

# 遊離型外因系凝固インヒビターおよびプラスミノゲンアクチベーターインヒビター1の動脈硬化指標としての有用性とその性差：吹田研究

阪田 敏 幸\*, 宮田 茂 樹\*\*, 岡本 章\*,  
 万波 俊 文\*\*\*, 小久保 喜 弘\*\*\*, 加藤 久 雄\*\*\*\*,  
 宮田 敏 行\*\*\*\*

キーワード：遊離型外因系凝固インヒビター，プラスミノゲンアクチベーターインヒビター1，動脈硬化，内膜中膜複合体，性差

## はじめに

動脈硬化の進行度を把握することは、動脈硬化性疾患の発症予防や治療において重要な課題である。頸動脈の内膜中膜肥厚 (Intimal-medial thickness: IMT) は、全身の動脈硬化の進行を評価する有用な指標と考えられている<sup>1-3)</sup>。これまでに IMT と凝固線溶系あるいは血管内皮細胞傷害マーカーとの関連性が検討されてきたが動脈硬化の進行した心血管系疾患発症者を対象とした case control study であり<sup>4,5)</sup>、動脈硬化の初期における IMT と血管内皮細胞傷害マーカーとの関連性についての検討は少ない。今回は、吹田研究における心血管系疾患未発症者を対象とし、IMT と血管内皮細胞傷害マーカーである遊離型外因系凝固インヒビター (free form tissue factor pathway inhibitor: free TFPI) およびプラスミノゲンアクチベーターインヒビター-1 (plasminogen activator inhibitor-1: PAI-1) との関連性を男女別に調べ、それらの関係に性差が存在することを見出し<sup>6)</sup>、その原因について若干の考察を加えた。

## 吹田研究の概略

吹田研究は、1989年に都市部近郊である大阪府吹田市の住民を対象として始まったコホート研究である<sup>7-9)</sup>。住民台帳から30歳から70歳まで10代毎に男女別に無作為に抽出し、郵送で案内状を送付し当センターにて検診を行うシステムである。2年を1サイクルとし、当初14200人を抽出したなかで、約半数の7347名が検診を受診し、現在では2年間で約4500人がリピーターとして来院している。日本の他のコホート研究が農村あるいは漁村等の在住者を対象者とするのに対し、生活習慣や意識等が欧米に近い都市部近郊在住者を対象者としている点が吹田研究の特徴であり、また検診受診者自らが来院して検診を受診することも他のコホート研究と異なる。吹田研究における血液凝固線溶関連因子の研究は1998年8月から開始され、血液凝固線溶関連因子の測定は、全て当センターの特定の技師によって行われた。

## IMT, free TFPI, PAI-1の測定

### A. IMTの測定

IMTは、全身の動脈硬化の進行を評価する指標としてだけではなく、冠動脈の動脈硬化度や冠動脈疾患の有無を評価する指標としても有用とされている<sup>10,11)</sup>。本研究では吹田研究の検診受診者で心血管系疾患の既往のない522名[男性245人(平均年齢62歳)、女性277人(平均年齢59歳)]を対象とし、B-mode頸動脈エコー検査により頸動脈の

\*国立循環器病センター臨床検査部

\*\*同 輸血管理室

\*\*\*同 予防検診部

\*\*\*\*同 研究所病因部

起始部から10mm近位地点の両側(nearとfar)幅を測定し、その平均をIMT値とした。

## B. free TFPIの測定

TFPIは3つのKunitz型阻害領域(K1, K2, K3)とアミノ末端側の酸性領域、カルボキシル末端側の塩基性領域からなり、活性型第VII因子と活性型第X因子を阻害することにより外因系血液凝固反応を阻害する。TFPIは主に血管内皮細胞で産生され、細胞表面上にGlycoprotein Iアンカー型蛋白質やヘパラン硫酸プロテオグリカンと結合した状態で存在する<sup>12)</sup>。この血管内皮結合型TFPIは血管内に存在する総TFPI量の50~80%に相当する。血漿中では遊離型TFPI(free TFPI)とLDLやHDLなどに結合したリポ蛋白質結合型TFPI(Lp-TFPI)が約3:7の割合で存在し、その比率は血管内総TFPI量の10~50%に相当する。また、僅か(<10%)ではあるが血小板中にもその存在が知られている。これまでの研究から血漿中のfree TFPI濃度は血管内皮結合型TFPI量と正相関があり<sup>13)</sup>、血管内皮傷害マーカーである血漿トロンボモジュリン濃度やvon Willbrand factor(vWF)濃度とも強い相関があることが知られている<sup>14)</sup>。本研究においては、上記のIMT測定対象者522名について血漿中のfree TFPI濃度を化学及血清療法研究所のキットで測定した。

