綜 説

プロテイン S と 血 栓 症

神 谷 忠*

Protein S and thromboembolism

Tadashi KAMIYA*

Key words: protein S, protein C, inherited deficiency
of protein S, recurrent thrombosis

は じ め に

血漿蛋白の研究の進歩により、反復する血栓症の原因が先天的な血漿蛋白の異常によると考えられる疾患がいくつか発見されてきた。

異常フィブリン血症¹⁻³⁾、プラスミノゲン異常症^{4,5)}、アンチトロンビンⅢの低下症⁶⁻⁸⁾と異常症などがあげられる。さらに最近ではビタミンK依存性蛋白であるプロテインCの先天性欠乏症で血栓症を合併する症例が100例以上報告¹³⁻¹⁶⁾されるに至っている。

プロテインSはプロテインCと同様にビタミンK依存性蛋白でプロテインCの補助因子としての機能が認められており、本因子の先天性欠乏もやはり血栓症の原因となり得ることが最近の報告例¹⁷⁻²²⁾から明らかにされている。本稿ではプロテインC、プロテインSの構造と機能について述べた後に血栓症を合併した先天性プロテインS欠乏症例について解説する。

I. プロテイン C, プロテイン S の構造と機能

プロテインCは1976年 Stenflo²³⁾により同定されたビタミンK依存性蛋白で、分子量62,000、2本鎖の糖蛋白でウシの場合血中に5mg/l存

在する。2本鎖のうちL鎖NH₂末端領域には約10個のγ-カルボキシルグルタミン酸(γ-Gla)が存在し、他のビタミンK依存性因子と同様にGla-domainを形成する。H鎖にはserine proteaseの活性部位を含み、ウシではNH₂末端から14、15番目のArg-Ileが、ヒトでは12、13番目のArg-Len結合がトロンビンで切断されて活性化する²⁴⁾²⁵⁾。

プロテインSはプロテインCと同様にビタミンK依存性蛋白で、1977年 DiScipioら²⁶⁾によりウシとヒトから分離され、発見された市(Seattle)のイニシアルをとってプロテインSと命名された。ヒト血漿中には10mg/l含まれ、分子量64,000(ウシ)と69,000(ヒト)の一本鎖の糖蛋白である³¹⁾。また、他のビタミンK依存性因子とその構造はよく似ており、NH₂末端に約10個のGlaを有している²⁶⁾²⁷⁾。プロテインSは血中では2つの形で存在し、1つはfreeのプロテインS(これが後述する活性化プロテインCの補助因子として働らく)であり、もう1つは補体系の制御因子である高分子C4b結合蛋白(C4bp)と非共有結合して存在する。このfreeとboundしているSの比率はほぼ1:1とされている。この2つのプロテインS

* 名古屋大学医学部第一内科〔〒466 名古屋市昭和区鶴舞町 65〕, The First Department of Internal Medicine, Nagoya University School of Medicine, Nagoya, Japan.

Table 1 Clinical manifestations of thrombotic disease in patients with protein S deficiency

Case	Sex	Age at onset	STP	DVT	PS	protein S activity	protein S antigen	reference
1	M	35		++	+	9	38	22
2	M	24		+		<5	39	
3	F	31	+	++		<5	58	
4	F	51		+		<5	86	
5	M	14		++	+	<5	13	17
6	M	15	+	+		<5	18	
7	M	24		++		23	108	20
8	F	22			+	34	118	
9	M	20		+	+	15	21	
10	M	15		++		19	31	
11	M	27		++		37	61	
12	M	19		++		24	36	
13	M	30		++	++		27*	18
14	F		+				52*	
15	M	27		++	+		17*	
16	F		+				65*	
17	M	55	+		+		51	21
18	M	27	+	+			43	
19	F	18	++		+		18*	
20	M	15		+			32*	
21	M	22	+	++	+		19*	
22	F	22	+	++			23*	
23	M	17	+	+	++		21*	

STP : superficial thrombophlebitis, DVT : deep venous thrombosis, PE : pulmonary embolism,

++ : recurrent thrombosis, * plasma samples from patients receiving oral anticoagulant.

