

20130700/B

(別添1)

厚生労働科学研究費補助金  
創薬基盤推進研究事業

日本人に高頻度に見られる血栓性遺伝子変異をもつ  
疾患モデルマウスの開発

平成23年度～25年度 総合研究報告書

研究代表者 宮田 敏行

平成26(2014)年3月

(別添1)

厚生労働科学研究費補助金  
創薬基盤推進研究事業

日本人に高頻度に見られる血栓性遺伝子変異をもつ  
疾患モデルマウスの開発

平成23年度～25年度 総合研究報告書

研究代表者 宮田 敏行

平成26(2014)年3月

(別添2)

## 目 次

### I. 総合研究報告書

日本人に高頻度に見られる血栓性遺伝子変異をもつ疾患モデルマウスの開発 . . . . .	1
宮田 敏行 (独立行政法人 国立循環器病研究センター 分子病態部)	

### 分担研究報告書

1. プロテイン S-K196E 変異をもつモデルマウスの作製と解析 . . . . .	19
坂野 史明 (独立行政法人 国立循環器病研究センター 分子病態部)	
小亀 浩市 (独立行政法人 国立循環器病研究センター 分子病態部)	
田嶋 優子 (独立行政法人 国立循環器病研究センター 分子病態部)	
喜多 俊行 (独立行政法人 国立循環器病研究センター 分子病態部)	
井本 ひとみ (独立行政法人 国立循環器病研究センター 分子病態部)	
2. プラスミノージェン-A622T 変異をもつモデルマウスの作製と解析 . . . . .	30
坂野 史明 (独立行政法人 国立循環器病研究センター 分子病態部)	
田嶋 優子 (独立行政法人 国立循環器病研究センター 分子病態部)	
喜多 俊行 (独立行政法人 国立循環器病研究センター 分子病態部)	
井本 ひとみ (独立行政法人 国立循環器病研究センター 分子病態部)	

### II. 研究成果の刊行に関する一覧表 . . . . . 37

### III. 研究成果の刊行物・別刷 . . . . . 41

(別添3)

# I. 総合研究報告書

日本人に高頻度に見られる血栓性遺伝子変異をもつ疾患モデルマウスの開発

研究代表者 宮田敏行 国立循環器病研究センター分子病態部 部長

研究要旨

私達は、これまでに日本人の静脈血栓塞栓症の遺伝的背景としてプロテインS-K196E 変異を同定し（オッズ比:3.74-8.56）、本変異は日本人約 55 名に 1 名の頻度で認められ（アレル頻度:0.0089）、約 1 万人がホモ接合体であると報告した。本変異は白人種には見られず、加えて中国人と韓国人にも見られないことから、日本人に特有の血栓性変異であることも明らかにした。また、私達は、日本人には線溶因子プラスミノーゲンの活性の低下を伴う A620T 変異（マウスでは A622T 変異）が約 25 名に 1 名の頻度で認められ、約 5 万人がホモ接合体であると推計されることを示した。本変異は白人種には存在しないものの中国人や韓国人には同定されている。一方、白人種には凝固第 V 因子 Leiden (FVL) 変異 (R506Q 変異) が血栓症のリスクとして報告されている。FVL 変異は白人種の 2-15% に見られ、静脈血栓症に対するオッズ比は 2.7-7.6 と報告されている。このように、静脈血栓塞栓症の遺伝的リスクには人種差が見られることが明らかとなり、人種間の血栓性リスクの違いが注目されている。本研究では、プロテインS-K196E 変異マウス、プロテインS 遺伝子欠損マウス、プラスミノーゲン-A622T 変異マウスを作製し、日本人の血栓症におけるこれらの変異の位置づけを明確にするとともに、最適な予防・治療法を開発するための疾患モデルとして確立することを目的とした。

本研究では、まず C57BL/6J の遺伝的背景をもつプロテインS-K196E 変異マウス（ホモ接合体およびヘテロ接合体）、プロテインS 遺伝子欠損ヘテロ接合体マウス、プラスミノーゲン-A622T 変異ホモ接合体マウスを作製した。これらの遺伝子改変マウスの血液学的性状を検討した後に、血栓形成能を野生型マウスおよび白人種に見られる FVL 変異 (FV R504Q 変異) ホモ接合体マウスと比較することにより評価した。プロテインS 遺伝子欠損ホモ接合体マウスは致死であった。

プロテインS-K196E 変異ホモ接合体マウスは野生型マウスと比較して、プロテインS 活性 67%、プロテインS 抗原量 96%を示した。本マウスの血栓形成能を、1) 組織因子惹起肺梗塞モデル、2) ポリリン酸惹起肺梗塞モデル、3) 深部静脈血栓症モデル、4) 三血管閉塞法による局所脳虚血再灌流モデルを用いて評価した。プロテインS-K196E 変異マウスは、FV-R504Q 変異マウスと同様に、野生型マウスに比べ、組織因子およびポリリン酸の静脈投与後の肺血管閉塞が進行し、高い死亡率を示した。また、深部静脈血栓症モデルにおいても、プロテインS-K196E 変異マウスおよびFV-R504Q 変異マウスは、野生型マウスに比べて重篤な症状を呈した。したがって、プロテインS-K196E 変異が静脈血栓症の重症化の要因になることが明らかになった。しかし、FV-R504Q 変異マウスとは異なり、脳虚血再灌流モデルでは野生型との差異は見いだせなかった。

プラスミノーゲン-A622T 変異ホモ接合体マウスは、血漿プラスミノーゲン活性 8%、抗原量 48%を示した。組織プラスミノーゲン活性化因子依存性の血漿フィブリン塊溶解活性も低下していた。本マウスの性状を、1) 組織因子惹起肺梗塞モデル、2) 局所脳虚血再灌流モデル、3) 深部静脈血栓モデル、4) 創傷治癒モデル、を用いて評価した。プラスミノーゲン-A622T 変異ホモ接合体マウスは、組織因子惹起肺梗塞モデル、局所脳虚血再灌流モデル、深部静脈血栓モデル、創傷治癒モデル、いずれの血栓・創傷モデルでも野生型マウスと比較して症状の悪化を認めなかった。したがって、マウスではプラスミノーゲン-A622T 変異はこれらの疾患の増悪要因とはならず、一次的な血栓リスクとはならないと考えた。

本研究により、プロテインS-K196E 変異およびプラスミノーゲン-A622T 変異のマウスでの血栓症における役割を明らかにできた。今後、両変異を保有する二重変異マウス、および血栓傾向を示す環境因子（例えば、ストレスなど）を負荷したマウスの研究が必要である。すなわち、プロテインS-K196E 変異とプラスミノーゲン-A622T 変異が、血栓症の modifier として働くことを想定した研究が必要と考える。特に、環境因子を負荷した場合の modifier としての遺伝子変異の研究はヒトの血栓症の理解に大きく貢献するものと考えられる。本研究で樹立した遺伝子改変マウスは、こういった modifier の研究に必須である。こうした観点から、本研究により日本人の血栓症の特異性を

解明する基盤を整備することができた意義は大きいと考える。

プロテインS遺伝子改変マウスとプラスミノゲン-A622Tマウスを(独)医薬基盤研究所に登録した。今後、医薬基盤研究所を通して、私達が作製した遺伝子改変マウスが広く研究に使われることを期待している。

研究分担者	小亀浩市	国立循環器病研究センター分子病態部	室長
研究分担者	坂野史明	国立循環器病研究センター分子病態部	研究員
研究協力者	田嶋優子	国立循環器病研究センター分子病態部	流動研究員
研究協力者	喜多俊行	国立循環器病研究センター分子病態部	流動研究員
研究協力者	井本ひとみ	国立循環器病研究センター分子病態部	非常勤研究員

#### A. 研究目的

静脈血栓塞栓症は環境因子と遺伝因子が絡み合って発症する多因子疾患であり、生活習慣の欧米化などにより、近年本邦で急速に増加している。臨床的に問題となるのは深部静脈血栓症とそれに起因する肺血栓塞栓症である。肺血栓塞栓症は静脈系の血管内に形成された血栓が遊離して肺動脈を閉塞(塞栓)する疾患であり、その大部分は下肢の深部静脈を塞栓源としている。静脈血栓塞栓症の環境因子として、加齢、がん、長期臥床、妊娠、経口避妊薬、ホルモン補充療法、などがあげられており、遺伝因子として血液凝固、線溶やその制御に関わる因子の先天的異常があげられる。

血栓症のリスクとなる血液凝固、線溶やその制御に関わる因子の先天的異常症は、変異の頻度により、極めて頻度が低いまれな変異(very rare mutation)と、低頻度の変異(low frequency mutation)に分けることができる。極めて頻度が低いまれな変異として、静脈血栓塞栓症患者の遺伝的リスクとして確立しているアンチトロンビン欠損症、プロテインC欠損症、プロテインS欠損症が知られている。また、最近、トロンビンのアンチトロンビン結合に必要なアミノ酸が変異を起こした「アンチトロンビン抵抗性」も極めて頻度が低い血栓性素因である。低頻度の変異としては、白人種に見られる凝固第V因子 Leiden(FVL)変異(R506Q変異, Arg506Gln変異)とプロトロンビンG20210A変異、および日本人に見られるプロテインS K196E変異がある。低頻度の変異は、人種間に違いがあるので、それぞれの人種を対象にした研究が重要である。

プロテインSは、2つの作用により凝固反応を制御する。活性化プロテインC(APC)のコファクター活性と組織因子経路インヒビター(TFPI)のコファクター活性である。プロテインSは、抗凝固プロテアーゼであるAPCが活性型

第V因子および活性型第VIII因子を分解する際のコファクターとして働き、APCのプロテアーゼ活性を促進することで、抗凝固能を発揮する。また、プロテインSは、TFPIによるXa因子の阻害を促進する働きをもち、抗凝固能を発揮する。プロテインSの機能が質的あるいは量的に低下すると、止血系のバランスは血栓形成傾向に傾く。妊娠や経口避妊薬はプロテインSが低下することが知られている。

