平成 18 年度日本血栓止血学会 学術奨励賞

ADAMTS13 の欠損は血栓性血小板減少性紫斑病発症の 十分条件か？：モデルマウスからの知見

坂 野 史 明*

Is ADAMTS13 deficiency a sufficient condition for the onset of
thrombotic thrombocytopenic purpura?: Insights from mouse models

Fumiaki BANNO*

Key words: ADAMTS13, von Willebrand Factor (VWF), Thrombotic Thrombocytopenic Purpura (TTP),
Adams13-knockout Mice

はじめに

ADAMTS13 はフォンビルブランド因子 (VWF) を特異的に切断する血漿プロテアーゼである¹⁻⁴⁾。VWF は血小板膜上の受容体および細胞外基質タンパク質との結合部位を有し、血管障害部位への血小板の粘着および凝集に重要な役割を担う。主に血管内皮細胞で合成される VWF は、モノマーがジスルフィド結合で多数連なったホモマルチマーとして血中へ分泌される。分子量が大きいほど、強い血小板凝集活性を示し⁵⁾⁶⁾、特に 20,000 kDa を超える超高分子量 VWF (UL-VWF) マルチマーは、高ずり応力下で過度の血小板凝集を引き起こす。ADAMTS13 は UL-VWF マルチマーの断片化を介して血小板血栓形成を抑制しており、本酵素活性の欠乏は血栓性血小板減少性紫斑病 (TTP) 発症の原因となる (図 1)⁷⁻⁹⁾。我々は、ADAMTS13 研究におけるモデル動物として、*Adams13* ノックアウトマウスを作製した¹⁰⁾。本稿では、我々がマウスを用いて得た知見をふまえて ADAMTS13 の機能と TTP 発症との関

連について概説する。

ADAMTS13 と TTP

TTP は細小血管内での血小板血栓形成を基盤として血小板減少、溶血性貧血を呈する重篤な疾患である。血栓による血管閉塞が臓器障害を引き起こし、腎機能障害、動揺性神経症状、発熱をしばしば併発する。先天性 (家族性) に発症する場合と後天性に起こる場合がある。発症機序は長らく不明であったが、近年、患者血漿中に UL-VWF マルチマーが検出されること¹¹⁾、患者血漿中では VWF 切断酵素活性が著減していること⁷⁾⁸⁾が示され、「VWF 切断酵素活性の欠乏→UL-VWF マルチマーの残存→血小板の過剰凝集→TTP」という発症機序が提唱されるようになった。2001 年、VWF 切断酵素として ADAMTS13 が単離され¹⁻³⁾、cDNA がクローニングされた³⁾⁴⁾。また同年、先天性 TTP 患者家系の遺伝子連鎖解析により、責任遺伝子として *ADAMTS13* が特定された⁹⁾。現在、先天性 TTP (Upshaw-Schulman 症候群) は *ADAMTS13* 遺

*国立循環器病センター研究所 [〒565-8565 吹田市藤白台 5-7-1]

National Cardiovascular Center Research Institute [5-7-1 Fujishirodai, Suita 565-8565, Japan]

Tel: 06-6833-5012 Fax: 06-6835-1176 e-mail: banno@ri.ncvc.go.jp

図1 ADAMTS13 と血小板血栓形成

血中に分泌された UL-VWF マルチマーは、ADAMTS13 により断片化される。ADAMTS13 活性が欠乏し、UL-VWF マルチマーが残存すると、細小血管内で血小板が過剰凝集し、TTP 発症へつながる。

伝子異常によって起こると考えられており、事実これまで解析された患者のほぼすべてに原因変異が同定されている。また、後天性 TTP のうち、特発性あるいは妊娠、薬剤投与（チクロピジン）に伴い発症する場合は、ほとんどの患者で自己抗体による ADAMTS13 活性著減が認められ、これが原因となって発症すると考えられている。

ADAMTS13 の構造

ADAMTS13 は ADAMTS (a disintegrin-like and metalloprotease with thrombospondin type 1 motif) ファミリーに属する亜鉛型メタロプロテアーゼである。ヒト ADAMTS13 は 1,427 アミノ酸残基からなり、複数のドメインから構成されている（図 2A）。ADAMTS13 遺伝子は染色体 9q34 上にあり、29 エキソンからなる。主に肝臓の星細胞で発現しているが^{12) 13)}、血小板や内皮細胞での発現も認められている^{14) 15)}。生理的基質として同定されているのは VWF のみ

