

令和 5 年 5 月 31 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K08711

研究課題名(和文)血管増殖におけるVWF-HBDの同定と抑制型VEGFアイソフォームとの相互作用

研究課題名(英文) Identification of VWF-HBD in vascular growth and interaction with an inhibitory VEGF isoform

研究代表者

松下 正 (Matsushita, Tadashi)

名古屋大学・医学部附属病院・教授

研究者番号：30314008

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：von Willebrand病(VWD)の最重症型であるType3 VWDでは、補充療法では解決しない難治性出血を生じる例がある。この出血には血管異形成の関与が示唆されているが、具体的な病態メカニズムは解明されていない。本研究ではtype 3患者由来ECMCにおける血管新生能を中心に検討、また、血中VWF抗原量および活性が検出感度未満を呈し、遺伝子解析で新規変異p.Gly2752Ser変異(以下、G2752S)が同定されたVWD type 3患者について、変異VWFの発現、細胞内挙動につき他の変位によるVWDとの比較検討を行いつつ解析した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

VWFは内皮細胞という再現の難しい培養細胞種から分泌され、またWPBという特徴的な小胞体に貯留され、刺激にて分泌されるという特徴を有する。ECFCは、血管内皮細胞環境を患者由来として直接構築できる特徴がある。本研究では従来のTransfectionによる発現検討と組み合わせ、優性遺伝形式を取るVWDにおけるDominant-negative effectの細胞学的な機構を詳細に検討を行うことができた。一方、正常アレル由来の発現を最適化すれば、VWF濃縮製剤を使用することなく治療が可能となるはずである。本研究で得られた最適な分泌刺激方法により新たなVWD治療の基盤モデルとなることが期待される。

研究成果の概要(英文)：Type 3 VWD, the most severe form of von Willebrand disease (VWD), causes refractory bleeding that does not respond to replacement therapy. Angiodysplasia has been implicated in such bleeding, but the specific pathomechanism has not been elucidated. In this study, we focused on the angiogenic potential of ECMC derived from type 3 patients, and also examined the expression and intracellular profiles of mutant VWF in VWD type 3 patients with trace amount of VWF levels and a novel p.Gly2752Ser mutation. We analyzed the expression and intracellular dynamics of mutant VWF in patients with VWD type 3.

研究分野：Thrombosis and hemostasis

キーワード：ECFC VWF VWD Weibel-Palade body DDAVP Type 3 VWD Platelet glycoprotein Ib multimer

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

von Willebrand 因子 (**VWF**) は血小板糖タンパク **Ib (GPIb)** への結合を介して傷害血管壁への血小板の粘着において重要な役割を果たす。一方、創傷治癒には **VEGF-A** シグナリングを主とした血管新生が必ず伴い、この過程において、成長因子 (**Growth factor: GF**) の分布およびシグナル伝達は、細胞外マトリックスへの結合によって調整される。本研究では **VWF A1** による血管新生機能の詳細を明らかにすることとした。

2. 研究の目的

von Willebrand 病 (**VWD**) の最重症型である **Type3 VWD** は、**von Willebrand** 因子 (**VWF**) の完全欠損によって止血障害をきたす。**VWF** の補充療法は止血治療の基本であるが、補充療法では解決しない難治性出血を生じる例がある。この出血には血管異形成の関与が示唆されているが、具体的な病態メカニズムは解明されていない。

VWF は巨核球や血管内皮細胞で合成、循環血中に分泌され、多量体 (マルチマー) 構造を呈する。内皮細胞内においては特徴的な構造体である **Weibel-Palade** 小体 (**WPB**) に格納され、**DDAVP** (合成バソプレシン) 等による刺激によって血中に迅速に放出される。

本研究では **type 3** 患者由来 **ECMC** における血管新生能を中心に検討、また、血中 **VWF** 抗原量および活性が検出感度未満を呈し、遺伝子解析で新規変異 **p.Gly2752Ser** 変異 (以下、**G2752S**) が同定された **VWD type 3** 患者について、変異 **VWF** の発現、細胞内挙動につき他の変異による **VWD** との比較検討を行いつつ解析した。

3. 研究の方法

(1) **VWD** 遺伝子解析

VWF 抗原量または **VWF** 活性が低下し **VWD** を疑う患者から書面によるインフォームドコンセントを得た後、末梢血ゲノム **DNA** を抽出しエクソーム解析を行った。**SureSelect XT Human All Exon V5+UTRs** キット (アジレント社) を用いてライブラリの調整を実施後、次世代シーケンサ **HiSeq (illumina)** にて **Paired End** に **100** 塩基/リードを読み取り、**3000** 万リードペア (**6000** 万リード) を取得 (取得データ量: **6Gb**/サンプル) した。

(2) 患者由来 **ECFC** の樹立と細胞学的解析

血管内皮前駆細胞 (**EPCs**) から血管内皮様細胞 (現在は **endothelial colony-forming cells (ECFC)** と呼ばれる) は、近年血液中の血管内皮前駆細胞を **expand** した初代培養内皮細胞としてその研究法が確立されつつある。**VWF** は内皮細胞からそのほとんどが分泌されるという血液凝固因子としてはユニークな血漿中タンパクであり、本研究では健康成人コントロール **2** 例、患者 **10** 例より文書により同意を得て単核球を単離し、血管内皮細胞培養条件下で血管内皮前駆細胞 (**EPCs**) から **ECFC** に分化するまで培養を行った。

