

学位授与番号	医博乙第1256号
学位授与年月日	平成6年1月19日
氏名	森下英理子
学位論文題目	トロンビン活性発現に重要なアミノ酸残基の検討 —異常プロトロンビンの生化学、分子生物学的検討を用いて—

論文審査委員	主査	教授	松田	保
	副査	教授	橋本	琢磨
		教授	竹田	亮祐

内容の要旨および審査の結果の要旨

トロンビンは、血液凝固系において中心的な役割を果たすセリンプロテアーゼであり、プロトロンビンはその前駆体である。トロンビン分子上のフィブリノゲンやトロンボモジュリンなどの種々の基質との結合部位に関する詳細は不明な点が多く、トロンビン活性の発現機序は十分に解明されていない。本研究では、異常プロトロンビンを有する臨床例を用いて、その異常分子の機能および構造を検討することにより、トロンビン活性発現に重要なアミノ酸残基について検討した。対象は先天性プロトロンビン異常症の一家系であり、発端者血漿より異常プロトロンビンを精製しその酵素学的性質を検討し、さらに発端者およびその家族の染色体DNAより α -トロンビン領域の遺伝子構造を解析し異常部位を同定した。研究成果は以下のごとく要約される。

- (1) 発端者の精製異常プロトロンビンを活性化して得られた α -トロンビンのフィブリノゲン凝固活性は、正常に比べて低下していた。一方、合成ペプチド基質に対する水解能は正常と同じであった。以上から、本症例の異常プロトロンビンはフィブリノゲンをフィブリンへ変換する能力が低下していると考えられ、 α -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。
- (2) 患者染色体DNAを用いて α -トロンビン領域の塩基配列を決定したところ、発端者は2種類の異なる異常プロトロンビンを有する二重ヘテロ接合体であり、一つは337番目のメチオニンのスレオニンへの置換(変異Ⅰ)、もう一つは388番目のアルギニンのヒスチジンへの置換(変異Ⅱ)が認められた。両親の染色体DNA解析の結果、変異Ⅰは父由来、変異Ⅱは母由来であることが明らかとなった。

以上の研究結果から、トロンビン分子上のMet-337とArg-388は、フィブリノゲンをフィブリンに変換する際に重要なアミノ酸残基であることが示された。また、Arg-388はトロンボモジュリンと結合し凝固阻止活性の発現に重要であるとの実験結果があるが、この残基の異常を持つ本症例が、異常プロトロンビン血症でありながら出血症状を認めなかったことは、その実験結果を臨床的に裏付けている可能性が考えられた。

以上、本研究はトロンビンの活性発現に重要なアミノ酸残基について、生化学的および分子生物学的検討を用いて明らかにしたものであり、血液凝固学に新しい知見をもたらした価値ある労作と評価された。