

母親は intron3 G/A のみヘテロ接合体であった。父は検索不能であった。TTP/HUS の既往のない一般人口で A250V は 66 例、 intron3 G/A は 772 例について塩基配列を解析したが、それぞれの変異を有する個体は一例も見出されなかった。A250V および intron3:G/A は、患者家系に特異的な変異と考えられた。A250V を HEK293 細胞に導入したところ、正常と同じサイズの ADAMTS13 分子の分泌が確認された。この培養上清の ADAMTS13 活性を、VWF を基質として測定したところ（奈良県立医科大学藤村吉博教授、松本雅則博士により実施）正常型と比較して著明な活性低下が見られた（図 2）。

図 2

### A250V の酵素活性測定

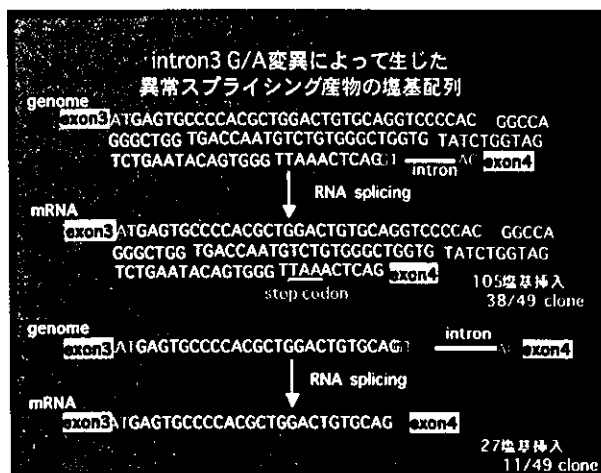


A250V 変異型 ADAMTS-13 は VWF 切断活性の著明な低下を示した。

intron3:G/A 変異については、mini-gene 発現系を用い、遺伝子導入後産生される RNA の配列を解析したところ、intron3:G/A では正常 RNA は見られず、RNA スプライシングの異常によっ

て生じる変異 RNA の存在を確認した。PCR 産物をクローニングして塩基配列を調べると、105 塩基挿入型（停止コードを含む）と、27 塩基挿入型が観察された（図 3）。

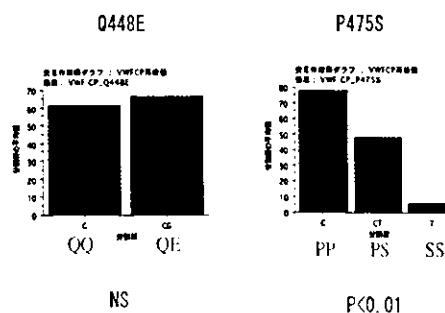
図 3



次に ADAMTS13 活性と血栓性疾患の関連であるが、ADAMTS13 遺伝子解析により、既報の遺伝多型（Q448E, P475S）が同定された。多型出現頻度は既報と同様であった。Q448E 多型は活性に影響を与えなかったが、P475S はアレル数依存的に活性に影響を与えた（図 4）。

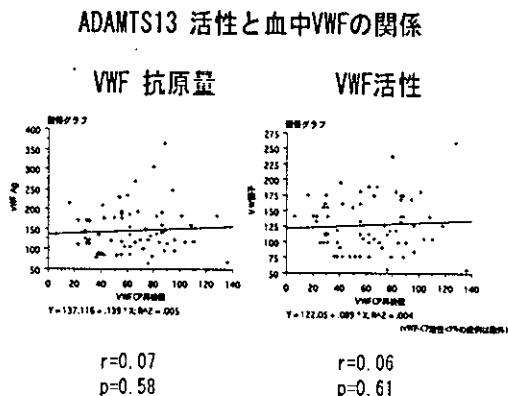
図 4

### ADAMTS13 遺伝子多型と活性の関係



ADAMTS13 活性と血中 VWF (抗原量、活性) の間に有意な相関は見られなかった (図 5)。

図 5



同様に ADAMTS13 遺伝子多型 (Q448E, P475S) と血中 VWF (抗原量、活性) の間に有意な関連は見られなかった (図 6、図 7)。

図 6

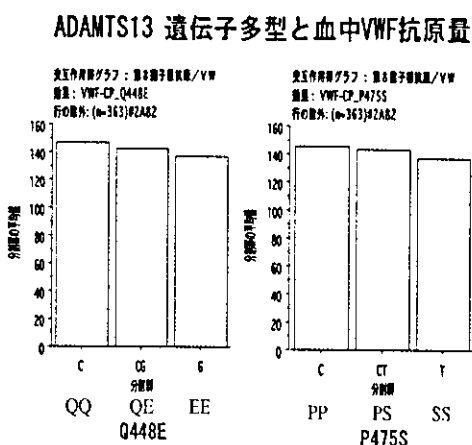
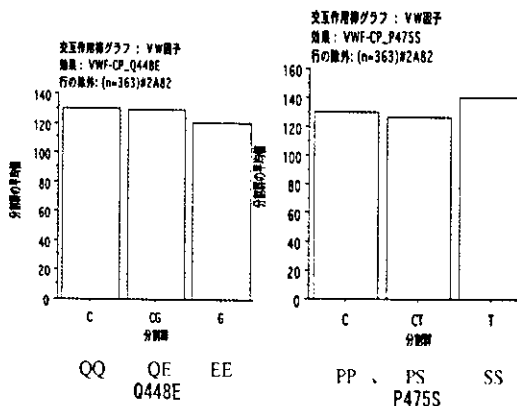


