

健康のための運動時の水分・栄養補給

大阪体育大学大学院スポーツ科学研究科運動栄養学 岡村浩嗣

スポーツ活動中では脱水を防止するために、運動中の体重減少が2～3%以内になるように水分補給することが勧められている。しかし、ボストンマラソンにおける調査で参加者の19%(1500人)が運動中に水分を取り過ぎたためゴール時に低ナトリウム血症だったことが報告された(1)。これらの例ではゴール後に体重が増加しており、ゴールタイムが遅かった人、すなわち楽しみで走った人ほどレース中に飲用し過ぎたことが関係していた。運動で発汗した場合の水分補給の重要性については、近年かなり認識されてきた。しかし、飲み過ぎはかえってよくない場合があるといいうことである。

大量発汗時の水分補給では塩分も必要とされているが、塩分を含んだスポーツ飲料でも体重が増加するほど飲むことは血中ナトリウム濃度の低下につながる。これは、市販のスポーツ飲料のナトリウム濃度が血液中のナトリウム濃度よりも低いためである(表1)。

表1 市販スポーツドリンクの塩分濃度

飲料	ナトリウム濃度 (mg/100 mL)	食塩換算 (%)
A	70	0.18
B	49	0.12
C	48	0.12
D	44	0.11
E	38	0.10
F	34	0.09
G	24	0.06
H	12	0.03

一方、スポーツ飲料には運動時に血糖値が低下しないように糖質が含まれている。市販のスポーツ飲料は水分と糖質の両方の必要量を補給できるように、糖質の濃度が4～8%に調製されている(表2)。

	30 g/h	40 g/h	50 g/h	60 g/h
2%	1500 mL	2000	2500	3000
4	750	1000	1250	1500
6	500	667	833	1000
8	375	500	625	750
10	300	400	500	600
15	200	267	333	400
20	150	200	250	300
25	120	160	200	240
50	60	80	100	120

表2 水分と糖質の必要量を補給するための飲料の飲用量と糖質濃度の関係

しかし、スポーツ飲料は現場では希釈して飲用されることが多い(図1)。これには、運動すると甘味を強く感じるようになること(図2)が関係している可能性が考えられる。

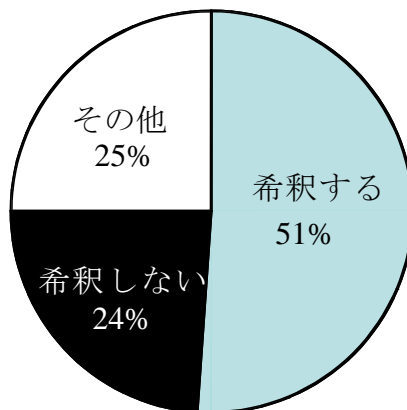


図1 運動時にスポーツ飲料を希釈して飲用するか？(調査人数 168 人)

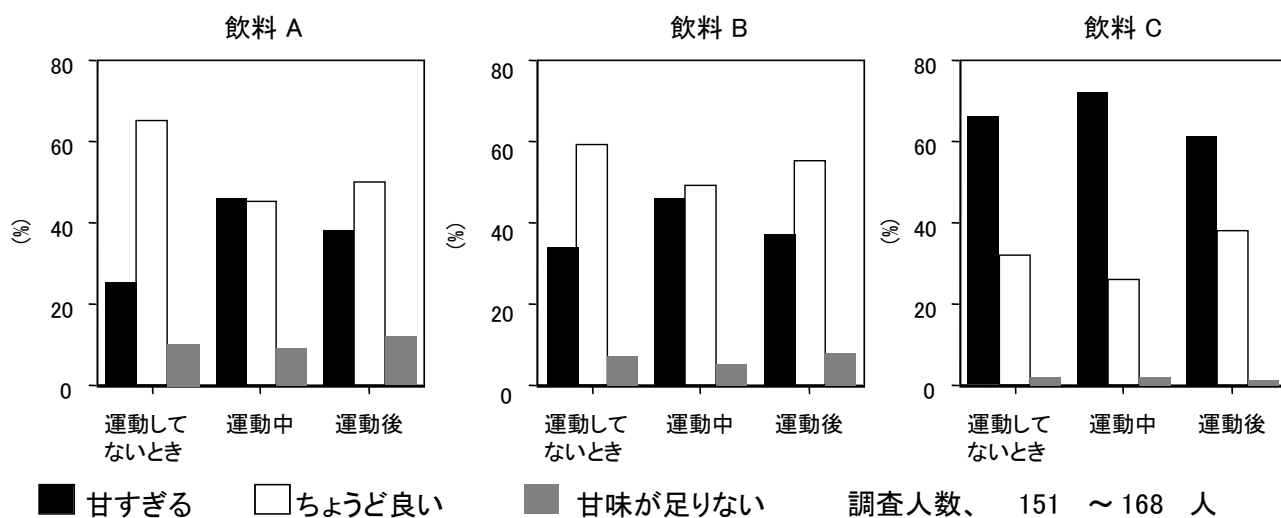


図2 運動するとスポーツ飲料を「甘すぎる」と感じる人が増加する

我々は、日常のトレーニング前後で甘味閾値が低下する場合のあることを観察している(2, 3)。また、6%の糖室を含む飲料の主観的な甘味が運動中には強くなることが報告されている(5)。これらのことは、運動していないときに、ちょうどよいと感じられる甘味が運動中には甘すぎると感じることに関係していることが推察される。

我々は、ラットが運動していないときに非常に好んで飲用するショ糖溶液の摂取量

が、運動後には減少することを観察している(4)。この結果と、スポーツドリンクが運動時には希釈して飲用されることから、運動後には甘味の低い飲料が好まれるのではないかと考え、濃度の低いショ糖溶液を運動後のラットに与えてみた。しかし、ショ糖濃度を低くすることで飲用量が増大するようなことはなかった。

運動時に糖質を含んだ飲料を飲用することは、運動で失った水分とともにエネルギーとして消費したグリコーゲンや血中グルコースなどの体内の糖質補給にも役立つ。ラットではショ糖を4%あるいは8%含んだ溶液の摂取量が2%の溶液よりも多く、運動後の体水分と肝臓及び筋肉のグリコーゲンの回復もショ糖濃度が高いもののほうが良好だった。

運動後の体水分の回復は、運動で上昇した体温を低下させるためにも必要である。体温は、飲水量の多かった8%ショ糖溶液では運動6時間後でも低下が認められなかったのに対して、2%の溶液では飲用量が少なかつたにも関わらず、飲用量の多かった4%と同程度、低下した。8%溶液を飲用した場合に体温が低下しなかったのは、肝臓や筋肉のグリコーゲン合成のために消費されたエネルギーが多かつたためと考えられる。

健康の維持・増進運動療法が有効とされる疾病における運動では、それほど激しい運動はしないので、脱水症状になつたり体内グリコーゲンが枯渇したりすることはないかもしれない。しかし、運動前の水分や栄養補給が不十分だつた場合には、脱水したり低血糖になつたりすることがあるかもしれない。運動中に必要なものが何なのかを考慮して、適切に補給することが必要といえる。

文献

1. **Almond CS et al.** Hyponatremia among runners in the Boston Marathon. *N Engl J Med.* 352 (15): 1550-6, 2005.
2. **Okamura K et al.:** Effect of exercise on preference and threshold for a sweet taste. *Experimenatl Biology* 2001, Late-breaking Abstract 14, 2001
3. **Okamura K et al.:** Single bout of exercise decreases threshold for sweet, salty and sour tastes. *FASEB J* 18: A931, 2004.
4. **Ikeda K et al.:** Preference for sweetness may decrease after exercise in rats. *FASEB J* 18: A930, 2004.
5. **Passe DH et al.:** Impact of beverage acceptability on fluid intake during exercise. *Appetite* 35: 219-229, 2000.

