◆症 例◆

家族性 histidine-rich glycoprotein 増加症の一家系

重 清 俊 雄*¹ 友 成 章*¹ 宇 野 由 佳*¹
 東 博 之*¹ 春 藤 玲 子*¹ 斎 藤 史 郎*¹
 金 子 文 仁*² 佐 藤 浩 一*² 上 田 伸*²

Familial Elevation of Plasma Histidine-Rich Glycoprotein
 in a Japanese Family

Toshio SHIGEKIYO*¹, Akira TOMONARI*¹, Yuka UNO*¹,
 Hiroyuki AZUMA*¹, Reiko SHUNTO*¹, Shiro SAITO*¹,
 Humihito KANEKO*², Koichi SATOH*² and Shin UEDA*²

Key words: histidine-rich glycoprotein, thrombosis, plasminogen activator inhibitor-1

A Japanese family with familial elevation of plasma histidine-rich glycoprotein (HRG) is described. The proband was a 41-year-old man, who complained of left hemiparesis and dysarthria. He was made a diagnosis of pontine and cerebellar infarctions by brain CT, brain MRI and cerebral angiography. His parents were not consanguineous, and none of his relatives suffered from thrombosis. His plasma HRG antigen measured by Laurell's method was 190% (normal range: 58~161%). No other hemostatic abnormalities were found. Family studies revealed the elevation of plasma HRG antigen in 10 family members. None of them had rheumatic heart disease or Behcet's disease, in which elevation of plasma HRG antigen was reported. These data suggest that familial elevation of plasma HRG was inherited in this family.

はじめに

Histidine-rich glycoprotein (HRG) は、1972 年 Heimburger ら¹⁾によって初めて分離、精製された分子量 68,000 の一本鎖の糖蛋白質であり、血漿、巨核球、血小板中に存在する。HRG は *in vitro* ではヘパリン結合能、フィブ

リノゲン (フィブリン) やトロンボスポンジンなどとの相互作用、活性化血小板への結合能、種々の二価金属イオンやヘムへの結合能、赤血球と Tリンパ球間の自己ロゼット形成阻害、Tリンパ球への結合能、ヘパリンの血管平滑筋細胞増殖阻害作用の中和能などの多岐にわたる性質を有する多機能タンパク質の一つと考えられ

*¹ 徳島大学医学部第一内科, *²同脳神経外科 [〒 770 徳島市蔵本町 2 丁目 50], *¹First Department of Internal Medicine and *²Department of Neurological Surgery, School of Medicine, The University of Tokushima, Kuramoto-2, Tokushima 770, Japan.

ている²⁾。HRG 欠乏症や HRG 異常症がまだ発見されておらず、HRG の *in vivo* における意義は不明であるが、家族性 HRG 増加症患者の血栓形成傾向は HRG が *in vivo* で血液凝固線溶系の調節因子として機能していることを強く示唆すると考えられている。

家族性 HRG 増加症は、1987 年 Engesser ら³⁾によって初めて1家系が報告され、以後、ヨーロッパで3家系⁴⁾⁵⁾⁶⁾の報告がある。最近、我々も本症の1家系を経験したので報告する。

症 例

発端者: H.O., 41 歳, 男性, 徳島県出身。

主 訴: 左片麻痺, 構音障害。

家族歴: 両親に近親婚なく, 家系員に血栓症なし。

既往歴: 特記すべきことなし。

現病歴: 生来健康であったが, 平成2年3月27日, めまい, 嘔吐, 構音障害が出現し, 近医に入院。3月29日には左片麻痺と意識障害も出現した。ヘパリンとウロキナーゼの投与を受け, 徐々にめまい, 嘔吐, 意識障害は改善したが, 頭部 CT, 頭部 MRI, 脳血管撮影などによって, 両側椎骨動脈の狭窄及び閉塞による橋・小脑梗塞と診断され, 同年6月27日, 血行再建術の目的で当院に転院した。

