血栓止血誌 2017; 28(3): 421-428

細胞膜リン脂質のスクランブルと血液凝固

Phospholipid scrambling in the regulation of blood coagulation

山崎泰男*
Yasuo YAMAZAKI

山崎泰男

2003年
明治薬科大学薬学研究科博士課程修了
2004年
明治薬科大学薬学部助手
2009年
スウェーデン・ウメオ大学博士研究員
2014年
同・ヨーテボリ大学博士研究員
2016年
国立循環器病研究センター分子病態部血栓止血研究室室長

Key words: Vitamin K-dependent coagulation factors, cellular membrane, phosphatidylserine, scramblase

Points

①血液凝固反応は，ビタミンK依存性凝固プロテアーゼ前駆体の逐次的な活性化によって引き起こされる．
②凝固プロテアーゼの活性化は液相中でも起こりうるが，ホスファチジルセリンなどの酸性リン脂質の添加により，その反応は爆発的に加速される．
③通常，酸性リン脂質は細胞膜内層に局在していて，細胞外にはほとんど露出していない．
④ホスファチジルセリンなどの酸性リン脂質の細胞膜表面への露出を担う分子TMEM16Fが同定された．
⑤TMEM16Fは細胞膜リン脂質の双方向への輸送にかかわるスクランブラーゼ本体，もしくはその構成因子で，TMEM16Fが存在しないと生体内での血液凝固能は著しく低下する．

1. 血液凝固と細胞膜

血管が損傷を受けると，血液に存在するビタミンK依存性血液凝固因子が逐次的に活性化され，最終的に不溶性のフィブリンを生じることで，血液は凝固する[1)]．この一連の反応は液相中でも進行するが，細胞膜の主要成分であるリン脂質を添加することによって爆発的に加速する．すなわち血液凝固は細胞膜をその反応の場として必要とする．ビタミンK依存性血液凝固因子は，Glaドメインと呼ばれるγ-カルボキシルグルタミン酸残基に富むN末端領域を介してリン脂質に結合する(**図1**)．その相互作用には，ホスファチジルセリンやホスファチジルエタノールアミンなどの酸性リン脂質の存在が必須である(**図1**)．真核細胞の細胞膜は脂質二重層によって構成されており，リン脂質成分は細胞内外の層に非対称に分布している．主要な細胞膜リン脂質であるホスファチジルコリンは，細胞膜両側に局在している．一方，血液凝固に必要な酸性リン脂質は，通常は細胞膜内層に局在していて，細胞表面にはほとんど露出していない[2, 3)]．すなわち細胞膜表面は通常の状態では血液凝固の場になり難い．一方，アポトーシスの誘導などによって細胞膜リン脂質の非対称性

*責任者連絡先：
国立循環器病研究センター分子病態部
〒565-8565　大阪府吹田市藤白台5丁目7番1号
Tel: 06-6833-5012，Fax: 06-6835-1176
E-mail: yasuo.yamazaki@ncvc.go.jp

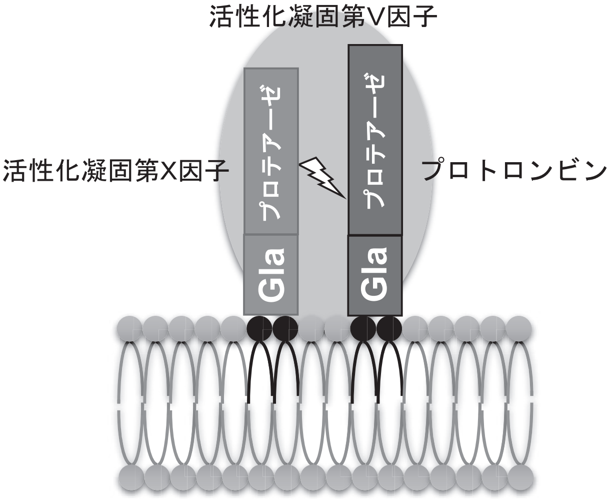

図 1　血液凝固カスケードは細胞膜上で進行する凝固プロテアーゼの活性化機構の一例を示す．活性化凝固第 X 因子は，補助因子である活性化凝固第 V 因子および酸性リン脂質依存的にその基質プロトロンビンと細胞膜上で会合し，プロテアーゼドメインの限定分解によりプロトロンビンを活性化する．X 因子およびプロトロンビンは，N 末端の Gla ドメインを介して細胞膜表面に存在する酸性リン脂質（黒色）と相互作用する．通常，酸性リン脂質は細胞膜の内側に保たれているので，血液凝固反応が進行するためには酸性リン脂質が内層から外層へ輸送される必要がある．

