

## ◆トピックス◆

## 遺伝性異常フィブリノゲン血症

松田道生\*<sup>1</sup>, 諏合輝子\*<sup>1</sup>, 中三川千鶴子\*<sup>1</sup>  
関根理\*<sup>2</sup>

## Hereditary Dysfibrinogenemia

Michio MATSUDA\*<sup>1</sup>, Teruko SUGO\*<sup>1</sup>, Chizuko NAKAMIKAWA\*<sup>1</sup>, Osamu SEKINE\*<sup>2</sup>

**Key words** : dysfibrinogenemia, hereditary dysfibrinogen, hemorrhagic diathesis, thromboembolic disease, wound healing disturbance

## はじめに

フィブリノゲン (fibrinogen, Fbg) はトロンビンによる限定分解を受けてフィブリンモノマー (fibrin monomer) に転じ, きわめて規則的に進展する重合反応を介して, フィブリン (fibrin, Fbn) 線維, 次いで, より太い Fbn 束を形成する。この過程で, 適当な間隔で分岐して Fbn 網を作り, 止血血栓の主たる基材として働いている。

Fbg は, トロンビンによる限定分解を受けて, 中央の球状領域 (E ドメイン) に配置されている一対のフィブリノペプチド A (fibrinopeptide A, FPA) を A $\alpha$  鎖のアミノ基末 (N 末) から放出して, desAA-Fbn モノマーに転ずる。desAA-Fbn は, その  $\alpha$  鎖 (FPA を失うと A $\alpha$  鎖は  $\alpha$  鎖となる) の N 末に新たに露呈された重合反応基 “A” と, ほかの desAA-Fbn 分子の外側球状領域 (D ドメイン) 中の反応基 “a” とが相補的に結合することによって, 二本鎖のプロトフィブリル (double-stranded protofibril) を形成する<sup>1)2)</sup>。

この過程で, さらに, B $\beta$  鎖の N 末からトロンビンにより効率よくフィブリノペプチド B (fibrinopeptide B, FPB) が切断されると, E ドメインに緩く結合していた 1 対の  $\alpha$  鎖 C 末領域 ( $\alpha$ C ドメイン) は E ドメインから離れて開環し, その後重合反応は非酵素的に進転して, Fbn 網が完成される<sup>3)4)</sup>。

この一連の現象には数多くの反応系が関与するが, 遺伝性の構造異常により, これらの反応系に機能障害が生じているものを遺伝性 Fbg 異常症 (hereditary dysfibrinogenemia) と称している。これまでに構造異常と機能障害との関係が明らかにされた異常分子での変異型は 60 を超えるが<sup>5)6)</sup> (表 1), その多くは臨床的に無症状であり, 出血, 血栓症あるいは創傷治癒不全など, Fbg の生理的機能の障害として, その分子機作が明瞭に示されたものはむしろ数少ない。

本稿では, 出血や血栓症, 創傷治癒不全などの臨床症状をもつ症例で得られた異常分子の構造-機能関係に焦点を当て, 臨床症状発現の機序を考えてみたい。

\*<sup>1</sup>自治医科大学, 分子病態治療研究センター [〒 329-0498 栃木県河内郡南河内町薬師寺 3311-1]

Center for Molecular Medicine, Jichi Medical School

\*<sup>2</sup>同 附属大宮医療センター, 外科 [〒 330-8503 埼玉県大宮市天沼町 1-847]

Department of Surgery, Omiya Medical Center, Jichi Medical School

\*<sup>2</sup> 大学院学生

Table 1 Structure-elucidated Dysfibrinogens

$\alpha$ -chain			$\beta$ -chain			$\gamma$ -chain		
Position	Substitution	Name	Position	Substitution	Name	Position	Substitution	Name
7	D→N	Lille	G9 - L72 Deletion		New York I	139	C→Y	Pretoria*
11	E→G	Mitaka II	(Exon 2)			165	G→R	Milano XII*
12	G→V	Rouen	14	R→C	Christchurch	268	G→E	Kurashiki
16	R→C	Metz and others	15	G→C	Ise and other	275	R→C	Tokyo II and others
	R→H	Manchester and others	44	R→C	Nijmegen		R→H	Bergamo and others
17	G→V	Bremen	68	A→T	Naples		R→S	Kamogawa
18	P→L	Kyoto II and other	160	N→S	Niigata	280	Y→C	Banks Peninsula
19	R→S	Detroit	335	A→T	Pontoise	284	G→R	Brescia
	R→N	Munich	462	stop→K	Osaka VI*	292	G→V	Baltimore I
	R→G	Aarhus and others	12 AA addition			308	N→K	Kyoto I and others
20	V→D	Canterbury and others					N→I	Baltimore III
141	R→S	Lima				310	M→T	Asahi
434	S→N	Caracas II				318	D→G	Giessen IV
526	E→V	found in US					D→Y	Bastia
532	S→C	Caracas V				319-320	deletion	Vlissingen I
554	R→C	Dusart and others				327	A→T	Tokyo V*
	R→L	Mexican family				329	Q→R	Nagoya
						330	D→Y	Kyoto III
							D→V	Milano I
						337	N→K	Bern I
						15AA addition after 350 Q,		Paris I
						358	S→C	Milano VII
						361	N→K	Poissy II*
						364	D→V	Melun I
							D→H	Matsumoto I
						375	R→G	Osaka V
						380	K→N	Kaiserslautern