下で特異的に失活させ、強力な抗凝固作用を示す。プロテインSはこの活性化プロテインCの補酵素として、特に Va の失活化反応を著しく促進させる⁴⁰⁻⁴²⁾。この辺の具体的な成績についてふれると、in vitro で Xa を用いて血漿の凝固時間を30秒になるように調整し、これに微量の活性化プロテインCを添加すると、この血漿凝固時間は2倍以上に延長する。この実験系で、血漿に抗プロテインS抗体を加えてプロテインS欠乏血漿の状態にし、これに活性化プロテインCを加えると抗凝固作用はみられない。しかし、この系に精製プロテインSを加えると活性化プロテインCの抗凝固作用があらわれる⁴⁰⁾。活性化プロテインCの抗凝固反応にはプロテインSが必要であることが理解される。なお、このプロテインSの働きには磷脂質と Ca^{2+} を

必要とする (図 2)。

活性化プロテインC (APC) の線溶系に関する機能については、in vitro で APC を加えて全血溶解時間をみると、溶解時間は短縮する⁴³⁾とされ、in vivo では、イヌに APC を静注すると血漿中のプラスミノゲンアクチベーター (PA) 活性は上昇し、線溶が亢進するという報告⁴⁴⁾があるが、リスザルの場合には APTT は延長するがトロンビン時間や PA 活性には変化がみられず線溶亢進はみられない⁴⁵⁾とされており、この点はまだはっきりしていない。最近の血管内皮培養細胞を用いた実験では、APC は組織プラスミノゲンアクチベーター (t-PA) のインヒビター (t-PA inhibitor) 活性を阻害し、血中の t-PA 活性上昇させ、線溶亢進をもたらすと報告されている⁴⁶⁾⁴⁷⁾。

以上述べたようにプロテインC、プロテインSは凝固、線溶系の制御因子として重要な役割をはたしており、臨床的にはこれらの先天性欠乏症で血栓をきたす症例の多いことが認められている。プロテインCと血栓症についてはいくつかの綜説があるので、本稿ではプロテインSと血栓症について概説する。

II. プロテインS欠乏症と血栓症

最近、血栓症を多発する家系でその原因が先天性プロテインS欠乏症によると考えられる症例が著者らの症例²²⁾を含めて10数家系報告されている¹⁷⁻²²⁾。これらの報告例をまとめてみると、先天性プロテインS欠乏症と診断された症例は43例（男26, 女17）で、このうち血栓症を発症したとされる症例は表1に示した23例である。プロテインS欠乏症の半数以上に血栓症を発症したことになる。欠乏症の中には小児例も含まれるので成人例のみについて考えればもう少しその頻度は高くなる。表1の23例は、症例1~4は自験例²²⁾、5~12はCompら^{17, 20)}、13~16はSchwarzら¹⁸⁾、17~23はBrockmansら²¹⁾の報告例である。これら血栓症を発症した症例について考察すると、まず、性別の血栓症の発生頻度では、男26例中16例（61.5%）、女17例中7例（41.2%）で、男で発生頻度が高い傾向がみられる。

特にBrockmansらの3家系では男7例中5例、女7例中2例で男に頻度が高いが、自験例では成人のみについてみると、男女とも4例中2例で差がみられない。結論的なことはさらに症例を積み重ねて検討する必要がある。

血栓の臨床所見については深部静脈血栓、特に下肢の静脈血栓をきたす症例が圧倒的に多く、23例中18例（78.3%）にみられる。この18例のうち11例は反復して血栓をきたしており、肺梗塞を合併する症例も10例と多い。これらの成績はプロテインS欠乏症による血栓の場合には抗凝固療法を継続して行う必要性を示唆するものといえよう。このようにプロテインS欠乏症に伴う血栓症の大部分は静脈性の血栓と考えられる。動脈性の血栓については、Schwarzらの症例13で心筋梗塞の合併が報告されている

が、最近Collerら⁴⁸⁾は重篤な動脈血栓をもつ白人男性（喫煙者）の症例を報告している。この症例は16歳時にオートバイ事故を契機に反復する静脈血栓と肺梗塞をきたすようになり、その後ワーファリン治療がコントロールされておらず、23歳では両下肢動脈閉塞で両下肢の切断を受け、27歳では血管造影で4本の腎動脈のうち3本の閉塞と大動脈にも血栓がおよぶという症例である。この症例のプロテインS活性は22%とされ、母と姉にもプロテインSの低下と静脈血栓が認められている。

