

総 説

アジア人特有な血栓性素因の研究

濱 崎 直 孝

(長崎国際大学 薬学部 薬学科)

要 旨

血栓性素因とは血栓症を発症しやすい体質のことである。欧米白人種の血栓性素因は、凝固系第五因子の1箇所の変異 (Factor V Leiden (R506Q)) であることが10年余りに判明し、欧米白人に対する血栓症対策は急速に進歩した。しかしながら、黒人やアジア人など欧米白人以外の人種では、Factor V Leiden (R506Q) を保因している人は皆無であり、これらの人種での血栓性素因の解明がいそがれていた。我々は日本人ならびにアジア人における血栓性素因の解明を目指して研究を行ってきた。その結果、日本人の血栓性素因は凝固制御系因子 Protein S 遺伝子変異であることが判明した。その後、最近になり、我々の結果を裏付ける結果がタイ、台湾、中国 (香港) から次々に発表され Protein S 凝固制御系因子の異常が日本人のみならずアジア人の血栓性素因であることが証明されつつある。

凝固制御系因子 Protein S は凝固系第五因子を制御することで過剰な血栓形成が起こらないように制御している因子であり、生体内では、凝固系第五因子と凝固制御系 Protein S のバランスが適切な血栓形成に重要な役割を果たしていることが推測される。今後は、凝固系第五因子と Protein S 凝固制御因子の関係を詳細に研究し、アジア人の血栓症発症予防ならびに治療対策を推進すべきと考えている。

キーワード

深部静脈血栓症、プロテインS分子異常、凝固第五因子ライデン変異体、日本人の血栓性素因、プロテインS徳島分子

1) 日本人における血栓性素因の解明

我々は九州大学病院検査において1993年より血栓症を発症している患者あるいは血栓症の疑いがある患者について、凝固系、凝固制御系について検索し、健常人との対比の上で、その病因解析を系統的に行ってきた^{1,2)}。その結果、日本人では、欧米白人種で見られる Factor V Leiden (R506Q) の保因者は皆無であり、その代わりに、凝固制御系に異常、特に、Protein S 活性低下を示す症例が多数あることが判明した。表1にその概要を示す。深部静脈血栓症患者の57% (= 49/85) が Protein C・Protein S 凝固制御系の活性低下を示し、Protein C・Protein S 凝固制御低下症例が異常に多いことが見て取れる。また、その活性低下の原因は、

Protein S の場合は約半数が、Protein C の場合は35% (= 8/23) が遺伝子異常を示し (表2)³⁾、それら異常分子は活性低下を示した。このことから、活性低下は遺伝子異常が主たる要因であることが判明した³⁻⁶⁾。

これらの遺伝子異常は、欧米人に見られる Factor V Leiden (R506Q) のような遺伝子上の1箇所に高頻度に変異が見られるのではなく、Protein S や Protein C 遺伝子上に広範囲に異常部位が分散しているのが特徴である²⁾。それでも、Protein S-Tokushima (K155E) は日本人には高頻度に見られ、日本人における深部静脈血栓症の危険因子 (血栓性素因) である (表3)⁷⁾。

健常人での Protein S-Tokushima の保有頻

表 1 深部静脈血栓症患者 (DVT) における Protein S, Protein C, および, Antithrombin の活性低下を示す割合

DVT patients having reduced activity of PS, PC and AT

Type of thrombosis	Examined patients	Number of patients having reduced activities of PS and/or PC	Numbers of patients having reduced activity of		
			PS	PC	AT
Number of DVT patients	85	49 ^a	40	27	6
(18 patients having reduced activities of PS and PC)					
DVT alone	55	30	23	16	2
DVT with PE	23	14	13	8	2
DVT with mesenteric venous thr	1	1	1	0	0
DVT with portal vein thr	6	4	3	3	2

thr : thrombosis, AT : antithrombin, PC : protein C, PS : protein S, DVT : deep vein thrombosis, PE : pulmonary embolism.

