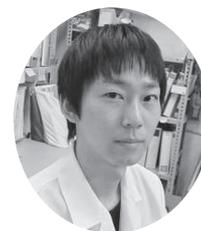


血液凝固ヒト XII 因子を巡る最近の動向

Recent trend of human blood coagulation factor XII

寺澤秀俊^{1*}, 中村 徹¹, 中垣智弘², 岩永貞昭³
 Hidetoshi TERASAWA¹, Toru NAKAMURA¹, Tomohiro NAKAGAKI²,
 Sadaaki IWANAGA³



寺澤秀俊

2009年
 大阪大学工学部卒業
 2011年
 大阪大学大学院情報科学研究
 科修士課程修了
 同年
 化学及血清療法研究所 入所

Key words: Coagulation factor XII, intrinsic coagulation, kinin-kallikrein system

Points

- ① XII 因子は *in vitro* において内因系凝固経路の開始因子として必須の凝固因子である。
- ② XII 因子欠損患者は出血傾向を示さないこと、その活性化に必須の陰性荷電物質の生体内での存在が不明であることから、XII 因子の *in vivo* での役割は長年謎に包まれていた。
- ③ 近年、生体内物質により XII 因子が活性化し、内因系凝固経路やキニン-カリクレイン系が活性化することが明らかとなり、XII 因子と病態との関連も示唆されている。

1. はじめに

凝固ヒト XII 因子(XII 因子)は、肝臓で生合成されるアミノ酸 596 残基からなる分子量約 80 kDa の 1 本鎖糖蛋白質である。第 5 染色体の q33-qter に位置する遺伝子は 13 のイントロンと 14 のエクソンからなり、その塩基長は約 12 kb である。XII 因子の半減期は約 2 日で、血中濃度は約 30 µg/mL (15–47 µg/mL) である。血中濃度は個人差や人種間差が

あり、東洋人は西洋人に比べ約 50% 低い¹⁾。この原因はエクソン 1 の翻訳開始コドン ATG から 4 塩基上流にある 1 塩基遺伝子多型(C/T)にある。東洋人では C/T の割合が 0.27/0.73 の頻度で、西洋人では 0.8/0.2 の頻度で見られる²⁾。この多型が翻訳効率に影響し、血漿中の XII 因子濃度の違いとして現れる。

XII 因子欠乏症患者は出血傾向を示さないため、XII 因子の凝固反応における生理的な意義についてはあまり重要視されていなかった。しかし、近年、生体内での機能について次々と興味深い報告がなされている。本稿では、ヒト XII 因子の構造と機能について概説し、最近報告された病態との関連についても述べる。なお、ヒト接触相系については、多くのレビューがあるので、参照されたい³⁻⁶⁾。

2. XII 因子の一次構造と機能

XII 因子はアミノ末端から、シグナルペプチド、

¹ 一般財団法人 化学及血清療法研究所 分画事業部門開発部

² 一般財団法人 化学及血清療法研究所 監事

³ 一般財団法人 化学及血清療法研究所 顧問

*責任者連絡先:

一般財団法人 化学及血清療法研究所 分画事業部門開発部

〒 860-8568 熊本市北区大窪 1-6-1

Tel: 096-344-2189, Fax: 096-344-9234

E-mail: terasawa-hi@kaketsuken.or.jp

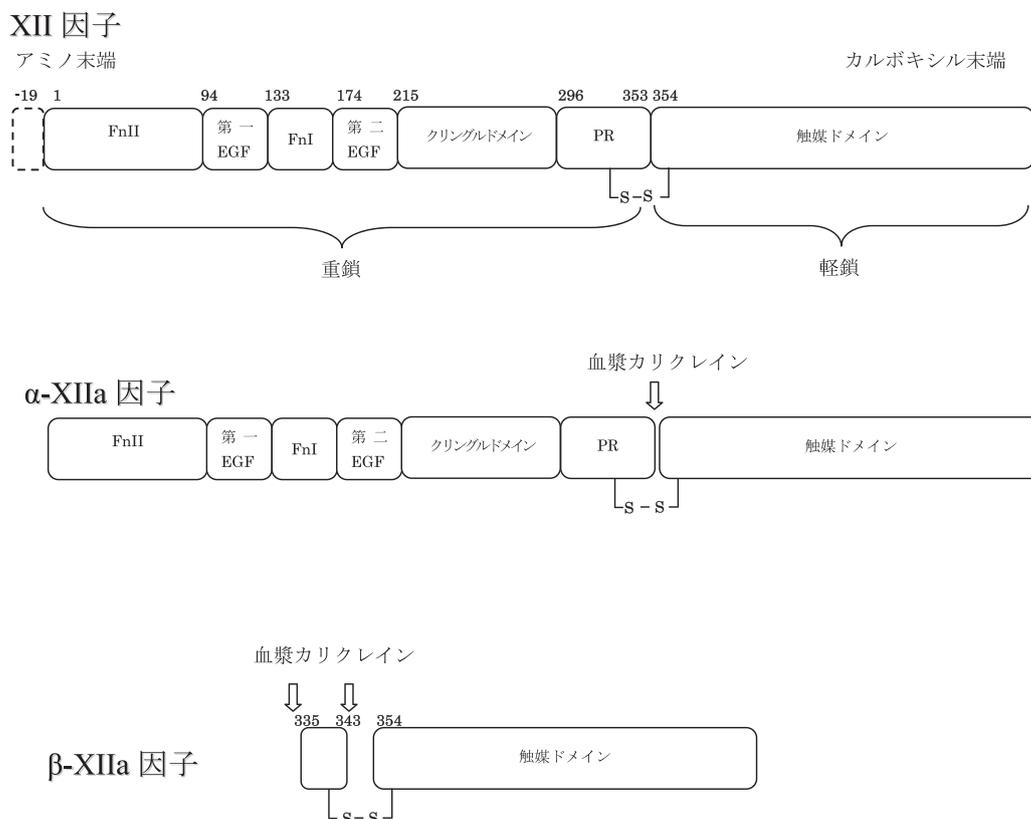


図1 XII因子のドメイン構造と血漿カリクレインによる活性化

FnII：フィブロネクチンタイプIIドメイン，EGF：EGF様ドメイン，FnI：フィブロネクチンタイプIドメイン，PR：プロリンリッチドメイン。

XII因子のアミノ末端の点線のドメインはリーダーペプチドで，XII因子が肝細胞で生合成されて血中に出る場合に切断される領域。XII因子はArg353-Val354結合が切断され，α-XIIa因子へと活性化される。さらにα-XIIa因子のArg334-Asn335およびArg343-Leu344結合が切断され，β-XIIa因子へと変換される。

フィブロネクチンタイプIIドメイン，第1上皮成長因子様(EGF様)ドメイン，フィブロネクチンタイプIドメイン，第2EGF様ドメイン，クリングルドメイン，プロリンリッチドメイン，触媒ドメインで構成される(図1)。現在報告されているXII因子の各ドメインに関する知見について以下に詳述する。また，XII因子の各ドメインの機能についてまとめたデータを表1に示す⁷⁾。

2.1. フィブロネクチンタイプIIドメイン

フィブロネクチンタイプIIドメインは凝固XI因子(XI因子)との相互作用や，ガラス等の陰性荷電表面との相互作用に関わる領域である。本ドメイン内のPro3-Val19を欠失させた変異体は，陰性荷電表面への結合能のほか，自己活性化能，カリクレ

