

## 論文内容の要旨

氏名	橋本 直樹
Screening of the protein C pathway abnormality-related thrombophilia by using thrombomodulin-mediated tissue factor-triggered clot waveform analysis  (和訳) 組織因子惹起-トロンボモジュリン添加凝固波形解析を用いたプロテイン C 経路異常を伴う血栓性素因のスクリーニング法	

### 論文内容の要旨

血液凝固・抗凝固反応において、プロテインC (PC) 経路は、トロンビン/トロンボモジュリン (Th/TM) 複合体によって活性化されたPC (APC) が、補酵素であるプロテインS (PS) と共に活性化凝固第V因子 (FVa) と第VIII因子 (FVIIIa) を不活化する、一連の抗凝固反応過程の総称である。絶対的または相対的なPC経路異常 (PC欠乏症、PS欠乏症、抗リン脂質抗体症候群 (APS)、FV分子異常症、高濃度FVIII) は代表的な血栓性素因であり、PC経路異常をスクリーニング可能な検査法の開発は重要であるが、既存の検査法は凝固過程における凝固時間のみしか評価できないこと、高コストで専門的な技術を必要とすること、などの問題があった。

凝固波形解析 (CWA) は、プロトロンビン時間 (PT) など日常的な凝固検査の実施中に、血漿の透過度変化をモニタリングし、凝固の全過程を凝固波形として自動的に描出し解析する方法である。またサンプル血漿に遺伝子組換えTM (rTM) を添加すると、Th/rTM複合体に活性化されたAPCを介して凝固反応が抑制されるが、PC経路に異常がある血漿では凝固反応が抑制されない。私達はCWAにこの原理を利用し、凝固波形の一次微分のピーク値をrTM添加前後で比較することで、PC経路異常を評価可能な新たな検査法の確立を試みた。

希釈PT法の原理を参考に遺伝子組換え組織因子 (rTF)、合成リン脂質、CaCl<sub>2</sub>濃度を最適化した、rTF惹起-rTM添加CWAにおいて、健常血漿 (n=35) におけるピーク値の比 (rTM添加後÷rTM添加前) は $0.36 \pm 0.13$  (平均値±1SD) であった。従って、ピーク比のカットオフ値 (CO値) を0.49に設定した。PC欠乏、PS欠乏、高FVIII (300 IU/dL)、およびAPS血漿におけるピーク比はすべてCO値より高かった (それぞれ0.79、0.97、0.50、0.93)。PCまたはPS (PC/PS) 欠乏血漿と正常血漿を混合した血漿 (PC/PS濃度: 25、50、75、100%) におけるピーク比は、PC/PS濃度依存的に減少し (0.85/0.69、0.64/0.53、0.44/0.40、0.28/0.25)、PC/PS濃度≤50%でCO値を超えた。FV欠乏血漿におけるピーク比はFV 25%でCO値よりも高かった。PC経路異常を呈する変異FVであるrFV-R506Q (FV<sub>Leiden</sub>) またはrFV-W1920R (FV<sub>Nara</sub>) を40IU/dLで添加したFV欠乏血漿は、0.9を超えるピーク比を示した。

rTF惹起-rTM添加CWAは、PC経路異常を伴う血栓性素因のスクリーニング法として有用であることが示唆された。