Some patients in whom reduced activity was detected were re-examined approximately 1 month after the first examination. The reduced activities of PC and PS were confirmed by repetitive measurements in appropriate intervals. Namely, 15 out of 49 patients were confirmed by duplicate measurements, 23 out of 49 patients were confirmed by triplicate, 5 out of 49 patients were confirmed by four measurements and 6 out of 49 patients were confirmed by more than five measurements.

表 2 Protein S, Protein C 遺伝子異常を有する深部静脈血栓症患者

Gene mutations of protein S, protein C, antithrombin identified in patients suffering from DVT

Gene mutations of protein S, protein C, and antithrombin identified in patients suffering from DVT												
	Patient no.	Age at first thrombosis	Sex	Kinds of DVT	Familial inq.	Activity (%)	Antigen(%) Free Total	C4bBP (%)	Previous publication	Nucleotide changes*	Amino acid mutated*	
Protein S patients examined probands : <i>n</i> = 39	PS1	9	F	DVT	Familial inq.	< 10	7 50	148	New	IVS1-1 G > C		
	PS2	37	M	DVT, Mesenteric v.	Familial inq.	10	24 58	100	New	IVS13-2 A > G		
	PS3	35	M	DVT, PE		33	25 90	142		600 G > T	G54R	
	PS4	40	F	DVT, PE	Familial inq.	34	38 63	105	New	1998 C > T	R520W	
	PS5	19	M	DVT	Familial inq.	28	34 50	130	New	2224 A > G	Y595C	
	PS6	26	F	DVT, pregnancy	Familial inq.	49	56 98	120	New	1041 G > C	E201Q	
	PS7	23	M	DVT		60	73 88	141	New	2206 C > T	T589I	
	PS8	16	M	DVT	Familial inq.	33	22 46	91	New	1789 C > A	A450D	
	PS9	32	F	DVT	Familial inq.	3	36 103	111	New	795 G > T 903 A > G	E119X K155E (compound heterozygotes)	
	PS10	39	F	DVT		19	22 84	161	New	1057 G > T	C206F	
	PS11	42	M	DVT, PE	Familial inq.	35	78 94	127		903 A > G	K155E/ K155E	
	PS12	23	M	DVT		58	84 84	108		903 A > G	K155E	
	PS13	63	F	DVT, Portal v.		38	49 78	80		903 A > G	K155E	
	PS14	34	P	DVT, pregnancy		50	75 88	96		903 A > G	K155E	
	PS15	22	M	DVT	Familial inq.	6	17 42	103	New	1163 T > G	C241W	
	PS16/ PC4	13	M	DVT	Familial inq.	21	14 31	43	New	1341 G > T	E301X	
	PS17	66	F	DVT		48	53 79	103		2317 C > T	P626L	
	PS18	16	M	DVT, PE	Familial inq.	11	10 35	106		1268 C > T	R410X	
	PS19	18	M	DVT		32	35 60	84		1860 C > T	R474C	
	Healthy individuals examined : <i>n</i> = 47											No mutation observed
	Protein C patients examined probands : <i>n</i> = 23	PC1	25	F	DVT, portal v.		62		73		728 C > T	R169W
PC2		24	M	DVT		50		81		1394 G > A	G391S	
PC3		63	M	DVT		34		31	New	1085 C > A	L288I	
PC4/ PS16		13	M	DVT	Familial inq.	18		31	New	IVS2-4 C > T		
PC5		30	F	DVT	Familial inq.	60		90		662 C > T	R147W	
PC6		65	M	DVT		42		68		671 - 673 del AAG	K150del	
PC7		55	F	DVT		59		85		671 - 673 del AAG	K150del	
PC8		30	M	DVT		39		97		221 C > T	R - 1C	
PC N1						63		88		671 - 673 del AAG	K150del	
Healthy individuals examined : <i>n</i> = 30												observed in an individual

表3 健康人と深部静脈血栓症患者における Protein S-Tokushima の保有頻度
Frequency of P_{STokushima} (K155E) in healthy individuals and DVT patients

	Numbers of individuals examined	P _{STokushima}	Odds ratio (95% confidence interval)
Healthy individuals	304	5	1.00
DVT patients	85	5	3.74 (1.06 - 13.2)

The frequency of P_{STokushima} (K155E) in 304 healthy individuals was examined with PCR-RFLP analysis.