インによる活性化の効率，合成基質水解活性は野生型と同等であるが，XI因子活性化能は半減することから，Pro3-Val19はXI因子との相互作用に寄与すると考えられている⁸⁾。一方，XI因子は，アップルドメイン4で活性型凝固XII因子(XIIa因子)と相互作用することが，合成ペプチドを用いた阻害実験から示唆されている⁹⁾。また，陰性荷電表面との結合にはアミノ末端のIle1-Cys28が寄与している¹⁰⁾。

XII因子は，10 μMのZn²⁺存在下で，ヒト臍帯静脈内皮細胞(HUVEC)に結合するが，XII因子のTyr39-Arg47のペプチド存在下では，その結合が阻害されることから，この領域が血管内皮細胞との結合部位であると推定されている。しかし，血中濃度

表1 XII因子のドメインおよび想定される機能

ドメイン名	機能を有するアミノ酸配列	想定される役割
フィブロネクチンタイプIIドメイン	1-28	人工物表面*との結合部位 ¹⁰⁾
	3-19	XI因子との結合部位 ^{8,9)}
	39-47	HUVECとの結合部位 ¹¹⁾
	40-44, 78-82	Zn ²⁺ 結合部位が2カ所 ¹³⁾
第1EGF様ドメイン	—	Zn ²⁺ 結合部位 ¹³⁾
フィブロネクチンタイプIドメイン	134-153	人工物表面*との結合部位 ¹⁵⁾
	174-176	人工物表面*との結合部位 ¹⁸⁾ Zn ²⁺ 結合部位 ¹³⁾
クリングルドメイン	—	人工物表面*との結合部位 ¹⁸⁾
	193-276	カリクレインによる切断の感受性向上
プロリンリッチドメイン	—	—
触媒ドメイン	353-354	XII因子活性化時に切断される部位
	His393, Asp442, Ser544	活性部位のCatalytic triad

*人工物表面：例としてカオリン，セライト，ガラス粉末などの陰性荷電物質が挙げられる。

の高分子キニノーゲン(HMWK)存在下ではXII因子とHUVECは結合しないことから，両者の結合は生理的には起こってないと考えられる¹¹⁾。

XII因子はZn²⁺の結合により立体構造が変化し，カリクレインによる活性化効率や α 活性型凝固XII因子(α -XIIa因子)による自己活性化効率が著しく向上する¹²⁾。XII因子および α -XIIa因子は各々，4個，3個のZn²⁺と結合するが， β 活性型凝固XII因子(β -XIIa因子)はZn²⁺と結合しない。Zn²⁺結合部位の内，2カ所はフィブロネクチンタイプIIドメイン内のHis40-His44とHis78-His82であり，残りの2カ所は各EGF様ドメインにそれぞれ1カ所ずつ存在する¹³⁾。

2.2. EGF様ドメイン

XII因子は2つのEGF様ドメインを有する。一般的にEGFは細胞増殖活性を示すが，その作用機序は，EGFとEGFレセプターとの結合により開始するシグナル伝達によるものである。6 μ g/mLのXII因子およびXIIa因子は，共にHepG2細胞の細胞増殖を2倍高める。一方，EGFの標的細胞ではないL細胞では，細胞増殖活性は全く示されない¹⁴⁾。このようにXII因子はEGFと似た作用を示すが，XII因子のEGF様ドメインとの因果関係は明らかではな

い。

2.3. フィブロネクチンタイプIドメイン

フィブロネクチンタイプIドメインは2つのEGF様ドメインに挟まれる41アミノ酸残基からなる領域である。このドメインの正確な機能については分かってないが，人工陰性荷電表面への結合に関与することが示唆されている¹⁵⁾。

2.4. クリングルドメイン

クリングルドメインは血液凝固線溶系の蛋白質だけではなく，各種の蛋白質でも多く見出されている¹⁶⁾。XII因子の本ドメインは81アミノ酸残基からなり，3つの特徴的なジスルフィド結合を有する。組織プラスミノゲンアクチベーター(t-PA)のクリングルドメインとは41%の相同性を有する¹⁷⁾。このドメインも正確な機能は分かっておらず，フィブロネクチンタイプIドメインとともに陰性荷電表面への結合部位であると推測されている¹⁸⁾。

2.5. プロリンリッチドメイン

プロリンリッチドメインは，33%がプロリン残基で占められ，他の凝固因子では認められないユニークなドメインである。他のプロリンリッチな蛋白質の配列とも相同性がなく，このドメインの機能については不明である。

2.6. 触媒ドメイン

触媒ドメインはXII因子で最も大きなドメインである。XII因子の活性部位はHis393, Asp442, Ser544の3つのアミノ酸からなり、活性化されると立体構造上これらは近接し、Catalytic triadを形成する¹⁹⁾。活性化はArg353-Val354結合の切断によって起こり、酵素活性を有する2本鎖の α -XIIa因子に変換される(図1)。In vitroでXII因子は、プラスミンやカリクレインにより液相で活性化され、固相でも陰性荷電表面と結合すると活性化されるが、そのメカニズムはよく分かってない。また、in vivoでどのようにして活性化されるかも不明である。陰性荷電表面上でXII因子の構造が変化することは、CDスペクトル測定^{*i}や和周波発生分光法^{*ii}で確認されているが、結晶構造解析データがないため、その詳細は分かってない⁷⁾。

3. 接触相の概要

接触相を構成する蛋白質は、XI因子、XII因子、プレカリクレイン(PK)、HMWKの4種である。接触相は内因系凝固経路の活性化、キニン-カリクレイン系の活性化に關与する。これら2つの系について以下に概説する。

3.1. 内因系凝固経路

血液凝固の過程には、内因系凝固経路と外因系凝固経路の2つの経路が存在する。外因系凝固経路は組織因子/活性型凝固VII因子(TF/VIIa因子)複合体により開始し、内因系凝固経路はXII因子が陰性荷電表面に接触することで開始する。

XII因子は陰性荷電表面と接触すると、Arg353-Val354結合がカリクレインにより切断され、 α -XIIa因子に活性化される(図1)。 α -XIIa因子はXII因子を自己活性化することに加え、PKをカリクレインへ活性化する。すなわち、XII因子とPKは相互に

活性化作用がある。また、HMWKはPKやXI因子と血中で複合体を形成し、 α -XIIa因子によるPKやXI因子活性化のコファクターとして機能する。 α -XIIa因子によるXI因子の活性化により、内因系凝固経路が開始する(図2)。

3.2. キニン-カリクレイン系

α -XIIa因子はカリクレインによりArg334-Asn335およびArg343-Leu344結合が切断され、9残基の重鎖と243残基の軽鎖からなる2本鎖の β -XIIa因子へと変換される。 β -XIIa因子は、陰性荷電表面とは結合できず、XI因子の活性化能は有していないが、PK活性化能は保持している。 α -XIIa因子および β -XIIa因子によりPKは活性化され、生成したカリクレインはHMWKを分解し、ブラジキニンを産生する(図2)。ブラジキニンは9アミノ酸からなるペプチドで、強力な平滑筋弛緩作用を有し、かつ、血圧を低下させる。また、痛みの原因物質としても知られており、この後に産生されるプロスタグランジンとともに出血時の炎症を引き起こす。ヒトではブラジキニンのレセプターは、B1R(bradykinin receptor 1)とB2R(bradykinin receptor 2)の2つが知られている。B2Rはほとんどの細胞種で発現しており、急性炎症に關与する。通常、B1Rはほとんど発現していないが、インターロイキン β 1やエンドトキシンのような炎症促進因子によって発現が誘導され、慢性炎症に關与する²⁰⁾。