Wild-type (WT) VWF を一過性に発現させるベクターは過去に報告した方法に沿って実施した¹⁾。**VWF G2752S** ほか **VWD** 遺伝子変異を導入した発現ベクター **pSVVWF1** は **COS-7** 細胞にリポフェクション法で遺伝子導入した。**VWF** の発現は上清、**Lysate** において **ELISA** 法で評価、免疫蛍光染色でも評価した。さらに小胞体および **Golgi** 体との共染色で **VWF** の細胞内局在を検討した。

4. 研究成果

(1) 患者由来 **ECFC** の樹立と細胞学的解析

健康成人コントロール **2** 例、患者 **10** 例中 **5** 例で最初の培養過程で細胞は典型的な

cobblestone 形態をとった。**VWF** の細胞学的な発現様式は **confocal immunofluorescence (IF)** にて観察した。固定後 **FITC** 標識抗体を用いて蛍光染色を行った。

健常人由来 **ECFC** にて、**100-150ng/ml** の **VWF** の分泌を培養上清中に認めたが、**type 1**、**type 3** と考えられる症例では全く発現は見られなかった。本法の免疫染色により、**type 1** と **type 3** の鑑別において小胞体(細胞内 **Dimer** 形成場所)や **Golgi** 体(細胞内 **Multimer** 形成)と共染色することで **VWF** の存在様式を推定することが可能であった。本研究は名古屋大学生命倫理審査委員会の承認 (**2016-0477**) を得て行った。

(2) **VWD** 由来 **ECFC** の血管形成能の検討

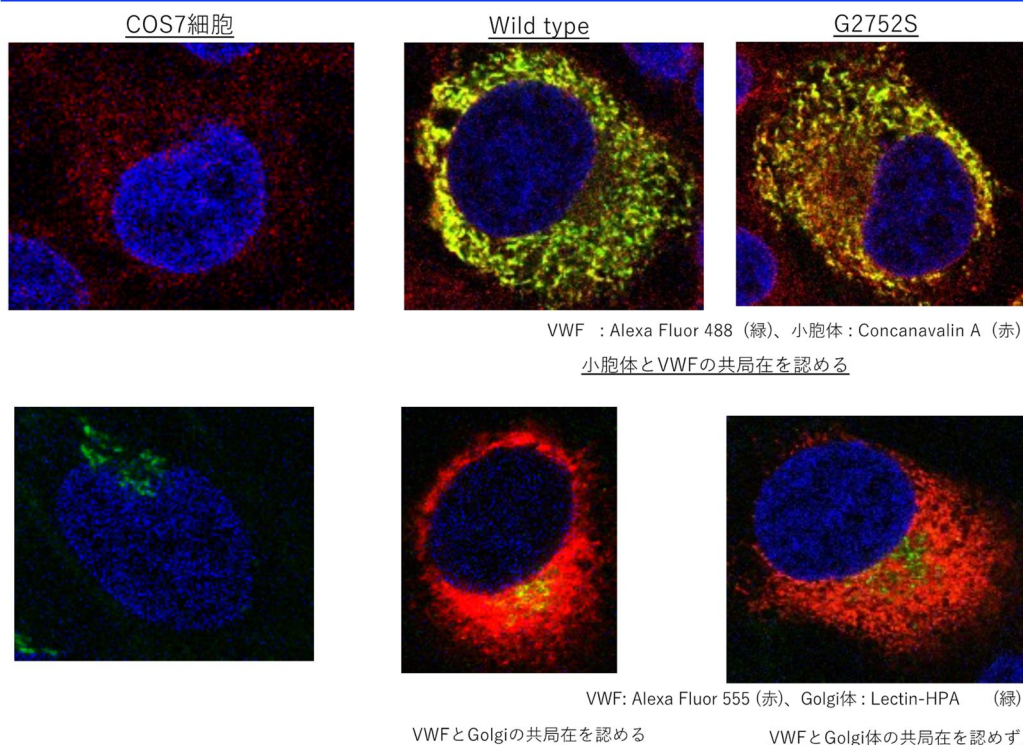
血管新生の過程は、血管内皮細胞の遊走・増殖・管腔形成から構成される。まず、血管新生の過程で **VWF** が関与する箇所を検討するため、**Type3 VWD** 患者の末梢血単核球から **ECFC** を樹立し、遊走能と管腔形成能について検討した。**VWF** が欠損した **BOEC** の細胞遊走能を **Scratch assay**、管腔形成能を **Matrigel assay** によって画像として記録し、それを **ImageJ** によって解析し定量化した。**ECFC** は細胞形態や増殖能が十分に維持されているものを用い、播種細胞数も全ての群で一致させた。対照は健常人由来の **ECFC**、**HUVEC** である。

Scratch assay では **Type3 VWD2** 例とも対照群と同程度の遊走能を呈し、血管内皮細胞における **VWF** 発現の有無が直接遊走能に関与している根拠は得られなかった。

Matrigel assay では **Image J** のプラグインである **Angiogenesis Analyzer** によって **node**、**segment**、**mesh**、**branch** の数を検討した。**node**、**segment**、**mesh** の数は **Type3 VWD** 由来の **ECFC** では対照群に比していずれも減少しており、**EC** における **VWF** の発現が管腔形成能の指標であるこれら **3** 要素に関与する可能性が示唆された。しかし **Branch** の数は **Type3 VWD** のうち **1** 例では対照群と同程度維持されており、他の **3** 要素とは **VWF** の関与の程度が異なる可能性も考慮された。