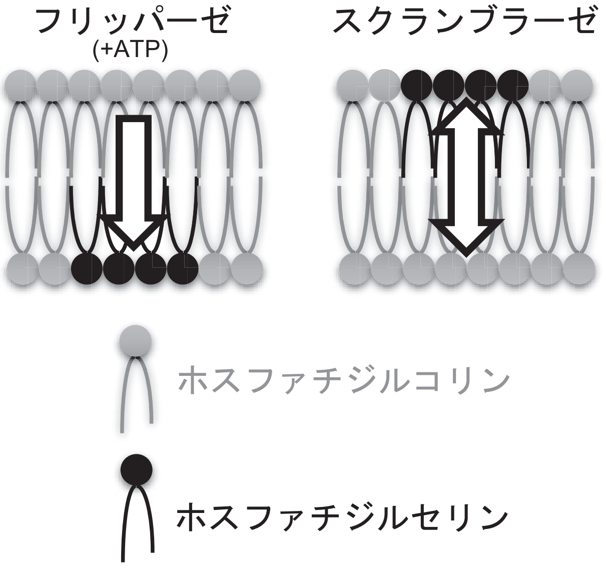

図 2　細胞膜リン脂質の輸送機構
細胞膜脂質二重層には，多様なリン脂質が非対称に分布している．リン脂質の非対称分布はいくつかの脂質輸送分子によって保たれていると考えられている．フリッパーゼは，細胞膜外層に存在するホスファチジルセリンを ATP 依存的に細胞膜内層に輸送する．一方，スクランブラーゼは，種々のリン脂質を内外双方向に輸送する．スクランブラーゼは Ca^{2+} 依存的であるが，ATP は必要としない．

が破られ，細胞膜外層にホスファチジルセリンが露出すると，細胞膜表面は凝固反応に促進的になる．近年，ホスファチジルセリンがどのような機構で細胞膜の内層から外層に輸送され血液凝固の場を提供するのか，そのメカニズムが次第に明らかになってきた．すなわち，これまで明らかにされてきた凝固因子レベルでの血液凝固反応の制御に加え，ホスファチジルセリンなどの酸性リン脂質の露出による制御機構の存在が明らかにされつつある．本稿ではその最新の知見について紹介したい．

2. 細胞膜リン脂質の非対称分布 —フリッパーゼとスクランブラーゼ—

脂質二重層におけるホスファチジルセリンの非対称分布は，フリッパーゼとスクランブラーゼと呼ばれる脂質輸送酵素によって保たれていると考えられている（**図 2**）[2, 3]．フリッパーゼは，ホスファチジルセリンを外層から内層に輸送し，一方，スクランブラーゼは Ca^{2+} 依存的に種々の細胞膜リン脂質を内外双方向へ輸送する．前述の通りホスファチジルセリンは通常，細胞膜内側に局在しているが，アポトーシスが誘導されると細胞膜表面に露出される[3]．露出したホスファチジルセリンは，マクロファージによるアポトーシス細胞の貪食のための目印となることが知られていたが，その露出メカニズムは不明であった．京都大学の長田らのグループ（現所属は大阪大学）は，アポトーシス誘導時におけるホスファチジルセリンの露出メカニズムを明らかにする目的で，ホスファチジルセリンを露出しやすい細胞株を樹立し，そのメカニズムの解明に迫った[4–6]．

3. ホスファチジルセリンを露出しやすい細胞の樹立と TMEM16F の同定

Ba/F3 細胞を Ca^{2+} イオノフォア A23187（1 μM）で処理することで細胞内 Ca^{2+} 濃度を上げると，ホスファチジルセリンは細胞の外側に露出される．すな

表 1 TMEM16 ファミリーとその分子機能

	スクランブラーゼ	Cl^- チャネル	分布
TMEM16A		○	多様な臓器
TMEM16B		○	目
TMEM16C	○		脳
TMEM16D	○		卵巣・子宮
TMEM16E			骨・筋肉
TMEM16F	○	相反する報告有り	ユビキタス
TMEM16G	○		胃
TMEM16H			ユビキタス
TMEM16J	○		腸
TMEM16K			ユビキタス