図 7

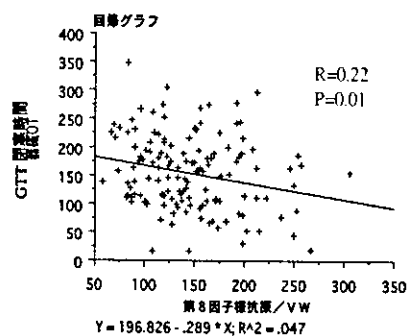
ADAMTS13 遺伝子多型と血中VWF活性



次に血中 VWF 抗原量と GTT 閉塞時間を調べたところ弱い負相関がみられた。すなわち、VWF が高値であるとより早期に血栓による閉塞がおこる傾向が示された (図 8)。

図 8

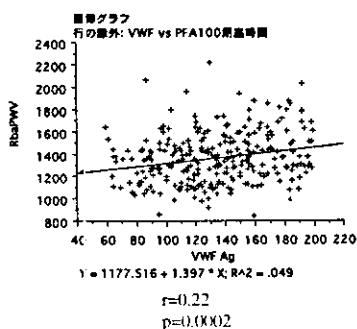
血中VWF抗原量とGTT 閉塞時間



また血中 VWF 抗原量は脈派伝導速度と正相関を示した (図 9)。

図9

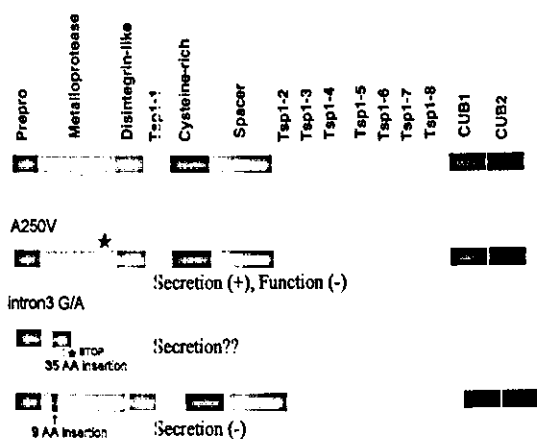
VWF抗原量vs脈波伝導速度



### D. 考察

今回見出された症例はADAMTS13遺伝子に複合ヘテロと思われる変異が存在した。父親の遺伝子は調べることができなかったが、母親の遺伝子解析結果と発現実験より、見い出された2つの変異が疾患の原因と思われた。A250Vはmetalloprotease domainに位置し、酵素活性に重要である。一方、intron 3 G/A変異は大部分のRNA splicingの共通認識配列であるGT-AG motifを破壊することから、異常splice産物が生成されることが予想された(図10)。

図10



実際、発現実験で異常RNAの存在が確認された。ADAMTS13は、その酵素活性発現のためにはN末端～metalloprotease domain～spacer domainの存在が重要と考えられており、今回の我々の結果はこれを支持するものといえる。

今回の検討により、ADAMTS13遺伝子多型(P475S)は健常人において血中ADAMTS13活性の決定要素のひとつであることが明らかとなった。しかしADAMTS13活性と血中VWF(抗原量、活性)に有意な相関はなく、またADAMTS13遺伝子多型と血中VWF(抗原量、活性)にも有意な相関はなかった。従って少なくとも健常人における正常範囲内でのADAMTS13活性値の変動は血中VWF活性に影響を与えないことが示された。ADAMTS13活性はTTPの時のように著減した場合にのみ、その病的意義が明瞭になるものと思われる。一方、血中VWF活性は、以前から動脈硬化性疾患や動脈血栓症と関連するとされてきたが、今回の我々の検討した健常人集団においてもこの関連が示された。血中VWF値とin vitro血栓形成能の指標のひとつであるGTT閉塞時間の間に弱い負の相関がみられ、また血中VWF値と動脈硬化の指標の一つとされる脈波伝導速度の間に正相関が示された。これらの事実はVWFが病的血栓に関わることの傍証である。今後、ADAMTS13の病的な低下と血栓症、ex vivo血栓形成能の関連などにつき検討が必要である。

## E. 結論

TTP 家系を検索し、ADAMTS13 遺伝子に新たな2つの変異を見い出した。発現実験により、A250V 変異はADAMTS13 酵素活性を著明に低下させること、intron 3 G/A 変異はRNA スプライシング異常を引き起こすことで蛋白産生障害をおこすと考えられた。以上より intron3 G/A と A250V が本症例の原因変異と考えられた。また健常人を対象に ADAMTS13 遺伝子型、ADAMTS13 活性、VWF 活性/抗原、in vitro 血栓形成能などの関連につき検討した。VWF が易血栓性に関連することを示した。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

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.* 2004 Jan 2; 313(1): 212-6.