$\alpha$ -chain truncation due to frame shift.

268 RNPS→QEP stop Otago I

452 GPD→WS-Stop Milano III

461-610 Deletion Marburg I

476 MDLG→HCLA Stop Lincoln

524 ERE→ELS--- found in USA

\* unpublished data

## 遺伝性 Fbg 異常症に見られる臨床症状

同定された変異分子を慣例にしたがって都市名で表示し、サブユニットごとにまとめて示した (表 1)。

### I. 出血性素因に結びつくもの

#### 1. A $\alpha$ 鎖の異常

A $\alpha$  鎖が関与する機能領域のほとんどは N 末および C 末に集中している。N 末は、Fbg から Fbn への転換に必須の反応、すなわち、トロンビンとの結合、トロンビンによる FPA の切断、生じたフィブリンモノマー (fibrin monomer) の重合反応の開始など、Fbn 形成の初期の諸反応に関与している。一方、C 末領域には Fbn プロトフィブリルの側側結合 (lateral association) により Fbn 線維を形成し、Fbn マトリックを完成させる最終過程に関わる機能が集中している。

#### 1) トロンビンによる Fbn モノマーへの転換機構の障害

##### (i) FPA 中の異常 (Fbg Mitaka II, A $\alpha$ Glu 11-Gly)

Fbg が Fbn へと転換される過程で最初に起こる反応は、Fbg へのトロンビンの結合である。この結合には、トロンビン分子中の Arg 173 のグアジニノ基 (guanidino group) と、FPA 中の Glu 11 のカルボキシル基 (carboxyl group) 間に塩橋 (salt bridge) が形成されることが必須とされている。これに加えて、Glu 11 は Gly 12 と共同してトロンビン水解の P1 部位 (Arg 16) がトロンビンの酵素ポケット (enzyme pocket) 内にきちんと入り込むように、ヘアピンカーブ (quick  $\beta$ -turn) を作るということが結晶解析から示されている<sup>7)8)</sup>。実際、筆者らが解析した Glu 11-Gly 置換 (Glu 11 の Gly への変異) 分子である Fbg Mitaka II<sup>9)</sup> では、異常 FPA のトロンビンとの結合が、正常 FPA のそれに比し 1/2 以下にすぎず (図 1)、発端者

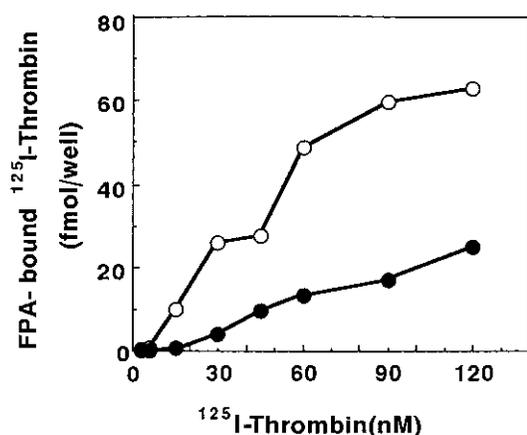


図1 固層化した Fbg Mitaka II 患者 (ヘテロ接合体) 由来の正常 (○) および異常 (●) FPA への $^{125}\text{I}$ -トロロンビンの結合

はヘテロ接合体でありながら、皮下出血や紫斑がくり返し出現している。この分子ではトロロンビンとの結合不全から FPA の切断が遅延し、出血傾向に結びついたものと考えられる。

#### (ii) トロンピンによる切断部位 (P1 部位), Arg 16 の置換 (Arg 16-Cys)

FPA に結合したトロロンピンは, Arg 16 と Gly 17 との間のペプチド結合を水解して FPA を切断, 放出する。FPA の切断障害を示すものとして,  $\text{A}\alpha$  Arg 16 の Cys あるいは His への点変異が知られているが, このうち Cys 変異をもつホモ接合体, Fbg Metz で Fbn 血栓の形成の遅延から出血症状が報告されている<sup>10)</sup>。