わち Ca^{2+} の細胞内への流入のみによって，Ba/F3 細胞はホスファチジルセリンを露出する．しかしながらこの条件では（おそらくは過剰な Ca^{2+} 流入によって）細胞は死滅してしまう．ところがおもしろいことに，同様の実験を Ca^{2+} を含まない培地中で行うと，細胞はホスファチジルセリンを細胞外側へ露出するも，ほとんどの細胞は生存したままになる．一方，BAPTA-AM によって細胞内 Ca^{2+} をキレートしてしまうと，A23187 に暴露しても細胞はホスファチジルセリンを露出しない．すなわち，A23187 によるホスファチジルセリンの露出には細胞内 Ca^{2+} の動員が必須であることを示している．このプロセスは可逆的であったこと，さらに細胞を生きたままに保つことができることから，彼らは A23187 による細胞刺激とホスファチジルセリン露出細胞の単離という手順を繰り返すことで，A23187 に高感受性の細胞，すなわちホスファチジルセリンを露出しやすい細胞を樹立した．この細胞（Ba/F3-PS19：上述の操作を 19 回繰り返した Ba/F3 細胞）は，親株（Ba/F3-PS0 細胞）では応答しない低濃度（125 nM）の A23187 にも反応してホスファチジルセリンを細胞の外側へ露出する．

さて Ba/F3-PS19 細胞には親株に比べてどのような変化がおきたのだろうか？　以下の二つの可能性が考えられた：1．ホスファチジルセリンを細胞膜内側に維持する形質を失った，もしくは2．ホスファチジルセリンを露出しやすくなる形質を獲得した．そこで彼らは Ba/F3-PS19 細胞と親株の融合細胞を調製し，そのホスファチジルセリン露出能について調べた．融合細胞はホスファチジルセリンを露出しやすい Ba/F3-PS19 細胞様の性質を示したことから，Ba/F3-PS19 細胞はフリッパーゼ活性を失ったのではなく（その場合，親株との融合によってフリッパーゼ活性は補填されるはず），スクランブラーゼ活性が上昇することで，ホスファチジルセリンを露出しやすくなる形質を獲得したと考えられた．そこで彼らはホスファチジルセリンを露出しやすくしている分子を同定するため，Ba/F3-PS19 細胞の cDNA ライブラリーをスクリーニングした．その結果，*Tmem16f* cDNA が導入された細胞は，A23187 の刺激がない状態でもホスファチジルセリンが露出されていることを見出した．TMEM16F は 8 つの膜貫通ドメインを持つ膜タンパク質で，類似構造を持つ TMEM16A は Ca^{2+} 活性化 Cl^- チャネル活性を有することが報告されている（**表 1**）[7–9]．TMEM16F を培養細胞に異所性発現させると細胞膜に局在することから，ホスファチジルセリンの露出を担う分子として妥当な細胞内局在であると考えられた．Ba/F3-PS19 細胞に同定された *Tmem16f* cDNA には，アミノ酸の変異を伴う 1 塩基の変異（Asp409Gly）があったことから，野生型との機能的な差異を調べた．Annexin V を用いてホスファチジルセリンの露出を調べると，野生型導入細胞には Annexin V の結合性は見られないものの，Asp409Gly 変異を導入した細胞には高い結合性が見られた．変異型によるホスファチジルセリンの露出は，BAPTA-AM によって細胞内 Ca^{2+}

をキレートすることで完全に抑制できることから，変異型 TMEM16F は Ba/F3-PS19 細胞のホスファチジルセリン露出を担う分子本体，もしくはその構成因子であると考えられた．一方，野生型導入細胞も A23187 で刺激すると，未導入細胞に比べて速やかにホスファチジルセリンを細胞表面に露出する．以上の結果から，野生型にもホスファチジルセリンの露出促進効果があり，TMEM16F^{Asp409Gly} は高 Ca^{2+} 感受性を獲得した機能亢進型変異であると考えられた．