引き続き、**Type 3** 由来 **ECFC** にヒト **VWF** 血漿中同濃度 (10µg/mL) に相当する精製

図1 **VWF**の細胞内局在様式(共焦点顕微鏡 100倍)



VWF を添加したが管腔形成能に大きな変化はなく、内皮細胞内の VWF の存在が重要であることが示唆された。Type3 VWD 患者の血管新生では管腔形成過程に生じる不均衡が血管ネットワークの形成に異常を生じ、血管異形成として表現されている可能性が示唆された。

(3) Type 3 phenotype を示す mutation G2752S の分子病態²⁾

本研究において p.Gly2752Ser (未報告の新たな遺伝子変異) が同定された。この変異は VWF 分子の C 末端に位置する CK domain (ダイマー形成に関わる) 内にあり、この異常により VWF サブユニットのダイマー形成が阻害される可能性がある。樹立した ECFC からの VWF の分泌観察したところ、微量に分泌が確認され、細胞内でもわずかに発現していることを確認した。実際 p.Gly2752Ser では 0.1ug/ml (健常人の約 1/100 程度) の微量の VWF が存在している。

一方、COS7 における強制発現系では、WT VWF は小胞体・Golgi 体との共局在を認めしたが、G2752S は小胞体との共局在は認められたものの Golgi 体との共局在は認めなかった。さらに、G2752S は細胞外への分泌は著明に減少していた(図 1)。

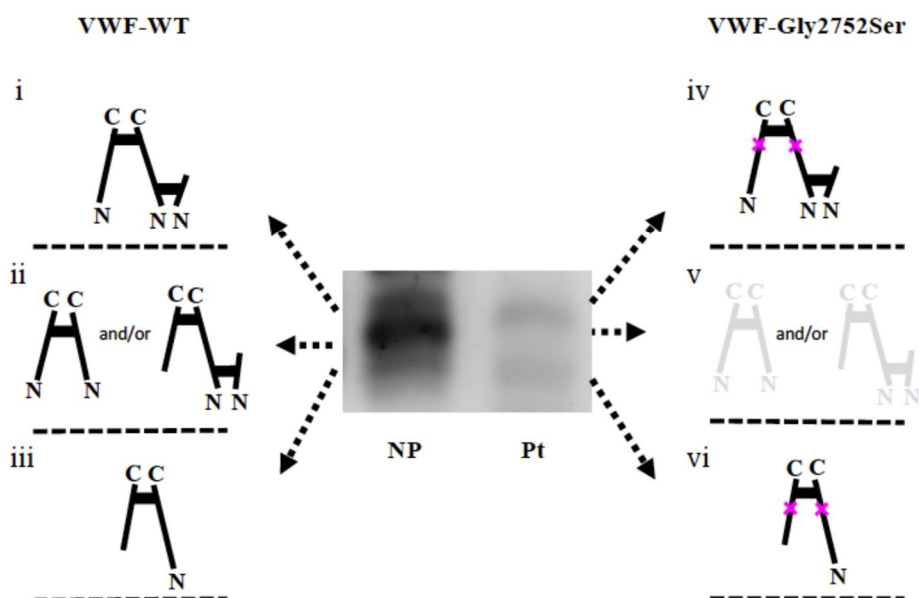
今回、VWF G2752S の分子病態として細胞内局在異常に起因する分泌障害が示唆された。VWF は小胞体での dimer 形成後、Golgi 体において multimer となり細胞外へ分泌される。今回同定した VWF G2752S は VWF の dimer 形成を担う CK domain の変異であり、dimer 形成不全によって Golgi 体への VWF 輸送が障害されていることが予想された(図 2)。

図2 VWF-Gly2752Serの推定発症メカニズム

A

	VWF monomer	Dimerization		Multimer structure
		C-terminal in ER	N-terminal in Golgi	
WT				
p.Gly2752Ser				

B



VWF-Gly2752Ser は、**ER** 内で非常に低い確率で **C** 末端鎖間ジスルフィド結合を介して二量化し、さらにゴルジ装置に移動することができる（図 **2A**）。この過程で、二量化した **VWF-Gly2752Ser** は、本来マルチマーとなるはずである。

血漿中の **VWF** マルチマーは、**ADAMTS13** によるタンパク質分解切断によって修飾され、**N** 末端と **C** 末端の断片が生成される³⁻⁶⁾。これらの切断断片は、**SDS**-アガロースゲル電気泳動によるマルチマー解析における移動度から、高速移動サテライトバンド、中間のトリプレットバンド、低速移動サテライトバンドとして知られている^{7, 8)}。**Fischer** らは、低速移動サテライトバンドは、**4** 量体から分解された **N** 末端断片が **1** つ結合した可変数の **2** 量体（図 **2B-i**）中間のトリプレットバンドは対称および/または非対称の **VWF** ダイマー（図 **2B-ii**）高速移動サテライトバンドは **N** 末端断片が **1** つ欠けたサブユニットを持つ可変数のダイマー（図 **2B-iii**）からなると提案した⁸⁾。血漿中の **VWF-Gly2752Ser** のマルチマー解析では、低分子量の **VWF** のみが低速サテライトと高速サテライトを代表する興味深い特徴的なパターンが示された²⁾。この特徴的な **Gly2752Ser** パターンの説明として、微量の **4** 量体化（および/またはさらに多量体化）した **VWF-G2752S** が循環中にて **ADAMTS13** により分解され、いくつかの形態の断片を生成すると考えられる：**N** 末断片 **1** つを持つ **2** 量体（低速移動サテライトバンド、図 **2B-iv**）および **N** 末断片を欠く **1** サブユニット（高速移動サテライトバンド、図 **2B-vi**）である。**VWF-Gly2752Ser** の中間のトリプレットバンドが消失したことは、対称および/または非対称の **VWF** ダイマーが高速移動サテライトバンドに移動し、したがって存在しないか検出限界以下に見えると考えられる（図 **2B-v**）。

