

# 血栓症と体内時計

## Thrombosis and Biological Clocks

帝京大学薬学部 病態生理学研究室 准教授 大藏 直樹

NAOKI OHKURA, PhD. (Associate Professor)

Associate professor, Molecular Physiology and pathology, School of Pharma-Sciences, Teikyo University

(独)産業技術総合研究所 バイオメディカル研究部門 生物時計研究グループ グリープリーダー 大石 勝隆

KATSUTAKA OISHI, PhD. (Group Reader)

Biological Clock Research Group, Biomedical Research Institute, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST)

### 1. はじめに

心筋梗塞、脳梗塞、深部静脈血栓症など、血液が固まってできる血栓が原因の疾患は午前中に発症頻度が高いことがわかっている。また、血栓を溶かす血栓溶解療法の効果が午前中は弱く、血栓症の治療薬であるヘパリンやワルファリンに効果が出やすい時間帯があるなど、血栓に関連する病気の治療効果が時刻によって違うことも古くから知られている。一方で、体内時計に関する研究の進歩により、血液凝固系や線溶系など血栓の形成に関わる反応系は体内時計によってコントロールされていることが明らかになってきた。

本稿では、血液凝固系や線溶系に日内リズムがあることを紹介し、体内時計による血液凝固線溶反応の制御や、糖尿病や肥満が原因で起こる血栓症と時計遺伝子との関係について、著者らがマウスを用いて行った研究成果を紹介しながら、体内時計と血栓症との関連について考えてみたい。

### 2. 血液凝固系と血栓

血液は血管の内側を、流動性を保ちながら流れている。血管内皮細胞は、血管の内側を覆う細胞で、血液が凝固しないように保つ働きを持つ。しかし、外傷や炎症などで血管壁が損傷を受けると、損傷部分に血小板が粘着して凝集する。また、傷害を受けた血管内皮細胞には組織因子というタンパク質が発現して外因系凝固反応を活性化し血栓を形成する。粘着し活性化された血小板からは細胞内刺激物質が放出され、さらに多くの血小板を活性化して大きな血栓を形成する。形成した血栓が組織への血流を妨げると、組織障害が起こり脳梗塞や心筋梗塞が発生する(図1)。一方、線溶系は凝固反応によりできた血栓を溶解させるシステムとして存在し、線溶系が働くことにより不必要な血栓が血管内から除かれる。すなわち、凝固系が働くと止血や血栓形成の方向に作用し、血栓ができた時は線溶系が働いて血栓を溶かすというバランスを保ち血液の

