

## ◆トピックス◆

## 先天性 XIII 因子 B サブユニット欠損症

一 瀬 白 帝\*

Congenital Factor XIII B Subunit Deficiency

Akitada ICHINOSE\*

**Key words** : bleeding disorder, sushi domain, molecular abnormality, impaired transport, ER retention

## 1. 概 念

血液凝固第 XIII 因子 (XIII 因子) は、凝固反応の最終段階で安定なフィブリン塊を形成して止血や組織の修復に働く、血漿トランスグルタミナーゼ前駆体である。XIII 因子は、トランスグルタミナーゼ本体である A サブユニットと、その保護に働く B サブユニットのそれぞれ 2 つずつから成る異種四量体として、血漿中に存在する (図 1)。XIII 因子 B サブユニット欠損症は後者の遺伝子の欠陥が原因で二次的に A サブユニットが欠乏し、出血傾向を呈する、常染色体劣性遺伝形式をとる先天性疾患である<sup>1)2)</sup>。

## 2. 歴 史

1920 年代には、血液が凝固する時にカルシウムが存在すると、フィブリン塊が希アルカリ溶液に不溶性となったり、プラスミンによる分解に対して抵抗性になることが知られていた。1940 年代になると、この現象に關与する未知の凝固因子の存在が推定されるようになり、1948

年には Laki & Lorand により、この因子は熱に不安定であり、尿素に不溶性の正常なフィブリン血栓形成に必須であることが報告された。これにより、フィブリン血栓の不溶性を定性的に測定することが可能になり、1961 年、遂にこの因子が新しい酵素であることが Loewy によって証明された<sup>3)</sup>。その前年、出血症状を呈する欠損症が Duckert によって初めて報告されている。本因子は発見以来、その作用からフィブリン安定化因子と呼ばれてきたが、その後国際血液凝固因子 (命名) 委員会において全ての凝固因子にローマ数字の番号が与えられたので、凝固第 XIII 因子が正式名称となった。XIII 因子は、一時期、架橋結合酵素ではなく、タンパク質分解酵素と考えられたこともあることが、凝固反応の研究の歴史の上では興味深い。

さて、この XIII 因子が 2 つの A サブユニットと 2 つの B サブユニットから成る異種四量体であることは、1973 年 Schwartz らによって初めて明らかにされ、翌年 Chung らによって確認された<sup>4)5)</sup>。この発見は、後年、それぞれのサブユニットの欠損症によって共通の XIII 因子欠損状態が引き起こされるという、本疾患の分

\* 山形大学医学部分子病態学講座 (〒 990-9585 山形市飯田西 2-2-2)

Department of Molecular Patho-Biology and Patho-Biochemistry, Yamagata University School of Medicine [2-2-2 Iida-Nishi, Yamagata, 990-9585 Japan.]

TEL : 023-628-5276 FAX : 023-628-5280 e-mail : aichinos@med.id.yamagata-u.ac.jp

ホームページ : www.id.yamagata-u.ac.jp

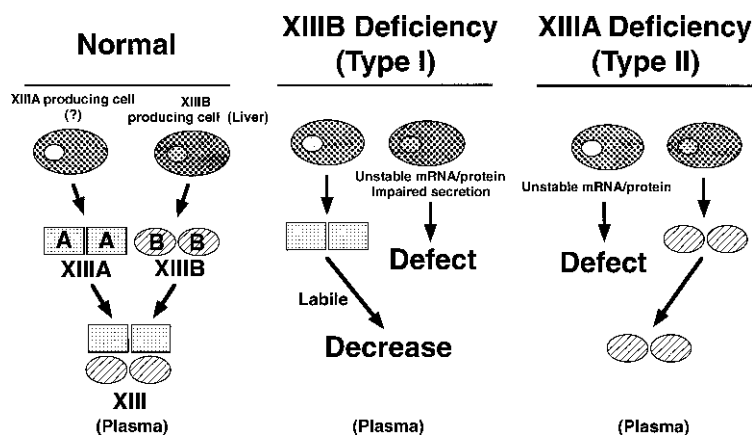


図1 XIII因子欠損症の分類と原因

子病態の解明に繋がった。後述するように、XIII因子蛋白質の欠乏パターンからA、B両サブユニットが欠損したI型第XIII因子欠損症の存在は知られていたが<sup>6)</sup>、XIII因子Bサブユニット完全欠損症を確定的に診断したのは、金沢大学のSaitoらの報告が世界で最初である<sup>7)</sup>。