4. XII因子の生理的機能

XII因子はin vitroにおいて、内因系凝固経路を介したトロンビン形成反応のトリガーとなる必須の凝固因子である。しかし、最初にXII因子欠乏症患者として同定されたJohn Hageman氏は全く出血傾向を示すことなく、肺塞栓症で亡くなっていることから、XII因子は凝固には關与しないと考えられた^{21, 22)}。生体内では主に外因系凝固経路を起点としてトロンビンが産生し、フィブリンクロットを形成していると考えられ、XII因子の役割は長年謎に包まれていた。また、生体内におけるカオリン等に相当する陰性荷電物質の存在が不明であったことも、XII因子の生理的機能の謎を深めていた(ウシ血漿中のXII因子は、in vitroにおいて、PKおよび

*i 直線偏光は右円偏光と左円偏光からなる。直線偏光が試料を通過すると、通過後の右円偏光と左円偏光には吸光度の差が生じる。これを分析することで蛋白質やペプチドの二次構造情報を得ることが可能。

*ii 波長固定可視域レーザー光と波長可変赤外レーザー光を対象表面に照射し、その際に発生する和周波光を計測する。これにより、対象表面の分子情報を得ることが可能。

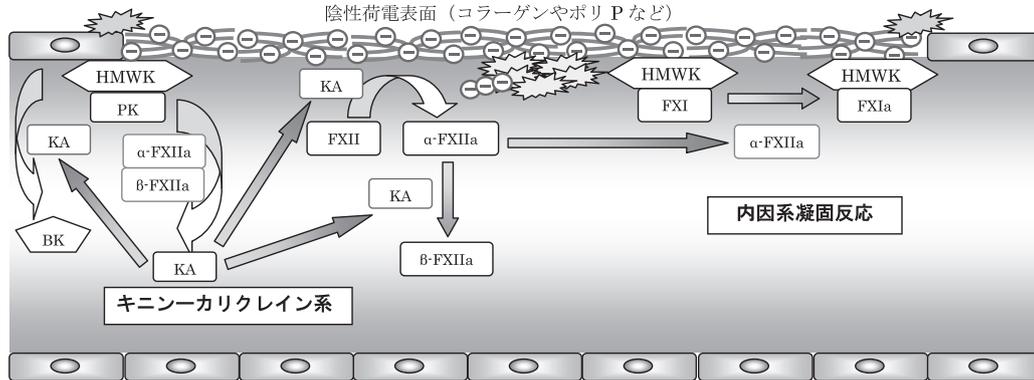


図2 接触相での XII 因子の反応

FXII：凝固 XII 因子， α -FXIIa： α 活性型凝固 XII 因子， β -FXIIa： β 活性型凝固 XII 因子
 HMWK：高分子キニノーゲン，PK：プレカリクレイン，KA：カリクレイン，BK：ブラジキニン
 FXI：凝固 XI 因子，FXIa：活性型凝固 XI 因子

HMWK の共存下で生体内物質のサルファチドおよびコレステロール硫酸によって活性化されることは知られていた^{23, 24)}。しかし，近年，生体内物質により XII 因子の活性化が引き起こされるという報告が相次ぎ，XII 因子の役割が見直されるようになった。以下に生体内物質による XII 因子の活性化とその意義について述べる。

4.1. 無機ポリリン酸と XII 因子

無機ポリリン酸(ポリ P)はリン酸無水結合からなる多くのリン酸残基を含むポリマーである。微生物では生存に必須の物質で，長さが ~ 1000 残基の長鎖ポリ P を有することが見出されている。動物では，ほとんどの臓器に存在し，細胞内では核，細胞膜，細胞質，ミトコンドリアなどに存在する。また，ヒトの血小板顆粒内には 60–100 残基の短鎖ポリ P が含まれている。これらは血小板の活性化に伴い血中へ分泌されるが，半減期は 90 分と短い^{25, 26)}。

Müller らは短鎖ポリ P と接触相の関連性について報告した²⁷⁾。キニン-カリクレイン系との関連では，*in vitro* でヒト血漿に短鎖ポリ P を添加するとブラジキニンが生成し，*in vivo* ではマウスにポリ P を投与するとブラジキニンに起因する浮腫が見られた。以上から血小板由来の短鎖ポリ P は XIIa 因子による PK 活性化を惹起することが示唆される。

内因系凝固経路との関連では，*in vitro* でヒト血漿に短鎖ポリ P を添加すると，XII 因子は短鎖ポリ P と結合し活性化され，凝固反応を惹起した。PK 欠

乏血漿でも同様に XIIa 因子が生成することから，XII 因子は短鎖ポリ P 上で自己活性化することも示唆される。なお，*in vivo* では，300 $\mu\text{g/g}$ body weight の短鎖ポリ P を大動脈に注射した野生型マウスは，5 分以内に肺塞栓で死亡するのに対し(14/15 匹で死亡)，XII 因子欠損型マウスの多くは生存した(3/15 匹で死亡)。また，XII 因子欠損型マウスへ短鎖ポリ P と XII 因子を投与すると，野生型マウスと同様に高率で死亡した(12/15 匹で死亡)。血小板活性化能を有するトロンビンレセプター活性化ペプチド(Trap6)を 0.7 $\mu\text{g/g}$ body weight で注射した野生型マウスも肺塞栓で死亡した。以上より，この致死性の肺塞栓の発症が，短鎖ポリ P による XII 因子の活性化に起因することが示唆される。

このように血小板由来の短鎖ポリ P は，生体内で炎症反応と凝固反応に関与することが示唆された。

Smith らは，*in vitro* の実験で，血小板から分泌される短鎖ポリ P は同量のカオリンと比べて約 5 倍の凝固促進作用を有することを示した。短鎖ポリ P は，生理的濃度の組織因子経路インヒビター(TFPI)を阻害する機能や凝固 V 因子の活性化促進作用を有しており，ポリ P の凝固促進作用には XII 因子の活性化に加え，これらも影響しているという²⁸⁾。

彼らはまた，ポリ P は長鎖であるほど凝固を促進させ，1000 残基程度の長鎖ポリ P は同量のカオリンと比べて，その効率は 100 倍以上であると報告

した²⁵⁾。さらに、XI 因子欠乏血漿に長鎖ポリ P を添加すると、接触相が活性化され、凝固が促進されるという報告や²⁹⁾、カリクレインがプロトロンビンや IX 因子を活性化するという報告もある³⁰⁾。細菌等が有する長鎖ポリ P が凝固を促進することは興味深い。

一方、上述した Müller らの結果と異なり、血小板から分泌される短鎖ポリ P は XII 因子の活性化にほとんど寄与せず、カオリンと比べると、XIIa 因子生成能は 10% 未満であるとする報告もある³¹⁾。生体内でのポリ P と XII 因子の関係について更なる研究が待たれる。

