

## 血小板無力症

本田 繁則\*, 富山 佳昭\*

Current Topics of Glanzmann Thrombasthenia

Shigenori HONDA\*, Yoshiaki TOMIYAMA\*

Key words: glanzmann thrombasthenia, integrin  $\alpha_{11b} \beta_3$ ,  $\beta$ -propeller model

### 1. 概念・歴史

血小板無力症 (Glanzmann thrombasthenia, GT) は巨核球・血小板に特異的に発現する接着分子, インテグリン  $\alpha_{11b} \beta_3$  (GPIIb-IIIa) の量的 (欠損) あるいは質的異常に起因する先天性血小板異常症であり, 常染色体劣性の遺伝形式をとる。  $\alpha_{11b} \beta_3$  は血小板におけるフィブリノーゲン (Fg) および von Willebrand 因子 (vWF) のレセプターとして働き血小板凝集, 血栓形成に必須の分子であることが明らかにされている<sup>1)</sup>。

歴史的には Glanzmann<sup>2)</sup> により 1918 年に血小板数がほぼ正常で血餅退縮能に異常を伴う出血性疾患群として世界ではじめて報告され, 1960 年代に Caen<sup>3)</sup> や Zuker<sup>4)</sup> の詳細な解析により広く認識されるに至った。

### 2. 病態・遺伝子解析

本症は  $\alpha_{11b} \beta_3$  の量的あるいは質的異常により血小板機能が障害された結果, 出血症状を呈することがその本態である。  $\alpha_{11b} \beta_3$  (図 1) は  $\alpha_{11b}$  (GPIIb: 140 kDa) と  $\beta_3$  (GPIIIa: 90 kDa)

が Ca イオン依存性に複合体を形成する血小板で最多 (約 8 万分子/血小板) の接着分子であり, 血小板無力症ではこの両者が著減する。  $\alpha_{11b}$  と  $\beta_3$  はそれぞれ異なる遺伝子産物であり cDNA, ゲノム DNA はすでに明らかにされている。また, いずれも染色体 17q21~22 に存在する。

血小板無力症は  $\alpha_{11b} \beta_3$  の量的あるいは質的 (variant 型) 異常に分類されている。量的異常はさらに  $\alpha_{11b} \beta_3$  量が正常の 5% 以下 (タイプ I) および 10~20% (タイプ II) に分けられる。最近では  $\alpha_{11b} \beta_3$  の分子異常に基づいた分類も Dr Peter Newman らにより提唱されている<sup>5)</sup>。

#### (a) $\alpha_{11b} \beta_3$ 量的異常

$\alpha_{11b} \beta_3$  量的異常の遺伝子異常は現在までに数十種類が明らかにされており点変異によるスプライス異常, 欠失や挿入によるナンセンス変異がその多くをしめている。ミスセンス変異は変異蛋白の発現実験によりこの分子の生合成過程の研究に有用である。これまで欧米では  $\alpha_{11b}$  の Ca イオン結合部位の近傍にミスセンス変異が多く報告されておりこの領域が  $\alpha_{11b} \beta_3$  生合成過程に重要であると考えられる。筆者らも本邦

\* 大阪大学大学院医学系研究科 B5 分子制御内科学 (第二内科) (〒 565-0871 大阪府吹田市山田丘 2-2) Department of Intern Medicine and Molecular Science, Graduate School of Medicine, B5 Osaka University [2-2 Yamada-oka, Suita, Osaka 565-0871, Japan] Tel. 06-6879-3732, Fax. 06-6879-3739, e-mail: shige@hp-blood.med.osaka-u.ac.jp

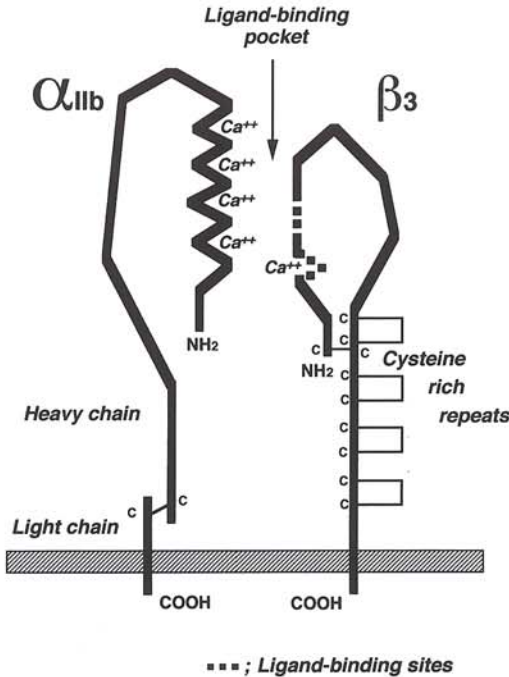


図1  $\alpha_{11b} \beta_3$  のシエマ  
 $\alpha$  鎖と  $\beta$  鎖が2価イオン依存性に1対1の複合体を形成している。2価イオン結合部位およびこれまでに明らかとなっているリガンド結合部位を示す。