$\text{A}\alpha$ Arg-16 の Cys あるいは His への点変異は頻度の高い変異型の一つであるが, ヘテロ接合体では正常分子による補正効果のためか, 原則として無症状である。

#### 2) Fbn モノマーの重合障害—“A” 反応基の異常

##### 反応基 “A”, Gly-Pro-Arg 内での点変異

FPA が切断されると, Gly-Pro-Arg (GPR)<sup>11)-13)</sup> という 3 残基ペプチド断片が  $\alpha$  鎖の N 末に露呈される。この 3 残基はフィブリンモノマーの重合反応を始動する反応基 “A” に相当する断片で, これら三つの位置にそれぞれ

点変異が同定されている<sup>5)6)</sup>。この位置での変異体の数は限られるが, 反応基 “A” の異常は出血に結びついているものが多い (表 1)。しかし, その理由は定かでないが, 重合反応の開始に反応基 “A” の果たす役割が大きいためであろう。

##### (i) Gly 17-Val (Fbg Bremen)<sup>14)</sup>

われわれが解析した Gly 17-Val 置換をもつ 9 歳の男性 (Fbg Bremen) では, 尿道下裂の形成手術後に, 出血のほか創傷治癒不全が観察されており, 再度の手術に際しては, 3 グラムのフィブリノゲン製剤の輸注をうけている。

##### (ii) Arg 19-Ser (Fbg Detroit)<sup>15)</sup>

1068 年, 異常 Fbg として構造異常が最初に証明された異常分子である。ホモ接合体である発端者は若い女性で, 重篤な月経過多が続き, 著しい貧血に陥っている。母親を含む同一家系内のヘテロ接合体の保因者では出血傾向はみられていない<sup>16)</sup>。

##### (iii) その他, Pro 18-Leu 変異 (Fbg Kyoto II)<sup>17)</sup>, Arg 19-Asn 変異 (Fbg Munich) および Gly 変異 (Fbg Mannheim I)<sup>18)</sup>

これらの異常分子をもつ発端者でも出血が報告されている。しかし, 後述するように, 同じ Arg 19-Gly 変異をもつ Aarhus<sup>19)</sup> および Kumamoto<sup>20)</sup> では, ともに transient ischemic attack の形の血栓傾向が観察されている。

#### 3) Fbn プロトフィブリルの側側結合の異常— $\alpha\text{C}$ 領域の異常

##### $\text{A}\alpha$ 鎖 C 末の 150 アミノ酸残基の欠如 (Fbg Marburg)

Fbn プロトフィブリルの形成後, トロンピンによる FPB の切断, 放出に伴って開環する  $\alpha$  鎖 C 末領域が, プロトフィブリル間で互いに結合し合うことによって側側結合が進展する。Fbg Marburg はこの機構の異常が出血を来たしたと考えられる異常分子で,  $\text{A}\alpha$ Lys-461 を規定するコドン (AAA) が停止コドン (TAA) に置換されている。このため,  $\text{A}\alpha$  鎖 461 位以降 C 末端までの 150 アミノ酸残基が欠損している<sup>21)</sup>。



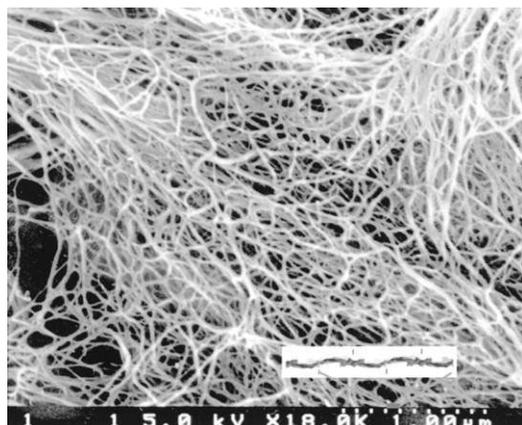


図3 ベルギーレース状の網目構造を示す  
Osaka VI フィブリン網。

延し, 生じた Fbn 塊はきわめて脆弱であった。電顕により Fbn 網を観察したところ, Fbn 繊維は異常に細いだけでなく, 分岐の頻度が高く, あたかもベルギー・レースのような外観を呈していた(図3)。このような異常構造をもつ Fbn 塊は脆弱で, 止血血栓として十分な機能を営むことが出来なかったものと考えられる。

