

血栓形成過程：オーバービュー

杉本 充彦

要 旨：止血機構は，血管破綻部位の内皮下への血小板の粘着で始まり，粘着血小板同士が凝集塊を形成し血小板プラグが完成する。並行して血液凝固反応が進行し，血小板血栓内にフィブリン網形成が進んで強固な止血栓が完成する。生体防御に必須のこれら一連の過程は，時に致死的な病的血栓症のトリガーともなる。本総説では，生理的止血および病的血栓症両者の本態である“血流下での血栓形成メカニズム”の最新の概念を解説する。(J Jpn Coll Angiol, 2011, 51: 275-282)

Key words: thrombus formation, blood flow, platelet adhesion/aggregation, von Willebrand factor, blood coagulation

はじめに

私たち(ヒト)は閉鎖循環系で生命を維持している。生体において血管が破綻した場合，そのままでは閉鎖循環系から血液が漏出し続けることになり生命維持が不可能となる。したがってヒトには，この事態を回避するための生体防御メカニズム“止血機構”が備わっている。

止血機構は血管破綻部位の内皮下組織への血小板の粘着ではじまる。引き続き，組織に粘着した血小板同士が結合し凝集塊を形成することで，血小板プラグ(一次止血栓)が完成する(**Fig. 1: primary hemostasis**)。並行して血小板血栓内で血液凝固反応が進行し，血小板血栓に組み込まれたフィブリノゲンがフィブリンに変換・蓄積されることで，トータルとして強固な止血栓(二次止血栓)が完成することになる(**Fig. 1: secondary hemostasis**)。

生体防御に必須のこれら一連の止血過程は，時に過剰に機能した場合，心筋梗塞やストロークをはじめとした致死的な病的血栓症のトリガーともなりえる。したがって“血栓止血学”は，止血機構の詳細な分子・細胞メカニズムの解明と，これの適正な制御を目的として発展してきた。

血友病を代表とする先天性出血性疾患の発見・病態解析が端緒となって進展した古典的血栓止血研究の多く

は，一連の止血過程の最初のステップである血小板プラグ形成メカニズム(primary hemostasis)については，血小板多血漿を用いた静止系の粘着能，閉鎖攪拌系の凝集能で血小板機能が評価されてきた。また引き続き血液凝固メカニズム(secondary hemostasis)に関しては，血小板をはじめとする血球成分を除去した血漿による静止系・閉鎖攪拌系の古典的凝固アッセイで評価されてきた。しかしながら，①生体内での血栓形成過程は全血流動状況下で成立すること。②血小板機能と血液凝固機能は密接に連動しており，互いにinterplayやupregulateしながら同時進行する。これらのことから古典的な血小板機能検査や凝固アッセイによる各々の独立した研究では必ずしも生体でのイベントを正確に反映し得ないと考えられたのである。

これらの点を克服すべく最近では，古典的な血栓止血研究の流れとは別に，血液還流装置(フローチャンバーシステム)を用いたin vitroでの生理的血流下での血栓形成解析や，生体内顕微鏡によるウサギやマウスなどの実験動物のin vitroでの血栓形成解析を中心とした新潮流の血栓止血研究が盛んにおこなわれるようになってきた。これらの包括的，リアルタイムかつ可視的な血栓形成解析で，生体における血栓形成メカニズムの理解は飛躍的に進展した。

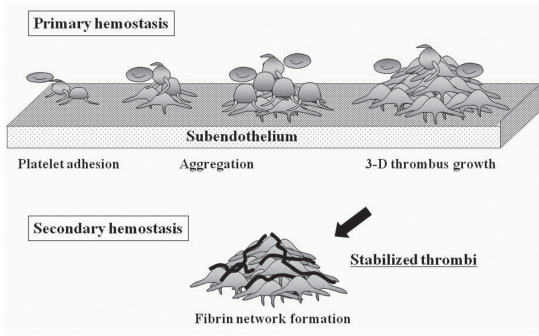


Figure 1 Schematic representation of mural thrombus formation process. Mural thrombus formation at sites of injured vessel walls involves platelet adhesion to the subendothelium, followed by an aggregation of platelets adhering to thrombogenic surfaces. In parallel, blood coagulation mechanisms develop within platelet thrombi, forming an intra-thrombus fibrin-network and eventually resulting in stabilized thrombi.