4. TMEM16F による他の細胞膜リン脂質の輸送

さて，TMEM16F はホスファチジルセリンの露出のみを担っているのだろうか？　彼らは他の細胞膜リン脂質の輸送に対する TMEM16F の影響について調べている[4]．まず，ホスファチジルセリンと同様に血液凝固反応を促進するホスファチジルエタノールアミンについて調べた．ホスファチジルエタノールアミンは，ホスファチジルセリンと同様に通常は細胞膜内側に局在している．その結果，ホスファチジルエタノールアミンもホスファチジルセリンと同様に TMEM16F 依存的に細胞表面に露出することが判明した．さらに彼らは主に細胞膜外側に存在するリン脂質であるホスファチジルコリンやスフィンゴミエリンも TMEM16F 依存的に細胞膜内側に取り込まれることを確認した．すなわち TMEM16F は，細胞膜リン脂質を内外双方向に輸送するスクランブラーゼ本体，もしくはその構成因子の一つであると考えられた[4]．

5. Scott 症候群と TMEM16F

Scott 症候群と呼ばれる血液凝固異常症がある[10]．同疾患患者の血小板や白血球細胞は，イオノフォア刺激に対してホスファチジルセリンを露出しない[11, 12]．すなわち凝固活性が著しく低下している．彼らは同疾患が *TMEM16F* 遺伝子の異常によるものではないかと考え，その mRNA の配列を解析した．野生型の *TMEM16F* 遺伝子は 20 個のエキソンから構成されるが，同患者の細胞から調製した TMEM16F mRNA はエキソン 13 に相当する配列 226 塩基を完全に欠失していた．*TMEM16F* 遺伝子の全ゲノム構造を決定すると，エキソン 13 のスプライシング受容部位にホモ接合変異を有していた(**図 3**)．すなわち，エキソン 13 が正常にスプライシングを受けずにスキップされてしまうことで，以降の翻訳フレームに停止コドンが生じ，完全な TMEM16F タンパク質が生合成されないことが Scott 症候群の原因であると考えられた(**図 3**)．さらに直接的に血液凝固に対する影響を調べるため，同グループは血小板(巨核球)特異的な TMEM16F 欠損マウスを作成した[13]．マウス血小板では，ヒト血小板と同様に，他の TMEM16 ファミリー分子に比べて TMEM16F を高発現している．血小板を A23187 もしくは生理的な血小板アゴニストであるコラーゲンおよびトロンビンで刺激すると，野生型由来の血小板はホスファチジルセリンを細胞表面に露出する．一方，TMEM16F 欠損マウス由来の血小板は，これらの刺激にほとんど応答しない．さらに TMEM16F 欠損血小板を用いてその凝固亢進活性を評価すると，野生型に比べトロンビン生成量は減少しており，*in vivo* での血栓形成能も TMEM16F 欠損マウスでは著しく低下していた．すなわち TMEM16F 欠損マウスでは，ホスファチジルセリン露出能の低下により血液凝固能が著しく低下していると考えられた[13]．一方，血小板アゴニストに対する ATP の放出量や P-selectin の発現量は，野生型と欠損型とでは違いは見られない．すなわち TMEM16F は血小板の活性化には直接的には関与していないと考えられる．活性化血小板は，マイクロパーティクルと呼ばれる微小ベシクルを放出す

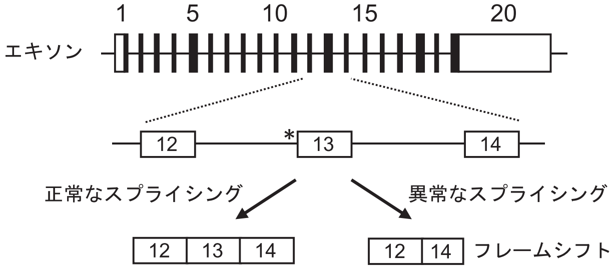

図 3　Scott 症候群は *TMEM16F* 遺伝子のスプライシング異常に起因する
Scott 症候群の患者は，*TMEM16F* 遺伝子エキソン 13 のスプライシング受容部位に点変異を持っている．これによりエキソン 13 が正常にスプライシングされず，以降の mRNA 塩基配列にフレームシフトを伴う停止コドンを生じる．