Miyaki K, Omae K, Murata M, Tanahashi N, Saito I, Watanabe K: High throughput multiple combination extraction from large scale polymorphism data by Exact

Tree Method. *J Hum Genetics* 49: 455-462, 2004

Azuma K, Oguchi S, Matsubara M, Mamizuka T, Murata M, Kikuchi H, Watanabe K, Katsukawa F, Yamazaki H, Shimada A, Saruta T. Novel resistin polymorphisms: Association with serum resistin level in Japanese obese individuals. *Horm Metab Res* 36(8): 564-70, 2004

Motohashi Y, Maruyama T, Murata M, Nakano S, Maruyama C, Kyotani S, Tsushima M, Saruta T. Role of genetic factors (CETP gene Taq IB polymorphism and Apo A-1 gene MSP I polymorphism) in serum HDL-C levels in women. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 14 (1): 6-14, Feb 2004

Matsunaga-Irie S, Maruyama T, Yamamoto Y, Motohashi Y, Hirose H, Shimada A, Murata M, Saruta T. Relation Between Development of Nephropathy and the p22phox C242T and Receptor for Advanced Glycation End Product G1704T Gene Polymorphisms in Type 2 Diabetic Patients. *Diabetes Care* 27(2): 303-7, 2004

Uchida T, Wada H, Mizutani M, Iwashita M, Ishihara H, Shibano T, Suzuki M, Matsubara Y, Soejima K, Matsumoto M, Fujimura Y, Ikeda Y, Murata M. Identification of novel mutations in ADAMTS13 in an adult

patient with congenital thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood* 104 (7): 2081-2083, 2004

Ishii K, Oguchi S, Moriki T, Yatabe Y, Takeshita E, Murata M, Ikeda Y, Watanabe K. Genetic analyses and expression studies identified a novel mutation (W486C) as a molecular basis of congenital coagulation factor XII deficiency. *Blood Coagulation and Fibrinolysis* 15: 1-7, 2004

Murata M, Maruyama T, Suzuki Y, Saruta T, Ikeda Y. Paraoxonase 1 192Gln/Arg polymorphism is associated with the risk of microangiopathy in type 2 diabetes mellitus. *Diabetic Medicine* 21(8): 837-44, 2004

Oguchi S, Ishii K, Moriki T, Takeshita E, Murata M, Ikeda Y, Watanabe K. Factor XII Shizuoka, a novel mutation (Ala392Thr) identified and characterized in a patient with congenital coagulation factor XII deficiency. *Thrombosis Research* 115(3): 191-197, 2005

Hattori H, Ito D, Tanahashi N, Murata M, Saito I, Watanabe K, Suzuki N. T280M and V249I polymorphisms of fractalkine receptor CX3CR1 and ischemic cerebrovascular disease. *Neuroscience Letters* 374: 132-135, 2005

Matsubara Y, Murata M, Hayashi T, Suzuki K, Okamura Y, Handa M, Ishihara H, Shibano T, Ikeda Y. Platelet glycoprotein Ib alpha polymorphisms affect the interaction with von Willebrand factor under flow conditions. *Brit J Haematol* 128: 533-539, 2005

Isshiki I, Favier R, Moriki T, Uchida T, Ishihara H, Van Dreden P, Murata M, Ikeda Y. Genetic analysis of hereditary factor X deficiency in a French patient of Sri Lankan ancestry: *in vitro* expression study identified Gly366Ser substitution as the molecular basis of the dysfunctional factor X. *Blood Coagulation and Fibrinolysis* 16: 9-16, 2005

## 2. 学会発表

Murata M, Uchida T, Suzuki M et al. Screening of single nucleotide polymorphisms in the *ADAMTS13* (von Willebrand factor-cleaving protease) gene and studies on their association with stroke and coronary artery disease. 45th Annual Meeting and Exposition, The American Society of Hematology, December, 2003, San Diego, USA

Uchida T, Wada H, Iwashita M et al. Identification of novel mutations in *ADAMTS13* in an adult patient with recurrent hemolytic-uremic

syndrome. 45th Annual Meeting and Exposition, The American Society of Hematology, December 2003, San Diego, USA

Suzuki M, Murata M, Matsubara Y et al. ADAMTS13 (von Willebrand factor-cleaving protease) is expressed in human platelets. 45th Annual Meeting and Exposition, The American Society of Hematology,

