

平成 24 年 6 月 12 日

## 新たな遺伝性血栓症の原因を発見

### 発表のポイント

- 静脈血栓症の遺伝的リスクとなる未知の血栓性素因を解析。
- 通常は出血し易くなる血液凝固因子の異常が逆に血栓症の原因となることを発見。
- 血栓症の新しい治療法や予防法の開発貢献への期待。

### 発表の要旨

名古屋大学大学院医学系研究科（保健学統括専攻長・榊原久孝）は、これまで原因が不明であった遺伝性血栓症において、通常では血液が固まらず出血し易くなる凝固因子の異常が、逆に血液が固まり易くなり血栓症の原因となる、新しい血栓性素因を発見しました。これは、名古屋大学大学院医学系研究科（保健学）病態解析学講座 宮脇由理（みやわきゆうり）大学院生（D3）、高木明（たかぎあきら）助教、小嶋哲人（こじまつひと）教授、名古屋大学医学部附属病院輸血部 松下正（まつしたただし）教授らの研究グループによる成果です。

静脈血栓症は、多因子疾患として知られ、環境的リスクと遺伝的リスクなどが重なり起こる病気です。前者には加齢や妊娠、長期臥床、震災後車中泊、ロングフライト（エコノミークラス症候群）などが知られ、後者にはアンチトロンビンやプロテインC、プロテインSなどの生理的凝固抑制因子の遺伝子異常があります。これまで多くの遺伝性血栓症でこれらの遺伝子異常が見つかっていますが、いまだに原因が不明なものも少なくありません。研究グループでは、これまで原因が不明であった静脈血栓症患者において、通常は出血傾向となるプロトロンビン（凝固因子の一つでトロンビンの前駆体）異常症が、逆に血栓症の原因となる遺伝子異常を発見しました。この異常なプロトロンビンは、凝固活性は弱いもの一旦トロンビンへと活性化されると、アンチトロンビン（凝固抑制因子の一つでトロンビンなどを不活化）による不活化作用に抵抗性をもつため長く活性を保ち続け、これが血栓症を起こす原因となることが判明しました。この新しく見いだされた血栓性素因・アンチトロンビン抵抗性は、日本人に限らず欧米人をはじめ他の人種にも見られることが予想されます。また、これら血栓性素因の病態解明は、高齢化に伴い日本人でも増加傾向にある静脈血栓症や脳梗塞、心筋梗塞などの血栓性疾患において、新しい治療法や予防法の開発につながることで期待できます。

本研究成果は、世界のトップ科学雑誌『*New England Journal of Medicine*』（2012年6月21日号）に掲載されます。

# 新規血栓性素因・アンチトロンビン抵抗性の原因遺伝子異常を発見

主たる研究者

名古屋大学大学院医学系研究科（保健学）病態解析学講座・大学院生 宮脇由理 (D3)

名古屋大学大学院医学系研究科（保健学）病態解析学講座・助教 高木明

名古屋大学医学部附属病院輸血部・教授 松下正

名古屋大学大学院医学系研究科（保健学）病態解析学講座・教授 小嶋哲人

※本研究成果は、2012年6月21日付米国科学雑誌『*New England Journal of Medicine*』に掲載。

## Thrombosis From a Prothrombin Mutation Conveying Antithrombin Resistance

（アンチトロンビン抵抗性を示す遺伝性プロトロンビン変異に起因する血栓症）

### 1. 背景

静脈血栓症は多因子疾患として知られ、遺伝的リスク要因と環境的リスク要因などが重なって起こる病気です。従来、欧米人に多く日本人には少ない疾患とされてきましたが、診断技術の向上や食生活を含めた生活環境の欧米化もあり、日本人にも決して少なくないことが明らかにされてきています。静脈血栓症は、肺塞栓症が合併することも合わせて静脈血栓塞栓症とも呼ばれ、その環境的リスク要因には加齢や妊娠、長期臥床、ロングフライト（エコノミークラス症候群）などが知られ、遺伝的リスク要因にはアンチトロンビンやプロテインC、プロテインSなどの生理的血液凝固抑制因子の遺伝子変異があります。現在まで数多くの静脈血栓症でこれらの遺伝子異常が見つっていますが、いまだ原因不明な遺伝性血栓症も多くあり、また直接の発症要因が不明な血栓症は特発性血栓症として難病疾患の一つにも指定されています。研究グループでは、原因が不明であった静脈血栓症患者において、通常は出血傾向を示すプロトロンビン（血液凝固因子の一つでトロンビンの前駆体）の異常で、逆に静脈血栓症の原因となる遺伝子異常を発見しました。

### 2. 研究成果

発端者のプロトロンビン遺伝子に、活性化されたトロンビンの生理的血液凝固抑制因子であるアンチトロンビンとの結合部に位置するアルギニン（Arg596）がロイシンに置換するミスセンス変異を同定しました（図1）。この変異は、患者と血縁の他の血栓症患者にも検出したことから遺伝性血栓症の原因であることが疑われました。血栓症治療のためワルファリ