私達は、厚生労働省難治性疾患克服研究事業「血液凝固異常症に関する調査研究班」の活動を通して、プロテインSの機能低下を伴うK196E変異が静脈血栓塞栓症の遺伝的リスクであることを同定した。静脈血栓塞栓症に対して、オッズ比3.7-8.6を示す。プロテインS-K196E変異ヘテロ接合体は静脈血栓塞栓症患者173名中13名、ホモ接合体は2名見いだされた。13名のヘテロ接合体のうち5名は、プロテインC遺伝子にも変異が同定されたことから、2つの遺伝子に変異を持つことで静脈血栓塞栓症のリスクが高まると考えられ、プロテインS-K196E変異は血栓症の修飾因子であると考えられる。プロテインS-K196E変異保有者はプロテインS抗凝固活性が平均で17%低下しているものの、野生型保有者のプロテインS抗凝固活性値とオーバーラップするので、変異ヘテロ保有者はプロテインS抗凝固活性値では判別できないと考えられる。プロテインS-K196E変異は日本人約55人に1人の頻度で存在し、全国で約1万人の日本人がホモ接合体であると推定される。これまでに静脈血栓症患者の約1%(約85人に1人)にホモ接合体が同定されており、ホモ接合体ではプロテインS抗原量は正常であるが、抗凝固活性が35-39%にまで低下していた。最近の私達の研究では、本変異は白人種には見られず、加えて中国人と韓国人にも見られないことから、日本人に特有の血栓性変異であると考えられる。

私達は、日本人には線溶因子プラスミノーゲンの A620T 変異（マウスでは A622T 変異）が広く存在し、一般住民を対象とした検討では、アレル頻度 2%（約 25 人に 1 人がヘテロ接合体）と高頻度に認められることを報告してきた。本変異は中国人と韓国人にも見られるが、白人種には同定されていない。プラスミノーゲンは、フィブリン分解反応の鍵となる酵素プラスミンの前駆体であり、組織プラスミノーゲン活性化因子やウロキナーゼにより、プラスミンに変換され血栓を溶解する。A620T 変異保有者の血中プラスミノーゲン抗原量は正常値を示すものの、活性は 50-60%程度の低値を示す。このように、A620T 変異はプラスミノーゲン活性を著減させるため、変異保有者では持続的に血栓溶解能が低下する。現在まで、本変異のヘテロ接合体と血栓症との関連は示されていない。しかし、プラスミノーゲン活性の低下は血栓発症や創傷治癒を修飾する可能性がある。また、変異ホモ接合体の血栓症との関連については報告がない。

白人では、凝固第 V 因子 Leiden (FVL) 変異 (R506Q 変異) が静脈血栓塞栓症のリスク因子として広く知られている。本変異は白人一般集団に 2-15%の頻度で見られるが、日本人には見られず、人種特異的な血栓性遺伝子変異である。FVL 変異の静脈血栓塞栓症に対するオッズ比は 2.7-7.6 であり、動脈閉塞症との関連も指摘され、小児や若年者での脳梗塞との関連が報告されている。ヒト第 V 因子の R506 残基はマウスでは R504 残基であり、これを Gln 残基に置換した FVL 変異マウス (R504Q 変異マウス) が作製されている。FVL ホモ体マウスは新生児期に臓器に広範に自然発症する血栓を認め、一部のマウスは周産期に死亡する。また、ホモ体マウスは頸動脈の光惹起障害モデルや大脳動脈の FeCl<sub>3</sub> 障害モデルで、動脈血栓の亢進が報告されている。このように、白人種に見られる血栓性変異を有する FVL 変異マウスは、血栓との関連が良く研究されているので、私達が作製した遺伝子改変マウスの性状を、FVL 変異マウスと比較検討することは、人種間の血栓能の解明に重要であると考えられる。

すでに述べたように、静脈血栓塞栓症の発症リスクとなる遺伝子変異は人種間で異なることが、私達の研究などから明らかとなってきた。これらの人種特異的な血栓性遺伝子変異の研究は、それぞれの人種の血栓症の理解を高める。また、これらの人種特異的な血栓性遺伝子変異は、血栓症の発症予防と治療に関係すると考えら

れるが、ヒトを対象とした研究には限界がある。

白人種に見られる FVL 変異を保有するモデルマウスは既に確立され解析されているが、日本人に見られるプロテイン S-K196E 変異、および日本人を含めた東アジア人に見られるプラスミノーゲン A620T 変異を有するマウスは未だ作製されていない。

本研究では、これらの遺伝子変異をもつマウスを作製し、その血栓能を評価することにより、日本人に特異的な血栓性遺伝子変異がどのように血栓症に関与するか明らかにすることを目的とする。すなわち、本研究では、プロテイン S-K196E 変異マウス、プロテイン S 遺伝子欠損マウス、プラスミノーゲン-A622T 変異マウスを作製し、これらの血栓形成能を野生型マウスおよび FVL 変異マウスと比較検討することにより、日本人の血栓症における血栓性変異の位置づけを明確にする。また、本研究は変異保有者の血栓症発症の最適な予防・治療法を開発するための疾患モデルの確立につながる。また、これらの疾患モデルマウスを（独）医薬基盤研究所に登録・寄託することにより資源化を図る。

## B. 研究方法 使用動物

野生型マウス (C57BL/6J)、プロテイン S-K196E 変異 (c. 586A>G) ヘテロ接合体マウス (自ら作製)、プロテイン S-K196E 変異ホモ接合体マウス (自ら作製)、プロテイン S 遺伝子欠損ヘテロ接合体マウス (自ら作製)、プラスミノーゲン-A622T 変異 (c. 1864G>A) ホモ接合体マウス (自ら作製) および凝固第 V 因子-R504Q 変異ホモ接合体マウス (Jackson 研究所から購入) の合計 6 系統を解析対象とした。本研究に使用する全てのマウスは C57BL/6J 系統の遺伝的背景に均一化し、遺伝的背景がそろったマウスで実験を行った。

### 血液学的性状の解析

#### 血漿プロテイン S 抗凝固活性と抗原量の測定

マウスからクエン酸採血後、1000×g、10 分間遠心分離して血漿を回収した。マウス血漿に段階希釈した組換え体マウス活性化プロテイン C (Scripps 研究所 Griffin 博士より恵与された) を添加して 37°C、1 分間反応後、活性化部分トロンボプラスチン時間測定試薬を加えて凝固時間を測定し、活性化プロテイン C 添加による凝固時間延長を指標にプロテイン S 活

性を算出した。また、抗ヒトプロテインSポリクローナル抗体を用いたELISAにより、血漿プロテインS抗原量を測定した。

### 血漿プラスミノゲン活性と抗原量の測定

マウス血漿に 0.1 N 塩酸を加えて酸性化後、等量の 0.1 N NaOH で中和した。この血漿にヒトウロキナーゼを添加してプラスミノゲンをプラスミンに活性化した後、合成基質(S-2403)切断活性を血漿プラスミノゲン活性として測定した。また、血漿プラスミノゲン抗原量を Mouse Plasminogen Total Antigen EIA Kit (Oxford Biomedical Research) を用いて測定した。

### 血漿フィブリン塊溶解活性の測定

マウス血漿にヒト組織型プラスミノゲンアクチベーターを加えて室温、30分間反応することによりプラスミノゲンをプラスミンに活性化後、トロンビンと塩化カルシウムを添加してフィブリン形成を惹起し、波長 405 nm の吸光度変化を5分間隔でモニターした。吸光度はフィブリン形成により一旦上昇するが、プラスミンによる分解で緩やかに低下する。この吸光度変化を元にフィブリン塊溶解活性を測定した。

### 組織因子および長鎖無機ポリリン酸惹起肺塞栓モデル

プロテインS遺伝子改変マウスに、外因系凝固を活性化する組織因子または内因系凝固を活性化する長鎖無機ポリリン酸を下大静脈から投与することで肺塞栓を惹起し、呼吸停止までの時間を20分間測定して生存率をもとめた。また、呼吸停止2分後に右心室から Evans blue を注入し、肺全体の染色像から肺血管閉塞スコア(0 = 閉塞無し~4 = 完全閉塞の5段階)を判定した。

プラスミノゲン-A622T 変異マウスでは、組織因子を下大静脈から投与することで肺塞栓を惹起し、同様の方法で生存率および肺血管閉塞スコアを求めた。

### 下大静脈電気刺激誘発深部静脈血栓モデル

プロテインS遺伝子改変マウスでは、下大静脈にステンレス電極を挿入して 200 $\mu$ A・10分間通電した。電極の電気分解の結果生じるフリーラジカルにより、血管内皮細胞が活性化し、血

栓形成が誘発される。生じる血栓が最大となる処置2日目に採血して末梢血血小板数を測定後、実体顕微鏡下に下大静脈内血栓を取り出し、その重量を測定した。また、血漿中の凝固活性化マーカーとしてトロンビン-アンチトロンビン複合体濃度、炎症マーカーとしてインターロイキン-6濃度を測定した。

プラスミノゲン-A622T 変異マウスでは、下大静脈にステンレス電極を挿入して 250  $\mu$ A・15分間通電した。処置2日後に血栓重量および末梢血血小板数を測定した。また、血栓の退縮、溶解に対する変異の影響を解析するため、処置7日後のマウスについても同様の解析を行った。

### 三血管閉塞法による局所脳虚血再灌流モデル

マウス左中大脳動脈 M1 末端部を電気焼灼して閉塞した。両側総頸動脈を血管クリップで一過性に閉塞することで、左中大脳動脈支配領域に局所虚血を誘導し、15分後にクリップを外して再灌流させた。虚血負荷 24 時間後に神経学的スコアの判定を行った後、脳を摘出してトリフェニルテトラゾリウムクロライドによる生細胞染色を用いて脳梗塞巣体積、浮腫率を判定した。

