

◆トピックス◆

# プロトロンビン異常症

森下 英理子\*

Dysprothrombinemia

Eriko MORISHITA\*

**Key words** : abnormal prothrombins, congenital prothrombin defect, factor Xa, thrombin

## 1. 概念・歴史

先天性プロトロンビン異常症は、抗原量は正常であるが活性が低下しているいわゆる分子異常症であり、出血傾向を示すことが知られている。1969年にShapiroら<sup>1)</sup>がはじめてプロトロンビン Cardeza という異常症を報告して以来、海外での報告は29家系、本邦では3家系プロトロンビン Tokushima<sup>2)</sup>と Obihiro<sup>3)</sup>、著者らが1991年に発見した Himi<sup>4)</sup>が報告されている。近年遺伝子解析がすすみ、32家系のうち11変異が独立したものとして明らかになっている<sup>5)</sup>。プロトロンビン異常症の約80%がラテン系諸国 (Cardeza<sup>1)</sup>, Barcelona<sup>5)</sup>, Padua<sup>6)</sup>, Segovia など)の出身である点は興味深い<sup>7)</sup>が、その理由は明らかではない。

## 2. 性 状

プロトロンビンは、止血反応において中心的役割を果たすセリンプロテアーゼ前駆体である。遺伝子は第11番染色体上に存在し、全長約21 kbで14エクソンと13イントロンからなる。分子量は72,000で、579個のアミノ酸残基からなる一本鎖糖蛋白質で、N末端側よりγ-カルボキシグルタミン酸 (Gla) ドメイン、二つのクリングルドメイン、そしてセリンプロテアーゼドメインに分けられる。

プロトロンビンは、リン脂質あるいは血小板の表面上でVa因子の存在下、Xa因子によって活性化される。図1に示すように、Xa因子によるArg<sup>271</sup>-Thr<sup>272</sup>のペプチド結合の水解の結果、活性化ペプチドフラグメント1+2とプレトロ

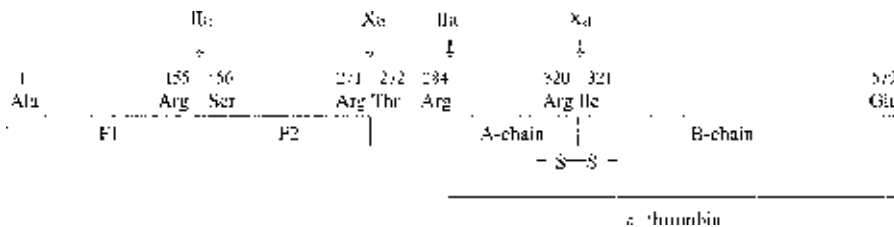


図1 ヒトプロトロンビンのポリペプチド鎖とその切断部位

\* 金沢大学医学部保健学科検査技術科学専攻 (〒920-0942 金沢市小立野5-11-80)  
 Department of Laboratory Sciences, School of Health Science, Kanazawa University (5-11-80 Kodatsuno, Kanazawa-shi, 920-0942, Japan.)  
 Tel : 076-265-2273 Fax : 076-234-4252 E-mail : eriko@med3.m.kanazawa-u.ac.jp

ンビン2が生成される。プロトロンビン2には酵素活性はなく、Arg<sup>320</sup>-Ile<sup>321</sup>結合が水解されると、活性型酵素 $\alpha$ -トロンビンが生成される。

### 3. 病 態

#### 1) 症状・検査所見

一般にプロトロンビン異常症は出血傾向を認め、外傷や抜歯、手術後には止血困難を示す。しかし、プロトロンビン Himi<sup>4)</sup>あるいは Salakata<sup>7)</sup>は無症状で、出血の既往はない。

患者血漿の凝固系のスクリーニング検査では、PT, APTTが著しく延長する。プロトロンビン活性はルーチンには一段法、二段法を用いて測定されるが、きわめて低い場合が多い。またプロトロンビン活性化の特殊な方法として、Staphylococcus aureusの菌体外蛋白質であるスタフィロコグラゼや Echis carinatus, Taipan等の蛇毒酵素をプロトロンビンアクチベーターとして用いる方法がある。抗原量は Laurell法により測定し、抗原量が低下しているものを低プロトロンビン血症、抗原量は正常であるが活性が低下しているものをプロトロンビン異常症と診断する。患者血漿や血清を用い