度は1.6% (= 5/304) であるが、深部静脈血栓症患者での保有頻度は10.6% (= 5/85) であり、Protein S-Tokushima 遺伝子の保因者は深部静脈血栓症に罹る危険性が高いことを示している (オッズ比: 3.7)。

2) アジア人における血栓性素因の解明

日本人における血栓性素因についての我々の研究成果を発表している間に、タイ、台湾、中国 (香港) から論文が発表され、これらの国々の血栓性素因は欧米人のものとは明確に異なることが判明してきた⁸⁻¹¹⁾。日本人についても各地からの報告が発表され我々のデータを裏付けた¹²⁻¹⁴⁾。

アジアの国々からの発表を纏めると、アジア人の血栓性素因は欧米白人の血栓性素因とは明らかに違い、Factor V Leiden (R506Q) 保因者は存在せず Factor V Leiden (R506Q) はアジア人の血栓性素因ではない。その代わりに、アジア人血栓症患者では Protein S 活性低下を示す症例が欧米白人に比較し非常に多いことが明らかになった。表4でその概要を示す。表4では健康人と深部静脈血栓症患者とのそれぞれの集団について、Protein S 活性低下を示す割合を示したものである。健康人 (表4-1) でも深部静脈血栓症患者 (表4-2) でも、Protein S 活性低下を示す割合は欧米人の比率 (健康人で約0.2%, 血栓症患者で約2%) に比してアジア人 (台湾人、中国人、日本人) では、それぞれに約10倍高いことが判る (健康人で約2%、血栓症患者で約20%)。アジア各国からの報告で

は、遺伝子検索は実施されておらず、Protein S 活性低下の原因が Protein S 分子上の遺伝子異常か否かは、まだ、証明されてはいないが、日本人と同様に Protein S 分子の遺伝子異常である可能性が強く考えられる。

3) 生体内凝固制御における Protein S の役割

健康人生体内での凝固制御系は、主として3制御系がある。それは、(1) Tissue Factor 凝固制御系、(2) Antithrombin 凝固制御系、(3) Protein C・Protein S 凝固制御系、である (図1)。

Tissue Factor 凝固制御系と Antithrombin 凝固制御系とは、それぞれに強力な凝固制御活性があり、Tissue Factor 凝固制御系と Antithrombin 凝固制御系の生理的・病理的な役割は十分に周知されていた。それに対して、Protein C・Protein S 凝固制御系に関しては、その生理的・病理的な役割については、必ずしも明確になっていたとは考えにくかった。他の二つの凝固制御系と違って Protein C・Protein S 凝固制御系は凝固系が動き出し Thrombin が形成されて初めて動き始める凝固制御系であり、Protein C・Protein S 凝固制御系の活性は凝固系活性に比例して活性が調節されるシステムである。Protein C・Protein S 凝固制御系の潜在活性が高くても凝固系が動き始めなければ Protein C・Protein S 凝固制御系の活性はゼロなのである。凝固活性と凝固制御活性のバランスの最後の調整を Protein C・Protein S 凝固制御系で行っていると考えられる。それ故に、凝固系と Protein C・Protein S 凝固制御

表 4-1 健康人における Protein S 異常症の頻度（欧米白人とアジア人との比較）

healthy population

	definition	PS def.	type ,	type	PC def.	AT def.	PS + PC def.	n
Scotland	tPS, fPS/gene analysis	0.16 - 0.21%						3,788
Japanese	tPS, fPS, PS/FII, PS/FX activity ratio	2.04%	1.02%	1.02%	0.50%	0.00%		392
Japanese	AT /PS activity ratio	1.12%						2,690
Thai	tPS, fPS	3.70%	1.99%	1.71%	0.27%	0.00%	0.00%	352