現 症: 身長 172 cm, 体重 62 kg, 血圧 130/80 mmHg, 脈拍 72/分, 体温 36.2°C。眼瞼結膜に貧血なく, 眼球結膜に黄疸を認めない。心音純, 呼吸音清。肝脾触知せず。下腿浮腫はない。

神経学的所見: 意識清明。構音障害があり, 左側上下肢の不全麻痺がみられ, 左側四肢腱反射が亢進するが, 病的反射も知覚障害もない。左側にジスメトリアがある。

一般検査成績: 検尿, 赤沈は正常。末梢血液ではヘモグロビン 15.3 g/dl, 赤血球 498 万/ μ l, 白血球 4,800/ μ l, 血小板 21 万/ μ l と正常。血液化学的検査では総コレステロール 194 mg/dl, トリグリセライド 162 mg/dl, 空腹時血糖 99 mg/dl と正常。血清学的検査では抗核抗体, 梅毒血清反応, 抗カルジオライピン抗体は陰性。尿のアミノ酸分析ではホモシスチンは検出

されなかった。また, 心電図, 胸部 X 線像, 心エコー図には異常を認めなかった。

頭部 CT: 右橋と右小脳に低吸収域が認められた。

頭部 MRI: T1 強調像で右橋と右小脳に低信号域が認められ, T2 強調像で同部位に高信号域が認められた。

脳血管撮影: 椎骨動脈撮影 (Fig. 1) では左椎骨動脈は頭蓋に入る部位 (V3) で閉塞し, それより中枢側から分枝した後下小脳動脈が小脳両側後面を灌流していた。右椎骨動脈は第1頸椎 (C1) のレベルで閉塞し, その近位で分枝した硬膜枝と下方で分枝した前脊髄動脈の両者から脳底動脈が造影されていた。頸動脈撮影では両側とも後交通動脈から後大脳動脈が造影されていて, 一部で脳底動脈が造影されていたが, 内頸動脈系には閉塞, 狭窄などを認めなかった。

実験材料と方法

静脈血を 3.8% クエン酸ナトリウム液と 9:1 の比率で混合し, 4°C, 3,000 rpm, 15 分間遠沈して, 乏血小板血漿を分離し, -80°C で保存した。正常プール血漿は 20 人の健康男子の血漿を混和したもので, 本研究において測定した凝固線溶系の関連蛋白の活性と抗原を 100% 含むものと見なした。

出血時間, プロトロンビン時間, 活性化部分トロンボプラスチン時間, 血漿フィブリノゲン濃度, ユーグロブリン溶解時間は標準的な方法で測定した。FDP は LPIA-1 FDP-E (帝国臓器製薬) を用いたラテックス近赤外比濁法によって測定した。Antithrombin III (AT III) 活性, Plasminogen (PLG) 活性, α_2 -plasmin inhibitor (PI) 活性はそれぞれ Testzym ATIII-2 kit, Testzym PLG-2 kit, Testzym APL-2 kit (Kabi Vitrum) を用いて測定した。Protein C 活性は Staclo protein C (Diagnostica Stago) を用いて測定した。Protein S 活性は Suzuki らの方法⁷⁾で測定した。Plasminogen activator inhibitor (PAI)-1 活性は Berichrom PAI Test (Behringwerke AG) を用いて測定した。Lipoprotein (LP) (a) 抗原

Fig. 1 Vertebral angiogram (VAG) of the proband. Top: Occlusion of left vertebral artery at V3 level. Bottom: Occlusion of right vertebral artery at C1 level.

量は TintElize Lp (a) (Biopool AB) を用いて測定した。Lupus anticoagulant は Tissue thromboplastin inhibition test (TTIT)⁸⁾ と Kaolin clotting time (KCT)⁹⁾ で検出した。

HRG 抗原量は抗人 HRG 血清 (Behringwerke AG) を用いて Laurell 法¹⁰⁾ で測定した。その正常範囲は健康成人 47 人の平均値 ± 2 SD とした。HRG の交差免疫電気泳動は一次

