

先天性血栓性素因の分子病態解析

研究分担者：名古屋大学医学部附属病院 松下 正

研究協力者：名古屋大学医学部附属病院 鈴木伸明

北海道大学医学部保健学科 田村彰吾

名古屋大学医学部附属病院 鈴木敦夫

研究要旨

国内の特発性血栓症症例を対象に原因遺伝子変異の同定を進め、アカデミアの視点から興味深い症例に関してはその分子病態の解明を行った。

2020年1月から2022年12月の3年間で、特発性血栓症24症例の遺伝子解析を行った。AT欠乏症は家系内調査を含む5症例、PC欠乏症は5症例、PS欠乏症は13症例を解析した。また、家系内に頻回のDVT既往親族を有する米国籍白人女性にFactor V Leidenをヘテロ接合体で同定した。

本邦から報告された血栓性素因であるアンチトロンビン抵抗性プロトロンビン(ATR-FII)に関してはノックインマウスを作製し、マウス静脈血栓症モデルを用いて効果的な抗血栓療法について検討した。本研究においては初年度に下大静脈を結紮し、血流を遮断することにより、静脈血栓を誘発させるマウスモデルを確立させ、2年目以降にATノックアウトヘテロマウス、ATR-FIIマウスを対象に未分画ヘパリン、フォンダパリヌクスの抗血栓効果を検討したところ、ATR-FIIマウスでは未分画ヘパリンの抗血栓効果が高いことが示唆された。

A. 研究目的

国内の特発性血栓症症例を対象に原因遺伝子変異の同定を進め、それぞれの遺伝子変異の分子病態を解明すること。および、マウス静脈血栓症モデルを用いて、本邦にて同定されたアンチトロンビン抵抗性プロトロンビン(ATR-FII)ノックインマウスの効果的な抗血栓療法について検討することを目的とする

B. 研究方法

名古屋大学医学部附属病院を受診した特発性血栓症患者を対象に血栓性素因

の検索を行い先天性の素因が疑われるものを対象に遺伝子解析を実施。

ATR-FIIの抗血栓療法の有効性評価に関してはオリジナル作製した遺伝子組み換えマウスを用いて、下大静脈結紮モデルによる抗血栓症薬の評価を実施した。

(倫理面への配慮)

遺伝子解析は名古屋大学医学部附属病院の倫理委員会に研究申請し、承認を得た上で実施。マウスモデルに関しても、遺伝子組み換え実験と動物実験に関する承認申請を得たうえで実施した。

C. 研究結果

2020年1月から2022年12月の3年間で、特発性血栓症24症例の遺伝子解析を行った。AT欠乏症は家系内調査を含む5症例を解析し、血栓症の既往がある3症例の全てに *SERPINC1* の遺伝子変異を同定した

(NC_000001.11:g.173862329_17390778 2delinsCTA, c.1154-14G>A, p.Arg79Cys)。PC欠乏症は5症例を解析し、4症例に *PROC* に遺伝子変異を同定した (p.Gly423Valfs*82が2例、p.Pro405Ser、p.Arg211Gln)。PS欠乏症は13症例解析し、家系内調査症例を含む7症例に *PROS1* の遺伝子変異を同定した (p.Val87Leu、p.Ile359Asn、c.1155+1 G>T、c.224-1G>C、p.Pro667Leuが2症例、p.Val87Leu /p.Pro667Leu の compound heterozygote 1症例)。また、家系内に頻回のDVT既往親族を有する米国籍白人女性にFactor V Leidenをヘテロ接合体で同定した。

マウス血栓症モデルにおいては未分画ヘパリン、フォンダパリヌクスの抗血栓効果を評価した。ATノックアウトヘテロマウスでは、未分画ヘパリン、フォンダパリヌクス共に野生型で効果が見られた投与量では効果がなく、ATR-FIIマウスでは野生型と比較して、フォンダパリヌクスの効果が弱く、未分画ヘパリンの抗血栓効果が高かった。

D. 考案

ATノックアウトヘテロマウスの結果か

ら、AT低下症では健常人に比較して、ヘパリンや抗Xa阻害薬の効果が出にくい可能性が示唆された。ATR-FIIの抗血栓薬に関しては抗Xa阻害薬よりもトロンビンに対する直接作用を持つ薬剤が効果的と考えられた。

E. 結論

特発性血栓症患者に見られる先天性素因に関しては従来と同様の素因が同程度の頻度で確認された。

マウスモデルからはAT低下症では抗血栓療法が健常人と比較して効きにくい可能性、また、ATR-FIIに関しては直接トロンビン作用を持つ薬剤の有効性が示唆された。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Hayakawa Y, Tamura S, Suzuki N, Odaira K, Tokoro M, Kawashima F, Hayakawa F, Takagi A, Katsumi A, Suzuki A, Okamoto S, Kanematsu T, Matsushita T, Kojima T. Essential role of a carboxyl-terminal α -helix motif in the secretion of coagulation factor XI. *J Thromb Haemost*. 2021 Jan 9. doi: 10.1111/jth.15242. Online ahead of print.
2. Okada K, Tamura S, Suzuki N, Odaira K, Mukaide M, Fujii W, Katsuragi Y, Suzuki A, Kanematsu T, Okamoto S, Suzuki N, Katsumi A, Matsushita T, Kojima T, Hayakawa F. Protein S-Leu17Pro disrupts the hydrophobicity of its signal

peptide causing a proteasome-dependent degradation. *Thromb Res.* 2022 Feb;210:26-32. doi: 10.1016/j.thromres.2021.12.014. Epub 2021 Dec 21.

3. Nishihori M, Araki Y, Suzuki N, Tamura S, Hattori M, Izumi T, Goto S, Yokoyama K, Uda K, Matsushita T, Saito R. Medical Management of a Mural Thrombus Inducing Repeated Ischemic Strokes in a Patient with Congenital Afibrinogenemia. *J Stroke Cerebrovasc Dis.* 2022 Jul;31(7):106526. doi: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2022.106526. Epub 2022 Apr 27. PMID: 35489183.

4. 【血液疾患のすべて】出血・血栓性疾患 von Willebrand 病
Author: 松下 正(名古屋大学医学部附属病院 輸血部)
Source: 日本医師会雑誌(0021-4493)151 巻特別 1 Page S314-S316(2022.06)

論文種類：解説/特集

2. 学会発表

1. 高齢者における静脈血栓塞栓症発症の症例対照研究 第42回日本血栓止血学会学術集会
2. 当センターにおける静脈血栓塞栓症発症の危険因子 第82回血液学会学術集会
3. 先天性アンチトロンビン欠乏症に同定した新規 SERPINC1 変異(AT-I218F)の分子病態解析 第44回日本血栓止血学会学術集会
4. 異常フィブリノゲン血症の臨床症状と分子遺伝学的特徴の関連 第70回日本輸血・細胞治療学会学術集会

3. 一般向け講演会

H. 知的財産権の出現・登録状況

1. 特許取得：なし
2. 実用新案登録：なし
3. その他：なし