培養血管内皮細胞の抗血栓性に及ぼす海洋深層水の効果

上嶋 繁^{1,2}、岡田清孝²、松尾 理²

¹近畿大学農学部食品栄養学科

²近畿大学医学部第二生理学教室

はじめに

プラスミノゲンアクチベーターインヒビター1 (plasminogen activator inhibitor-1; PAI-1) は組織性プラスミノゲンアクチベーター (tissue-type plasminogen activator; t-PA) およびウロキナーゼ型プラスミノゲンアクチベーター (urokinase-type plasminogen activator; u-PA) の活性を抑制し、血液中の線溶活性を制御している¹⁾。PAI-1 は血栓形成すなわち向血栓性に作用し、t-PA や u-PA は血栓溶解すなわち抗血栓性に作用する。

血管内皮細胞は t-PA や u-PA を合成・分泌する一方、PAI-1 も分泌しており、これらの線溶系因子の量的・質的バランスによって抗血栓性あるいは向血栓性が決定される²⁾。血液は血管内を絶えず液体として循環しているが、これには血液線溶系が関与しており、微小な血栓が形成されると、それは直ちに血管内皮細胞から分泌される t-PA や u-PA によって溶解・除去される。また、血管内皮細胞には u-PA の受容体 (u-PA receptor; u-PAR) が存在しており³⁾、u-PA を血管内皮細胞の細胞表面に局在させることによって、抗血栓性を発現する。

近年、PAI-1 が虚血性心疾患⁴⁾および動脈硬化⁵⁾などの血栓性疾患のリスクファクターであることが報告された。また PAI-1 は脂肪細胞からも分泌されており、血液中の PAI-1 量と肥満との間には相関関係がある⁶⁾。したがって、肥満患者における血栓性疾患の発症には血液中の PAI-1 高値が関係していると考えられる。

血栓性疾患の予防には血管内皮細胞の抗血栓性を促進する必要があり、これを日常の飲水や食事で行うことができれば血栓形成に起因する循環器疾患の発症を低下させることができると考えられる。そこで、血管内皮細胞の抗血栓性に対する飲用水の効果を、培養血管内皮細胞を用いて検討した。飲用水として各種の湧水や、各地域の海洋深層水が市販されているが、今回はハワイ州カイルア・コナ沖から採水された海洋深層水について検討をおこなった。

材料と方法

1. 血管内皮細胞の培養

血管内皮細胞は臍帯静脈由来の初代培養血管内皮細胞 (Human umbilical vein endothelial cell; HUVEC) を使用した。培養液として蒸留水を用いて調整した

シンポジウム「食事と運動による循環器疾患の予防」

RPMI-1640 (Control 群) とハワイ海洋深層水を用いて調整した RPMI-1640 (Deep Sea Water; DSW 群) を用いた。ハワイ海洋深層水の主要な成分を表 1 に示す。HUVEC を 24 穴あるいは 96 穴の培養プレートに播種しコンフルエントになるまで 20 % の牛胎児血清 (Fetal calf serum; FCS) を含むそれぞれの培養液 (Control または DSW) で培養した。

その後、FCS を含まない培養液に交換してさらに 12 時間培養し、培養液中の線溶系因子の抗原量および活性量の測定をおこなった。

2. 線溶系因子の抗原量および活性量の測定

培養液中の t-PA 活性、u-PA 活性は合成基質 S-2288 および S-2444 を用いて測定した。培養液中の総 PA 活性は培養液にヒトプラスミノゲン (10 $\mu\text{g}/\text{ml}$) を加え、活性化されたプラスミン活性を合成基質

S-2251 により評価した。それぞれの活性は波長 405nm の吸光度 ($A_{405\text{nm}}$) で評価した。t-PA、u-PA および PAI-1 抗原量は ELISA キットで測定した。

3. ^{125}I -フィブリンクロット溶解能の検討

蒸留水またはハワイ海洋深層水で調整した培養液中の HUVEC 上に、 ^{125}I -フィブリンクロットを静置し、培養液に 12.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ のプラスミノゲンを加えた。そして、経時的に採取した培養液中に存在する放射能活性から ^{125}I -フィブリンクロットの溶解能を検討した。

4. Northern blotting 法

蒸留水またはハワイ海洋深層水で調整した培養液で培養した HUVEC の PAI-1 mRNA 量を Northern blotting 法にて比較した。1x10⁶ 個の HUVEC から全 RNA を精製し、その 2.5 μg を 1.0 % の変性アガロースゲルで電気泳動した。電気泳動後、ニトロセルロース膜上に RNA を転写し、 ^{32}P で放射能ラベルしたヒト PAI-1 cDNA プロブで PAI-1 mRNA を検出した。PAI-1 mRNA 量の比較は同様にして検出したヒト glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) mRNA 量で補正した後におこなった。

5. HUVEC のトロンビン刺激

HUVEC を 96 穴の培養プレートに播種し、コンフルエントになるまで 20 % FCS を含むそれぞれの培養液 (Control または DSW) で培養した。その後、1 NIHU/ml のトロンビンを含む無血清培養液に交換してさらに 12 時間培養した。そしてこの 12 時間の間に培養液中に分泌された PAI-1 抗原量を ELISA キットで測定した。

表 1 ハワイ海洋深層水の主要成分

成分	濃度 (mg/l)
たんぱく質	0
脂質	0
炭水化物	0
カリウム	2.0
カルシウム	2.5
マグネシウム	5.3
硝酸性窒素および亜硝酸性窒素	0.03
ナトリウム	42
塩素	117

6. 統計学的な検討

Student's *t*-test で有意差検定をおこなった。

結果

1. HUVEC の増殖能に対する影響

経時的に HUVEC の細胞数を計数して増殖能を Control 群と DSW 群で比較したが、有意差は認められなかった。

2. HUVEC 培養液中の線溶系因子の抗原量および活性量の比較

培養液中 t-PA 抗原量は DSW 群に比べて Control 群で有意に高い値であったが、u-PA 抗原量に有意差は認められなかった。DSW 群の PAI-1 抗原量は Control 群よりも有意に高値を示した (表 2)。一方、培養液中の t-PA 活性および u-PA 活性は Control 群よりも DSW 群で有意に高かった。さらに、培養液にプラスミノーゲンを添加した際に認められるプラスミン活性量から評価される総 PA 活性量も Control 群に比して DSW 群で高い傾向が認められた (表 3)。

表 2 HUVEC 培養液中の線溶系因子抗原量 (ng/well/12hr) の比較

	t-PA 抗原量	u-PA 抗原量	PAI-1 抗原量
Control 群	0.32±0.080	0.68±0.046	126.7±7.89
DSW 群	0.10±0.040*	0.69±0.10	66.70±2.23**

mean±SD **p* <0.05、***p*

<0.01

表 3 HUVEC 培養液中の線溶系因子活性量 (A_{405nm}) の比較

	t-PA 活性	u-PA 活性	総 PA 活性
Control 群	0.078±0.012	0.047±0.004	0.0027±0.0033
DSW 群	0.074±0.015*	0.058±0.005*	0.0078±0.0055

mean±SD **p*

<0.05

3. PAI-1 mRNA 発現量の比較

Control 群と DSW 群で HUVEC の PAI-1 mRNA 発現量を比較したが、有意な差は認められなかった。

4. ¹²⁵I-フィブリンクロット溶解能の比較

図 1 に示すように、¹²⁵I-フィブリンクロット溶解能は Control 群よりも DSW 群で亢進していた。

5. トロンビン刺激に対する反応の比較

トロンビン刺激による HUVEC からの PAI-1 分泌亢進におよぼす DSW の影響を検討した。図 2 に示すように Control 群ではトロンビン刺激によって PAI-1 分

泌量は約 2.2 倍に増加したが、DSW 群では約 1.6 倍の増加にとどまり、培養液中の PAI-1 抗原量も有意に減少していた。

図1 ^{125}I -フィブリンクロット溶解能

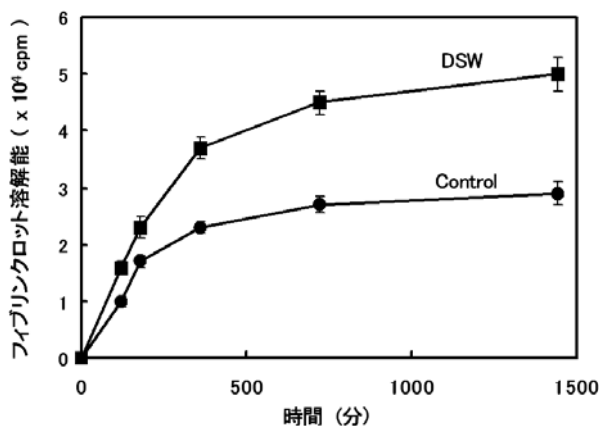
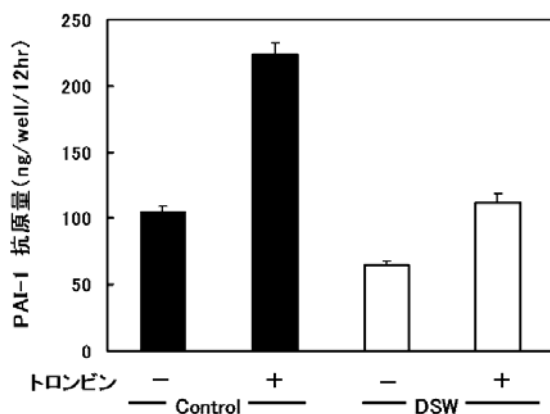


