

## ◆トピックス◆

## プラスミノーゲンの欠損マウス

嘉悦 洋\*, 水口 純\*

## Plasminogen Deficient Mice

Hiroshi KAETSU\*, Jun MIZUGUCHI\*

**Key words** : plasminogen deficient mice, fibrin deposition, fibrinolysis, wound healing, cell migration

## はじめに

プラスミノーゲン (plg) は線溶系で重要な働きを示すセリンプロテアーゼ前駆体であり、現在までに次のような知見が得られている<sup>1)</sup>。①成熟型は 791 残基のアミノ酸からなる分子量約 90,000 の 1 本鎖糖タンパク質として合成され、5 つのクリングドメインとプロテアーゼドメインから構成される。②酵素前駆体の plg には、血中において NH<sub>2</sub> 末端にグルタミン酸残基をもつ分子 (Glu-plg)、および NH<sub>2</sub> 末側 77 残基が切り離され、NH<sub>2</sub> 末端にリジン残基をもつ分子 (Lys-plg) が存在し、いずれもウロキナーゼ型 (uPA) と組織型 (tPA) のプラスミノーゲンアクチベータにより Arg<sup>561</sup>-Val<sup>562</sup> の切断を受け活性化されプラスミンとなる。③ tPA と plg は、それぞれクリングドメインに存在するリジン結合部位を介してフィブリンクロット上に効率良く局在化され、活性化反応が進行する。④ uPA とその特異的なレセプター (uPAR) をもつ細胞表面上でも plg は容易に活性化される。⑤生成プラスミンはフィブリンクロットを溶解し、その後  $\alpha_2$  プラスミンインヒビターにより速やかに不活化される。⑥遺伝子は全長約 52.5 kb であり、第 6 染色体 q26-27 に存在し、19 個のエクソンと 18 個のイントロンからな

る。

プラスミンの機能は、フィブリン血栓溶解(線溶)にとどまらず、細胞移動を伴う創傷治癒、腫瘍細胞の浸潤・転移にも関与していると考えられている。また、近年 plg 由来の断片と推定されているアンジオスタチンが、血管新生および癌の転移の抑制に働くとの知見も得られている<sup>2)</sup>。

## プラスミノーゲン欠損マウスから得られる情報

1995 年、Bugge らのグループと Ploplis らのグループは、plg およびその誘導体の、発生、止血、生殖などにおける生理的役割を検証する目的で、プラスミノーゲン欠損 (plg<sup>-/-</sup>) マウスを作出した<sup>3)4)</sup>。plg<sup>-/-</sup> マウスは正常に出産され成体まで生育するが、離乳後の成長遅延や、雌での生殖能低下が認められた。2 カ月齢以降、著しい体重減少と生存率の低下がみられ、その平均生存期間は 176 日であった (正常マウスは 700 日以上生存)<sup>5)</sup>。plg<sup>-/-</sup> マウスの顕著な特徴は重篤な血栓形成である。特に、幼若個体の肝、胃、結腸、直腸、肺、脾などに多数の血栓が生じ、肝でのフィブリン沈着、胃腸管と直腸組織の潰瘍病変などが観察された。プラスミンがプラスミノーゲンアクチベータの活性化に関与していることはよく知られているが、尿中の活性化型

\* (財)化学及血清療法研究所 血液製剤研究部 (〒 860 熊本市大窪 1-6-1) : Blood Products Research Department, The Chemo-Sero-Therapeutic Research Institute