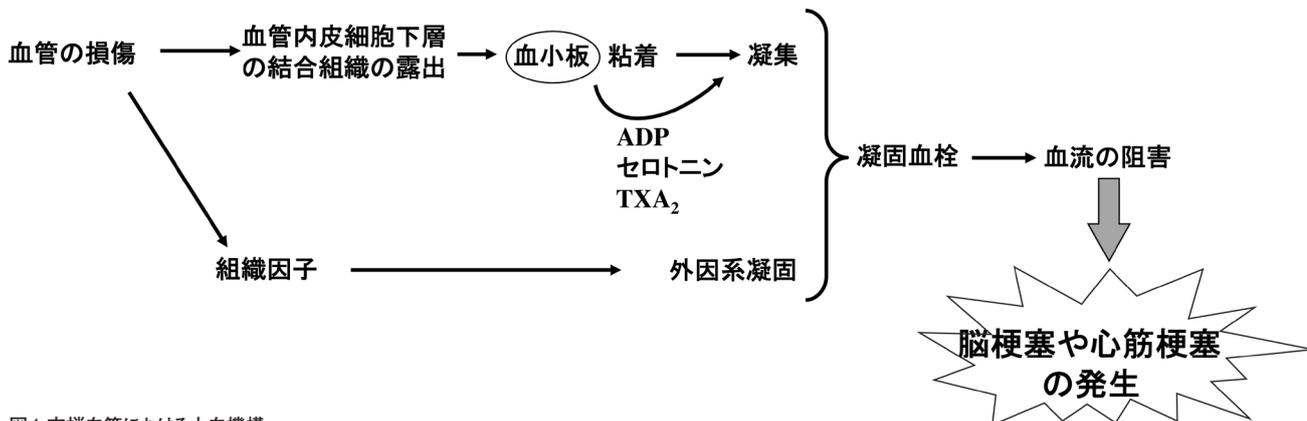


図1 末梢血管における止血機構

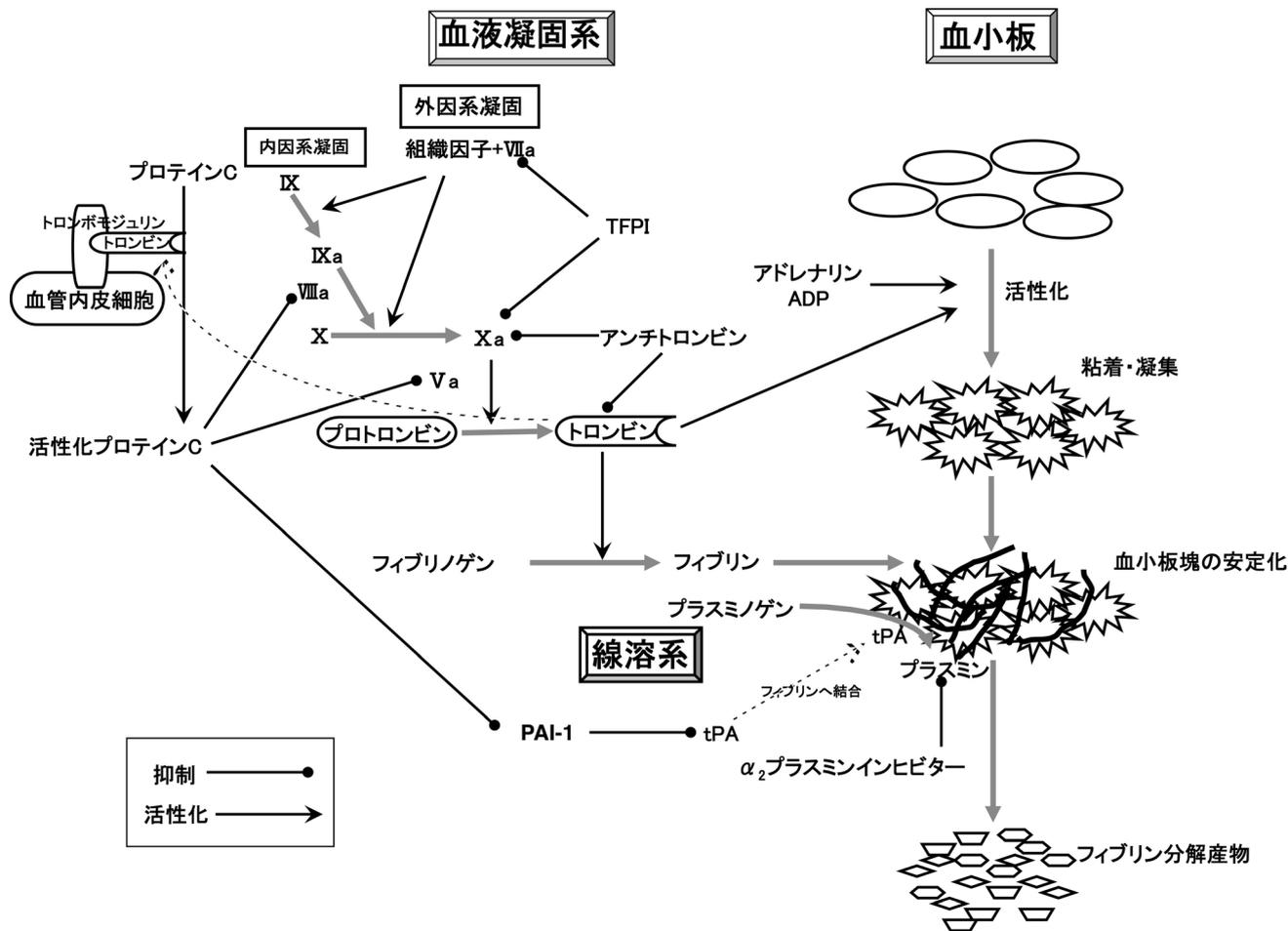


図2 血液凝固系と線溶系のしくみ  
血液凝固線溶系は、血小板、血液凝固因子、凝固抑制因子、血液線溶因子などが複雑に相互作用して機能するが、これらが持つ日内リズムが血栓形成時刻の好発時間出現に反映されたと考えられる。

循環を維持している。図2は、本稿で紹介する血液凝固反応と線溶反応およびこれらを調節する主な因子とその働きの全体像を示したものである。詳細は他の成書や文献を参照されたい。

一方、静脈に血栓ができる静脈血栓症は、血液が凝固する反応を抑制する因子(凝固抑制因子)の欠乏や形成された血栓を溶解する因子(線溶因子)の異常など

### 3. 血栓性疾患が発生しやすい時間は午前中である

動脈硬化が起こり局所の動脈に狭窄が起こると、その部分で血流速度が増加して余分な力加わる。それにより、動脈硬化巣の脂質を多く含んだ粥腫が破れると、そこに血小板が凝集して血栓が形成されて血流が止まる。そして、血流が止まった組織は障害されて心筋梗塞や脳梗塞が発生する。心筋梗塞や脳梗塞などの発症数は早朝から午前中に多いことがわかっている(図3)<sup>1)2)3)</sup>。この原因は、起床後の交感神経の興奮による血圧上昇や心拍数の増加によって動脈硬化巣の粥腫が破れることが大きな原因となると考えられてきた。

## 疾患発症の日内リズム



図3 ヒトの生理機能および疾患の症状や発症に見られる概日リズム  
心筋梗塞や脳梗塞の血栓性疾患の発症頻度には早朝から午前中にかけてピークとなる日内リズムが存在する

が原因の一つであるといわれているが、静脈血栓症も午前中に発症頻度も高いことが示されており<sup>1)4)</sup>、発症には、血液凝固系因子の日内リズムが何らかの形で関わっていると考えられる。興味深いものとして、長時間座った姿勢をとった後に発症するエコノミークラス症候群も静脈血栓症に属するが、発症に昼夜を通したロングフライトによる血液凝固線溶系のリズムの乱れが関わる可能性もある。この可能性を示唆する研究として、明暗を変化させてジェットラグを模倣して飼育したマウスでは、活動期の初めに亢進する凝固系ピークの時間がずれることを示したものが<sup>6)</sup>。また、大地震後の避難生活では、エコノミークラス症候群や虚血性心疾患の発症頻度が著しく増加することが問題となっている<sup>6)7)</sup>。さらに、虚血性心疾患は大地震後に高い頻度で発生するが、これらは夜間から朝にかけて発症頻度のピークがある<sup>7)</sup>。これには、地震のストレスによる血液凝固系の亢進に加え、体内時計に依存した凝固線溶系の日内リズムがかかわると考えられる。

#### 4. 体内時計の分子メカニズム

体内時計は、ヒトなどの哺乳類だけでなくバクテリアなどの原始的なものまで、地球上のほとんど全ての生物に存在し、個体の行動や様々な生理機能のサーカディアンリズム(概日リズム)を作りだしている。哺乳類では脳内視床下部の視交叉上核(SCN)に時計中枢があり、活動リズムや睡眠覚醒、血圧、体温、心拍数などの概日リズムを支配している。近年の研究で、概日リズムを刻む分子機構が明らかとなりつつあり、時計遺伝子間での転写調節を介したフィードバックループモデルが提唱されている(図4)。体内時計を構成する時計分子には、転写因子として特定の時計遺伝子の転写を活性化する正の制御因子(CLOCK, BMAL1)と、正の制御因子の作用によって発現された後に正の制御因子の転写活性を阻害することによって、自身の発現を抑制する負の制御因子(PER1, PER2, CRY1, CRY2, Rev-erba)が存在する。CLOCKとBMAL1は、負の制御因子の遺伝子上に存在するE-boxという特徴的な配列(CACGTG)に結合して、負の制御因子の日内発現を制御している。従って、多くの時計遺伝子は明確な概日リズムを示しながら発現しており、この約24時間周期のフィードバックループが体