December 2003, San Diego, USA

H. 知的財産権の出願・登録状況  
特願 2004-128754

発明者：池田康夫, 村田\_\_満, 石原宏明,  
内田敏弘

フォンビルブランド因子切断酵素遺伝子  
解析による血栓性疾患関連の遺伝子変異  
検出方法 2004年04月23日 出願

## TTP、DIC、ITP、血栓性素因診断に関する臨床検査学的検討

分担研究者名 和田英夫（三重大学医学部臨床検査医学）

研究協力者名 森 美貴（三重県赤十字血液センター）

### 研究要旨

TTP、DIC、ITP、などの血小板減少性疾患の診断には、骨髄での血小板産生を反映する網状血小板(RP→IPF; 現在 IPF として測定されている)が非常に有用である。健常者ならびに上記患者での分布を検討した結果、IPF の上限は 6.0-7.8%であり、IPF は ITP 患者で有意に増加することから、ITP の診断に非常に有用と考えられた。また、TTP/HUS のアンケート調査の成績を用いて、TTP/HUS 診断における ADAMTS-13 の有用性を検討した。特発性、先天性ならびに自己免疫性 TTP/HUS で、ADAMTS-13 は有意に減少していることから、有力な TTP/HUS 発症原因のひとつと考えられた。また、ADAMTS-13 中等度低下症例が、最も TTP/HUS の予後が悪かった。血栓症の診断には止血系分子マーカーならびに抗リン脂質抗体の測定が有用で、特に深部静脈血栓症の診断にはフィブリン分解産物や抗プロトロンビン抗体が有用であった。また、DIC の早期診断にも止血系分子マーカーが有用で、特に感染症 DIC 診断基準を作成する必要が示唆された。

### 1. 研究目的

TTP、HUS、ITP、DIC、深部静脈血栓症などは種々の病態を呈するが、止血系検査にも種々の異常を呈する。これら疾患の自験例での止血系検査成績ならびに TTP アンケート調査成績を用い、その診断における有用性を検討した。最終的には、ITP、DIC、TTP/HUS、深部静脈血栓症の定義ならびに診断基準作成のため、有用な検査を見つけ出し、そのカットオフ値の設定を目的とする。

### 2. 研究方法

網状血小板(RP→IPF; 現在 IPF とし

て測定されている)は全自動血球分析装置(シスメックス社)を用いて測定した。ADAMTS-13 の解析は 2004 年に施行された TTP/HUS に関する二次アンケート調査の成績をもとに行った。DIC 患者ならびに血栓症患者においては、種々の止血系分子マーカーならびに抗リン脂質抗体の測定をおこなった。

(倫理面への配慮)

三重大学の倫理委員会の指針に従い、検体はコード化して、測定者に患者名がわからないようにした。アンケートに際しては個人情報の保護に留意して、

患者名の匿名化を徹底しておこなった。

### 3. 研究結果

健康成人の IPF は男女差がなく、平均値+SD は 3.29+1.74%であった。しかし、この IPF は正規分布していないため、95%CI 値を求めると、7.87%であった(図 1)。

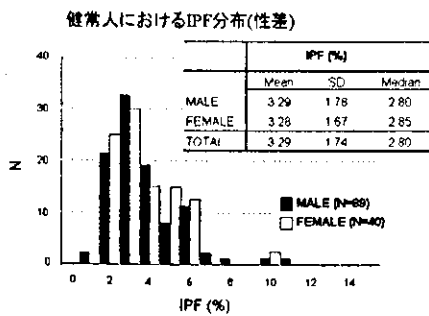


図1 健康者の IPF

各種疾患における IPF 値を測定すると、ITP で著しい高値を示し、化学療法患者では著しい低値を示した(図 2)。

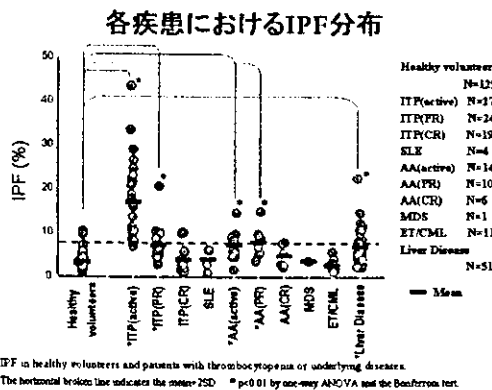


図2 各種疾患における IPF 値

表 1 に示すように、IPF のカットオフ値を 6.0%とすると、感度・特異度とも 80%以上になり、7.8%とすると感度はさがるが、特異度は増加した。ADAMTS-13 に関する検討では、先

天性 TTP/HUS の 10 例、自己免疫性の 8 例、特発性の 37 例、移植関連 3 例、薬剤性 1 例、悪性腫瘍関連 1 例に、

表1 ITP診断のためのIPFのカットオフ値

IPF	カットオフ値 6.00%		カットオフ値 7.87%	
	ITP(血小板<5万)	非ITP症例	ITP(血小板<5万)	非ITP症例
IPF(+)	42	39	36	14
IPF(-)	6	157	12	182
感度	0.875		0.750	
特異度	0.801		0.929	
PPV	0.519		0.720	
NPV	0.963		0.938	