で、切断部位は VWF の A2 ドメインに存在する Tyr¹⁶⁰⁵-Met¹⁶⁰⁶ 間のペプチド結合である¹⁶⁾。

ADAMTS13 が VWF 切断活性を発揮するには、触媒ドメインからスパーサードメインまでが必須であり^{17) 18)}、スパーサードメインは VWF 内のエキソサイトへの結合ドメインであると報告されている¹⁹⁾。一方、スパーサードメインより C 末端側のトロンボスポンジン 1 型 (Tsp1) ドメインと CUB ドメインは、*in vitro* での VWF 切断活性に必須でない^{17) 18) 20)}。しかし、CUB ドメイン欠失により VWF 親和性が低下する²¹⁾、組換え体 CUB ドメインまたは CUB 配列由来のペプチドによって VWF 切断が阻害される²²⁾ など、CUB ドメインが VWF との相互作用に重要であることを示唆する報告もある。また、血管内皮細胞のような極性のある細胞系では、ADAMTS13 の基底膜側ではなく頂端 (apical) 側への局在化に CUB ドメインが重要となるとの報告もある²³⁾。*in vivo* において、各ドメインがいかなる役割を担っているのか解明が待たれる。

図2 ADAMTS13の構造

(A) ヒト ADAMTS13 (B) マウス ADAMTS13 C57BL/6 系統マウスなどでは, *Adamts13* 遺伝子の第23イントロンにレトロトランスポゾン配列が挿入されており (矢印), C末端領域を欠失した ADAMTS13S が発現している. S: シグナルペプチド, P: プロペプチド, Dis: ディスインテグリン様ドメイン, T1-T8: トロンボスポンジン1型モチーフ, Cys: システインリッチドメイン, Sp: スペースドメイン.

2種類のマウス ADAMTS13

ノックアウトマウス樹立に先立ち, 我々はマウス *Adamts13* をクローニングし, 系統特異的に2種類の ADAMTS13 が発現していることを見出した²⁴⁾.

まず, C57BL/6 系統の *Adamts13* cDNA をクローニングしたところ, 予想に反して, ヒト cDNA に比べて短い, 24個のエキソンからなる配列が得られた (GenBank accession number AB071302). コードされる ADAMTS13S は, 1,037 残基であり, C末端の Tsp1 ドメイン2個と CUB ドメイン2個を欠失していた (図2B). そこで, 公共データベース上の C57BL/6 ゲノム配列を詳細に調べた結果, この系統の *Adamts13* 遺伝子には, 第23エキソンの下流にレトロトランスポゾン的一种 Intracisternal

A-particle 配列が存在することがわかった. この配列の挿入により, インフレイムの停止コードンとポリ A 付加シグナルを含む偽第24エキソンが生じていると考えられた.

他の近交系マウスのゲノムを PCR 解析すると, BALB/c, C3H/He, DBA/2 系統の *Adamts13* 遺伝子にも同じ配列の挿入が見られたが, 129/Sv 系統には認められなかった. そこで, 129/Sv 系統の cDNA (GenBank accession number AB112362) およびゲノム配列 (GenBank accession number AB095445) を決定した結果, *Adamts13* 遺伝子はヒトと同様29個のエキソンからなり, ヒトと同一のドメイン構成をもつ1,426残基の ADAMTS13L をコードしていることが明らかとなった (図2B). RT-PCR およびノーザンブロット解析により, 約5 kb と約3.5 kb の mRNA がマウス系統特異的に主に肝臓で発現している

図3 マウス ADAMTS13 mRNA の発現

(A) マウスの肝臓より RNA を調製し、第 21/22 エキソンに特異的なセンスプライマー、第 24/25 エキソンに特異的なアンチセンスプライマー、偽第 24 エキソンに特異的なアンチセンスプライマーの 3 本のプライマーを用いて RT-PCR を行った。129/Sv では ADAMTS13L mRNA のバンド (540 bp) が、BALB/c, C3H/He, C57BL/6, DBA/2 では ADAMTS13S mRNA のバンド (370 bp) が認められた。非近交系の ICR は集団として両タイプのアレルを保有するため、個体によって異なるバンドが検出された。(B) *Adamts13* 特異的プロンプを用いて、マウス肝臓 RNA のノーザンブロットを行った。5.0 kb の ADAMTS13L mRNA と 3.5 kb の ADAMTS13S mRNA が系統特異的に発現していた。(C) SW 系統マウスの各組織における ADAMTS13 mRNA の発現をノーザンブロットで解析した。SW マウスは非近交系であり、両タイプの mRNA がいずれも肝臓特異的に発現していた。