## C. PAI-1の測定

PAI-1は血管内皮細胞で産生される379個のアミノ酸で構成される分子量48,000の一本鎖糖蛋白質である。血中でのPAI-1はビトロネクチンとの結合によりその活性型を維持し、組織プラスミノゲンアクチベーター(tissue plasminogen activator: t-PA)を阻害することにより線溶活性を制御する。また、活性のない潜在型(latent form)やt-PAとの複合体(t-PA・PAI-1 complex)としても存在する。即ち、PAI-1はactive form, latent form, complex formの3つの存在様式で存在し、血液全体に占める血漿中PAI-1量は僅か5~10%で、その大部分は血小板中に存在し、その活性化により放出される。本研究では、上記のIMT測定対象者522名について血漿中の全てのPAI-1量を三菱化学メディカル社の総PAI-1測定キットを用いて測定した。

## IMT規定因子の検索

IMTはこれまで高血圧や喫煙、高コレステロール血症、糖尿病などの冠動脈疾患のリスクファクターとの関連が強いことが知られている<sup>8)</sup>。これらの因子に加えて、今回測定したfree TFPIおよびPAI-1がIMTを規定する因子となるか否かを重回帰分析によって性別に検討し、その結果を表1(free TFPI)と2(PAI-1)に示した。IMTを規定す

表1 性別にみた重回帰分析によるIMT規定因子の検索

Independent variable	Standard regression coefficient		P value	
	men	women	men	women
Age	0.603	0.794	<0.0001	<0.0001
Systolic blood pressure	0.187	0.049	0.0003	n.s.
Body mass index	0.031	0.056	n.s.	n.s.
Diabetes	0.055	-0.086	n.s.	0.0263
Smoking	-0.036	-0.027	n.s.	n.s.
Alcohol	0.007	-0.015	n.s.	n.s.
Free TFPI	0.109	-0.059	0.0245	n.s.

表2 性別にみた重回帰分析によるIMT規定因子の検索

Independent variable	Standard regression coefficient		P value	
	men	women	men	women
Age	0.641	0.770	<0.0001	<0.0001
Systolic blood pressure	0.184	0.032	0.0003	n.s.
Body mass index	0.052	0.023	n.s.	n.s.
Diabetes	0.026	-0.084	n.s.	0.0286
Smoking	0.008	-0.019	n.s.	n.s.
Alcohol	0.023	-0.013	n.s.	n.s.
PAI-1	0.162	0.044	0.0007	n.s.

る因子として男女共に年齢が最も強く ( $p < 0.0001$ ), それ以外に男性では収縮期血圧, 女性では糖尿病の関与が見られた. Free TFPI と PAI-1 については, いずれも男性においてのみ, その関与が認められた. これらの結果は, 頸動脈における IMT 上昇の要因が男女で異なり, Free TFPI や PAI-1 の動脈硬化の程度を知る指標としての有用性に性差があることを示唆している.

**共分散分析による IMT と free TFPI および PAI-1 との関連性の検討**

IMT と各マーカーとの関連性を検討するため, 対象を IMT 値 (mm) により男女別に 4 群 (男性; Q1: 0.73, Q2: 0.83, Q3: 0.93, Q4: 1.05, 女性; Q1: 0.70, Q2: 0.78, Q3: 0.85, Q4: 0.95 [各群の IMT 中央値]) に分け, IMT ランクと free TFPI および PAI-1

との関係を共分散分析により解析した. また, この解析において IMT ランクに影響を与えることが予想される因子の中で年齢のみを共変量とした場合 (age adjusted) と (図1), 年齢以外に, 飲酒, 喫煙, body mass index, 糖尿病, hypercholesterolemia, 収縮期血圧, 降圧剤使用の有無を共変量とした場合 (all adjusted) (図2) の 2 通りで行った. その結果, age adjusted あるいは all adjusted, 何れにおいても, 男性の free TFPI および PAI-1 は IMT ランクの上昇とともに増加し, その増加率は free TFPI < PAI-1 であった. これに対し女性では PAI-1 のみが IMT ランクの上昇とともに増加し, free TFPI の上昇は見られなかった. これらの結果から動脈硬化の指標として free TFPI より PAI-1 がより優れており, 特に男性における有用性が高いことを示唆している.