る(**図4A**).マイクロパーティクルは血小板細胞膜由来のベシクルで,血小板顆粒などを内含しており生体における止血反応の一端を担っている[14–16].Scott症候群の患者ではマイクロパーティクルの放出量が減少しているとの報告があることから[17],TMEM16Fがマイクロパーティクルの形成・放出を担っていると予想された.実際に,A23187刺激によるマイクロパーティクル放出は,TMEM16F欠損血小板ではほとんど起こらない[13].電子顕微鏡で血小板の形態を確認すると,野生型ではA23187刺激によって直ちに血小板膜に棒状の突出構造が現れ,数分でマイクロパーティクルが形成・放出される(**図4B**).一方,TMEM16F欠損血小板では,未刺激時の細胞形状および刺激時に見られる棒状の突出構造は野生型と同様に観察されるものの,引き続くマイクロパーティクルの形成・放出は全く観察されない.すなわち,血小板膜からのマイクロパーティクルの切り出しには,TMEM16Fによるスクランブラーゼ活性が必要であると考えられた.以上の結果は,TMEM16Fが細胞膜の大きな構造変化をも担っている可能性があることを示唆していて興味深い.

6. TMEM16ファミリーとスクランブラーゼ活性

これまで述べてきた通りTMEM16Fはスクランブラーゼ本体もしくはその構成因子の一つであることが明らかになってきた.他の相同分子にも同様の機能があるのだろうか？ TMEM16ファミリーにはTMEM16Fを含め10種の相同分子が存在する(**表1**).TMEM16F欠失細胞に各分子を導入しスクランブラーゼ活性の有無を調べてみると,TMEM16C,TMEM16D,TMEM16GおよびTMEM16Jを導入した細胞にもCa^{2+}依存性のスクランブラーゼ活性が観察されるが,それぞれ異なるリン脂質選択性を示す[18].血液凝固に重要なホスファチジルセリンを細胞表面に露出させる活性は,TMEM16Fに加えTMEM16D,TMEM16J,およびTMEM16G導入細胞にも観察されるが,TMEM16Cには検出されない.TMEM16Fはユビキタスに発現しているのに対し,他のスクランブラーゼ活性を示す分子は臓器特異的な発現を示す(**表1**)[18].これらの分子の凝固反応への寄与については検討されていない.同ファミリー分子のうち最も早くに機能解析がなされたTMEM16AおよびTMEM16BはCl^-チャネル活性を有している[7–9].その他のメンバーのうちTMEM16Fを除いてCl^-チャネル活性は検出されない.TMEM16FのCl^-チャネル活性については相反する報告がある[19]ので慎重に判断しなければならないが(**表1**),少なくともスクランブラーゼ活性とCl^-チャネル活性は機能的に分離しているようだ.

7. リン脂質の輸送メカニズム

さて,リン脂質は細胞膜の内層から外層へ(もしくはその逆方向へ)どのようにして輸送されるのだろうか？ リン脂質は親水性の頭部と疎水性の尾部から構成される(**図5A**).脂質二重層では疎水性の尾部が互いに会合し,親水性頭部を二重層の外側に向けている.ホスファチジルセリンがスクランブラーゼによって細胞膜内層から外層へ輸送されるには,親水性の頭部が疎水性の二重層を横切る必要がある.残念ながら,現時点では輸送メカニズムに関する明瞭な答えは得られていない.最近,子嚢菌*Nectria haematococca*由来のTMEM16(nhTMEM16)の結晶構造が報告された(ヒトTMEM16ファミリーの結晶構造は未報告)[20].BethelとGrabeは同構造をもとにして,TMEM16ファミリーがいかにしてスクランブラーゼとして機能しうるかについて分子動力学的シミュレーションを行っている[21].同論文では,POホスファチジルコリン(POPC: 1-Palmitoyl-2-oleoyl-ホスファチジルコリン)を標準的な細胞膜リン脂質としてシミュレーションに用いている.nhTMEM16は,ヒトTMEM16Fと同様に,ホモ二量体を形成する.通常の膜タンパク質の場合と同様に,nhTMEM16の膜貫通領域の大部分は疎水性(灰色)の高い構造に占められているが,その分子側方にリン脂質膜の内外を繋ぐ親水性(青色)の"溝"が存在する(**図5B,C**赤矢印).興味深いことに,シミュレーションによって得られた細胞膜はこの溝を中心として内側にねじれた構造をしていて,他の領域に比べ細胞膜が36%薄くなっている(**図5B,C**).詳細な全原子分子動力学シミュレーションの結果,POPCはこの"近道"を通って,その分子構造を反転しながらリン脂質膜内外へ移動する可能性が示された.移動中のPOPC