体内時計の本体であると考えられている。時計遺伝子は脳内の時計中枢であるSCNだけでなく、心臓や肝臓、腎臓、骨格筋、血管内皮細胞や血球細胞に至るまで個体のほとんど全ての組織で発現している。DNAマイクロアレイを用いて行った網羅的な発現遺伝子解析により、末梢組織においても数%から10%もの遺伝子が日周発現していることが報告された。著者らは、時計遺伝子Clockの変異マウスを用いた解析から、CLOCKが、糖・脂質代謝や細胞周期、薬物代謝や免疫機能などに関わる非常に多くの遺伝子の日周発現を制御している可能性を示した<sup>9)</sup>。これまで明らかとなったCLOCKの転写標的遺伝子には、脂肪酸代謝系において中心的な役割を担っているperoxisome-proliferator-activated receptor  $\alpha$  (PPAR $\alpha$ )や、転写因子であるalbumin D-site binding protein(DBP)、細胞周期を調節しているWee1、そして血栓症と関連が深いPAI-1などがある。なお、文中のイタリック表記のclock、cryなどは遺伝子を示し、大文字のCLOCK、CRYなどはそれらの遺伝子産物を示す。

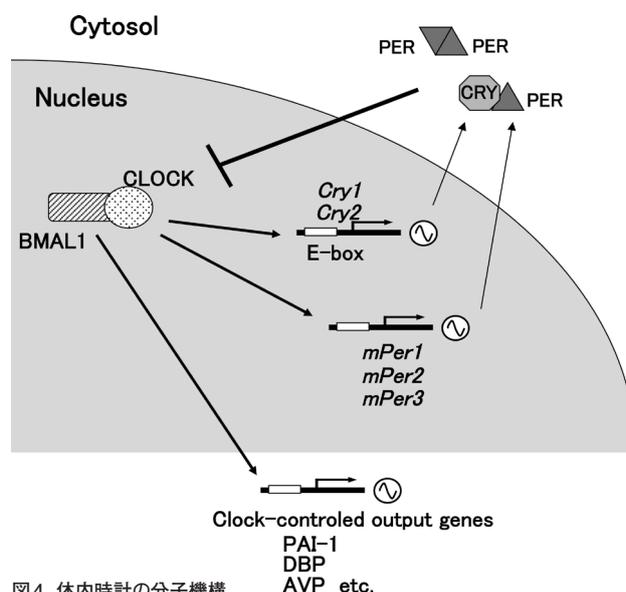


図4 体内時計の分子機構

#### 5. 血栓形成に関わる因子の日内リズム

血栓形成に関わる凝固因子や線溶因子の多くは、活性や血中濃度が日内リズムを示すことがわかっている。日内リズムを示す意義は明らかではないが、活動期に止血する能力を高め、休息期に血液線溶活性を高めて血栓が溶解しやすくすることは、個体の生命維持に重要なことであるのかもしれない。

## 5.1 血小板

午前中に血小板が凝集しやすくなるのが、動脈に発生する血栓が午前中に多いことの大きな要因であると考えられてきた<sup>10) 11)</sup>。血小板は、外界からの様々な刺激に迅速に反応して凝集しやすくなる。血小板を活性化する刺激には、カテコールアミン類、トロンビン、ADPなどのアゴニスト、コラーゲン、フィブリノーゲンなどの多価タンパク質がある。血小板の凝集活性が日内リズムを示すメカニズムについては不明な点が多いが、これらのアゴニストや多価タンパク質の血中濃度の日内リズムと密接な関連があると考えられる。午前中に血小板が凝集しやすい理由の最も有力なものに、起床後の活動量の増加に伴うカテコールアミン類の血中濃度の急な上昇による血小板凝集能の増加が考えられる<sup>10)</sup>。起床後の血圧上昇、心拍数増加に加え、活動量の増加に伴って生じる血小板凝集能の亢進は、午前中に心筋梗塞や脳梗塞などが起こりやすくなることに深く関係すると思われる。

## 5.2 血液凝固因子

静脈で血流がうっ滞して起こる血栓形成においても、活性化した血小板膜上で血液凝固反応が進行して血栓が生じる動脈の血栓形成においても、血液凝固因子は大きな役割を果たす。血液凝固因子の血液中の濃度の日内リズムや、血液凝固因子が作用する形に変換される活性化の日内リズムについても多くの研究がなされてきた。これらの研究の中には、凝固反応の最終段階で生成するフィブリンの前駆体であるフィブリノーゲンの血中濃度のピークは午前中に見られることを示したものの<sup>12)</sup>、フィブリノーゲンをフィブリンに転換するトロンビンの生成量は午前中に高い値を示すことを示したものの<sup>13,14)</sup>、健常人血中のⅦ因子活性が朝8時で昼2時に比べて有意に高いこと示したものなど<sup>15)</sup>、ヒトでは午前中に凝固因子の増加や凝固反応の活性化が起こることを示した報告がみられる。

著者らが行ったマウスの血漿を用いた検討では、フィブリノーゲン、第Ⅶ因子、第Ⅹ因子、プロトロンビンなどの凝固因子の抗原量は一日中ほぼ一定であった。また、外因系凝固活性と内因系凝固活性の指標であるPTやAPTTも一日中ほとんどリズムしなかった<sup>16)</sup>。しかし、一方で、血液凝固の活性化反応(外因系凝固反応)

の起きやすさに日内リズムがあること、また、第Ⅶ因子活性のピークも活動期の初めにあることもマウスで示されている<sup>17) 18)</sup>。

## 5.3 血液凝固抑制因子

凝固抑制因子は、凝固因子の活性を抑制し凝固反応を調節する因子である(図2)。凝固抑制因子の活性や量の低下は血栓を作りやすくなることに繋がる。これらの因子のうちプロテインC、プロテインS、アンチトロンビン、外因系凝固インヒビター(TFPI)などは日内リズムを示すことがヒトの研究で示されている<sup>19)</sup>。著者らのマウスによる検討では、ICR系マウスでプロテインCやアンチトロンビンの日内リズムがあることを示し、プロテインCについてはmRNAの発現レベルで日内リズムが調節されている可能性も示した<sup>20)</sup>。ICR系マウスではプロテインCもアンチトロンビンも活動期の初めに低値を示す傾向にあり、これらの凝固抑制因子の低下も活動期の初めの血栓傾向に関与している可能性が示された。また、後述のようにトロンボモジュリンが日内リズムを示すことをマウス個体やヒトの培養血管内皮細胞を用いた検討で示している<sup>21)</sup>。