（４）考察

VWF は内皮細胞という培養系では再現の難しい細胞種から分泌され、さらに **WPB** という特徴的な小胞体に貯留され、刺激に応じて分泌されるという特徴を有する。**ECFC** は、血管内皮細胞環境を患者由来として直接構築できる特徴がある。本研究では従来の **Transfection** による発現検討と組み合わせ、優性遺伝形式を取る **VWD** における **Dominant-negative effect** の細胞学的な機構を詳細に検討を行うことができた。一方、**VWD** では **VWF** 遺伝子の **1** アレルは正常であり、正常アレル由来の発現を最適化すれば、**VWF** 濃縮製剤を使用することなく治療が可能となるはずである。本研究の結果得られた最適な分泌刺激方法により新たな **VWD** 治療の基盤モデルとなることが期待された。

参考文献

- 1) Matsushita T, Sadler J: *J Biol Chem* 270:13406-13414, 1995.
- 2) Okamoto S, et al: **VWF-Gly2752Ser, a novel non-cysteine substitution variant in the CK domain, exhibits severe secretory impairment by hampering C-terminal dimer formation.** *J Thromb Haemost* 20:1784-1796, 2022.
- 3) Purvis AR, et al: *Proc Natl Acad Sci U S A* 104:15647-15652, 2007.
- 4) Huang RH, et al: *Proc Natl Acad Sci U S A* 105:482-487, 2008.
- 5) Kannicht C, et al: *Biologicals* 43:117-122, 2015.
- 6) Ledford-Kraemer MR: *Am J Hematol* 85:510-514, 2010.
- 7) Furlan M, et al: *Proc Natl Acad Sci U S A* 90:7503-7507, 1993.
- 8) Fischer BE, et al: *Biochem J* 331 (Pt 2):483-488, 1998.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計28件（うち査読付論文 21件 / うち国際共著 9件 / うちオープンアクセス 18件）