ことが確認された (図 3)。また、両者を培養細胞で発現させた結果、共に細胞外へ分泌され、*in vitro* で同程度の VWF 切断活性を示すことが判明した (図 4)。

ADAMTS13 の C 末端領域を欠失させる変異が複数のマウス系統に広く存在したことが

ら、欠失した領域は *in vivo* で必要ないかもしれないと当初予想した。しかし、後述のように ADAMTS13 欠損マウスでさえも正常に出生、発育するため、C 末端領域の生理的役割は依然不明である。現在我々は、129/Sv 系統の遺伝的背景をもちつつ、且つ C 末端領域を欠失し

図4 マウス ADAMTS13 の分泌と活性

(A) マウス ADAMTS13L と ADAMTS13S を HeLa 細胞で発現させ、培養上清を抗マウス ADAMTS13 抗体を用いたウエスタンブロットで解析した。NC：非トランスフェクション細胞培養上清 (B) 同濃度のマウス ADAMTS13L と ADAMTS13S を段階希釈後、組換え基質 GST-mVWF73-H と反応させ、切断産物を抗 GST 抗体を用いたウエスタンブロットで検出した。マウス ADAMTS13L と ADAMTS13S はともに細胞外へと分泌され、同程度の基質切断活性を示した。

図5 *Adamts13* ノックアウトマウスの作製

(A) マウス *Adamts13* 遺伝子の第3～6エキソンをネオマイシン耐性遺伝子 (Neo) と置換するターゲティングベクターを用いて *Adamts13* ノックアウトマウスを作製した。DT-A：ジフテリア毒素Aサブユニット，H：HindIII，S：SalI，E：EcoRI，N：NcoI (B) ゲノムDNAをHindIIIで消化し、サザンブロットにより相同組換えマウスを判別した。野生型アレル：14.5 kb；欠損アレル：6.6 kb (C) 肝臓RNAのRT-PCRにより、*Adamts13*^{-/-}マウスでADAMTS13 mRNAの発現が消失したことを確認した。

たADAMTS13を発現するコンジェニックマウスを作製し、解析を進めている²⁵⁾。

Adamts13 ノックアウトマウス

我々は、ADAMTS13の触媒ドメインを欠損させるターゲティングベクターを構築し、*Adamts13*^{-/-}マウスを作製した(図5A, B)¹⁰⁾。表現型解析はADAMTS13Lを発現する129/Sv

系統の遺伝的背景のもとで行った。

肝臓RNAのRT-PCR解析の結果、*Adamts13*^{-/-}マウスにADAMTS13 mRNAの発現は認められなかった(図5C)。また、*in situ* ハイブリダイゼーション解析にて、野生型マウスでは肝臓星細胞にADAMTS13 mRNAのシグナルが認められたが、*Adamts13*^{-/-}マウスでは検出されなかった(図6)。血漿ADAMTS13活性も*Adamts13*^{-/-}マウスでは消失していた(図7)。

図6 マウス ADAMTS13 mRNA の *in situ* ハイブリダイゼーション
Adamts13 アンチセンス cRNA プロブを用いて、肝臓での ADAMTS13 mRNA の発現分布を観察した。*Adamts13*^{+/+} マウスでは星細胞での発現が検出された(矢印)が、*Adamts13*^{-/-} マウスでは発現は消失していた。

図7 血漿 ADAMTS13 活性
Adamts13^{+/+}, *Adamts13*^{+/-}, *Adamts13*^{-/-} マウスの血漿 ADAMTS13 活性を組換え基質 GST-mVWF73-H および合成基質 FRET-VWF73 を用いて測定した。*Adamts13*^{-/-} マウスの血漿には ADAMTS13 活性は検出されなかった。