### 3. $\gamma$ 鎖の異常

$\gamma$ 鎖では, 重合反応に関連する機能領域は原則としてC末, とくに Gly 268 以降に集中している。これらを機能別に眺めてみたい。

#### (i) プロトフィブリルの形成障害

##### (i) “a” 反応基の異常

とくに反応基 “a” (Gln 329, Asp 330, Asp 364 および Asp 364 を後方から支えている Arg 375 などが, この反応基を構成していることが, 最近, 結晶解析から明らかになった)<sup>23)~25)</sup> とその近傍における点変異分子は, 表1に示すように沢山知られているが, 出血傾向と直接関連付けることのできるものはまだ報告されていない。

##### (ii) D:D 結合の異常

**Met 310-Thr 置換と Asn 308 への余剰糖鎖の付加 (Fbg Asahi)<sup>26)</sup>**

われわれが報告した Fbg Asahi では, Met 310-Thr の点変異と, これによって新たに



図4 大量出血を来した Fbg Asahi の発端者  
(ヘテロ接合体) での外踝の割創

作られた Asn-X-Thr 型の糖付加配列が生じたために, Asn 308 に余剰の二股アンテナ構造を持つオリゴ糖が N-結合しているユニークな構造異常が存在する。発端者は 36 歳のヘテロ接合体の男性であるが, 左外踝部の外傷時(図4)に多量の出血をし, 大量の新鮮血の輸注を受けている。分子量約 3,000 の余剰糖鎖の長さと同動性を考慮すると, この余剰糖鎖が D:D 結合<sup>27)</sup>だけでなく, 結合反応基 “a”, および  $\gamma$ 鎖の架橋結合部位 (Gln 398, Kys 406)<sup>28)</sup>にも直接干渉して, これらの機能を阻害し, 出血傾向を示したものと考えられる。実際, この余剰糖鎖を酵素処理して除去すると, 精製 Fbg はトロンビンによって正常に凝固し, Fbn 網の構造も正常化することが電顕で確かめられている<sup>29)</sup>。

重合反応としての D:D 結合は弱い結合であるためか<sup>11)27)</sup>, これに直接関与する部位 (Arg 275, Tyr 280, Ser 300), および D:D 結合面の近くに位置して間接的に D:D 結合に貢献しているアミノ酸残基 (Gly 268, Asn 308) などの点変異で, 変異そのものが関与すると考えられる出血傾向の報告はない。

##### (iii) $\gamma$ 鎖架橋形成の障害

$\gamma$ 鎖の架橋形成障害を示す異常分子はごく限

られている。その一つ Fbg Paris I では C 末にユニークな構造異常が同定されているが (表 1 を参照)、この構造障害が直接、出血に関連していることは示されていない。

## II. 血栓症に結びつくもの

### 1. A $\alpha$ 鎖の異常

#### 1) N 末領域の異常

#### Arg 19-Gly (Fbg Aarhus<sup>19)</sup> および Fbg Kumamoto<sup>20)</sup>

重合反応基“A”を構成するアミノ酸残基の中、A $\alpha$ Arg 19-Gly 置換の2家系で transient ischemic attack の形をとる血栓形成傾向が報告されている。Fbg Aarhus でのデータは示されていないが、われわれが解析した Fbg Kumamoto では、desAABB-Fbn (Fbg ではないことに注意) のトロンビン結合能が低下しており、desAABB-Fbn がトロンビンを吸着し、局在化することによって凝固を阻害する作用が機能しないためにトロンビンがフィブリンから遊離し、新たに別の Fbg を攻撃するものと推察され、血栓形成につながったものと考えられる。

#### 2) $\alpha$ C 領域の異常

#### (i) A $\alpha$ Arg 554-Cys 置換分子 (Fbg Dursart<sup>30)~33)</sup> と Chapel Hill III<sup>34)35)</sup>

2家系で同一の点変異が知られており、ともに発端者で反復する血栓症が観察されている。

患者由来の精製 Fbg から作製した Fbn 塊はプラスミン (plasmin) に対する抵抗性が高く、高濃度のプラスミンで処理しても Fbn 塊はほとんど溶解されない<sup>35)</sup>。また、電子顕微鏡による解析では、Fbn 線維が正常の線維と比較するときわめて細く、またより頻回に分岐して、あたかも目詰まりした線維を思わせる<sup>32)33)</sup>。面白いことに置換 Cys 残基の一部は血清アルブミンとジスルフィド結合 (disulfide bridge) を作っている。Fbn 線維の中にアルブミンが取り込まれることが、このような異常構造をもつ Fbn 網の形成を促したのかも知れない。いずれにしろ、