血栓の初発年齢については、Compら¹⁷⁾の兄弟例（症例5, 6）では14歳、15歳で深部静脈血栓症、血栓性静脈炎をそれぞれ起こしており、その後2人とも深部静脈血栓を反復し、発端者の弟は15歳時に下肢静脈血栓からの肺梗塞をきたしている。これが報告例での最少年齢である。初発年齢の記載されている21例についてみると中央値は24歳（平均値25.2歳）であり、プロテインS欠乏症で血栓を起こす症例は20歳代半ばが多いものと推察される。

問題のプロテインSの測定値と血栓の関係について考察してみよう。プロテインSはすでに述べたようにfreeのプロテインSとC4b-binding protein (C4bp)と結合して存在するSとがあり、活性化プロテインCのcofactorとして抗凝固作用に参与するのは前者のfreeのプロテインSのみで、functional protein Sとも呼ばれている。

表1に示したプロテインSの活性値（症例1~12）は自験例、Compらのいずれもclotting assayにより、活性化プロテインCの抗凝固作用にcofactorとして働くプロテインSの能力（functional proteinの濃度）として測定されたものである。検量線は抗血清を用い人工的にプロテインS欠乏血漿を作り、この欠乏血漿で正常血漿を倍数稀釈したものを使用している。プロテインSの抗原量は症例1~16は抗血清を用いローレル法により、17~23はIRMA (immuno-radiometric assay)により測定された結果である。このローレル法、またはIRMAでの測定値はfreeのプロテインSとC4bpと複合体を形成しているSの両者を含めて測定しているこ

とになる。プロテインSの活性値と抗原量の正常値については、活性値は著者ら²²⁾の成績では $112 \pm 68\%$ ($M \pm 2SD$, $n=15$)、Compら²⁰⁾の成績では range で $63 \sim 168\%$ ($n=20$) であり、いずれも正常範囲が広い。抗原量の方は著者ら²²⁾で $100 \pm 34\%$ ($M \pm 2SD$, $n=21$)、Schwarzら¹⁸⁾で $97.5 \pm 36.5\%$ ($M \pm 2SD$, $n=30$) である。

症例1は自験例の発端者で活性値9%, 抗原量38%といずれも低値を示している。症例2~4は症例1の兄、姉、父方の叔母で活性値はいずれも測定限界の5%以下と著明な低値を示している。抗原量は兄と姉はそれぞれ39%, 58%と低下しているが、叔母は86%の正常値を示した(この点については次のCompらの症例でふれる)。症例5, 6はCompらの兄弟例で、活性値は測定限界の5%以下で、抗原量も13%, 18%と低値である。症例2~6のように functional assay による活性値が測定限界の5%以下の症例は、従来の遺伝学的な考え方からすれば、homozygote としてよいかも知れないが、活性値と抗原量の関係、何%以下を homozygote とするかなどがまだ明白でないので、著者ら²²⁾は便宜的に測定限界以下の症例を severe protein S deficiency とし、5%から正常値の下限(44%)までの症例を partial deficiency と区別した。さて、この兄弟例の両親の活性値、抗原量はそれぞれ父が15%, 71%, 母が30%, 49%で、いずれも partial deficiency と考えられるが、この両親には臨床的な血栓症状は全く認められていない。

症例7~12は、Compら²⁰⁾が120名の反復性の静脈血栓症の患者について検索し、このうち6名にプロテインC活性値の低下(15~37%)を認めたとして報告した症例で、これらの症例のプロテインC、プラスミノゲン、アンチトロンビンIIIなどはすべて正常である。この6名の家族歴で4家系に反復性静脈血栓症の既往患者が認められており、彼らはこれらの症例の血栓は partial protein S deficiency によるものと推論している。さらに、この6名のプロテインS抗原量のうち、症例7, 8の抗原量は、108, 118%と正常であり、活性値と抗原量が一致しない点について、彼らは症例6の患者血漿(抗