図8 血漿 VWF マルチマー
 (A) *Adamts13*^{+/+}, *Adamts13*^{+/-}, *Adamts13*^{-/-} マウスの血漿を SDS-アガロース電気泳動に供し、抗 VWF 抗体を用いたウェスタンブロットで検出した。(B) ブロット上の各レーンのシグナル強度を画像解析プログラム (Image Gauge, Fujifilm) を用いてスキャンし、相対強度を図示した。*Adamts13*^{-/-} マウスの血漿には UL-VWF マルチマーが残存していた。

表1 血液学的パラメーター (平均値 ± 標準偏差, n = 7 - 18)

	<i>Adamts13</i> ^{+/+}	<i>Adamts13</i> ^{-/-}
血小板数 (× 10 ⁴ /μL)	51.2 ± 4.2	53.2 ± 6.2
赤血球数 (× 10 ⁴ /μL)	819 ± 41	797 ± 25
ヘモグロビン量 (g/dL)	12.9 ± 0.5	12.6 ± 0.4
ヘマトクリット値 (%)	42.6 ± 2.1	42.2 ± 0.8
ハプトグロビン量 (%)	100 ± 67	103 ± 69
VWF 量 (%)	100 ± 23	129 ± 31 [*]
第VIII因子活性 (%)	100 ± 10	146 ± 22 [#]
フィブリンノーゲン量 (%)	100 ± 5	98 ± 7
プロトロンビン時間 (s)	16.1 ± 0.8	16.0 ± 1.0
活性化部分 トロンボプラスチン時間 (s)	44.2 ± 3.7	43.3 ± 2.5
尾部切断面出血量 (μL)	12.5 ± 8.4	9.5 ± 3.1

* $P < 0.05$, # $P < 0.001$

図9 ずり応力下血小板血栓形成

Adamts13^{+/+} および *Adamts13*^{-/-} マウスより採取した血液を平行板型フローチャンバーに流し、固相化コラーゲン表面上での血栓形成を経時観察した (n = 5, 平均値 ± 標準誤差). *Adamts13*^{-/-} マウスでは、血小板血栓成長の亢進が認められた (* $P < 0.05$).

したがって期待したとおり, *Adamts13*^{-/-} マウスでは ADAMTS13 が完全に欠損していた.

血漿の VWF を解析したところ, *Adamts13*^{-/-} マウスの血中にのみ, UL-VWF マルチマーが検出された (図 8). したがって, ADAMTS13 の欠損はそれだけで UL-VWF マルチマー出現の原因となりうるということが証明された. しかし, *Adamts13*^{-/-} マウスは, 通常飼育下では正常に

出生, 発育し, 血小板数, 血漿ハプトグロビン等の血液学的パラメーター (表 1) や, 血液像, 組織像も正常で, 予想された TTP 症状 (血小板減少や溶血性貧血など) は見られなかった.

そこで, 平行板型フローチャンバーを用いて血液のずり応力下血小板血栓形成を観察した結果, *Adamts13*^{-/-} マウスでは血小板血栓形成能が亢進していることがわかった (図 9). また,

図 10 コラーゲン誘発血小板減少モデル

Adamts13^{+/+} および *Adamts13*^{-/-} マウスの尾静脈からコラーゲン溶液を投与し、15 分後の血小板数を測定した。未処理時の血小板数は群間で同等であったが (+/+, $83.7 \pm 3.3 \times 10^4/\mu\text{L}$ (n = 4); -/-, $86.2 \pm 3.3 \times 10^4/\mu\text{L}$ (n = 4); 平均値 $\pm$ 標準偏差), コラーゲン静注後の血小板数は -/- 群で有意に低値を示した (+/+, n = 11; -/-, n = 14; $P < 0.001$).

コラーゲン静脈投与による血栓誘発モデルを用いて, *in vivo* での血栓傾向を検討した結果, 血栓誘発による消費が原因と考えられる血小板減少が *Adamts13*^{-/-} マウスでより顕著に認められた (図 10). したがって, マウスにおいて ADAMTS13 欠損は潜在的な易血栓形成傾向をもたらすが, それだけでは TTP 発症に至らず, 何らかの付加的要因が発症に関与するらしい.

