



Title	Non-activating ITGB3 mutation in $\beta$ 3 cytoplasmic region causes macrothrombocytopenia with impaired $\alpha$ IIb $\beta$ 3/RhoA pathway
Author(s)	中田, 繼一
Citation	大阪大学, 2025, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/101504">https://hdl.handle.net/11094/101504</a>
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href=" <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> ">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

## 論文内容の要旨

## Synopsis of Thesis

氏名 Name	中田 繼一
論文題名 Title	Non-activating <i>ITGB3</i> mutation in $\beta 3$ cytoplasmic region causes macrothrombocytopenia with impaired $\alpha IIb\beta 3/RhoA$ pathway (インテグリン $\beta 3$ 細胞質内領域の非活性化変異による $\alpha IIb\beta 3/RhoA$ 経路障害を伴う巨大血小板性血小板減少症)
論文内容の要旨	
〔目的(Objective)〕	
<p>先天性血小板減少症のうち、巨大血小板を呈する先天性巨大血小板性血小板減少症 (Macrothrombocytopenia) の原因遺伝子はこれまで様々に報告されている。その中でも、<i>ITGA2B</i>および<i>ITGB3</i>遺伝子変異によるMacrothrombocytopeniaは、インテグリン <math>\alpha IIb\beta 3</math>を恒常的に活性化させるという特徴があった。しかし、恒常的活性化が病態発症に必須かどうかは明らかになっていない。本研究では、恒常的活性化を伴わないインテグリン <math>\beta 3</math>変異 (c.2278C&gt;T, p.Arg760Cys) (以下、<math>\beta 3(R760C)</math>と記載) を同定し、この変異がどのようにしてMacrothrombocytopeniaを引き起こすのか、その病態メカニズムを解明することを目的とした。</p>	
〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕	
<p>発端者は、生後間もなくから血小板減少症と軽度の出血傾向を示した14歳の女性であり、血小板数は60~90×10<sup>9</sup>/Lであった。末梢血塗抹標本では、大型血小板の増加が確認された。家系調査では、母親、姉妹、および従兄弟にも軽度の血小板減少症が認められ、血小板数は85~96×10<sup>9</sup>/L、平均血小板容積 (MPV) は増加していた。血小板膜上の<math>\alpha IIb\beta 3</math>およびGPVIの発現量は健常者の約50%に低下していた。血小板<math>\alpha IIb\beta 3</math>活性化についてPAC-1結合能で評価したところ、患者血小板においてアゴニスト未刺激の状態でのPAC-1結合は認められなかった。また、<math>\beta 3(R760C)</math>変異を持つベクターを293T細胞に発現させ、PAC-1結合を評価したところ、未刺激状態でのPAC-1結合の増加は認められず、今回見出した<math>\beta 3(R760C)</math>変異は<math>\alpha IIb\beta 3</math>活性化変異ではないことが示された。</p> <p>さらに検証するため、<math>\beta 3(R760C)</math>ノックイン (KI) マウスを作製した。KIマウスでは、血小板数がヘテロ接合型で76%、ホモ接合型で40%に減少し、血液塗抹標本では大型血小板が観察された。フローサイトメトリー解析により、血小板膜上の<math>\alpha IIb\beta 3</math>およびGPVIの発現量が低下しており、特にホモ接合型で顕著であった。</p> <p>血小板凝集能解析では、ADP、コラーゲン、PAR4-APによる凝集能が著しく低下しており、特にホモ接合型での障害が顕著であった。フィブリノーゲン上でのspreadingを評価すると、フィロポディアおよびラメリポディア形成が障害されていた。</p> <p>マウス巨核球においても異常が確認された。KIマウスでは骨髄および脾臓における巨核球数は増加していたものの、Proplatelet形成は障害され、形態異常が観察され、その形成率は低下していた。さらに、RhoA活性化は著しく低下しており、これは細胞骨格リモデリングの障害を示唆していた。血小板寿命解析では、ホモ接合型マウスで寿命の短縮が観察され、これが血小板減少症をさらに悪化させている可能性が示唆された。</p>	
〔総括(Conclusion)〕	
<p><math>\beta 3(R760C)</math>変異は、構成的な<math>\alpha IIb\beta 3</math>活性化を引き起こすことなく、異常な細胞骨格リモデリングとRhoA活性低下をもたらすことが明らかになった。本研究の結果から、Macrothrombocytopeniaには<math>\alpha IIb\beta 3</math>の恒常的活性化が必須ではない一方で、細胞骨格リモデリングが疾患の主要な病因であることが示唆された。また、RhoA活性低下がProplatelet形成障害と関連する可能性も示された。</p>	

## 論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 中田 繼一

論文審査担当者	(職)	氏 名
	主 査 大阪大学教授	中 田 繼 一
	副 査 大阪大学教授	長 澤 丘 司
	副 査 大阪大学教授	赤 井 実 一

## 論文審査の結果の要旨

先天性巨大血小板性血小板減少症 (Macrothrombocytopenia) の原因遺伝子としてインテグリン  $\alpha IIb\beta 3$  の変異が複数報告されており、それらはすべて  $\alpha IIb\beta 3$  の恒常的活性化を呈する特徴があるとされていた。今回、 $\alpha IIb\beta 3$  の恒常的活性化を認めないインテグリン  $\beta 3$  (R760C) 変異を有する一家系を見出し、そのメカニズムを解明するため  $\beta 3$  (R760C) ノックイン (KI) マウスを作製した。KIマウスでもヒトと同様に Macrothrombocytopenia を呈し、 $\alpha IIb\beta 3$  の恒常的活性化を認めなかった。また Proplatelet 形成異常や RhoA 活性の低下を認めた。以上より本変異における Macrothrombocytopenia の発症には  $\alpha IIb\beta 3$  の恒常的活性化は必須ではなく、細胞骨格リモデリング異常が主な病因であり、RhoA 活性低下が Proplatelet 形成障害に関連する可能性が示唆された点で、本研究は学位の授与に値すると考えられる。