### 創傷治癒モデル

マウス背部を剃毛し、生検トレパンを用いて直径 5 mm の皮膚全層欠損創を一匹あたり 4ヶ所作製した。各創部の面積を経日的に2週間測定し、治癒過程の進行度に違いが見られるか解析した。

### 二重変異マウスの作製

日本人に高頻度で認められるプロテインS-K196E 変異とプラスミノゲン-A620T 変異は相乗的に作用して病状を悪化させる可能性がある。そこでプロテインS-K196E 変異マウスとプラスミノゲン-A622T 変異マウスの交配により、二重変異マウスを作製した。

(倫理面への配慮)

本研究は国立循環器病研究センター遺伝子組換え実験安全委員会および動物実験委員会の承認を得て実施した。また、動物愛護の観点から、マウスに与える苦痛を最小限にするよう配慮して進めた。

### C. 研究結果

#### プロテインS遺伝子改変マウスの結果



(プロテイン S-K196E 変異マウス、プロテイン S 遺伝子欠損マウス)

### 血漿プロテイン S 抗凝固活性と抗原量

プロテイン S-K196E 変異マウスのヘテロ接合体は、抗凝固活性 82%、抗原量 98%を示し、ホモ接合体は、抗凝固活性 67%、抗原量 96%を示した。プロテイン S 遺伝子欠損マウスのヘテロ接合体は、抗凝固活性 54%、抗原量 58%を示した。ホモ接合体マウスは、致死であった。

### 組織因子およびポリリン酸惹起肺塞栓モデル

組織因子投与により急性肺塞栓誘発後の生存率 (N = 17) は、野生型マウスで 88.2%、プロテイン S-K196E ヘテロ変異マウスで 47.1%、ホモ変異マウスで 35.3%、プロテイン S ヘテロ欠損マウスで 35.3%、凝固第 V 因子-R504Q ホモ変異マウスで 23.5%であり、4 種類の遺伝子変異マウスで野生型マウスに比べて低下した。

同様にポリリン酸投与後の生存率 (N = 16) も野生型マウス (81.3%) に比べて、プロテイン S-K196E ヘテロ変異マウス (37.5%)、ホモ変異マウス (25%)、プロテイン S ヘテロ欠損マウス (31.3%)、凝固第 V 因子-R504Q ホモ変異マウス (18.8%) で低下した。4 種類の遺伝子変異マウスでは、いずれも肺血管閉塞スコアが野生型マウスに比べて上昇しており、肺塞栓症状が重症化していた。

### 下大静脈電気刺激誘発深部静脈血栓モデル

深部静脈血栓症誘発後に形成された血栓重量 (平均値±標準偏差, N = 12) は野生型マウス ( $3.6 \pm 1.6$ g) に比べて、プロテイン S-K196E ホモ変異マウス ( $15.7 \pm 11.9$ g)、プロテイン S ヘテロ欠損マウス ( $15.9 \pm 10.2$ g)、凝固第 V 因子-R504Q ホモ変異マウス ( $15.8 \pm 9.7$ g) で増加した。これらのマウスでは消耗性と考えられる血小板減少 (プロテイン S-K196E ホモ変異マウス:  $46.6 \pm 31.8$ 、プロテイン S ヘテロ欠損マウス:  $36.6 \pm 35.0$ 、凝固第 V 因子-R504Q ホモ変異マウス:  $34.2 \pm 24.2 \times 10^4/\mu\text{L}$ ) も野生型マウス ( $116.2 \pm 28.8 \times 10^4/\mu\text{L}$ ) に比べて重篤化した。プロテイン S-K196E ヘテロ変異マウスの血栓重量 ( $8.1 \pm 6.8$ g) は野生型マウスと有意差はみられなかったが、血小板数 ( $76.3 \pm 33.6 \times 10^4/\mu\text{L}$ ) は減少した。プロテイン S-K196E ホモ変異マウス、プロテイン S ヘテロ欠損マウス、凝固第 V 因子-R504Q ホモ変異マウスでは、血漿トロンビン-アンチトロンビン複

合体およびインターロイキン-6 濃度が野生型マウスに比べて上昇しており、凝固反応や炎症反応の活性化に伴って静脈血栓形成が亢進したと考えられた。

### 三血管閉塞法による局所脳虚血再灌流モデル

虚血負荷 24 時間後の脳梗塞巣体積は、プロテイン S-K196E 変異のヘテロ接合体、ホモ接合体、プロテイン S 欠損のヘテロ接合体マウスでは野生型マウスと違いは認められなかった。脳浮腫率および神経学的スコアも 3 種類のプロテイン S 遺伝子改変マウスと野生型マウスで違いはなかった。一方、同じ脳虚血再灌流障害モデルを用いて凝固第 V 因子-R504Q 変異マウスを解析した場合、ホモ接合体マウスだけでなくヘテロ接合体マウスでも、野生型マウスと比べて著明な脳梗塞症状の悪化が認められた。野生型マウスは虚血負荷 6 日後までは全個体が生存し、7 日後の生存率は 71.4%であった。一方、凝固第 V 因子-R504Q 変異ヘテロ接合体マウスでは 4 日後から、ホモ接合体マウスでは 2 日後から死亡個体が現れ、7 日後の生存率は共に 28.6%であり、野生型マウスに比べて低下した。このように凝固第 V 因子-R504Q 変異はマウスの虚血性脳梗塞を悪化させるが、プロテイン S K196E 変異およびヘテロ欠損は脳梗塞症状に影響しないことが明らかとなった。

### プラスミノーゲン-A622T 変異マウスの結果

#### 血漿プラスミノーゲン活性と抗原量および血漿フィブリン塊溶解活性

プラスミノーゲン-A622T 変異ホモ接合体マウスは、血漿プラスミノーゲン活性 8%、抗原量 48%を示した。組織プラスミノーゲン活性化因子依存性のフィブリン塊溶解活性も野生型マウスに比べて低下した。

#### 深部静脈血栓症モデル

深部静脈血栓症モデル実験において、処置 2 日後の血栓重量 (平均値±標準偏差, N = 10) は、野生型マウスで  $8.2 \pm 5.4$ g、プラスミノーゲン-A622T 変異ホモ接合体マウスで  $10.0 \pm 6.4$ g であり、両群間に有意差は認められなかった。血小板減少の程度も群間で違いがなかったことから、プラスミノーゲン-A622T 変異は深部静脈血栓症の増悪要因ではないと考えられた。また、処置 7 日後の血栓重量 (N = 5) も野生型マウスで  $5.4 \pm 3.5$ g、プラスミノーゲ

ン-A622T 変異ホモ接合体マウスで  $5.4 \pm 4.6$ g と群間に違いは無く、プラスミノージェン-A622T 変異による血栓退縮の遅延も見られなかった。

### 肺塞栓モデル

肺塞栓モデル実験において、組織因子投与後の生存率は野生型マウス (N = 18) で 83.3%、プラスミノージェン-A622T 変異ホモ接合体マウス (N = 20) で 80.0% であり、両群間に差は認められなかった。肺血管閉塞スコアも、野生型マウスで  $1.86 \pm 1.47$ 、プラスミノージェン-A622T 変異ホモ接合体マウスで  $2.25 \pm 1.60$  と、群間に有意差は見られなかった。したがって、プラスミノージェン-A620T 変異は肺塞栓症状悪化の原因とはならないと考えられた。

### 三血管閉塞法による局所脳虚血再灌流モデル

局所脳虚血再灌流実験において、虚血負荷 24 時間後の脳梗塞単体積 (平均値 ± 標準偏差, N = 10) は、野生型マウスで  $28.8 \pm 5.8$  mm<sup>3</sup>、プラスミノージェン-A622T 変異ホモ接合体マウスで  $30.5 \pm 7.1$  mm<sup>3</sup> であり、両群間に有意差は認められなかった。脳浮腫率および神経学的スコアも群間で違いが無かったことから、プラスミノージェン-A620T 変異は脳梗塞の増悪要因ではないと考えられた。

### 創傷治癒モデル

皮膚創傷モデル実験において、作製した皮膚創は野生型マウス、プラスミノージェン-A622T 変異ホモ接合体マウスで共に 12~14 日でほぼ完全に修復された。創面積の経日変化にも、両群間で違いは無く、プラスミノージェン-A620T 変異は創傷治癒遅延の原因とはならないと考えられた。

### 二重変異マウスの作製

プロテイン S-K196E 変異マウスとプラスミノージェン-A622T 変異マウスの交配により二重変異マウスを作製した結果、両変異共にホモ接合体となったマウスも出生、発育可能なことが確認できた。

### 医薬基盤研究所への遺伝子改変マウスの登録

本研究で樹立したプロテイン S 遺伝子改変マウスおよびプラスミノージェン-A622T 変異マウスを国内外の研究者に譲渡するため、(独) 医薬基盤研究所メディカル・バイオリソース・

データベースに登録した。

### D. 考察

プロテイン S-K196E 変異ホモ接合体マウスは、抗凝固活性 67%、抗原量 96% を示した。プロテイン S-K196E 変異マウスは、FV-R504Q 変異マウスと同様に、野生型マウスに比べ、組織因子およびポリリン酸の静脈投与による肺血管の閉塞が進行し、高い死亡率を示した。また、深部静脈血栓モデルにおいても、プロテイン S-K196E 変異マウスおよび FV-R504Q 変異マウスは、野生型マウスに比べて重篤な症状を呈した。したがって、プロテイン S-K196E 変異が静脈血栓症の重症化の要因になることが明らかになった。しかし、FV-R504Q 変異マウスとは異なり、局所脳虚血再灌流モデルでの悪化は見いだせなかった。凝固第 V 因子-Leiden 変異は白人の若年性脳梗塞のリスク要因として報告されているが、プロテイン S-K196E 変異と脳梗塞との関連を示す報告はない。プロテイン S-K196E 変異マウスはこれと矛盾しない表現型を呈しており、日本人の血栓傾向の特徴を反映したモデルであると考えられる。