我々とは別に, 米国の Motto らも *Adamts13*^{-/-} マウスを作製しており, 通常飼育下で TTP 症状は見られないと報告している²⁶⁾. 彼らは, 内皮細胞を傷害する志賀毒素を *Adamts13*^{-/-} マウスに投与することで, TTP 様の症状が惹起されることを見出した. また, *Adamts13*^{-/-} マウスでは, 活性化内皮細胞上や内皮傷害部位での血栓形成が顕著に認められることが, 生体顕微鏡観察により示された²⁷⁾. つまり, ADAMTS13 欠損による VWF 機能亢進に内皮機能障害が重なることで, TTP となる可能性が考えられる.

おわりに

先天性 ADAMTS13 欠損症例の多くは, 新生児期から乳幼児期に TTP を発症するが, 晩発症例の存在も指摘されている²⁸⁾. 昨今, 患者の臨床症状や遺伝子解析のデータが蓄積されると共に, 成人発症例や未発症の成人例が複数見出されるようになった²⁹⁾⁻³²⁾. 同じ ADAMTS13 遺伝子変異を保有する兄妹例であっても, 発症時期や重症度は大きく異なることもわかっている^{29) 32) 33)}. また治療中, 依然として ADAMTS13 活性が欠乏し, 血中に UL-VWF マルチマーが検出されていながら, TTP 症状は消失する例も見られる^{7) 34)}. これらの知見は, ADAMTS13 の欠損やそれに伴う UL-VWF マルチマーの残存が, TTP 発症の重大な危険因子であるが十分条件では無いことを示唆している. *Adamts13* ノックアウトマウスが UL-VWF を保持しながら TTP を自然発症せず, コラーゲンや志賀毒素の投与によりはじめて血小板減少を呈したこともこの見解を支持する. 今後, TTP の発