したがって本稿では、私たちの研究室でおこなっているフローチャンバーシステムの実験成績を中心に新機軸の方法論で最近解明された新知見を、古典的血栓止血学の定理に組み入れて、生理的止血および病的血栓症成立の両者の本態である壁血栓形成メカニズムを解説する。

生体での血栓形成過程

上述したように新潮流の血栓止血研究の大きな特徴は、古典的血栓止血学とは異なり、生理的意義が高いと考えられる *in vitro* もしくは *in vitro* における全血流動状況下での解析という点にある。

a) 生体血管内における血流環境(ずり応力；ずり速度)

生体での血流は血管により大きく異なり、たとえば大きな静脈などでは血液はゆっくり流れており、血小板をふくむ血球成分は大したストレスは受けない。逆に、血液が速く流れている細動脈の狭窄部位や血管径の細い毛細血管などでは、ある種の流体力学的なストレス(ずり応力；shear stress, または、ずり速度；shear rate)を受けるのである(**Fig. 2**)。ずり応力(速度)は血流スピードに比例し、血管径に反比例する(**Fig. 2**)。ここで、静脈血流のように一定した低ずり速度下では、静止系や閉鎖攪拌系の実験システムで構築されてきた古典的血栓止血学の定理がそのまま当てはまると考えてさしつかえない。一方、高ずり速度下や可変性のずり速度下では、静止系や閉鎖攪拌実験系で構築された概念とは全く異なるメカニ

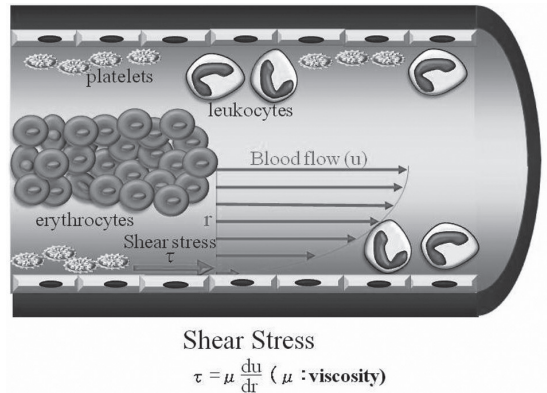


Figure 2 Shear stress (shear rate) in vessel lumen. Platelets and leukocytes circulate close to the vascular wall in vessel lumens, whereas erythrocytes flow in the center of the lumen. Theoretically, the speed of the blood flow is maximal in the center and exponentially decreases to close to zero in the portion close to the vessel wall. Under these conditions, platelets are exposed to the shear stress created by the differential speed of the laminar blood flow.

ズムで壁血栓形成メカニズムが進行すると考えられるようになった。したがってまず高ずり速度下での血栓形成メカニズムについて述べる。

b) 高ずり速度下での血小板粘着メカニズム

1990年代に入って、フローチャンバー実験システムが改良され、正確にさまざまな血流状況・ずり速度が *in vitro* で再現することが可能となった。ガラスプレートに固相化されたコラーゲンや von Willebrand 因子(VWF)などの粘着蛋白上での血栓形成過程のリアルタイムかつ可視的な観察が可能となった(**Fig. 3**)。また、血栓形成過程の画像をコンピュータで詳細なデジタル画像解析をすることができる(**Fig. 3**)。このシステムを用いて明らかとなった高ずり速度下での血小板粘着メカニズムは、完全に VWF の機能に依存することが特徴である。以下に、生体における血小板粘着反応をイベント順に解説する。

血管壁が障害を受けた場合、コラーゲンをはじめとする血管内皮下組織が露出し、血漿中に流れている VWF がコラーゲンなどの内皮下組織構成成分にまず結合する。次いで、血小板はその膜蛋白 GP 1b の α 鎖を通じて、コラーゲンなどに結合した VWF の A1 ドメインと最初のコンタクトをとることになる。ここで、高いずり速度、すなわち血流スピードが速い場合は、種々の古典的な血小板粘着機構は全く機能しない。唯一、VWF-GP 1b 相互作用だ