原量18%)と対照の正常血漿とをバリウム吸着し溶出したのちイオン交換クロマトグラフィーを行い検討した結果、正常血漿の場合にはプロテインSとして免疫学的(ローレル法)に検出されるピークが2つ存在し、最初のピークはC4bpと結合して complex を作っている分画で、2番目のピークはC4bpと結合していない free の分画であり、functional protein Sはこの free の分画に存在することを認めており、患者血漿の場合には最初のピークは存在するが、後のピーク、すなわち free のプロテインSに相当する分画は存在しないことを報告している¹⁷⁾。このことから、ローレル法で測定する抗原量はこの2つの分画を区別して測定することができないため、functional assay での活性値との間に解離が生ずるものと考えられる。しかし、症例4, 7, 8のように抗原量が全く正常でありながら活性値が低下している症例については、これを単に free のプロテインSとC4bpと complex を作っているSとの割合が異なるために生ずる結果なのか、あるいはプロテインSの蛋白異常症的な考えをするのかはさらに検討する必要がある。Compら²⁰⁾はプロテインS欠乏患者血漿に活性化プロテインC(APC)を加えてXaの one-stage clotting time を測定し、この場合には対照の正常血漿の場合に比べて凝固時間は延長せず、APCの抗凝固作用がみられないが、この測定系に精製プロテインSを加えるとAPCの抗凝固作用が現われることを観察し、症例7, 8(抗原量108, 118%)も、この測定系で他のプロテインS欠乏症と全く同様の成績を示すことから、この2症例の血漿中に存在し免疫学的に反応するプロテインSタンパクは添加した精製プロテインSの機能を阻害せず、一般的にいわれる蛋白異常症的な機能は示さないとしている。

以上述べた成績から、プロテインS欠乏症と血栓症との関係を論ずる場合にはAPCのco-factorとして機能するfreeのプロテインS、すなわち、functional assay で測定される活性値を重視する必要がある。

症例13~23はSchwarzら¹⁸⁾、Broekmans²¹⁾らの報告例で、いずれも免疫学的測定法による

Table 2 The concentrations of protein S in plasmas of family members

Pedigree position	Sex	Age	Protein S			Clinical history of Thrombosis
			antigenic level (%)	functional level (%)	functional level (%)	
			July 27	Dec 2	Dec 2	
II—2	M	69	48	49	<5	(—)
—4	F	56	—	86	<5	(+)
—5	F	49	—	44	<5	(—)
—8	F	64	115	107	29	(—)
—11	M	55	—	91	70	(—)
III—1	M	42	39	44	<5	(+)
—2	F	40	58	59	<5	(+)
—3*	M	38	38	36	9	(+)
—4	M	36	71	69	15	(—)
—6	M	30	110	101	ND	(—)
IV—1	F	17	88	74	ND	(—)
—2	F	15	37	44	11	(—)
—4	M	8	45	49	9	(—)
—5	M	10	—	44	<5	(—)
—6	F	8	67	74	54	(—)

mean $\pm$ 2SD of protein S antigen : $100 \pm 34\%$ mean $\pm$ 2SD of protein S functional activity : $112 \pm 68\%$

* Propositus

抗原量での検討成績である。彼らは、本欠乏症に伴う血栓症の場合には治療としてワーファリンによる抗凝固療法を行うことが多く、そのような場合にはプロテインSが低下するため、診断にあたっては他のビタミンK依存性因子を同時に測定し、プロテインSの測定値と比較するか、プロテインS欠乏患者以外の抗凝血薬療法中の患者での測定値と比較することを提唱している。例えば Schwarz ら¹⁸⁾の成績では、抗凝血薬を服用中の患者37例のプロテインS/プロトロンビン比は0.92~2.40であるが、プロテインS欠乏患者ではその比が0.46~0.76に低下しており、このような方法で診断することができる。また、Broekmans ら²¹⁾の成績では、抗凝血薬療法中で安定した時期の患者血漿でのプロテインS抗原量はrangeで0.33~0.74 u/ml (平均0.51 u/ml)であり、抗凝血薬服用中5名のプロテインS欠乏患者の抗原量は0.18~0.32 u/ml (0.23 ± 0.05 , $M \pm SD$)であるので、この方法でも診断可能といえる。ただし、これらは抗原量に関する成績であるので functional assayでの検討が必要である。

Fig. 3 Family with protein S deficiency. The proband is indicated by the arrow. The presence of consanguinity is shown by a solid line between II-2 and II-8. The history of clinical thrombosis is indicated by*.