て二次元免疫電気泳動を行い、プロトロンビン分子あるいは限定分解産物の易動度の差異を検討する場合もある。

#### 2) 分 類

異常プロトロンビンの解析には、患者血漿より異常蛋白を精製しアミノ酸置換を決定し、その機能を調べる生化学的手法と、患者DNAから塩基配列を決定する遺伝子工学的手法とがある。これらの手法を用いた解析法から、プロトロンビン異常症は以下のように二つに分類される(表1)。

① 活性化機序の異常:プロトロンビン San Juan<sup>8)</sup>は、Ca<sup>2+</sup>結合部位の異常である。一方、Xa因子の活性化の際に切断される部位 Arg<sup>271</sup>の異常として、プロトロンビン Barcelona<sup>5)</sup>/Madrid/Obihiro<sup>3)</sup>, Padua<sup>6)</sup>/Dhahran<sup>9)</sup>, Arg<sup>320</sup>の異常として San Antonio<sup>10)</sup>が報告されている。いずれもプロトロンビンの活性化に異常があり活性化速度が遅いが、生成されたトロンビンは正常な機能を有する。

② トロンビン領域の異常:これまでプロトロンビン Quick<sup>11)12)</sup>, Greenville<sup>13)</sup>, Salakta<sup>7)</sup>/Frankfurt, Tokushima<sup>2)</sup>/Molise, Himi<sup>4)</sup>などが知られている。

表1 プロトロンビン異常症のアミノ酸置換あるいは遺伝子異常部位

Variant	Genotype	Molecular and genetic defects
(1) 活性化機序の異常		
Barcelona/Madrid/Obihiro*	Homozygote	Arg 271→Cys
Padua/Dhahran*	Heterozygote/Homozygote	Arg 271→His (CGT→CAT)
San Antonio	Heterozygote	Arg 320→His (CGC→CAC)
Prothrombin 3 (Camberra)	Heterozygote	Glu 157→Lys
(2) トロンビン領域の異常		
Quick I/Corpus Christi*	Compound heterozygote (dys-dys)/(hypo-dys)	Arg 382→Cys (CGC→TGC) Gly 558→Val
Quick II		
Himi I	Compound heterozygote (dys-dys)	Met 337→Thr (ATG→ACG)
Himi II		Arg 388→His (CGC→CAC)
Molise/Tokushima*	Compound heterozygote (hypo-dys)	Arg 418→Try
Salakta/Frankfurt*	Homozygote	Glu 466→Ala
Greenville	Heterozygote	Arg 517→Gln (CGA→CAA)
Unnamed <sup>15)</sup>	Compound heterozygote (hypo-dys)	Arg 340→Trp (CGG→TGG)
Unnamed <sup>16)</sup>	Homozygote	Gly 330→Ser (GGC→AGC)
Unnamed <sup>16)</sup>	Homozygote	Arg 382→His (CGC→CAC)

\*Same point mutation and similar clotting pattern. 文献15)16)参照。

(文献7を一部改変)

### 3. 症 例

著者らが最初に遺伝子解析を行った，プロトロンビン Himi<sup>4)</sup> について提示する．症例は 26 歳女性で，出血傾向の既往歴はない．妊娠時の凝血的検査にて PT, APTT の著明な延長を認めたが放置，2 回目の出産時には帝王切開を施行するも異常出血を認めなかった．その後，精査目的にて当院内科を紹介された．凝血的検査では，プロトロンビン活性は 10% と低下していたが抗原量は正常であった．両親の活性はそれぞれ約 50%，二人の妹のうち一人が 9%，もう一人が 89% であり，抗原量は全員正常であった．以上より，本家系を先天性プロトロンビン異常症と診断し，プロトロンビン Himi と命

名した．両親は血族結婚ではなく，家系内に異常出血者は認めない．

患者血漿から異常プロトロンビンを精製し，酵素学的性質を検討した．その結果，精製異常プロトロンビンは Xa 因子による活性化様式は正常であったが，活性化して得られた  $\alpha$ -トロンビンのフィブリノゲン (Fbg) 凝固活性は低下していた．一方，合成ペプチド基質に対する水解能は正常であった．したがって，プロトロンビン Himi は  $\alpha$ -トロンビン領域の基質結合部位に異常が存在することが予測された．