このような Fbn 網の水溶液透過性は低く、生体内で血流を障害することが示唆されることから、プラスミンへの高い抵抗性と相まって血栓傾向につながったものと考えられている。

#### (ii) A $\alpha$ (461-610) 残基の欠如 (Fbg Marburg)<sup>21)22)</sup>

出血性素因の項でも触れたが、発端者はホモ接合体の女性で、20歳の時、第一子出産に際して帝王切開術をうけたところ、術中および術直後に大量の出血している。さらに術後一週間して深部静脈血栓症を発症し、これに続発して肺塞栓症が出現している。血漿中の Fbg 値は 10~20 mg/dl と著しく低く、これに高度の構造異常が伴っているので、出血の成因は堅固な止血血栓の形成不全として容易に推定される。一方、血栓塞栓症の成因として、精製 Fbg 分画での検索から、以下のような事実が明らかとなった<sup>22)</sup>。すなわち、1) 架橋化 Fbn ゲルはプラスミンに抵抗し、まったく溶解しないこと、2) 電子顕微鏡による Fbn 網の分析から、個々の Fbn 線維はプロトフィブリルに相当すると考えられるほどにきわめて細く、かつ網目が緊密であること (図 5)、3) このため、水溶液の透過性が著しく低いこと、である。

また、XIIIa 架橋された Fbn では、正常 Fbn では見られない、 $\alpha$ - $\gamma$  間での架橋が存在していた<sup>22)</sup>。これらから、Marburg Fbn 塊の構造は大きく障害されていることが容易に理解される。

これらの事実から、この発端者での血栓塞栓性疾患の成因を次のように理解することができよう。すなわち、一旦血管内で Fbn 塊が形成されると、その Fbn 塊はきわめて緊密であるために血流の通過を阻害し、また Fbn 形成に続発して二次線溶が起こっても、Fbn 塊は溶解されないで永く局所に残存し、血栓症を引き起こすというものである。

この異常分子は A $\alpha$  鎖 (461-610) 残基ペプチドが欠如しているために、本来ならこの中の Cys 472 とジスルフィド結合しているはずの Cys 442 はその相手を失って、一部が血清アル

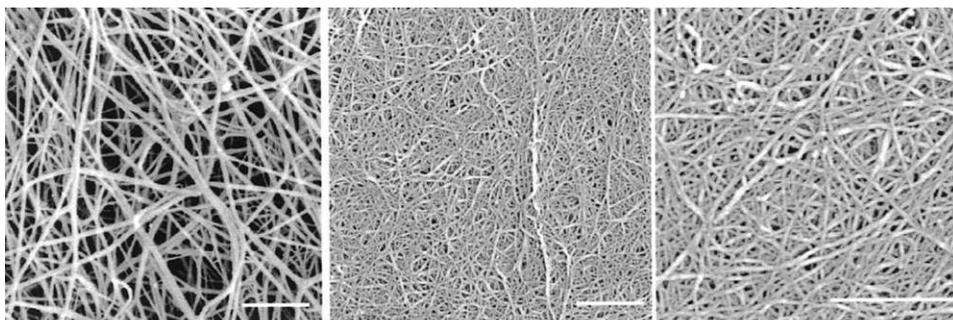


図 5 Marburg フィブリンの走査電顕像  
 左端: A $\alpha$  鎖 C 末を欠く正常 Fbg 由来の fraction I-9 から作製したフィブリン網 (対照)  
 中央: 同じ拡大による Marburg フィブリンの網目構造  
 右端: 拡大を上げた Marburg フィブリンの網目構造