III. プロテインS欠乏症の自験例

自験例の家系について検索した結果を表2、図3に示す。

発端者は37歳の男性で、両親がいとこ結婚である。患者は35歳までは特に異常もなく健康に過ごしたが、35歳の時右下肢の腫脹、疼痛をきたし近医に入院した。10日後には左下肢にも同様な症状が出現し、血管撮影で両側総大腿静脈血栓症と診断された。その後も両下肢の深部静脈血栓をくり返し、37歳時には交通事故後に左腋窩静脈血栓症と肺梗塞を起こしている。検査所見では血栓症と関係があるとされるプラスミノゲン、フィブリノゲン、アンチトロンビンⅢ、プロテインCはすべて正常で、プロテインSのみが活性値9%、抗原量38%と低下していることから先天性プロテインS欠乏症と診断された。家系についての検索では、両親のプロテインS活性値は父が測定限界の5%以下、母が29%でいずれもプロテインSの欠乏症と考えられるが、臨床的な血栓症の既往はない。その他では父方の叔母2名(Ⅱ-4、Ⅱ-5)、兄(Ⅲ-1)、姉(Ⅲ-2)、発端者の長男(Ⅳ-5)の活性値はいずれも5%以下で severe protein S deficiency と考えられた。また、弟(Ⅲ-4)、兄の次女(Ⅳ-2)、姉の長男(Ⅳ-4)の活性値は9~15%の低値であり partial deficiency と考えられた。したがって、活性値を測定した13名のうち11名がプロテインS欠乏症と診断された。また、この11名のうち8名が成人であり、8名中4名(発端者を除く3名は severe deficiency)に血栓症を認めた。遺伝形式については本症例を含めて autosomal dominant^{18,21)}と考えられている。

IV. 抗凝固療法

プロテインS欠乏症で血栓を伴う場合の治療としては抗凝固療法、なかでもワーファリンによる治療がよく行われている。たしかに現在までの報告例ではワーファリン投与中には血栓を反復することは極めて少ないとされている。また、先に述べたように、本欠乏症では血栓を反復する頻度が高く、肺梗塞を合併する症例も多いことを考えると抗凝固療法の重要性が示唆さ

Fig. 4 Disappearance rate of protein S, protein C, Factor VII and Factor X activities in 6 patients' plasma after the start of warfarin treatment. (○—○) indicate protein S activity, (●—●) protein C activity, (▲—▲) Factor VII activity and (△—△) Factor X activity, respectively. (D'Angelo, A. et al. Blood, 66: (supple 1) 349 a, 1985).

れる。

ヘテロ接合体のプロテインC欠乏患者にワーファリンを投与した場合、投与初期に皮膚壊死を起こす危険があることがいわれている。これは投与初期にプロテインCが急速に減少するためと考えられている。D'Angelo ら⁴⁹⁾はプロテインS欠乏患者の場合にもこのような現象が起こるか否かを知るため、6名の患者でワーファリン投与後のプロテインS、プロテインC、第Ⅶ、第Ⅹ因子の減少率を検討した(図4)。

図4に示すように、プロテインC活性値は第Ⅶ因子と同様に投与初期に著明に減少するが、プロテインS活性値は第Ⅹ因子とよく一致し、比較的ゆっくりとした減少曲線を描いている。この結果からみる限り、プロテインS欠乏症の場合には、ワーファリン投与初期の皮膚壊死の危険はプロテインC欠乏症の場合に比べれば少ないものと考えられる。

V. 後天性プロテインS欠乏症

Comp ら⁵⁰⁾は妊娠、ネフローゼ症候群、SLEの症例について、free のプロテインSと C4bp

と complex を形成している S の両者を区別して測定し、妊娠群では free のプロテイン S 活性値が $38 \pm 17.3\%$ で、対照の同年齢女子、非妊娠群の $97 \pm 31.6\%$ に比べて有意 ($p < 0.001$) に低下しており、ネフローゼ症候群でも C4bp と complex を作っている S は増加しているが、free の S は著減しているとし、SLE の場合も同様の傾向を示していることを観察し、これらの症例ではプロテイン S はいずれも free の状態から C4bp と complex を形成している状態へ shift しているものと考え、このような生理的、あるいは病的状態では血栓の準備状態にあるものと推論している。

彼らのグループ⁵¹⁾は肝疾患20例、DIC 20例についてもプロテイン S を区別して測定し、肝疾患や DIC ではプロテイン S はほとんど変動しないとしている。また、彼らは重篤な肝疾患患者 (アルブミン 3g/dl 以下、 γ -グロブリン 2.5g/dl 以上、トランスアミナーゼ上昇、プロトロンビン時間延長) でもプロテイン S は低下しないことから、プロテイン S の生合成は肝以外の場所で行われている可能性が強いとしている。そして、最近プロテイン S は血管内皮細胞で産生されるという成績が報告されている⁵²⁾⁵³⁾。