図2 トロンビン刺激による培養液中 PAI-1 抗原量の変化



考察

海洋深層水で調整した培養液で HUVEC を培養したところ、培養液中の t-PA および PAI-1 抗原量は Control に比べて減少していた。しかし、その減少量は t-PA よりも PAI-1 抗原量のほうが多く、培養液中の t-PA 活性、u-PA 活性および総 PA 活性はともに Control 群に比べて DSW 群で上昇していた。 ^{125}I -フィブリンクロットの溶解能も Control 群に比較して DSW 群で亢進していた。

さらに、トロンビン刺激によって PAI-1 分泌量は増加するが、その程度は DSW 群で抑制されており、血栓形成を引き起こす凝固亢進状態においても血管内皮細胞の抗血栓性は Control 群よりも DSW 群で高く維持されていることが明らかになった。以上より、海洋深層水は培養血管内皮細胞の抗血栓性を亢進して血栓形成を抑制すると考えられた。

参考文献

- 1) Collen D, Lijnen HR. Basic and clinical aspects of fibrinolysis and thrombolysis. *Blood* 78:3114-3124, 1991.
- 2) Schleef RR, Bevilacqua MP et al. Cytokine activation of vascular endothelium. Effects on tissue-type plasminogen activator and type 1 plasminogen activator inhibitor. *J Biol Chem.* 263:5797-5803, 1988.
- 3) Matsumoto H, Ueshima S et al. Effects of lipopolysaccharide on the expression of fibrinolytic factors in an established cell line from human endothelial cells. *Life Sci.* 59:85-96, 1996.
- 4) Folsom AR, Aleksic N et al. Prospective study of fibrinolytic factors and incident coronary heart disease: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 21:611-617, 2001.
- 5) Vaughan DE. PAI-1 and atherothrombosis. *J Thromb Haemost.* 3:1879-1883, 2005.
- 6) Estelles A, Dalmau J et al. Plasma PAI-1 levels in obese children--effect of weight loss and influence of PAI-1 promoter 4G/5G genotype. *Thromb Haemost.* 86:647-52, 2001.

ω-3 系脂肪酸摂取による易血栓性並びに 動脈硬化進展への影響

山下 勉、山本 順一郎
神戸学院大学 栄養学部生理学研究室

背景

我が国の死亡原因の約 30%を脳血管疾患と心疾患が占めている。これら循環器系疾患の発症には、主としてアテローム性動脈硬化を主体とする血管病変が深く関わっている。アテローム性動脈硬化症の治療法はコレステロール生成を抑制する HMG-CoA 還元酵素阻害剤(スタチン)などを用いた脂質代謝面からの治療が主体である。しかし、近年の大規模研究で虚血性心血管病変の二次予防のみならず、一次予防効果が報告され、一次予防の重要性が指摘されている。このような背景から本研究は脂質摂取における脂肪酸の種類に着眼して、ω-3 系脂肪酸摂取が動脈硬化症の発症、進展並びに易血栓性にどの様に影響するか検討を行った。

材料

実験動物: apoE と LDLR を共に欠損している C57BL/6J×129Sv 系 apoE^{-/-}・LDLR^{-/-}ダブルノックアウトマウス (DK マウス、The Jackson Laboratories, Bar Harbor, Marine USA) を兄妹交配して用いた。

飼料: 精製飼料を配合して実験食を調整した。用いた精製飼料は以下の通りである。ミルクカゼイン、β-コーンスターチ、シュークロース、セルロースパウダー、ミネラル混合(AIN93G)、ビタミン混合(AIN93G) (以上オリエンタル酵母工業(株))、亜麻仁油、ハイリノールサフラワー油 (以上吉原製油(株))、L-シスチン、コレステロール (以上ナカライテスク(株))、重酒石酸コリン、第3ブチルヒドロキノン (以上和光純薬工業(株))。

薬剤: Sodium pentobarbital (Nembutal, 50mg/ml、Abbott Lab., USA), エバンスブルー: Evans blue (Merck Co. Ltd., Germany), PBS, 10%中性緩衝ホルマリン溶液, 60%イソプロピルアルコール, Oil Red O (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Germany), 3.2%クエン酸ナトリウム溶液, コレステロール E-テストワコー(和光純薬工業)

方法

実験食のエネルギー比は脂質 40%、炭水化物 40%、蛋白質 20%の割合にし、コレステロール (w/w%) を 0.05%となるよう添加した。この食餌をベースとし、実験食の脂質源としてω-3 系脂肪酸を 55%含む亜麻仁油とω-6 系脂肪酸を 76%含むハイリノールサフラワー油を用いて、油の混合割合を変えることでω-3/ω-6 比が異なる 4 種類の食餌を作製した。グループ 1、2、3、4 のω-3/ω-6 比はそれぞれ 3.4、0.7、0.2、0 とした。DK マウスは標準固型飼料 CE-2 (日本クレア(株)) で 6 週間まで予備飼育した後、実験食を 8 週間および 16 週間与え、易血栓性、

シンポジウム「食事と運動による循環器疾患の予防」

動脈硬化進展度、血中脂質測定、リポプロテイン分画を行った。易血栓性並びに、動脈硬化進展度の解析は以前報告(1)した方法にて行った。

統計処理

統計学的有意差検定には体重、食餌摂取量においては repeated measures ANOVA を用い、その他の測定項目においては ANOVA を用いた。post hoc には Fisher PLSD を用いた。結果は Mean±SEM で表し、 $p < 0.05$ を有意差ありとした。

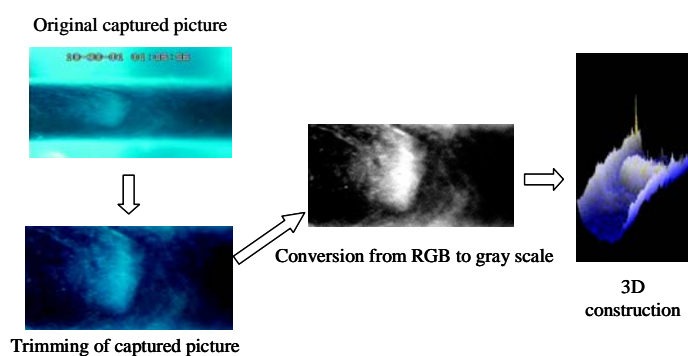
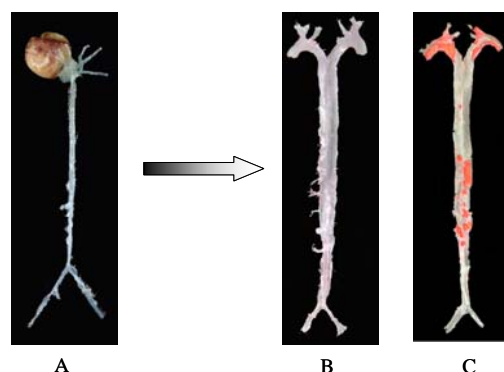


Figure 1 Typical thrombus images captured by image analysis software

Figure 2 Image Analysis of Dissected Aortas

- A. Dissected heart and blood vessels.
- B. Stained aorta of age-matched C57Black6 mouse
- C. Stained aorta of ApoE^{-/-} LDLR^{-/-} double knockout mouse in group 4 fed for 16 weeks
(typical example with 21.8% lesion area)



結果

1. 体重及び食餌摂取量

実験食開始直前のマウスの体重及び、食餌摂取量は 4 群間で有意差は認められなかった。

2. 血栓形成傾向

実験食を 8 週間および 16 週間与えた後、血栓形成傾向の測定を行った。8 週間実験食を与えた後の血栓形成傾向の値はグループ 1、2、3、4 ではそれぞれ 237658 ± 41692 、 259541 ± 34548 、 267830 ± 37931 、 332232 ± 38713 であった。 ω -3/ ω -6 比の増加に伴い血栓容積の減少傾向が認められたが、統計学的に有意で

