

血管内皮細胞機能と微小循環

丸山 征郎*

はじめに — Endotheliology という新しいパラダイムの誕生 —

血管内皮細胞は多彩な機能を有した多機能性の細胞であることが判明してきて、Endotheliologyなる学問ジャンルを形成しつつある。これらで注目されているのは、内皮細胞と血栓症、動脈硬化の発生、炎症・免疫、癌の転移、血管新生、DIC/MOF/SIRS、ショックなどとの関連であり、これらが内皮細胞を反応の「場」とした病態であるという視点が開けつつある。

この内皮細胞を病態との関連で考える場合に重要な視点は、

- 1) 内皮細胞が実に多彩な機能を有しているという事実 (多機能性),
- 2) そしてその形態も機能も各臓器毎に異なっているということ (臓器間相違性),
- 3) その在り様が決して静的なものではなく、ダイナミックに変化するということ (流動性)
- 4) 血球や血管平滑筋細胞などと相互に関連している (細胞間クロストーク), 等ということである。言い換えれば内皮細胞は血液との始終接している「接点」— active interface — として、互いに制御しあっているのである。従って内皮細胞の活性化 (activation/perturbation), あるいは障害 (dysfunction/injury) は血栓症や動脈硬化のみならず、種々の病態に深く関係してくる¹⁾。

ここではこの生体の諸システムに重要な連関を有する内皮細胞の機能について先ず概説し、ついでそれと微小循環の関係について述べる。

血管内皮細胞機能の鳥瞰図—この多彩な機能—

血管内皮細胞は循環、血栓・止血、炎症・免疫、血管新生などの生体諸反応とその制御に深く関与する多機能性の細胞である²⁾。

これらについて以下に詳述する。

- 1) 血管内皮細胞による凝固・線溶、血小板の制御³⁾

このなかで血液凝固・線溶、血小板機能との相関に関するものは表1に示した通りである。すなわち、血管内皮細胞は凝固・線溶、血小板に対して相反する活性の機能を有しており、生理的には抗血栓的なベクトルを発揮し血液の円滑な循環に働いている。この血管内皮細胞の抗血栓を図1にシェーマにして示した。

- 2) 血管内皮細胞は生理的には抗血栓的である^{2,3)}

生理的には内皮細胞はPGI₂, NO (nitric oxide, 一酸化窒素) を産生放出し、血管弛緩性、血小板凝集抑制的に作用する。凝固カスケードに対してもこれを制御する (図1)。すなわち内皮細胞はヘパリン様物質を合成しこれが内皮細胞表面に存在し、これにアンチトロンビンⅢ (ATⅢ) が結合している⁴⁾。このヘパリン-ATⅢ複合体はトロンビンを始めとする活性化凝固因子を即時的に阻害する。しかし組織因子に対しては阻害活性がなく、この外因系を制御するのが tissue factor pathway inhibitor (TFPI) である⁵⁾。

これらをあと少し詳しく述べる。

- ① Endothelial thrombomodulin/protein C・protein S system^{6,7)}

血管内での抗血栓活性で重要な役割を果たすのは、トロンボモジュリン (thrombomodulin, TM) である。トロンビンはTMに結合すると、もはや

*鹿児島大学医学部臨床検査医学

表1 血管内皮細胞の二面性 —抗血栓活性と血栓形成活性—

I. 抗血栓活性 (antithrombogenic activity)	II. 血栓形成活性 (thrombogenic activity)
1. Antithrombin 活性 1) Heparin 様分子・AT III 2) <u>Protease-Nexin</u> 3) TFPI 2. Anticoagulant 活性 1) TM 2) protein S 結合 3. Profibrinolytic 活性 1) t-PA 産生, 放出 2) Plasminogen 結合 4. Anti-platelet 活性 1) <u>PGI₂</u> の合成, 放出 2) <u>EDRF</u> の合成, 放出 5. 血管拡張活性 1) <u>PGI₂</u> の合成, 放出 2) <u>EDRF</u> の合成, 放出 6. その他 静電的の反応, ATPase 活性, α ₂ M の結合	1. Procoagulant 活性 1) Prothrombinase F. Xa, IXa, Va, fibrinagen の結合 2) Tissue factor の合成, 放出 2. Anti-fibrinolytic 活性 PAI-1 の合成, 放出 3. Platelet activating 活性 <u>PAF</u> の合成, 放出 4. 血管収縮活性 Endothelin の合成, 放出 5. その他 <u>Thrombospondin</u> , <u>fibronectin</u> の合成 <u>Thrombin receptor</u>
	※下線: 血小板機能にかかわる因子