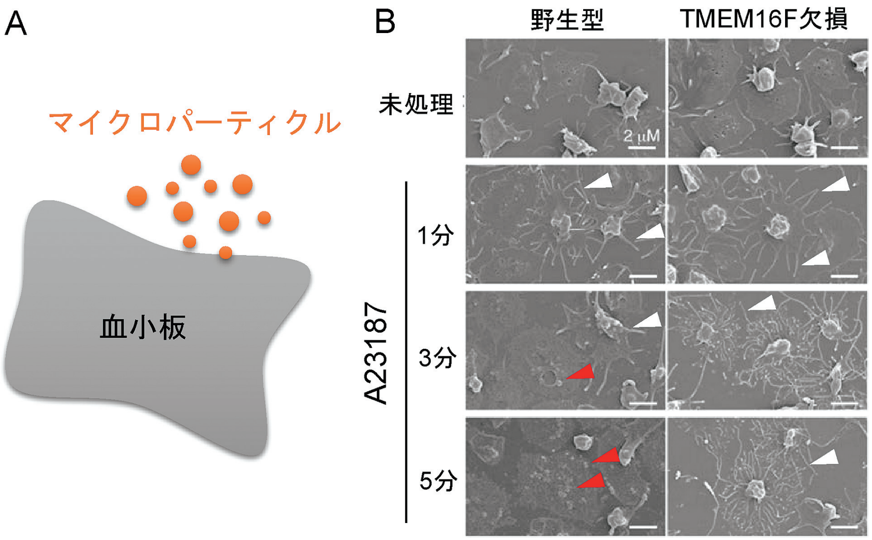

図 4 TMEM16F は血小板からのマイクロパーティクルの形成・放出に必須である
(A)マイクロパーティクルは，血小板膜から放出される直径 0.2 ミクロン以下の微小ベシクルである．内部には血小板顆粒などを含んでいて，止血反応に促進的に働くと考えられている．(B)血小板をカルシウムイオノフォア A23187 で処理すると，直ちにその形態を変化させる．棒状の突起が細胞膜から伸展し(白矢印)，数分後にはそこからマイクロパーティクルが生じる(赤矢印)．一方，TMEM16F 欠損血小板では，棒状突起は生じるもののマイクロパーティクルは形成されない．B は文献 13)の図を改変して引用した．

