

## 論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※ 甲 第	号
------	-------	---

氏 名 高 木 夕 希

論 文 題 目

Missense mutations in the gene encoding prothrombin  
corresponding to Arg596 cause antithrombin resistance  
and thrombomodulin resistance

(プロトロンビン Arg596 におけるミスセンス変異は  
アンチトロンビン抵抗性とトロンボモジュリン抵抗性を引き起こす)

論文審査担当者

主 査	名古屋大学教授	石 川 哲 也
	名古屋大学教授	永 田 浩 三
	名古屋大学教授	小 嶋 哲 人

## 論文審査の結果の要旨

2012年に、アンチトロンビン(AT)抵抗性により血栓症の原因となるプロトロンビン遺伝子(F2)のミスセンス変異、プロトロンビン Yukuhashi 変異(c.1787G>T, p.Arg596Leu)が報告された。本変異型プロトロンビン由来の変異型トロンビンは野生型トロンビンと比較して凝固活性がやや低下している一方で、ATによる不活化が大きく損なわれていた。また、トロンボモジュリン(TM)はトロンビンと結合してその凝固活性を阻害し、さらに凝固抑制因子・プロテインC(PC)を活性化PC(APC)に活性化する生理的な凝固制御に重要で、596Leu変異型トロンビンがTMにも抵抗性を示すことを明らかにされた。本研究ではF2でのArg596コドン(CGG)の一塩基置換により生ずる596Leu(CTG)以外のミスセンス変異体(596Gln(CAG)、596Trp(TGG)、596Gly(GGG)、596Pro(CCG))がATあるいはTMによる抗凝固作用に及ぼす影響を評価した。

本研究の新知見と意義は要約すると以下の通りである。

1. Arg596コドン(CGG)の一塩基置換により生じうるミスセンス変異型プロトロンビンは、596Pro変異型以外、全て野生型と同様に培養上清中に分泌された。
2. 596Pro変異型プロトロンビンは、プロテアソーム阻害剤処理により細胞溶解液に出現することから、細胞内で合成されたあとプロテアソーム系にて分解され、分泌されないことが示唆された。
3. 野生型/変異型プロトロンビン全てで合成基質二段法が凝固一段法より高い活性測定値を示した理由は、合成基質・S-2238が凝固法基質・フィブリノゲンに比べて小分子で、構造変化した変異型トロンビンの活性中心にも接近しやすく分解されたためと考えられた。
4. 596Gln、596Trp、596Gly変異型トロンビンはAT抵抗性と同時にTM抵抗性も示したことから、これらの変異が生じた生体では生理的制御機構に抵抗する変異型トロンビンが活性を持続する血栓症性素因となることが推測された。
5. プロトロンビンArg596コドン(CGG)は一塩基置換のホットスポット・CpG配列を含み、596Gln、596Trpを生じやすいことが推察されたが、実際、それぞれ家族性静脈血栓塞栓症のセルビア人家系と日本人家系で596Gln変異が、イタリア人家系で596Trp変異が発見されたことから、Arg596でのミスセンス変異は家族性静脈血栓塞栓症の誘因となることが強く示唆された。

本研究では、

プロトロンビンArg596コドンにおける一塩基置換で生ずるミスセンス変異体がATおよびTMによる抗凝固作用に及ぼす影響を評価し、本研究で解析したすべてのArg596ミスセンス変異型プロトロンビンがAT抵抗性ならびにTM抵抗性を示し、生体内で生ずるこれら変異型トロンビンの異常な活性持続が血栓症発症の誘因になることが推察された。なお、本研究成果は血栓止血学英文専門誌・Thrombosis and Haemostasis誌(IF: 5.255)に掲載され(Thromb Haemost. 116(6): 1022-1031, 2016)、また、その一部の研究成果発表で平成27年5月23日に第37回日本血栓止血学会学術集会での優秀ポスター賞を受賞した。