AT III : antithrombin III
 TM : thrombomodulin
 t-PA : tissue-type plasminogen activator
 EDRF : endothelium-derived relaxing factor
 (本態は NO)

α₂M : α₂-macroglobulin
 PAI-1 : plasminogen activator inhibitor-1
 PAF : platelet activating factor
 TFPI : Tissue factor pathway inhibitor

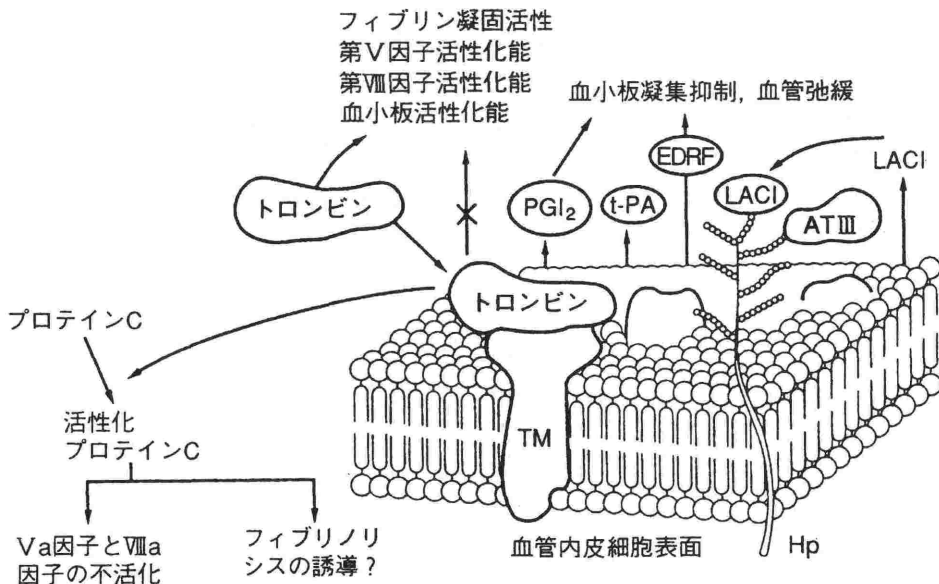


図1 血管内皮細胞の抗血栓性

TM: トロンボモジュリン, t-PA: 組織プラスミノゲンアクチベーター, Hp: ヘパリン様分子, ATIII: アンチトロンビンIII, EDRF: 内皮細胞由来平滑筋弛緩因子, LACI: lipoprotein associated coagulation inhibitor (今は TFPI と呼ぶ)

フィブリノゲン, 第V, VIII因子, 血小板を活性化
する能力を失い, 逆に protein C の活性化能が約
2000も強まる^{6,7)}. 活性化プロテインCはプロテ
インS存在下に活性化第V, VIII因子を水解し凝
固を制御する(図2). このようにTM/プロテイン
C-S systemは血管内皮細胞上で凝固を制御し,
血管内での抗血栓活性に大きな役割を果たして
いる.

TMの構造は図3に示したが⁸⁾, このうち機能
最小単位は4, 5, 6番目のEGF-like structure
である⁹⁾.

TMは1内皮細胞当たり, 5万-6万個存在す
るが¹⁰⁾, 炎症性サイトカイン(IL-1, TNF)¹¹⁾,
エンドトキシン(LPS)によってダウンレギュレ
ーションされる. これらは感染症, 悪性腫瘍など
の際の血栓傾向や易DICの病態の基礎を与える.