プラスミノージェン-A622T 変異ホモ接合体マウスでは、血漿プラスミノージェンの抗原量は 48%、活性は 8% に低下しており、血漿フィブリン塊溶解活性も低下していた。しかし、プラスミノージェン-A622T 変異ホモ接合体マウスは、組織因子惹起肺梗塞モデル、局所脳虚血再灌流モデル、深部静脈血栓モデル、創傷治癒モデル、いずれの血栓・創傷治癒モデルでも野生型マウスと比較して血栓形成能・創傷治癒能の亢進を認めなかった。したがって、マウスではプラスミノージェン-A622T 変異はこれらの疾患の増悪要因とはならず、一次的な血栓リスクとはならないと考えた。しかし、1978 年に報告されたプラスミノージェン-A620T 変異ヘテロ保有者 (発端者) は血栓症を続発するので、血栓形成を助長する要因が重なった場合には血栓症が起ると考えられる。本研究で樹立したプラスミノージェン-A622T 変異マウスは、血栓形成を修飾する未知の環境要因もしくは遺伝要因の解明に有用であると考えた。

本研究で、プロテイン S-K196E とプラスミノージェン-A622T の二重変異マウスを樹立したので、今後血栓修飾因子としてのプラスミノージェン-A620T 変異を検討する準備が整った。今後 2 つの変異の相乗効果を検討したい。

本研究で確立した電気分解による下大静脈

内皮障害による深部静脈血栓症モデルは再現性が高い血栓症モデルである。本法は未だ広く使用されていない手法であるが、その有用性は高いと考えられ、国内での本法の普及に努めたい。

本研究で樹立したプロテインS遺伝子改変マウスおよびプラスミノゲン-A622T変異マウスを国内外の研究者に譲渡するため、(独)医薬基盤研究所メディカル・バイオリソース・データベースに登録した。

研究代表者である宮田敏行は医薬基盤研究所との連携を強化するため、医薬基盤研究所にて「疾患モデルマウスを用いた血栓性疾患の研究」の講演を行った。また、分担研究者である坂野史明は、本研究の成果を国際血栓止血学会SSC委員会(アムステルダム)、日本血栓止血学会SPC委員会シンポジウム(山形市)、日本血栓止血学会SSC委員会シンポジウム(東京都)で報告した(いずれも口演)。研究協力者の田嶋優子は、本研究の成果を国際血栓止血学会(アムステルダム)、日本血栓止血学会(山形市)、Gordon Research Conference, Plasminogen Activation & Extracellular Proteolysis(口演, Ventura, CA)で報告した。こういった活動を通して、日本人に見られる血栓性素因を国内外に積極的に情報発信した。

## E. 結論

本研究では、プロテインS-K196E変異マウス、プロテインS遺伝子欠損マウス、プラスミノゲン-A622T変異マウスを作製した。プロテインS遺伝子ホモ欠損マウスは致死であったが、プロテインS-K196E変異マウスおよびプラスミノゲン-A622T変異マウスのホモ接合体は正常に発育し繁殖も可能であった。これらの日本人に見られる血栓関連因子の変異を保有するマウスの血栓形成能を、野生型マウスおよび白人に広く見られる凝固第V因子Leiden変異(FVL変異)マウスと比較検討した。

プロテインS-K196Eヘテロ変異マウスおよびホモ変異マウスは、プロテインS抗原量は正常であるが抗凝固能は低下していた。組織因子およびポリリン酸により惹起した肺塞栓モデルでの生存率は、プロテインS-K196Eヘテロ変異マウス、ホモ変異マウス、プロテインSヘテロ欠損マウス、凝固第V因子-R504Qホモ変異マウスで野生型マウスに比べて低下していた。深部静脈血栓モデルでは、血栓の重量は、野生型マウスに比べて、プロテインS-K196Eホモ変異マウス、プロテインSヘテロ欠損マウス、第V

因子-R504Qホモ変異マウスで増加した。これらのマウスでは、消耗性と考えられる血小板減少も野生型マウスに比べて重篤化した。一方、プロテインS-K196Eヘテロ変異マウスでの深部静脈血栓モデルでは、血小板数は減少したものの、血栓重量は野生型マウスと有意差はみられず、血栓傾向が軽度であることを示した。これらの結果から、プロテインS-K196E変異は血栓症の増悪要因になると考えられた。一方、局所脳虚血再灌流モデルでは、第V因子-R504Qホモ変異マウスで梗塞巣が拡大したが、プロテインS-K196E変異マウスとプロテインS遺伝子欠損マウスのいずれも梗塞巣の拡大を認めなかった。

第V因子Leiden変異を持つヒトを対象にした研究では、第V因子Leiden変異は心筋梗塞や能梗塞などの動脈血栓症の主要なリスクではないことが示されている。しかし、若年者もしくは他の心血管系リスク保有者を対象にした研究では、第V因子Leiden変異は特に喫煙と重なった場合に心筋梗塞のリスクになると報告されている。脳梗塞では、若年発症者ではリスクになるとの報告がある。また、第V因子Leiden変異と他の心血管系リスクが重なる場合、例えば経口避妊薬を服用する若年女性では、変異保有者の脳梗塞のリスクが9-13倍上昇すると報告されている。一方、プロテインS-K196E変異が心筋梗塞や脳梗塞などの動脈血栓症のリスクとなる研究は、未だ報告されていない。今後、プロテインS-K196E変異に関して、若年の心筋梗塞や脳梗塞の発症者を対象に、喫煙や経口避妊薬などの環境因子との関連を調べる臨床研究が待たれる。

プラスミノゲン-A622Tホモ変異マウスは、プラスミノゲン活性は8%、抗原量は48%と低下し、血漿フィブリン塊溶解活性も低下していた。しかし、本マウスは、肺塞栓誘発モデル、深部静脈血栓症モデル、脳虚血再灌流モデルのいずれのモデルにおいても、野生型マウスと血栓能の差異は見いだせなかった。また、創傷治癒モデルでも治癒の停滞を認めなかった。創傷治癒モデルは幾つかあるので、慎重に議論する必要があるかもしれないが、現時点では、日本人を含む東アジア人に高頻度に見られるプラスミノゲン-A622T変異は線溶活性の低下をもたらすものの、少なくとも単独では血栓症を悪化させる要因とはならないと考えられる。

本研究により、プロテインS-K196E変異およびプラスミノゲン-A622T変異のマウスの血栓症における役割を明らかにできたが、両変異を保有する二重変異マウス、および血栓傾向を

示す環境因子（例えば、ストレスなど）を負荷したマウスに関しては、今後検討が必要である。すなわち、プロテインS-K196E変異とプラスミノーゲン-A622T変異が、血栓症のmodifierとして働くことを想定した研究が必要と考える。特に、環境因子を負荷した場合のmodifierとしての遺伝子変異の研究はヒトの血栓症の理解に大きく貢献するものと考え。本研究で樹立した遺伝子改変マウスは、こういったmodifierの研究に必須である。こうした観点から、本研究により日本人の血栓症の特異性を解明する基盤を整備することができた意義は大きいと考える。また、プロテインS-K196E変異とプラスミノーゲン-A622T変異を保有する二重変異マウスの樹立に成功した。今後、このマウスの性状を解析する予定である。

プロテインS遺伝子改変マウスとプラスミノーゲン-A622Tマウスを（独）医薬基盤研究所メディカル・バイオリソース・データベースに登録した。今後、医薬基盤研究所を通して、私達が作製した遺伝子改変マウスが広く研究に使われることを期待している。最終的には、マウスで得られた結果がヒトの血栓症の理解に繋がることを期待している。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

Hatori M, Hirota T, Iitsuka M, Kurabayashi N, Haraguchi S, Kokame K, Sato R, Nakai A, Miyata T, Tsutsui K, Fukada Y: Light-dependent and circadian clock-regulated activation of SREBP, XBP1 and HSF pathways in the pineal gland. Proc Natl Acad Sci USA, 108(12), 4864-4869, 2011.

Rybaltowski M, Suzuki Y, Mogami H, Chlebinska I, Brzoska T, Tanaka A, Banno F, Miyata T, Urano T: In vivo imaging analysis of the interaction between unusually large von Willebrand factor multimers and platelets on the surface of vascular wall. Pflugers Arch, 461(6), 623-633, 2011.

Fujimura Y, Matsumoto M, Isonishi A, Yagi H, Kokame K, Soejima K, Murata M, Miyata T: Natural history of Upshaw-Schulman syndrome based on *ADAMTS13* gene analysis in Japan (review). J Thromb Haemost, 9 (Suppl. 1), 283-301, 2011.

Kokame K, Sakata T, Kokubo Y, Miyata T: von Willebrand factor-to-ADAMTS13 ratio increases with age in a Japanese population. J Thromb Haemost, 9(7), 1426-1428, 2011.

Yamamoto H, Kokame K, Okuda T, Nakajo Y, Yanamoto H, Miyata T: NDRG4 protein-deficient mice exhibit spatial learning deficits and vulnerabilities to cerebral ischemia. J Biol Chem, 286(29), 26158-26165, 2011.

Neki R, Fujita T, Kokame K, Nakanishi I, Waguri M, Imayoshi Y, Suehara N, Ikeda T, Miyata T: Genetic analysis of patients with deep vein thrombosis during pregnancy and postpartum. Int J Hematol, 94(2), 150-155, 2011.

Kokame K, Kokubo Y, Miyata T: Polymorphisms and mutations of *ADAMTS13* in the Japanese population and estimation of the number of patients with Upshaw-Schulman syndrome. J Thromb Haemost, 9(8), 1654-1656, 2011.

Yin T, Miyata T: Pharmacogenomics of clopidogrel: Evidence and perspectives (review). Thromb Res, 128(4), 307-316, 2011.

Shono Y, Yokota C, Kuge Y, Kido S, Harada A, Kokame K, Inoue H, Hotta M, Hirata K, Saji H, Tamaki N, Minematsu K: Gene expression associated with an enriched environment after transient focal ischemia. Brain Res, 1376, 60-65, 2011.