## 5.4 血液線溶系因子

線溶系は組織型プラスミノゲンアクチベーター(tPA)がプラスミノゲンに作用して生成されたプラスミンによって、血栓の主成分であるフィブリンが溶解されるシステムである(図2)。血栓形成時の虚血状態などが刺激となりtPAが大量に放出されると、tPAはフィブリンに結合し、フィブリン上でプラスミンを効率よく生成しフィブリンの溶解反応が始まる。一方、プラスミノゲンアクチベーターインヒビター1(PAI-1)はtPAの阻害タンパク質であるが、PAI-1は正常ヒト血漿中にtPAよりも大量に存在し、生成されたtPAと速やかに結合して阻害するとともに、tPAのフィブリンへの結合を阻害して線溶反応をコントロールしている。従って血栓形成後にtPAが増加しても血中PAI-1が増加するような状況では、プラスミンの生成が抑制され、正常な線溶反応が起こらない。

線溶系因子のうち、PAI-1は特に日内リズムが大きくて明確なため、血栓症の日内リズムとの関連が注目されてきた。PAI-1は種々の疾患により遺伝子転写レベルで産生が影響を受けるが、その遺伝子の発現は、CLOCK

とBMAL1/BMAL2によって転写レベルで制御されており、PAI-1 遺伝子転写調節領域に存在するE-boxを介した日周発現を示す。ヒトPAI-1 遺伝子の転写調節領域には4G/5G多型が存在している。疫学的に4G/4G型で血中PAI-1値が高く、血栓症のリスクが高いことが知られているが、PAI-1の日周発現を調節しているE-boxと4G/5G多型領域は重複しており、時計分子によるPAI-1発現の日内変動の制御に、この多型が影響している可能性も考えられる。朝の時間帯の血中PAI-1上昇が4G/4G型では他の遺伝子型に比べ有意に高くなるとの報告があることも興味深い<sup>22)</sup>。

PAI-1は、血管内皮細胞をはじめ、平滑筋細胞、心筋細胞、脂肪細胞など多くの細胞により産生されており、血糖や脂質など様々な因子によって発現が制御される。血糖や脂質などが異常となる糖尿病や肥満などの代謝性疾患では、血中のPAI-1の上昇がみられる。詳しくは後述するが、代謝性疾患でPAI-1の上昇が起こること自体にも体内時計が深く関係することがわかってきた。

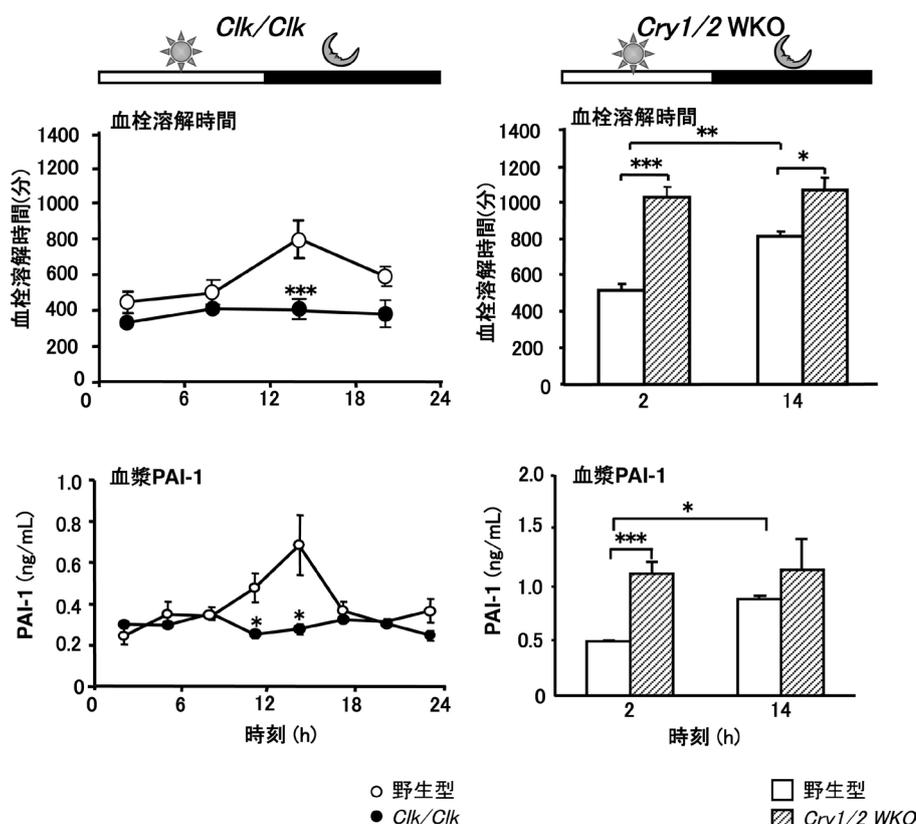


図5 野生型マウスと時計遺伝子変異マウスにおける線溶活性の日内リズムと血中PAI-1濃度  
PAI-1は線溶を阻害するため、血中PAI-1が上昇すると血栓が溶解するまでの時間は延長する。野生型マウスでは線溶活性に日内リズムが見られ、PAI-1の日内リズムとの間に相関が見られたが、Clock遺伝子変異マウス(Clk/Clk)でこの日内リズムは消失していた。一方、Cry遺伝子KOマウス(Cry1/2 WKO)では線溶活性は一日を通して上昇し、血中のPAI-1も日内リズムを消失していた。(文献16より改変して引用)

## 6. 時計遺伝子変異マウスを用いた血液凝固線溶系の研究

著者らのグループでは時計遺伝子変異マウスを用いて、血液凝固系や線溶系および血小板と体内時計との関連を調べてきた。以下は、著者らのグループが行ってきた研究の成果を中心に解説する。なお、本稿における時刻表示は、明期を0時から12時、暗期を12時から24時としているが、げっ歯類であるマウスは夜行性であり、昼行性であるヒトとは昼夜が逆転している。すなわち、12時から24時が活動期である。マウスで夜間(12時から24時)に見られる現象はヒトにおいては昼間に見られるものと解釈して頂きたい。