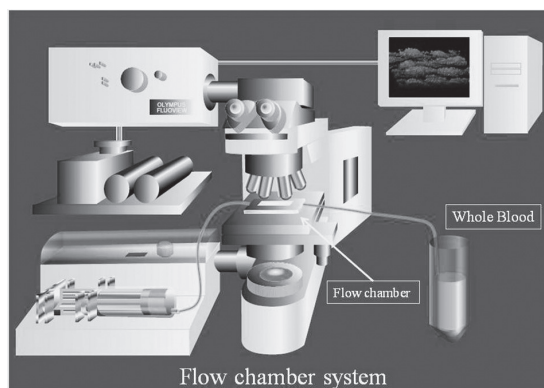


Figure 3 Flow chamber system. The flow chamber, in which adhesive protein-coated glass coverslips were placed, was mounted on a microscope. Whole blood containing fluorescence-labeled platelets was aspirated through the chamber using a syringe pump. The process of platelet thrombogenesis was observed in real time and analyzed in detail using image-analyzing computer software.

けが、その極めて高い(結合反応の)on rateで、高速で流れている血小板を血管破綻現場に捕獲し得るのである。しかしながら VWF-GP Ib 相互作用は同時に off rate も高いためすぐに解離する。血小板は再び固相化 VWF 上に付着しては離れ、付着と解離を繰り返し、結果として血流より圧倒的に遅いスピードで、固相化 VWF 上を移動する(rolling)¹⁾(Fig. 4)。血小板は rolling している間に次第に活性化され、固相化 VWF 上に停止し強固に粘着する(firm adhesion)。Rolling の間に断続的に VWF-GP Ib 相互作用から生じる“inside-out”シグナルが、細胞骨格蛋白を介してインテグリン $\alpha\text{IIb}\beta_3$ を活性化し、活性化インテグリン $\alpha\text{IIb}\beta_3$ が固相化 VWF の(アミノ酸 RGD 配列を含む)C1 ドメインと結合することで、強固な血小板粘着に至るものと考えられている¹⁻³⁾(Fig. 4)。

固相化 VWF 上での個々の血小板粘着は、血小板の伸展による非可逆的粘着(irreversible adhesion)で完結するが、この過程における血小板内カルシウム動態および形態変化は Fig. 5 に示すように進行する⁴⁾。まず、血液中を流れている円板状の血小板は GP Ib を介して VWF 表面と最初の接触を持つと同時に、速やかに球状になり偽足を出して rolling を始める。Rolling の間に VWF-GP Ib 相互作用によって生じる inside-out シグナルで活性化された $\alpha\text{IIb}\beta_3$ が VWF と結合し、半円球状に形を変えた血小板が固相化 VWF 上に停止する(firm adhesion)。こ

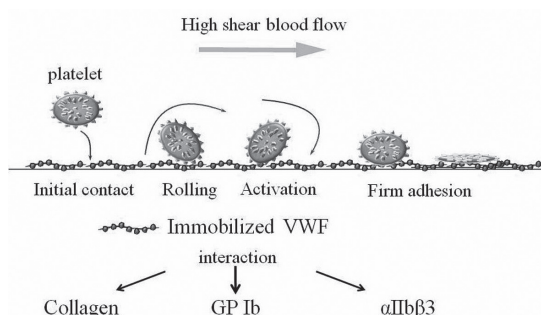


Figure 4 Schematic representation of von Willebrand factor (VWF)-dependent platelet adhesion under high shear flow. Platelets roll on the subendothelium at sites of vascular injury through the interaction of glycoprotein (GP) Ib with the A1 domain of VWF immobilized on the subendothelium. During rolling, the platelets gradually become activated, stopping on and firmly adhering to the surface due to the binding of integrin $\alpha\text{IIb}\beta_3$ to the RGD sequence of the immobilized VWF.

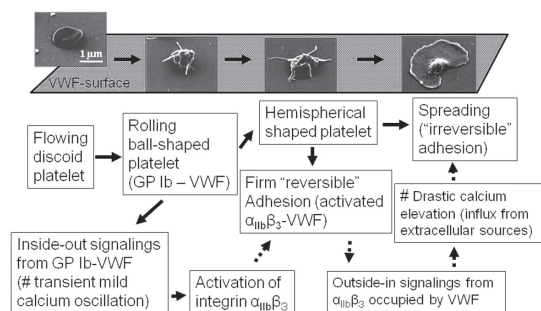


Figure 5 Event sequence and mechanisms of platelet shape changes during the adhesive process under high shear flow. Flowing discoid platelets extrude filopodia and become ball-shaped upon interaction with the VWF surface via GP Ib. During rolling, hemispherical shape change and activation of integrin $\alpha\text{IIb}\beta_3$ lead to firm platelet adhesion. After firm adhesion and drastic calcium influx, the platelet adhesive process is finalized by the extensive spreading of platelets on a thrombogenic surface.