表 4-2 深部静脈血栓症患者における Protein S 異常症の頻度（欧米白人とアジア人との比較）

Deep Vein Thrombosis (unselected)

	definition	PS def.	type ,	type	PC def.	AT def.	PS + PC def.	n
Caucasian	tPS, fPS, PS activity	2.3%			3.70%	1.90%		2,008
Japanese	tPS, fPS, PS/FII, PS/FX activity ratio	18.6%	8.9%	9.7%	7.96%	1.77%	0.88%	113
Japanese	tPS, fPS, PS activity, gene analysis	22.4%			9.41%	2.35%	1.18%	85
Hong Kong	tPS, fPS, PS activity	21.2%			17.31%	9.62%	0.91%	52
Taiwan	tPS, fPS, PS activity	26.7%	20.8%	5.9%	17.24%	5.17%	2.35%	116

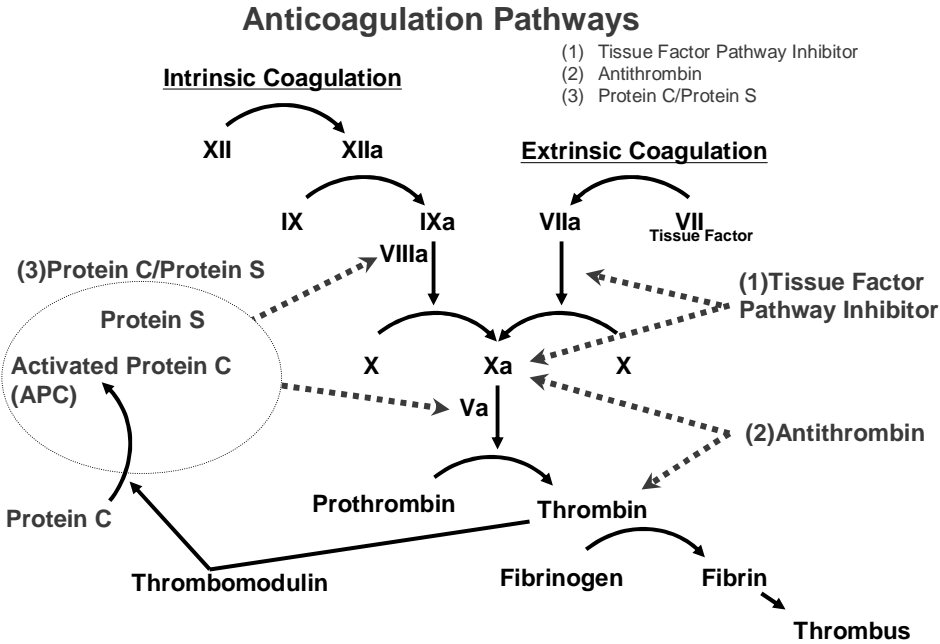


図 1 主要な凝固制御系経路

系とのアンバランスは異常な血栓形成が起こることが推測される。欧米白人の血栓性素因では、Protein C・Protein S 凝固制御系に抵抗性を示す凝固系第五因子の異常分子が血栓性素因になり、アジア人では、Protein C・Protein S 凝固制御活性を左右する Protein S 活性が低下している人々に血栓症が高頻度に発症している

事実は、このことを裏付けている。

Protein C・Protein S 凝固制御系と凝固系とのアンバランスが血栓性素因になる機序について、図 2（a-c）を用いて説明する。

a）健康人の場合

Protein C はセリンプロテアーゼの前駆体であり、凝固系の最終産物である Thrombin・

Thrombomodulin 複合体で Protein C 分子の一部が切断され、その結果できた活性型 Protein C (Activated Protein C : APC) がセリンプロテアーゼ活性を発揮できるようになる (図 1 参照)。活性型 Protein C (APC) 分子はそれだけでは十分なプロテアーゼ活性を示すことはできず、Protein S と結合した APC・Protein S 複合体で初めて十分なセリンプロテアーゼ活性を発揮し、凝固系第五因子の306番目と506番目のアルギニン (R) を切断し不活性化して凝固活性を抑制する。このような訳で Protein S は Protein C・Protein S 凝固制御活性を左右する重要な要因であり、Protein S 分子異常は Protein C・Protein S 凝固制御活性低下をきたす (図 2-a)。