1. 著者名 Yamaguchi Kazutoshi, Yisireyili Maimaiti, Goto Sumie, Cheng Xian Wu, Nakayama Takayuki, Matsushita Tadashi, Niwa Toshimitsu, Murohara Toyooki, Takeshita Kyosuke	4. 巻 22
2. 論文標題 Indoxyl Sulfate Activates NLRP3 Inflammasome to Induce Cardiac Contractile Dysfunction Accompanied by Myocardial Fibrosis and Hypertrophy	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cardiovascular Toxicology	6. 最初と最後の頁 365 ~ 377
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12012-021-09718-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Odaira Koya, Kawashima Fumika, Tamura Shogo, Suzuki Nobuaki, Tokoro Mahiru, Hayakawa Yuri, Suzuki Atsuo, Kanematsu Takeshi, Okamoto Shuichi, Takagi Akira, Katsumi Akira, Matsushita Tadashi, Shima Midori, Nogami Keiji, Kojima Tetsuhito, Hayakawa Fumihiko	4. 巻 213
2. 論文標題 F9 mRNA splicing aberration due to a deep Intronic structural variation in a patient with moderate hemophilia B	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Thrombosis Research	6. 最初と最後の頁 91 ~ 96
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.thromres.2022.03.010	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Shapiro Amy D., Angchaisuksiri Pantep, Astermark Jan, Benson Gary, Castaman Giancarlo, Eichler Hermann, Jimenez-Yuste Victor, Kavakli Kaan, Matsushita Tadashi, Poulsen Lone Hvitfeldt, Wheeler Allison P., Young Guy, Zupancic-Salek Silva, Oldenburg Johannes, Chowdary Pratima	4. 巻 -
2. 論文標題 Long-term efficacy and safety of subcutaneous concizumab prophylaxis in hemophilia A and hemophilia A/B with inhibitors	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Blood Advances	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1182/bloodadvances.2021006403	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Suzuki Atsuo, Suzuki Nobuaki, Kanematsu Takeshi, Shinohara Sho, Kurono Hiroshi, Arai Nobuo, Okamoto Shuichi, Suzuki Naruko, Tamura Shogo, Kikuchi Ryosuke, Katsumi Akira, Kojima Tetsuhito, Matsushita Tadashi	4. 巻 12
2. 論文標題 Development and validation of a novel qualitative test for plasma fibrinogen utilizing clot waveform analysis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 434
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-04464-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yamaguchi Kazutoshi, Hayashi Motoharu, Uchida Yasuhiro, Cheng Xian Wu, Nakayama Takayuki, Matsushita Tadashi, Murohara Toyoaki, Takeshita Kyosuke	4. 巻 11
2. 論文標題 Notch1 haploinsufficiency in mice accelerates adipogenesis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 16761
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-96017-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Hayakawa Yuri, Tamura Shogo, Suzuki Nobuaki, Odaira Koya, Tokoro Mahiru, Kawashima Fumika, Hayakawa Fumihiko, Takagi Akira, Katsumi Akira, Suzuki Atsuo, Okamoto Shuichi, Kanematsu Takeshi, Matsushita Tadashi, Kojima Tetsuhito	4. 巻 19
2. 論文標題 Essential role of a carboxyl terminal helix motif in the secretion of coagulation factor XI	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Thrombosis and Haemostasis	6. 最初と最後の頁 920 ~ 930
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jth.15242	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 日笠 聡, 渥美 達也, 石黒 精, 金子 誠, 高橋 芳右, 野上 恵嗣, 藤井 輝久, 堀内 久徳, 松井 太衛, 毛利 博, 森下 英理子, 松下 正, 朝比奈 俊彦, 天野 景裕, 上田 恭典, 岡本 好司, 小亀 浩市, 佐道 俊幸, 瀧 正志, 長尾 梓, 西尾 健治, 西田 恭治, 西野 正人, 藤村 吉博, 松本 雅則, 宮川 義隆, 八木 秀男, 和田 英夫	4. 巻 32
2. 論文標題 Guidelines for the Management of von Willebrand Disease 2021	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Thrombosis and Hemostasis	6. 最初と最後の頁 413 ~ 481
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2491/jjsth.32.413	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 松下 正	4. 巻 62
2. 論文標題 von Willebrand病の診断と治療	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 臨床血液	6. 最初と最後の頁 1205 ~ 1212
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.11406/rinketsu.62.1205	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 松下 正	4. 巻 62
2. 論文標題 von Willebrand病のマネジメント	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 臨床血液	6. 最初と最後の頁 435 ~ 444
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.11406/rinketsu.62.435	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kanematsu T, Suzuki N, Tamura S, Suzuki A, Ishikawa Y, Katsumi A, Kiyoi H, Saito H, Kunishima S, Kojima T, Matsushita T.	4. 巻 83(1)
2. 論文標題 Myh9 R702C is associated with erythroid abnormality with splenomegaly in mice.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nagoya J Med Sci.	6. 最初と最後の頁 75-86
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.18999/nagjms.83.1.75	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Goto T, Murata M, Nishida T, Terakura S, Kamoshita S, Ishikawa Y, Ushijima Y, Adachi Y, Suzuki S, Kato K, Hirakawa A, Nishiwaki S, Nishio N, Takahashi Y, Koderu Y, Matsushita T, Kiyoi H.	4. 巻 10(4)
2. 論文標題 Phase I clinical trial of intra-bone marrow cotransplantation of mesenchymal stem cells in cord blood transplantation.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Stem Cells Transl Med.	6. 最初と最後の頁 542-553
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/sctm.20-0381.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yamamoto T, Imai N, Yamamoto K, Ito T, Ishizu Y, Honda T, Okamoto S, Kanematsu T, Suzuki N, Matsushita T, Ishigami M, Fujishiro M.	4. 巻 27(1)
2. 論文標題 Safety and efficacy of percutaneous radiofrequency ablation for hepatocellular carcinoma patients with haemophilia.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Haemophilia.	6. 最初と最後の頁 100-107
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/hae.14220.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Shima M, Nagao A, Taki M, Matsushita T, Oshida K, Amano K, Nagami S, Okada N, Maisawa S, Nogami K.	4. 巻 27(1)
2. 論文標題 Long-term safety and efficacy of emicizumab for up to 5.8 years and patients' perceptions of symptoms and daily life: A phase 1/2 study in patients with severe haemophilia A	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Haemophilia.	6. 最初と最後の頁 81-89
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/hae.14205.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kikuchi Ryosuke, Matsushita Tadashi, et al.	4. 巻 58
2. 論文標題 Vascular endothelial growth factor (VEGF)-A and VEGF-A165b are associated with time to remission of granulomatosis with polyangiitis in a nationwide Japanese prospective cohort study	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Annals of Clinical Biochemistry: International Journal of Laboratory Medicine	6. 最初と最後の頁 86 ~ 94
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1177/0004563220968371	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Suzuki A, Suzuki N, Kanematsu T, Okamoto S, Tamura S, Kikuchi R, Katsumi A, Kiyoi H, Kojima T, Matsushita T.	4. 巻 43(1)
2. 論文標題 Impact of variation in reagent combinations for one-stage clotting assay on assay discrepancy in nonsevere haemophilia A	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Int J Lab Hematol.	6. 最初と最後の頁 131-138
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/ijlh.13335	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Matsushita Tadashi, Mangles Sarah	4. 巻 -
2. 論文標題 An overview of the pathfinder clinical trials program: Long term efficacy and safety of N8 GP in patients with hemophilia A	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Thrombosis and Haemostasis	6. 最初と最後の頁 26-33
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jth.14958	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Yamaguchi Kazutoshi, Yisireyili Maimaiti, Goto Sumie, Kato Katsuhiro, Cheng Xian Wu, Nakayama Takayuki, Matsushita Tadashi, Niwa Toshimitsu, Murohara Toyoaki, Takeshita Kyosuke	4. 巻 17
2. 論文標題 Indoxyl Sulfate-induced Vascular Calcification is mediated through Altered Notch Signaling Pathway in Vascular Smooth Muscle Cells	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal of Medical Sciences	6. 最初と最後の頁 2703 ~ 2717
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7150/ijms.43184	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yamada C, Takeshita A, Ohto H, Ishimaru K, Kawabata K, Nomaguchi Y, Haraguchi Y, Abe M, Sobue K, Takenouchi H, Takadate J, Kamimura M, Katai A, Kasai D, Minami Y, Sugimoto T, Michino J, Nagai K, Kumagai M, et al.	4. 巻 115
2. 論文標題 A Japanese multi institutional collaborative study of antigen positive red blood cell (RBC) transfusions in patients with corresponding RBC antibodies	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Vox Sanguinis	6. 最初と最後の頁 456 ~ 465
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/vox.12906	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Tokoro Mahiru, Tamura Shogo, Suzuki Nobuaki, Kakahara Masaki, Hattori Yuna, Odaira Koya, Suzuki Sachiko, Takagi Akira, Katsumi Akira, Hayakawa Fumihiko, Okamoto Shuichi, Suzuki Atsuo, Kanematsu Takeshi, Matsushita Tadashi, Kojima Tetsuhito	4. 巻 8
2. 論文標題 Aberrant X chromosomal rearrangement through multi step template switching during sister chromatid formation in a patient with severe hemophilia A	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Molecular Genetics & Genomic Medicine	6. 最初と最後の頁 e1390
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/mgg3.1390	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ri Masaki, Kasai Masanobu, Kohno Akio, Kondo Masaru, Sawa Masashi, Kinoshita Tomohiro, Sugiura Isamu, Miura Yasuo, Yamamoto Kazuhito, Saito Toshiki I., Ozawa Yukiyasu, Matsushita Tadashi, Kato Hidefumi	4. 巻 59
2. 論文標題 A survey of blood transfusion errors in Aichi Prefecture in Japan: Identifying major lapses threatening the safety of transfusion recipients	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Transfusion and Apheresis Science	6. 最初と最後の頁 102735 ~ 102735
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.transci.2020.102735	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Pasi K. John, Fischer Kathelijm, Ragni Margaret, Kulkarni Roshni, Ozelo Margareth C., Mahlangu Johnny, Shapiro Amy, P'Ng Stephanie, Chambost Hervy?, Nolan Beatrice, Bennett Carolyn, Matsushita Tadashi, Winding Bent, Fruebis Joachim, Yuan Huixing, Rudin Dan, Oldenburg Johannes	4. 巻 26
2. 論文標題 Long term safety and sustained efficacy for up to 5 years of treatment with recombinant factor IX Fc fusion protein in subjects with haemophilia B: Results from the B YOND extension study	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Haemophilia	6. 最初と最後の頁 e262-e271
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/hae.14036	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Ogawa Mika, Suzuki Nobuaki, Takahashi Nobunori, Tamura Shogo, Suzuki Atsuo, Suzuki Sachiko, Hattori Yuua, Kakiyama Misaki, Kanematsu Takeshi, Kojima Toshihisa, Katsumi Akira, Hayakawa Fumihiko, Kojima Tetsuhito, Ishiguro Naoki, Kiyoi Hitoshi, Matsushita Tadashi	4. 巻 188
2. 論文標題 Higher FVIII:C measured by chromogenic substrate assay than by one-stage assay is associated with silent hemophilic arthropathy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Thrombosis Research	6. 最初と最後の頁 103 ~ 105
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.thromres.2020.01.003	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 鈴木 伸明、松下 正	4. 巻 125
2. 論文標題 特集 検査値を読む2020 4章 血栓・止血検査 von Willebrand因子切断酵素(ADAMTS13)	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 内科	6. 最初と最後の頁 561 ~ 562
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.15106/j_naika125_561	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 鈴木 伸明、松下 正	4. 巻 125
2. 論文標題 特集 検査値を読む2020 4章 血栓・止血検査 von Willebrand因子(抗原,活性,マルチマー構造解析を含む)	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 内科	6. 最初と最後の頁 559 ~ 560
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.15106/j_naika125_559	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 鈴木 伸明、松下 正	4. 巻 125
2. 論文標題 特集 検査値を読む2020 4章 血栓・止血検査 第XIII因子	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 内科	6. 最初と最後の頁 557 ~ 558
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.15106/j_naika125_557	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 鈴木 伸明、松下 正	4. 巻 125
2. 論文標題 特集 検査値を読む2020 4章 血栓・止血検査 第XI因子	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 内科	6. 最初と最後の頁 555 ~ 555
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.15106/j_naika125_555	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 鈴木 伸明、松下 正	4. 巻 125
2. 論文標題 特集 検査値を読む2020 4章 血栓・止血検査 第 因子	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 内科	6. 最初と最後の頁 553 ~ 554
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.15106/j_naika125_553	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 鈴木 敦夫、鈴木 伸明、兼松 毅、岡本 修一、田村 彰吾、篠原 翔、新井 信夫、菊地 良介、安藤 善孝、小嶋 哲人、松下 正	4. 巻 31
2. 論文標題 血小板膜糖蛋白質GPIb変異体を用いたvon Willebrand因子活性測定試薬「INNOVANCE VWF Ac」の基本性能評価	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 日本血栓止血学会誌	6. 最初と最後の頁 409 ~ 419
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2491/jjsth.31.409	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計27件（うち招待講演 3件 / うち国際学会 10件）