② 外因系の制御

外因系のイニシエーターである組織因子
(tissue factor, TF)は血管外の細胞すなわち血管
壁の平滑筋細胞, 線維芽細胞, 脳組織などには構
成的に発現しているが, 血管内皮細胞や血管内の
細胞には通常は発現しておらず, 遺伝子の5'側

には κ B, AP-1 siteが存在し, TF発現のシグナ
ル伝達はNF κ Bを経ているため, 炎症性サイト
カインやエンドトキシンなどで誘導されて発現し
てくる¹²⁾. 従って活性化単球, マクロファージで
は発現している. また白血病細胞, 固形癌など
にも強く発現しているものもある. これも重症感
染症や悪性腫瘍時のDICの基礎病態を説明する
ものである. TFの発現はIL-4, IL-10や細胞内
cAMP濃度を上昇させるとダウンレギュレートさ
れる¹³⁾. このTFを制御するのがTFPIである.
すなわちTFPIはF.Xa因子存在下にF.VIIa, 組織
因子と複合体を形成し, 組織因子, F.VIIaを阻害
する. このTFPIも内皮細胞で産生され, 一部は
フリーの形で, 一部は内皮細胞上のヘパリン様
分子に, 一部は血中のリポプロテインと結合して
いる¹⁴⁾.

③ NO system: ガスによる血管制御

血管内皮細胞はNO(EDRF)を産生, 放出す
る. NOはL-arginineからNO合成酵素(NO
synthase. NOS)によって産生される. NOSには
通常の生理的条件下で発現しているconstitu
tive NOSと炎症性サイトカイン刺激やLPS刺激時
に誘導されて発現してくるinducible NOS(iNOS)
があるが, 血管内皮細胞に発現しているのは内
皮型NOS(eNOS)であり, これはcNOSの一種で
ある. iNOSはマクロファージ, 白血球, 血管平
滑筋細胞に発現し, ショックや, SIRS, 多臓器
不全の発生のメディエーターとなる. NOはガス
であるため, 受容体を必要とせず, 拡散で標的
細胞の膜を通過し, 細胞内グアニール酸シクラ
ゼを活性化しcGNPを増加させ, 血管平滑筋の
場合はこれを弛緩させる. 血小板の場合は活
性化を抑制する.

cNOSのプロモーター領域にはズリ応力を感知
するshear stress responsive element(SSRE),
estrogen receptor binding element(ERBE),
サイトカインに対するresponsive element
であるg-IRE, H-APE-1, NF-IL6などが存在
する. SSREが存在するため, 血管内皮細胞に
かかるズリ応力が強くなると, 自動的にNOが
産生, 放出され, 血管が弛緩する仕組みとな
っている.