Hirata K, Kuge Y, Yokota C, Harada A, Kokame K, Inoue H, Kawashima H, Hanzawa H, Shono Y, Saji H, Minematsu K, Tamaki N: Gene and protein analysis of brain derived neurotrophic factor expression in relation to neurological recovery induced by an enriched environment in a rat stroke model. Neurosci Lett, 495, 210-215, 2011.

Marutani T, Maeda T, Tanabe C, Zou K, Araki W, Kokame K, Michikawa M, Komano H: ER-stress-inducible Herp, facilitates the degradation of immature nicastrin. Biochim Biophys Acta, 1810, 790-798, 2011.

Takeichi T, Takarada-Iemata M, Hashida K, Sudo H, Okuda T, Kokame K, Hatano T, Takanashi M, Funabe S, Hattori N, Kitamura O, Kitao Y, Hori O: The effect of NdrG2

- expression on astroglial activation. *Neurochem Int*, 59, 21-27, 2011.
- 宮田敏行、岡本 章、小久保喜弘「加齢とプロテインS」臨床検査、第55巻、第4号、407-409頁、2011年
- 宮田敏行「二次止血：凝固のメカニズム」カレントセラピー、第29巻、第6号、12-15頁、2011年
- 宮田敏行、喜多俊行「DICと外因系凝固反応、マイクロパーティクル」医学のあゆみ、第238巻、第1号、5-9頁、2011年
- 宮田敏行、宮田茂樹、嘉田晃子、長束一行「アスピリンレジスタンス」循環器病研究の進歩、第32巻、第1号、43-53頁、2011年
- 小亀浩市：日本人のADAMTS13. 日本血栓止血学会誌 22, 368-373, 2011年
- Miyata T, Hamasaki N, Wada H, Kojima T: More on: racial differences in venous thromboembolism. *J Thromb Haemost*, 10(2), 319-320, 2012.
- Banno F, Nojiri T, Matsumoto S, Kamide K, Miyata T: RGS2 deficiency in mice does not affect platelet thrombus formation at sites of vascular injury. *J Thromb Haemost*, 10(2), 309-311, 2012.
- Eura Y, Yanamoto H, Arai Y, Okuda T, Miyata T, Kokame K: Derlin-1 deficiency is embryonic lethal, Derlin-3 deficiency appears normal, and Herp deficiency is intolerant to glucose load and ischemia in mice. *PLoS ONE*, 7(3), e34298, 2012.
- Miyata T: Guest editorial: current understanding of thrombosis and hemostasis—from bench to bedside. *Int J Hematol*, 95(4), 331-332, 2012.
- Kita T, Banno F, Yanamoto H, Nakajo Y, Iihara K, Miyata T: Large infarct and high mortality by cerebral ischemia in mice carrying the factor V Leiden mutation. *J Thromb Haemost*, 10(7), 1453-1455, 2012.
- Sato T, Sako Y, Sho M, Momohara M, Suico MA, Shuto T, Nishitoh H, Okiyonedo T, Kokame K, Kaneko M, Taura M, Miyata M, Chosa K, Koga T, Morino-Koga S, Wada I, Kai H: STT3B-dependent posttranslational N-glycosylation as a surveillance system for secretory protein. *Mol Cell*, 47(1), 99-110, 2012.
- Miyata T, Fan X: A second hit for TMA. *Blood*, 120(6), 1152-1154, 2012.
- Yokoyama K, Kojima T, Sakata Y, Kawasaki T, Tsuji H, Miyata T, Okamoto S, Murata M: A survey of the clinical course and management of Japanese patients deficient in natural anticoagulants. *Clin Appl Thromb Hemost*, 18(5), 506-513, 2012.
- Shin Y, Akiyama M, Kokame K, Soejima K, Miyata T: Binding of von Willebrand factor cleaving protease ADAMTS13 to Lys-plasmin(ogen). *J Biochem*, 152(3), 251-258, 2012.
- Fujioka M, Nakano T, Hayakawa K, Irie K, Akitake Y, Sakamoto Y, Mishima K, Muroi C, Yonekawa Y, Banno F, Kokame K, Miyata T, Nishio K, Okuchi K, Iwasaki K, Fujiwara M, Siesjö BK: ADAMTS13 gene deletion enhances plasma high-mobility group box1 elevation and neuroinflammation in brain ischemia-reperfusion injury. *Neurol Sci*, 33(5), 1107-1115, 2012.
- Doi M, Matsui H, Takeda Y, Saito Y, Takeda M, Matsunari Y, Nishio K, Shima M, Banno F, Akiyama M, Kokame K, Miyata T, Sugimoto M: ADAMTS13 safeguards the myocardium in a mouse model of acute myocardial infarction. *Thromb Haemost*, 108(6), 1236-1238, 2012.
- 宮田敏行、喜多俊行「VI. 凝固線溶系 3. 内因系凝固反応と血栓症」Annual Review 血液 2012、高久史磨・小澤敬也・坂田洋一・金倉 讓・小島勢二 編集、中外医学社、236-244 頁、2012年
- 田中智貴、神吉秀明、山本晴子、豊田一則、宮田敏行、長束一行「脳卒中診療医における観血的処置時の抗血栓薬の休養に関する多施設アンケート調査結果」脳卒中、第34巻、第3号、147-155頁、2012年
- 宮田敏行「遺伝子多型と抗凝固・抗血小板薬」Modern Physician 第32巻、第6号、749-752頁、2012年
- 宮田敏行「血栓性素因の成因と病態」第35回シスメックス学術セミナー要旨、5-17頁、2012年

- 宮田敏行、松本雅則「von Willebrand 因子と ADAMTS13」内科、第 110 巻、第 1 号、87-90 頁、2012 年
- 宮田敏行、長束一行「抗血栓薬に対する遺伝子多型の影響」月刊薬事、第 54 巻、第 7 号、71-75 頁、2012 年
- 宮田敏行、小亀浩市、秋山正志、坂野史明、中山大輔、武田壮一「ADAMTS13 研究の最先端」臨床血液、第 53 巻、第 7 号、672-679 頁、2012 年
- 小亀浩市、宮田敏行「小胞体ストレスと循環器疾患」生体の科学、第 63 巻、第 5 号、390-391 頁、2012 年
- 小亀浩市「重度高ホモシステイン血症マウスは血栓傾向を示さないというパラドックス」日本血栓止血学会誌、第 23 巻、第 4 号、416 頁、2012 年
- 秋山正志、平井秀憲、宮田敏行「プラスミノーゲンの立体構造」日本血栓止血学会誌、第 23 巻、第 5 号、516-519 頁、2012 年
- 宮田敏行、樋口由佳「血栓の病理と病態」Vascular Lab、第 9 巻、第 6 号、70-73 頁、2012 年
- 杉本充彦、土井政明、松井英人、宮田敏行「マウス急性心筋梗塞モデルにおける ADAMTS13 の心筋保護作用」日本血栓止血学会誌、第 23 巻、第 6 号、590-593 頁、2012 年
- 西村 仁、平井秀憲、宮田敏行「凝固 XI 因子の構造と機能」日本血栓止血学会誌、第 23 巻、第 6 号、594-598 頁、2012 年
- Miyata T, Kokame K, Matsumoto M, Fujimura Y: ADAMTS13 activity and genetic mutations in Japan. *Hämostaseologie*, 33(2), 131-137, 2013.
- Fan X, Yoshida Y, Honda S, Matsumoto M, Sawada Y, Hattori M, Hisanaga S, Hiwa R, Nakamura F, Tomomori M, Miyagawa S, Fujimaru R, Yamada H, Sawai T, Ikeda Y, Iwata N, Uemura O, Matsukuma E, Aizawa Y, Harada H, Wada H, Ishikawa E, Ashida A, Nangaku M, Miyata T, Fujimura Y: Analysis of genetic and predisposing factors in Japanese patients with atypical hemolytic uremic syndrome. *Mol Immunol*, 54(2), 238-246, 2013.
- Satoh Y, Yokota T, Sudo T, Kondo M, Lai A, Kincade PW, Kouro T, Iida R, Kokame K, Miyata T, Habuchi Y, Matsui K, Tanaka H, Matsumura I, Oritani K, Kohwi-Shigematsu T, Kanakura Y: The Satb1 Protein Directs Hematopoietic Stem Cell Differentiation toward Lymphoid Lineages. *Immunity*, 38(6), 1105-1115, 2013.
- Akiyama M, Nakayama D, Takeda S, Kokame K, Takagi J, Miyata T: Crystal structure and enzymatic activity of an ADAMTS-13 mutant with the East Asian-specific P475S polymorphism. *J Thromb Haemost*, 11(7), 1399-1406, 2013.
- Mise K, Ubara Y, Matsumoto M, Sumida K, Hiramatsu R, Hasegawa E, Yamanouchi M, Hayami N, Suwabe T, Hoshino J, Sawa N, Ohashi K, Kokame K, Miyata T, Fujimura Y, Takaichi K: Long term follow up of congenital thrombotic thrombocytopenic purpura (Upshaw-Schulman syndrome) on hemodialysis for 19 years: a case report. *BMC Nephrol*, 14(156), 5 pages, 2013.
- Liu W, Yin T, Okuda H, Harada KH, Li Y, Xu B, Yang J, Wang H, Fan X, Koizumi A, Miyata T: Protein S K196E mutation, a genetic risk factor venous thromboembolism, is limited to Japanese. *Thromb Res*, 132, 314-315, 2013.
- Muratsu J, Morishima A, Mizoguchi K, Ataka K, Yamamoto H, Fan X, Miyata T, Sakaguchi K: Budd-Chiari syndrome with multiple thrombi due to a familial Arg42Ser mutation in the protein C gene. *Case Reports in Medicine*, Volume 2013, Article ID 270419, 6 pages, 2013.
- Shinozaki S, Chiba T, Kokame K, Miyata T, Kaneko E, Shimokado K: A deficiency of Herp, an endoplasmic reticulum stress protein, suppresses atherosclerosis in apoE knockout mice by attenuating inflammatory responses. *PLoS ONE*, 8(10), e75249, 2013.
- Kamide K, Asayama K, Katsuya T, Ohkubo T, Hirose T, Inoue R, Metoki H, Kikuya M, Obara T, Hanada H, Thijs L, Kuznetsova T, Noguchi Y, Sugimoto K, Ohishi M, Morimoto S, Nakahashi T, Takiuchi S, Ishimitsu T, Tsuchihashi T, Soma M, Higaki J, Matsuura H, Shinagawa T, Sasaguri T, Miki T, Takeda K, Shimamoto K, Ueno M, Hosomi N, Kato J, Komai N, Kojima S, Sase K, Miyata T, Tomoike H, Kawano Y, Ogiwara T, Rakugi H, Staessen JA,