1. 発表者名 鈴木 敦夫, 篠原 翔, 新井 信夫, 安藤 善孝, 松下 正
2. 発表標題 フィブリノゲンの質的異常を検出可能な新しい自動分析技術 凝固波形解析に基づくフィブリノゲン定性分析法のバリデーション
3. 学会等名 第70回日本医学検査学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 鈴木 伸明, 鈴木 敦夫, 田村 彰吾, 向出 将人, 岡本 修一, 兼松 毅, 小嶋 哲人, 松下 正
2. 発表標題 マウス血管結紮モデルによるアンチトロンビンレジスタンスの血栓形成解析
3. 学会等名 第43回日本血栓止血学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 向出 将人, 田村 彰吾, 鈴木 伸明, 大平 晃也, 早川 友梨, 岡田健太郎, 藤井 渉, 桂木 裕実, 鈴木 敦夫, 兼松 毅, 岡本 修一, 松下 正, 小嶋 哲人, 早川 文彦
2. 発表標題 フィブリノゲン強制発現系の最適化に向けた基礎検討
3. 学会等名 第43回日本血栓止血学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 大平 晃也, 早川 友梨, 田村 彰吾, 鈴木 伸明, 所 真昼, 河島 史華, 向出 将人, 岡田健太郎, 桂木 裕実, 藤井 渉, 岡本 修一, 兼松 毅, 鈴木 敦夫, 松下 正, 小嶋 哲人, 早川 文彦
2. 発表標題 F8 Int22h-1 が関与するF8 大規模欠失挿入変異による重症血友病A 症例
3. 学会等名 第43回日本血栓止血学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 岡本 修一, 大平 晃也, 早川 友梨, 河島 史華, 田村 彰吾, 鈴木 伸明, 兼松 毅, 鈴木 敦夫, 早川 文彦, 清井 仁, 小嶋 哲人, 松下 正
2. 発表標題 VWF G2752S 変異体の分子病態解析
3. 学会等名 第43回日本血栓止血学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 S. Okamoto, S. Tamura, N. Suzuki, K. Odaira, Y. Hayakawa, A. Suzuki, T. Kanematsu, F. Hayakawa, H. Kiyoi, T. Kojima, T. Matsushita
2. 発表標題 p.G2752S Severely Affects Dimerization of von Willebrand Factor: An Analysis of Type 3 von Willebrand Disease
3. 学会等名 ISTH 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Y. Hayakawa, S. Tamura, N. Suzuki, K. Odaira, M. Tokoro, F. Kawashima, F. Hayakawa, A. Takagi, A. Suzuki, S. Okamoto, T. Kanematsu, T. Matsushita, T. Kojima
2. 発表標題 A Critical Role of Carboxyl-Terminal Alpha-Helix in the Secretion of Coagulation Factor XI
3. 学会等名 ISTH 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 A. Suzuki, N. Suzuki, T. Kanematsu, S. Okamoto, S. Tamura, T. Kojima, T. Matsushita
2. 発表標題 Impact of Combination of Factor VIII-Deficient Plasma and Activator in One-Stage Clotting Assay on Potency Testing of Factor VIII Products
3. 学会等名 ISTH 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1 . 発表者名 M. Shima, A. Nagao, M. Taki, T. Matsushita, K. Oshida, K. Amano, S. Nagami, N. Okada, K. Nogami
2 . 発表標題 Long-Term Safety and Efficacy of Emicizumab for up to >5 Years in a Phase 1/2 Study in Patients with Severe Hemophilia A
3 . 学会等名 ISTH 2021 (国際学会)
4 . 発表年 2021年