Table 1 Hemostatic tests in the proband

Parameter	Proband	Normal range or control
Bleeding time (m)	1.5	1.0-3.0
Prothrombin time (s)	14.7	14.0-16.5
APTT (s)	43.6	33-55
Fibrinogen (mg/dl)	332	130-270
FDP (ng/ml)	58	<100
Euglobulin lysis time (h)	5	4-10
ATIII activity (%)	88	80-130
Plasminogen activity (%)	107	80-110
Protein C activity (%)	135	80-112
Protein S activity (%)	123	68-94
HRG antigen (%)	190	58-161
α_2 -PI activity (%)	80	88-112
PAI-1 activity (U/ml)	0.4	0-3.5
Lp (a) antigen (mg/l)	190	0-559
KCT (s)	44.4	115.2
TTIT (s)	52.8	82.2

Abbreviations: HRG=histidine-rich glycoprotein; Lp (a)=Lipoprotein (a); KCT=kaolin clotting time; TTIT=tissue thromboplastin inhibition test.

元の泳動をヘパリン 20 U/ml 含有アガロースとヘパリン非含有アガロースで実施した。

結 果

発端者の出血凝固検査 (Table 1): 出血時間, プロトロンビン時間, 活性化部分トロンボプラスチン時間, 血漿フィブリノゲン濃度, 血清 FDP 濃度, ユーグロブリン溶解時間は正常であった。ATIII 活性, PLG 活性, Protein C 活性, Protein S 活性も正常であったが, 血漿 HRG 抗原量は正常範囲 58~161% に対し 190% と高値であった。 α_2 -PI 活性, PAI-1 活性, Lp (a) 抗原量は正常であった。Lupus anticoagulant の存在は KCT と TTIT の結果から否定的であった。

発端者の血漿 HRG の交差免疫電気泳動: 一次元目の泳動をヘパリン非含有アガロースで実施した時も, ヘパリン含有アガロースで実施した時も発端者の血漿 HRG の易動度は正常対照と差がなかった。

家系員の血漿 HRG 抗原量の測定 (Fig. 2, Table 2): 家系員 22 人の血漿 HRG 抗原量を測定したが, 3 世代 10 人の血漿 HRG 抗原量が高値 (168-192%) であった。

家系員の血漿 PAI-1 活性の測定 (Fig. 2,

Table 2): 家系員 18 人の血漿 PAI-1 活性を測定したが, 1 人 (III-6) で軽度の上昇がみられた。

考 察

本家系の発端者 (男性) は, 41 歳時に橋・小脳梗塞に罹患し, 血液凝固学的検査で ATIII 活性, PLG 活性, Protein C 活性および Protein S 活性は正常であったが, 血漿 HRG が正常範囲 58-161% に対し 190% と増加していた。家系員の検索では, 3 世代 10 人の血漿 HRG が 168-192% に増加していたが, 彼らは後天的に血漿 HRG が増加する各種心疾患¹¹⁾, ベーチェット病¹²⁾ などには罹患していなかった。したがって, 本家系における HRG 増加症は遺伝性であると考えられた。なお, 発端者を含む本症の家系員 11 人の血漿 PAI-1 活性は正常であった。

先天性 ATIII 欠乏症が 1965 年に Egeberg¹³⁾ によって発見された後, 先天性血栓性素因として血液凝固線溶系の異常が注目され, 最近では ATIII 以外に Protein C, Protein S などの欠乏症あるいは異常症も先天性血栓性素因であると考えられている¹⁴⁾。そして, 家族性 HRG 増加症に関しても, 先天性血栓性素因である可能

Fig. 2 Pedigree of family O. The arrow indicates the proband. ■=Elevation of plasma histidine-rich glycoprotein (HRG) and positive clinical history of thrombosis; ■○=Elevation of plasma HRG, no history of thrombosis; □○=normal plasma HRG and no history of thrombosis; ▢/○=deceased; □○=not investigated.

