

速 報

annexin V の血小板における存在と生理的意義について

秋田大学医学部産科婦人科学教室

設楽 芳宏 柴田 悟史 軽部 彰宏
軽部 裕子 田中 俊誠

Annexin V in Human Platelets and Its Physiological Role

Yoshihiro SHIDARA, Satoshi SHIBATA, Akihiro KARUBE,
Hiroko KARUBE and Toshinobu TANAKA

Department of Obstetrics and Gynecology, Akita University School of Medicine, Akita

Key words: Annexin • Calphobindin • Placental coagulation inhibitor • Platelet

緒 言

胎盤性凝固抑制物質 (calphobindin, annexin V) は胎盤組織から分離, 精製された血液凝固抑制能を有する物質である¹⁾. 本物質はそのほかにも phospholipase A₂ならびに protein kinase C (PKC) に対して抑制的に働くことが知られている. 本研究では, 1. 血小板における annexin V の存在, 2. annexin V の血小板凝集能に対する影響, について検討した.

研究方法

1. 血小板における annexin V の存在; 正常人より得られた洗浄血小板を生理的食塩水 (生食) 中で凍結・融解・超音波処理して破碎した後, 定法に従って Western blot 法を施行した.
2. 凝集反応前後における血小板 annexin V の変動; 洗浄血小板浮遊液 (450 μ l) に, 20 μ M adenosinediphosphate (ADP, 50 μ l) を添加し凝集反応を起こした後, 遠心操作 (3,000rpm 10分

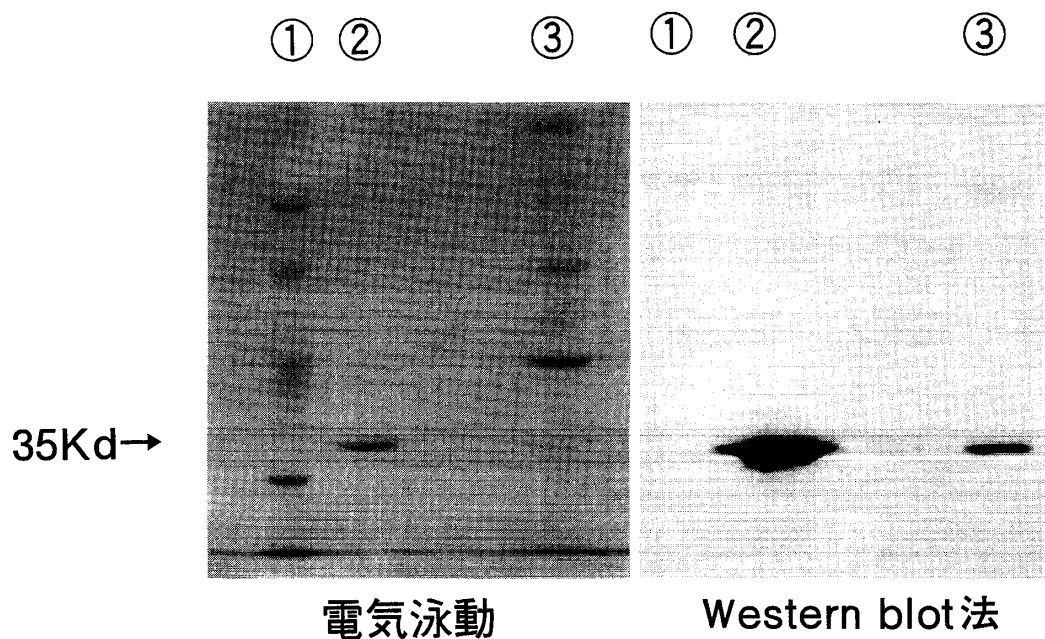


図 1 血小板における annexin V の存在
①分子量マーカー, ② annexin V (0.98 μ g), ③血小板破碎上清 (洗浄血小板数, 20.9 $\times 10^3/\mu$ l)

間)により血小板を回収した。これを phosphate buffered saline に再浮遊させた後、凍結・融解・超音波処理し、ELISA 法²⁾にて血小板破碎液中の annexin V 濃度を測定した。同一の洗浄血小板溶液に ADP の代わりに生食50 μ l を加えた際の血小板 annexin V 濃度を凝集前値とし、凝集前後の値を比較検討した。

研究成績

1. Western blot 法により血小板破碎溶液に抗 annexin V 抗体によるバンド (35Kd) を認めた (図 1)。

2. 凝集反応惹起前と比較して凝集後の血小板破碎液中の annexin V 濃度は有意に ($p<0.005$) 低かった (凝集前; 16.2 ± 6.5 , 凝集後; 11.0 ± 7.2 ng/ml, mean $\pm$ SD, $n=6$) (表 1)。

考 案

annexin V は最近発見された新しいタイプの Ca^{2+} ・リン脂質結合蛋白であり、その生理的機能が次第に明らかにされつつある³⁾。annexin V と血小板との関係については、われわれの知る限り、それが血小板膜表面リン脂質に血液凝固因子が吸着するのを阻害するとの報告⁴⁾がみられるにすぎず、血小板の annexin V の発現・存在ならびに生理的役割に関する報告は見当らない。

われわれは今回の検討により、1. annexin V が血小板にも存在する、2. annexin V 濃度は凝集反応後に血小板中で減少する、ことを初めて明らかにし得た。

annexin V は phospholipase A_2 抑制能を有すること³⁾からプロスタグランジン系への関与も考えられる。血小板凝集能はプロスタサイクリン、トロンボキサン等のプロスタグランジンによっ

表 1 血小板凝集反応前後における annexin V 濃度の変動

	血小板 annexin V 濃度 (ng/ml) *
血小板凝集前	16.2 ± 6.5
血小板凝集後	$11.0\pm7.2^{**}$

*血小板数をそれぞれの症例で $20\times 10^3/\mu$ l に統一して検討した。

(mean $\pm$ SD, $n=6$)

** $p<0.005$

て制御されているため、annexin V は凝集能を調節している可能性も示唆された。また血小板は PKC の豊富な細胞でもあることから⁵⁾、annexin V が情報伝達機構へ関与している可能性も否定できない。この点については、今後検討を重ねていく所存である。

文 献

1. 設楽芳宏. 胎盤性血液凝固阻止物質の分離と精製. 日産婦誌 1984; 36: 2583—2592
2. 中尾裕貴, 名古屋隆生, 才野佑之, 設楽芳宏, 村田 誠, 真木正博. モノクローナル抗体による Calphobindin の測定 (ELISA 法). 血液と脈管 1988; 19: 205—207
3. Raynal P, Pollard HB. Annexins: The problem of assessing the biological role for a gene family of multifunctional calcium- and phospholipid-binding proteins. Biochemica et Biophysica Acta 1994; 1197: 63—93
4. Thiagarajan P, Tait JF. Collagen-induced exposure of anionic phospholipid in platelets and platelet-derived microparticles. J Biol Chem 1991; 266: 24302—24307
5. Murphy CT, Peers SH, Forder RA, Flower RJ, Carey F, Westwiche J. Evidence for the presence and location of Annexins in Human Platelets. Biochem Biophys Res Commun 1992; 189: 1739—1746

(No. 7669 平 7・8・11 受付)