の rolling 過程において、中等度の細胞内カルシウムの上昇(変動: oscillation)が観察されている。これは VWF-GP Ib 反応依存性の細胞内貯蔵カルシウムのリリースによると考えられ、firm adhesion に必須である。この firm adhesion の時点では、粘着は未だ可逆的であると考えられる。次いで、VWF と結合した $\alpha\text{IIb}\beta_3$ から“outside-in”シグナルが入り、血小板内カルシウムが劇的に上昇し、血小板は極端に扁平に伸展(extensive spreading)すること

で真の非可逆的粘着が完成する^{3,4)}(Fig. 5)。

ここまで VWF の機能特性を基盤とした血小板粘着機構を概説してきたが、当然ながら生体における血管破綻部位の内皮下組織への血小板の粘着はもう少し複雑である。血小板コラゲンレセプターのインテグリン $\alpha 2\beta 1$ や GP VI のコラゲンへの結合反応などの古典的な血小板粘着機転も役割を演じていることが明らかとなっている。しかしながら、高ずり速度下ではこれらの古典的反応はあくまで補助的であり、VWF 機能が血小板粘着反応を絶対的に支配する。

c) 高ずり速度下での血小板凝集メカニズム

血小板粘着につづく次のステップとして、損傷血管壁に強固に粘着した血小板はつぎつぎと血流にのって供給される血小板を捕獲・結合し(血小板凝集反応)、壁血小板血栓が空間的に成長する。古典的概念では血小板凝集はフィブリノゲンの分子糊機能が司ると考えられていたが、高ずり速度下においては粘着過程と同様、VWF-GP Ib 相互作用と VWF-インテグリン $\alpha IIb\beta 3$ 結合反応が主役を演じることが判明した^{5,6)}。高ずり速度下では粘着蛋白も速いスピードで流れており、この状況下でフィブリノゲンをはじめとした VWF 以外の血漿粘着蛋白は、損傷血管壁に粘着した血小板 $\alpha IIb\beta 3$ に直接反応し得ない。ここでもまず VWF が 2 段階メカニズムの特性を発揮して粘着血小板上の GPIb と相互作用した後、活性化 $\alpha IIb\beta 3$ に結合する。すなわち、最初の固相化 VWF への 1 層目の血小板粘着メカニズムの裏返しの現象(固相化血小板への血漿 VWF の強固な結合)が起こるのである⁶⁾(Fig. 6)。

次いで、粘着血小板に捕獲された VWF 分子の層を血流中の血小板が、やはり 2 段階メカニズムで rolling してこれに粘着することで 2 層目の血小板粘着が完成する。高ずり速度下での壁血小板血栓の空間的成長は、VWF の機能で粘着過程を 2 層目、3 層目と繰り返すことで成立すると考えられる(Fig. 6)。このように高ずり速度下では、古典的定理では主役と考えられていたフィブリノゲンの不在状況下でも、VWF 依存性メカニズムで基本的に壁血栓は 3 次元的に増大する。しかし、フィブリノゲン不在状況下で形成される血栓は、血栓のパッキングが粗であり壊れやすい。したがって、高ずり速度下においても壁血栓の正常かつ強固な 3 次元的進展には、VWF 機能とともにフィブリノゲンによる血栓安定化機能も必須と考えられている⁷⁾。

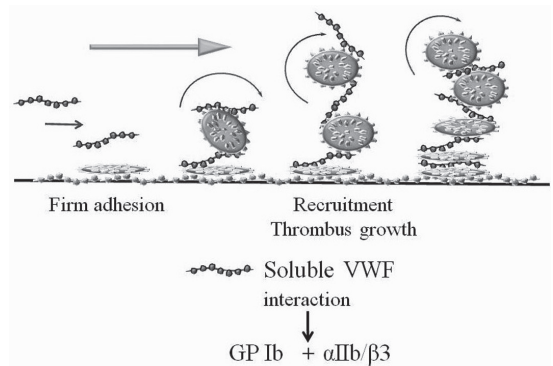


Figure 6 Schematic representation of VWF-dependent platelet aggregation under high shear flow. VWF moving at high speeds can be captured only through its transient interaction with GP Ib on platelets adhering to and immobilizing on the surface, followed by the irreversible binding of VWF, transiently trapped by GP Ib on platelets, to neighboring activated $\alpha IIb\beta 3$. Captured VWF on platelets adhering to the surface may then mediate second-layer platelet adhesion via VWF-GP Ib interaction and via VWF- $\alpha IIb\beta 3$ interaction, in a mode similar to initial platelet adhesion onto the surface. Thus, mural thrombus development under high shear may reflect repeated cycles of these events.