### 6.1 血液線溶系

マウス血漿を用いた検討で、線溶系の指標である血栓溶解活性(正確にはユーグロブリン溶解時間)に活性が高い時間と低い時間があること、線溶系の日内リズムはPAI-1の日内リズムと一致する結果であることを示した(図5)。時計遺伝子変異マウスでの検討では、野生型マウスで見られた線溶活性の日内リズムが、Clock遺伝子変異マウスでは消失していることがわかった。また、野生型マウスでは血中PAI-1やPAI-1 mRNAは日内リズムを示したが、Clock遺伝子変異マウス(Clk/Clk)では恒常的にPAI-1発現が低下していた(図5)。マウス転写開始点付近にE-boxが存在し、マウスにおいてもCLOCK分子が直接PAI-1遺伝子の日周発現を制御していることも明らかにしている<sup>23)</sup>。一方、Cry遺伝子KOマウス(Cry1/2 WKO)ではPAI-1の発現が亢進するとともに、線溶活性の日内リズムが消失した(図5)<sup>16)</sup>。Clock遺伝子変異マウスではプラスミノーゲンが恒常的に高値を示し、CLOCK分子がPAI-1以

外の分子の産生にも関り線溶を制御している可能性を示した<sup>16)</sup>。時計遺伝子変異による凝固系への大きな影響は観察されなかった<sup>16)</sup>。

## 6.2 血液凝固系

著者らの検討では、マウスの凝固因子について大きな日内リズムは確認できなかった<sup>16)</sup>。また、時計遺伝子変異マウスでも野生型マウスと血中濃度やmRNAで大きな差はみられなかったことから、時計遺伝子は凝固系に関連する因子には大きな影響を与えないと考えられる。ところで、血液凝固因子の異常や低下のスクリーニング検査、抗凝固療法に用いられるワルファリンの効果などはプロトロンビン時間(PT)や活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)を利用して調べる。PTやAPTTには日内リズムがみられるとの報告もあるが、著者らの結果を考えるとそのリズムは大きなものではなく、これらの測定に採血時間はさほど影響しないのかもしれない。

## 6.3 血液凝固抑制系

トロンボモジュリン(TM)は、血管内皮細胞に発現する血栓を作らないように働くタンパク質で、血流中の凝固抑制タンパク質であるプロテインCを活性化してトロンビンの生成を抑制することで、血液の流動性を保つ役割を持つ。著者らはマウスを用いた研究で、肺におけるTM発現に日内リズムが存在することを示した<sup>21)</sup>(図6)。Clock 遺伝子変異マウスの肺では、この発現のリズムが消失することから、TM発現の概日リズム形成も時計遺伝子による発現制御の影響下にあることが示された。また、ヒトTM 遺伝子の転写調節領域には、転写開始

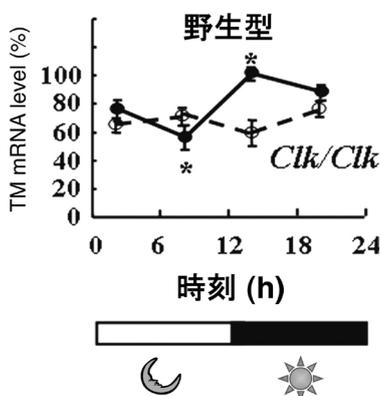


図6 野生型マウスと時計遺伝子変異マウスにおけるトロンボモジュリンの日内リズム  
野生型マウスではトロンボモジュリンの発現に日内リズムが見られ、Clock 遺伝子変異マウスではこの日内リズムは消失していた。(文献21より改変して引用)

点より上流の2ヶ所にE-boxが存在していた。レポーターアッセイ法で時計遺伝子によるTM 遺伝子の転写調節機構を検討した結果、CLOCK-CLIFのヘテロ二量体存在下で転写が促進することや、E-boxへの変異の導入によりこの活性化が起こらなくなることなども確認している<sup>21)</sup>。非常に興味深いのは、マウスの制限給餌による実験でTMの日内リズムは末梢組織の時計遺伝子により制御されていることを示したものである(図7)。このことは、不規則な食事が、血栓を作らないように働く仕組みのリズムを乱す可能性を示すものであり、規則正しい食生活が血栓の予防につながることを示唆するのかもしれない。

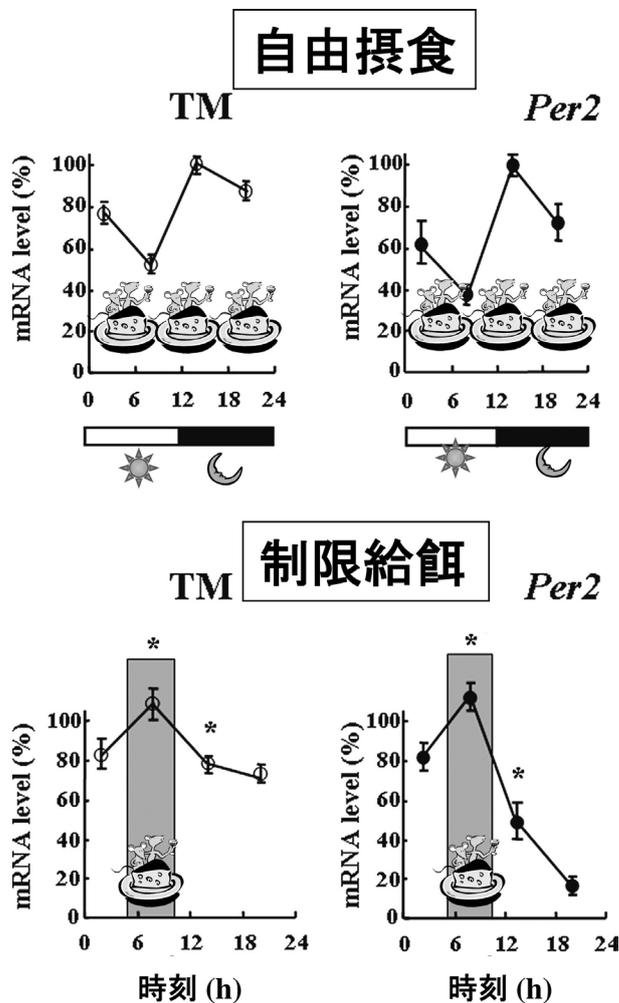


図7 トロンボモジュリンの日内リズムへの摂食の影響  
マウス肺におけるトロンボモジュリン mRNA 発現の日内リズムは、制限給餌によって位相が変化した。(文献21より改変して引用)