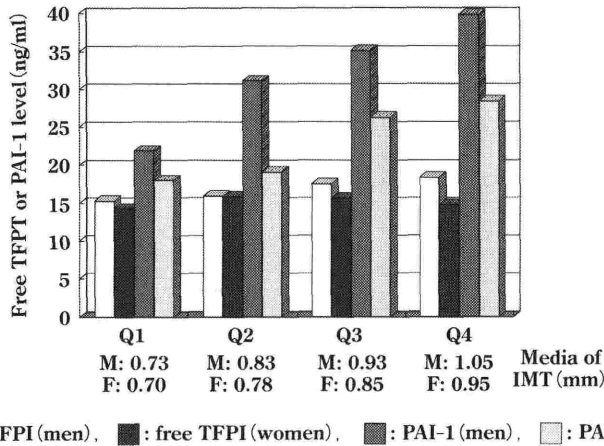


図1 共分散分析による IMT ランク (Q1, Q2, Q3, Q4) と free TFPI および PAI-1 との関連性 (Age-adjusted)

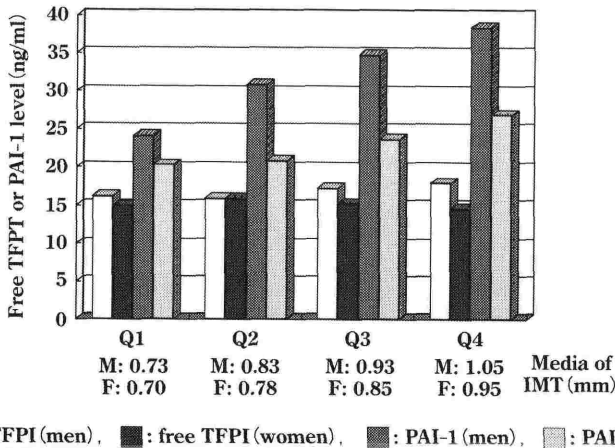


図2 共分散分析による IMT ランク (Q1, Q2, Q3, Q4) と free TFPI および PAI-1 との関連性 (All-adjusted)

では何故、内膜肥厚によって free TFPI が増加するのであろうか。動脈硬化局所では外因系凝固反応のトリガーとなる組織因子の産生が種々の刺激を受けて産生される。そこでは TFPI も同時に産生され、組織因子による血液凝固の開始反応を制御していることが知られている<sup>15-17)</sup>。動脈硬化局所で TFPI の産生が促進された結果、血漿中の TFPI が増加すると考えられる。実際、動脈硬化の進んだ心筋梗塞発症患者において、TFPI 濃度、特に free TFPI が高値となることが報告されている<sup>18,19)</sup>。これまで動脈硬化性疾患未発症者における初期の動脈硬化の進展と TFPI 活性とが関係するとの報告が見られるが、それらの関係に性差が存在するか否かについては不明であった<sup>20)</sup>。今回の検討において、free TFPI 濃度と初期の動脈硬化の進展との関係が明らかとなり、しかもそれらの間に性差が存在することが初めて示された。

内膜肥厚によって PAI-1 が増加する理由については、PAI-1 は種々のサイトカインによりその産生が高まることが知られている。たとえ動脈硬化性疾患を未発症であっても、肥満やインスリン抵抗性症候群は炎症反応と密接に関連した病態で、サイトカインが多く産生されると考えられる。そのような病態下では血管内皮細胞での PAI-1 産生が高まり、その結果血漿 PAI-1 濃度が高値となることが予想される<sup>21)</sup>。また、先に述べたように血管内 PAI-1 の大部分が血小板内に存在し、動脈硬化の進展に伴う血小板の活性化により、PAI-1 が血漿中に放出された結果、血漿 PAI-1 濃度が上昇したとも考えられる<sup>22)</sup>。これまで prospective study により高 PAI-1 レベルが狭心症患者の心血管イベントと関連することや、冠動脈疾患の好発群において高 PAI-1 レベルが心筋梗塞の一次発症の予知因子となることなどが示されている<sup>23)</sup>。また、男性において PAI-1 が心血管イベントの予知マーカーとして有用であるとする報告も見られる<sup>24)</sup>。今回の検討結果は、初期の動脈硬化における PAI-1 と IMT の直接的な関係を示すものであり、それらの関係が男性においてより強いことが示され、これまでの疫学研究結果に根拠を与えるものである。