次に構造異常を解析するために，遺伝子解析を行った．患者および家族の DNA を用いて， $\alpha$ -トロンビン領域の塩基配列を決定したところ (図 2)，患者は Met<sup>337</sup> (ATG) が Thr (ACG)

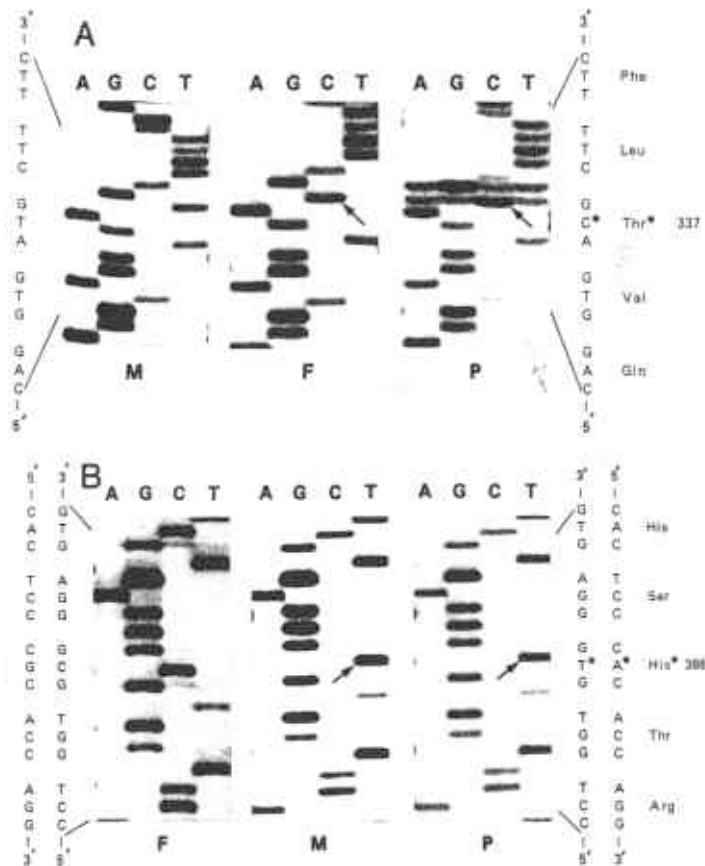


図 2 プロトロンビン Himi の遺伝子解析  
P; 発端者, F; 父, M; 母, →; 塩基置換部位

(変異 I) に, Arg<sup>388</sup> (CGC) が His (CAC) (変異 II) に置換していることが推測された. 両親の解析結果より変異 I は父由来, 変異 II は母由来であり, 患者は 2 種類の異常プロトロンビンを有する二重ヘテロ接合体であると考えられた. 活性低下を認めた妹も 2 種類の同変異を有しており, 一方活性が正常であった妹には両変異は認めなかった. Met<sup>337</sup> と Arg<sup>388</sup> はともに Fbg をフィブリンに変換する際に重要な残基であると予測され, 特に Arg<sup>388</sup> は Fbg とトロンボモジュリン両者との結合部位であることが明らかになっており<sup>14)</sup>, 本症例が臨床的にまったく出血症状を示さなかった点と考えあわせると, 誠に興味深いといえる.

#### 4. 治療

ホモ接合体で出血に対して迅速な治療が必要な場合や, 手術前に予防投与する場合に, 補充療法を行う. プロトロンビンは血漿中半減期が 72 時間と比較的長く, 血漿プロトロンビン活性は 20~30%程度で止血レベルに入るため, 本症の補充療法には新鮮凍結血漿 (15~20 ml/kg) を用いるのが安価で安全である<sup>17)</sup>. また, 第 IX 因子複合体製剤はプロトロンビンを含んでいるため, 20~30 U/kg を出血の程度に応じてくり返し投与する場合もある<sup>17)</sup>. しかし, 第 IX 因子複合体製剤は血栓症を合併する危険性があるので, 注意が必要である.