この血管破綻部位における血小板血栓の 3 次元的進展は止血メカニズムに必須であるが、このまま増大し続けるわけではない。そのまま増大し続けた場合、最終的には血管閉塞→血液遮断→臓器不全をひきおこし生命の危機となる(血栓症)。したがって、血栓の 3 次元的進展は生体において精密に制御されているはずである。この制御メカニズムは長らくの間不明であったが、私たちは最近、VWF 切断酵素である ADAMTS13 による血小板血栓成長制御メカニズムを解明した。フローチャンバーシステムでの実験で、ADAMTS13 の VWF 切断(VWF 機能抑制)活性はずり速度に呼応して増大することを見出し、以下のメカニズムを提唱した⁸⁾。

高ずり速度下で、まず VWF-GP Ib 相互作用が促進され、VWF 依存性の血小板粘着・凝集が進行する(止血機転)。血小板粘着・凝集の初期相のこの時点では ADAMTS13 の機能は未ださほど活発ではない。血小板粘着・凝集反応の進行につれ、徐々に血栓が大きくなっていき、血管内腔のフリースペースが狭小化することになる。ずり速度の定義「血管腔が狭いほどずり速度が高い(Fig. 2)」から考えると、結果として血栓の増大に呼応して局所ずり速度が高くなる。理論的には、閉塞直前の

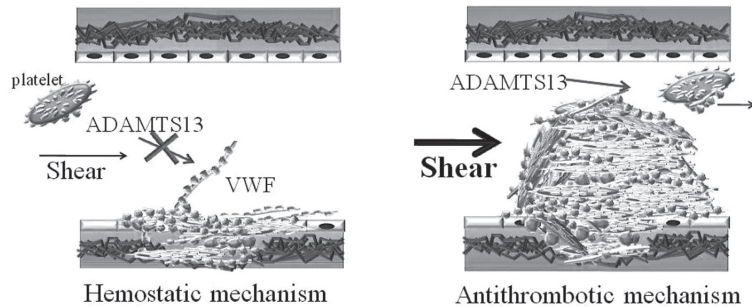


Figure 7 ADAMTS13-mediated mechanisms to regulate mural thrombus growth under high shear blood flow conditions. At the initial phase of thrombus formation, ADAMTS13 is not highly active, and VWF-dependent platelet adhesion and aggregation progress under high shear rate conditions (hemostatic mechanism). Note that ADAMTS13 activity is drastically upregulated by the shear rate increase. Thus, ADAMTS13 activity is triggered in response to the increased local shear rate associated with the development of thrombi to prevent excessive thrombogenesis from occluding the vessel lumen (antithrombotic mechanism).

血管腔におけるずり速度は無限大に上昇しているはずである。同時に、血流に直接暴露する血栓成長先進部では、VWFへのOn-goingな血小板結合でADAMTS13によるVWF切断活性が飛躍的に亢進する(**Fig. 7**)。言い換えれば、血栓が成長すればするほど、ADAMTS13の血栓成長ストッパー(制御)機能が増幅されて致命的な血管閉塞を回避させることになる(抗血栓機転)。すなわち生体では、VWF、血小板、およびADAMTS13の三者が、ずり応力のタクトの下で絶妙なハーモニーを奏でて、致命的な動脈閉塞を防御しつつ適正な止血血栓形成を司っていると想定されるのである^{8,9)}(**Fig. 7**)。

d) 血小板血栓上での血液凝固メカニズム

近年進展してきたフローチャンバー実験システムは本来、血小板粘着・凝集過程を解析するためのものであり、基本的に抗トロンビン剤などを添加して血液凝固の関与を最小化した実験環境でおこなわれてきた。しかし、生体では血小板血栓の構築と並行して血液凝固メカニズムが作動する。結果として、血小板血栓上にフィブリン網がはりめぐらされ、壁血栓ががっちりと強化されることになる。