シンポジウム「食事と運動による循環器疾患の予防」

はなかった。16週間実験食を与えた後の血栓形成傾向の値はグループ1、2、3、4ではそれぞれ 327457 ± 35078 、 389285 ± 29947 、 401151 ± 32839 、 428992 ± 35179 であった。グループ1とグループ4間に、有意な血栓形成傾向の差が認められた (Fig. 3)。また、 ω -3/ ω -6比の増加に伴い血栓形成傾向の有意な抑制が認められた。

3. 動脈硬化進展

実験食を8週間および16週間与えた後、動脈硬化面積割合の測定を行った。8週間実験食を与えた後の動脈硬化面積の割合はグループ1、2、3、4ではそれぞれ $4.5 \pm 0.15\%$ 、 $5.1 \pm 0.48\%$ 、 $6.0 \pm 0.95\%$ 、 $6.4 \pm 1.01\%$ であった。 ω -3/ ω -6比の増加割合に依存して動脈硬化面積割合の減少傾向が認められたが、統計学的に有意ではなかった。16週間実験食を与えた後の動脈硬化面積の割合はグループ1、グループ2、グループ3、グループ4ではそれぞれ $12.8 \pm 0.95\%$ 、 $16.9 \pm 1.88\%$ 、 $19.0 \pm 1.75\%$ 、 $21.0 \pm 1.87\%$ であった。 n -3/ n -6比の増加割合に依存して動脈硬化面積割合の減少傾向が認められ、グループ1とグループ4を比較するとグループ1の動脈硬化面積の割合が減少し、有意に動脈硬化進展が抑制されていることが示された (Fig. 4)。

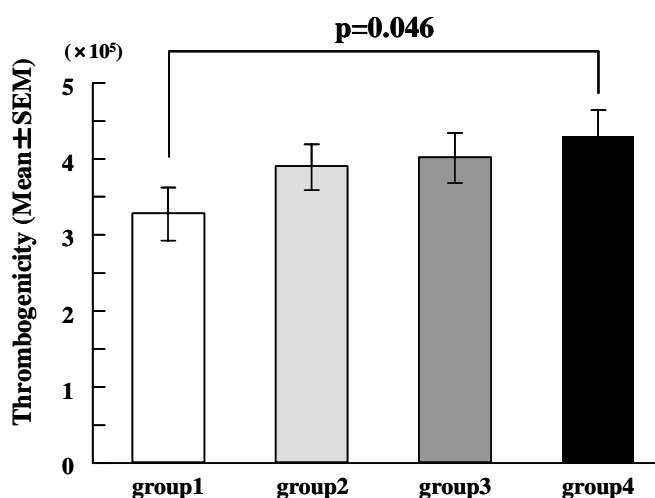


Figure 3 The effect of various ω -6/ ω -3 ratios on thrombogenicity after 16 weeks feeding in apoE^{-/-} LDLR^{-/-} double knockout mouse n=8~11 in each group

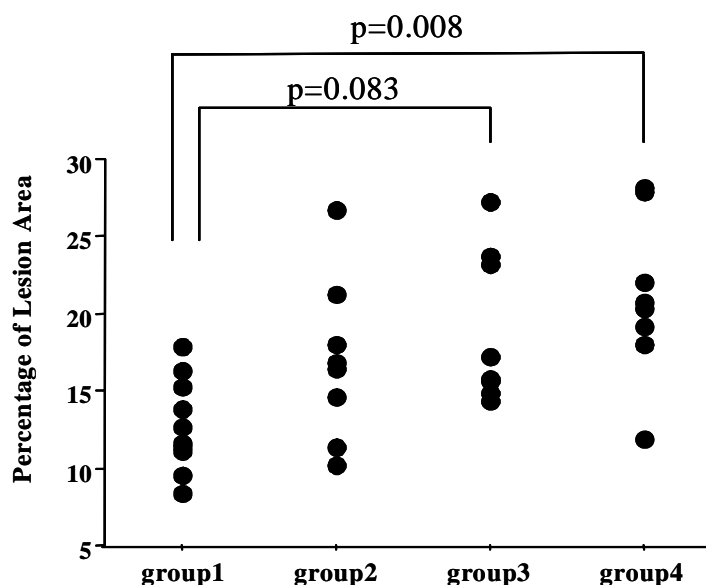


Figure 4 The effect of various ω -6/ ω -3 ratios on the progression of atherosclerosis after 16 weeks feeding in apoE^{-/-} LDLR^{-/-} double knockout mouse n=8~11 in each group

4. 血漿脂質濃度

実験食を16週間与えた後、血漿脂質濃度を測定した。T-CHO値はグループ1、2、3、4ではそれぞれ721±38 mg/dl、869±38 mg/dl、733±48 mg/dl、703±52 mg/dl、TG値はそれぞれ171±14 mg/dl、351±36 mg/dl、312±43 mg/dl、311±48 mg/dlであった。T-CHO値ではグループ1、3、4はグループ2と比較して有意に低値を示した。TG値ではグループ1は他の3群と比較して有意に低値を示した。

5. リポ蛋白質分画パターン測定法

本研究に用いた apoE と LDLR を共に欠損している apoE^{-/-}・LDLR^{-/-}ダブルノックアウトマウスでは、apoE 欠損によるミッドバンド (IDL) の出現と LDLR 欠損による LDL 分画異常が認められ、II a 型と III 型の合併した高脂血症を呈した。8週間実験食を与えた後の IDL バンドの出現割合はグループ1、グループ2、グループ3、グループ4ではそれぞれ0%、37.55%、36.6%、37.3%、LDL バンドの出現割合はそれぞれ68.85%、37.05%、34.9%、37.8%であった。グループ1では唯一 IDL バンドの出現が認められなかった。16週間実験食を与えた後の IDL バンドの出現割合はグループ1、グループ2、グループ3、グループ4ではそれぞれ21.2%、35.7%、37.15%、38.35%、LDL バンドの出現割合はそれぞれ51.05%、34.8%、34.25%、34.65%であり、8週間実験食を与えた後の結果とほぼ同様の傾向であったが、グループ1で IDL バンドが出現し、それに対応して LDL バンドがやや低値を示した。グループ1は他の3群と比較して IDL バンドの割合が低く、LDL バンドの割合が高かった。グループ2、3、4の間では著明な差は認められなかった。

考察

易血栓性は、 ω -6 系多価不飽和脂肪酸の過剰摂取状態を想定したグループ 4 (ω -3/ ω -6 比 0) と比較して、 ω -3 系多価不飽和脂肪酸を多く摂取しているグループ 1 (ω -3/ ω -6 比 3.4) では有意な血栓形成傾向抑制効果が認められた。また、この抑制効果は ω -3/ ω -6 比の増加割合に依存した傾向が認められた。同様に、動脈硬化進展に対する ω -3/ ω -6 比食の影響を調べた結果、 ω -3 系多価不飽和脂肪酸割合が高いほど有意に動脈硬化進展が抑制された。又、グループ 1 は、他のグループと比較すると有意にリポタンパク IDL 分画が低値を示していた。これは多価不飽和脂肪酸の ω -3/ ω -6 比摂取バランスが血小板、血管を始めとした体内の多価不飽和脂肪酸の ω -3/ ω -6 存在比バランスを変化させ、アラキドン酸の産生が抑えられたと同時に、アラキドン酸からのエイコサノイドの産生が抑制されたことを示唆するものと考えられた。抗血栓作用および動脈硬化進展抑制作用を認める ω -6/ ω -3 比は 0.29 であった。この値を現実的な食生活で達成することは非常に困難であると言わざるを得ないが、低 ω -6/ ω -3 比食用油等の開発がなされれば、 ω -6/ ω -3 比を低下させることが可能と思われた。動脈硬化発症進展にエイコサノイドの関与を示唆する成績と思われた。

文献

- 1) T. Yamashita, E. Oda, T. Sano, T. Yamashita, Y. Iziri, J. C. Giddings, J. Yamamoto. Varying the ratio of dietary n-6/n-3 polyunsaturated fatty acid alters the tendency to thrombosis and progress of atherosclerosis in apoE^{-/-} LDL^{-/-} double knockout mouse. *Thrombosis Research* (2005)116,393-401