1 . 発表者名 N. Suzuki, N. Takahashi, A. Suzuk2, S. Tamura, S. Suzuki, Y. Hattori, M. Kakihara, M. Ogawa, T. Kanematsu, T. Kojima, T. Kojima, H. Kiyoi, N. Ishiguro, T. Matsushita
2 . 発表標題 The Haemophilia A Patients whose FVIII: C by Chromogenic Substrate Assay were Higher than by One-Stage Substrate Assay Showed Risk of Development of Haemophiliac Arthropathy Silently
3 . 学会等名 ISTH 2021 (国際学会)
4 . 発表年 2021年

1 . 発表者名 S. Okamoto, N. Suzuki, T. Kanematsu, A. Suzuki, K. Odaira, M. Tokoro, Y. Hayakawa, S. Tamura, F. Hayakaw5, H. Kiyoi, T. Kojima, T. Matsushita
2 . 発表標題 Investigation of a Significant Factor to Improve an Establishment of Endothelial Colony Forming Cell
3 . 学会等名 ISTH 2021 (国際学会)
4 . 発表年 2021年

1 . 発表者名 Yoshitaka Miyakawa , Kazunori Imada, Satoshi Ichikawa, Hitoji Uchiyama, Yasunori Ueda, Akihito Yonezawa, Shigeki Fujitani, Hiroshi Handa, Tadashi Matsushita, Hidesaku Asakura, Kenji Nishio, Kodai Suzuki, Yasuhiro Hashimoto , Shinobu Ohshima , Sayaka Tahara , Tomoyuki Tanaka, and Masanori Matsumoto,
2 . 発表標題 1009 The E6cacy and Safety of Caplacizumab in Japanese Patients with Immune-Mediated Thrombotic Thrombocytopenic Purpura (iTTP): An Open-Label, Phase 2/3 Study
3 . 学会等名 ASH2021 (国際学会)
4 . 発表年 2021年