### Fibrinogen Marburg ( $\alpha$ -ch 461-610 deleted)

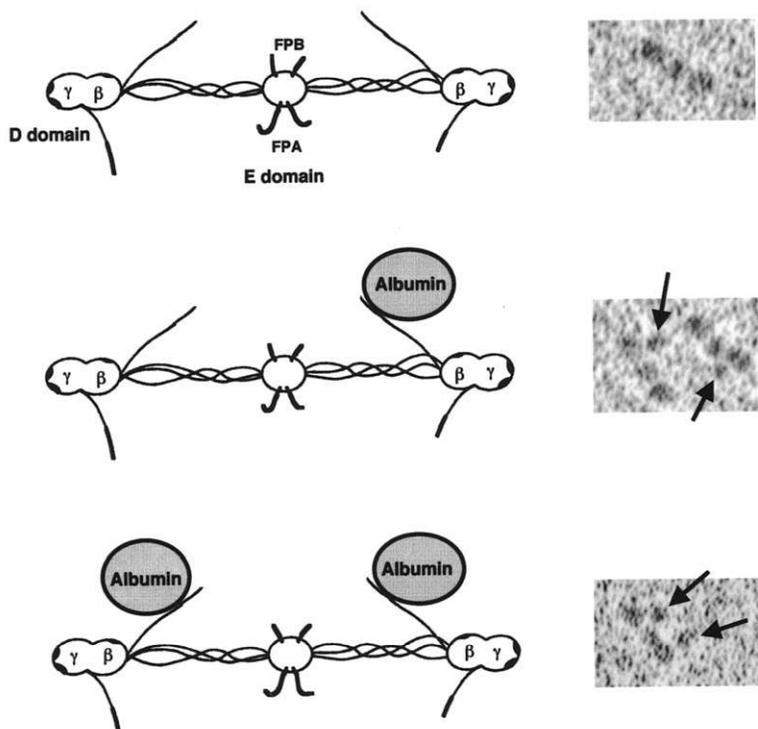


図 6 血清アルブミンとチオスルフィド結合している Marburg Fbg 分子の透過電顕像 (右) とそのモデル (左).  
 血清アルブミンは A $\alpha$ Cys 442 に結合しており, 透過電顕像で, これらを矢印で示した.

ブミンとジスルフィド結合していることも判明した。因みに Fbg Marburg では、平均して3分子の Fbg に1分子のアルブミンが結合している。実際、Fbg 分子を電顕で見ると、アルブミンを結合していないもの、アルブミンを1分子、あるいは2分子結合しているものという3種類が存在している<sup>29)</sup> (図 6)。

### (iii) A $\alpha$ Ser 532-Cys (Fbg Caracas V)<sup>36)</sup>

遺伝子解析から証明された  $\alpha$ C 領域の異常で、しかも Cys 置換を持つ異常分子であるが、Cys 残基の状態は明瞭には示されていない。ほかの Cys 置換異常分子から類推すると、血清アルブミンが付加されていて、Fbn 塊の構造も同様に網目の細かいものなのかもしれない。

以上、いくつかの代表的な異常分子で観察されたように、 $\alpha$ C 領域の Cys 置換分子のほとんどは血栓症に関連している。おそらく置換 Cys の遊離 SH 基に血清アルブミンがジスルフィド結合し、Fbn の形成とその構造を障害しているものと想定されている。Fbgs Dusart, Chapel Hill III, Marburg などで観察されたように、Fbn 塊のプラスミンに対する抵抗性が高いこと、Fbn 線維は細くとも、網目構造が緊密であることなどがこれらの異常分子に共通しており、今後、さらに検討すべき課題であろう。

## 2. B $\beta$ 鎖の異常

B $\beta$  鎖の N 末領域に構造異常を有する幾つかの分子で血栓性素因が報告されている。

### (i) B $\beta$ Arg 14-Cys 置換 (Fbg I jmuiden)<sup>37)</sup>

発端者はヘテロ接合体であるが、血栓症に罹患している。この異常分子で置換 Cys がどのような状態 (血清アルブミンとの結合など) にあるのかに関しては情報が無い。ほかの Cys 置換分子と同様に、血清アルブミンとの結合による Fbn 網の構造異常が血栓の形成に関連しているのではないかと考えられている。

### (ii) B $\beta$ (9-72) 残基ペプチドの欠如 (Fbg New York I)<sup>38)</sup>

発端者は 23 歳の男性で、弟の一人でも同様の

異常がある。この欠損断片は exon 2 に一致するもので、二人ともこの異常に関してヘテロ接合体である。二人とも血栓症に罹患しており、発端者は肺塞栓症で死亡している。

この異常分子でも、本来なら B $\beta$  鎖の欠損ペプチド断片中の Cys 65 とジスルフィド結合しているべき筈の A $\alpha$ Cys 36 がその相手を失って、遊離 SH 基を持つほかの物質とジスルフィド結合しているために、Fbn 塊の立体構造の異常が招来されたものと想定されている。しかし、その後の検討がなされていないので、血清アルブミンが結合しているかどうかは判然としない。この異常分子ではトロンビンとの親和性が低いことが示されており、血栓症との関連性が示唆されている。

### (ii) B $\beta$ Ala 68-Thr 置換 (Fbg Naples)<sup>39)</sup>

ホモ接合体である発端者で血栓症が発症している。この分子でもトロンビンとの結合能が低いことが示されていて、先の New York I と同様、トロンビン局在化機能の不全から血栓塞栓症が発症している機序が想定されている。