における血小板無力症の遺伝子解析を行った結果、欧米とは異なり  $\beta_3$  の完全欠損が少なく、 $\alpha_{11b}$  の発現が  $\beta_3$  に比して著減している症例が多いことを明らかにしている。さらに、本邦例では  $\alpha_{11b}$  の Gln 747 → Pro 変異や  $\beta_3$  の His 280 → Pro 変異などが高率に存在しており民族的な特徴であると考えられる<sup>6)7)</sup>。

(b)  $\alpha_{11b} \beta_3$  質的異常

$\alpha_{11b} \beta_3$  質的異常 (variant 型) の遺伝子異常は  $\alpha_{11b} \beta_3$  の機能部位の同定や解析に重要である。すなわち、 $\alpha_{11b} \beta_3$  が機能を発現するには少なくとも①  $\alpha_{11b} \beta_3$  の活性化、②  $\alpha_{11b} \beta_3$  とリガンドの結合、③ リガンドが結合した後の  $\alpha_{11b} \beta_3$  の変化が必要と考えられている<sup>8)</sup>。従って、variant 型血小板無力症により見いだされた異常がこれらの過程の機能解析に重要となる。

リガンド結合部位の障害: 現在までに variant 型血小板無力症の解析より  $\alpha_{11b} \beta_3$  の N 末端側がリガンド結合に重要であることが明らかとなっている。 $\beta_3$  側では Asp 119 → Tyr 変異, Arg 214 → Trp あるいは Gln 変異によりリガンド結合が障害された<sup>9)~11)</sup>(図 2)。最近になり