ンを服用中の患者血漿検体ではプロトロンビン機能の解析が困難なため、遺伝子工学技術を用いて変異型プロトロンビンを作製してトロンビンへの活性化動態、活性化後の不活化動態を正常型プロトロンビンと比較しました。その結果、変異型はプロトロンビン活性としては正常型の約 15%に低下し、活性化後のトロンビン活性としては約 30%に低下していました。一方、活性化した後に生理的制御因子であるアンチトロンビンとの結合能（トロンビン・アンチトロンビン（TAT）複合体形成能）を比較したところ、変異型トロンビンはアンチトロンビンにほとんど結合しないことが判明し（図 2）、不活化反応がほとんど起こらないことが予想されました。さらに、プロトロンビン欠乏血漿に変異型プロトロンビンを添加した疑似患者血漿におけるトロンビン生成試験（TGA）では、疑似正常血漿と比較して最高トロンビン活性がやや低いものの不活化が著しく遅延しており、結果として総トロンビン活性量（活性値と持続時間の積分值）の著しい増大を認めました（図 3）。すなわち、患者血漿中の異常プロトロンビンは、血液凝固活性は低いものの一旦活性化されるとアンチトロンビン抵抗性を示して凝固活性（フィブリン生成能）を保ち続けることになり、これが遺伝性血栓症の原因になることが判明しました（図 4）。この報告は、通常では出血傾向が予想される凝固因子であるプロトロンビンの遺伝子変異が逆に静脈血栓症の原因となる詳細な分子病態を解明したもので、アンチトロンビン抵抗性の血栓性素因を世界で初めて同定したものです。

### 3. 今後の展開

新しい血栓性素因・アンチトロンビン抵抗性の発見は、日本人だけでなく欧米人をはじめ他の人種での遺伝性血栓症においても新たな病態解明につながることを期待でき、アンチトロンビン抵抗性病態についての更なる研究成果の蓄積が望まれます。これらの血栓性素因の病態解明は、特発性血栓症をはじめとする静脈血栓塞栓症に限らず、やはり加齢とともに増加する脳梗塞、心筋梗塞などの血栓性疾患において、新しい治療法や予防法の開発につながることを期待でき、特に超高齢化社会を迎えつつある日本においては、その社会的意義は極めて大きいものがあります。

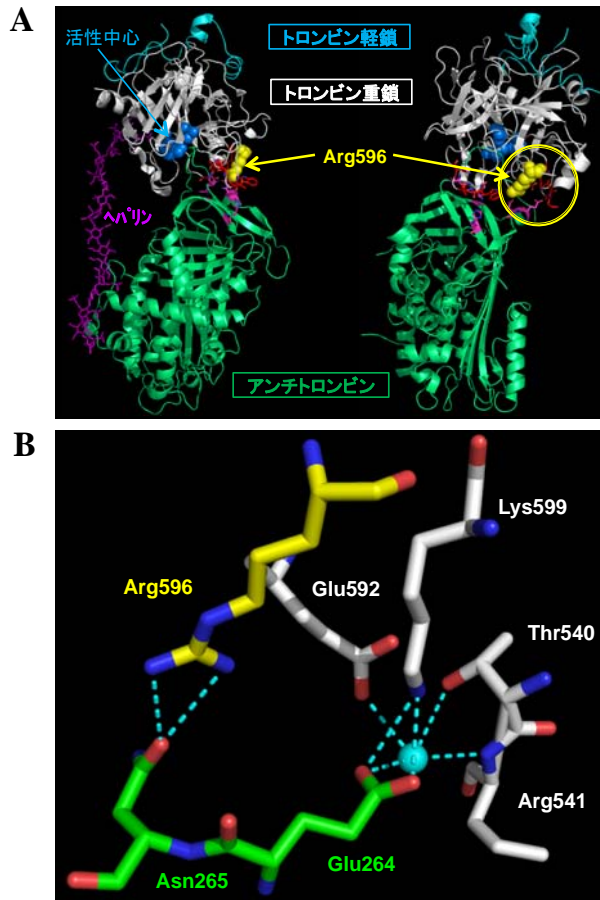


図1 トロンビン・アンチトロンビン (TAT) 複合体の分子構造

A. ヘパリン・トロンビン・アンチトロンビンの3分子複合体の分子構造：  
黄色○印は、変異の見られた Na イオン結合領域で、酵素活性発現に重要な構造。

B. トロンビン・アンチトロンビン (TAT) 複合体での Arg596 周囲の分子構造：  
異常プロトロンビンで変異の見られたアルギニン (Arg596) は、トロンビンへの活性化後にアンチトロンビンへの活性化後にアンチトロンビンのアスパラギン (Asn265) と TAT 複合体形成に重要な水素結合 (水色破線) を形成。トロンビンでのアルギニン (Arg596) からロイシンへの置換は、トロンビン不活化不全を起こすことが予想される。水色球体は水分子。