植物性食品による凝固・線溶の制御と生活習慣病の予防

関 泰一郎、有賀 豊彦

日本大学大学院 生物資源科学研究科 応用生命科学専攻
日本大学 生物資源科学部 農芸化学科

食習慣は生活習慣病の発症、進展に関与する重要な要因の一つであり、生活習慣病の予防には食品を介して摂取する栄養素の種類、量、タイミングのコントロールが重要である。虚血性心疾患、脳血管疾患、腎不全などの生活習慣病の終末病態には凝固・線溶系の異常が密接に関与している。著者らは、『食』による生活習慣病の予防、改善を目指し、各種食品の三次機能（生体機能を制御する機能）とそのメカニズムを明らかにしようとしている。本稿では、発芽玄米やニンニクなどの植物性食品の摂取が血栓性疾患や糖尿病性腎症におよぼす影響について *in vitro* や動物モデルを用いて研究した成果の概略を紹介し、『食』による生活習慣病の予防・改善の可能性について考察する。

1. はじめに

生活習慣病は、食習慣、運動習慣、休養、喫煙、飲酒などの個人の生活習慣がその発症、進行に関与する疾患群の総称である。これらの生活習慣の中でも特に食習慣は、肥満や高コレステロール血症などの危険因子と密接に関連し、生活習慣病の発症や進展に深く関与している。虚血性心疾患、脳血管疾患、腎症などの生活習慣病の終末病態は、いずれも重篤な血管病変であり、これらの血管病変の基盤をなす動脈硬化、血液凝固・線溶系の異常は生活習慣病の終末病態に共通した発症機構

である（図 1）。高血圧、肥満、高コレステロール血症などの危険要因を複数保有することにより、これらの危険要因のない人や危険要因を一つ保有する人に比べて虚血性心疾患、脳血管疾患などの発症率は著しく増加する。生活習慣病の予防や改善には、食習慣の改善がとりわけ重要であり、食品を介して

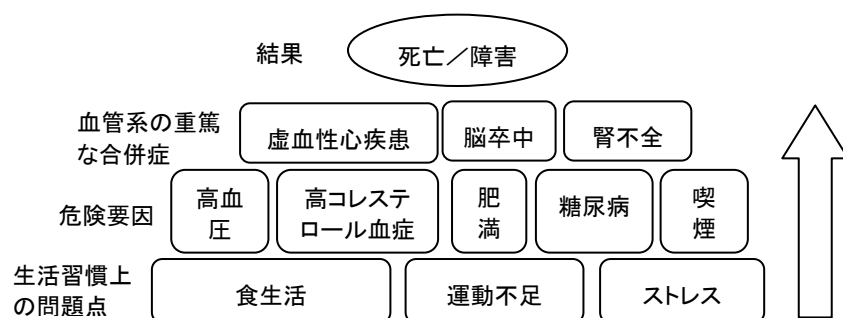


図 1. 生活習慣病と血管系の合併症

生活習慣上の問題点により危険要因が誘発され、これらが虚血性心疾患、脳卒中、腎不全などの重篤な血管系の合併症を惹起し、死亡、もしくは半身不随、言語障害、人工透析など生活の質(QOL)を著しく低下させる結果を導く。これらの血管系の合併症には凝固・線溶系の異常が深く関与している。

体内に取り入れる栄養成分の ①種類、②量、③タイミングの改善が重要なポイントとなる¹⁾。

栄養成分は通常食品を介して摂取する。食品には大きく 3 つの機能がある。一次機能は、生命活動に不可欠な栄養素の供給源としての機能（栄養性）、二次機能は、おいしさ、旨さなどの嗜好性を形成する機能、三次機能は、生体リズムの調節、生体防御、疾病予防にかかわる生体機能の調節機能である。これらの食品の機能は独立したものではなく相互に補完するものであり、三次機能の概念は健康増進法により規定されている特定保健用食品にも応用されている。

著者らは、生活習慣病の終末病態の発症に深く関与する凝固・線溶系に着目し、食品の機能性の評価を行ってきた。本稿では、著者らがこれまでにやってきた植物性食品の機能解析例について、特に、発芽玄米の抗糖尿病機能^{2,3)}、ニンニクの抗血栓機能について概説する。

2. 発芽玄米の抗糖尿病機能と腎症の予防効果

わが国の糖尿病患者（耐糖能異常者を含む）は 1997 年から 2002 年までの 5 年間で 250 万人増加し、1620 万人となった（成人の 6 人に 1 人）。糖尿病性腎症は、患者の QOL を著しく低下させる合併症の一つで、わが国の人工透析療法導入の第一原因でもある。透析患者は年間 500 万円を超える医療費を必要とし、経済的にも深刻な疾患である。

発芽玄米は、玄米を水に浸漬することで 0.5 mm 程度発芽させた米で、白米と比較して栄養価が高い付価値米である。玄米と比較しても血圧調節、脳機能改善効果があると考えられている γ -アミノ酪酸（GABA）を多く含んでおり、炊飯性に優れ、食味も良いことから一般家庭において広く用いられている。発芽玄米は白米と比較して食後の血糖値が上昇しにくく、糖尿病や肥満などの生活習慣病の予防や改善に有効であると考えられている。

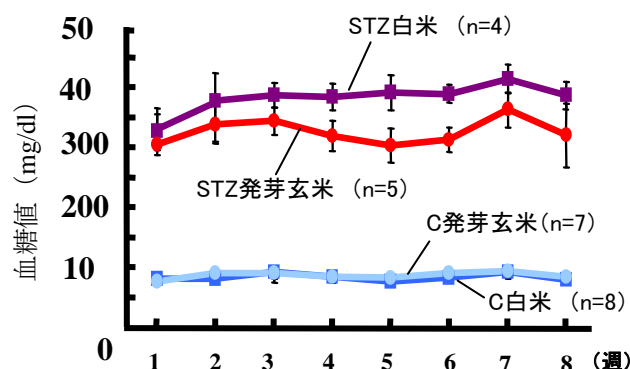


図 2. 発芽玄米、白米給餌 1 型糖尿病ラットの空腹時血糖の経時変化

ストレプトゾトシン(STZ)により誘発した 1 型糖尿病モデルラットに白米もしくは発芽玄米を添加した AIN93G を給餌して 7 週間飼育し、毎週空腹時血糖を測定した。STZ, 糖尿病ラット; C, コントロールラット

ストレプトゾトシン (STZ) 誘発 1 型糖尿病モデルラットに発芽玄米と白米を給餌して糖尿病の病態におよぼす影響について検討した²⁾。飼料は、AIN93G の構成成分であるコーンスターチを発芽玄米もしくは白米パウダーに置換して調製した。1 型糖尿病モデルラットに発芽玄米食、白米食を給餌して 8 週間飼育し、空腹時血糖値を測定したところ、発芽玄米給餌群では白米給餌群比べて、実験期間中すべてのタイムポイントで低値を示した (図 2)。また、血中過酸化脂質濃度 (データは示していない) や plasminogen activator inhibitor -1 (PAI-1) 濃度が改善した (図 3)。PAI-1 は線溶系の阻害タンパク質であり、その血漿濃度は肥満や糖尿病により増加し、これらの疾患に合併する虚血性心疾患の原因となる。

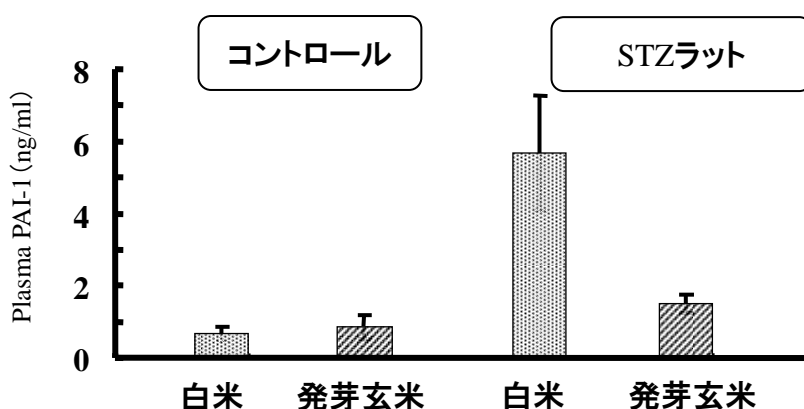


図 3. 発芽玄米、白米給餌 1 型糖尿病ラットの血漿 PAI-1 濃度
 ストレプトゾトシン (STZ) により誘発した 1 型糖尿病モデルラット、非糖尿病のコントロールラットそれぞれに白米もしくは発芽玄米を添加した AIN93G を給餌して 7 週間飼育後の血漿 PAI-1 濃度を ELISA により測定した。