1. 発表者名 岡本 修一, 鈴木 伸明, 兼松 毅, 鈴木 敦夫, 大平 晃也, 所 真昼, 早川 友梨, 田村 彰吾, 早川 文彦, 清井 仁, 小嶋 哲人, 松下 正
2. 発表標題 Endothelial colony forming cells(ECFCs)樹立法の標準化への試み
3. 学会等名 第42回日本血栓止血学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 勝見 章, 室谷 健太, 鴨下 園子, 伊藤 美由紀, 田村 彰吾, 鈴木 伸明, 松下 正, 小嶋 哲人
2. 発表標題 高齢者における静脈血栓塞栓症発症の症例対照研究
3. 学会等名 第42回日本血栓止血学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 所 真昼, 田村 彰吾, 鈴木 伸明, 大平 晃也, 河島 史華, 早川 友梨, 早川 文彦, 岡本 修一, 兼松 毅, 勝見 章, 松下 正, 小嶋 哲人
2. 発表標題 Template switchingによるF8エクソン15欠損が認められた重症血友病A症例
3. 学会等名 第42回日本血栓止血学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 辻 明宏, 和田 英夫, 森下 英理子, 野上 恵嗣, 荻原 義人, 松下 正, 小嶋 哲人, 大郷 剛, 根木 玲子, 小亀 浩市, 安田 聡, 山田 典一, 関根 章博, 宮田 敏行
2. 発表標題 特発性血栓症患者のゲノム情報を用いた層別化による病態解明研究
3. 学会等名 第42回日本血栓止血学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 鈴木 敦夫, 鈴木 伸明, 兼松 毅, 岡本 修一, 田村 彰吾, 安藤 善孝, 清井 仁, 松下 正
2. 発表標題 凝固一段法による第VIII因子活性測定における試薬の組み合わせに関する検討
3. 学会等名 第42回日本血栓止血学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 早川 友梨, 田村 彰吾, 鈴木 伸明, 大平 晃也, 所 真昼, 河島 史華, 早川 文彦, 高木 明, 鈴木 敦夫, 岡本 修一, 兼松 毅, 松下 正, 小嶋 哲人
2. 発表標題 C末端伸長変異型Factor XIにおける分泌異常の解析
3. 学会等名 第42回日本血栓止血学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 河島 史華, 田村 彰吾, 鈴木 伸明, 大平 晃也, 所 真昼, 早川 友梨, 早川 文彦, 岡本 修一, 兼松 毅, 高木 明, 松下 正, 小嶋 哲人
2. 発表標題 スプライシング異常を引き起こす血液凝固第IX因子遺伝子イントロン1内の深部大挿入変異
3. 学会等名 第42回日本血栓止血学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 M. Kobayashi, T. Matsushita, K. Nogami, I. Usami, M. Shiraishi, M. Takatok
2. 発表標題 Real-World Effectiveness Evaluation of the Recombinant Factor VIII Fc Fusion Protein in Adolescents and Children with Hemophilia A in Japan: "Fc Adolescent and Children Treatment" Study (FACTs) Part 1 Interim Analysis
3. 学会等名 ISTH 2020 Congress (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 岡本修一 松下正 兼松毅 鈴木敦夫 田村彰吾 小嶋哲人 鈴木伸明
2. 発表標題 Low-factor consumption and cost effectiveness for surgeries in hemophilia B patients with N9-GP
3. 学会等名 ISTH 2020 Congress (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 岡本修一 鈴木伸明 兼松毅 鈴木敦夫 大平晃也 所真昼 早川友梨 田村彰吾 早川文彦 清井仁 小嶋哲人 松下正
2. 発表標題 Investigation of a significant factor to improve an establishment of endothelial colony forming cell
3. 学会等名 ISTH 2020 Congress (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Shuichi Okamoto , Koya Odaira , Yuri Hayakawa , Fumika Kawashima , Shogo Tamura , Nobuaki Suzuki , Takeshi Kanematsu , Atsuo Suzuki , Fumihiko Hayakawa , Hitoshi Kiyoi , Tetsuhito Kojima , Tadashi Matsushita
2. 発表標題 Molecular pathology of VWF G2752S mutation identified in a VWD patient with severe VWF defect
3. 学会等名 第82回血液学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yuri Hayakawa , Shogo Tamura , Nobuaki Suzuki , Koya Odaira , Mahiru Tokoro , Fumika Kawashima , Fumihiko Hayakawa , Atsuo Suzuki , Shuichi Okamoto , Takeshi Kanematsu , Akira Katsumi , Tadashi Matsushita , Tetsuhito Kojima
2. 発表標題 A critical role of carboxyl-terminal α -helix in secretion of coagulation factor XI
3. 学会等名 第82回血液学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Tadashi Matsushita
2. 発表標題 フォンヴィレブランド病の病態と治療、臨床試験データについて
3. 学会等名 Takeda von Willebrand disease online in June(武田薬品工業)web (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Tadashi Matsushita
2. 発表標題 von Willebrand因子とvon Willebrand病
3. 学会等名 Takeda von Willebrand disease symposium (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Tadashi Matsushita
2. 発表標題 von Willebrand因子とvon Willebrand病
3. 学会等名 第16回埼玉血友病地域連携ネットワーク・オンライン (招待講演)
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計0件

〔取得〕 計1件

産業財産権の名称 血液検体の分析方法、分析装置及びコンピュータプログラム	発明者 鈴木敦夫、松下正、 篠原翔、新井信夫	権利者 東海国立大学機 構
産業財産権の種類、番号 特許、C20170396US#P01	取得年 2020年	国内・外国の別 外国

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	鈴木 伸明 (Suzuki Nobuaki) (70637686)	名古屋大学・医学部附属病院・講師 (13901)	
研究分担者	菊地 良介 (Kikuchi Ryosuke) (30721435)	岐阜大学・医学部附属病院・臨床検査技師長 (13701)	

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	岡本 修一 (Okamoto Shuichi) (80899675)	名古屋大学・医学系研究科(保健)・助教 (13901)	細胞培養・免疫蛍光染色

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関