### 3. 病 態

出血傾向が本疾患の主な臨床症状である。特に、一時的には止血するが、24~36時間後に再出血するという“後出血”が特徴的である。ただし、外傷や手術に伴う出血では初期から止血が困難なこともある。Aサブユニット欠損症の多くはほとんどXIII因子活性が無いのでほぼ一様の症状を呈するのに対し、Bサブユニット欠損症ではAサブユニット低下の程度と症状が症例間で異なることが多く、出血症状の強弱もややバラつく傾向がある。

後述するように、Bサブユニット欠損症はこれまでに4種類の遺伝子異常が同定されており(図2)、異常蛋白質の分泌障害や産生細胞内での不安定性により血中のBサブユニットが欠乏する<sup>8)9)</sup>。免疫組織化学的検索によれば、変異Bサブユニットは小胞体に停滞し(ER retention)、ゴルジ装置に輸送されない。Bサブユニット欠損によりAサブユニットが血漿中で安

定して存在できなくなるため、二次的にAサブユニット欠損が引き起こされる。従って、Bサブユニット欠損症患者のAサブユニットは、遺伝子および血小板中の抗原量・活性ともに正常であるにもかかわらず、血漿中では欠乏している<sup>10)~12)</sup>。

Aサブユニットは凝固反応の過程で生じたトロンビンにより活性化され、さらにカルシウムイオン存在下でBサブユニットから解離して、フィブリン、 $\alpha_2$ -プラスミンインヒビター、フィブロネクチンなどの蛋白質を共有結合で架橋させて物理的にも分解酵素からも抵抗性の安定な複合体を形成する。前述した二次的なAサブユニットの欠乏は、酵素としてのXIII因子の機能低下をもたらし、基質分子間の架橋結合の形成を減少させる。従って、本症での出血傾向、特に後出血は、フィブリン塊を安定化させるフィブリン $\gamma$ 鎖間の架橋結合やフィブリン血栓への $\alpha_2$ -プラスミンインヒビターの取り込みが低下し、フィブリン塊が容易にプラスミンによって分解されて止血栓が早期に溶解することが原因である。なお、Aサブユニット欠損症では、フィブロネクチンとフィブリンの架橋不全が線維芽細胞の増殖や細胞外マトリックスの産生を低下させ、創傷治癒を遅延させることが知られているが、Bサブユニット欠損症ではこの症状は報告されていない。