まとめ

以上、プロテイン C、プロテイン S の構造と機能、プロテイン S 欠乏症と血栓症について述べたが、血栓症を有する患者、特に反復する静脈血栓症では、フィブリノゲン、プラスミノゲン、アンチトロンビン III、プロテイン C に加えてプロテイン S の測定が必要であることを強調したい。

御校閲いただいた名古屋大学斎藤英彦教授、ならびに自験例の研究に御助力をいただいた三大重学検査医学鈴木宏治先生に深謝します。

文 献

- 1) Beck, E.A., Chararche, P. and Jackson, D. P.: A new inherited coagulation disorder caused by an abnormal fibrinogen ("fibrinogen Baltimore"). *Nature*, **208**; 143~145, 1965.
- 2) Al-Mondhiry, H.A.B., Bilezikian, S.B. and Nossel, H.L.: Fibrinogen "New York" - An

- abnormal fibrinogen associated with thromboembolism: Functional evaluation. *Blood*, **45**; 607~619, 1975.
- 3) Egeberg, O.: Inherited fibrinogen abnormality causing thrombophilia. *Thromb. Diath. Haemorrh.*, **17**; 176~187, 1967.
- 4) Aoki, N., Moroi, M., Sakata, Y., Yoshida, N. and Matsuda, M.: Abnormal plasminogen. A hereditary molecular abnormality found in a patient with recurrent thrombosis. *J. Clin. Invest.*, **61**; 1186~1195, 1978.
- 5) Sakata, Y. and Aoki, N.: Molecular abnormality of plasminogen. *J. Biol. Chem.*, **225**; 5442~5447, 1980.
- 6) Egeberg, O.: Inherited antithrombin deficiency causing thrombophilia. *Thromb. Diath. Haemorrh.*, **13**; 516~530, 1965.
- 7) Marciniak, E., Farley, C.H. and DeSimone, P.A.: Familial thrombosis due to antithrombin III deficiency. *Blood*, **43**; 219~231, 1974.
- 8) Matsuo, T., Ohki, Y., Kondo, S. and Matsuo, O.: Familial antithrombin III deficiency in a Japanese family. *Thromb. Res.*, **16**; 815~823, 1979.
- 9) Sas, C., Blasko, G., Banhegyi, D., Jako, J. and Palos, L.A.: Abnormal antithrombin III (Antithrombin III "Budapest") as a cause of a familial thrombophilia. *Thromb. Diath. Haemorrh.*, **32**; 105~115, 1974.
- 10) Sørensen, P.J., Dyerberg, J., Stoffersen, E. and Krough-Jensen, M.: Familial functional antithrombin III deficiency. *Scand. J. Haematol.*, **24**; 105~109, 1980.
- 11) Wolf, M., Boyer, C., Laverigne, M. and Larrieu, J.: A new familial variant of antithrombin III: 'Antithrombin III Paris'. *Brit. J. Haematol.*, **51**; 285~295, 1982.
- 12) Sakuragawa, N., Takahashi, K., Kondo, S. and Koide, T.: Antithrombin III "Toyama"; A hereditary abnormal antithrombin III of a patient with recurrent thrombophlebitis. *Thromb. Res.*, **31**; 305~317, 1983.
- 13) Griffin, J.H., Evatt, B., Zimmerman, T.S., Kleiss, A.J., and Wideman, C.: Deficiency of Protein C in congenital thrombotic disease. *J. Clin. Invest.*, **68**; 1370~1373, 1981.