図 1 で示しているように、Protein C・Protein S 凝固制御系は Thrombin・Thrombomodulin 複合体が形成されないと凝固制御活性を示めさないばかりではなく、Thrombin・Thrombomodulin 複合体形成量に応じて Protein C・Protein S 凝固制御活性が変化することになる。言い換えると、凝固活性に応じて Protein C・Protein S 凝固制御活性が制御されていることになる。

b) Factor V Leiden (R506Q) の場合 : 欧

米白人の血栓性素因

Protein C・Protein S 凝固制御系に抵抗性を示す Factor V Leiden (R506Q) は凝固系第五因子の506番目のアルギニンがグルタミンに変異しているために、アルギニンとリジン分子の C 末側を切断するセリンプロテアーゼである APC・Protein S 複合体では切断されなくなり第五因子の不活性化が健常人の場合よりも遅れることになる。APC・Protein S 複合体は Factor V Leiden (R506Q) の306番目のアルギニン部分は切断可能であるので APC/Protein S 複合体での不活性化がいつまでも起こらないというのではなく、不活性化が遅れるということになる。ともかく、Factor V Leiden (R506Q) 保因者では、凝固活性が凝固制御活性よりも相対的に強くなり過剰な血栓形成が起こり、血栓症が発症しやすくなると考えられる (図 2-b)。

c) Protein S 活性低下の場合 : アジア人の血栓性素因

Protein S 活性低下の場合は、図 2-c に示すように、Protein S 活性が低下しているために APC・Protein S 複合体活性が低下し、Protein C・Protein S 凝固制御がかかり難くなる。この場合も、凝固活性が凝固制御活性よりも相