非ITP症例:健康人(129)、再生不良性貧血(14)、ITPCR(28)、化学療法(25)

ADAMTS-13 の低下があった(表 2)。悪性腫瘍ならびに移植関連の TTP/HUS では、著明な ADAMTS-13 の低下はなかった。

表2 TTP/HUSとADAMTS-13活性

ADAMTS-13	<10	10< <50	50<	未測定
先天性	7	3	2	6
薬剤性	0	1	2	6
妊娠	0	0	0	2
自己免疫性	6	2	4	7
悪性腫瘍	0	1	1	6
移植	0	3	0	7
特発性	27	10	6	26
O-157	1	0	0	59
全例	41	20	15	119

予後と ADAMTS-13 に関する検討では(表 3)、特発性ならびに自己免疫性

表3 特発性ならびに自己免疫性TTP/HUSの予後とADAMTS-13

ADAMTS13	死亡	寛解	維持療法	判定不能
10>	5 (15.6)	21 (65.6)	2	4
10< <50	4 (30.8%)	7 (53.8%)		2
50<	2 (20%)	7 (70.0%)		1
未測定	10 (30.3%)	20 (60.6%)	1	2
合計	21 (22.7%)	55 (62.5%)	3	9



TTP/HUSにおいて、ADAMTS-13活性が10%以下の例に比べ、10-50%の例は寛解率がやや低い傾向にあり、死亡率も高い傾向にあった。

DICにおける止血系分子マーカーの検討では、感染症DICでは線溶低下の影響を受けた変動を呈し、白血病DICの成績とは異なった。深部静脈血栓症の診断には、SF(6.9 $\mu$ g/ml以上)とD-dimer(2.5 $\mu$ g/ml以上)を同時に測定すると、最も診断効率が良かった。また、血栓症患者には高頻度に抗リン脂質抗体が存在し、特に深部静脈血栓症の診断には抗プロトロンビン抗体の測定が、脳血栓症の診断には抗 $\beta$ 2GPI-カルジオリピン複合体抗体の測定が有用であった。また、希釈蛇毒凝固時間法を用いたループスアンチコアグラントが、最も感度が良かった。

#### 4. 考察

IPFは簡易に測定でき、骨髄での血小板産生能を反映し、ITPでは有意に高値を呈することから、ITPの診断基準項目に採用されることが期待されている。ADAMTS-13は、多くの先天性、特発性ならびに自己免疫性TTP/HUSで著しく低下し、これらの症例ではADAMTS-13減少によりTTP/HUSが発症していると考えられた。また、ADAMTS-13が中等度減少する症例は、その他の原因からTTP/HUSが発症している可能性が示唆された。感染症DICでは、白血病DICと異なった止血異常を呈し、感染症DICに特定した早期DIC診断基準を作成する必要があると考えられた。このため、日

本血栓止血学会を中心にして、感染症DIC診断のためのプロスペクティブスタディが進められている。深部静脈血栓症のNPVとしてD-dimer(0.5 $\mu$ g/ml以下)が使用されているが、欧米の基準値と日本の基準値は異なる。我々の検討では、SFとD-dimerを同時に測定することが推奨された。また、抗リン脂質抗体は重要な血栓症のリスクファクターと考えられた。

#### 5. 結論

IPFはITPの診断に有用であり、ADAMTS-13はTTP/HUSの診断に有用であった。また、止血系分子マーカーはDICやその他の血栓症の診断に有用であり、さらにこれらの成績を集積する必要がある。

#### 6. 健康危険情報

特になし

#### 7. 研究発表

##### 1. 論文発表

・Mori Y, Wada H, Gabazza EC, Minami N, Nobori T, Shiku H, Matsumoto M, Yagi H, Ishizashi H, Fujimura Y: Defective von Willebrand factor-cleaving activity on admission is a marker of excellent clinical response to plasma exchange in patients with thrombotic thrombocytopenic purpura. *Transfusion*, 42(5): 572-580, 2002

・Ishikura K, Wada H, Kamikura Y, Hattori K, Fukuzawa T, Yamada N, Nakamura M, Nobori T, Nakano T: High prevalence of anti-prothrombin antibody in patients with deep vein thrombosis. *Am J Hematol*, 76(4): 338-342, 2004

- Uchida T, Wada H, Mizutani M, Iwashita M, Ishihara H, Shibano T, Suzuki M, Matsubara Y, Soejima K, Matsumoto M, Fujimura Y, Ikeda Y, Murata M: Identification of novel mutations in ADAMTS13 in an adult patient with congenital thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood*, 104 (7): 2081-2083, 2004
- Matsumoto M, Yagi H, Ishizashi H, Wada H, Fujimura Y: The Japanese Experience with thrombotic thrombocytopenic purpura – Hemolytic uremic syndrome. *Seminar Hematol*, 41(1): 68-74, 2004
- Kushiya F, Wada H, Ooi K, Sakurai Y, Sakaguchi A, Noda M, Abe Y, Nakasaki T, Tsukada T, Shiku H, Nobori T: Effects of atorvastatin on serum lipids, lipoproteins, and hemostasis. *Am J Hematol*, 78(1):1-6, 2005;
- Kamikura Y, Wada H, Nobori T, Matsumoto T, Shiku H, Ishikura K, Yamada N, Nakano T, Kazahaya Y, Sawai T, Matsuda M: Elevated plasma levels of fibrin degradation products by granulocyte-derived elastase in patients with deep vein thrombosis. *Thromb Res*, 115(1): 53-57, 2005

