

乳児期におけるプロテインSの推移

国立奈良病院小児科医長 三 上 貞 昭

目 的

筆者は乳児期におけるビタミンK (VK) 依存因子の推移としてこれまでにプロトロンビン, 第VII, IX, X因子およびプロテインC (PC)を観察してきた。近年新にVK依存因子としてPC補酵素であるプロテインS (PS)が注目されるに至ったが, 新生児期, 乳児期における動態はほとんど知られていない。本報告では乳児期におけるPSの推移を抗原および活性の両面から検索した。

方 法

PSは血中では遊離型 (free type) およびC₄b結合蛋白 (C₄bp) との結合型 (C₄bp-S) で存在し, PC補酵素を示すのは前者である。このため測定は全PS量のほかfree typeをも観察する必要がある。以下に以下の測定法を確立した。

1. 全PS抗原量 (ELISA) : 抗ヒトPSマウス血清を一次抗体として固相化し, 種々希釈検体血漿を反応させ, 抗ヒトPS家兎血清を二次抗体とした。次いでペルオキシダーゼ標識抗家兎IgGを反応させた (図1)。測定値は純化PSによる検量線より算出し, 成人の抗原量を100%とした。

2. C₄bp結合PS抗原量 (ELISA) : 全PS抗原量測定と同じ手法によったが, 二次抗体は抗ヒトC₄bp家兎血清を用いた (図1)。検量線は純化C₄bp-Sを用いて描き, 結合PS量はC₄bp, PSの分子量より算出した。

3. free PS抗原量 : 全PS量よりC₄bp結合PS量を減じて求めた。

4. PS活性 : Kamiyaらの方法に準拠した。人工PS欠乏血漿に検体血漿を混和し, アクチンにより賦活化し, プロタックにて活性化した純化PCを混和後, CaCl₂添加による凝固時間の延長度を測定した (図2)。

成 績

1. 乳児期の全PS抗原量の推移 : VK投与の既往のない乳児 (n=20) の全PS抗原量の推移は成人を100%とした場合1ヶ月児で38.6±12.4% (平均±SD), 3ヶ月児で49.9±15.9%を示し, 以後12ヶ月児で70.7±6.0%であった。この推移は他のVK依存因子 (プロトロンビン, 第VII, IX, X因子, PC) で観察された推移と同一傾向であった (図3)。

2. 乳児期のC₄bp結合PS抗原量の推移 : 正常成人では全PSのうちC₄bpとの結合部分は50~60%である (表1)。全PS量の低下している乳児期においてもこの比は概ね不変であり, 成人のC₄bp結合PS抗原量を100%とした場合の推移は1ヶ月児から12ヶ月児まで全PS抗原量の推移と同様であった (図3)。

3. 乳児期のfree PS量の推移 : PS活性を有するfree PS抗原量は全PS抗原量よりC₄bp結合PS量を減じたものであるが, 乳児期 (1ヶ月~12ヶ月児) における推移は全PS抗原量, C₄bp結合PS抗原量と同様経過を示した (図3)。

4. 乳児期のPS活性の推移 : 1ヶ月児から12ヶ月児におけるPS活性の推移は全PS量, free PS量と平行し, 1ヶ月児で低く以後漸増した (図3)。

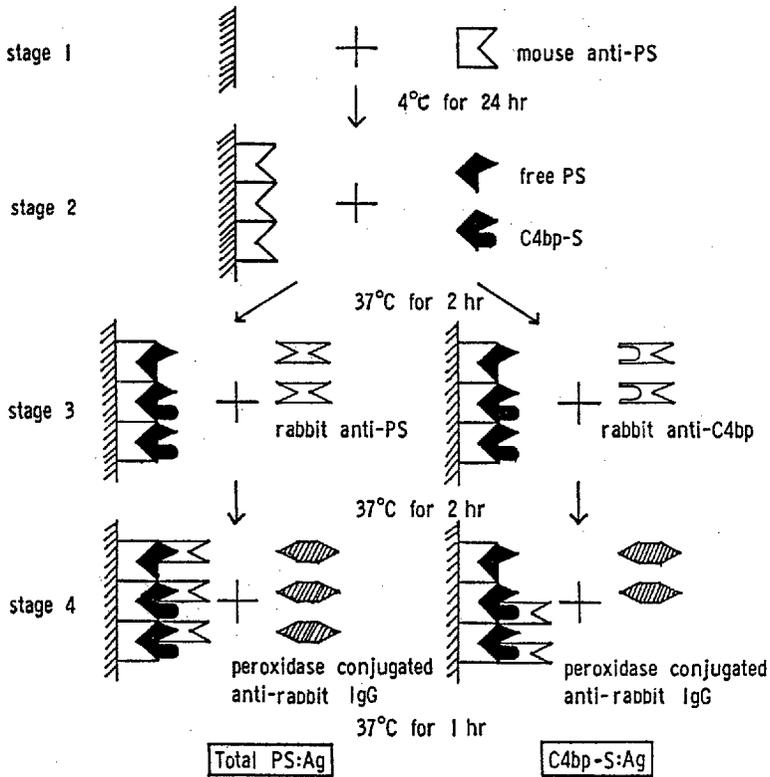
5. 乳児特発性VK欠乏症のPS量 : 頭蓋内出血をきたした2症例のPS量は全PS抗原量, C₄bp結合PS抗原量, free PS量, PS活性ともに測定限界以下を示した (表1)。

考 察

PSはVK依存凝固因子群およびPC同様Gla残基を有する蛋白であるがserine proteaseではない。生物学的作用はPCの補酵素であり, 欠乏症では

第V, VIII因子の凝固活性亢進のため血栓, 硬塞を惹起する。乳児期におけるPSの推移は他のVK依存凝固因子およびPC同様1ヶ月では低値で以後漸増傾向を示しているが, C4bp結合部分とfree

PS部分の比は成人のそれと変わらなかった。このためPS活性も全PS量と平行して低下していた。新生児期では更に低下していることが予想され今後の検索に待つところが大きい。



Schematic model of ELISA for total PS:Ag and C4bp-S:Ag

図 1.