## 6.4 血小板

マウスの血小板機能の日内リズムをしらべてみると、血小板の数は一日中ほとんど変化が見られなかった

(図8)<sup>24)</sup>。しかし、マウスの出血時間(出血が止まるまでの時間)には日内リズムがあり、マウスが行動しない時間には、出血が止まりやすいことがわかった(図8)<sup>24)</sup>。出血時間は血小板機能と密接に関連することから、血小板の凝集能を調べたところ、明期の朝9時では、暗期の夜21時と比較して血小板凝集能は著しく高い値を示した(図9)<sup>24)</sup>。*Clock* 遺伝子変異マウスで同様の検討を行ってみると、出血時間は一日を通して短縮し、血小板の凝集活性は高いままであった。この結果から血小板も時計遺伝子の支配を受けており、血小板の凝集能は時計遺伝子の支配を受けて低下する傾向にあることがわかった<sup>24)</sup>。ヒトでは活動期の初めに血小板の機能は増加するようであり、午前中の血栓症の発症と強く関わるといえるが、マウスでは、休息期に活性が高いことがわかった。ヒトとマウスでこのような違いがある理

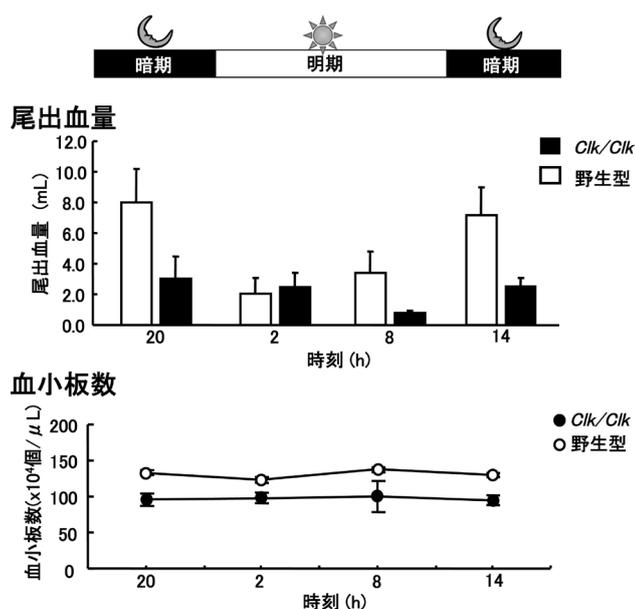


図8 *Clock* 遺伝子変異マウスにおける出血時間と血小板数の日内リズム (文献24より改変して引用)

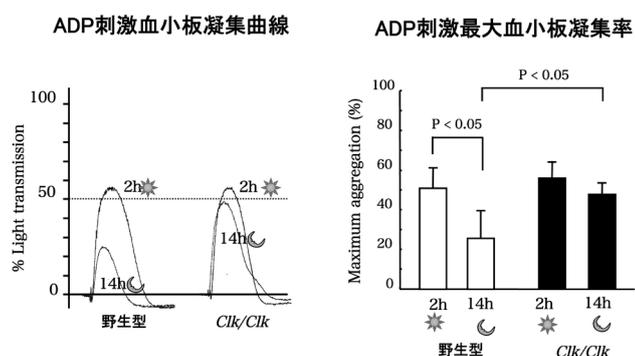


図9 *Clock* 遺伝子変異マウスにおける血小板凝集の日内リズム (文献24より改変して引用)

由はわからないが、マウスでは休息期に攻撃を受けた時にすぐに止血できるような生体防御機構を備えているのかもしれない。

### 7. 糖尿病や肥満などの生活習慣病における血栓症と体内時計

糖尿病や肥満などの代謝異常による生活習慣病では血栓が出来やすい状態になるが、これには血中のPAI-1増加が関与していると考えられる。肥満に伴い血中に増加するインスリン、グルココルチコイド、VLDL、グルコース、中性脂肪や遊離脂肪酸や、肥満・糖尿病に起因する慢性的な炎症状態で分泌されるTNF $\alpha$ やTGF $\beta$ などの炎症性サイトカインによりPAI-1産生は誘導されるためと考えられる。生活習慣病では、血中PAI-1の上昇に加え日内リズムが血栓症発症の引き金になる可能性も考えられる。そこで我々は代謝異常におけるPAI-1発現と体内時計との関連性を解明するため、ストレプトゾトシンを投与して作った糖尿病モデルマウス<sup>25)</sup>やレプチン欠損による肥満マウスモデル(*ob/ob*)<sup>26)</sup>および高脂肪低炭水化物食であるケトンダイエット負荷による代謝異常マウス<sup>27)</sup>を用いて検討を行った(図10)。これらのすべての病態モデルマウスにおいて、心臓、肝臓、脂肪組織などでPAI-1の発現増加が認められ、血中のPAI-1も増加していた。PAI-1は日内リズムを示したまま上昇していることから、生活習慣病などの代謝異常に伴う血栓症発症には、体内時計が関与している可能性が考えられた。そこで、PAI-1遺伝子の日内リズムを直接転写制御している時計分子CLOCKがどのように関与するかについて調べた。STZを投与したマウスではインスリン分泌が低下し高血糖状態となるが、*Clock* 遺伝子変異マウスにSTZを投与しても野生型マウスと同様に高血糖となり糖尿病が誘発された<sup>25)</sup>。この糖尿

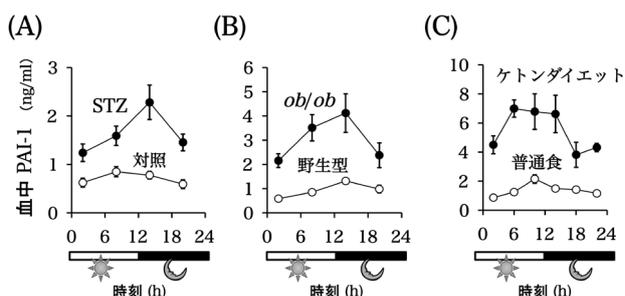


図10 糖尿病モデルマウス(A)、レプチン欠損肥満マウス(B)、ケトンダイエット負荷マウス(C)における血中PAI-1抗原量の日内リズム (文献25,26,27より改変して引用)