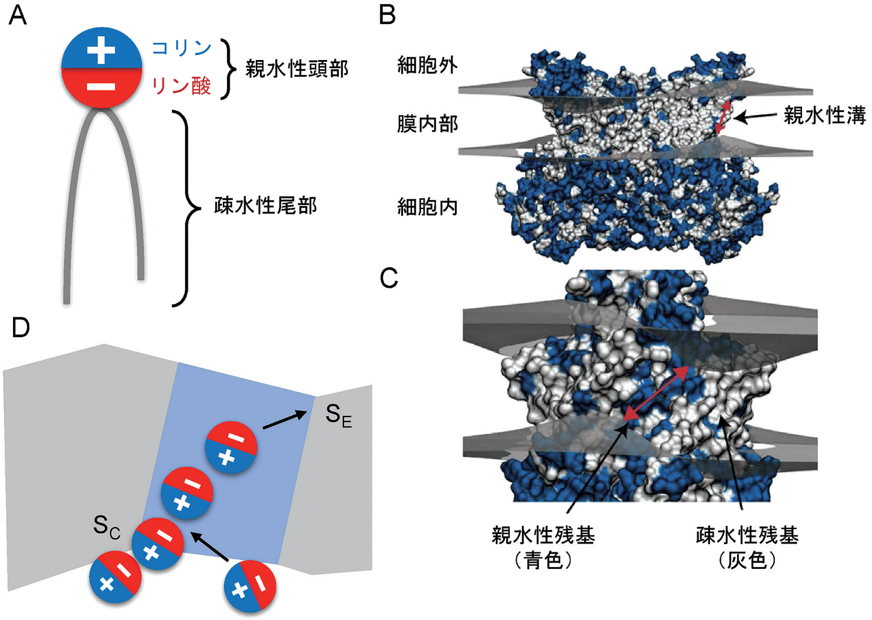

図 5 全原子分子動力学シミュレーションで示唆された TMEM16F によるリン脂質輸送メカニズム
(A)PO ホスファチジルコリン(POPC)の模式構造．POPC の親水性頭部は，さらにコリン部分とリン酸部分に分けることができる．コリン部分は正に荷電しているのに対し，リン酸部分は負に荷電している．(B)*Nectria haematococca* 由来の TMEM16(nhTMEM16)の結晶構造を用いたシミュレーションで得られた周辺の細胞膜構造．TMEM16F の分子表面モデルは，疎水性部分を灰色，親水性部分を青色で着色している．細胞膜は外膜表面と内膜表面のみを表示している．TMEM16F の細胞膜貫通部分はそのほとんどが疎水性であるが，側方に膜内外を繋ぐ親水性の溝がある(赤矢印)．(C)B を 90 度時計回りに回転した図．親水性の溝(赤矢印)を中心に細胞膜がねじれている．POPC のみで構成された細胞膜の厚みは 28.5Å であるのに対して，この部分は 18.3Å しかない．(D)全原子分子動力学シミュレーションによって得られた TMEM16F による POPC の輸送メカニズム．詳細は本文参照．B–D は文献 21)の図を改変して引用した．

のエネルギー障壁はかなり小さいことから，この溝の中ではリン脂質は比較的安定であると考えられた．この溝構造を詳細に見てみると，その両端の出入り口にはそれぞれ一対の酸性および塩基性アミノ酸残基が位置している（細胞膜内側をS_C部位，外側をS_E部位と呼ぶ）．POPCの親水性頭部は，リン酸部分（マイナスに荷電）とコリン部分（プラスに荷電）に分けることができる．すなわちPOPCの親水性頭部は静電気的に二極化している．シミュレーションによると，溝周辺に存在するリン脂質はその頭部の二極構造の向きをS_C部位によって調整しながら，膜内部に向けて積み重ねられていく（**図5D**）．膜内部に送り込まれたリン脂質は，最終的にS_E部位まで輸送されスクランブルは完了する[21]．しかしながら，ホスファチジルセリンの親水性頭部は二極構造を有していないことから，この輸送機構では十分に説明できない．おそらくはイオンや他の脂質が相互作用するなどして輸送されると予想されるが，解明にはさらなる研究結果を待つ必要があるようだ．

8. おわりに

長田らのグループは，アポトーシスの際のホスファチジルセリン露出を担う分子の同定を試み，TMEM16Fを同定した．TMEM16Fの欠損細胞ではアポトーシスを惹起しても，細胞表面にホスファチジルセリンは露出されないのであろうか？　実は，TMEM16Fはアポトーシスによるホスファチジルセリンの露出に全く影響を与えない．今回詳細は割愛するが，彼らはアポトーシス細胞のホスファチジルセリン露出を担う分子Xk-related protein 8を同定している[22, 23]．同論文では当該分子が血液凝固反応に影響を与えるかについては検討されていないが，以前からアポトーシス細胞は血液凝固に促進的になることが報告されてきたことを考えると，Xk-related protein 8も血液凝固を制御する分子の一つであると予想される．さらに近年，本稿で紹介した分子以外にも様々なリン脂質輸送分子の分子実体が同定されてきている[2, 3, 24]．これらの分子も血液凝固に影響を与える可能性が考えられるが，現在までにそのような視点からの研究は皆無である．これまで血液凝固反応は，凝固因子間の相互作用をメインに研究されてきた．今回，細胞膜リン脂質の輸送制御による凝固反応の制御，という新しいメカニズムが存在することが明らかとなり，その研究領域はさらに広がったと言える．本研究領域の今後の発展に期待したい．