最近私たちのラボでは、全血に添加する抗凝固剤を修飾・調整することで、高ずり速度下で形成される血小板血栓上でのフィブリン網形成を可視的に評価し得るフローシステムを構築した¹⁰⁾。共焦点レーザー顕微鏡による壁血栓内のフィブリン網形成の立体的な評価が可視的に可能となった。実際、血友病などの先天性出血性疾患

の止血能および、止血剤の効果が極めて生理的な状況下で判断しえる。また逆にヘパリンをはじめとする抗凝固薬の抗血栓効果を可視的に把握することができる¹⁰⁾(**Fig. 8**)。

この血小板血栓内のフィブリン網形成は、内因系と外因系メカニズムで構成される従来の凝固カスケード定理とはかなり違ったメカニズムで進行する。すなわちこのイベントは、液相(soluble phase)でのフィブリン形成反応を評価するプロトロンビン時間(PT)や活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)などの古典的凝固アッセイとは異なり、血小板膜上での固相(solid phase)での凝固反応であり、血小板活性化と密接にリンクする。血小板活性化依存性の血小板膜リン脂質 phosphatidylserine の膜表出(Flip-flop)やp-selectinの膜発現などが、この血小板膜上での凝固反応の初期相に重要な役割を果たす¹¹⁾(**Fig. 9**)。血小板膜が、凝固メカニズムに関してサイレントな状態から、陰性荷電の強いcoagulant-activeなphosphatidylserineに変化することで血液凝固反応の核となるビタミンK依存性因子や第VIII因子、第V因子などの凝固因子の血小板膜上での集合(assembly)が可能となる。これに加えて、血液中に流れている白血球由来のマイクロパーティクル上の組織因子(blood-borne tissue factor; TF)が血小板膜上のp-selectinと結合する¹²⁾。これらの反応で、高ずり応力のような早い血流下ではwash outされやすい血液凝固因子の血小板血栓局所での濃縮が可能となり、血小板膜上での固相凝固反応、すなわち

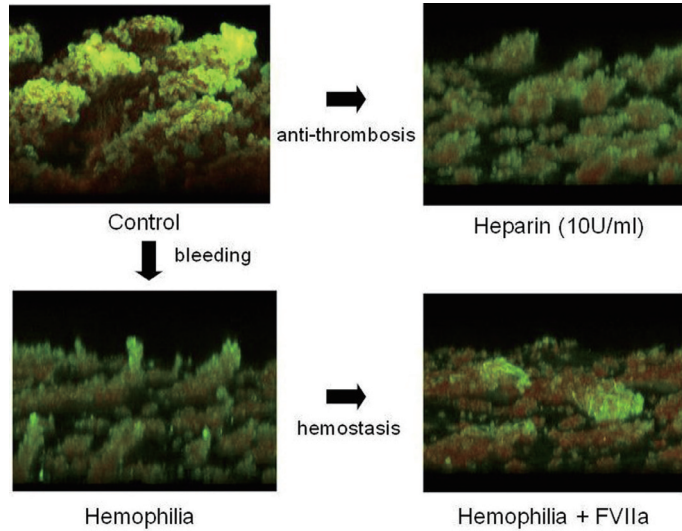


Figure 8 Visual evaluation of thrombosis and hemostasis in blood coagulation on platelet thrombi under high shear flow. The three-dimensional images were constructed using the image-analyzing system of a confocal laser scanning microscope (CLSM) based on data from perfusion studies. The orange and green colors indicate fibrin and fibrinogen within thrombi, respectively. Note the shallow and loose packing of thrombi in heparinized blood and of hemophilia thrombi, as well as the more bulky and tightly packed control thrombi and hemophilia thrombi in the presence of activated factor VII (FVIIa).

