Leytin V, Freedman J, Hoffmeister KM, Ni H: Desialylation is a mechanism of Fc-independent platelet clearance and a therapeutic target in immune thrombocytopenia. *Nat Commun* **6**: 7737, 2015.
- 27) Li J, Callum JL, Lin Y, Zhou Y, Zhu G, Ni H: Severe platelet desialylation in a patient with glycoprotein Ib/IX antibody-mediated immune thrombocytopenia and fatal pulmonary hemorrhage. *Haematologica* **99**: e61–63, 2014.