謝辞

稿を終えるにあたり，御校閲をいただきました国立循環器病研究センターの小亀浩市博士に感謝申し上げます．

著者の利益相反（COI）の開示：
本論文発表内容に関連して開示すべき企業との利益相反なし

文献

1）一瀬白帝編著：図説 血栓・止血・血管学―血栓症制圧のために，東京，中外医学社，2005.
2）Hankins HM, Baldridge RD, Xu P, Graham TR: Role of flippases, scramblases and transfer proteins in phosphatidylserine subcellular distribution. Traffic **16**: 35–47, 2015.
3）Nagata S, Suzuki J, Segawa K, Fujii T: Exposure of phosphatidylserine on the cell surface. Cell Death Differ **23**: 952–961, 2016.
4）Suzuki J, Umeda M, Sims PJ, Nagata S: Calcium-dependent phospholipid scrambling by TMEM16F. Nature **468**: 834–838, 2010.
5）鈴木　淳，長田重一：TMEM16Fによる細胞膜におけるリン脂質のスクランブル．ライフサイエンス新着論文レビュー First author's, 2011. http://first.lifesciencedb.jp/archives/1809 (2011.1.7).
6）鈴木　淳：細胞膜リン脂質のスクランブル機構．生化学 **87**: 422–427, 2015.
7）Schroeder BC, Cheng T, Jan YN, Jan LY: Expression cloning of TMEM16A as a calcium-activated chloride channel subunit. Cell **134**: 1019–1029, 2008.
8）Caputo A, Caci E, Ferrera L, Pedemonte N, Barsanti C, Sondo E, Pfeffer U, Ravazzolo R, Zegarra-Moran O, Galietta LJ: TMEM16A, a membrane protein associated with calcium-dependent chloride channel activity. Science **322**: 590–594, 2008.
9）Yang YD, Cho H, Koo JY, Tak MH, Cho Y, Shim WS, Park SP, Lee J, Lee B, Kim BM, Raouf R, Shin YK, Oh U: TMEM16A confers receptor-activated calcium-dependent chloride conductance. Nature **455**: 1210–1215, 2008.
10）Weiss HJ, Lages B: Family studies in Scott syndrome. Blood **90**: 475–476, 1997.
11）Zwaal RF, Comfurius P, Bevers EM: Scott syndrome, a bleeding disorder caused by defective scrambling of membrane phospholipids. Biochim Biophys Acta **1636**: 119–128, 2004.
12）Toti F, Satta N, Fressinaud E, Meyer D, Freyssinet JM: Scott

syndrome, characterized by impaired transmembrane migration of procoagulant phosphatidylserine and hemorrhagic complications, is an inherited disorder. Blood **87**: 1409–1415, 1996.

13）Fujii T, Sakata A, Nishimura S, Eto K, Nagata S: TMEM16F is required for phosphatidylserine exposure and microparticle release in activated mouse platelets. Proc Natl Acad Sci USA **112**: 12800–12805, 2015.

14）Owens AP, Mackman N: Microparticles in hemostasis and thrombosis. Circ Res **108**: 1284–1297, 2011.

15）Raposo G, Stoorvogel W: Extracellular vesicles: exosomes, microvesicles, and friends. J Cell Biol **200**: 373–383, 2013.

16）El Andaloussi S, Lakhal S, Mäger I, Wood MJ: Exosomes for targeted siRNA delivery across biological barriers. Adv Drug Deliv Rev **65**: 391–397, 2013.

17）Dachary-Prigent J, Pasquet JM, Fressinaud E, Toti F, Freyssinet JM, Nurden AT: Aminophospholipid exposure, microvesiculation and abnormal protein tyrosine phosphorylation in the platelets of a patient with Scott syndrome: a study using physiologic agonists and local anaesthetics. Br J Haematol **99**: 959–967, 1997.

18）Suzuki J, Fujii T, Imao T, Ishihara K, Kuba H, Nagata S: Calcium-dependent phospholipid scramblase activity of TMEM16 protein family members. J Biol Chem **288**: 13305–13316, 2013.

19）Yang H, Kim A, David T, Palmer D, Jin T, Tien J, Huang F, Cheng T, Coughlin SR, Jan YN, Jan LY: TMEM16F forms a Ca2+-activated cation channel required for lipid scrambling in platelets during blood coagulation. Cell **151**: 111–122, 2012.

20）Brunner JD, Lim NK, Schenck S, Duerst A, Dutzler R: X-ray structure of a calcium-activated TMEM16 lipid scramblase. Nature **516**: 207–212, 2014.

21）Bethel NP, Grabe M: Atomistic insight into lipid translocation by a TMEM16 scramblase. Proc Natl Acad Sci USA **113**: 14049–14054, 2016.

22）Suzuki J, Denning DP, Imanishi E, Horvitz HR, Nagata S: Xk-related protein 8 and CED-8 promote phosphatidylserine exposure in apoptotic cells. Science **341**: 403–406, 2013.

23）Suzuki J, Imanishi E, Nagata S: Xkr8 phospholipid scrambling complex in apoptotic phosphatidylserine exposure. Proc Natl Acad Sci USA **113**: 9509–9514, 2016.

24）Montigny C, Lyons J, Champeil P, Nissen P, Lenoir G: On the molecular mechanism of flippase- and scramblase-mediated phospholipid transport. Biochim Biophys Acta **1861**: 767–783, 2016.