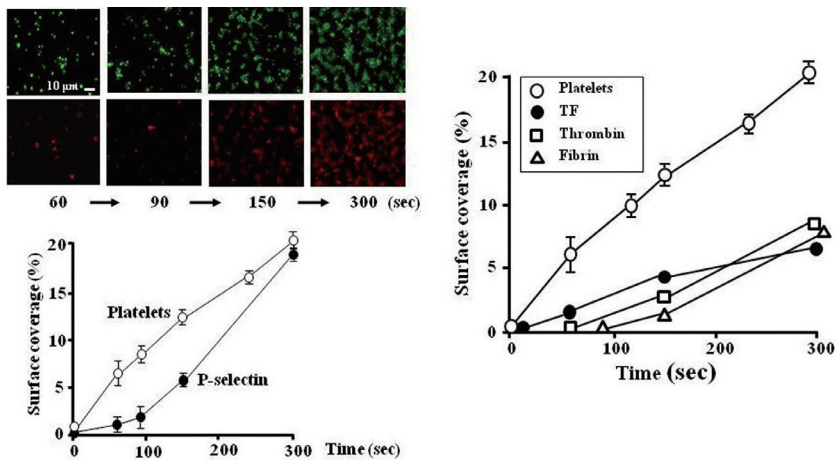


Figure 9 Membrane expression of P-selectin and deposition of TF, thrombin, or fibrin on platelets adhering to VWF-coated surfaces under high shear rate conditions. (A) Platelets adhering to VWF-coated surfaces under high shear rate conditions were visualized using time course images of a CLSM. The green and orange colors indicate the total platelets adhering to the surface and the platelets with positive membrane expression of P-selectin, respectively. Changes in the surface coverage of the fluorescent platelets on the surface over time (lower panel) indicate that the membrane expression of P-selectin increased as a function of time; all of the platelets adherent to the surface became positive for P-selectin expression after 300 sec of blood perfusion. (B) Changes in the deposition of TF, thrombin, or fibrin on platelets adhering to VWF-coated surfaces under high shear rate conditions. The changes in the surface coverage of each factor indicate that platelet procoagulant activity occurred following the sequence of (1) TF accumulation, (2) thrombin binding, and (3) fibrin deposition on platelet thrombi.

トロンビン形成を爆発的に増強させると考えられる。最終的に、血小板血栓内に組み込まれたフィブリンがフィブリノゲンに急速に転換され、血小板血栓内にフィブリン網形成が進展し、安定した壁血栓が完成するのである^{11, 12)}(Fig. 9)。

おわりに

紙面スペースの関係上、最近の *in vitro* フローチャンバーシステムによる実験成績で明らかとなった“全血での高ずり速度下における血栓形成メカニズム”に焦点を絞って解説した。フローシステムの実験環境は、(血小板多)血漿による静止系や閉鎖攪拌系が基本となる古典的な血栓止血学実験の設定とは大きく異なる。より生理的な環境と考えられるフロー実験系での成績で、とくに、血小板粘着・凝集メカニズムの解明はここ数年で大きく進展した。加えて、最終項で概説したように、血小板機能解析を本来目的に進展したフロー実験システムを用いた血液凝固研究も徐々に進展しつつある。さらに、血液凝固反応によるフィブリン網が形成されると、それに伴って生体では組織修復の進行とともに、繊維素溶解(フィブリン融解)機転(Fibrinolysis)が進行する。今後はこの線溶現象も包括的に組み入れた生理的血流状況下での解析を行う必要があろう。

また緒言で述べたように、これら *in vitro* 実験システムに加えて、最近では生体内顕微鏡の解像スキルも飛躍的に向上し、ウサギやマウスなどの実験動物の *in vitro* での血栓形成解析が盛んにおこなわれるようになった。生体での血流環境は血管弾力性や解剖学的な血管走行状況などに大きく影響され、微妙な血流・ずり応力の変化などを *in vitro* フロー実験系で再現することは難しい。実際、生体内顕微鏡による実験動物の最近の *in vivo* 実験で、血管内のずり速度のグラデーションな変化のみで血小板粘着・凝集反応が進行することが報告された¹³⁾。興味あることに、この血小板粘着・凝集反応は古典的な血小板凝集反応とは全く異なるメカニズムに支配され、古典的な血小板形態変化、放出反応や血小板活性化アゴニストには全く依存しないで進行することが明らかとなった¹³⁾。

これら *in vitro* または *in vivo* 血流状況下での血小板機能、血液凝固および線溶機転の包括的な解析アプローチは、今後、ますます重要性を増すと考えられる。実際、ここ数年来、*in vitro* フローチャンバーシステムや、生体

内顕微鏡による *in vivo* 観察は一般的に広く浸透し、多くの研究施設でおこなわれるようになってきた。今後、これらの新規研究アプローチで、血栓形成メカニズムの解明におけるさらなるブレイクスルーが期待される。