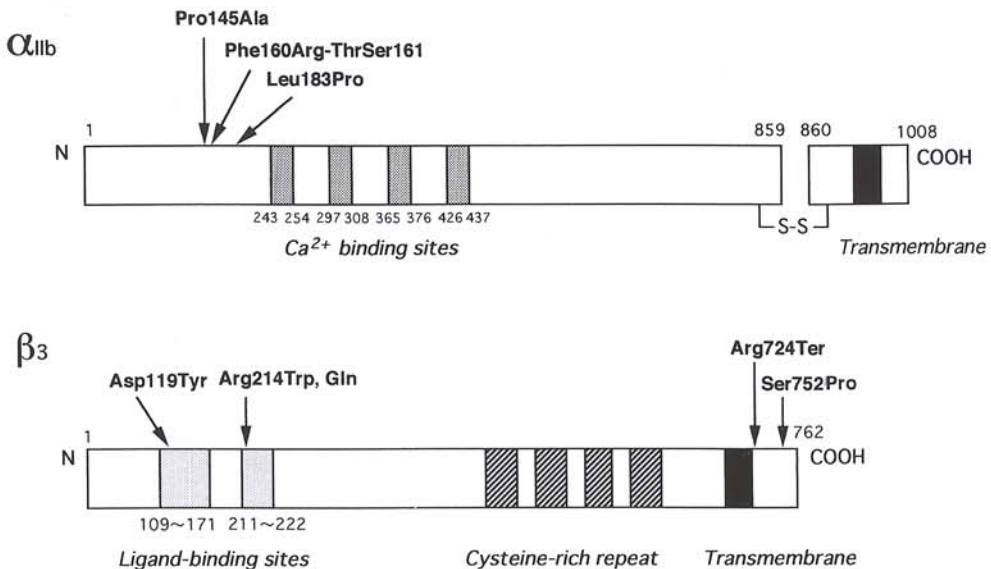


図2 機能異常を有する血小板無力症の異常部位  
 これまでに見いだされた機能異常を有する血小板無力症の異常部位を示す。詳細は本文を参照。



インテグリンIドメイン( $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\alpha_L$ ,  $\alpha_M$ などのインテグリンに存在する約200残基のアミノ酸より構成されるリガンド結合部位)のMIDASドメイン(metal ion-dependent adhesion site)に類似する構造が $\beta_3$ にも存在することが報告されリガンド結合のkey残基が明らかとなった<sup>12)</sup>。その結果, 前述した Asp 119 がリガンド結合に必須の残基であることが確認された。一方,  $\alpha_{11b}$  側に変異を有する variant 型の報告は最近までなかったが, われわれは  $\alpha_{11b}$  のN末端側に Phe 160 Arg-ThrSer 161 の2アミノ酸挿入を有する variant 症例(KO)を初めて明らかにした<sup>13)</sup>。興味深いことに, この変異部位は最近 Springer<sup>14)</sup> が提唱したりガンド結合部位のモデル( $\alpha_{11b}$ ,  $\alpha_3$ ,  $\alpha_4$ ,  $\alpha_5$ などのIドメインを持たない $\alpha$ インテグリンの構造で $\beta$ プロペラモデルと呼ばれる)の機能部位に一致していた(図3)。さらに, この変異が挿入されていたW3の4-1ループ内の Asp 163 がリガンド結合に必須であることを明らかにした。また,  $\alpha_{11b}$   $\beta_3$  の機能と発現の両方が障害されるタイプII症例の解析よりW3の4-1ループ内の Pro 145 → Ala 変異, W3の2-3ループ内の Leu 183 → Pro 変異でもリガンド結合能が障害されることが明らかとなった<sup>15)16)</sup>。これらの変異部位は一次構造上離れた部位であるが, 図3に示すように $\beta$ プロペラモデルにおいては近傍に存在しており, このモデルを支持する成績と考えられる。

**$\alpha_{11b}$   $\beta_3$  活性化の障害:**  $\alpha_{11b}$   $\beta_3$  の活性化にはアゴニスト(ADP, コラーゲンなど)による刺激が必要である。すなわちアゴニストにより誘導されたシグナル(inside-outシグナル)が $\alpha_{11b}$   $\beta_3$  の機能をコントロールしている。Variant型症例の解析でこのシグナル伝達に不応性となる異常が見い出された。 $\beta_3$ 細胞内ドメインの Ser 752 → Pro 変異や $\beta_3$ の Arg 724 で蛋白の翻訳が中断される変異がそれである<sup>17)18)</sup>。さらに, これらの変異を有する $\alpha_{11b}$   $\beta_3$ を導入した発現細胞はリガンド結合部位には異常がないため固相Fgには容易に接着するがその後の細胞伸

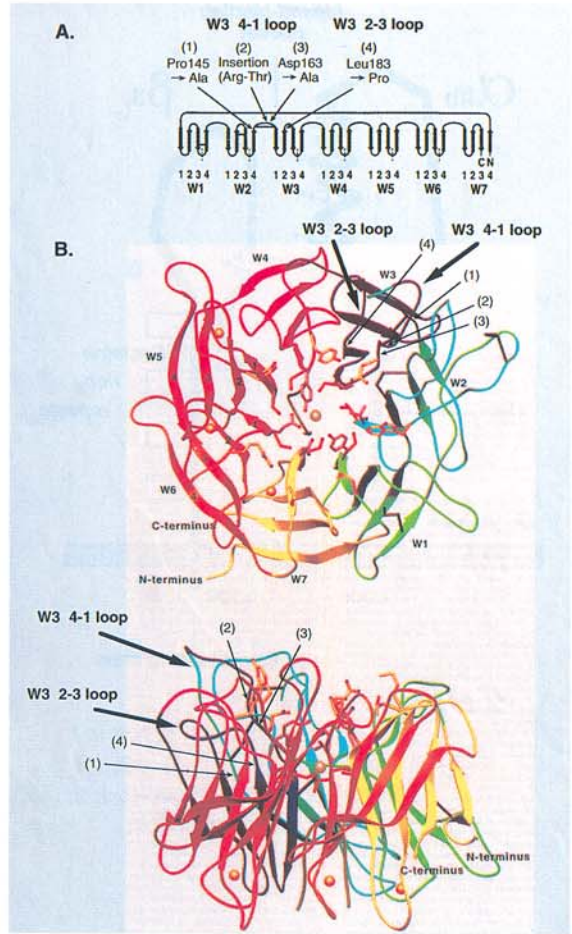


図3  $\beta$ プロペラモデルとリガンド結合能に障害を有する血小板無力症の異常部位

$\beta$ プロペラモデルはIドメインを持たない $\alpha$ インテグリンのリガンド結合部位のモデルとして1997年にSpringerにより提唱された。Bの上が上面図, 下が側面図である。リガンドはドメイン上面のループに結合すると予測されている。

