



Title	Three novel missense mutations in unrelated Japanese patients with type I and type II protein S deficiency and venous thrombosis
Author(s)	藤村, 博信
Citation	大阪大学, 1998, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/41243
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 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

氏 名	藤 村 博 信
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 4 0 9 9 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 10 年 7 月 7 日
学 位 授 与 の 要 件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学 位 論 文 名	Three novel missense mutations in unrelated Japanese patients with type I and type II protein S deficiency and venous thrombosis (深部静脈血栓を発症したプロテインS欠乏症の3家系における新しい原因遺伝子変異の同定)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 門 田 守 人 (副査) 教 授 松 田 暉 教 授 金 倉 讓

論 文 内 容 の 要 旨

〈目的〉

凝固における制御系因子のひとつであり、プロテインCの補酵素であるプロテインSの欠乏症は、比較的最近発見された常染色体優性の血栓性疾患である。本疾患は、臨床検査上、二次性のプロテインS欠乏症との鑑別が困難であることから、遺伝子診断が重要であるとされている。しかし、プロテインS遺伝子には97%の相同性をもつ偽遺伝子が存在すること、そして80 kb以上の巨大なゲノムをもち15ものエクソンからなることから、プロテインS欠乏症の原因遺伝子の同定は容易でない。そこで本研究では、深部静脈血栓症患者を対象として血栓症の発症に関与するプロテインS欠乏症の遺伝子異常について検討した。

〈方法〉

当教室に通院中で深部静脈血栓症の存在が明らかな115例を対象にして、プロテインS活性のスクリーニングをおこなった。凝固法で低下が認められた症例31例に対し、ELISA法にて総抗原量および遊離抗原量を測定し、プロテインS欠損症あるいは異常症の診断を得た患者について、説明と同意のもとプロテインSの遺伝子解析をおこなった。遺伝子解析の方法は、白血球よりゲノムDNAを抽出後、プロテインSの15のエクソンをPCR法により増幅し、non-radioactive single strand conformational polymorphism (SSCP)法で移動度に差のあったエクソンをDNA sub-cloning法にて配列決定した。この方法でプロテインS遺伝子にこれまでに報告のない異常の認められた症例について、家系内で遺伝子異常と発現型が一致しているかどうか、さらに正常100アレル中に異常遺伝子が存在しないかどうかについて検討した。

〈成績〉

プロテインS欠乏症の11症例について、non-radioactive SSCP法を用いてプロテインS遺伝子のスクリーニングを行った結果、3症例においてプロテインS欠乏症を引き起こす全く新しい原因遺伝子を明らかにすることができた。

そのうち2例はタイプI欠損症であり、1例はタイプII異常症であった。タイプI欠損症のうち、1例はプロテインS遺伝子上の sex hormone-binding globulin-like domain にある G → A 変異であり、アミノ酸配列上グリシンからセリンへの変異により、プロテインS抗原量の低下を生じると考えられた。このアミノ酸配列は動物種で広く保存されており、さらにその異常は重大な構造変化を来すと推察されることから重要な遺伝子の異常と考えられた。またもう1例のタイプI欠損症はエクソン3の3'末端の G → C 変異であり、アミノ酸配列上ではバリンからロイシンへの変異が疑われた。しかしスプライシングスコアの計算からアミノ酸変異による構造変化で生じる蛋白レベルでの分解よりむしろスプライシング異常によるメッセンジャーRNAレベルの不安定性によって生じるプロテインS欠損症であると考えられた。タイプII異常症の1例はプロテインS分子のGlaドメイン内の A → G 変異であり、アミノ酸配列上ではリジンからグルタミン酸への変異であった。Glaドメインがカルシウム結合部位として重要であることから、この変異はカルシウムによるプロテインS分子の構造変化に重大な影響を及ぼす可能性があると考えられ、その結果プロテインS分子の機能発現が抑制されていると考えられた。さらに家系調査によって家系内での異常遺伝子の存在と発現系が一致していること、また正常100アレル中に該当する遺伝子異常が存在しないことを明らかにした。以上よりこれらの遺伝子変異がプロテインS欠乏症のひとつの原因遺伝子変異であることが証明された。

〈総括〉

Non-radioactive SSCP法を用いた遺伝子スクリーニングによって深部静脈血栓症患者におけるプロテインSの遺伝子異常の検討を行い、全く新しい3種類の先天性プロテインS欠乏症の原因遺伝子変異を見いだした。

論文審査の結果の要旨

プロテインSの欠乏症は、比較的最近発見された血栓性素因であるが、本研究では、深部静脈血栓症患者を対象としてプロテインS欠乏症の遺伝子異常について検討している。

深部静脈血栓症患者115例を対象にして、臨床検査上プロテインS欠乏症と思われる11症例について、PCR-SSCP法を用いてプロテインSの遺伝子解析をおこなった。その結果、3症例においてプロテインS欠乏症を引き起こす全く新しい遺伝子異常を明らかにすることができた。タイプI欠損症の1例はプロテインS遺伝子上の sex hormone-binding globulin-like domain にある G → A 変異であり、もう1例のタイプI欠損症はエクソン3の3'末端の G → C 変異であった。タイプII異常症の1例はプロテインS分子のGlaドメイン内の A → G 変異であり、プロテインS分子の構造変化に重大な影響を及ぼす可能性があると考えられた。さらに家系調査および正常100アレル中の遺伝子異常の検索をおこない、これらの遺伝子変異がプロテインS欠乏症の原因遺伝子変異であることを証明している。

深部静脈血栓症患者におけるプロテインSの遺伝子異常の検討を行い、全く新しい3種類の先天性プロテインS欠乏症の原因遺伝子変異を見いだしたこの研究は学位に値するものとする。