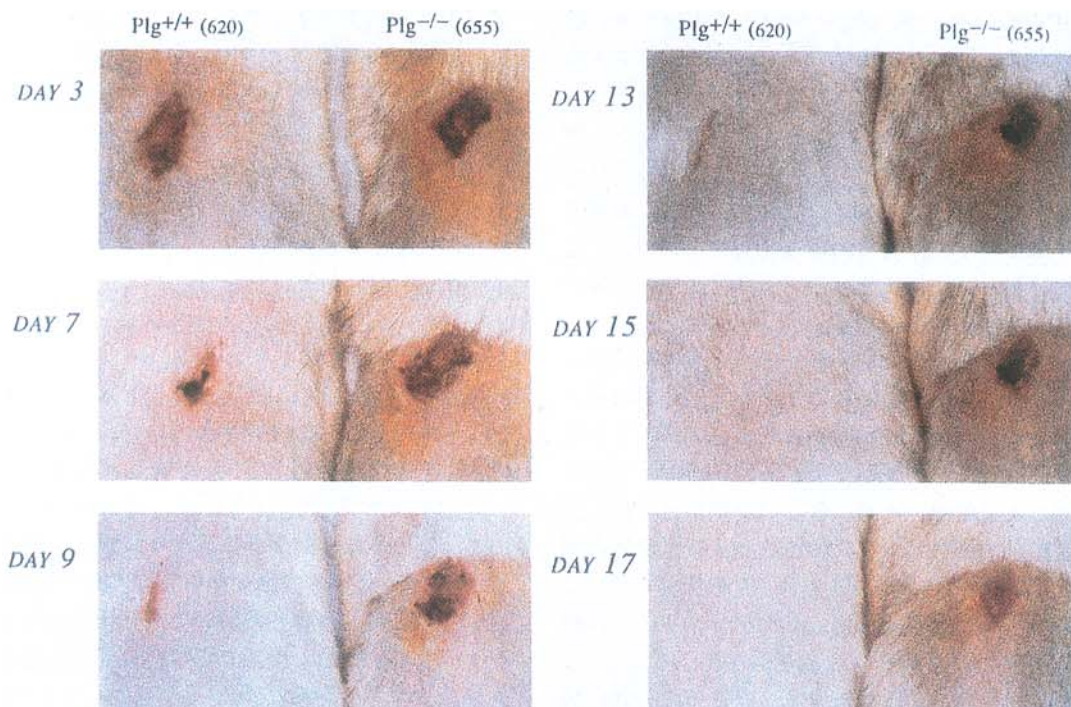


図 1 プラスミノージェン欠損マウス (*plg*<sup>-/-</sup>) と対照マウス (*plg*<sup>+/+</sup>) の皮膚創傷治癒での比較 (文献 7 より引用)

*plg*<sup>+/+</sup> および *plg*<sup>-/-</sup> の典型的な治癒過程を示す。 *plg*<sup>+/+</sup> が 13~15 日目ではほぼ完治しているのに比べ、 *plg*<sup>-/-</sup> は 17 日経過しても治癒されていない。(転載許可取得)

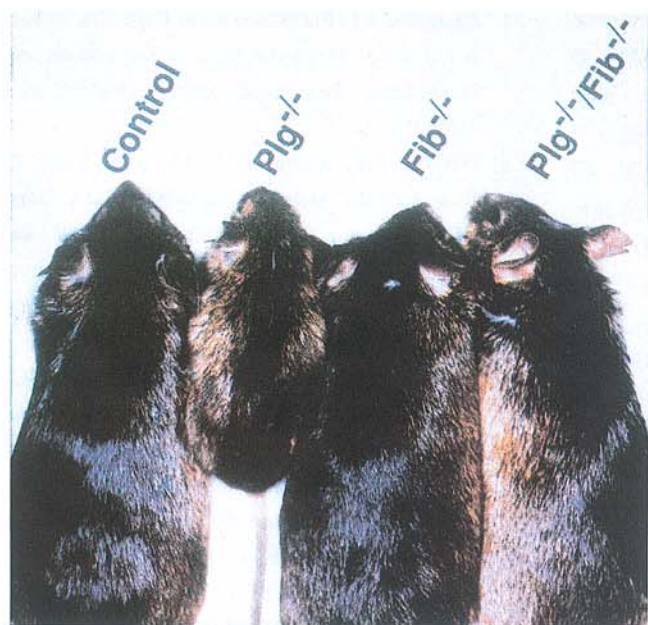


図 2 7 カ月齢での対照 (control), *plg*<sup>-/-</sup>, *fbg*<sup>-/-</sup>, および *plg*<sup>-/-</sup>/*fbg*<sup>-/-</sup> マウスの典型的な外観 (文献 5 より引用)

*plg*<sup>-/-</sup> マウスは 2 カ月齢までは正常な体重増加を示すが、4 カ月後には重篤な体重減少が観察され、6 カ月齢以降では対照マウスの 2/3 以下の体重となる。 *plg*<sup>-/-</sup>/*fbg*<sup>-/-</sup> マウスは、1 年以上観察しても、対照マウスおよび *fbg*<sup>-/-</sup> マウスと同様に正常な体重増加を示す。(転載許可取得)

uPA のレベルが、 $plg^{-/-}$  マウスで影響を受けない点は注目すべき発見である。 $plg^{-/-}$  マウスの血栓溶解能の低下は、血漿クロットを静注して作製した肺塞栓モデルからも確認されるが、精製マウス  $plg$  のボラス投与で血栓溶解能は回復する<sup>6)</sup>。従って、 $plg$  は線溶系において重要な役割を果たすものの、uPA 前駆体の活性化、発生、および性的成熟への成長過程に対しては必須でないと考えられる。

$plg$  の活性化は細胞外マトリックスの分解を伴い、創傷治癒をはじめとする組織の再構築に関与していることが提唱されているが、それを直接明確に示す証拠はなかった。 $plg^{-/-}$  マウスでは皮膚創傷の治癒に著しい遅延が見られ、皮膚創傷の正常な修復における  $plg$  の要求性が明らかにされている (図 1)<sup>7)</sup>。皮膚傷害モデルにおける創傷治癒の遅延は、ケラチノサイトの移動障害と関連していると考えられ、これは  $plg$  が癌の浸潤など細胞外マトリックスの分解に関与する他の病態においても中心的役割を演ずるとした従来の仮説を支持する。