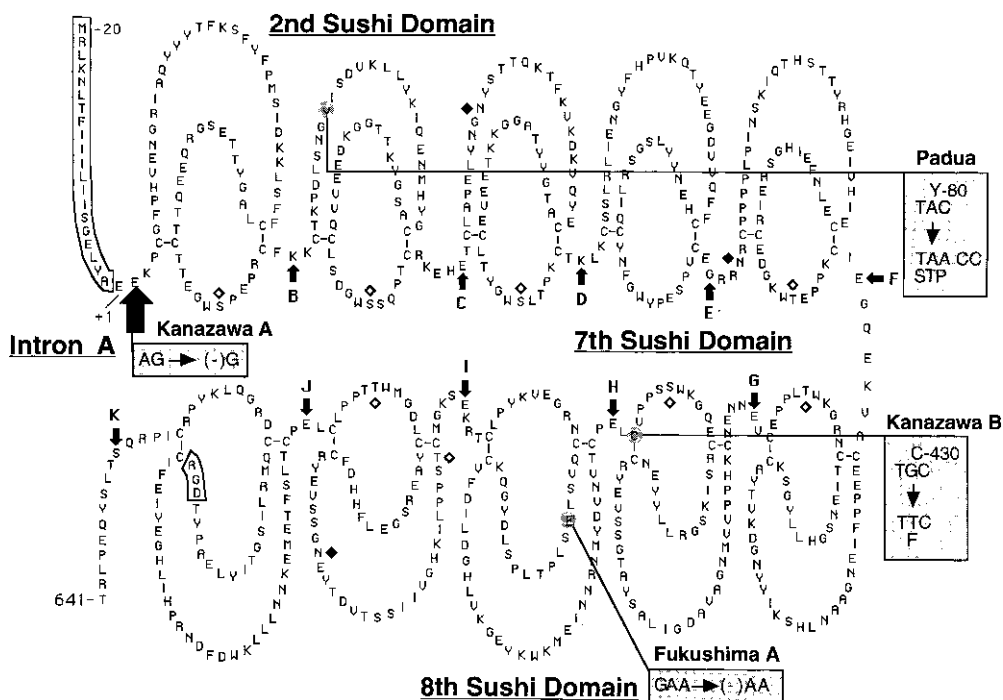


図 2 XIII 因子 B サブユニットのアミノ酸配列と欠損症で同定された変異

#### 4. 遺伝子解析

従来, 第 XIII 因子欠損症は蛋白質の欠乏パターンから A, B 両サブユニットが欠損した I 型と A サブユニットのみが欠損した II 型の 2 つのタイプに分類されてきた<sup>6)</sup>. 著者らは, 遺伝子レベルでの解析の結果から, I 型, II 型はそれぞれ B, A サブユニット遺伝子異常に起因することを明らかにした<sup>8)9)11)~18)</sup>. そこで, 著者らは, 第 XIII 因子欠損症を遺伝子レベルの欠陥に基づいて A サブユニットおよび B サブユニット欠損症と分類することを提唱し, 1999 年の国際血栓止血学会の科学・標準化委員会で採択された (<http://www.med.unc.edu/isth/99/FXIII.html>) (図 1). この新しい分類による診断は, 単に疾患の理解のみに留まらず, 後述するように補充療法の方針決定においても有用である.

さて, B サブユニットは 641 アミノ酸残基か

らなり<sup>19)</sup>, 10 個の連続した“寿司ドメイン”<sup>20)</sup>から構成されている(図 2). シグナルペプチド, フリーの N 末端アミノ酸をもち, 糖鎖やジスルフィド (S-S) 結合を含む典型的な分泌型蛋白質である. また, B サブユニット遺伝子は第 1 染色体 1q32 に局在し, 約 28 kb のサイズで 12 のエクソンと 11 のイントロンを含む<sup>21)</sup>. おのおのの寿司ドメインはおのおの別のエクソンでコードされている.

著者らは 1980 年代に A, B 両サブユニットの正常遺伝子の構造と塩基配列を決定したので<sup>19)21)~23)</sup>, それを利用して Saito ら<sup>7)</sup>が報告した世界初の凝固 XIII 因子 B サブユニット完全欠損症の遺伝子解析を行ない, 発端者が 2 種類の遺伝子異常の複合ヘテロ接合体であることを発見した<sup>9)</sup>. 第一の変異 (intron A/exon II 境界部位における一塩基欠失) は, イントロン A のスプライシングアクセプター部位のアデノシンの欠失であり, スプライシング異常をきたす.

第二の変異 (C 430 F) はエクソン VIII にあるグアノシン-11499 のチミジンへの変異であり、第7寿司ドメインに存在する Cys-405 と S-S 結合する Cys-430 が、Phe に置換される。この変異 B サブユニットは肝細胞での生合成、安定性あるいは分泌過程の何れかが障害されていると推測されたので種々の実験を施行し、野性型 B サブユニットが古典的分泌経路を通して分泌されるに對し<sup>24)</sup>、変異 B サブユニットは小胞体に停滞し (ER retention)、ゴルジ装置に輸送されないこと (変異蛋白質の分泌障害) を証明している<sup>8)</sup>。

第三の変異 (exon III における AAC 挿入) は、血縁関係のないイタリア人の2症例 (第2, 3例) で発見された<sup>11)</sup>。B サブユニット遺伝子の3'領域の2カ所の多型性が一致することから、著者らは founder effect (創始者効果) を提唱している。

第4, 5例は、血縁関係のない日本人で、それぞれ intron A/exon II 境界部位における一塩基欠失のホモ接合体、ヘテロ接合体である。症例5では、第四の変異 (exon IX にフレームシフトを生じる一塩基の欠失) が新たに同定され、第二の変異 (C 430 F) と同様、変異蛋白質の分泌障害が証明された<sup>25)</sup>。

上述した日本人 XIII B 欠損症3例はいずれも intron A/exon II 境界部位における一塩基欠失を有している。これら3例はまったく異なる地域 (金沢、福岡、福島) に居住しており、血縁関係は確認されていないが、3'領域にある2カ所の遺伝的多型性が一致することから founder effect が推定される<sup>25)</sup>。

## 5. 症例・家系の症状、検査所見

第1例<sup>7)</sup>。32歳の女性。子供の頃から時折皮下出血が見られたが、出血傾向の検査はされていない。26歳の時に女兒を帝王切開で出産したが、特に出血傾向を認めていない。31歳の時には男児を出産したが、その直前から腔からの異

常出血があり、緊急帝王切開が施行された。縫合部位からの異常出血のため、再び開腹術が施行され、5単位の濃縮赤血球と5単位の新鮮凍結血漿が投与されている。この症例の両親はいとこ結婚で、姉は2度の妊娠時に重度の産後出血を経験している。本人、姉、弟の XIII 因子活性はそれぞれ 24, <10, 10%, 本人と弟の XIII A 抗原量はそれぞれ 14, <2%であったのに対し、XIII B 抗原量は <2%であった。なお、父、母、娘、息子の XIII B 抗原量は 34~52%と、正常の約半分であった。