3) 微小循環系は活性化凝固因子類のクリア
ランスフィルターとして機能する

生体の循環系のなかで, 最大の表面積を占める

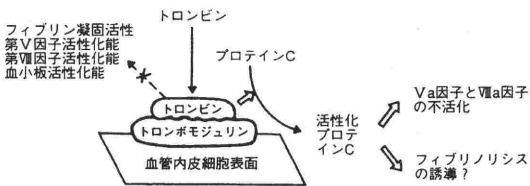


図2 血管内皮細胞上の thrombomodulin の機能

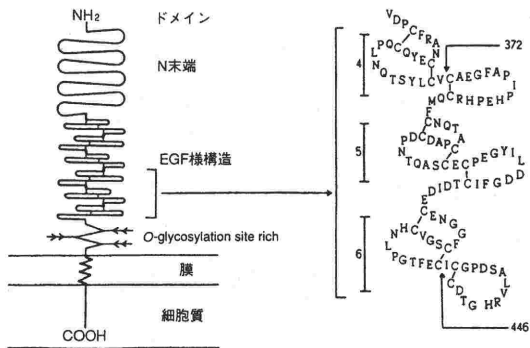


図3 トロンボモジュリンの構造

のは微小循環系である。この微小循環系ではそこを流れる血液容積 (V) に対する内皮細胞の面積 (S) の比 (S/V) が大きいいため、逆に言えば内皮細胞の血液に対する制御が最大となるところでもある。先に述べたように、血管内皮細胞上にはヘパリン様分子-ATⅢが存在し、これはトロンビンや活性型凝固因子と不可逆的複合体を形成し、これらの因子の除去をする。ATⅢとトロンビンの複合体はトロンビン-ATⅢ complex (TAT) とよばれ、生体内でのトロンビン生成 (凝固亢進状態) のよき分子マーカーとなる。TAT はマクロファージ、単球、肝臓に発現した受容体を介し、クリアーされる。また内皮細胞上には TM があり、これはトロンビンをキャッチし、PC を活性化する。また微小循環系ではエンドトキシンなども除去される。このように微小循環系への血栓的ペクトルの入力も、抗血栓的な出力となる。従ってもし微小循環系の機能が損なわれると、DIC (播種性血管内凝固症候群) などが進行することになる (図 4)。

内皮細胞の活性化とトロンビン受容体

1) シグナル伝達型トロンビン受容体-その構造と機能-

内皮細胞上にはトロンビンを抗凝固酵素へと交換する TM が存在するが、最近 TM とは全く逆のシグナル伝達型のトロンビン受容体 (TR) がクローニングされた¹⁵⁾。この TR は図 5 に示すように膜を 7 回貫通した G 蛋白共役型であるが、非常にユニークな点は細胞外の N 末端部をトロンビンが限定分解すると、新たに露出してきた N

末端部位が自分自身を刺激しシグナルを伝達するというものである。この受容体を介しトロンビンは血小板凝集、放出反応、内皮細胞を活性化し、t-PA インヒビターの PAI-1, エンドセリン, platelet activating factor (PAF) などの産生、放出を促進し、通常は発現していない組織因子を発現させ、また TM はダウンレギュレーションされる¹⁶⁾。このようにトロンビン/TR からのシグナルは内皮細胞を抗血栓から血栓的へとペクトルを変換することを著者らは明らかにした。

2) TR からのシグナル伝達経路¹⁷⁾

著者らは TR からのシグナルは種々のキナーゼを活性化を経て、NFκB を活性化し、種々の遺伝子を発現させることを証明した (図 6)。すなわちトロンビン/TR こそ内皮細胞を活性化する経路である。