4.2. RNA, DNA, NETs と XII 因子

血管傷害に伴い細胞から RNA や DNA などが細胞外に漏出する。このような核酸も生体防御に関与し、凝固を促進するという。In vitro では、XII 因子や XI 因子が RNA や DNA と結合し、凝固を促進する。In vivo でも同様の現象が起こることを確かめるため、Kannemeier らはリボヌクレアーゼ(RNase)を注射したマウス、抗 XIIa 因子抗体を注射したマウス、これらを注射しなかったコントロールマウスの動脈を傷害し、血栓の出来方を調べた。その結果、コントロール群は動脈が閉塞したが、RNase を注射したマウスでは閉塞時間の有意な延長を認め、抗 XIIa 因子抗体を注射したマウスは動脈が閉塞しなかった³²⁾。細胞傷害により細胞内の RNA は細胞外に漏出するが、このような RNA も XII 因子、XI 因子を活性化し凝固を促進することが示唆される。なお、細胞傷害による核酸の細胞外への漏出は RNA が即時的であり、DNA は細胞が傷害されても核内でヒストンと複合体を形成していることから、DNA の凝固促進の寄与は小さいと考えられている。

NETs とは好中球細胞外トラップ(neutrophil extracellular traps)の略で、感染により活性化された好中球が放出する網目状の構造物である。NETs は好中球の DNA や顆粒成分を含み、陰性荷電を有する。NETs はその陰性荷電表面で XII 因子と結合し、XII 因子を活性化するという。NETs に含まれる DNA が XII 因子の活性化を引き起こすと考えられている^{33, 34)}。

4.3. 細胞外ドメイン構成物質と XII 因子

細胞外ドメインの構成物質では、細胞外マトリッ

クスの主成分であるコラーゲンと基底膜構成分子であるラミニンが代表的である。血管損傷に伴い、これらは血液に曝される。

コラーゲンは血小板と結合し、一次止血に寄与することは周知のとおりである。ヒト血漿に 1 型コラーゲンを添加すると、XII 因子は 1 型コラーゲンと結合し、活性化する。その結果、内因系凝固経路が活性化し凝固時間が短縮する³⁵⁾。また、コラーゲンを注射した野生型マウスでは血栓が生じるが、XII 因子欠損型マウスでは血栓がほとんど認められない³⁶⁾。

ラミニンも血小板コラーゲン受容体(GPVI)を介して血小板と結合し、血小板の接着と活性化に関与し、止血に寄与する³⁷⁾。また、ヒト血漿にラミニンを添加すると内因系凝固経路が活性化し凝固時間が短縮する³⁸⁾。

4.4. ミスフォールド蛋白質と XII 因子

ミスフォールド蛋白質とは、熱や pH、イオン強度などの変化により立体構造が崩れ、変性した蛋白質のことである。ミスフォールド蛋白質は、本来は分子内部に隠れていた部分が分子表面に露出しており、“アミロイド繊維”の形成や、“凝集”を引き起こす(図 3(a, b))。全身性アミロイドーシスは、ミスフォールド蛋白質が全身の様々な臓器に沈着し、臓器の機能障害が生じる疾患であるが、当該患者の XIIa 因子濃度は健常人に比べ有意に高く、ミスフォールド蛋白質と XII 因子活性化の関連性が指摘されている。

Maas らは、ミスフォールド蛋白質の形態の違い(“アミロイド繊維”または“凝集”)が、XII 因子の活性化に影響するかを調べた。その結果、Aβ1-42(アミロイド β ペプチド(Aβ)の 1~42 番目のアミノ酸からなるペプチド)やトランスサイレチンのアミロイド繊維は XII 因子を活性化しないが、これらの凝集体は XII 因子を活性化するとともに、カリクレインの生成を認めた(図 3(c))。また、カオリンのような陰性荷電表面にはウシ血清アルブミン(BSA)やフィブリノーゲンなどが吸着し、ミスフォールド蛋白質と似た立体構造をとる。これらの蛋白質は XII 因子を活性化し、カリクレインを生成したが(図 3(d, e))、XI 因子(内因系凝固経路)は活性化しなかった。一方、カオリン等で XII 因子が活性化され、

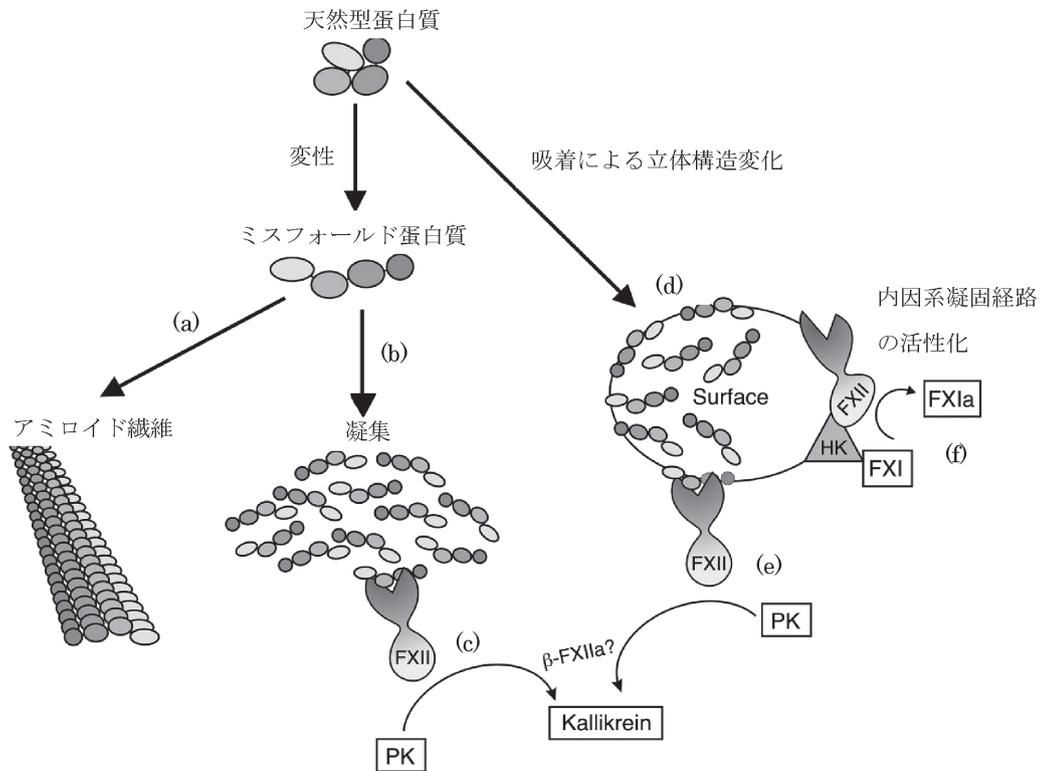


図3 ミスフォールド蛋白質と接触相の関係

蛋白質は変性により、アミロイド繊維の形成や、凝集を引き起こす(a, b)。また、接触面に吸着することで立体構造が変化する(d)。アミロイド繊維はXII因子の活性化能を有さない。凝集した蛋白質やカオリン等に吸着した蛋白質はXII因子を活性化し、キニン-カリクレイン系を活性化させるが、内因系凝固経路は活性化しない(c, e)。一方、カオリン等によりXII因子が活性化され、内因系凝固経路が活性化することは周知のとおりである(f)。(文献39より引用、一部改変)

内因系凝固経路が活性化することは周知のとおりである(図3(f))³⁹⁾。

こうした結果より、キニン-カリクレイン系と内因系凝固経路はXII因子によって使い分けられていることが示唆された。 α -XIIa因子と β -XIIa因子の機能の違いが両経路の使い分けに関与している可能性が考えられるが(図2)、詳しくは明らかでない。