文 献

- 1) Savage B, Saldivar E, Ruggeri ZM: Initiation of platelet adhesion by arrest onto fibrinogen or translocation on von Willebrand factor. *Cell* 1996; **84**: 289–297
- 2) Tsuji S, Sugimoto M, Miyata S, et al: Real-time analysis of mural thrombus formation in various platelet aggregation disorders: distinct shear-dependent roles of platelet receptors and adhesive proteins under flow. *Blood* 1999; **94**: 968–975
- 3) Kuwahara M, Sugimoto M, Tsuji S, et al: Cytosolic calcium changes in a process of platelet adhesion and cohesion on a von Willebrand factor-coated surface under flow conditions. *Blood* 1999; **94**: 1149–1155
- 4) Kuwahara M, Sugimoto M, Tsuji S, et al: Platelet shape changes and adhesion under high shear flow. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002; **22**: 329–334
- 5) Sugimoto M, Tsuji S, Kuwahara M, et al: Shear-dependent functions of the interaction between soluble von Willebrand factor and platelet glycoprotein Ib in mural thrombus formation on a collagen surface. *Int J Hematol* 1999; **69**: 48–53
- 6) Sugimoto M, Miyata S: Functional property of von Willebrand factor under flowing blood. *Int J Hematol* 2002; **75**: 19–24
- 7) Matsui H, Sugimoto M, Mizuno T, et al: Distinct and concerted functions of von Willebrand factor and fibrinogen in mural thrombus growth under high shear flow. *Blood* 2002; **100**: 3604–3610
- 8) Shida Y, Nishio K, Sugimoto M, et al: Functional imaging of shear-dependent activity of ADAMTS13 in regulating mural thrombus growth under whole blood flow conditions. *Blood* 2008; **111**: 1295–1298
- 9) Hobbs, II WE, Lopez JA: Shear elegance: regulation of thrombus growth by shear stress. *Blood* 2008; **111**: 972
- 10) Mizuno T, Sugimoto M, Matsui H, et al: Visual evaluation of blood coagulation during mural thrombogenesis under high shear blood flow. *Thromb Res* 2008; **121**: 855–864
- 11) Hamada M, Sugimoto M, Matsui H, et al: Antithrombotic properties of pravastatin reducing intra-thrombus fibrin deposition under high shear blood flow conditions. *Thromb Haemost* 2011; **105**: 313–320
- 12) Falati S, Liu Q, Gross P, et al: Accumulation of tissue factor into developing thrombi in vivo is dependent upon

microparticle P-selectin glycoprotein ligand 1 and platelet P-selectin. *J Exp Med* 2003; **197**: 1585–1598

13) Nesbitt WS, Westein E, Tovar-Lopez FJ, et al: A shear gradient-dependent platelet aggregation mechanism drives thrombus formation. *Nature Med* 2009; **15**: 665–673

Overview of Thrombus Formation Process

Mitsuhiko Sugimoto

Department of Regulatory Medicine for Thrombosis, Nara Medical University, Nara, Japan

Key words: thrombus formation, blood flow, platelet adhesion/aggregation, von Willebrand factor, blood coagulation

When vessel walls are ruptured *in vivo*, hemostatic plugs are formed to repair the damaged sites, ensuring blood flow for vital organs, and functioning as a human defense mechanism. Mural thrombus formation at sites of injured vessel walls, fundamental for hemostatic plugs, involves platelet adhesion to the subendothelium, followed by an aggregation of platelets adhering to thrombogenic surfaces. In parallel, blood coagulation mechanisms develop within platelet thrombi, forming an intra-thrombus fibrin-network and eventually resulting in stabilized thrombi. This hemostatic mechanism is also known to trigger fatal intravascular thrombosis such as myocardial infarction or stroke. To clarify molecular and cellular mechanisms for mural thrombus formation, new experimental approaches have recently been used in which rheological circumstances were taken into consideration because the above series of events occurs under whole blood flow conditions *in vivo*. Indeed, *in vitro* flow studies using a perfusion chamber and *in vivo* analysis using intravital microscopy in experimental animals have drastically revised the classic theory for hemostatic mechanisms. This review article discusses the recent progress in understanding the mechanisms of thrombus formation under physiologic whole blood flow conditions.

(*J Jpn Coll Angiol*, 2011, **51**: 275–282)