展(outside-inシグナルが関与)が障害されることが示された。このように $\beta_3$ 細胞内ドメインはinside-outおよびoutside-in両方のシグナル伝達(bidirectional transmembrane signaling)に関与することが明らかとなった。

### 3. 症状・検査所見

出血傾向が唯一の症状であり, 幼少時より紫

斑, 鼻出血, 歯肉出血が認められる。幼少時期の鼻出血ではしばしば輸血を必要とする。一般に凝固因子異常症で見られる関節内出血は認めない。検査成績では凝固系試験は正常, 出血時間の延長, 血小板凝集能はADP, コラーゲン, エピネフリンなどで惹起されるFg依存性の血小板凝集は欠如するが, リストセチン凝集はGPIb-IXとvWF依存性であるため惹起される。また, 血餅退縮能は $\alpha_{11b} \beta_3$ が著減するタイプI症例では欠如する。Variant型では欠如するものから正常までさまざまである。最近報告された $\beta_3$ ノックアウトマウスでの成績はFgを介した血小板凝集能の欠如, 出血時間延長, 血餅退縮能の欠如および新生時期における消化管出血などの致死出血とほぼヒトの所見に合致していた。しかしながら, 胎盤発育障害による自然流産や破骨細胞の機能障害に伴う軽度の骨硬化や高Ca血症の出現は今後ヒトにおいても慎重に調査されるべき課題であろう<sup>19)20)</sup>。

#### 4. 治療

通常の出血に対しては対症療法で十分であるが重症出血あるいは外科手術時には血小板輸血が必要である。重症例では頻回輸血により血小板に対する抗体が生じ輸血不応性になる。このような場合はリコンビナント活性型第VII因子が有効との報告がある<sup>21)</sup>。また最近ではヒト造血幹細胞に $\alpha_{11b}$ 遺伝子のプロモーターを組み込んだ遺伝子を導入し巨核球特異的に導入遺伝子を発現させることに成功している<sup>22)</sup>。これにより先天性血小板機能異常症の遺伝子治療の可能性が示された。

#### 5. 診断・解析施設

血小板無力症の診断・解析は大阪大学大学院分子制御内科学(第二内科)血液研究室, 慶應義塾大学医学部血液内科で精力的に行われている。また, 血小板無力症に関する情報は以下の

インターネットホームページで入手可能である。

『<http://med.mssm.edu/glanzmannDB/menu.html>』

#### 文 献

- 1) Tomiyama Y: Glanzmann Thrombasthenia. The integrin  $\alpha_{11b} \beta_3$  deficiency. Int J Hematol in press.
- 2) Glanzmann E: Hereditäre Hamorrhagische thrombasthenic. Ein Beitrag zur Pathologie der Blutplättchen. Jahrbuch der Kinderheilkunde 88: 1-42, 1918.
- 3) Caen J, Cousin C: Le trouble d'adhésivité "in vivo" des plaquettes dans la maladie de Willebrand et les thrombasthenies de Glanzmann. Essai d'interprétation. Nouvelle Revue Française d'Hématologie 2: 685-694, 1962.
- 4) Zucker MB, Pert JH, Hilgartner MW: Platelet function in a patient with thrombasthenia. Blood 28: 524-534, 1966.
- 5) Coller BS, Seligsohn U, Peretz H, Newman Peter: Glanzmann thrombasthenia: new insights from an historical perspective. Semin Hematol 31: 301-311, 1994.
- 6) Tadokoro S, Tomiyama Y, Honda S, Arai M, Yamamoto N, Shiraga M, Kosugi S, Kanakura Y, Kurata Y, Matsuzawa Y: A Gln747 → Pro substitution in the  $\alpha_{11b}$  subunit is responsible for a moderate  $\alpha_{11b} \beta_3$  deficiency in Glanzmann thrombasthenia. Blood 92: 2750-2758, 1998.
- 7) Ambo H, Kamata T, Handa M, Taki M, Kuwajima M, Kawai Y, Oda A, Murata M, Takada Y, Watanabe K, Ikeda Y: Three novel integrin  $\beta_3$  subunit missense mutations (H280P, C560F, and G579S) in thrombasthenia, including one (H280P) prevalent in Japanese patients. Biochem Biophys Res Commun 251: 763-768, 1998.
- 8) Shattil SJ, Kashiwagi H, Pampori N. Integrin signaling: the platelet paradigm. Blood 91: 2645-2657, 1998.
- 9) Bajt ML, Loftus JC: Mutation of a ligand bind-