2. 学会発表

- Wada H: The Japanese experience, DIC, The 48<sup>th</sup> SSC Scientific Session, (2002)
- Abe Y, Wada H, Nishioka J, Tomatsu H, Hamaguchi Y, Oguni S, Shiku H, Nobori T: Usefulness of fully automated

measurement of reticulated platelet using the whole blood. The 18<sup>th</sup> International Congress of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, (2002)

- Wada H: Pilot Study 2: The Japanese Experience. The 49<sup>th</sup> SSC Meeting. (2003)

- Sakakura M, Wada H, Tawara I, Shiku H: Reduced CD4+CD25+ T cells in idiopathic thrombocytopenic purpura. The 45th Annual Meeting of The American Society of Hematology, (2003)

- Wada H: The application of diagnostic algorithm(s) (ISTH and JMHW scoring) to distinct diagnostic subgroups of patients at risk for DIC., The 50<sup>th</sup> SSC Meeting (2004)

- Sakakura M, Wada H, Tawara I, Shiku H: Numbers of CD4+CD25+ T cells in the patients with idiopathic thrombocytopenic purpura (ITP). Xth Congress of The International Society of Hematology, Asian-Pacific Division, (2004)

- Wada H: Diagnosis of DIC by hemostatic molecular markers. Symposium 5 Diagnosis and therapeutic approaches of DIC in Asian countries. The Third Asian-Pacific Congress on Thrombosis and Hemostasis (2004)

8. 知的財産権の出願・登録（予定を含む）

- |           |    |
|-----------|----|
| 1. 特許取得   | なし |
| 2. 実案新案登録 | なし |
| 3. その他    | なし |

<研究成果の刊行に関する一覧>

- Mori Y, Wada H, Gabazza EC, Minami N, Nobori T, Shiku H, Matsumoto M, Yagi H, Ishizashi H, Fujimura Y: Defective von Willebrand factor-cleaving activity on admission is a marker of excellent clinical response to plasma exchange in patients with thrombotic thrombocytopenic purpura. *Transfusion*, 42(5): 572-580, 2002
- Ishikura K, Wada H, Kamikura Y, Hattori K, Fukuzawa T, Yamada N, Nakamura M, Nobori T, Nakano T: High prevalence of anti-prothrombin antibody in patients with deep vein thrombosis. *Am J Hematol*, 76(4): 338-342, 2004
- Kushiya F, Wada H, Ooi K, Sakurai Y, Sakaguchi A, Noda M, Abe Y, Nakasaki T, Tsukada T, Shiku H, Nobori T: Effects of atorvastatin on serum lipids, lipoproteins, and hemostasis. *Am J Hematol*, 78(1):1-6, 2005;
- Kamikura Y, Wada H, Nobori T, Matsumoto T, Shiku H, Ishikura K, Yamada N, Nakano T, Kazahaya Y, Sawai T, Matsuda M: Elevated plasma levels of fibrin degradation products by granulocyte-derived elastase in patients with deep vein thrombosis. *Thromb Res*, 115(1): 53-57, 2005