Table 2 Plasma concentrations of histidine-rich glycoprotein (HRG) and plasma plasminogen activator inhibitor (PAI)-1 activities in the family members

Subject	Age(yr)	Sex	HRG(%)	PAI-1 (U/ml)
I-2	81	F	180	0.2
II-1	60	F	188	2.2
II-2	59	F	121	1.2
II-3	57	M	168	
II-6	54	F	190	3.3
II-7	46	M	170	1.7
II-8	44	M	176	1.8
II-9	41	M	192	0.4
II-10	37	F	89	2.2
III-4	38	F	144	0.8
III-5	36	M	108	2.6
III-6	34	M	148	4.3
III-8	32	F	112	2.9
III-10	23	F	176	0.9
III-11	27	M	192	3.1
III-12	25	F	172	0.9
III-15	14	F	172	
III-16	11	F	100	
III-18	14	F	102	0.9
III-19	12	F	97	0.2
III-20	10	F	150	
IV-1	8	F	128	2.7
IV-2	6	F	82	1.1

性が示唆されている¹⁴⁾。しかし、本症では発端者以外の家系員の血栓症を発症する頻度は比較的低い。たとえば、Engesser らが最初に報告

した家系³⁾では、発端者が53歳の男性で、深部静脈血栓症、肺梗塞、心筋梗塞に罹患し、血漿 HRG が179%に増加しており、家系員の検索でも2世代5人に血漿 HRG の増加が証明されている。しかし、発端者以外の家系員は誰も血栓症に罹患していなかった。Hoffman らの家系⁴⁾では、発端者は64歳の女性で、狭心症に罹患し、血漿 HRG が270%に増加し、PAI活性の上昇も認められた。発端者以外の家系員8人に血漿 HRG の増加を認めたが、やはり誰も血栓症に罹患していない。Schved らの家系⁵⁾では、家系員6人に血漿 HRG の増加が認められ、そのうちの4人が血栓症に罹患していた。この4人には血漿 PAI-1の増加も認められた。Falcon らの家系⁶⁾では、発端者は41歳の女性で、22歳時から再発性の血栓症に罹患しており、血漿 HRG が220%に、血漿 PAI-1が52 ng/mlに増加していた。発端者の母と2人の兄弟に血漿 HRG の増加を認めたが、血栓症の罹患はなかった。我々の家系でも、発端者以外の家系員に血栓症は認められなかった。以上5家系の家系員をまとめてみると、HRG が正常の家系員41人では血栓症に罹患したものはいなかったが、HRG 増加症の家系員34人では7人が血栓症に罹患していた。この7人中5人は血漿 PAI-1の増加を合併していた。血漿

PAI-1 の増加は静脈血栓症の重要な病因の一つであり¹⁵⁾, 血漿 PAI-1 の増加は HRG 増加症における血栓症のリスクを高めると思われる. 血漿 PAI-1 の増加が認められなかった HRG 増加症の家系員は 27 人あったが, そのうち 2 人が比較的高齢で血栓症に罹患した. したがって, HRG 増加症と血漿 PAI-1 の増加との関連性は今後の問題であるが, HRG 増加症だけで血栓症の原因になるか否かは明らかでなく, その因果関係の決定には Kaplan-Meier 法¹⁶⁾などによる分析が必要である.

家族性 HRG 増加症における血漿 HRG 増加の機序は現在のところ不明である. Engesser ら³⁾¹⁷⁾は患者 HRG のヘパリン結合能と PLG 結合能が正常であったことから, HRG 蛋白の合成を調整する遺伝子の異常に起因する HRG の過剰産生を推測している. 一方, Hoffman ら⁴⁾は彼らの家系における HRG のヘパリン結合能の異常を報告し, それと HRG 増加との関連性を推定しているが, 詳細は不明である. 我々の家系の HRG のヘパリン結合能は交差免疫電気泳動の成績から正常と思われたが, その他の機能に関する検討がさらに必要であることはいうまでもない. また, 最近, HRG の cDNA が分離され構造が決定されたので¹⁸⁾, 遺伝子工学的手法を用いた検討も必要と思われる.

謝辞: 本家系の発端者の Protein S 活性を測定していただいた三重大学医学部分子病態学講座鈴木宏治教授に深謝します.