- ing domain of  $\beta_3$  integrin. Integral role of oxygenated residues in  $\alpha_{11b}\beta_3$  (GPIIb-IIIa) receptor function. *J Biol Chem* **269**: 20913-20919, 1994.
- 10) Lanza F, Stierle A, Fournier D, Morales M, Andre G, Nurden AT, Cazenave JP: A new variant of Glanzmann's thrombasthenia (Strasbourg I). Platelets with functionally defective glycoprotein IIb-IIIa complexes and a glycoprotein IIIa 214Arg  $\rightarrow$  214Trp mutation. *J Clin Invest* **89**: 1995-2004, 1992.
  - 11) Bajt ML, Ginsberg MH, Frelinger AL 3d, Berndt MC, Loftus JC: A spontaneous mutation of integrin  $\alpha_{11b}\beta_3$  (platelet glycoprotein IIb-IIIa) helps define a ligand binding site. *J Biol Chem* **267**: 3789-3794, 1992.
  - 12) Tozer EC, Liddington RC, Sutcliffe MJ, Smeeton AH, Loftus JC. Ligand binding to integrin  $\alpha_{11b}\beta_3$  is dependent on a MIDAS-like domain in the  $\beta_3$  subunit. *J Biol Chem* **271**: 21978-21984, 1996.
  - 13) Honda S, Tomiyama Y, Shiraga M, Tadokoro S, Takamatsu J, Saito H, Kurata Y, Matsuzawa Y. A two-amino acid insertion in the Cys146-Cys167 loop of  $\alpha_{11b}$  subunit is associated with a variant of Glanzmann thrombasthenia: Critical role of Asp163 in ligand binding. *J Clin Invest* **102**: 1183-1192, 1998.
  - 14) Springer TA: Folding of the N-terminal, ligand-binding region of integrin  $\alpha$ -subunits into a  $\beta$ -propeller domain. *Proc Natl Acad Sci USA* **94**: 65-72, 1997.
  - 15) Basani RB, French DL, Vilaire G, Brown DL, Chen F, Collier BS, Derrick JM, Gartner TK, Bennett JS, Poncz M: A naturally occurring mutation near the amino terminus of  $\alpha_{11b}\beta_3$  defines a new region involved in ligand binding to  $\alpha_{11b}\beta_3$ . *Blood* **95**: 180-188, 2000.
  - 16) Grimaldi CM, Chen F, Wu C, Weiss HJ, Collier BS, French DL: Glycoprotein IIb Leu214Pro mutation produces glanzmann thrombasthenia with both quantitative and qualitative abnormalities in GPIIb/IIIa. *Blood* **91**: 1562-1571, 1998.
  - 17) Chen YP, O'Toole TE, Ylanne J, Rosa JP, Ginsberg MH: A point mutation in the integrin  $\beta_3$  cytoplasmic domain (S752  $\rightarrow$  P) impairs bidirectional signaling through  $\alpha_{11b}\beta_3$  (platelet glycoprotein IIb-IIIa). *Blood* **84**: 1857-1865, 1994.
  - 18) Wang R, Shattil SJ, Ambruso DR, Newman PJ: Truncation of the cytoplasmic domain of  $\beta_3$  in a variant form of Glanzmann thrombasthenia abrogates signaling through the integrin  $\alpha_{11b}\beta_3$  complex. *J Clin Invest* **100**: 2393-2403, 1997.
  - 19) HodiVala-Dilke KM, McHugh KP, Tsakiris DA, Rayburn H, Crowley D, Ullman-Cullere M, Ross FP, Collier BS, Teitelbaum S, Hynes RO:  $\beta_3$ -integrin-deficient mice are a model for Glanzmann thrombasthenia showing placental defects and reduced survival. *J Clin Invest* **103**: 229-238, 1999.
  - 20) McHugh KP, HodiVala-Dilke K, Zheng MH, Namba N, Lam J, Novack D, Feng X, Ross FP, Hynes RO, Teitelbaum SL: Mice lacking  $\beta_3$  integrins are osteosclerotic because of dysfunctional osteoclasts. *J Clin Invest* **105**: 433-440, 2000.
  - 21) Poon MC, Demers C, Jobin F, Wu JW: Recombinant factor VIIa is effective for bleeding and surgery in patients with Glanzmann thrombasthenia. *Blood* **94**: 3951-3953, 1999.
  - 22) Wilcox DA, Olsen JC, Ishizawa L, Griffith M, White GC 2nd: Integrin  $\alpha_{11b}$  promoter-targeted expression of gene products in megakaryocytes derived from retrovirus-transduced human hematopoietic cells. *Proc Natl Acad Sci USA* **96**: 9654-9659, 1999.