第5例<sup>25)</sup>。6歳の男児。新生児期 (13生日) に臍帯出血を来し、その後も症状が持続するため20生日に福岡大学小児科へ紹介受診。検査で XIII 因子活性低下 (5%) を認め、XIII 因子欠損症と診断された。家族歴に出血性疾患は無く、母は以前活性が正常の半分くらいと言われたことがある (福岡大学での測定では 76%)。臍帯出血はその後すぐに止血し、以降は特に出血のエピソードは無かったが、3歳時に一度原因不明の肉眼的血尿が見られている。(母方に腎結石の症例あり)。これもすぐに自然軽快しており、現在まで XIII 因子製剤の補充療法を必要としたことはない。

以上のように、B サブユニット欠損症の出血症状は A サブユニット欠損症に比較するとやや軽い印象がある。しかし、これまでに世界中で確認された患者は5名と症例数が少ないので、なお検討の余地がある。

なお、著者らが作製した XIII 因子 B サブユニット KO マウスについての論文は、現在のところ発表されていない。

## 6. 診断と治療

血漿中の XIII 因子の活性を複数回測定し、一貫してほぼ0あるいは正常の約半分であれば、それぞれ XIII 因子欠損患者、保因者と判定する。家系調査により遺伝形式が常染色体劣性形式であることを確認し、確定診断とする。

ELISA 法あるいは Laurell 法を用いて抗原量を測定し、A サブユニットが正常の 5% 以下、B サブユニットが約半分であれば A サブユニット欠損、両サブユニット共に 5% 以下であれば B サブユニット欠損の疑いもたれる。なお、同一家系での変異が明らかな場合には遺伝子診断も可能である。

出血時、手術の前後に新鮮血漿、ヒト血液由来の XIII 因子、胎盤由来（現在は市販されていない）あるいは組換え体の A サブユニット製剤（準備中）を用いて補充療法を行う。出血の部位、重症度、手術の侵襲の大きさに応じて、血漿 XIII 因子レベルを正常の 20~100% まで上げる。B サブユニット欠損症患者では、A サブユニットのみを含む製剤を使用した場合補充した A サブユニットが安定化されない為に A サブユニットの半減期が短かいので、注意を要する<sup>7)</sup>。A サブユニット欠損症では、A サブユニット製剤は患者血中の B サブユニットと結合して安定化されるのでその半減期は 7~10 日間である<sup>26)</sup>。なお、血液から抽出した製剤（現在は市販中）は両サブユニットの複合体を含むので、B サブユニット欠損症患者の補充療法に最適である。

