

学 位 論 文 の 要 旨

三 重 大 学

所 属	三重大学大学院医学系研究科 甲 生命医科学専攻 病態解明医学講座 臨床検査医学分野	氏 名	池 尻 誠
<p>主論文の題名</p> <p>Frequent association of thrombophilia in cerebral venous sinus thrombosis</p> <p>主論文の要旨</p> <p>【目的】</p> <p>米国では毎年約 170,000 症例の静脈血栓塞栓症（VTE）患者が治療を受けている。脳静脈洞血栓症（CVST）は VTE の一種であり、年間発症率が成人 200 万人当たり 3.4 例、新生児 100 万人当たり 7 例と稀な疾患である。疫学調査の報告は少なく、正確な発症率は分かっていない。CVST のリスクファクターは、腫瘍、感染症、外傷、経口避妊薬使用、妊娠/周産期ならびに血栓性素因などである。主な後天性の血栓性素因は抗リン脂質抗体であり、先天性の血栓性素因にはアンチトロンビン（AT）、プロテイン C（PC）、プロテイン S（PS）の異常症と、第 V 因子 Leiden やプロトロンビン 20210G>A 変異があるが、日本人には第 V 因子 Leiden やプロトロンビン 20210G>A 変異は報告されていない。</p> <p>本研究では、CVST を発症した 12 症例で血栓性素因の有無について検討を行った。</p> <p>【対象・方法】</p> <p>対象は 2003 年 1 月 1 日から 2011 年 2 月 28 日の間に CVST と診断された 12 症例である。血栓症を発症する誘因としては、症例 1 は妊娠、症例 3 は重篤な炎症、症例 5 は鉄欠乏性貧血、症例 6 は経口避妊薬の服用が認められた。症例 1 と 11 は脳静脈洞以外の部位にも血栓が認められた。</p> <p>PS と PC 活性は、それぞれ STA-Staclot-Protein S kit ならびに STA-Staclot-Protein C kit（Diagnostica Stago）を用いた凝固時間法で測定した。遊離型 PS 抗原濃度は、Asserachrom free PS kit（Diagnostica Stago）を用いた ELISA 法で測定した。PC 抗原濃度は、LPIA-ACE PC（三菱化学メディエンス）を用いたラテックス凝集反応で測定した。AT 活性は、Chromorate ATIII（C）kit（三菱化学メディエンス）を用いた合成基質法で測定した。DRVVT は、LA test（Gradipore）を用いて測定した。β2GP I 抗体は、ELISA kit（Yamasa）を用いて測定した。遺伝子組み換え PS の一過性または安定発現細胞株での PS 発現レベルの定量は、自家製の ELISA と ProS Reagent（Instrumentation Laboratory）を用いた凝固時間法で測定した。</p> <p>【結果】</p> <p>12 症例中、AT 活性低下は 3 症例、PC 活性あるいは抗原低下は 5 症例、PS 活性あるいは抗原</p>			

の低下は7症例でみられた。AT、PC、PSの低下がみられなかった症例の1つにはDRVVTとB2GP I抗体が陽性であり、抗リン脂質抗体症候群（APS）と診断された。血栓性素因の遺伝子解析を行った結果、AT遺伝子変異が1症例、PC遺伝子変異が1症例、PS遺伝子変異が2症例みられた。これらのPS遺伝子変異の1例は、新規遺伝子変異（Gly189Ala）とPS徳島変異（Lys196Glu）の複合ヘテロ接合体変異であった。この新規変異は100人の健康人ボランティアにはみられなかった。野生型と変異型をCOS7細胞に一過性に発現させた系において、培養液中に分泌されたPS濃度は野生型と変異型間に有意差は認められなかった。しかし、BHK細胞で野生型と変異型を安定発現させた系では、培養液のAPCコファクター活性は、野生型に比べ変異型で $33.9 \pm 5.8\%$ と有意に低下していた。

遺伝子変異がなくてもAT、PC、PSが低下していた症例は、多臓器不全やワルファリンの服用などが見られた。遺伝子変異のない症例はCVSTの治療後、AT、PC、PSは改善された。

【考察】

CVST発症原因における、AT、PC、PSの欠乏ならびにAPSなどの血栓性素因の比率は、約9%と報告されている。また、各因子のCVST発症リスクのオッズ比はAT欠乏で7.06、PC欠乏で8.76、PS欠乏で3.20ならびにAPSで6.95と報告されている。本研究は少数例の検討であるが、先天性の血栓性素因は約33.3%（4/12）の症例にみられ、CVSTにおける先天性血栓性素因の頻度は、以前の報告より高い可能性が示唆される。この原因としては、CVSTの大規模な調査では遺伝子解析は行われていないことが考えられる。

遺伝子解析の結果、AT遺伝子変異1例、PC遺伝子変異1例、PS遺伝子変異2例がみられた。これらの中、未報告のPS遺伝子変異（Gly189Ala）とPS徳島変異（Lys196Glu）を複合ヘテロ接合体でもつ症例があった。PS-Gly189Ala変異がPS欠乏の原因となり得るかを調べるため、細胞発現実験を行った。変異型はPS分泌量が野生型と差がなく、APCコファクター活性が約30%まで低下しており、タイプIIのPS異常症と推測される。また、PS徳島変異（Lys196Glu）は日本人の約2%にみられる遺伝子変異であり、タイプIIのPS欠乏症である。この2種類の遺伝子変異を有するため、PS活性が著明に減少し、CVSTの発症に至ったと推測される。

AT、PCならびにPSは低下していたが、遺伝子変異がみられなかった症例は、これらの低下は多臓器不全や経口避妊薬の影響と考えられる。あるいは、血栓症を発症した結果、二次的にAT、PCならびにPSが低下した可能性もある。CVSTを含む様々な血栓症において、AT、PCならびにPSの二次的減少機構についての検討が必要である。

多くの脳梗塞は動脈血栓に起因すると考えられ、アスピリンのような抗血小板薬で治療されている。一方、CVSTはワルファリン治療が推奨されている。このため、動脈硬化性脳血栓とCVSTの鑑別は重要である。また、CVSTはDVTほど手術後の長期臥床の影響を受けないので、血栓性素因が発症の原因となる頻度は、DVTよりCVSTの方が高い可能性がある。

以上、CVSTの原因としての血栓性素因の検索は重要であると考えられる。