## 3. $\gamma$ 鎖の異常

われわれが解析中の、南アフリカ共和国の血栓症家系で見出された Cys 139-Tyr 置換 (Fbg Pretoria, 未発表データ) を除くと、構造異常は、臨床症状の存否に拘わらず、すべて C 末の Fbn の重合に関与する領域 ( $\gamma$  268 以降) に集中している。構造異常が同定されている  $\gamma$  鎖の異常は数の上ではもっとも多いが、構造異常から血栓症の出現が明瞭に理解されるものは限られてくる。

### (i) $\gamma$ Asn 319-Asp 320 の 2 アミノ酸残基の欠落 (Fbg Vlissingen)<sup>40)</sup>

血栓症を発症した 34 歳のオランダ人男性とその家族で見出されたヘテロ接合体異常で、遺伝子解析でもこれらのアミノ酸を規定する 6 塩基 (TGGGGA) の欠落が証明されている。 $\gamma$ Asp 319 はカルシウム結合部位の構成するアミノ酸の一つで、この異常分子でもカルシウム

結合能は著しく低下しているが、この構造?機能異常と血栓塞栓症との関係は明らかでない。

### おわりに

以上, Fbg の遺伝性異常症において, 出血, 血栓症, 創傷治癒不全という, Fbg に固有の機能が障害されている代表的なものを選んで解説した。文献によっては, Fbg 異常をもつ患者で観察される臨床症状をすべて構造異常と関連づけてあるものも見られるが, 同じ構造異常があっても血縁関係を持つ同一家系内の人達, やほかの家系において同様の症状が観察されない場合には, これらの構造異常を直ちに臨床症状に結びつけるのは危険である。臨床症状を発現する機能的背景をきちんと把握して初めて, 成因子として評価すべきであろう。

謝辞: 本稿の中で, われわれの研究室での成績を幾つか紹介したが, これらの異常分子の解析には過去 15 年以上にわたり, 数多くのスタッフ, 大学院学生, 研究員の諸兄の協力を得たことを附記しておきたい。また, これらは文部省科学研究費補助金 11470250 および 11694308, 並びに地域医学研究基金からの援助を受けた。

### 文 献

- 1) Doolittle RF, Bouma III H, Cottrell BA, Strong D, Watt KWK: The covalent structure of human fibrinogen. In: *The Chemistry and Physiology of the Human Plasma Proteins*. Bing DH, ed. New York: Pergamon Press 77-95, 1979.
- 2) Doolittle RF, Fibrinogen and fibrin. In: *Haemostasis and Thrombosis*, 2nd Edn. Bloom AL, Thomas DP, eds. Edinburgh: Churchill Livingstone 163-191, 1981.
- 3) Weisel JW: Lateral aggregation and the role of the two pairs of fibrinopeptides. *Biophys J* **50**: 1079-1093, 1986.
- 4) Weisel JW, Veklich Y, Gorkun O: The sequence of cleavage of fibrinopeptides from fibrinogen is important for protofibril formation and enhancement of lateral aggregation in fibrin clots. *J Mol Biol* **232**: 285-297, 1993.
- 5) Matsuda M, Sugo T, Yoshida N, I Terukina S, Yamazumi K, Niwa K, Maekawa H: Structure and function of fibrinogen: Insights from dysfibrinogens. *Thromb Haemst* **82**: 283-290, 1999.
- 6) Matsuda M: Structure and function of fibrinogen inferred from hereditary dysfibrinogens. *Fibrinolysis & Proteolysis* **14**: 187-197, 2000.
- 7) Martin PD, Robertson W, Turk D, Huber R, Bode W, Edwards BFP: The structure of residues 7-16 of the A $\alpha$ -chain of human fibrinogen bound to bovine thrombin at 2.3-Å resolution. *J Biol Chem* **267**: 7911-7920, 1992.
- 8) Stubb MT, Aschkinat H, Mayr I, Huber R, Angliker H, Stone SR, Bode W: The interaction of thrombin with fibrinogen. A structural basis for its specificity. *Eur J Biochem* **206**: 187-195, 1992.
- 9) Niwa K, Yaginuma A, Nakanishi M, Wada Y, Sugo T, Asakura S, Watanabe N, Matsuda M: Fibrinogen Mitaka II: a hereditary dysfibrinogen with defective thrombin binding caused by an A $\alpha$  Glu-11 to Gly substitution. *Blood* **82**: 3658-3663, 1993.
- 10) Soria A, Soria C, Samama M, Poirot E, Kling C: Fibrinogen Troyes-Fibrinogen Metz. Two new cases of congenital dysfibrinogenemia. *Thromb Diath Haemorrh* **27**: 619-633, 1972.
- 11) Kudryk BJ, Collen D, Woods KR, Blombäck B: Evidence for localization of polymerization sites in fibrinogen. *J Biol Chem* **249**: 3322-3325, 1974.
- 12) Olexa SA, Budzynski AZ: Evidence for four different polymerization sites involved in human fibrin formation. *Proc Natl Acad Sci USA* **77**: 1374-1378, 1980.
- 13) Laudano AP, Doolittle RF: Synthetic peptide derivatives that bind to fibrinogen and prevent the polymerization of fibrin monomers. *Proc Natl Acad Sci USA* **75**: 3085-3089, 1978.
- 14) Wada Y, Niwa K, Maekawa H, Asakura S, Sugo T, Nakanishi M, Auerwald G, Popp M, Matsuda M: A new type of congenital dysfibrinogen, fibrinogen Bremen, with an A $\alpha$  Gly-17 to Val substitution associated with hemorrhagic diathesis and delayed wound healing. *Thromb Haemost* **70**: 397-403, 1993.
- 15) Blombäck M, Blombäck B, Mammen EF, Prasad AS: Fibrinogen Detroit-A molecular defect in the N-terminal disulphide knot of human fibrinogen? *Nature* **218**: 134-137, 1968.
- 16) Mammen EF, Prasad AS, Barnhart MI, Au CC: Congenital dysfibrinogenemia fibrinogen Detroit. *J Clin Invest* **48**: 235-249, 1969.
- 17) Yoshida N, Okuma M, Hirata H, Matsuda M, Yamazumi K, Asakura S: Fibrinogen Kyoto II, a new congenitally abnormal molecule, characterized by the replacement of A $\alpha$  proline-18 by leucine. *Blood* **78**: 149-153, 1991.
- 18) Dempfle CEH, Henschen A: Fibrinogen Mannheim I-identification of an A $\alpha$  19 Arg  $\rightarrow$  Gly substitution in dysfibrinogenemia associated with bleeding tendency. In: *Fibrinogen 4. Current Basic and Clinical Aspects*. Matsuda M, Iwanaga S, Takada A, Henschen A, eds. Amsterdam: Elsevier Science Publ pp.159-166, 1990.
- 19) Hessel B, Stenbjerg S, Dyr J, Kudryk B, Therkildsen L, Blombäck B: Fibrinogen Aarhus-a new case of dysfibrinogenemia. *Thromb Res* **42**: 21-37, 1986.
- 20) Yamaguchi S, Sugo T, Hashimoto Y, Kimura K, Okajima K, Matsuda M: Fibrinogen Kumamoto with