- 14) Bertina, R.M., Broekmans, A.W., van der Linden, I.K. and Mertens, K.: Protein C deficiency in a Dutch family with thrombotic disease. *Thromb. Haemost.*, **48**; 1~5, 1982.
- 15) Broekmans, A.W., Veltkamp, J.J. and Bertina, R.M.: Congenital protein C deficiency and venous thrombo-embolism. A study in three Dutch families. *N. Engl. J. Med.*, **309**; 340~344, 1983.
- 16) Pabinger-Fasching, I., Bertina, R.M., Lechner, K., Niessner, H. and Korninger, Ch.: Protein C deficiency in two Austrian families. *Thromb. Haemostas.*, **50**; 810~813, 1983.
- 17) Comp, P.C., Nixon, R.R., Cooper, M.R. and Esmon, C.T.: Familial protein S deficiency is associated with recurrent thrombosis. *J. Clin. Invest.*, **74**; 2082~2088, 1984.
- 18) Schwarz, H.P., Fisher, M., Hopmeier, P., Batard, M.A. and Griffin, J.H.: Plasma protein S deficiency in familial thrombotic disease. *Blood*, **64**; 1297~1300, 1984.
- 19) Szatowski, N.S., Miller, C.M., Fndres-Brooks, J.L., Madden, R.M. and Marlar, R.A.: Clinical studies of human protein S and identification of a patient with protein S deficiency and thrombotic complications. *Circulation*, **70**; II~204, 1984. (Abstract)
- 20) Comp, P.C. and Esmon, C.T.: Recurrent venous thromboembolism in patients with a partial deficiency of protein S. *N. Engl. J. Med.*, **311**; 1525~1528, 1984.
- 21) Broekmans, A.W., Bertina, R.M., Reinalda-Poot, J., Engesser, L., Muller, H.P., Leeuw, J.A., Michiels, J.J., Brommer, J.P. and Briët, E.: Hereditary protein S deficiency and venous thromboembolism. A study in three Dutch families. *Thromb. Haemostas.*, **53**; 273~277, 1985.
- 22) Kamiya, T., Sugihara, T., Ogata, K., Saito, H., Suzuki, K., Nishioka, J., Hashimoto, S. and Yamagata, K.: Inherited deficiency of protein S in a Japanese family with recurrent venous thrombosis: A study of three generations. *Blood*, **67**; 406~410, 1986.
- 23) Stenflo, J.: A new vitamin-K dependent protein. Purification from bovine plasma and preliminary characterization. *J. Biol. Chem.*, **251**; 355~363, 1976.
- 24) Kisiel, W.: Human plasma protein C: Isolation, characterization and mechanism of activation by α -thrombin. *J. Clin. Invest.* **64**; 761~769, 1979.
- 25) Kisiel, W., Ericsson, L.H. and Davie, E.W.: Proteolytic activation of protein C from bovine plasma. *Biochem.*, **15**; 4893~4900, 1976.
- 26) DiScipio, R.G., Hermodson, M.A., Yates, S. G. and Davie, E.W.: A comparison of human prothrombin, factor IX (Christmas factor), factor X (Stuart factor), and protein S. *Biochem.*, **16**; 698~706, 1977.
- 27) Jackson, C.M. and Nemerson, Y.: Blood coagulation. *Annu. Rev. Biochem.*, **49**; 765~811, 1980.
- 28) Walker, F.J.: Protein S and the regulation of activated protein C. *Semin. Thromb. Haemostas.*, **10**; 131~138, 1984.
- 29) Dahlbäck, B.: Interaction between vitamin K-dependent protein S and the complement protein, C4b-binding protein. A link between coagulation and the complement system. *Semin. Thromb. Haemostas.*, **10**; 139~148, 1984.
- 30) Dahlbäck, B. and Stenflo, J.: High molecular weight complex in human plasma between vitamin K-dependent protein S and complement component C4b-binding protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **78**; 2512~2516, 1981.
- 31) Dahlbäck, B.: Purification of human vitamin K-dependent protein S and its limited proteolysis by thrombin. *Biochem. J.*, **209**; 837~846, 1983.
- 32) Nagasawa, S. and Stroud, R.M.: Purification and characterization of a macromolecular weight cofactor for C3b-inactivator, C4b-C3b-INa-cofactor, of human plasma. *Mol. Immunol.*, **17**; 1365~1372, 1980.
- 33) Porter, R.R. and Reid K.B.M.: Activation of the complement system by antibody-antigen complexes: The classical pathway. *Adv. Protein. Chem.*, **33**; 1~71, 1979.
- 34) Nelsestuen, G.L., Kisiel, W. and DiScipio,