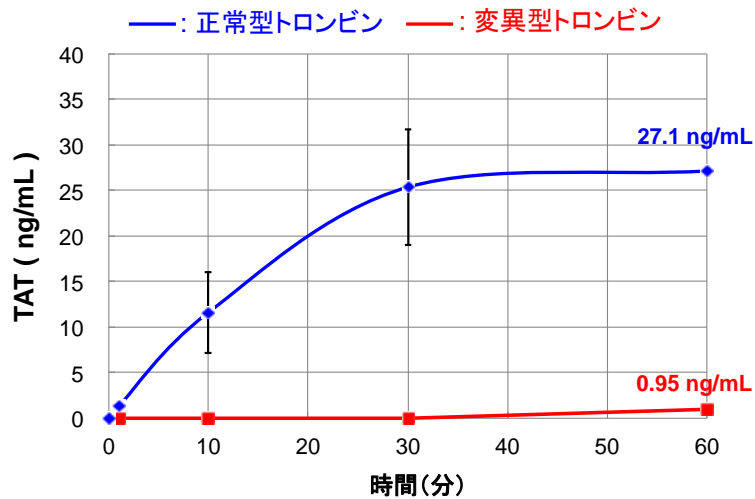


図2 トロンビン・アンチトロンビン (TAT) 複合体形成能

組換えプロトロンビン (正常型および変異型) をトロンビンに変換し、それぞれアンチトロンビンとの結合能 (TAT 複合体形成能) を ELISA 法にて観察。TAT 形成は、正常型では経時的見られたが、変異型では 30 分まで検出限界未満、60 分後でもごくわずかにしか見られなかった。

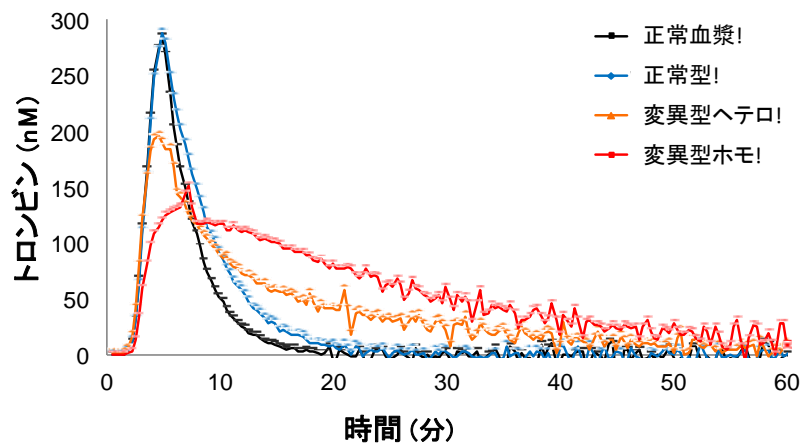


図3 トロンビン生成試験 (TGA)

プロトロンビン欠乏血漿に各組換えプロトロンビンを加えた疑似患者血漿 (変異型ヘテロ) での TGA は、疑似正常血漿 (正常型) に比べ最高トロンビン活性がやや低いものの不活化が著しく遅く、結果として総トロンビン活性量 (活性値と持続時間の積分値) の著しい増大を認めた。

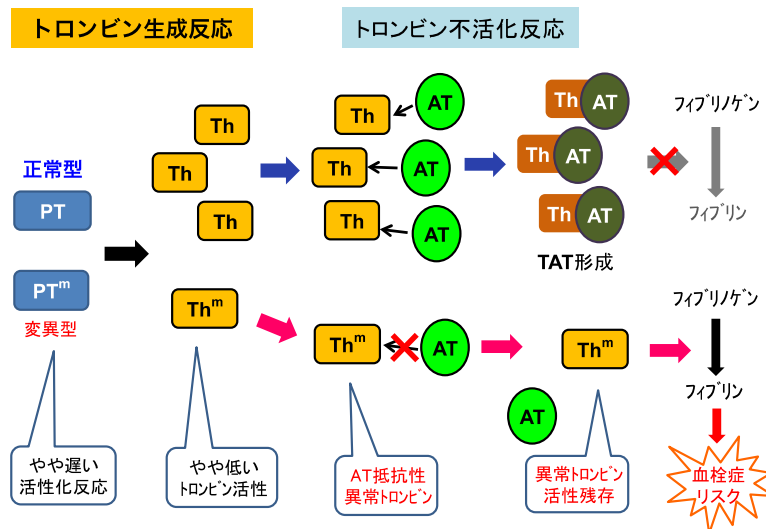


図4 アンチトロンビン抵抗性による血栓傾向機序

患者血漿中の異常プロトロンビン (変異型) は、凝固活性は低いものの一旦活性化されるとアンチトロンビン抵抗性を示してフィブリン生成能を保ち続け、これが遺伝性血栓症の原因となる。

PT: 正常型プロトロンビン、T: 正常型トロンビン、AT: アンチトロンビン、PT<sup>m</sup>: 変異型プロトロンビン、T<sup>m</sup>: 変異型トロンビン、TAT: トロンビン・アンチトロンビン複合体