次に、free TFPI あるいは PAI-1 レベルと IMT ランクとの関連において、age-adjusted より all-adjusted でその関係が弱まった原因は何であろう

か。IMT 規定因子の検索の項で述べたように、年齢以外に男性では高血圧、女性では糖尿病の存在によって IMT が上昇する。これまでの研究でも IMT は高血圧、喫煙、高コレステロール血症といった冠動脈疾患のリスクファクターの集積に応じて上昇することが知られている<sup>8)</sup>。また、初期の高血圧患者において PAI-1 が高値となり、アンジオテンシン変換酵素阻害薬の服用により PAI-1 が低下する<sup>25)</sup>。これらのことから高血圧により初期の動脈硬化あるいは血管内皮傷害が惹き起こされ、その結果 free TFPI や PAI-1 が高値となる。したがって、高血圧と free TFPI や PAI-1 の上昇とは密接な関係にあり、all-adjusted で収縮期血圧や降圧剤服用の有無の補正により、free TFPI あるいは PAI-1 レベルと IMT ランクとの関連が弱まったと考えられる。

#### Free TFPI, PAI-1 レベルと IMT との関連における性差の原因

血管内皮細胞傷害マーカーである free TFPI や PAI-1 の血漿レベルと IMT 値との関係に性差が存在する原因をこれまでの吹田研究における研究結果から考察を試みた。吹田研究における冠動脈疾患および虚血性脳血管疾患の発症数を今回と同様の年代で区切って比較した場合、男女とも加齢とともに増加するが、男性で特にその傾向が強くなり、女性では 80 歳以降急激にそれらの発症数が増加する傾向が見られる(図3)<sup>26)</sup>。このことは、加齢による動脈硬化性疾患発症数に性差が存在することを示している。また各年代における IMT の平均値は、男性では冠動脈疾患のリスクファクターの数に応じて高値となる。一方、女性においては各年代の IMT 値が男性より低く、冠動脈疾患のリスクファクターの数が IMT に反映されにくい(図4)<sup>8)</sup>。また、女性で最もリスクファクターの数が多き群では、75~86 歳の高齢において男性より IMT 値は高値となり、動脈硬化が急激に進行することを示唆している。これらのエビデンスは、動脈硬化の進行に性差があることを示唆し、この差が free TFPI あるいは PAI-1 レベルと IMT との関連性に影響を与えたと考えられる。

では何故、動脈硬化の進行に性差が見られるのであろうか。図5に主要な凝固制御因子である PC,

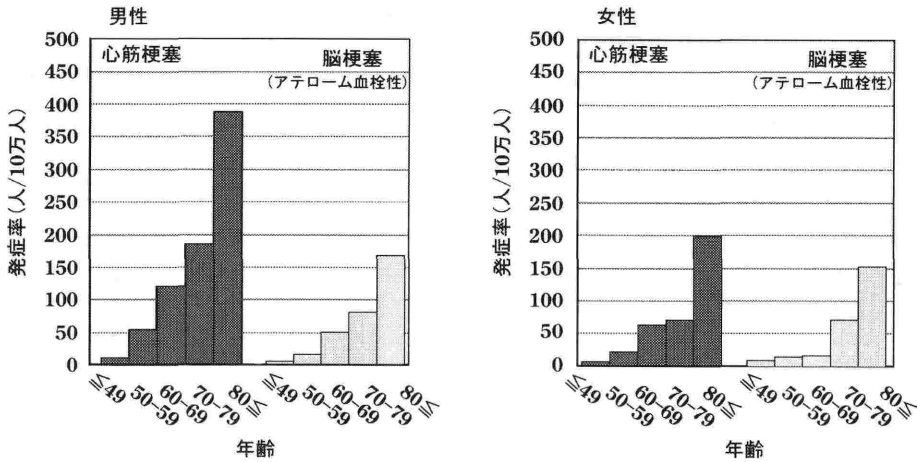


図3 男女別にみた加齢と冠動脈疾患および脳梗塞発症数の関係(文献 26 より引用および改変)