- Imai Y: Genome-wide response to antihypertensive medication using home blood pressure measurements: a pilot study nested within the HOMED-BP study. *Pharmacogenomics*, 14(14), 1709-1721, 2013.
- Honda S, Shirotani-Ikejima H, Tadokoro S, Tomiyama Y, Miyata T: The integrin-linked kinase-PINCH-parvin complex supports integrin  $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$  activation. *PLoS ONE*, 8(12), e85498, 2013.
- Takizawa Y, Kosuge Y, Awaji H, Tamura E, Takai A, Yanai T, Yamamoto R, Kokame K, Miyata T, Nakata R, Inoue H: Up-regulation of endothelial nitric oxide synthase (eNOS), silent mating type information regulation 2 homologue 1 (SIRT1) and autophagy-related genes by repeated treatments with resveratrol in human umbilical vein endothelial cells. *Br J Nutr*, 110(12), 2150-2155, 2013.
- Bernasconi R, Galli C, Kokame K, Molinari M: Autoadaptive ER-Associated Degradation Defines a Preemptive Unfolded Protein Response Pathway. *Mol Cell*, 52(6), 783-793, 2013.
- Tanaka H, Tenkumo C, Mori N, Kokame K, Fujimura Y, Hata T: Case of maternal and fetal deaths due to severe congenital thrombotic thrombocytopenic purpura (Upshaw-Schulman syndrome) during pregnancy. *J Obstet Gynaecol Res*, 40(1), 247-249, 2014.
- Morioka M, Matsumoto M, Saito M, Koichi Kokame, Toshiyuki Miyata, Yoshihiro Fujimura: A first bout of thrombotic thrombocytopenic purpura triggered by herpes simplex infection in a 45-year-old nulliparous female with Upshaw-Schulman syndrome. *Blood Transfus*, in press.
- Larkin J, Chen B, Shi XH, Mishima T, Kokame K, Barak Y, Sadovsky Y: EN-13-1425/NDRG1 deficiency attenuates fetal growth and the intrauterine response to hypoxic injury. *Endocrinology*, in press.
- Eura Y, Kokame K, Takafuta T, Tanaka R, Kobayashi M, Fujimura Y, Miyata T: Candidate Gene Analysis Using Genomic Quantitative PCR: Identification of ADAMTS13 Large Deletions in Two Patients with Upshaw-Schulman Syndrome. *Molecular Genetics & Genomic Medicine*, in press.
- Yin T, Miyata T: Dysfunction of protein C anticoagulant system, main genetic risk factor for venous thromboembolism in Northeast Asians. *J Thromb Thrombolysis*. 2013 Nov 15. [Epub ahead of print]
- Neki R, Miyata T, Fujita T, Kokame K, Fujita D, Isaka S, Ikeda T, Yoshimatsu J: Nonsynonymous mutations in three anticoagulant genes in Japanese patients with adverse pregnancy outcomes, *Thromb Res*, in press.
- 宮田敏行、松本雅則「ADAMTS13 と von Willebrand 因子」カレントセラピー、第 31 巻、第 3 号、94 頁、2013 年
- 宮田敏行、森下英理子「先天性血栓性素因」血栓と循環、第 21 巻、第 1 号、6-11 頁、2013 年
- 宮田敏行、小亀浩市、小久保喜弘「先天性 ADAMTS13 欠損症」臨床検査、第 57 巻、第 5 号、556-561 頁、2013 年
- 坂野史明、宮田敏行、藤岡政行、杉本充彦「遺伝子改変血栓モデル: ADAMTS13 遺伝子欠損マウスを中心に」*Thrombosis Medicine*、第 3 巻、第 2 号、36-43 頁、2013 年
- 芦田 明、吉田瑤子、範 新萍、松本雅則、服部元史、宮田敏行、藤村吉博「Atypical HUS における補体制御異常症診断システムの構築と腎移植」*日本臨床腎移植学会雑誌*、第 1 巻、第 1 号、39-44 頁、2013 年
- 藤村吉博、吉田瑤子、範 新萍、宮田敏行「非典型溶血性尿毒症症候群 (aHUS)」*臨床血液*、第 54 巻、第 10 号、351(1897)-360(1906) 頁、2013 年
- 岡 政史、大塚泰史、稲田由紀子、佐藤忠司、吉田瑤子、藤村吉博、Fan Xinping、宮田敏行、濱崎雄平「抗 CFH 抗体陽性および *CFHR1* 遺伝子欠失を伴う DEAP-HUS の 1 例」*日本小児腎臓病学会雑誌*、第 26 巻、第 2 号、109(285)-115(291) 頁、2013 年
- 小亀浩市「ADAMTS13 と血栓性血小板減少性紫斑病」*循環器病研究の進歩*、第 34 巻、第 1 号、69-75 頁、2013 年
- 吉田瑤子、藤村吉博、宮田敏行「非典型 HUS における補体異常とその解析」*細胞*、第 46 巻、第 2 号、7(57)-10(60) 頁、2014 年

小亀浩市、樋口(江浦)由佳「Upshaw-Schulman 症候群の ADAMTS13 遺伝子解析」細胞、第 46 巻、第 2 号、11(61)-13(63)頁、2014 年

宮田敏行、坂野史明「VI 凝固線溶系 3. 血栓症と炎症におけるポリリン酸の役割」Annual Review 血液 2014、高久史麿・小澤敬也・坂田洋一・金倉 讓・小島勢二 編集、中外医学社、216-223 頁、2014 年

藤村吉博、松本雅則、石西綾美、八木秀男、小亀浩市、宮田敏行「血栓性血小板減少性紫斑病」臨床血液、第 55 巻、第 1 号、93-104 頁、2014 年

宮田敏行、水口 純、鈴木敦夫、小嶋哲人「特集：血液凝固の制御機構と臨床応用への展望、プロテイン C/ プロテイン S の基礎」日本血栓止血学会誌、2014 年 印刷中

宮田敏行、田嶋優子「4. 血栓・止血異常の診察、第一章 血栓・止血異常症を理解するために B. 凝固反応を理解する」シリーズ プリンシプル血液疾患の臨床、2014 年 印刷中

秋山正志、武田壮一、宮田敏行「トピックス、東アジア人特有の P475S 変異を持つ ADAMTS13 の立体構造と機能解析」日本血栓止血学会誌、2014 年 印刷中

## 2. 学会発表

Hitomi Yamamoto, Koichi Kokame, Hiroji Yanamoto, Tomohiko Okuda, Yukako Nakajo, Susumu Miyamoto, Toshiyuki Miyata, NDRG4-deficient mice exhibit spatial learning deficits and vulnerabilities to cerebral ischemia with the decreased level of BDNF in the cortex, XXIII Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis, Kyoto, July 23-28 · 2011

Fumiaki Banno, Toshiyuki Kita, Hiroji Yanamoto, Koichi Kokame, Koji Iihara, Toshiyuki Miyata, Generation of knock-in mice carrying a K196E point mutation in protein S, XXIII Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis, Kyoto, July 23-28 · 2011

Fumiaki Banno, Takahiro Nojiri, Sachiko Matsumoto, Kei Kamide, Naoki Mochizuki, Toshiyuki Miyata, A lack of regulator of G-protein signaling 2 (RGS2) in mice does not affect thrombus formation at sites of vascular injury, XXIII Congress of the

International Society on Thrombosis and Haemostasis, Kyoto, July 23-28 · 2011

Mariko Banno, Kei Kamide, Takeshi Horio, Toshiyuki Miyata, Yuhei Kawano, Genetic polymorphisms of endothelin-related genes associated with risk of chronic kidney disease in Japanese hypertensives, XXIII Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis, Kyoto, July 23-28 · 2011

Shigenori Honda, Hiroko Shirotani-Ikejima, Yasuyuki Matsuda, Seiji Tadokoro, Yoshiaki Tomiyama, Toshiyuki Miyata, Role of ILK-PINCH-parvin complex in supporting functional expression of integrin, XXIII Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis, Kyoto, July 23-28 · 2011

Sachika Kameda, Toshiyuki Sakata, Yoshihiro Kokubo, Mana Mitsuguro, Akira Okamoto, Michitaka Sano, Toshiyuki Miyata. Association of platelet reactivity with lipid and PAI-1 levels in a Japanese general population, the Suita Study, XXIII Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis, Kyoto, July 23-28 · 2011

Toshiyuki Kita, Fumiaki Banno, Yukako Nakajo, Hiroji Yanamoto, Koji Iihara, Toshiyuki Miyata, Factor V Leiden mice are vulnerable for ischemic stroke, XXIII Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis, Kyoto, July 23-28 · 2011

Tomasz Brzoska, Miroslaw Rybaltowski, Yuko Suzuki, Hideo Mogami, Iwona Chlebinska, Aki Tanaka, Fumiaki Banno, Toshiyuki Miyata, Tetsumei Urano, Imaging analysis of the interaction between unusually large von-Willebrand factor multimers and platelets on vascular endothelial cells in living animals, XXIII Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis, Kyoto, July 23-28 · 2011

Akira Okamoto, Toshiyuki Sakata, Yoshihiro Kokubo, Michitaka Sano, Toshiyuki Miyata, Age- and gender-related differences in PAI-1 antigen levels in a Japanese general population, the Suita Study, XXIII Congress of the International Society on Thrombosis



and Haemostasis, Kyoto, July 23-28・2011

Yoshihiro Kokubo, Toshiyuki Miyata, Toshiyuki Sakata, Akira Okamoto, Makoto Watanabe, Yuu Ono, Mariko Banno, Yoshihiro Miyamoto, The Association between Plasma Fibrinogen and Coronary Heart Disease in a Japanese Urban Cohort: The Suita Study, XXIII Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis, Kyoto, July 23-28・2011

Yasuyuki Matsuda, Shigenori Honda, and Toshiyuki Miyata, An RNAi screening to identify the molecules involved in integrin  $\alpha$ IIb $\beta$ 3 activation, XXIII Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis, Kyoto, July 23-28・2011

Kokame Koichi, Kokubo Yoshihiro, Miyata Toshiyuki, Estimation of the number of individuals with a congenital ADAMTS13 deficiency in Japan, XXIII Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis, Kyoto, July 23-28・2011

Kokame Koichi, Findings from ADAMTS13 activity assay. XXIII Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis, Kyoto, July 23-28・2011.