症を修飾する要因の探索が必要と思われる。
Adamts13 ノックアウトマウスは、この要因の
 解明に有用と考えられる。

謝辞：本研究は、国立循環器病センター研
 究所の宮田敏行先生、小亀浩市先生の御指導
 の下に行ったものです。また、共同研究者とし
 て国立循環器病センター研究所の奥田智彦先生
 (現：京都大学)、本田繁則先生、国立循環器病
 センター輸血管理室の宮田茂樹先生、大阪大学
 大学院医学研究科の加藤恒先生、富山佳昭先生
 に御協力を賜りました。マウス *ADAMTS13* の
 クローニングには、化学及血清療法研究所の上
 仲一義先生、副島見事先生に共同研究者として
 御協力頂きました。この場を借りて、深く感謝
 するとともに厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) Fujikawa K, Suzuki H, McMullen B, Chung D: Purification of human von Willebrand factor-cleaving protease and its identification as a new member of the metalloproteinase family. *Blood* **98** : 1662-1666, 2001.
- 2) Gerritsen HE, Robles R, Lämmle B, Furlan M: Partial amino acid sequence of purified von Willebrand factor-cleaving protease. *Blood* **98** : 1654-1661, 2001.
- 3) Soejima K, Mimura N, Hirashima M, Maeda H, Hamamoto T, Nakagaki T, Nozaki C: A novel human metalloprotease synthesized in the liver and secreted into the blood: possibly, the von Willebrand factor-cleaving protease? *J Biochem (Tokyo)* **130** : 475-480, 2001.
- 4) Zheng X, Chung D, Takayama TK, Majerus EM, Sadler JE, Fujikawa K: Structure of von Willebrand factor-cleaving protease (ADAMTS13), a metalloprotease involved in thrombotic thrombocytopenic purpura. *J Biol Chem* **276** : 41059-41063, 2001.
- 5) Sporn LA, Marder VJ, Wagner DD: von Willebrand factor released from Weibel-Palade bodies binds more avidly to extracellular matrix than that secreted constitutively. *Blood* **69** : 1531-1534, 1987.
- 6) Federici AB, Bader R, Pagani S, Colibretti ML, De Marco L, Mannucci PM: Binding of von Willebrand factor to glycoproteins Ib and IIb/IIIa complex: affinity is related to multimeric size. *Br J Haematol* **73** : 93-99, 1989.
- 7) Furlan M, Robles R, Galbusera M, Remuzzi G, Kyrle PA, Brenner B, Krause M, Scharer I, Aumann V, Mittler U, Solenthaler M, Lämmle B: von Willebrand factor-cleaving protease in thrombotic thrombocytopenic purpura and the hemolytic-uremic syndrome. *N Engl J Med* **339** : 1578-1584, 1998.
- 8) Tsai HM, Lian EC: Antibodies to von Willebrand factor-cleaving protease in acute thrombotic thrombocytopenic purpura. *N Engl J Med* **339** : 1585-1594, 1998.
- 9) Levy GG, Nichols WC, Lian EC, Foroud T, McClintick JN, McGee BM, Yang AY, Siemieniak DR, Stark KR, Gruppo R, Sarode R, Shurin SB, Chandrasekaran V, Stabler SP, Sabio H, Bouhassira EE, Upshaw JD, Jr., Ginsburg D, Tsai HM: Mutations in a member of the ADAMTS gene family cause thrombotic thrombocytopenic purpura. *Nature* **413** : 488-494, 2001.
- 10) Banno F, Kokame K, Okuda T, Honda S, Miyata S, Kato H, Tomiyama Y, Miyata T: Complete deficiency in ADAMTS13 is prothrombotic, but it alone is not sufficient to cause thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood* **107** : 3161-3166, 2006.
- 11) Moake JL, Rudy CK, Troll JH, Weinstein MJ, Colanino NM, Azocar J, Seder RH, Hong SL, Deykin D: Unusually large plasma factor VIII: von Willebrand factor multimers in chronic relapsing thrombotic thrombocytopenic purpura. *N Engl J Med* **307** : 1432-1435, 1982.
- 12) Uemura M, Tatsumi K, Matsumoto M, Fujimoto M, Matsuyama T, Ishikawa M, Iwamoto TA, Mori T, Wanaka A, Fukui H, Fujimura Y: Localization of ADAMTS13 to the stellate cells of human liver. *Blood* **106** : 922-924, 2005.
- 13) Zhou W, Inada M, Lee TP, Bente D, Lyubsky S, Bouhassira EE, Gupta S, Tsai HM: ADAMTS13 is expressed in hepatic stellate cells. *Lab Invest* **85** : 780-788, 2005.
- 14) Suzuki M, Murata M, Matsubara Y, Uchida T, Ishihara H, Shibano T, Ashida S, Soejima K, Okada Y, Ikeda Y: Detection of von Willebrand factor-cleaving protease (ADAMTS-13) in human platelets. *Biochem Biophys Res Commun* **313** : 212-216, 2004.
- 15) Turner N, Nolasco L, Tao Z, Dong JF, Moake JL: Human endothelial cells synthesize and release ADAMTS-13. *J Thromb Haemost* **4** : 1396-1404, 2006.
- 16) Dent JA, Berkowitz SD, Ware J, Kasper CK, Ruggeri ZM: Identification of a cleavage site directing the immunochemical detection of molecular abnormalities in type IIA von Willebrand factor. *Proc Natl Acad Sci U S A* **87** : 6306-6310, 1990.
- 17) Soejima K, Matsumoto M, Kokame K, Yagi H, Ishizashi H, Maeda H, Nozaki C, Miyata T, Fujimura Y, Nakagaki T: ADAMTS-13 cysteine-rich/spacer domains are functionally essential for von Willebrand factor cleavage. *Blood* **102** : 3232-3237, 2003.
- 18) Zheng X, Nishio K, Majerus EM, Sadler JE: Cleavage of von Willebrand factor requires the spacer domain of the metalloprotease ADAMTS13. *J Biol Chem* **278** : 30136-30141, 2003.
- 19) Gao W, Anderson PJ, Majerus EM, Tuley EA, Sadler JE: Exosite interactions contribute to tension-induced cleavage of von Willebrand factor by the antithrombotic ADAMTS13 metalloprotease. *Proc Natl Acad Sci U S A* **103** : 19099-19104, 2006.
- 20) Tao Z, Wang Y, Choi H, Bernardo A, Nishio K, Sadler JE, López JA, Dong JF: Cleavage of ultralarge multimers of von Willebrand factor by C-terminal-truncated mutants of ADAMTS-13 under flow. *Blood* **106** : 141-143, 2005.
- 21) Majerus EM, Anderson PJ, Sadler JE: Binding of ADAMTS13 to von Willebrand factor. *J Biol Chem* **280** : 21773-21778, 2005.
- 22) Tao Z, Peng Y, Nolasco L, Cal S, Lopez-Otin C, Li R, Moake JL, López JA, Dong JF: Recombinant CUB-1 domain polypeptide inhibits the cleavage of ULVWF strings by ADAMTS13 under flow conditions. *Blood* **106** : 4139-4145, 2005.
- 23) Shang D, Zheng XW, Niiya M, Zheng XL: Apical sorting of ADAMTS13 in vascular endothelial cells and Madin-Darby