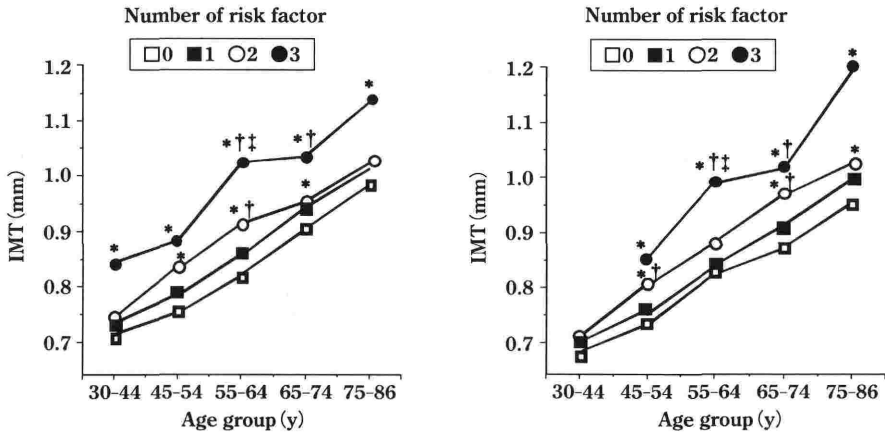


図4 男女別にみた加齢と IMT の関係に及ぼす冠動脈疾患のリスクファクターの影響  
 データは各年代およびリスクファクターの数により分類された各群における IMT の平均値を示す。  
 \* : 各年代におけるリスクファクター-0 群との比較 (p<0.05)  
 † : 各年代におけるリスクファクター-1 群との比較 (p<0.05)  
 ‡ : 各年代におけるリスクファクター-2 群との比較 (p<0.05) (文献 8 より引用)

PS, AT の加齢による変動を示した。男性の場合、加齢に伴いフィブリノーゲンや凝固第 VIII 因子などの向血栓性因子が増加する一方で、主要な凝固制御因子はいずれも 40 歳代をピークに低下し、加齢とともに血栓傾向が強まる<sup>27)</sup>。一方、女性では、主要な凝固制御因子は 60 歳代まで増加し、以後漸減する。また、これら 3 つの凝固制御因子のみならず、デルマトン硫酸の存在下でトロンピンを阻害し動脈硬化を防ぐ役割を有するヘパリンコファクター II においても、加齢により低下することが知られている<sup>28)</sup>。このような凝固制御因子の加齢

による変動とその性差が、動脈硬化の進展に差が生じる要因の一つと考えられる。

おわりに

現代医療において、動脈硬化性疾患が発症する前に動脈硬化の進行度合をチェックし、その発症を予防することは重要な課題である。そのためには動脈硬化の進行度合をチェックする簡便で安価な方法の開発や検討が求められる。血漿 free TFPI や PAI-1 は、頸動脈の内膜肥厚の程度と密接に関連するマイカーである。ただし、女性では血漿 free