病になった *Clock* 遺伝子変異マウスの PAI-1 を調べたところ、野生型マウスで見られたような日内リズムは消失しており、PAI-1 増加も抑制されていた。従って、この糖尿病マウスにおける PAI-1 発現亢進には *Clock* 遺伝子が関与していること、すなわち、体内時計は糖尿病時に発生しやすくなる血栓症に関与していると考えられる。また、肥満とそれによる糖尿病が原因の血栓症と体内時計の関係についても PAI-1 を対象に肥満モデルマウスを使って検討した。この研究では *ob/ob* マウスおよび *ob/ob* マウスと *Clock* 遺伝子変異マウスとの交配を行なって作製した *Clock* 遺伝子の変異した肥満モデルマウス *Clk/Clk;ob/ob* マウスを作製して検討を行った (26)。*ob/ob* マウスでは血中 PAI-1 は日内リズムを持ったまま増加しており、肥満に伴う PAI-1 発現量増加に体内時計が関与している可能性が考えられた。また、*Clk/Clk;ob/ob* マウスは *ob/ob* マウスに比べて肥満が大きいにもかかわらず、血中の PAI-1 濃度は肥満していない野生型マウスと同レベルまで低下していることがわかった (図 11)。肥満や糖尿病患者では血栓症発症の頻度が高いが、我々の結果は、体内時計の存在は血液凝固の日内リズムだけでなく凝固系因子の活性や量にも影響し、これらの患者の血栓症発症にも関わっている可能性を示すといえる。

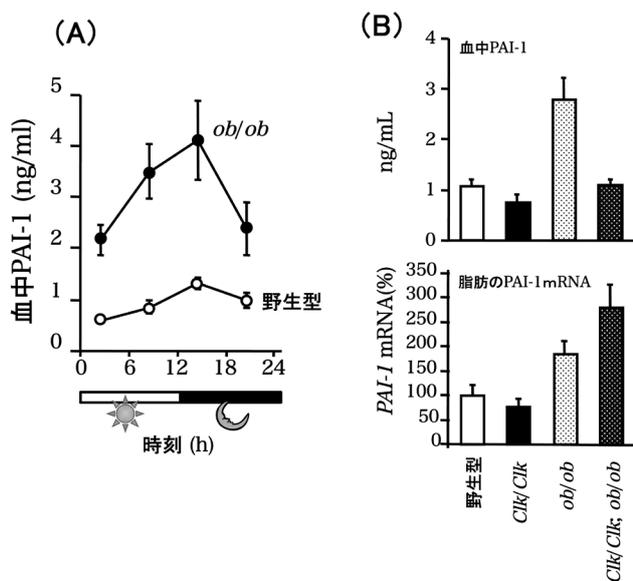


図 11 *ob/ob* マウスの血中 PAI-1 の日内リズム (A)、*Clk/Clk;ob/ob* マウスの血中 PAI-1 濃度と脂肪組織の PAI-1 mRNA (B)  
*ob/ob* マウスでは血中 PAI-1 濃度は日内リズムを持ったまま増加しており、肥満に伴う PAI-1 発現量増加に体内時計が関与している可能性が考えられた。*Clock* 遺伝子変異マウスと *ob/ob* マウスの交配によって作製した *Clk/Clk;ob/ob* マウスでは、脂肪の PAI-1 mRNA 発現量が顕著に増加したにもかかわらず、血中 PAI-1 濃度が野生型レベルにまで低下していた。時計分子である CLOCK が肥満や糖尿病に起因する線溶活性の低下に重要な役割を担う可能性を示すと思われる。(文献 26 より改変して引用)

## 8. 加齢による血栓症と体内時計

「ヒトは血管とともに老いる」と言われるように、加齢は、肥満症や糖尿病などの生活習慣病と同様、血栓症のリスク因子として考えられている。加齢に伴う血栓傾向には、動脈硬化などの血管自体の病態な変化とともに、血液凝固第Ⅲ因子や第Ⅷ因子などの凝固因子の活性亢進や、血液線溶活性の低下が関与しているものと考えられる。著者らは、血液線溶系の阻害因子 PAI-1 の加齢に伴う発現変化について、マウスを使った日内リズムの観点から検討を行った (図 12)<sup>28)</sup>。5 週齢の若齢マウスと、15 カ月齢の中高齢マウスを用いて比較を行ったところ、血中の PAI-1 抗原量については、ともに休息期に低く活動開始時間帯に高い日内リズムが存在し、若齢マウスと中高齢マウスの間には有意な差異が認められなかった。ところが、心臓における PAI-1 遺伝子の mRNA 発現量については、中高齢マウスにおいて有意な高値を示したばかりでなく、昼夜の発現リズムが消失していることが判明した。その一方で、おそらく血中の PAI-1 抗原量を左右しているものと考えられる肝臓での PAI-1 発現については、中高齢マウスで有意に低値を示しており、PAI-1 遺伝子発現に対する加齢の影響が、臓器により特異的に制御されている可能性が示された。心筋梗塞などの心血管障害のリスクが高齢者で高くなることを考えると、加齢に伴う心臓に特異的な PAI-1 発現の増加がこれらの疾患の発症と深く関連する可能性が高い。今後、加齢に伴う心臓に特異的な PAI-1 発現の増加と疾患との関連や、分子メカニズムの解明が期待される。

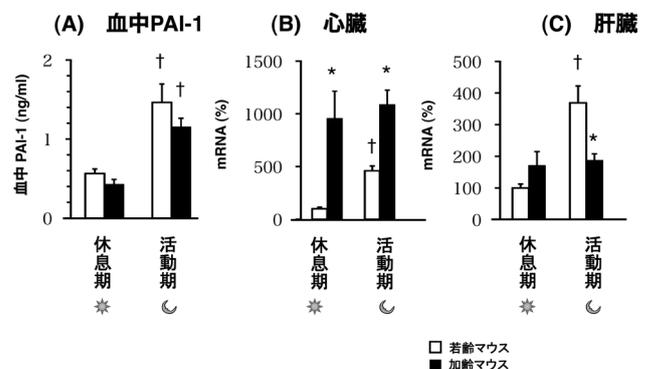


図 12 PAI-1 発現の日内リズムに与える加齢の影響  
 加齢により、若齢マウスで見られた PAI-1 mRNA 発現の日内リズムが消失する。血中 PAI-1 レベルの日内リズムには加齢の影響が認められないが、心臓では恒常的に発現が亢進する。(文献 28 より改変して引用)