## 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表 (H14~H16 年度)

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Kuwana, M., Okazaki, Y., Kaburaki, J., Kawakami, Y., Ikeda, Y.	Spleen is a primary site for activation of platelet-reactive T and B cells in patients with immune thrombocytopenic purpura.	J Immunol	168 : 7	3675-3682	2002
Kuwana, M., Okazaki, Y., Kajihara, M., Kaburaki, J., Miyazaki, H., Kawakami, Y., Ikeda, Y.	Autoantibody to c-Mpl (thrombopoietin receptor) in systemic lupus erythematosus: relationship to thrombocytopenia with megakaryocytic hypoplasia.	Arthritis Rheum	46 : 8	2148-2159	2002
Kuwana, M., Kimura, K., Hirakata, M., Kawakami, Y., Ikeda, Y.	Differences in anti-Th/To autoantibody response between systemic sclerosis and other autoimmune diseases.	Ann Rheum Dis	61 : 9	842-846	2002
Kuwana, M., Kimura, K., Kawakami, Y.	Identification of an immunodominant epitope on RNA polymerase III recognized by systemic sclerosis sera: application to enzyme-linked immunosorbent assay.	Arthritis Rheum	46 : 10	2742-2747	2002
Kuwana, M., Kawakami, Y., Ikeda, Y.	Suppression of autoreactive T-cell response to glycoprotein IIb/IIIa by blockade of CD40/CD154 interaction: implications for treatment of immune thrombocytopenic purpura.	Blood	101 : 2	621-623	2003
Kajihara, M., Kato, S., Okazaki, Y., Kawakami, Y., Ishii, M., Ikeda, Y., Kuwana, M.	A role of autoantibody-mediated platelet destruction in thrombocytopenia in patients with cirrhosis.	Hepatology	37 : 6	1267-1276	2003
Kuwana, M., Pandey, J. P., Silver, R. M., Kawakami, Y., Kaburaki, J.	HLA class II alleles in systemic sclerosis patients with anti-RNA polymerase I/III antibody: associations with subunit reactivities.	J Rheumatol	30 : 11	2392-2397	2003
Yasuoka, H., Ihn, H., Medsger, T. A. Jr., Hirakata, M., Kawakami, Y., Ikeda, Y., Kuwana, M.	A novel protein highly expressed in testis is overexpressed in systemic sclerosis fibroblasts and targeted by autoantibodies.	J Immunol	171 : 12	6883-6890	2003
Fujimoto T, Katsutani S, Shimomura T & Fujimura K	Thrombospondin-bound integrin-associated protein (CD47) physically and functionally modifies integrin $\alpha$ IIb $\beta$ 3 by its extracellular domain	J of Biol Chem	278:29	26655-26665	2003
Fujimoto T, Kohata S, Suzuki H, Miyazaki H, & Fujimura K	Production of functional platelets by differentiated embryonic stem (ES) cells in vitro	Blood	102:12	4044-4051	2003
Kuwana, M., Nomura, S., Fujimura, K., Nagasawa, T., Muto, Y., Kurata, Y., Tanaka, S., Ikeda, Y.	Effect of a single injection of humanized anti-CD154 monoclonal antibody on the platelet-specific autoimmune response in patients with immune thrombocytopenic purpura.	Blood	103 : 4	1229-1236	2004
Satoh, T., Pandey, J. P., Okazaki, Y., Yasuoka, H., Kawakami, Y., Ikeda, Y., Kuwana, M.	Single nucleotide polymorphisms of the inflammatory cytokine genes in adults with chronic immune thrombocytopenic purpura.	Br J Haematol	124 : 6	796-801	2004
Kobayashi, H., Hosono, O., Iwata, S., Kawasaki, H., Kuwana, M., Tanaka, H., Dang, N. H., Morimoto, C.	The tetraspanin CD9 is preferentially expressed on the human CD4 <sup>+</sup> CD45RA <sup>+</sup> naive T cell population and is involved in T cell activation.	Clin Exp Immunol	137 : 1	101-108	2004
Kuwana, M., Okazaki, Y., Yasuoka, H., Kawakami, Y., Ikeda, Y.	Defective vasculogenesis in systemic sclerosis.	Lancet	364: 9434	603-610	2004
Kuwana, M.	$\beta_2$ -glycoprotein I: antiphospholipid syndrome and T-cell reactivity.	Thromb Res	114 : 5-6	347-355	2004
Yasuoka, H., Okazaki, Y., Kawakami, Y., Hirakata, M., Inoko, H., Ikeda, Y., Kuwana, M.	Autoreactive CD8 <sup>+</sup> cytotoxic T lymphocytes to major histocompatibility complex class I chain-related molecule A in patients with Behçet's disease.	Arthritis Rheum	50 : 11	3658-3662	2004