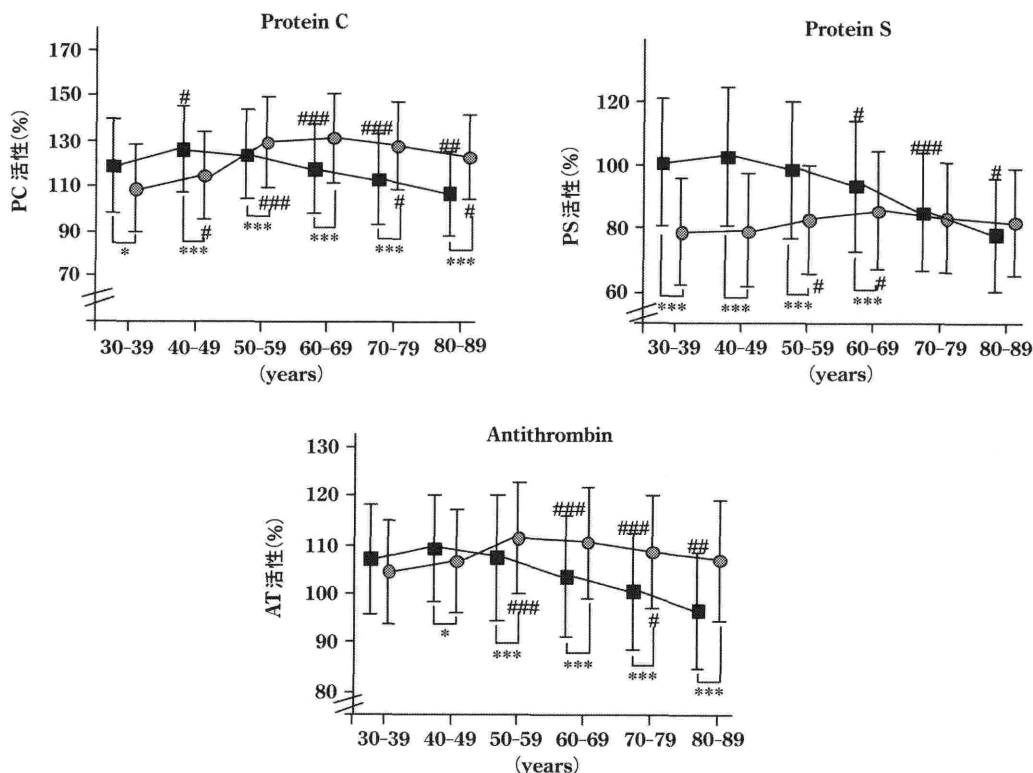


図5 男女別にみた加齢によるPC, PS, AT活性の変動

■, ●はそれぞれ男性, 女性を示す. #  $p < 0.05$ , ##  $p < 0.001$ , ###  $p < 0.0001$ , 前年代と比較 (un-paired t test).  
\*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.001$ , \*\*\*  $p < 0.0001$ , 同年代にける男性と女性の比較 (un-paired t test). (文献 27 より引用)

TFPI と内膜肥厚の程度との関連性は見られず, PAI-1 についてもその関連性が男性に比べて弱い。したがって, 初期動脈硬化の進展度を把握する目的においては, 血漿 PAI-1 濃度測定が有用である。

## 文 献

- 1) Hodis HN, Mack WJ: Risk factor assessment, treatment strategy and prevention of coronary artery disease: the need for a more rational approach. *J Intern Med* 1994; 236: 111-3.
- 2) Blankenhorn DH, Hodis HN: Arterial imaging and atherosclerosis reversal. *Arterioscler Thromb* 1994; 14: 177-92.
- 3) de Groot E, Hovingh GK, Wiegman A, et al: Measurement of arterial wall thickness as a surrogate marker for atherosclerosis. *Circulation*. 2004; 109(suppl 1): III33-8.
- 4) Folsom AR, Wu KK, Shahar E, et al: Association of hemostatic variables with prevalent cardiovascular disease and asymptomatic carotid artery atherosclerosis. *Arterioscler Thromb* 1993; 13: 1829-36.
- 5) Salomaa V, Stinson V, Kark JD, et al: Association of

fibrinolytic parameters with early atherosclerosis. The ARIC Study. *Circulation* 1995; 91: 284-90.

- 6) Sakata T, Mannami T, Baba S, et al: Potential of free-form TFPI and PAI-1 to be useful markers of early atherosclerosis in a Japanese general population (the Suita Study): association with the intimal-medial thickness of carotid arteriws. *Atherosclerosis* (in press).
- 7) Mannami T, Konishi M, Baba S, et al: Prevalence of asymptomatic carotid atherosclerotic lesions detected by high-resolution ultrasonography and its relation to cardiovascular risk factors in the general population of a Japanese city: the Suita study. *Stroke* 1997; 28: 518-25.
- 8) Mannami T, Baba S, Ogata J: Strong and significant relationships between aggregation of major coronary risk factors and the acceleration of carotid atherosclerosis in the general population of a Japanese city: the Suita Study. *Arch Intern Med* 2000; 160: 2297-303.
- 9) Mannami T, Baba S, Ogata J: Potential of carotid enlargement as a useful indicator affected by high blood pressure in a large general population of a Japanese city: the Suita study. *Stroke* 2000; 31: 2958-65.
- 10) Crouse JR 3rd, Craven TE, Hagaman AP, et al: Association of coronary disease with segment-specific intimal-

