



Binding of thrombin-activated platelets to a fibrin scaffold through  $\alpha$  IIb  $\beta$  3 evokes phosphatidylserine exposure on their cell surface

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2018-09-14 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: Brzóška, Tomasz メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10271/00003401">http://hdl.handle.net/10271/00003401</a>

## 論文審査の結果の要旨

血小板は活性化に伴い膜表面に phosphatidylserine (PS) を露出し、ビタミン K 依存性凝固因子の活性化の場を提供して血栓形成を促進する。しかし既知の生理的刺激では部分的な露出しか得られず、詳細な機構は明らかでない。医生理学講座では、生体内血栓形成過程の解析により、PS を露出する血小板はフィブリン生成が確認された血栓の中央部にのみ局在する事実を報告した。本研究では血小板膜表面への PS 露出に及ぼす血小板周囲のフィブリン骨格の影響を解析した。

正常ボランティアより得たクエン酸化血液を rhodamine-6G 処理後、多血小板血漿を調整した。組織因子あるいはトロンビン刺激によるフィブリン形成と PS 露出を、蛍光標識 fibrinogen と蛍光標識 annexin V (ANX) を用い共焦点顕微鏡(オリンパス FV1000)にて解析した。いずれの刺激でもフィブリン網の形成と血小板の結合、これに続く血小板膜表面への ANX 結合を認めた。これらはトロンビン阻害薬であるアルガトロバンで阻害された。ANX 結合に先立ち fluo-4/ Fura Red 比の継続的な上昇が確認された。血小板のフィブリンへの結合に関わるインテグリンの  $\alpha_{IIb}\beta_3$  拮抗薬である FK633 は、フィブリン網の形成を抑制せず、PS 露出を抑制した。フィブリン重合を阻害する GPRP ペプチドはフィブリン網の形成と PS 露出を抑制した。血小板のアクチン重合及び骨格変化を抑制するサイトカラシン B は、血小板の形態変化と PS 露出を抑制した。これらの結果よりトロンビン刺激後の血小板膜上への PS 露出には、 $\alpha_{IIb}\beta_3$  を介したフィブリン骨格への結合と、血小板の形態変化に伴い生じる張力による機械的刺激が必須と結論付けた。これをフィブリン内の血小板による血栓形成増幅機構と位置づけた。

審査委員会では、フィブリン骨格への結合により生じる機械的刺激が血小板膜表面への PS 露出に必須であることを初めて明らかにした点を高く評価した。

論文審査担当者 主査 金山 尚裕  
副査 山本 清二 副査 岩城 孝行