#### 文 献

- Shapiro SS, Martinez J, Holburn RR: Congenital dysprothrombinemia: an inherited structural disorder of human prothrombin. *J Clin Invest* **48**: 2251-2259, 1969.
- Miyata T, Morita T, Inomoto T, Kawauchi S, Shirakami A, Iwanaga S: Prothrombin Tokushima, a replacement of arginine-418 by tryptophan that impairs the fibrinogen clotting activity of derived thrombin Tokushima. *Biochemistry* **26**: 1117-1122, 1987.
- Miyata T, Zheng YZ, Kato A, Kato H: A point mutation (Arg 271 → Cys) of a homozygote for dysfunctional prothrombin, prothrombin Obihiro, which has a region of high sequence variability. *Br J Hematol* **90**: 688-692, 1995.
- Morishita E, Saito M, Kumabashiri I, Asakura H, Matsuda T, Yamaguchi K: Prothrombin Himi: A compound heterozygote for two dysfunctional prothrombin molecules (Met-337 → Thr and Arg-388 → His). *Blood* **80**: 2275-2280, 1992.
- Robiet MJ, Furie BC, Furie B: Molecular defect of prothrombin Barcelona: Substitution of cysteine for arginine at residue 273. *J Biol Chem* **261**: 15045-15048, 1986.
- James HL, Kim DJ, Zheng D-Q, Girolami A: Prothrombin Padua I. Incomplete activation due to an amino acid substitution at a factor Xa cleavage site. *Blood Coag Fibrinol* **5**: 841-844, 1994.
- Girolami A, Scarano L, Saggiorato G, Girolami B, Bertomoro A, Marchiori A: Congenital deficiencies and abnormalities of prothrombin. *Blood Coag Fibrinol* **9**: 557-569, 1998.
- Shapiro SS, Furadera MJ, McCord S: Prothrombin San Juan: A complex new dysprothrombinemia. *J Clin Invest* **53**: 73a, 1974.
- O'Marcaigh AS, Nichols WL, Hassinger NL, Mullins JD, Mallouh AA, Gilchrist GS, Owen WG: Genetic analysis and functional characterization of prothrombins Corpus Christi (Arg382-Cys), Dhahran (Arg271-His), and hypoprothrombinemia. *Blood* **88**: 2611-2618, 1996.
- Sun WY, Burkart MC, Holahan JR, Degen SJF: Prothrombin San Antonio: a single amino acid substitution at a factor Xa activation site (Arg320 to His) results in dysprothrombinemia. *Blood* **95**: 711-714, 2000.
- Herinksen RA, Mann KG: Identification of the primary structural defect in the dysthrombin Thrombin Quick I: Substitution of cysteine for arginine-382. *Biochemistry* **27**: 9160-9165, 1988.
- Herinksen RA, Mann KG: Substitution of valine for glycine-558 in the congenital dysthrombin Thrombin Quick II alters primary substrate specificity. *Biochemistry* **28**: 2078-2082, 1989.
- Henriksen RA, Dunham CK, Miller LD, Casey II JT, Menke JB, Knupp GL, Usala SJ: Prothrombin Greenville, Arg<sup>517</sup> → Cln, identified in an individual heterozygous for dysprothrombinemia. *Blood* **91**: 2026-2031, 1998.
- Tsiang m, Lentz SR, Dittman WA, Wen D, Scarpati EM, Sadler JE: Equilibrium binding of thrombin to recombinant human thrombomodulin: effect of hirudin, fibrinogen, factor Va and peptide analogues. *Biochemistry* **29**: 10602-10612, 1990.
- Tamary H, Surrey S, Augustine J, Shalmon L, Schwartz E, Rappaport EF: Molecular analysis of a compound heterozygote for hypoprothrombinemia and dysprothrombinemia (-G 7284/7249 and Arg340 Trp). *Blood Coag Fibrinol* **8**: 337-343, 1997.
- Akhavan S, Mannucci PM, Lak M, Mancuso G, Mazzucconi MG, Rocino A, Jenkins PV, Perkins SJ: Identification and three-dimensional structural analysis of nine novel mutations in patients with prothrombin deficiency. *Thromb Haemost* **84**: 989-997, 2000.
- Peyvandi F, Mannucci PM: Rare coagulation disorders. *Thromb Haemost* **82**: 1207-1214, 1999.