4.5. 粒子状物質とXII因子

生体内物質ではないが、最近注目されている粒子状物質(particulate matter: PM)も血液凝固と関連するという。PMは大気汚染物質に含まれる微小粒子の総称であり、 $2.5\ \mu\text{m}$ 以上 $10\ \mu\text{m}$ 以下の粒子をPM10、 $0.15\ \mu\text{m}$ 以上 $2.5\ \mu\text{m}$ 以下の粒子をPM2.5、 $0.1\ \mu\text{m}$ 以下の粒子をUFPs(ultrafine particles)と呼ぶ。PMを吸入した場合、サイズの大きなPMは粘膜繊毛などにより取り除かれるが、UFPsは肺から血管

内へ入り循環する(ただし、その頻度は1-2.5%程度)。

Kimらは、PMをラットに曝露すると、肺細胞のTFの発現量の増加と、トロンボモジュリンの発現量の低下が引き起こされ、凝固が促進されることを報告した⁴⁰⁾。また、KilincらはPMによって接触相が活性化され、凝固が促進されることを明らかにした⁴¹⁾。この報告では、ヒト血漿へPMを添加すると濃度依存的にトロンビン生成量が増加したが、XII因子とXI因子の両因子欠乏血漿ではトロンビンは生成しなかった。また、野生型マウスとXII因子欠損型マウスの気管内にUFPsを注入し、4時間後、20時間後の血漿の凝固能を調べたところ、UFPs注入4時間後の血漿では、両マウスとも外因系経路を介するトロンビン生成が認められた。一方、UFPs注入20時間後の血漿では、野生型マウスでは内因

系経路を起点とするトロンビン生成の増加が認められたが、XII 因子欠損型マウスではトロンビン生成は認められなかった。

以上より、PM は曝露初期において外因系凝固経路を促進し、その後は内因系凝固経路が促進され、持続的な凝固促進状態を引き起こすことが示唆される。また、 Ni^{2+} や Cu^{2+} も XII 因子と結合し接触相を活性化させるという報告もあり⁴²⁾、大気汚染と血栓症との関連性について、今後の研究が待たれる。

5. XII 因子と病態の関連

前述したように XII 因子欠乏症患者は何ら出血傾向を示さない。また、XII 因子は進化的には比較的新しい蛋白質で、鳥類や魚類は XII 因子遺伝子を有していない⁴³⁾。この知見も、XII 因子が止血に重要でないという結論に一致する。しかし XII 因子欠損型マウスが作製されたことを契機に⁴⁴⁾、XII 因子の生理的な意義が見直されつつある。以下、XII 因子と病態との関連について述べる。

5.1. 血栓性疾患

Renné らは、 FeCl_3 を用いた腸間膜動脈の傷害モデルの実験で、血栓形成における XII 因子の関与を明らかにした³⁶⁾。 FeCl_3 で動脈を傷害すると 40 分以内に、野生型マウスの 94.1% (16/17 匹) で血管が完全に閉塞したが、ホモ接合体 XII 因子欠損型 ($\text{XII}^{-/-}$) マウスでは血管の閉塞は起こらなかった。 $\text{XII}^{-/-}$ マウスで形成される血栓は不安定で大きな血栓になりにくいいため、完全閉塞には至らないようである。このモデルにおける $\text{XII}^{-/-}$ マウスの血栓形成能の低下が XII 因子欠損によることは、XII 因子の補充試験により証明されている。すなわち、 $\text{XII}^{-/-}$ マウスの APTT を正常値に補正するようにヒト XII 因子を投与すると、 FeCl_3 で傷害した $\text{XII}^{-/-}$ マウスの腸間膜動脈が観察時間内に閉塞した。これらの結果から、 FeCl_3 で傷害した動脈内で XII 因子は血小板に富んだ血栓形成の進展と安定化に必要であることが示唆される。

XII 因子や $\alpha\text{-XIIa}$ 因子はフィブリノーゲン (K_d はそれぞれ 3.0 nM, 4.1 nM)、フィブリン (K_d はそれぞれ 2.5 nM, 4.6 nM) と高い親和性を示す。血栓の安定化に関して Konings らは、*in vitro* において、

$\alpha\text{-XIIa}$ 因子がフィブリノーゲンやフィブリンと相互作用し、フィブリンクロットを密な構造へと変化させることを示した (図 4 (A, B))^{45,46)}。一方、XII 因子や $\beta\text{-XIIa}$ 因子では、フィブリンクロットは $\alpha\text{-XIIa}$ 因子に比べ低密度であった。また、免疫染色でヒト頸動脈血栓を観察すると、高密度なフィブリン構造が見られるところで XII (a) 因子が共存していた。フィブリン構造に影響を与えるのは $\alpha\text{-XIIa}$ 因子のみであることから、フィブリン/フィブリノーゲンへの結合だけではなく酵素活性も影響していると考えられる。

XII 因子欠損型マウスが血栓形成に抵抗性を示すことから、種々の血栓塞栓性疾患モデルでの評価も行われている。脳梗塞モデルでは、XII 因子を欠損あるいは阻害すると、虚血性の脳障害は防御されるという。脳虚血状態を 1 時間保った後、再灌流 24 時間後の観察では、 $\text{XII}^{-/-}$ マウスの脳梗塞層の容量は野生型マウスに比べて 50% 以上減少した。また、全体的な脳機能を評価する Bederson スコアや運動機能を特異的に測定する握力試験で、 $\text{XII}^{-/-}$ マウスは野生型マウスに比べ有意に優れていた。さらに、野生型マウスでは血管を閉塞するような血管内フィブリン沈着がみられたが、 $\text{XII}^{-/-}$ での血管内フィブリン沈着量は、劇的に減少した⁴⁷⁾。このように XII 因子活性を特異的に低下させることにより、出血を助長することなく病的血栓形成を防止できることから、XII 因子阻害薬は理想的な抗血栓薬となる可能性を有しており、種々の薬剤候補が見出されている^{48,49)}。

しかし、XII 因子欠損型マウスを用いた実験的血栓モデルから類推される XII 因子の機能が、ヒトで生理的に機能しているかについては結論を得ていない。1991~2003 年に、凝固異常や血栓傾向のスクリーニングとして XII 因子活性が測定された約 9000 人を活性値 100% 以上から 10% 以下まで 10% ごとに 11 区分し、観察期間中の死亡率 (死亡原因は特定しない) を調査したところ、XII 因子活性の低下とともにその危険率はリニアに高まり、XII 因子活性が 10~20% の群では 100% 以上の群に比べて、危険率は 4.7 倍高かった。しかし、XII 因子活性が 10% 以下になると 100% 以上と同等の危険率まで低下した。この傾向は、虚血性の心疾患による死亡に