(a) Normal Individual

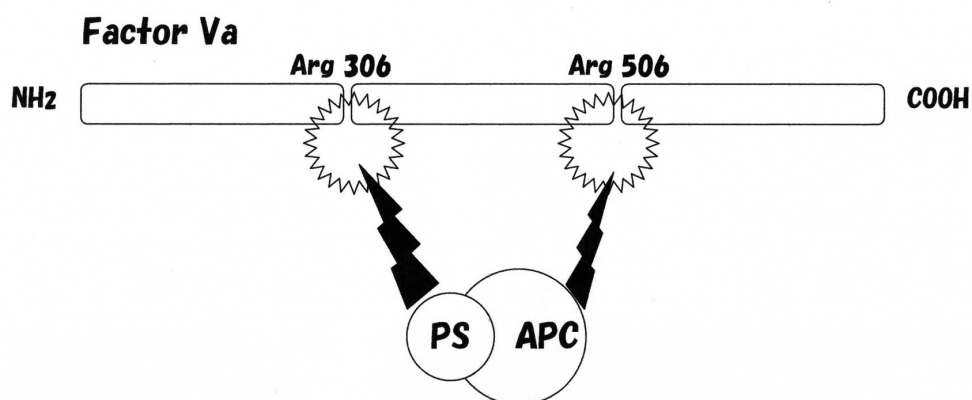


図 2-a Protein C (APC)・Protein S 凝固制御系による凝固制御 : 健常人の場合

(b) Caucasian thrombophilia

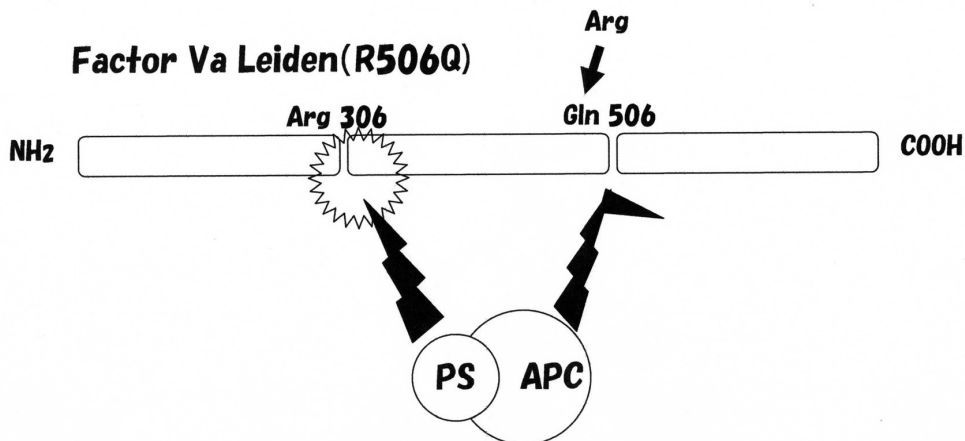


図 2-b Protein C (APC)・Protein S 凝固制御系による凝固制御：欧米白人の場合

(c) Japanese (Asian) thrombophilia

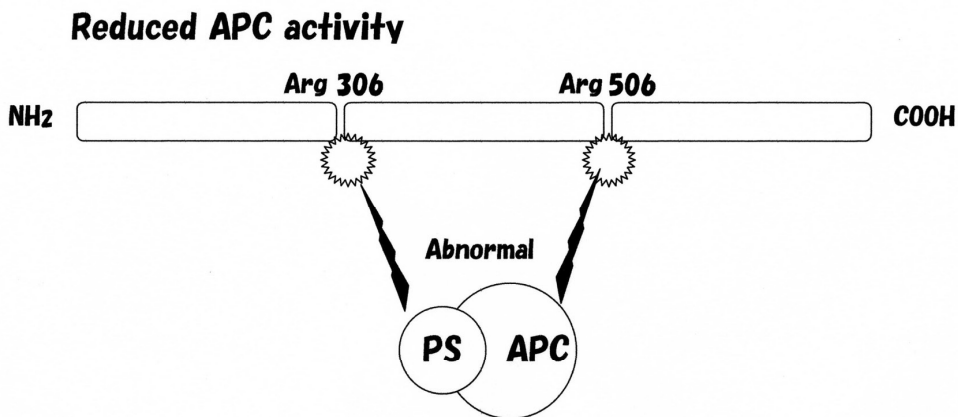


図 2-c Protein C (APC)・Protein S 凝固制御系による凝固制御：アジア人の場合

対的に強くなり過剰な血栓形成ができ血栓症を発症しやすくなる。

以上が、欧米白人、アジア人が血栓性素因になる場合の機序である。欧米白人とアジア人の血栓性素因の研究は、Protein C・Protein S 凝固制御系が血栓形成調節に重要な役割を果たしていることを明確にしている。欧米白人の深

部静脈血栓症罹患者の約20-50%が Factor V Leiden (R506Q) 保因者である¹⁵⁾。一方、日本人での我々の研究結果では、日本人の深部静脈血栓症患者の30%が Protein C・Protein S 凝固制御系の活性低下の原因になる遺伝子異常を持っている²⁾。このことでも、Protein C・Protein S 凝固制御系の生体内での役割の重要さが