Fumiaki Banno, Genetic mouse models for evaluating pathophysiological roles of ADAMTS13. 57th Annual SSC Meeting of the International Society on Thrombosis and Haemostasis, Kyoto, July 23-28・2011.

井本(山本)ひとみ、小亀浩市、奥田智彦、中城有香子、柳本広二、宮田敏行、NDRG4 欠損マウスは、大脳皮質 BDNF 量の低下とともに、記憶学習能力の低下と局所脳虚血による梗塞巣の増大を示す、第9回血液・血管オルビス、2011年8月20-21日、東京都

中山大輔、秋山正志、武田壮一、小亀浩市、高木淳一、宮田敏行、P475S 型 ADAMTS13 の非触媒領域の立体構造決定、第16回日本病態プロテアーゼ学会学術集会、2011年8月26日-27日、吹田市

秋山正志、中山大輔、武田壮一、小亀浩市、高木淳一、宮田敏行、P475S 型 ADAMTS13 タンパク質の部分立体構造決定、第84回日本生化学会大会、2011年9月21-24日、京都市

喜多俊行、坂野史明、中城有香子、柳本広二、

飯原弘二、宮田敏行、血液凝固第V因子 Leiden 変異マウスの虚血性脳梗塞に対する脆弱性、第84回日本生化学会大会、2011年9月21-24日、京都市

井本(山本)ひとみ、小亀浩市、奥田智彦、中城有香子、柳本広二、宮田敏行、NDRG4 は大脳皮質中の BDNF 量を正常に保ち、記憶学習能力の維持作用と虚血性脳卒中に対する脳保護作用を示す、第84回日本生化学会大会、2011年9月21-24日、京都市

宮田敏行、小亀浩市、秋山正志、武田壮一、坂野史明、ADAMTS13 研究の最先端、シンポジウム6 血栓止血学・血管生物学の最近の進歩、第73回日本血液学会学術集会、2011年10月14-16日、名古屋市

Yusuke Satoh, Takafumi Yokota, Hirokazu Tanaka, Koichi Kokame, Toshiyuki Miyata, Itaru Matsumura, Kenji Oritani, Yuzuru Kanakura: SATB1 induces early lymphocyte differentiation from primitive hematopoietic progenitors. 第73回日本血液学会学術集会、2011年10月14-16日、名古屋市

Yoshihiro Fujimura, Masanori Matsumoto, Ayami Isonishi, Koichi Kokame, Kenji Soejima, Mitsuru Murata, Toshiyuki Miyata. Natural history of Upshaw-Schulman syndrome based on ADAMTS13 gene analysis in Japan. 第73回日本血液学会学術集会、2011年10月14-16日、名古屋市

宮田敏行、特別講演：日本人静脈血栓塞栓症の遺伝的背景、第7回肺血栓塞栓症研究会、2011年11月1日、宇都宮市

Toshiyuki Miyata, Thrombotic thrombocytopenic purpura and ADAMTS13, 3<sup>rd</sup> SIRIC-NCVC Joint Symposium, November 11, 2011, Seoul, Korea.

Toshiyuki Miyata, Phenotypes on NdrG KO mice, Seminar at Research Institute National Cancer Center, November 10, 2011, Goyang, Korea.

宮田敏行、特別講演：血栓性血小板減少症と ADAMTS13、第6回分子血管研究会、2011年12月1日、東京都

樋口(江浦)由佳・宮田敏行・小亀浩市：ハイドロダイナミクス法による in vivo 遺伝子導入を用いた ERAD 基質の解析、第34回日本分子生物

学会年会、2011年12月13-16日、横浜市

吉田瑤子、藤村吉博、松本雅則、早川正樹、芦田明、沢田勇吾、服部元史、服部益治、Xinping Fan、宮田敏行、「本邦における非定型溶血性尿毒症症候群 (aHUS) の患者登録と解析状況」、第115回日本小児科学会学術集会、2012年4月20-22日、福岡市

Akira Ashida, Yoko Yoshida, Xinping Fan, Masanori Matsumoto, Toshiyuki Miyata, Yoshihiro Fujimura, Strategy and algorithm for diagnosis of typical/atypical hemolytic uremic syndrome, 日韓小児腎セミナー, May 12, 2012, Tokyo.

宮田敏行、「血栓性素因の成因と病態」、凝固・血小板研究の新展開 血栓症制圧に向けて、第35回シスメックス学術セミナー、2012年6月2日、神戸市

長束一行、宮田茂樹、嘉田晃子、内山真一郎、長尾毅彦、山本晴子、宮田敏行、「クロピドグレル抵抗性における遺伝子多型の臨床的意義に関する研究 (Cognac study) の経過報告 (第1報)」、第34回日本血栓止血学会学術集会、2012年6月7日-9日、東京都

宮田茂樹、長束一行、嘉田晃子、宮田敏行、「アスピリン単独治療中の患者群におけるずり応力下血小板血栓形成能の評価とその臨床的意義」、第34回日本血栓止血学会学術集会、2012年6月7日-9日、東京都

宮田敏行、宮田茂樹、嘉田晃子、川村淳、中川原譲二、古井英介、滝内伸、埜本勝司、苅尾七臣、内山真一郎、斉藤こずえ、長尾毅彦、北川一夫、細見直永、田中啓治、海北幸一、片山泰郎、鑑谷武雄、中根博、和田英夫、服部晃、木村和美、一色高明、西川政勝、山脇健盛、米本直裕、岡田浩美、小川久雄、峰松一夫、長束一行、「プロギア研究：アスピリン投与患者を対象にした心血管系疾患再発の遺伝的背景」、第34回日本血栓止血学会学術集会、2012年6月7日-9日、東京都

Xinping Fan, Shigenori Honda, Toshiyuki Miyata, Yoko Yoshida, Masaki Hayakawa, Masanori Matsumoto, Fumihiko Nakamura, Ryosuke Hiwa, Yugo Sawada, Yoshihiro Fujimura, “Establishment of a comprehensive approach to genetic analysis in patients with aHUS” 第34回日本血栓止血学会学術集会、2012年6月7日-9日、東京都

阪田敏幸、榛沢和彦、岡本章、光黒真菜、品田恭子、中島孝、佐野道孝、宮田敏行、「凝固法によるプロテインC欠損症スクリーニングの重要性について」、第34回日本血栓止血学会学術集会、2012年6月7日-9日、東京都

吉田瑤子、藤村吉博、松本雅則、早川正樹、範新萍、宮田敏行、「本邦における atypical HUS (aHUS) の患者登録と病態解析の状況」、第34回日本血栓止血学会学術集会、2012年6月7日-9日、東京都

M Doi, M Sugimoto, H Matsui, M Shima, Y Takeda, Y Saito, K Nishio, F Banno, K Kokame, T Miyata, “Functional analysis of ADAMTD13 in mouse model of myocardial infarction”, ESC Congress 2012, August 25-29, 2012, Munich, Germany

範新萍、本田繁則、宮田敏行、吉田瑤子、沢田勇吾、服部元史、日和良介、中村文彦、藤丸季可、岩田直之、上村治、松隈英治、会沢佳昭、原田浩、石川英二、和田英夫、松本雅則、芦田明、南学正臣、藤村吉博、「日本人の非典型溶血性尿毒症症候群患者10名の遺伝子解析」、第49回補体シンポジウム、2012年8月24-25日、大阪市

藤村吉博、吉田瑤子、松本雅則、範新萍、本田繁則、宮田敏行、「本邦でのaHUS患者の diagnostic pathwayと登録状況」、ミニシンポジウム、抗補体薬と疾患、可能性と問題点、第49回補体シンポジウム、2012年8月24-25日、大阪市

原田浩、吉田瑤子、松本雅則、會澤佳昭、範新萍、宮田敏行、藤村吉博、「D-HUSを原疾患とする生体腎移植への適応精査の必要性-補体調節因子の測定を行った1症例の経験」、第48回日本移植学会総会、2012年9月20-22日、名古屋市

宮田敏行、「抗血小板薬と遺伝子多型」、シンポジウム6、抗血小板剤の使用戦略、第15回日本栓子検出と治療学会 Embolus2012、2012年10月6日、豊中市

範新萍、本田繁則、宮田敏行、吉田瑤子、松本雅則、藤村吉博、沢田勇吾、服部元史、久永修一、日和良介、中村文彦、藤丸季可、岩田直之、上村治、松隈英治、芦田明、南学正臣、「非定型溶血性尿毒症症候群を発症した日本人5例の遺伝子解析、Genetic analysis of five Japanese patients with aHUS」、第74回日本