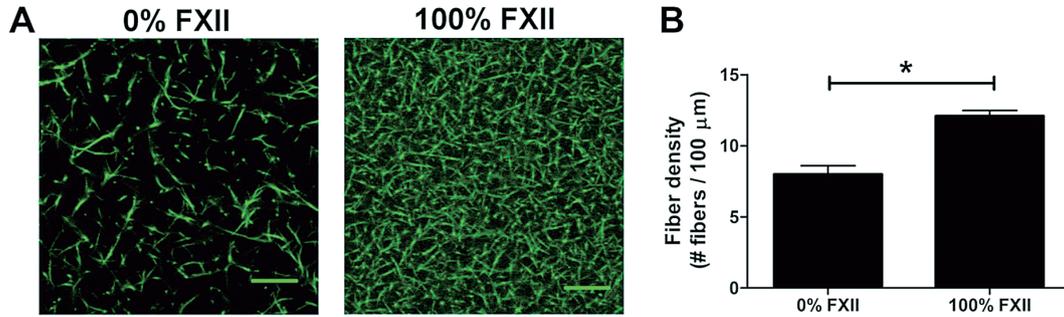


図4 フィブリンクロットにXII因子が与える影響

A: プロトロンビンとXII因子の両因子欠乏血漿に0.625 nM トロンビン, 5% Alexa Flour-488 フィブリノーゲン, XII因子(0%または100%), 0.4 μM サルファチド, 4 μM リン脂質, 5 mM CaCl₂, 150 mM NaClを添加した際の共焦点顕微鏡写真. 陰性荷電物質であるサルファチドによりXII因子が活性化し, 生成したα-XIIa因子により, フィブリンクロットが密な構造をとる. Scalebar=25 μm

B: 共焦点顕微鏡写真より解析した繊維密度. * P<0.05(A, B共に文献45より引用)

限っても同様であった⁵⁰). XII因子活性と死亡リスクに関する大規模な疫学調査が待たれる.

5.2. 先天性浮腫

XII因子は血漿中で補体の古典的経路を活性化する⁵¹). 先天性血管性浮腫(HAE)は, C1エステラーゼインヒビター(C1INH)の欠損患者で起きる致死性の組織腫脹症である. HAEは, タイプI(C1INHの産生および分泌不良による低下: 抗原値と活性値が一致)とタイプII(活性の低下: 抗原>活性)に分類される⁵²). これら2つのタイプがよく知られたHAEに加えて, ほとんど女性だけに発症する3番目のバリエーション(HAEタイプIII)が存在する. タイプIII患者は, C1INH活性が正常であるにもかかわらず血管性浮腫を発症する⁵³).

遺伝子改変マウスを用いた研究から, C1INH依存性のHAEでの浮腫形成は, 病的な接触相の活性化の結果であることが示された. すなわち, ①野生型マウスに比べてヘテロ接合体およびホモ接合体C1INH欠損型マウスは血管透過性が高まる, ②この血管透過性の高まりは, C1INH製剤, カリクレインインヒビターおよびB2Rアンタゴニストの投与によって是正される, ③C1INHとB2Rの両方を欠損したマウスは, C1INH欠損型マウスに比べて, 血管透過性の程度が低下することが示され, 血管性浮腫はB2Rを介したブラジキニンの作用によることが示された⁵⁴).

C1INH依存性のHAEとは逆に, HAEタイプIII

の発症メカニズムは不明である. 罹患者の全ゲノム連鎖解析により, HAEタイプIIIはXII因子遺伝子のミスセンス変異(c.1032C→Aおよびc.1032C→G変異, この変異によりThr328LysおよびThr328Argとなる: 番号はシグナルペプチドを含む)による常染色体優性疾患であることが示された⁵⁵). タイプIII患者のAPTTは正常であるが, Thr328Lys-XII因子は合成基質の水解活性が著しく高いことから, ブラジキニン産生能が高まり浮腫を発症する可能性が示唆される⁵⁶).

5.3. 炎症

感染に起因して血管内凝固が亢進することは, 重症敗血症でよく見られるが, これは, 細菌由来のLPSやポリP等の成分が凝固系を作動させるためと考えられている. また, 細菌感染に起因する敗血症などの炎症反応も凝固系の活性化に関与し, 播種性血管内凝固症候群(DIC)となる. こうした感染症DICに接触相の活性化が関与しているのかは不明であった. Tuckerらは, 腸穿孔惹起腸膜敗血症マウスモデルで試験を行い, XIIa因子によるXI因子活性化を選択的に抑制する抗体(14E11)の投与によりトロンビン・アンチトロンビン複合体(TAT)形成, 血小板の消費, 炎症性サイトカインのIL-6やTNF-α産生が抑制され, 生存率も有意に改善することを報告した. 本結果よりXII因子を含む接触相因子も感染性DICの病態発現に関与している可能性が示唆された⁵⁷).

関節炎での炎症反応における補体系の関与は知られているが、接触相の関与は不明であった。そこで関節炎での補体系の関与と接触相の関与を比較した試験が行われた。71名の炎症性関節炎患者のうち15名で滑膜液中のXIIa-C1INH濃度の上昇が見られたが、臨床症状や好中球の活性化の程度とは相関しなかった。一方、滑膜液中のC3a濃度は全例で上昇しており、その濃度と好中球の活性化の程度とはよく相関していた。このことから、関節炎での炎症反応では補体系が重要な役割を果たし、接触相の関与は限定的としている⁵⁸⁾。

5.4. 血管新生

EGFドメインを有する1本鎖ウロキナーゼ型プラスミノゲンアクチベーター(uPA)は、HUVECのMAPK(mitogen-activated protein kinase: 分裂促進因子活性化蛋白質キナーゼ)のリン酸化を惹起する。このことに着目し、2つのEGF様ドメインを有するXII因子について調べたところ、XII因子もZn²⁺存在下でHUVECのERK1/2やAktのリン酸化を惹起した¹²⁾。なお、uPAR欠損型マウスでは血管新生を惹起しないことから、XII因子欠損型マウスでも評価し、野生型マウスに比べて血管の数が少ないことが、皮膚のパンチ生検^{*iii}で示された⁵⁹⁾。しかし、上記とは別系統のXII因子欠損型マウスを用いた試験では、XII因子は血管新生に関与しないと報告されている⁴⁴⁾。生理的条件下では、XII因子とHUVECの相互作用は起こりにくいので¹¹⁾、XII因子を介した血管新生が起こるとしても極めて限局的な条件下であると考えられる。

6. おわりに

XII因子は生理的には重要でないと考えられてきたが、最近になってその役割が見直されつつある。しかし、*in vivo*での報告はまだ不十分である。また、XII因子は内因系凝固経路とキニン-カリクレイン系の両方に関わる蛋白質であるが、*in vivo*でのこれら2経路の選択方法は不明である。今後の研究によりこれらが解明されることが期待される。

*iii 鋭利な中空の器具を用いて組織サンプルを採取する検査方法。採取した組織は顕微鏡観察が可能。

謝辞

稿を終えるにあたり、執筆の機会を与えていただいた武谷浩之教授(崇城大学生物生命学部応用生命科学科)に深謝します。

著者全員の利益相反(COI)の開示:

本論文発表内容に関連して開示すべき企業との利益相反なし

文献

- 1) Gordon EM, Donaldson VH, Saito H, Su E, Ratnoff OD: Reduced titers of Hageman factor (factor XII) in Orientals. *Ann Intern Med* **95**: 697–700, 1981.
- 2) Kanaji T, Okamura T, Osaki K, Kuroiwa M, Shimoda K, Hamasaki N, Niho Y: A common genetic polymorphism (46 C to T substitution) in the 5'-untranslated region of the coagulation factor XII gene is associated with low translation efficiency and decrease in plasma factor XII level. *Blood* **91**: 2010–2014, 1998.
- 3) Renné T, Schmaier AH, Nickel KF, Blombäck M, Maas C: In vivo roles of factor XII. *Blood* **120**: 4296–4303, 2012.
- 4) Mutch NJ: Emerging roles for factor XII in vivo. *J Thromb Haemost* **9**: 1355–1358, 2011.
- 5) Saito H: Contact factors in health and disease. *Semin Thromb Hemost* **13**: 36–49, 1987.
- 6) 中富靖, 中垣智弘: 内因系血液凝固研究の現状 XII因子, XI因子及び高分子キニノーゲンの欠損マウスについて. *日本血栓止血学会誌* **20**: 323–328, 2009.
- 7) Stavrou E, Schmaier AH: Factor XII: what does it contribute to our understanding of the physiology and pathophysiology of hemostasis & thrombosis. *Thromb Res* **125**: 210–215, 2010.
- 8) Citarella F, Fedele G, Roem D, Fantoni A, Hack CE: The second exon-encoded factor XII region is involved in the interaction of factor XII with factor XI and does not contribute to the binding site for negatively charged surfaces. *Blood* **92**: 4198–4206, 1998.
- 9) Baglia FA, Jameson BA, Walsh PN: Identification and characterization of a binding site for factor XIIa in the Apple 4 domain of coagulation factor XI. *J Biol Chem* **268**: 3838–3844, 1993.
- 10) Clarke BJ, Côté HC, Cool DE, Clark-Lewis I, Saito H, Pixley RA, Colman RW, MacGillivray RT: Mapping of a putative surface-binding site of human coagulation factor XII. *J Biol Chem* **264**: 11497–11502, 1989.
- 11) Mahdi F, Madar ZS, Figueroa CD, Schmaier AH: Factor XII interacts with the multiprotein assembly of urokinase plasminogen activator receptor, gC1qR, and cytokeratin 1 on endothelial cell membranes. *Blood* **99**: 3585–3596, 2002.
- 12) Bernardo MM, Day DE, Olson ST, Shore JD: Surface-independent acceleration of factor XII activation by zinc ions. I. Kinetic characterization of the metal ion rate enhancement. *J*

- Biol Chem **268**: 12468–12476, 1993.
- 13) Røjkaer R, Schousboe I: Partial identification of the Zn²⁺-binding sites in factor XII and its activation derivatives. *Eur J Biochem* **247**: 491–496, 1997.
 - 14) Schmeidler-Sapiro KT, Ratnoff OD, Gordon EM: Mitogenic effects of coagulation factor XII and factor XIIa on HepG2 cells. *Proc Natl Acad Sci USA* **88**: 4382–4385, 1991.
 - 15) Pixley RA, Stumpo LG, Birkmeyer K, Silver L, Colman RW: A monoclonal antibody recognizing an icosapeptide sequence in the heavy chain of human factor XII inhibits surface-catalyzed activation. *J Biol Chem* **262**: 10140–10145, 1987.
 - 16) 前田浩明, 岩永貞昭: クリンドロメインの立体構造. *日本血栓止血学会誌* **11**: 24–39, 2000.
 - 17) Cool DE, Edgell CJ, Louie GV, Zoller MJ, Brayer GD, MacGillivray RT: Characterization of human blood coagulation factor XII cDNA. Prediction of the primary structure of factor XII and the tertiary structure of beta-factor XIIa. *J Biol Chem* **260**: 13666–13676, 1985.
 - 18) Citarella F, Ravon DM, Pascucci B, Felici A, Fantoni A, Hack CE: Structure/function analysis of human factor XII using recombinant deletion mutants. Evidence for an additional region involved in the binding to negatively charged surfaces. *Eur J Biochem* **238**: 240–249, 1996.
 - 19) Cool DE, MacGillivray RT: Characterization of the human blood coagulation factor XII gene. Intron/exon gene organization and analysis of the 5'-flanking region. *J Biol Chem* **262**: 13662–13673, 1987.
 - 20) Frick IM, Björck L, Herwald H: The dual role of the contact system in bacterial infectious disease. *Thromb Haemost* **98**: 497–502, 2007.
 - 21) Xu-Cai YO, Shen J, Chen S, Zhou Y, Larusch GA, Stavrou E, Schmaier AH, Wu Q: Factor XII gene mutation in the Hageman family. *J Thromb Haemost* **9**: 2329–2331, 2011.
 - 22) 斎藤英彦: 研究四方山話 名古屋とクリーブランドに於ける思い出. *日本血栓止血学会誌* **24**: 664–668, 2013.
 - 23) 嶋田敏生, 岩永貞昭: 血液凝固系の開始反応機構. *臨床科学* **19**: 933–946, 1983.
 - 24) Shimada T, Kato H, Iwanaga S, Iwamori M, Nagai Y: Activation of factor XII and prekallikrein with cholesterol sulfate. *Thromb Res* **38**: 21–31, 1985.
 - 25) Smith SA, Choi SH, Davis-Harrison R, Huyck J, Boettcher J, Rienstra CM, Reinstra CM, Morrissey JH: Polyphosphate exerts differential effects on blood clotting, depending on polymer size. *Blood* **116**: 4353–4359, 2010.
 - 26) Caen J, Wu Q: Hageman factor, platelets and polyphosphates: early history and recent connection. *J Thromb Haemost* **8**: 1670–1674, 2010.
 - 27) Müller F, Mutch NJ, Schenk WA, Smith SA, Esterl L, Spronk HM, Schmidbauer S, Gahl WA, Morrissey JH, Renné T: Platelet polyphosphates are proinflammatory and procoagulant mediators in vivo. *Cell* **139**: 1143–1156, 2009.
 - 28) Smith SA, Mutch NJ, Baskar D, Rohloff P, Docampo R, Morrissey JH: Polyphosphate modulates blood coagulation and fibrinolysis. *Proc Natl Acad Sci USA* **103**: 903–908, 2006.
 - 29) Puy C, Tucker EI, Wong ZC, Gailani D, Smith SA, Choi SH, Morrissey JH, Gruber A, McCarty OJ: Factor XII promotes blood coagulation independent of factor XI in the presence of long-chain polyphosphates. *J Thromb Haemost* **11**: 1341–1352, 2013.
 - 30) Stief TW: Kallikrein activates prothrombin. *Clin Appl Thromb Hemost* **14**: 97–98, 2008.
 - 31) Faxälv L, Boknäs N, Ström JO, Tengvall P, Theodorsson E, Ramström S, Lindahl TL: Putting polyphosphates to the test: evidence against platelet-induced activation of factor XII. *Blood* **122**: 3818–3824, 2013.
 - 32) Kannemeier C, Shibamiya A, Nakazawa F, Trusheim H, Ruppert C, Markart P, Song Y, Tzima E, Kennerknecht E, Niepmann M, von Bruehl ML, Sedding D, Massberg S, Günther A, Engelmann B, Preissner KT: Extracellular RNA constitutes a natural procoagulant cofactor in blood coagulation. *Proc Natl Acad Sci USA* **104**: 6388–6393, 2007.
 - 33) Oehmcke S, Mörgelin M, Herwald H: Activation of the human contact system on neutrophil extracellular traps. *J Innate Immun* **1**: 225–230, 2009.
 - 34) von Brühl ML, Stark K, Steinhart A, Chandraratne S, Konrad I, Lorenz M, Khandoga A, Tirniceriu A, Coletti R, Köllnberger M, Byrne RA, Laitinen I, Walch A, Brill A, Pfeiler S, Manukyan D, Braun S, Lange P, Riegger J, Ware J, Eckart A, Haidari S, Rudelius M, Schulz C, Ehtler K, Brinkmann V, Schwaiger M, Preissner KT, Wagner DD, Mackman N, Engelmann B, Massberg S: Monocytes, neutrophils, and platelets cooperate to initiate and propagate venous thrombosis in mice in vivo. *J Exp Med* **209**: 819–835, 2012.
 - 35) van der Meijden PE, Munnix IC, Auger JM, Govers-Riemslog JW, Cosemans JM, Kuijpers MJ, Spronk HM, Watson SP, Renné T, Heemskerk JW: Dual role of collagen in factor XII-dependent thrombus formation. *Blood* **114**: 881–890, 2009.
 - 36) Renné T, Pozgajová M, Grüner S, Schuh K, Pauer HU, Burfeind P, Gailani D, Nieswandt B: Defective thrombus formation in mice lacking coagulation factor XII. *J Exp Med* **202**: 271–281, 2005.
 - 37) Inoue O, Suzuki-Inoue K, McCarty OJ, Moroi M, Ruggeri ZM, Kunicki TJ, Ozaki Y, Watson SP: Laminin stimulates spreading of platelets through integrin alpha6beta1-dependent activation of GPVI. *Blood* **107**: 1405–1412, 2006.
 - 38) White-Adams TC, Berny MA, Patel IA, Tucker EI, Gailani D, Gruber A, McCarty OJ: Laminin promotes coagulation and thrombus formation in a factor XII-dependent manner. *J Thromb Haemost* **8**: 1295–1301, 2010.
 - 39) Maas C, Govers-Riemslog JW, Bouma B, Schiks B, Hazenberg BP, Lokhorst HM, Hammarström P, ten Cate H, de Groot PG, Bouma BN, Gebbink MF: Misfolded proteins activate factor XII in humans, leading to kallikrein formation without initiating coagulation. *J Clin Invest* **118**: 3208–3218, 2008.
 - 40) Frederix K, Kooter IM, van Oerle R, Fens D, Hamulyak K, Gerlofs-Nijland ME, Ten Cate H, Spronk HM: A new method to determine tissue specific tissue factor thrombomodulin activities: endotoxin and particulate air pollution induced imbalance. *Thromb J* **6**: 14, 2008.
 - 41) Kiliç E, Van Oerle R, Borissoff JI, Oschatz C, Gerlofs-Nijland ME, Janssen NA, Cassee FR, Sandström T, Renné T, Ten Cate H, Spronk HM: Factor XII activation is essential to sustain the procoagulant effects of particulate matter. *J*