Satoh, T., Kimura, K., Okano, Y., Hirakata, M., Kawakami, Y., Kuwana, M.	Lack of circulating autoantibodies to bone morphogenetic protein receptor-II or activin receptor-like kinase 1 in mixed connective tissue disease patients with pulmonary arterial hypertension.	Rheumatology	44 : 2	192-196	2005
Kuwana, M., Matsuura, E., Kobayashi, K., Okazaki, Y., Kaburaki, J., Ikeda, Y., Kawakami, Y.	Binding of $\beta_2$ -glycoprotein I to anionic phospholipids facilitates processing and presentation of a cryptic epitope that activates pathogenic autoreactive T cells.	Blood	105 : 4	1552-1557	2005
Fujimura, K., Kuwana, M., Kurata, Y., Imamura, M., Harada, H., Sakamaki, H., Teramura, M., Koda, K., Nomura, S., Sugihara, S., Shimomura, T., Fujimoto, T., Oyashiki, K., Ikeda, Y.	Is eradication therapy useful as the first line of treatment in <i>Helicobacter pylori</i> -positive idiopathic thrombocytopenic purpura? Analysis of 207 eradicated chronic ITP cases in Japan.	Int J Haematol	81 : 2	162-168	2005
Kuwana, M., Ikeda, Y.	The role of autoreactive T-cells in the pathogenesis of ITP.	Int J Haematol	81 : 2	106-112	2005
Kokame K, Matsumoto M, Soejima K, Yagi H, Ishizashi H, Funato M, Tamai H, Konno M, Kamide K, Kawano Y Miyata T & Fujimura Y	Mutations and common polymorphisms in ADAMTS13 gene responsible for von Willebrand factor-cleaving protease activity	Proc Natl Acad Sci USA	99(18)	11902-11907	2002
Ashida A, Nakamura H, Yoden A, Tamai H, Ishizashi H, Yagi H, Matsumoto M & Fujimura Y	Successful Treatment of a young infant who developed high-titer inhibitors against vWF-cleaving protease (ADAMTS13): important discrimination from Upshaw-Schulman syndrome	Am J of Hematol	79	318-322	2002
Mori Y, Wada H, Gabbazza EC, Minami N, Nobori T, Shiku H, Yagi H, Ishizashi H, Matsumoto M & Fujimura Y	Predicting response to plasma exchange in patients with thrombotic thrombocytopenic purpura with measurement of vWF-cleaving protease activity	Transfusion	42	572-580	2002
Soejima K, Matsumoto M, Kokame K, Yagi H, Ishizashi H, Maeda H, Nozaki C, Miyata T, Fujimura Y & Nakagaki T	ADAMTS13 cysteine-rich/spacer domains are functionally essential for von Willebrand factor cleavage	Blood	102:9	3232-3237	2003
Matsumoto M, Kokame K, Soejima K, Miura M, Hayashi S, Fujii Y, Iwai A, Ito E, Tsuji Y, Shitaka T, Iwadate M, Umeyama H, Yagi H, Ishizashi H, Bannno F, Nakagaki T, Miyata T & Fujimura Y	Molecular characterization of ADAMTS13 gene mutation in Japanese patients with Upshaw-Schulman syndrome	Blood	103 : 4	1305-1310	2004
Matsumoto M, Yagi H, Ishizashi H, Wada H & Fujimura Y	The Japanese experience with thrombotic thrombocytopenic purpura-hemolytic uremic syndrome	SEmin Hematol	41	68-74	2004
Kokame K, Matsumoto M, Fujimura Y & Miyata T	vWF73 a region from D1596 to R1668 of von Willebrand factor, provides a minimal substrate for ADAMTS13	Blood	103 : 2	607-612	2004
Kawahara M, Kannno M, Matsumoto M, Nakamura S, Fujimura Y & Ueno S	Diffuse neurodeficits in intravascular lymphomatosis with ADAMTS13 inhibitor	Neurology	63	1731-1733	2004
Sadler JE, Moake JL, Miyata T & George JN	Recent advances in thrombotic thrombocytopenic purpura	Hematology		407-423	2004
Furukoji E, Matsumoto M, Yamashita A, Yagi H, Sakurai Y, Marutsuka K, Hatakeyama K, Morishita K, Fujimura Y, Tamura S, Asada Y	Adenovirus-mediated transfer of human placental ecto-ATP diphosphohydrolase I to vascular smooth muscle cells suppresses platelet aggregation in vitro and arterial thrombus formation in vivo.	Circulation	111	808-815	2005
小亀浩市、宮田敏行	血栓性血小板減少性紫斑病	Molecular Medicine	41:12	1542-1548	2004

Kikuchi J, Mimuro J, Ogata K, Madoiwa S, Ozawa K, Sakata Y et al	Sustained transgene expression by human cord blood derived CD34+ cells transduced with simian immunodeficiency virus agm TYOI-based vectors carrying the human coagulation factor VIII gene in MOD/SCID mice	J of gene Medicine	6	1049-10601	2004
Madoiwa S, Yamauchi T, Hkamata Y, Kobayashi E, Arai M, Sugo T, Mimuro J & Sakata Y	Induction of immune tolerance by neonatal intravenous injection of human factor VIII in murine hemophilia A	J of Thromb & Haem	2	754-762	2004
Kunishima S, Matsushita T, Kojima T, Sako M, Kimura F, Jo EK, Inoue C, Kamiya T & Saito H	Immunofluorescence analysis of neutrophil nonmuscle myosin heavy chain-A in MYH9 disorders: association of subcellular localization with MYH9 mutations	Lev Invest	83:1	115-122	2003
Yamada T, Takagi A, Takeshita K, Yamamoto K, Ito M, Matsushita T, Murate T, Saito H & Kojima T	Enzyme immunoassay for measurement of murine plasminogen activator inhibitor-1, employing a specific antibody produced by the DNA vaccine method	Thromb Res	111	285-291	2003
Okada H, Takagi A, Murate T, Adachi T, Saito H, Kojima T et al:	Identification of protein gene mutations including four novel mutations in eight unrelated patients with protein S deficiency	Br J of Haematol	126	219-225	2004
Tsukahara A, Yamada T, Takagi A, Murate T, Matsushita T, Saito H & Kojima T	Compound heterozygosity for two novel mutations in a severe factor XI deficiency	Am J of Hematol	73	279-284	2003