したがって、発芽玄米の摂取は、白米の摂取に比べて生体の酸化ストレスや血漿 PAI-1 濃度を改善し、糖尿病に合併する血栓塞栓性疾患を予防することが示唆された。さらに、2 型糖尿病モデルラットである Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) ラットを用いて同様の試験を行った。OLETF は 2 型糖尿病を自然発症し、ヒトの腎症に酷似した病態を示すことから糖尿病や糖尿病性腎症のモデルとして広く用いられている。著者らは、OLETF ラットの腎臓尿細管上皮細胞で PAI-1 の遺伝子発現が顕著に上昇していることを明らかにし、尿細管間質の繊維化との関連性、腎症の進展への PAI-1 の関与の可能性を指摘してきた⁴⁾。OLETF とその非糖尿病の対照である Long-Evans Tokushima Otsuka (LETO) ラットに発芽玄米食、白米食を給餌して 38 週間飼育し、空腹時血糖やインスリン抵抗性を経時的に測定した。その結果、実験期間を通じて空腹時血糖は白米給餌群と比較して発芽玄米給餌群で有意に低値を示し、インスリン抵抗性も改善されていることが示唆された。また、HbA_{1c} や血漿 PAI-1 濃度も改善されていた。

OLETF ラットは LETO ラットに比べて著しいタンパク尿を呈したが、発芽玄米を給餌した OLETF では、白米給餌を給餌した OLETF に比較してタンパク尿は改善し、腎組織像においても結節性の病変などに改善傾向が観察された。これらの成績から、発芽玄米の摂取は白米の摂取に比べて空腹時血糖値を低下させ、腎症などの糖尿病合併症を予防・改善する可能性が明らかになった。

3. ニンニクの抗血栓作用

動脈硬化は血管系の機能低下を導く進行性病変である。動脈壁が硬化して弾力を失うと同時に、肥厚して血管腔は狭窄する。動脈硬化巣では血小板や血液凝固系因子が活性化されやすく、また、形成された血栓を生理的に分解除去する線溶系の機能も低下している。したがって動脈硬化が進むと生体は易血栓性を呈し、血栓準備状態となる。動脈硬化によって形成される肥厚した内皮が破綻して粥腫を露呈するようになると、その狭窄部位に血栓が形成され、心筋梗塞（虚血性心疾患もしくは冠動脈疾患とも総称される）、脳梗塞などさまざまな血栓性疾患を起こすが、これらの血栓形成過程に血小板は中心的な役割を演じている。これらの血栓性疾患は先進国における主要な死因である。わが国における追跡調査の結果からも、血清総コレステロール濃度（低 HDL コレステロール血症）、年齢、最大血圧、血糖、喫煙などは動脈硬化症の危険因子として挙げられている。

ニンニクやニンニクの抽出物の摂取により血清コレステロールやトリグリセリド濃度が低下すること、また、*in vitro* 実験系においてニンニクの成分がコレステロールの生合成や LDL の酸化を抑制することから、ニンニクの摂取は虚血性心疾患のリスクを低減させるものと考えられている。一方、著者らは、ニンニク油が *in vitro* の実験系において血小板の凝集を強力に抑制することを明らかにし、ニンニク油中の血小板凝集抑制成分としてメチルアリルトリスルフィド (MATS) を同定した^{5,6)}。MATS は、ニンニク特有の香気成分の一つであり、*in vitro* の実験系においてコラーゲン、アラキドン酸、エピネフリン、トロンビン、ADP などほとんどすべての凝集惹起物質による血小板凝集を強力に抑制する。

しかしながら、MATS はアラキドン酸の代謝産物の一つで強力な凝集惹起作用を有するトロンボキサン A₂ による血小板凝集には、影響をおよぼさなかった。また、MATS 存在下でアラキドン酸とシクロオキシゲナーゼを反応させるとプロスタグランジン (PG) G₂ の産生はほとんど影響を受けず、PGH₂ の産生が阻害されることから、MATS は PG ヒドロペルオキシダーゼの関与する反応を阻害することが明らかになった。すなわち、MATS はトロンボキサン A₂ の産生を抑制することにより血小板凝集を阻害する (図 4)⁷⁾。

一方、培養ウシ大動脈内皮細胞を用いた *in vitro* 実験系において、MATS は PGI_2 の活性と PGI_2 の産生を阻害した。 PGI_2 は、トロンボキサン A_2 とは相反的に強力な血小板凝集抑制作用を示し、血管内皮表面の抗血栓性を維持している。したがって、MATS は血小板におけるトロンボキサン A_2 の産生のみならず血管内皮細胞における PGI_2 の産生をも抑制して血栓形成を促進

する可能性が考えられた。そこで、血管内における血栓の形成に及ぼす MATS の影響について He-Ne レーザー惹起血栓形成モデルを用いて *ex vivo* で検討した。その結果、MATS は血栓形成も顕著に抑制した(図5)⁷⁾。これらの結果から、MATS は *in vivo* において内皮細胞の PGI_2 産生にはほとんど影響をおよぼさず、血小板のトロンボキサン A_2 の産生を阻害することにより血栓形成を抑制することが明らかになった。

4. まとめ

発芽玄米やニンニクの抗糖尿病、抗血栓などの機能性が明らかになった。このような食品の機能性やそのメカニズムを解明し、日常の食生活に取り入れることにより生活習慣病の予防や改善が期待される。

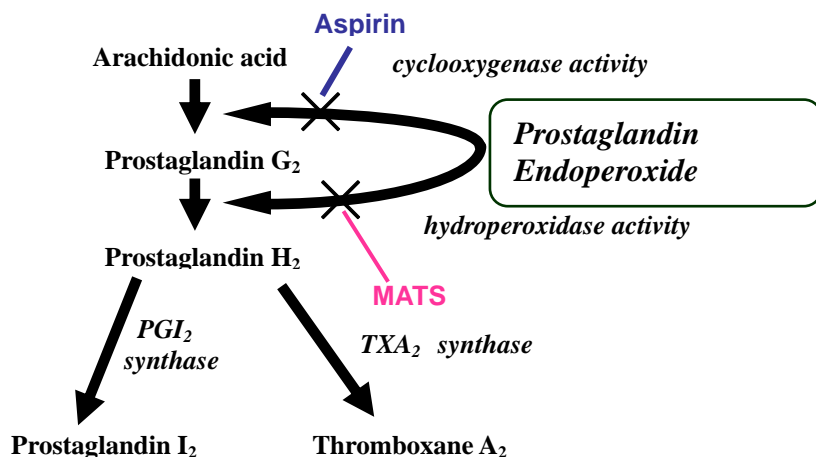


図 4. ニンニクの香気成分MATSによるアラキドン酸カスケードの阻害

MATS はアラキドン酸代謝に関する prostaglandin endoperoxide synthase (PES) の hydroperoxidase 活性による PGH_2 の産生を阻害する。一方、アスピリンは PES の cyclooxygenase 活性を阻害することにより血小板凝集を抑制する。

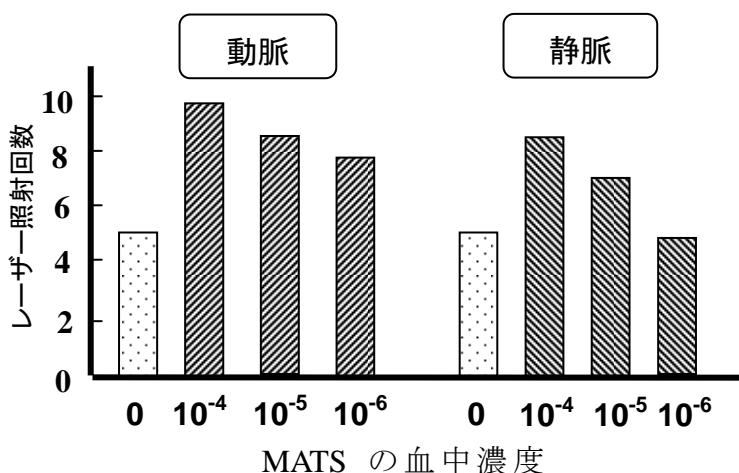


図5. ニンニク成分 MATS 投与がレーザー光線照射による

実験的ラット腸間膜動静脈血栓形成に及ぼす影響
エバンスブルーを投与したラットの腸間膜細動脈、細静脈に He-Ne レーザーを照射して血栓を形成させた。5 秒間の照射 5 回で完全閉塞が得られるようにレーザーのエネルギーを調節し、MATS