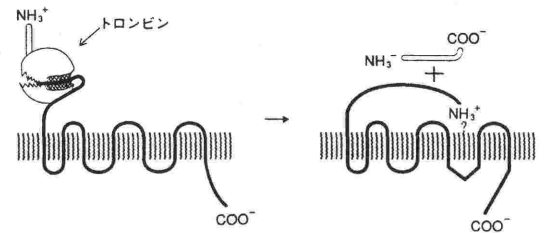


図 5 トロンビンリセプター

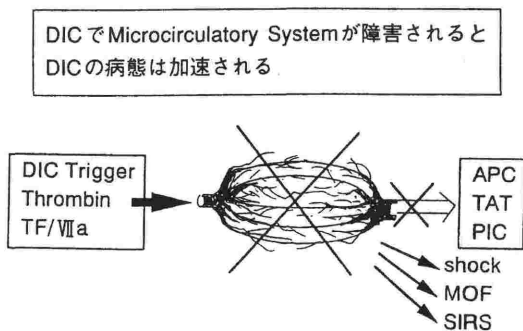


図 4 微小循環システム

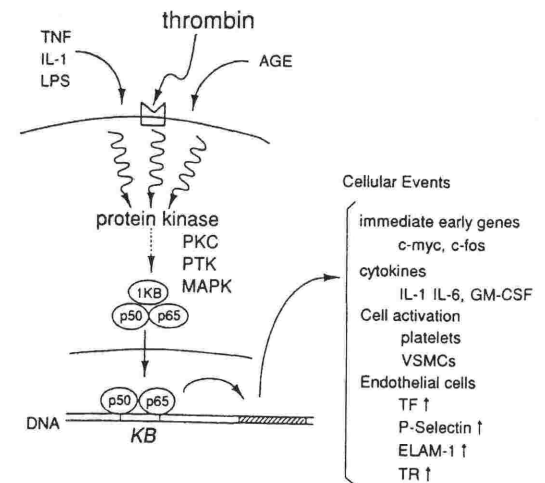


図 6 トロンビン-トロンビン受容体を介するシグナル伝達と NF-κB の活性化

第3の coagulation cascade pathway ?

周知の如く凝固カスケードには内因系と組織因子-第Ⅶ因子から開始される外因系がある。最近マクロファージなどの表面のインテグリンである Mac-1 (CD11b/CD18) に第 X 因子が結合し、細胞表面で活性化されることが判明した¹⁸⁾。これらの細胞表面には X a 因子の受容体 (effector cell protease receptor-1, EPR-1) もクローニングされた¹⁹⁾。この X a はこれらの細胞に対し、mitogen として働く可能性が指摘されている。このマクロファージ細胞表面での第 X 因子の活性化は、従来の2つの凝固 pathway とはまた別の凝固系があることを示唆しており、今後の展望が期待される。

血管内皮細胞の活性化, モジュレーション, 障害と病態

一方内皮細胞はこれと逆に表1に示したように向血栓的 (procoagulant) な機能を有している。生理的条件下では抗血栓活性の方が優位であるが、内皮細胞をトロンビンや炎症性サイトカイン (IL-1, TNF) エンドトキシン, サイクロスポリンなどで刺激すると、向血栓的 (procoagulant) なベクトルが優位となってくる。

これらは播種性血管内凝固症候群 (DIC) や感染症, 悪性腫瘍等の際の易血栓性の基礎病態になっているものと想定される。エンドトキシンは血液中では結合蛋白と結合し、その受容体 CD14 と結合すると、内皮細胞を活性化し、TM のダウンレギュレーション, 組織因子, サイトカインなどの発現, その他種々の細胞応答を惹起する。産生された TNF, IL-1 は再び内皮細胞を標的とし、これを活性化、さらには perturb (騒乱) する。

内皮細胞の全身的な活性化は NO 産生過剰, 抗血栓活性の低下, 微小循環不全を惹起し多臓器不全 (MOF) の原因となる。このうち何らかの炎症性起点で広範な内皮細胞の活性化によりもたらされる疾患概念は最近 systemic inflammatory response syndrome (SIRS) とよばれ注目されている。

内皮細胞障害のマーカー: soluble TM

このように内皮細胞の障害あるいは活性化は生体の諸病態に深く関係するため、それを把握することが必要とされてきた。その指標となるものは

GMP-140 (P-selectin), フォンビレブランド因子, t-PA inhibitor の PAI-1 である。

TM は種々な刺激, 白血球由来のプロテアーゼなどで部分的に分解されて細胞外部分が血液中に遊離してくる (soluble TM, すなわち sTM と略す)。正常の尿, 血漿中にも sTM が存在する。現在までのところアンギオパティー (血管症) をともなう糖尿病, DIC (播種性血管内凝固症候群), 成人呼吸窮迫症候群 (adult respiratory distress syndrome) などで上昇することが報告されている。しかし sTM は尿より排泄されるので、腎機能の影響を受け、クレアチニンクリアランスが低下すると血液中の sTM は上昇するので評価には注意を要する。

おわりに

内皮細胞は体重70kgの男の場合には約1kgにもおよぶといわれ、ある意味では生体内でも最も大きな臓器の一つと言い得る。この内皮細胞が実は多彩な機能を有し、生理的には血管トーン、循環、止血 (血栓), 免疫, 血管新生に深く関与することが判明してきたのはごく最近のことである。この意味で内皮細胞という「臓器」の機能や障害を把握することは今後極めて重要な領域となることが予想される。今後の発展が期待される領域である。