- R.G.: Interaction of vitamin K-dependent protein with membranes. *Eiochemistry*, **17**; 2134~2138, 1978.
- 35) Fay, P.J., Chavin, S.I., Schroeder, D., Young, F.E. and Marder, V.J.: Purification and characterization of a highly purified human factor VIII consisting of a single type of polypeptide chain. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.A.*, **79**; 7200~7204, 1982.
 - 36) Kisiel, W., Canfield, W.M., Ericsson, L.H. and Davie, E.W.: Anticoagulant properties of bovine plasma protein C following activation by thrombin. *Biochem.*, **16**; 5824~5831, 1977.
 - 37) Marlar, R.A., Kleiss, A.J. and Griffin, J.G.: Mechanism of action of human activated protein C, a thrombin-dependent anticoagulant enzyme. *Blood*, **59**; 1067~1072, 1982.
 - 38) Vehar, G.A. and Davie, E.W.: Preparation and properties of bovine factor VIII (antihemophilic factor). *Biochem.*, **19**; 401~410, 1980.
 - 39) Walker, F.J., Sexton, P.W. and Esmon, C.T.: The inhibition of blood coagulation by activated protein C through the selective inactivation of activated factor V. *Biochem. Biophys. Acta.*, **571**; 333~342, 1979.
 - 40) Walker, F.J.: The regulation of activated protein C by a new protein: A possible function for bovine protein S. *J. Biol. Chem.*, **255**; 5521~5524, 1980.
 - 41) Walker, F.J.: Regulation of bovine activated protein C by protein S: The role of the co-factor protein in species specificity. *Thromb. Res.*, **22**; 321~327, 1981.
 - 42) Walker, F.J.: Regulation of activated protein C by protein S: The role of phospholipid in Factor Va inactivation. *J. Biol. Chem.*, **256**; 1128~1131, 1981.
 - 43) Zolton, R.P. and Seegers, W.H.: Autoprothrombin II-A: Thrombin removal and mechanism of induction of fibrinolysis. *Thromb. Res.*, **3**; 23~33, 1973.
 - 44) Comp, P.C. and Esmon, C.T.: Generation of fibrinolytic activity by infusion of activated protein C into dogs. *J. Clin. Invest.*, **68**; 1221~1228, 1981.
 - 45) Colucci, M., Stassen, J.M. and Collen, D.: Influence of protein C activation on blood coagulation and fibrinolysis in squirrel monkeys. *J. Clin. Invest.*, **74**; 200~204, 1984.
 - 46) Sakata, Y., Curriden, S., Lawrence, D., Griffin, J.H. and Loskutoff, D.J.: Activated protein C stimulates the fibrinolytic activity of cultured endothelial cells and decreases antiactivator activity. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **82**; 1121~1125, 1985.
 - 47) Van Hinsbergh, V.W.M., Bertina, R.M., Van Wijngaarden, A., Van Tilburg, N.H., Emeis, J.J. and Haverkate, F.: Activated protein C decreases plasminogen activator-inhibitor activity in endothelial cell-conditioned medium. *Blood*, **65**; 441~451, 1985.
 - 48) Collier, B.S., Horowitz, D. and Comp, P.C.: Association of protein S deficiency with arterial thrombosis. *Blood*, **66** (suppl. 1); 348a, 1985. (Abstract)
 - 49) D'Angelo, A., Esmon, C.T., Comp, P.C., Boyer, C., Mannucci, P.M. and Vigano-D'Angelo, S.: The half-life of protein S is much longer than protein C. *Blood*, **66** (suppl. 1); 349a, 1985. (Abstract)
 - 50) Comp, P.C., Vigano-D'Angelo, S., D'Angelo, A., Thurneau, G., Kaufman, C. and Esmon, C.T.: Acquired protein S deficiency occurs in pregnancy, the nephrotic syndrome and acute systemic lupus erythematosus. *Blood*, **66** (suppl. 1); 348a, 1985. (Abstract)
 - 51) Vigano-D'Angelo, Comp, P.C., Esmon, C.T. and D'Angelo, A.: A functional assay for protein S: Assessment of protein S activity in liver disease and disseminated intravascular coagulation. *Blood*, **66** (suppl. 1); 353a, 1985. (Abstract)
 - 52) Fair, D.S., Marlar, R.A. and Levin, E.G.: Human endothelial cells synthesize protein S. *Blood*, **66**; (suppl 1) 355a, 1985. (Abstract)
 - 53) Stern, D., Brett, J., McCarthy, D., Godman, G., Harris, K., Esmon, C. and Nawroth, P.: Synthesis and release of protein S by cultured endothelial cells. *Blood*, **66** (suppl. 1); 359a, 1985. (Abstract)