血液学会学術集会、2012年10月19-21日、京都市

坂野史明、喜多俊行、柳本広二、小亀浩市、宮田敏行、「プロテインS徳島(K196E)変異がマウスの肺塞栓症および虚血性脳梗塞に及ぼす影響」、第74回日本血液学会学術集会、2012年10月19-21日、京都市

宮田敏行、「日本人の静脈血栓症と非典型溶血性尿毒症症候群の遺伝的背景」、京都大学医学部小泉昭夫研究室セミナー、2012年11月2日、京都市

宮田敏行、「血栓形成の分子機構」、日本バイオマテリアル学会シンポジウム2012、シンポジウム：血液適合性バイオマテリアル、2012年11月27日、仙台市

宮田敏行、「血栓形成の分子機構とその破綻、ADAMTS13によるフォンビルブランド因子切断と血栓性血小板減少性紫斑病」、東北大学第14回細胞認識応答学セミナー、2012年11月27日、仙台市

宮田敏行、範 新萍、吉田瑤子、本田繁則、松本雅則、沢田勇吾、服部元史、久永修一、日和良介、中村文彦、友森麻衣子、宮河真一郎、藤丸季可、山田 浩、澤井俊宏、池田勇八、岩田直之、上村 治、松隈英治、会沢佳昭、原田 浩、和田英夫、石川英二、芦田 明、南学正臣、藤村吉博、「非典型溶血性尿毒症症候群の遺伝的背景」、第85回日本生化学会大会、2012年12月14-16日、福岡市

井本(山本)ひとみ、宮田敏行、小亀浩市、「脳と心臓に特異的に発現する細胞内タンパク質NDRG4は、Na/K-ATPase  $\alpha 3$  subunitに結合する」Cytoplasmic protein NDRG4 interacts with Na/K-ATPase  $\alpha 3$  subunit、第85回日本生化学会大会、2012年12月14-16日、福岡市

坂野史明、喜多俊行、柳本広二、小亀浩市、宮田敏行、「日本人の遺伝的血栓性リスクを有するモデルマウスの作製と解析」、第85回日本生化学会大会、2012年12月14-16日、福岡市

庄美里、佐藤卓史、西頭英起、小亀浩市、金子雅幸、和田郁夫、Mary Ann Suico、首藤 剛、甲斐広文、「変異トランスサイレチンの翻訳後N型糖鎖修飾における制御因子の探索」、第85回日本生化学会大会、2012年12月14-16日、福岡市

Xinping Fan, Yoko Yoshida, Toshiyuki Miyata, Shigenori Honda, Masanori Matsumoto,

Yoshihiro Fujimura, Analysis of genetic and predisposing factors in Japanese patients with atypical hemolytic uremic syndrome, December 8-11, 2012. ASH meeting (Atlanta)

Masaaki Doi, Hideto Matsui, Yukiji Takeda, Yoshihiko Saito, Maiko Takeda, Yasunori Matsunari, Kenji Nishio, Midori Shima, Fumiaki Banno, Masashi Akiyama, Koichi Kokame, Toshiyuki Miyata and Mitsuhiko Sugimoto, Protective role of ADAMTS13 for myocardium in mouse model of experimental myocardial infarction, December 8-11, 2012. ASH meeting (Atlanta)

Hideto Matsui, Masaaki Doi, Yasunori Matsunari, Maiko Takeda, Kenji Nishio, Midori Shima, Kenji Soejima, Fumiaki Banno, Masashi Akiyama, Koichi Kokame, Toshiyuki Miyata and Mitsuhiko Sugimoto, ADAMTS13 Improving the Cell Engraftment Efficacy in Mouse Model of Bone Marrow Transplantation, December 8-11, 2012. ASH meeting (Atlanta)

宮田敏行、「aHUSの遺伝子解析」、第7回日本血栓止血学会SSCシンポジウム2013 VWD/TTP部会、2013年1月12日、東京都

小亀浩市「ADAMTS13の基準値と遺伝子多型」第7回日本血栓止血学会SSCシンポジウム2013、2013年1月12日、東京都

芦田 明、吉田瑤子、範 新萍、松本雅則、服部元史、宮田敏行、藤村吉博、「Atypical HUSにおける補体制御異常症診断システムの構築」、第46回日本臨床腎移植学会、2013年1月30日-2月1日、東京都

Toshiyuki Miyata, Current situation of TMA in Japan, aHUS genetic tests, 3<sup>rd</sup> Japan aHUS Advisory Board Meeting, February 9, 2013, Tokyo

Toshiyuki Miyata, Thrombophilia and venous thromboembolism, Sysmex Scientific Seminar, March 2<sup>nd</sup>, 2013, Taipei, Taiwan

宮田敏行、「血栓性細小血管障害症の分子機構」、TTMフォーラム、2013年3月9日、東京都

岡田卓也、大崎正登、岡本 章、宮田敏行、峰松一夫、豊田一則、「抗トロンビン活性測定キットを用いた推定ダビガトラン血漿中濃度とaPTTとの相関」、第38回日本脳卒中学会総会、2013年3月21日-23日、東京都

宮田敏行、宮田茂樹、長東一行、第 35 回日本血栓止血学会学術集会、日本血栓止血学会・日本循環器学会ジョイントシンポジウム、抗血小板療法の多様性について、「Pharmacogenomics は抗血小板剤の個別化医療の救世主となり得るか？」2013 年 5 月 30 日-6 月 1 日、山形市

小亀浩市、秋山正志、宮田敏行、「ADAMTS13 の正常な分泌にはシクロフィリン B によるプロリン残基異性化が必要である」、第 35 回日本血栓止血学会学術集会、2013 年 5 月 30 日-6 月 1 日、山形市

Fumiaki Banno, Toshiyuki Kita, Hiroji Yanamoto, Yuko Tashima, Koichi Kokame, Toshiyuki Miyata, Generation of protein S-Tokushima mutant mice to provide an *in vivo* evaluation system for thrombosis in Japanese, SPC シンポジウム 4, 第 35 回日本血栓止血学会学術集会、2013 年 5 月 30 日-6 月 1 日、山形市

田嶋優子、坂野史明、喜多俊行、松田泰幸、柳本広二、宮田敏行：プラスミノゲン栃木変異ホモ接合体マウスの血栓傾向の解析. 第 35 回日本血栓止血学会学術集会、山形市、2013 年 5 月.

土井政明、松井英人、竹田征治、斎藤能彦、武田麻衣子、松成泰典、西尾健治、嶋 緑倫、坂野史明、秋山正志、小亀浩市、宮田敏行、杉本充彦、「マウス急性心筋梗塞モデルにおける ADAMTS13 の心筋保護作用」、第 35 回日本血栓止血学会学術集会、2013 年 5 月 30 日-6 月 1 日、山形市

松井英人、土井政明、武田麻衣子、松成泰典、西尾健治、嶋 緑倫、副島見事、粕田承吾、坂野史明、宮田敏行、杉本充彦、「マウス骨髄移植モデルにおける ADAMTS13 の移植ドナー細胞生着促進効果」、第 35 回日本血栓止血学会学術集会、2013 年 5 月 30 日-6 月 1 日、山形市

小堺貴司、森山雅人、布施一郎、柴崎康彦、増子正義、瀧澤 淳、鳥羽 健、吉田邦彦、小亀浩市、宮田敏行、松本雅則、藤村吉博、曾根博仁、「妊娠を契機に診断された新規の遺伝子変異を伴う Upshaw-Schulman 症候群 (USS) の一例」、第 35 回日本血栓止血学会学術集会、2013 年 5 月 30 日-6 月 1 日、山形市

平井秀憲、秋山正志、宮田敏行、「哺乳類細胞を用いた ADAMTS13 ドメインの一過性大量発現」、第 13 回日本蛋白質科学会年会、2013 年 6 月 12 日-14 日、鳥取市

宮田敏行、医薬基盤研究所セミナー、「疾患モデルマウスを用いた血栓性疾患の研究」、2013 年 6 月 28 日、箕面市

吉田瑤子、範 新萍、本田繁則、芦田 明、服部元史、松本雅則、大山良文、古久保哲郎、南学正臣、宮田敏行、藤村吉博、「本邦の非典型溶血性尿毒症症候群 (aHUS) の患者登録とその表現型-遺伝子型解析」、第 48 回日本小児腎臓病学会学術集会、2013 年 6 月 28 日-29 日、徳島市

Yoshihiro Fujimura, Yoko Yoshida, Xinpeng Fan, Toshiyuki Miyata, “ Registry of congenital atypical HUS in Japan ” , ISTH-APSTH joint symposium, XXIV Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis, June 29-July 4, 2013, Amsterdam, Netherlands

Jun Muratsu, Atsuyuki Morishima, Masayoshi Kukida, Anzu Tanaka, Xinpeng Fan, Toshiyuki Miyata, Katsuhiko Sakaguchi, Familial screening in the case of Budd-Chiari syndrome with multiple thrombi due to Arg42Ser mutation in the protein C gene, XXIV Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis, June 29-July 4, 2013, Amsterdam, Netherlands

Yuko Tashima, Fumiaki Banno, Toshiyuki Kita, Yasuyuki Matsuda, Hiroji Yanamoto, Toshiyuki Miyata, Generation and characterization of homozygous plasminogen-Tochigi mutant mice bearing reduced fibrinolytic activity, XXIV Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis, June 29-July 4, 2013, Amsterdam, Netherlands

Hideto Matsui, Masaaki Doi, Yasunori Matsunari, Maiko Takeda, Kenji Nishio, Midori Shima, Kenji Soejima, Fumiaki Banno, Toshiyuki Miyata, Mitsuhiro Sugimoto: ADAMTS13 accelerates the cell engraftment efficacy in mouse model of bone marrow transplantation. The International Society on Thrombosis and Haemostasis XXIV Congress, Amsterdam, Netherlands, 2013 年 7 月.

Fumiaki Banno, Toshiyuki Kita, Hiroji Yanamoto, Yuko Tashima, Koichi Kokame, Toshiyuki Miyata, Exacerbated venous thromboembolism in mice with the protein S