文 献

- 1) Bone RC : Toward an epidemiology and natural history of SIRS (systemic inflammatory response syndrome). JAMA 268 : 3452-3455, 1992
- 2) 丸山征郎 : 血管機能とその検査. 日内会誌 80 : 839-843, 1991
- 3) Maruyama I : Thrombomodulin, an endothelial anticoagulant; Its structure, function and expression. Jpn Circ J 56 : 187-191
- 4) Marcum JA, Rosenberg RD : Heparin-like molecules with anticoagulant activity are synthesized by cultured endothelial cell. Biochem Biophys Res Commun 126 : 365, 1985
- 5) Bajaj MS : Cultured normal human hepatocytes do not synthesize lipoprotein-associated coagulation inhibitor : Evidence that endothelium is the principal site of its synthesis. Proc Natl Acad Sci 87 : 8869-8873, 1990
- 6) Esmon CT : Thrombomodulin as a model of molecular mechanism that modulate protease specificity and function at the vessel surface. FASEB J 9 : 946-955, 1995
- 7) Maruyama I, Bell CE, Majerus PW : Thrombomodulin is found on endothelium of arteries, veins, capillaries, and

- lymphatics, and on syncytiotrophoblast of human placenta. *J Cell-Biol* 101 : 363-371, 1985
- 8) Suzuki K, Kusumoto H, Deyashiki Y, et al : Structure and expression of human thrombomodulin, a thrombin receptor on endothelium acting as a cofactor for thrombin binding and for protein C activation. *EMBO J* 6 : 1891-1897, 1987
 - 9) Zushi M, Gomi K, Yamamoto S, et al : The last three consecutive epidermal growth factor-like structures of human thrombomodulin comprise the minimum functional domain for protein C-activating co-factor activity and anti-coagulant activity. *J Biol Chem* 264 : 10351-10353, 1989
 - 10) Maruyama I, Majerus PW : The turnover of thrombin-thrombomodulin complex in cultured human umbilical vein endothelial cells and A549 lung cancer cell : Endocytosis and degradation of thrombin. *J Biol Chem* 260 : 15432-15438, 1985
 - 11) Nawroth PP, Stern DM : Modulation of endothelial cell hemostatic properties by tumor necrosis factor. *J Exp Med* 163 : 740-745, 1986
 - 12) Fei H, Berliner JA, Parhami F : Regulation of endothelial cell tissue factor expression by minimally oxidized low density lipoprotein and lipopolysaccharide. *Arterioscle Thromb* 13 : 1711-1717, 1995
 - 13) Ollivier V, Houssaye S, Terniseien C, et al : Endotoxin-induced tissue factor messenger RNA in human monocytes is negatively regulated by a cyclic AMP-dependent mechanism. *Blood* 81 : 973-979, 1993
 - 14) 加藤久雄 : リポタンパク質結合性プロテアーゼインヒビター. *Annual Review 血液* 1992. 中外医学社, 1992, pp. 105
 - 15) Vu TH, Hung DT, Wheaton VI, et al : Molecular cloning of a functional thrombin receptor reveals a novel proteolytic mechanism of receptor activation. *Cell* 64 : 1057-1068, 1991
 - 16) Maruyama Y, Maruyama I, Soejima Y : Thrombin receptor agonist peptide decreases thrombomodulin activity in cultured human umbilical vein endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 199 : 1262-1269, 1994
 - 17) Nakajima T, Kitajima I, Shin H, et al : Involvement of $\text{NF-}\kappa\text{B}$ activation in thrombin-induced human vascular smooth muscle cell proliferation. *Biochem Biophys Res Commun* 204 : 950-955, 1994
 - 18) Altieri DC : Coagulation assembly on leukocytes in transmembrane signaling and cell adhesion. *Blood* 81 : 569-579, 1993
 - 19) Altieri DC : Molecular cloning of effector cell protease receptor-1, a novel cell surface receptor for the protease factor Xa. *J Biol Chem* 269 : 3139-3142, 1994