

報告番号	※ 第 号
------	-------

主論文の要旨

論文題目

Combined deficiency of factors V and VIII by chance coinheritance of parahaemophilia and haemophilia A, but not by mutations of either *LMAN1* or *MCFD2*

(*LMAN1* や *MCFD2* の遺伝子変異でなく、極めて稀なパラ血友病と血友病 A の合併による FV/FVIII 合併欠乏症)

氏名 鈴木幸子

論文内容の要旨

【緒言】

血友病 A は血液凝固第 VIII 因子 (FVIII) の欠損あるいは活性低下による血液凝固異常症である。血友病は治療が必要とされる先天性出血性疾患の中では最も頻度が高く、日本国内の血液凝固異常症の罹患調査で登録された患者数は約 4800 人とされている。X 連鎖劣性遺伝形式をとり、血友病 A では X 染色体長腕 (Xq28) 上の FVIII 遺伝子 (*F8*) が責任遺伝子である。FVIII 活性により重症度が分類され、1%未満を重症、1~5%未満を中等症、5~40%以下を軽症としている。筋肉・関節内などの深部出血を特徴とし、重症例にその頻度が高い。軽症例 (FVIII 活性 5%以上) では自然出血はほとんど見られず、手術・抜歯後・

外傷後の際の止血困難で発見されることが多い。

血液凝固第 V 因子 (FV) 遺伝子 (F5) の異常は、パラ血友病としても知られる常染色体劣性遺伝形式の FV 欠乏症で出血性素因となることがある。これは、外傷や手術の際に止血に時間を要する非常にまれな血液凝固障害であり、関節内出血、筋肉内血腫や脳内出血などの重症例もあるが、多くは軽症から中等度の症例であり無症候の場合もある。一方、FV 異常症では血栓性素因となることもある。その 1 つに、欧米で高率にみられる FV Leiden があり、ヘテロ接合体でも血栓リスクとなるが、これまでその日本人での報告例はない。

また、FV と FVIII が同時に欠乏する疾患 (第 V・第 VIII 因子合併欠乏症 : F5F8D) も存在する。これは、遺伝性出血性疾患であるが、FV および FVIII の合成分泌時に細胞内運搬に働く LMAN1 (lectin mannose-binding 1) もしくは MCFD2 (multiple coagulation factor deficiency 2) の欠損によって引き起こされるもので、F5 および F8 の異常によるものではない。この疾患の症状は月経過多や抜歯後の口腔内出血、術後・出産後の異常出血であり、一般的に出血症状は軽度である。

今回、当初 F5F8D として診断されていた患者において、遺伝子解析にて中等症の血友病 A かつ FV 欠乏症を合併するこれまでに報告例のない極めてまれな日本人家系を解析し、その原因遺伝子の同定とともに発症メカニズムを検討した。

【対象】

当初 F5F8D として診断されていた患者とその兄弟及びその子ども (1 家系 3 症例)。

【方法】

インフォームドコンセントを得た後、発端者およびその家族の末梢血白血球分画よりゲノム DNA を抽出し、それぞれ F5、F8、LMAN1 遺伝子 (LMAN1) および MCFD2 遺伝子 (MCFD2) の塩基配列解析を行った。

F5 の全 25 エクソンを含む領域、F8 の全 26 エクソンをイントロンとの境界領域およびプロモーター領域を含めて増幅させるプライマーを用いて PCR を行い、ダイレクトシーケンス法にてそれぞれの塩基配列を解析した。LMAN1 及び MCFD2 も同様に解析した。また、

検査所見と臨床症状との評価のために Thrombin Generation Assay (TGA) を実施し、対象家系と同一の *F8* 変異を有する症例 (比較症例) とを比較した。

なお、本研究は名古屋大学医学部生命倫理審査委員会の承認を得て実施した。

【結果・考察】

F5F8D の原因遺伝子とされる *LMANI* および *MCFD2* について、いずれもエクソン内に遺伝子異常を認めなかった。一方、*F5* と *F8* のそれぞれに原因と考えられる遺伝子異常を 3 症例すべてに同定した。同定した変異は、*F5* ではエクソン 10 にナンセンス変異 (c.1600C>T, p.Arg534*) をヘテロ接合体で同定し、*F8* ではエクソン 23 に 1 塩基置換のミスセンス変異 (c.6506G>A, p.Arg2169His) を同定した。*F5* では、その他に先行研究やデータベースで SNP と報告されている 1 塩基置換が数か所認められた。

F5 に同定された変異は既報の変異であり、血栓リスクとして有名な *FV Leiden* 変異と同じ塩基でのナンセンス変異 (未熟翻訳終了) で、このため本症例では *FV* 活性が低下したと考えられた。*F8* に同定されたミスセンス変異は既報の血友病 A 変異の 1 つで、その変異部は遺伝子変異のホットスポットとなる CpG 配列に存在した。さらに、*F5* における SNP ハプロタイプ解析の結果、*F5* のナンセンス変異対立アレルに *APC Cofactor* 活性が低下し血栓傾向になる R2 ハプロタイプの存在が明らかとなった。

また、TGA では、比較症例に比べて対象症例でトロンビン生成がより早期にかつ良好に起こり、出血症状の軽減につながっていることが示唆された。その理由の 1 つとして、*F5* における *F5* R2 ハプロタイプの存在により血液凝固反応がより血栓傾向に働くために、対象症例では出血傾向が極めて少ないことが考えられた。

【結語】

今回対象とした家系では *FV* および *FVIII* の活性が同時に低下しているが、その原因は *F5F8D* の原因遺伝子である *LMANI* もしくは *MCFD2* の異常ではなく、*F5* および *F8* にそれぞれ異常をもつ家系であることが明らかとなった。*FV* と *FVIII* の両者の活性低下を認めた際には、*F5F8D* のみでなく個々の遺伝子異常をも疑う必要性が示唆された。