シンポジウム「食事と運動による循環器疾患の予防」

引用文献

- 1) 関 泰一郎 **健康栄養学**、共立出版 (2005)、170-187.
- 2) Hagiwara H, Seki T, Ariga T. The effect of pre-germinated brown rice intake on blood glucose and PAI-1 levels in streptozotocin-induced diabetic rats. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2004 Feb; **68**(2):444-7.
- 3) Seki T, Nagase R, Torimitsu M, Yanagi M, Ito Y, Kise M, Mizukuchi A, Fujimura N, Hayamizu K, Ariga T. Insoluble fiber is a major constituent responsible for lowering the post-prandial blood glucose concentration in the pre-germinated brown rice. *Biol Pharm Bull.* 2005 Aug; **28**(8):1539-41.
- 4) Hagiwara H, Kaizu K, Uriu K, Noguchi T, Takagi I, Qie YL, Seki T, Ariga T. Expression of type-1 plasminogen activator inhibitor in the kidney of diabetic rat models. *Thromb Res.* 2003;111(4-5):301-9.
- 5) Toyohiko Ariga, Taiichiro Seki (Edits John Shi, Chi-Tang Ho, Fereidoon Shahidi): *Asian Functional Foods*, CRC Press (2005), pp433-490.
- 6) Ariga T, Oshiba S, Tamada T. Platelet aggregation inhibitor in garlic. *Lancet.* 1981 Jan 17; 1(8212): 150-1.
- 7) Ariga T, Tsuj K, Seki T, Moritomo T, Yamamoto JI. Antithrombotic and antineoplastic effects of phyto-organosulfur compounds. *Biofactors.* 2000; **13**(1-4): 251-5.

肥満と血栓症：アディポネクチンの抗血栓作用

大阪大学大学院医学系研究科 血液・腫瘍内科 富山佳昭

緒言

近年、心血管病変のリスクファクターとしてメタボリックシンドロームが注目されている。本シンドロームは、耐糖能異常、高脂血症、高血圧、肥満の異常が重複して存在する病態であり、それぞれの単独の異常にくらべ動脈硬化や血栓症のリスクが急激に増大することが示されている。メタボリック症候群の種々の病態は偶然に存在するのではなく、内臓肥満がリスク重積の最上流に存在し、それにより耐糖能異常、高脂血症、高血圧などの病態が引き起こされていると考えられる[1]。最近の研究により、脂肪細胞は単にエネルギーを貯蔵するだけでなく、TNF α 、レプチン、PAI-1、レジスチン、アディポネクチンといった様々な生理活性物質（これらを総称してアディポサイトカインと呼ぶ）を産生、分泌しており、これらアディポサイトカインの産生異常がメタボリックシンドロームさらには心血管病変を引き起こす分子基盤を形成していることが明らかとなってきた[1]。本シンポジウムでは、アディポサイトカインと血栓症に関しての筆者らの成績を中心に概説する。

内臓脂肪蓄積と PAI-1

血管内に生じた血栓の溶解反応は組織型プラスミノゲンアクチベーター(t-PA)により開始される。凝固が起こりフィブリン血栓が生じると t-PA とプラスミノゲンが結合し、t-PA はプラスミノゲンをプラスミンに変化させ、フィブリンを分解する。この t-PA の活性を阻害しているのが Plasminogen activator inhibitor(PAI)で、PAI-1 と PAI-2 が知られている。PAI-2 の t-PA 阻害活性は極め

シンポジウム「食事と運動による循環器疾患の予防」

で弱いため、血管内での血栓溶解反応の制御は PAI-1 が主体であり、PAI-1 の増加は線溶活性を低下させ血栓形成を促進する。血中 PAI-1 の増加は、肥満者のみならず心筋梗塞、静脈血栓症、糖尿病患者でも報告されており、また PAI-1 を過剰発現する PAI-1 トランスジェニックマウスでは後ろ足や尾静脈に血栓が自然発症することより、PAI-1 の増加が血栓を惹起することが明らかである。

大阪大学の松澤らのグループは、血中 PAI-1 値は皮下脂肪面積とは相関しないが、内臓脂肪面積と正相関を示すことを明らかにした。PAI-1 は血管内皮細胞で合成されるため広い組織分布を示すが、脂肪前駆細胞である 3T3L1 細胞を用いて PAI-1 遺伝子発現を検討すると、脂肪細胞への分化と共に PAI-1 mRNA 量は増加した。また肥満モデル動物として満腹中枢である視床下部腹内側核(VMH)破壊ラットを用いて内臓脂肪、皮下脂肪における PAI-1 遺伝子の発現と肥満形成過程における発現変化を検討したところ、内臓脂肪、皮下脂肪ともに PAI-1 遺伝子の発現を認めたが、内臓脂肪では脂肪の蓄積とともにその発現が増加したのに対し、皮下脂肪では変化は認めなかった[2,3]。

以上の成績より、内臓脂肪から直接分泌される PAI-1 が血中レベルに影響を与え、肥満における血管合併症の発症に関与すると考えられる。

肥満とアディポネクチン

アディポネクチン(adiponectin; APN)は松澤らのグループにてヒト脂肪細胞の cDNA ライブラリーから脂肪細胞特異的蛋白として 1995 年にクローニングされ、別のグループからもほぼ同時期にマウスのアディポネクチンがクローニングされた。アディポネクチンは C1q ファミリーに属し、244 アミノ酸からなる分泌蛋白で N 末端側のコラーゲン様ドメインと C 末端側の C1q 様球状ドメインより構成され、血中に 5~30 μ g/ml の濃度で存在している。興味深いことに、アディポネクチンは脂肪細胞特異的に産生・分泌されるが、BMI(body mass index)とは逆

シンポジウム「食事と運動による循環器疾患の予防」

相関を示す。つまり、肥満になり脂肪量が増加するとアディポネクチンの血中濃度は低下する。この機序の詳細は明らかではないが、TNF- α とアディポネクチンは互いに他の産生を転写レベルで抑制するため、肥満により TNF- α が増加しアディポネクチンの血中濃度が低下すると考えられている[1]。

アディポネクチンと疾患との関連であるが、アディポネクチン濃度は BMI にて変動するため、年齢および BMI を一致させ検討すると、糖尿病患者や冠動脈疾患において血中アディポネクチン濃度が低下していることが明らかとなった[4,5]。実際、アディポネクチン欠損マウスを用いた研究にて、アディポネクチンには抗糖尿病作用および抗動脈硬化作用があることが示されている[6,7]。アディポネクチン欠損マウスは普通食餌では糖尿病などの代謝異常を呈さないが、高脂肪/高シヨ糖食餌で飼育すると糖尿病を発症し、その機序としてはアディポネクチン欠損によりインスリン抵抗性になることが明らかにされている[6]。言い換えるとアディポネクチンにはインスリン感受性を高める作用がある。またアディポネクチンは、血管平滑筋の増殖抑制、単球/マクロファージの機能抑制、血管内皮における接着分子発現の低下など種々の作用により抗動脈硬化作用を発揮する[1,7]。

アディポネクチンの抗血栓作用

上記のようにアディポネクチンの抗糖尿病作用、抗動脈硬化作用は明らかであるが、急性の血栓症発症に関して直接血栓形成を抑制するか否かは明らかではないため、筆者らはこの点に関し検討を加えた。普通食餌で飼育した若齢(10~12週齢)のアディポネクチン欠損マウスを用いて He-Ne レーザー惹起頸動脈血栓モデルにて解析した。また、これらのアディポネクチン欠損マウスには動脈硬化病変はなく、代謝系もほぼ正常であり、血小板数や止血系のパラメーターも正常であった。興味深いことに、アディポネクチン欠損マウスでは血栓形成