- canine kidney cells depends on the CUB domains and their association with lipid rafts. *Blood* **108** : 2207–2215, 2006.
- 24) Banno F, Kaminaka K, Soejima K, Kokame K, Miyata T: Identification of strain-specific variants of mouse Adamts13 gene encoding von Willebrand factor-cleaving protease. *J Biol Chem* **279** : 30896–30903, 2004.
- 25) 坂野史明, 小亀浩市, 宮田敏行: ADAMTS13 を C 末端ドメイン欠損型に置換したコンジェニックマウスの作製と解析. *日本血栓止血学会誌* **17** : 595, 2006.
- 26) Motto DG, Chauhan AK, Zhu G, Homeister J, Lamb CB, Desch KC, Zhang W, Tsai HM, Wagner DD, Ginsburg D: Shigatoxin triggers thrombotic thrombocytopenic purpura in genetically susceptible ADAMTS13-deficient mice. *J Clin Invest* **115** : 2752–2761, 2005.
- 27) Chauhan AK, Motto DG, Lamb CB, Bergmeier W, Dockal M, Plaimauer B, Scheiflinger F, Ginsburg D, Wagner DD: Systemic antithrombotic effects of ADAMTS13. *J Exp Med* **203** : 767–776, 2006.
- 28) Furlan M, Lämmle B: Aetiology and pathogenesis of thrombotic thrombocytopenic purpura and haemolytic uraemic syndrome: the role of von Willebrand factor-cleaving protease. *Best Pract Res Clin Haematol* **14** : 437–454, 2001.
- 29) Noris M, Bucchioni S, Galbusera M, Donadelli R, Bresin E, Castelletti F, Caprioli J, Brioschi S, Scheiflinger F, Remuzzi G: Complement factor H mutation in familial thrombotic thrombocytopenic purpura with ADAMTS13 deficiency and renal involvement. *J Am Soc Nephrol* **16** : 1177–1183, 2005.
- 30) 松本雅則, 松山友美, 石指宏通, 植村正人, 秋山暢, 富山順治, 名取一彦, 倉石安庸, 今村豊, 井上信正, 日笠聡, 清家雅子, 小塚輝彦, 原雅道, 小亀浩市, 宮田敏行, 藤村吉博: Upshaw-Schulman 症候群: 妊娠時の仮面を被った血小板減少症. *日本産婦人科・新生児血液学会誌* **15** : 30–40, 2006.
- 31) Tao Z, Anthony K, Peng Y, Choi H, Nolasco L, Rice L, Moake JL, Dong JF: Novel ADAMTS-13 mutations in an adult with delayed onset thrombotic thrombocytopenic purpura. *J Thromb Haemost* **4** : 1931–1935, 2006.
- 32) Donadelli R, Banterla F, Galbusera M, Capoferri C, Bucchioni S, Gastoldi S, Nosari S, Monteferrante G, Ruggeri ZM, Bresin E, Scheiflinger F, Rossi E, Martinez C, Coppo R, Remuzzi G, Noris M: In-vitro and in-vivo consequences of mutations in the von Willebrand factor cleaving protease ADAMTS13 in thrombotic thrombocytopenic purpura. *Thromb Haemost* **96** : 454–464, 2006.
- 33) Veyradier A, Lavergne JM, Ribba AS, Obert B, Loirat C, Meyer D, Girma JP: Ten candidate ADAMTS13 mutations in six French families with congenital thrombotic thrombocytopenic purpura (Upshaw-Schulman syndrome). *J Thromb Haemost* **2** : 424–429, 2004.
- 34) Studt JD, Hovinga JA, Radonic R, Gasparovic V, Ivanovic D, Merkler M, Wirthmueller U, Dahinden C, Furlan M, Lämmle B: Familial acquired thrombotic thrombocytopenic purpura: ADAMTS13 inhibitory autoantibodies in identical twins. *Blood* **103** : 4195–4197, 2004.