Measurement of Protein S Activity (Method of Kamiya et al.)

protein S depleted plasma 125 μ l
 test plasma 25 μ l
 ↓ incubated for 1 min at 37°C
 Actin (Dade) 100 μ l
 activated protein C (50 μ g/ml) 10 μ l
 ↓ incubated for 1 min at 37°C
 CaCl₂ (50 mM) 50 μ l
 ↓ clotting time was measured at 37°C

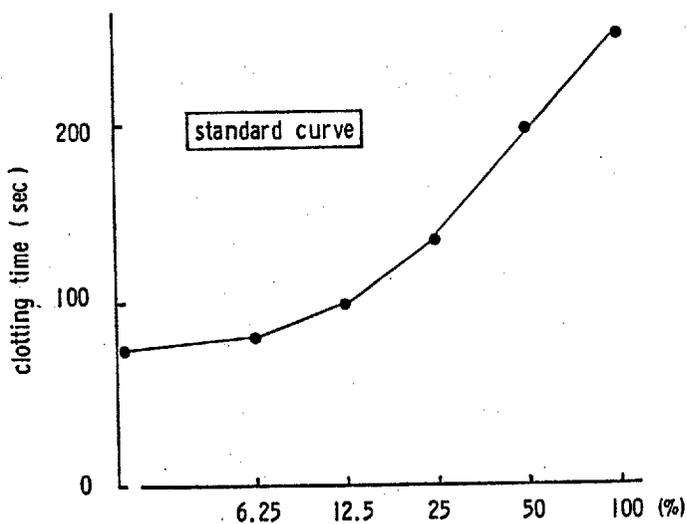


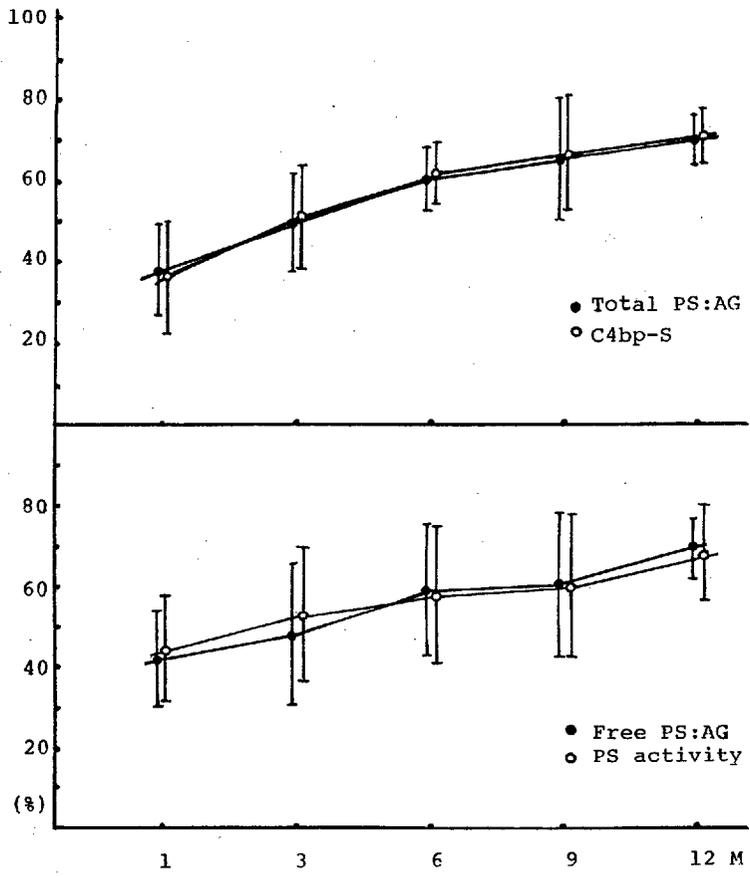
图 2.

表 1.

Total PS:Ag, C4bp-S:Ag, free PS:Ag and PS activity in healthy adults and in infants with idiopathic vitamin K deficiency

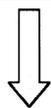
	healthy adults (n = 20)	infants with idiopathic vitamin K deficiency (n = 2)
total PS:Ag	26.4 ± 5.4 μ g/ml	< 0.2 μ g/ml
C4bp-S:Ag	13.5 ± 5.3 μ g/ml	—
free PS:Ag (*)	12.9 ± 4.4 μ g/ml	—
PS: activity	100 ± 35 %	< 6%

mean ± 2SD
 (*) free PS:Ag = total PS:Ag - C4bp-S:Ag

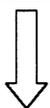


CHANGE OF PROTEIN S LEVELS IN INFANCY

⊠ 3.



検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用
論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



目的

筆者は乳児期におけるビタミン K(VK)依存因子の推移としてこれまでにプロトロンビン, 第 IX, X 因子およびプロティン C(PC)を観察してきた。近年新に VK 依存因子として PC 補酵素であるプロティン S(PS)が注目されるに至ったが, 新生児期, 乳児期における動態はほとんど知られていない。本報告では乳児期における PS の推移を抗原および活性の両面から検索した。