能が野生型マウスに比べ亢進しており、さらにこの亢進はアデノウイルスベクターを用いてアディポネクチンを補充することにより改善された（図1）。

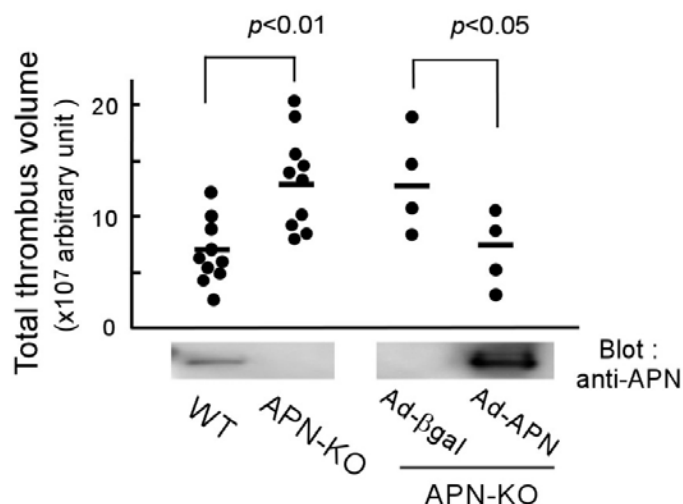


図1. He-Ne レーザー惹起頸動脈血栓モデルでの血栓形成能の解析.
アディポネクチン欠損マウスでは血栓形成が亢進しており、この亢進はアディポネクチンの補充で是正された。(文献8より引用)

血栓形成に関してのアディポネクチンの作用をさらに検討するため、コラーゲンを固相化したプレート上に全血を一定速度で流し、流動条件下での血栓形成過程をリアルタイムで解析した。その結果、アディポネクチン欠損マウスでは、ex vivo の血栓形成能が亢進していることが示された（図2）。この実験系では、血栓形成は内皮細胞機能に影響を受けないため、アディポネクチンが血小板に直接作用し血栓形成に影響を与えていることが示唆された。

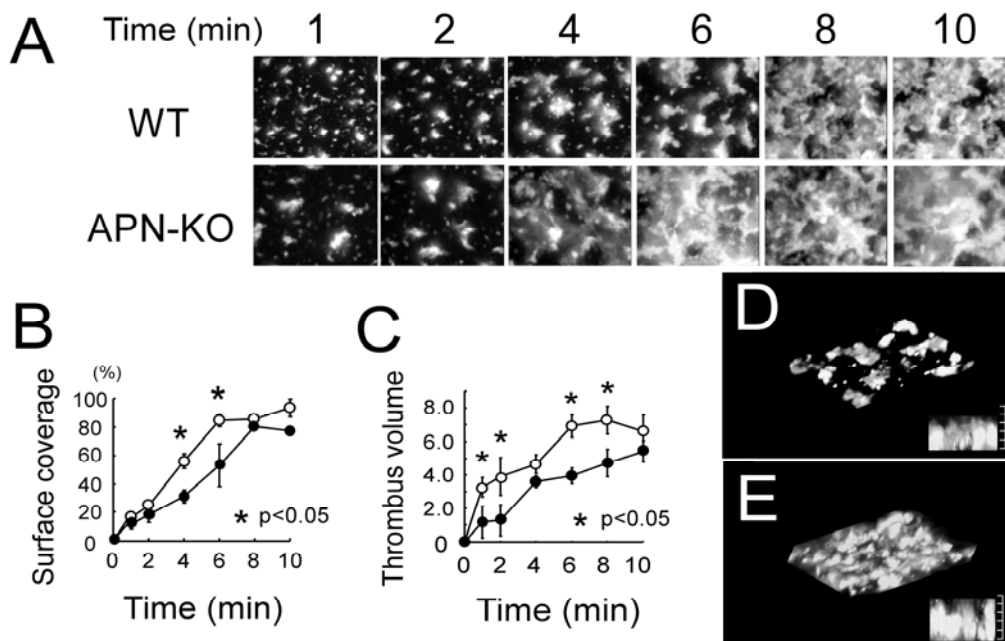


図2. 流動条件下でのコラーゲン上での血栓形成能の解析

マウスより全血を採取し流動下で解析すると、アディポネクチン欠損マウス由来の全血での血栓形成能が亢進していた。

● : 野生型マウス

○ : アディポネクチン欠損マウス

血栓の三次元イメージ (D: 野生型、E: アディポネクチン欠損マウス) (文献8より引)

事実、血小板凝集能を検討するとアディポネクチン欠損マウス血小板では野生型マウス血小板に比べ、血小板凝集能が亢進していた。さらに、アディポネクチンを野生型マウスに再び過剰発現させ He-Ne レーザー惹起頸動脈血栓モデルにて解析すると、野生マウスにおいても血栓形成が抑制され、アディポネクチンの抗血栓剤としての可能性が示唆された[8]。

結 語

脂肪細胞はアディポネクチンに代表されるように種々のアディポサイトカインを産生し、糖尿病や動脈硬化、さらには血栓症の発症に関与していることが分子レベルにて明らかとなってきた。適度な運動や食事による体重減少により、

シンポジウム「食事と運動による循環器疾患の予防」

PAI-1 やアディポネクチンの異常が是正されることが示されており、心血管病変のリスクを改善しうる。メタボリック症候群の提唱は、これらのリスクファクターの早期発見と疾病発症予防に大きく貢献するものと考えられる。

謝 辞

本研究での He-Ne レーザー惹起頸動脈血栓モデルでの解析は神戸学院大学栄養学部生理学研究室の山本順一郎教授との共同研究であり、この場を借りて深謝する。

文 献

1. Matsuzawa Y, Funahashi T, Kihara S, and Shimomura I. Adiponectin and metabolic syndrome. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 24:29-33, 2004
2. Shimomura I, Funahashi T, Takahashi M, Maeda K, Kotani K, Nakamura T, Yamashita S, Miura M, Fukuda Y, Takemura K, Tokunaga K, Matsuzawa Y. Enhanced expression of PAI-1 in visceral fat: possible contributor to vascular disease in obesity. *Nat. Med.* 2:800-803, 1996
3. 富山佳昭、船橋 徹、松澤佑治. 全身性疾患と出血および血栓傾向. 肥満. *Modern Physician* 20:903-906, 2000
4. Hotta K, Funahashi T, Arita Y, Takahashi M, Matsuda M, Okamoto Y, Iwahashi H, Kuriyama H, Ouchi N, Maeda K, Nishida M, Kihara S, Sakai N, Nakajima T, Hasegawa K, Muraguchi M, Ohmoto Y, Nakamura T, Yamashita S, Hanafusa T, Matsuzawa Y. Plasma concentrations of a novel, adipose-specific protein, adiponectin, in type 2 diabetic patients. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 20:1595-1599, 2000
5. Pischon T, Girman CJ, Hotamisligil GS, Rifai N, Hu FB, Rhimm EB. Plasma

- adiponectin levels and risk of myocardial infarction in men. *JAMA*.
291:1730-1737, 2004
6. Maeda N, Shimomura I, Kishida K, Nishizawa H, Matsuda M, Nagaretani H, Furuyama N, Kondo H, Takahashi M, Arita Y, Komuro R, Ouchi N, Kihara S, Tochino Y, Okutomi K, Horie M, Takeda S, Aoyama T, Funahashi T, Matsuzawa Y. Diet-induced insulin resistance in mice lacking adiponectin/ACRP30. *Nat. Med.* 8:731-737, 2002
7. Matsuda M, Shimomura I, Sata M, Arita Y, Nishida M, Maeda N, Kumada M, Okamoto Y, Nagaretani H, Nishizawa H, Kishida K, Komuro R, Ouchi N, Kihara S, Nagai R, Funahashi T. Role of adiponectin in preventing vascular stenosis. *J. Biol. Chem.* 277:37487-37491, 2002
8. Kato H, Kashiwagi H, Shiraga M, Tadokoro S, Kamae T, Ujiie H, Honda S, Miyata S, Ijiri Y, Yamamoto J, Maeda N, Funahashi T, Kurata Y, Shimomura I, Tomiyaama Y, Kanakura Y. Adiponectin acts as an endogenous antithrombotic factor. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 26:224-230, 2006