文 献

- 1) Heimbürger N, Haupt H, Kranz T and Baudner S: Human serum proteins with a high affinity for carboxymethylcellulose. II: Physicochemical and immunological characterization of a histidine-rich 3.8S α_2 glycoprotein (CM protein I). *Hoppe-Seyler' Z Physico Chem* **53**: 1133~1140, 1972.
- 2) 小出武比古: ヒスチジンリッチグリコプロテイン—構造, 機能と臨床—. *血液と脈管* **20**: 285~296, 1989.
- 3) Engesser L, Kluft C, Briet E and Brommer EJP: Familial elevation of plasma histidine-rich glycoprotein in a family with thrombophilia. *Br J Haematol* **67**: 355~358, 1978.
- 4) Hoffman J, Kluft C and Hennis B: Hereditary elevation of plasma histidine-rich glycoprotein with abnormal heparin binding (HRG Eindhoven). *Tromb Haemostas* **65**: 883, 1991.
- 5) Schved J, Gris J, Martinez P, Sarlat C, Sanchez N and Arnaud A: Familial thrombophilia associated with familial elevation of plasma histidine rich glycoprotein and type I plasminogen activator inhibitor. *Tromb Haemostas* **65**: 1044, 1991.
- 6) Falkon L, Gari M, Montserrat I, Muniz E, Borrell M and Foontcuberta J: Familial elevation of plasma histidine-rich glycoprotein associated with high PAI 1 levels, in a case of recurrent venous thrombosis. *Tromb Haemostas* **65**: 1262, 1991.
- 7) Suzuki K and Nishioka J: Plasma protein S activity measured using Protac, a snake derived activator of protein C. *Thromb Res* **49**: 241~251, 1988.
- 8) Schleider MA, Nachman RL, Jaffe EA and Coleman M: A clinical study of the lupus anticoagulant. *Blood* **48**: 499~509, 1976.
- 9) Exner T, Rickard KA and Kronenberg H: A sensitive test demonstrating lupus anticoagulant and its behavioural patterns. *Br J Haematol* **40**: 143~151, 1978.
- 10) Laurell CB: Quantitative estimation of proteins by electrophoresis in agarose gel containing antibodies. *Analyt Biochem* **15**: 45~52, 1966.
- 11) Morgan WT, Koskelo P, Koeing H and Conway TP: Human histidine-rich glycoprotein. II. Serum levels in adults, pregnant women and neonates (40265). *Pro Soc Exp Biol Med* **158**: 647~651, 1978.
- 12) Castel M, Horellou MH, Conard J and Samama M: Immunochemical determination of histidine rich glycoprotein in healthy subjects and in a clinical population. "Progress in Fibrinolysis" ed. by Davidson JF, Bachmann F, Bouvier CA and Kruithof EKO, Vol. 6, 1983, p 370~373, Churchill Livingstone, London.

- 13) Egeberg O: Inherited antithrombin deficiency causing thrombophilia. *Thromb Diath Haemorrh* **13**: 516~530, 1965.
 - 14) 高松純樹, 利見和夫, 松下 正, 浜口元洋: 先天性血栓傾向. *medicina* **26**: 2358~2360, 1989.
 - 15) Nilsson IM, Ljungner H and Tengborn L: Two different mechanisms in patients with venous thrombosis and defective fibrinolysis: Low concentration of plasminogen activator or increased concentration of plasminogen inhibitor. *Br Med J* **290**: 1453~1456, 1985.
 - 16) Kaplan EL and Meier P: Nonparametric estimation from incomplete observations. *J Am Stat Assoc* **53**: 457~481, 1966.
 - 17) Engesser L, Kluft C, Juhan-Vague I, Briet E and Brommer EJP: Plasma histidine-rich glycoprotein and thrombophilia. *Fibrinolysis* **2**: supp. 2, 43~46, 1988.
 - 18) Koide T, Foster D, Yoshitake S. and Davie EW: Amino acid sequence of human histidine-rich glycoprotein derived from the nucleotide sequence of its cDNA. *Biochemistry* **25**: 2220~2225, 1986.
-