- medial thickening of the extracranial carotid artery. *Circulation* 1995; 92: 1141-7.
- 11) Hunt KJ, Pankow JS, Offenbacher S, et al: B-mode ultrasound-detected carotid artery lesions with and without acoustic shadowing and their association with markers of inflammation and endothelial activation: the atherosclerosis risk in communities study. *Atherosclerosis* 2002; 162: 145-55.
  - 12) Mast AE, Acharya N, Malecha MJ, et al: Characterization of the association of tissue factor pathway inhibitor with human placenta. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002; 22: 2099-104.
  - 13) Kokawa T, Enjyoji K, Kumeda K, et al: Measurement of the free form of TFPI antigen in hyperlipidemia. relationship between free and endothelial cell-associated forms of TFPI. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996; 16: 802-8.
  - 14) Morange PE, Renucci JF, Charles MA, et al: Plasma levels of free and total TFPI, relationship with cardiovascular risk factors and endothelial cell markers. *Thromb Haemost* 2001; 85: 999-1003.
  - 15) Caplice NM, Mueske CS, Kleppe LS, et al: Presence of tissue factor pathway inhibitor in human atherosclerotic plaques is associated with reduced tissue factor activity. *Circulation* 1998; 98: 1051-7.
  - 16) Kaikita K, Takeya M, Ogawa H, et al: Co-localization of tissue factor and tissue factor pathway inhibitor in coronary atherosclerosis. *J Pathol* 1999; 188: 180-8.
  - 17) Crawley J, Lupu F, Westmuckett AD, et al: Expression, localization, and activity of tissue factor pathway inhibitor in normal and atherosclerotic human vessels. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20: 1362-73.
  - 18) Kamikura Y, Wada H, Yamada A, et al: Increased tissue factor pathway inhibitor in patients with acute myocardial infarction. *Am J Hematol* 1997; 55: 183-7.
  - 19) Soejima H, Ogawa H, Yasue H, et al: Heightened tissue factor associated with tissue factor pathway inhibitor and prognosis in patients with unstable angina. *Circulation* 1999; 99: 2908-13.
  - 20) Sakkinen PA, Cushman M, Psaty BM, et al: Correlates of antithrombin, protein C, protein S, and TFPI in a healthy elderly cohort. *Thromb Haemost* 1998; 80: 134-9.
  - 21) Kohler HP, Grant PJ: Plasminogen-activator inhibitor type 1 and coronary artery disease. *N Engl J Med* 2000; 342: 1792-801.
  - 22) Massberg S, Schulz C, Gawaz M: Role of platelets in the pathophysiology of acute coronary syndrome. *Semin Vasc Med* 2003; 3: 147-62.
  - 23) Thøgersen AM, Jansson JH, Boman K, et al: High plasminogen activator inhibitor and tissue plasminogen activator levels in plasma precede a first acute myocardial infarction in both men and women. *Circulation* 1998; 98: 2241-7.
  - 24) Meade TW, Ruddock V, Stirling Y, et al: Fibrinolytic activity, clotting factors, and long-term incidence of ischaemic heart disease in the Northwick Park Heart Study. *Lancet* 1993; 342: 1076-9.
  - 25) Tomiyama H, Kimura Y, Mitsuhashi H, et al: Relationship between endothelial function and fibrinolysis in early hypertension. *Hypertension* 1998; 31: 321-7.
  - 26) 馬場俊六: 吹田 STUDY. 血栓と循環. 2000; 8: 10-4.
  - 27) 阪田敏幸, 岡山 明, 宮田敏行: 加齢による凝固制御因子および線溶因子の変動. *日本血栓止血誌* 2004; 15: 343-8.
  - 28) Aihara K, Azuma H, Takamori N, et al: Heparin cofactor II is a novel protective factor against carotid atherosclerosis in elderly individuals. *Circulation* 2004; 109: 2761-5.

### Gender Difference in Potential of Free-Form TFPI and PAI-1 to be Useful Markers of Early Atherosclerosis in a Japanese General Population; the Suita Study

Toshiyuki SAKATA\*, Shigeki MIYATA\*\*, Akira OKAMOTO\*, Toshifumi MANNAMI\*\*\*,  
Yoshihiro KOKUBO\*\*\*, Hisao KATO\*\*\*\*, Toshiyuki MIYATA\*\*\*\*

\*Laboratory of Clinical Chemistry, \*\*Division of Transfusion Medicine, \*\*\*Preventive Cardiology,  
\*\*\*\*Research Institute, National Cardiovascular Center, Suita, Japan