- Thromb Haemost **9**: 1359–1367, 2011.
- 42) Mutch NJ, Waters EK, Morrissey JH: Immobilized transition metal ions stimulate contact activation and drive factor XII-mediated coagulation. *J Thromb Haemost* **10**: 2108–2115, 2012.
 - 43) Ponczek MB, Gailani D, Doolittle RF: Evolution of the contact phase of vertebrate blood coagulation. *J Thromb Haemost* **6**: 1876–1883, 2008.
 - 44) Pauer HU, Renné T, Hemmerlein B, Legler T, Fritzljar S, Adham I, Müller-Esterl W, Emons G, Sancken U, Engel W, Burfeind P: Targeted deletion of murine coagulation factor XII gene—a model for contact phase activation in vivo. *Thromb Haemost* **92**: 503–508, 2004.
 - 45) Konings J, Govers-Riemslog JW, Philippou H, Mutch NJ, Borissoff JI, Allan P, Mohan S, Tans G, Ten Cate H, Ariëns RA: Factor XIIa regulates the structure of the fibrin clot independently of thrombin generation through direct interaction with fibrin. *Blood* **118**: 3942–3951, 2011.
 - 46) 竹尾和寛, 中垣智弘, 岩永貞昭: フィブリノゲンの多様性—その構造と機能, および分子進化について—. *日本血栓止血学会誌* **24**: 300–317, 2013.
 - 47) Kleinschnitz C, Stoll G, Bendszus M, Schuh K, Pauer HU, Burfeind P, Renné C, Gailani D, Nieswandt B, Renné T: Targeting coagulation factor XII provides protection from pathological thrombosis in cerebral ischemia without interfering with hemostasis. *J Exp Med* **203**: 513–518, 2006.
 - 48) Hagedorn I, Schmidbauer S, Pleines I, Kleinschnitz C, Kronthaler U, Stoll G, Dickneite G, Nieswandt B: Factor XIIa inhibitor recombinant human albumin Infestin-4 abolishes occlusive arterial thrombus formation without affecting bleeding. *Circulation* **121**: 1510–1517, 2010.
 - 49) Woodruff RS, Xu Y, Layzer J, Wu W, Ogletree ML, Sullenger BA: Inhibiting the intrinsic pathway of coagulation with a factor XII-targeting RNA aptamer. *J Thromb Haemost* **11**: 1364–1373, 2013.
 - 50) Endler G, Marsik C, Jilma B, Schickbauer T, Quehenberger P, Mannhalter C: Evidence of a U-shaped association between factor XII activity and overall survival. *J Thromb Haemost* **5**: 1143–1148, 2007.
 - 51) Ghebrehiwet B, Silverberg M, Kaplan AP: Activation of the classical pathway of complement by Hageman factor fragment. *J Exp Med* **153**: 665–676, 1981.
 - 52) Zuraw BL: Clinical practice. Hereditary angioedema. *N Engl J Med* **359**: 1027–1036, 2008.
 - 53) Watt G, Kantipong P, Jongsakul K, Watcharapichat P, Phulsuksombati D, Strickman D: Doxycycline and rifampicin for mild scrub-typhus infections in northern Thailand: a randomised trial. *Lancet* **356**: 1057–1061, 2000.
 - 54) Han ED, MacFarlane RC, Mulligan AN, Scafidi J, Davis AE: Increased vascular permeability in C1 inhibitor-deficient mice mediated by the bradykinin type 2 receptor. *J Clin Invest* **109**: 1057–1063, 2002.
 - 55) Dewald G, Bork K: Missense mutations in the coagulation factor XII (Hageman factor) gene in hereditary angioedema with normal C1 inhibitor. *Biochem Biophys Res Commun* **343**: 1286–1289, 2006.
 - 56) Cichon S, Martin L, Hennies HC, Müller F, Van Driessche K, Karpushova A, Stevens W, Colombo R, Renné T, Drouet C, Bork K, Nöthen MM: Increased activity of coagulation factor XII (Hageman factor) causes hereditary angioedema type III. *Am J Hum Genet* **79**: 1098–1104, 2006.
 - 57) Tucker EI, Verbout NG, Leung PY, Hurst S, McCarty OJ, Gailani D, Gruber A: Inhibition of factor XI activation attenuates inflammation and coagulopathy while improving the survival of mouse polymicrobial sepsis. *Blood* **119**: 4762–4768, 2012.
 - 58) Abbink JJ, Kamp AM, Nuijens JH, Erenberg AJ, Swaak AJ, Hack CE: Relative contribution of contact and complement activation to inflammatory reactions in arthritic joints. *Ann Rheum Dis* **51**: 1123–1128, 1992.
 - 59) LaRusch GA, Mahdi F, Shariat-Madar Z, Adams G, Sitrin RG, Zhang WM, McCrae KR, Schmaier AH: Factor XII stimulates ERK1/2 and Akt through uPAR, integrins, and the EGFR to initiate angiogenesis. *Blood* **115**: 5111–5120, 2010.