推測される。

参考文献

- 1) Tsuda H, Hattori S, Tanabe S, Iida H, Nakahara M, Nishioka S, Fujise M, Kinoshita S, Okubo K, Hamasaki N. : Screening for aetiology of thrombophilia : a high prevalence of protein S abnormality. *Ann. Clin. Biochem.* 36, 423-432 (1999)
- 2) Kinoshita S, Iida H, Inoue S, Watanabe K, Kurihara M, Wada Y, Tsuda H, Kang D, Hamasaki N. : Protein S and protein C gene mutations in Japanese deep vein thrombosis patients. *Clin. Biochem.* 38, 908-915 (2005)
- 3) Nakahara M, Iida H, Urata M, Fujise M, Wakiyama M, Kinoshita S, Tsuda H, Okamura T, Yao K, Yao T, Hamasaki N. : A Novel Splice Acceptor Site Mutation of Protein S Gene in Affected Individuals with Type I Protein S Deficiency : Allelic Exclusion of the Mutant Gene. *Thromb. Res.* 101, 387-393 (2001)
- 4) Tsuda H, Urata M, Tsuda T, Wakiyama M, Iida H, Nakahara M, Kinoshita S, Hamasaki N. : Four Missense Mutations Identified in the Protein S gene of Thrombosis Patients with Protein S Deficiency. *Thromb. Res.* 105, 233-239 (2002)
- 5) Hayashida M, Yamada H, Yamazaki S, Nomura H, Yoshimura K, Kitahara O, Momose K, Kubo K, Kurihara M, Hamasaki N. : Combined Protein C and Protein S Deficiency in a Family with Repetitive Thromboembolism and Segregated Gene Mutations. *Int. Medicine* 42, 268-272 (2003)
- 6) Watanabe K, Shibuya A, Ishii E, Kurihara M, Inoue S, Ono M, Wada Y, Wakiyama M, Zaito M, Iida H, Muraoka K, Kinoshita S, Hamasaki N. : Identification of Simultaneous Mutation of Fibrinogen α Chain and Protein C Genes in a Japanese Kindred. *Brit. J. Haematol.* 120, 101-108 (2003)
- 7) Kimura R, Honda S, Kawasaki T, Tsuji H, Madoiwa S, Sakata Y, Kojima T, Murata M, Nishigami K, Chiku M, Hayashi T, Kokubo Y, Okayama A, Tomoike H, Ikeda Y, Miyata T. : Protein S K196E Mutation as a Genetic Risk Factor for Deep Vein Thrombosis in Japanese Patients. *Blood* 107, 1737-1738 (2006)
- 8) Shen MC, Lin JS, Tsay W. : High Prevalence of Antithrombin III, Protein C and Protein S Deficiency, but no Factor V Leiden Mutation in Venous Thrombophilic Chinese Patients in Taiwan. *Thromb. Res.* 87, 377-385 (1997)
- 9) Shen MC, Lin JS, Tsay W. : Protein C and Protein S Deficiencies are the Most Important Risk Factors Associated with Thrombosis in Chinese Venous Thrombophilic Patients in Taiwan. *Thromb. Res.* 99, 447-452 (2000)
- 10) Tsay W, Shen MC. : R147W Mutation of PROC Gene is Common in Venous Thrombotic Patients in Taiwanese Chinese. *Am. J. Hematol.* 76, 8-13 (2004)
- 11) Chumpia W, Peerapittayamongkol C, Angchaisuksiri P, Komansin N, Muta K, Kuaha K, Iida H, Inoue S, Wada Y, Kurihara M, Hamasaki N, Fucharoen S. : Single Nucleotide Polymorphisms and Haplotypes of Protein C and Protein S Genes in the Thai Population. *Blood Coagul. Fibrinolysis.* 17, 13-18 (2006)
- 12) Adachi T. : Protein S and Congenital Protein S Deficiency : the Most Frequent Congenital Thrombophilia in Japanese. *Current Drug Targets* 6, 585-592 (2005)
- 13) Nomura T, Suehisa E, Kawasaki T, Kanakura Y. : Frequency of Protein S Deficiency in the Japanese General Population. *Thromb. Res.* 100, 367-371 (2000)
- 14) Suehisa E, Nomura T, Kawasaki T, Kanakura Y. : Frequency of Natural Coagulation Inhibitor (Antithrombin III, Protein C and Protein S) Deficiencies in Japanese Patients with Spontaneous Deep Vein Thrombosis. *Blood Coagul. Fibrinolysis.* 12, 95-99 (2001)
- 15) Rosendaal FR. : Risk Factors for Venous Thrombosis : Prevalence, Risk, and Interaction. *Semin. Hematol.* 34, 171-187 (1997)