更に、動脈壁傷害後の平滑筋細胞の応答における  $plg$  の役割も明らかにされた<sup>8)</sup>。マウス大腿動脈に電気傷害を与えその後の治癒過程を評価する内膜肥厚モデルにおいて、野生型マウス ( $plg^{+/+}$ ) は血栓溶解、一時的な炎症性細胞の浸潤、および壊死組織片・血栓の除去という過程をとる。これらの局所解剖では、傷害を受けない境界部由来の平滑筋細胞による中膜層の再形成、新生内膜への蓄積、壊死中心への進展が観察される。一方、 $plg^{-/-}$  マウスでは創傷治癒が有意に障害されており、白血球浸潤の低下、壊死組織片除去の遅延、平滑筋細胞蓄積の低下、内膜肥厚形成の減少が観察される。平滑筋細胞は傷害部と非傷害部の境界には蓄積するが、壊死中心への移動は認められない。平滑筋細胞の増殖は  $plg$  欠損で影響を受けず、また、再内皮化には遺伝子型による差はないことから、 $plg$  は細胞移動に影響を及ぼすことにより、傷害を受けた後の血管の創傷治癒および動脈の内膜肥厚形成に重要な役割を果たしていると考えられる。

$plg$  とフィブリノーゲンの両分子を欠損した

ダブルノックアウトマウス ( $plg^{-/-}/fbg^{-/-}$ ) では、細胞の周囲にフィブリン沈着が形成されないため、 $plg$  欠損による体重減少、生存率低下および病理学的異常等の種々の障害が緩和されるとともに、創傷の治癒時間も補正される<sup>9)</sup>。 $plg$  とフィブリノーゲンの両者を欠損したマウスは、表現型としてはフィブリノーゲン欠損マウス<sup>9)</sup> と区別がつかない (図 2)。

### おわりに

以上を要約すると、①  $plg$  の欠損は重篤な血栓症を引き起こし、致死性も高いが、発生や生殖への影響は小さい。② フィブリンの沈着はプラスミノゲン/プラスミン系に強く依存している。③  $plg$  は皮膚創傷の正常な修復に必要である。④  $plg$  は細胞移動に関与し、血管の創傷治癒および動脈の内膜肥厚形成に重要な役割を果たす。⑤  $plg$  欠損マウスで見られる創傷治癒の遅延および各種障害には、フィブリノーゲン(フィブリン)が必須である。

謝辞: 御校閲を戴きました岩永貞昭先生(藤田保健衛生大学客員教授)に深謝いたします。

### 文 献

- 1) Castellino FJ: Plasminogen, in High KA, Roberts HR (eds): Molecular Basis of Thrombosis and Hemostasis. New York, Marcel Dekker, Inc., 1995, 495-515.
- 2) O'Reilly MS, Holmgren L, Shing Y, Chen C, Rosenthal RA, Moses M, Lane WS, Cao Y, Sage EH, Folkman J: Angiostatin: A novel angiogenesis inhibitor that mediates the suppression of metastasis by a Lewis lung carcinoma. *Cell* 79: 315-328, 1994.
- 3) Bugge TH, Flick MJ, Daugherty CC, Degen JL: Plasminogen deficiency causes severe thrombosis but is compatible with development and reproduction. *Genes Dev* 9: 794-807, 1995.
- 4) Ploplis VA, Carmeliet P, Vazirzadeh S, Van Vlaenderen I, Moons L, Plow EF, Collen D: Effects of disruption of the plasminogen gene on thrombosis, growth, and health in mice. *Circulation* 92: 2585-2593, 1995.
- 5) Bugge TH, Kombrinck KW, Flick MJ, Daugherty

- ty CC, Danton MJS, Degen JL: Loss of fibrinogen rescues mice from the pleiotropic effects of plasminogen deficiency. *Cell* **87**: 709-719, 1996.
- 6) Lijnen HR, Carmeliet P, Bouché A, Moons L, Ploplis VA, Plow EF, Collen D: Restoration of thrombolytic potential in plasminogen-deficient mice by bolus administration of plasminogen. *Blood* **88**: 870-876, 1996.
- 7) Rømer J, Bugge TH, Pyke C, Lund LR, Flick MJ, Degen JL, Danø K: Impaired wound healing in mice with a disrupted plasminogen gene. *Nat Med* **2**: 287-292, 1996.
- 8) Carmeliet P, Moons L, Ploplis V, Plow E, Collen D: Impaired arterial neointima formation in mice with disruption of the plasminogen gene. *J Clin Invest* **99**: 200-208, 1997.
- 9) Suh TT, Holmbäck K, Jensen NJ, Daugherty CC, Small K, Simon DI, Potter SS, Degen JL: Resolution of spontaneous bleeding events but failure of pregnancy in fibrinogen-deficient mice. *Genes Dev* **9**: 2020-2033, 1995.
-