## 9. おわりに

血液凝固線溶系に関わる様々な因子が日内リズムを示していることは明らかで、それらが複雑に関りあって血液凝固線溶系全体としての日内リズムを形成していると考えられる。血液凝固線溶系や血小板機能の日内リズムを考慮に入れることが血栓症の予防や治療を行う上で重要であることは間違いなく、血栓症発症の日内リズムを生むメカニズムの解明が望まれる。また、体内時計は日内リズムだけでなく、代謝性疾患や加齢による凝固因子の発現量の調節に関与することも明らかになってきた。今後の研究が進めば、時刻依存的な血栓症の予防や治療のみならず、生活習慣病や加齢に起因した血栓傾向の改善など、体内時計の調整によって行う血栓症の新しい治療や予防が可能になるかもしれない。今後の研究が発展し血栓症の予防や治療に応用されることを期待する。なお、筆者らと共同研究者(女子栄養大学・堀江修一教授)によるこの分野の他の解説も参照頂ければ幸いである<sup>29-32)</sup>。

## 参考文献

- 1) Bilora F, Manfredini R, Petrobelli F, Vettore G, Boccioletti V, Pommeri F : *Panminerva Med.* 43(1):7-10. (2001)
- 2) Cohen MC, Rohtla KM, Lavery CE, Muller JE, Mittleman MA : *Am J Cardiol.* 79(11):1512-1516. (1997)
- 3) Muller JE, Tofler GH, Stone PH : *Circulation.* 79(4):733-743 Review. (1989)
- 4) Gallerani M, Manfredini R, Ricci L, Grandi E, Cappato R, Calo G, Pareschi PL, Fersini C : *Eur Heart J.* 13(5):661-665 (1992)
- 5) Colognesi I, Pasquali V, Foa A, Renzi P, Bernardi F, Bertolucci C, Pinotti M : *Chronobiol Int.* 24(2):305-313. (2007)
- 6) Inoue K : *Disaster Manag Response.* 4(1):25-27. (2006)
- 7) Kario K, Matsuo T, Kayaba K, Soukejima S, Kagamimori S, Shimada K : *J Epidemiol.* 8(3):131-139 (1998)
- 8) Matsuo T, Suzuki S, Kodama K, Kario K : *Int J Hematol.* 67(2):123-129 (1998)
- 9) Oishi K, Miyazaki K, Kadota K, Kikuno R, Nagase T, Atsumi G, Ohkura N, Azama T, Mesaki M, Yukimasa S, Kobayashi H, Iitaka C, Umehara T, Horikoshi M, Kudo T, Shimizu Y, Yano M, Monden M, Machida K, Matsuda J, Horie S, Todo T, Ishida N. *J Biol Chem.* 278(42):41519-41527. (2003).
- 10) Andrews NP, Gralnick HR, Merryman P, Vail M, Quyyumi AA.: *J Am Coll Cardiol.* 28(7):1789-1795. (1996)
- 11) Jafri SM, VanRollins M, Ozawa T, Mammen EF, Goldberg AD, Goldstein S : *Am J Cardiol.* 69(9):951-954. (1992)
- 12) Bremner WF, Sothorn RB, Kanabrocki EL, Ryan M, McCormick JB, Dawson S, Connors ES, Rothschild R, Third JL, Vahed S, Nemchausky BM, Shirazi P, Olwin JH. *Am Heart J.* 39(1 Pt 1):164-73. (2000)
- 13) Deguchi K, Noguchi M, Yuwasaki E, Endou T, Deguchi A, Wada H, Murashima S, Nishikawa M, Shirakawa S, Tanaka K, et al. : *Am J Hematol.* 38(2):86-89 (1991)
- 14) Kapiotis S, Jilma B, Quehenberger P, Ruzicka K, Handler S, Speiser W : *Circulation.* 96(1):19-21 (1997)
- 15) Pinotti M, Bertolucci C, Portaluppi F, Colognesi I, Frigato E, Foà A, Bernardi F : *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 25(3):646-649 (2005)
- 16) Ohkura N, Oishi K, Fukushima N, Kasamatsu M, Atsumi GI, Ishida N, Horie S, Matsuda J : *J Thromb Haemost.* 4(11):2478-2485 (2006)
- 17) Bertolucci C, Pinotti M, Colognesi I, Foà A, Bernardi F, Portaluppi F. *J Biol Rhythms.* 20(3):219-224. (2005)
- 18) Bertolucci C, Pinotti M, Colognesi I, Foa A, Bernardi F, Portaluppi F : *J Biol Rhythms.* 20(3):219-224. (2005)
- 19) Undar L, Ertugrul C, Altunbaş H, Akça S. *Thromb Haemost.* 81(4):571-575. (1999)
- 20) Ohkura N, Oishi K, Sakata T, Kadota K, Kasamatsu M, Fukushima N, Kurata A, Tamai Y, Shirai h, Atsumi G, Ishida N, Matsuda J, Horie S : *Chronobiology International,* 24(4):1-19 (2007)
- 21) Takeda N, Maemura K, Horie S, Oishi K, Imai Y, Harada T, Saito T, Shiga T, Amiya E, Manabe I, Ishida N, Nagai R: *J Biol Chem.,* 282(45):32561-32567 (2007).
- 22) van der Bom JG, Bots ML, Haverkate F, Kluit C, Grobbee DE : *Blood.* 101(5):1841-1844 (2003)
- 23) Oishi K, Shirai H, Ishida N : *J Thromb Haemost.* 5(2):428-431 (2007)
- 24) Ohkura N, Oishi K, Sudo T, Hayashi H, Shikata K, Ishida N, Matsuda J, Horie S. *Thromb Res.* 123(3):523-527 (2009)
- 25) Oishi K, Ohkura N, Amagai N, Ishida N : *FEBS Lett.* 579(17):3555-3559 (2005)
- 26) Oishi K, Ohkura N, Wakabayashi M, Shirai H, Sato K, Matsuda J, Atsumi G, Ishida N : *J Thromb Haemost.* 4(8):1774-1780 (2006)
- 27) Oishi K, Uchida D, Ohkura N, Doi R, Ishida N, Kadota K, Horie S. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 29(10):1571-1577. (2009)
- 28) Oishi K, Koyanagi S, Ohkura N. *Exp Gerontol.* 46(12):994-999. (2011)
- 29) 大石勝隆 血栓止血学会誌 19(1):118-128 (2008)
- 30) 大藏直樹 時間生物学 13(2):8-15 (2007)
- 31) 大石勝隆 ファルマシア 47(7) : 643-647 (2011)
- 32) 堀江修一 時間栄養学(女子栄養大学出版部 2009) 109-135