**解析・診断施設の紹介：**現在までに世界中で発見された 5 家系の症例は全て、著者らの施設で遺伝子解析されている。文献 27, 28 も参考にされたい。

## 文 献

- 1) Ichinose A: The physiology and biochemistry of factor XIII, in Bloom AL, et al. (eds): Haemostasis and Thrombosis, vol. 1 (ed Third edition). Edinburgh, United Kingdom, Churchill Livingstone, Inc., 1994: 531-546.
- 2) Lorand L, Losowsky MS, Miloszewski KJ: Human factor XIII: fibrin-stabilizing factor. *Prog Hemost Thromb* **5**: 245-290, 1980.
- 3) Loewy A, Dahlberg A, Dunathan K, et al.: Fibrinase: Some physical properties. *J Biol Chem* **236**: 2634-2643, 1961.
- 4) Schwartz ML, Pizzo SV, Hill RL, et al.: Human Factor XIII from plasma and platelets. Molecular weights, subunit structures, proteolytic activation, and cross-linking of fibrinogen and fibrin. *J Biol Chem* **248**: 1395-1407, 1973.
- 5) Chung SI, Lewis MS, Folk JE: Relationships of the catalytic properties of human plasma and platelet transglutaminases (activated blood coagulation factor XIII) to their subunit structures. *J Biol Chem* **249**: 940-950, 1974.
- 6) Girolami A, Cappellato MG, Vicarioto MA: Congenital factor XIII deficiency: type I and type II disease. *Brit J Haematol* **60**: 375-377, 1985.
- 7) Saito M, Asakura H, Yoshida T, et al.: A familial factor XIII subunit B deficiency. *Brit J Haematol* **74**: 290-294, 1990.
- 8) Hashiguchi T, Ichinose A: Molecular and cellular basis of deficiency of the b subunit for factor XIII secondary to a Cys430-Phe mutation in the seventh Sushi domain. *J Clin Invest* **95**: 1002-1008, 1995.
- 9) Hashiguchi T, Saito M, Morishita E, et al.: Two genetic defects in a patient with complete deficiency of the b subunit for coagulation factor XIII. *Blood* **82**: 145-150, 1993.
- 10) Girolami A, Burul A, Fabris F, et al.: Studies on factor XIII antigen in congenital factor XIII deficiency. A tentative classification of the disease in two groups. *Folia Haematol* **105**: 131-141, 1978.
- 11) Izumi T, Hashiguchi T, Castaman G, et al.: Type I factor XIII deficiency is caused by a genetic defect of its b subunit: insertion of triplet AAC in exon III leads to premature termination in the second Sushi domain. *Blood* **87**: 2769-2774, 1996.
- 12) Ichinose A, Izumi T, Hashiguchi T: The normal and abnormal genes of the a and b subunits in coagulation factor XIII. *Semin Thromb Hemost* **22**: 385-391, 1996.
- 13) Izumi T, Nagaoka U, Saito T, et al.: Novel deletion and insertion mutations cause splicing defects, leading to severe reduction in mRNA levels of the A subunit in severe factor XIII deficiency. *Thromb Haemost* **79**: 479-485, 1998.
- 14) Takahashi N, Tsukamoto H, Umeyama H, et al.: Molecular mechanisms of type II factor XIII deficiency: novel Gly562-Arg mutation and C-terminal truncation of the A subunit cause factor XIII deficiency as characterized in a mammalian expression system. *Blood* **91**: 2830-2838, 1998.
- 15) Souri M, Izumi T, Higashi Y, et al.: A founder effect is proposed for factor XIII B subunit deficiency caused by the insertion of triplet AAC in exon III encoding the second Sushi domain. *Thromb Haemost* **80**: 211-213, 1998.
- 16) Ichinose A, Tsukamoto H, Izumi T, et al.: Arg260-Cys mutation in severe factor XIII deficiency: conformational change of the A subunit is predicted by molecular modelling and mechanics. *Brit J Haematol* **101**: 264-272, 1998.
- 17) Ichinose A, Souri M, Izumi T, et al.: Molecular and genetic mechanisms of factor XIII A subunit deficiency. *Semin Thromb Hemost* **26**: 5-10, 2000.
- 18) Souri M, Yee VC, Kasai K, et al.: Novel Y283C mutation of the A subunit for coagulation factor XIII: Molecular modeling predicts its impaired protein folding and dimer formation. *Brit J Haematol*: 2001, in press.

- 19) Ichinose A, McMullen BA, Fujikawa K, et al. : Amino acid sequence of the b subunit of human factor XIII, a protein composed of ten repetitive segments. *Biochem* **25** : 4633-4638, 1986.
- 20) Ichinose A, Bottenus RE, Davie EW : Structure of transglutaminases. *J Biol Chem* **265** : 13411-13414, 1990.
- 21) Bottenus RE, Ichinose A, Davie EW : Nucleotide sequence of the gene for the b subunit of human factor XIII. *Biochem* **29** : 11195-11209, 1990.
- 22) Ichinose A, Hendrickson LE, Fujikawa K, et al. : Amino acid sequence of the a subunit of human factor XIII. *Biochem* **25** : 6900-6906, 1986.
- 23) Ichinose A, Davie EW : Characterization of the gene for the a subunit of human factor XIII (plasma transglutaminase), a blood coagulation factor. *Proc Natl Acad Sci USA* **85** : 5829-5833, 1988.
- 24) Kaetsu H, Hashiguchi T, Foster D, et al. : Expression and release of the a and b subunits for human coagulation factor XIII in baby hamster kidney (BHK) cells. *J Biochem* **119** : 961-969, 1996.
- 25) Koseki S, Souri M, Koga S, et al. : Truncated mutant B subunit for factor XIII causes its deficiency due to impaired intracellular transportation. *Blood* **97** : 2667-2672, 2001.
- 26) Rodeghiero F, Tosetto A, Di Bona E, et al. : Clinical pharmacokinetics of a placenta-derived factor XIII concentrate in type I and type II factor XIII deficiency. *Am J Hematol* **36** : 30-34, 1991.
- 27) 一瀬白帝, 泉 友則, 橋口照人 : 各種の凝固第 XIII 因子欠乏症の分子病態学的解析, *日本血栓止血学会誌* **6** : 193, 1996.
- 28) 一瀬白帝 : 凝固 XIII 因子の立体構造, *日本血栓止血学会誌* **11** : 377-384, 2000.