- an A $\alpha$  Arg-19 to Gly substitution has reduced affinity for thrombin: Possible relevance to thrombosis. *Jpn J Thromb Hemost* **8**: 382-392, 1997.
- 21) Koopman J, Haverkate F, Grimbergen J, Egbring R, Lord ST. Fibrinogen Marburg: a homozygous case of dysfibrinogenemia, lacking amino acids A $\alpha$  461-610 (Lys 461 AAA  $\rightarrow$  Stop TAA). *Blood* **80**: 1972-1979, 1992.
  - 22) Sugo T, Nakamikawa C, Takebe M, Kohno I, Egbring R, Matsuda M: Factor XIIIa-cross-linking of the Marburg fibrin: formation of  $\alpha_m \cdot \gamma_n$ -heteromultimers and the  $\alpha$ -chain-linked albumin.  $\gamma$  complex, and disturbed protofibril assembly resulting in acquisition of plasmin-resistance relevant to thrombophilia. *Blood* **91**: 3282-3288, 1998.
  - 23) Yee VC, Pratt KP, Côté HCF, Le Trong I, Chung DW, Davie, EW, Stenkamp RE, Teller DC: Crystal structure of a 30 kDa C-terminal fragment from the  $\gamma$  chain of human fibrinogen. *Structure* **5**: 125-138, 1997.
  - 24) Pratt KP, Côté HCF, Chung DW, Stenkamp RE, Davie EW: The fibrin polymerization pocket: three-dimensional structure of a 30 kDa C-terminal  $\gamma$  chain fragment complexed with the peptide Gly-Pro-Arg-Pro. *Proc Natl Acad Sci USA* **94**: 7176-7181, 1997.
  - 25) Spraggon G, Everse S, Doolittle RF: Crystal structures of fragment D from human fibrinogen and its crosslinked counterpart from fibrin. *Nature* **389**: 455-462, 1997.
  - 26) Yamazumi K, Shimura K, Terukina S, Takahashi N, Matsuda M: A  $\gamma$  methionine-310 to threonine substitution and consequent N-glycosylation at  $\gamma$  asparagine-308 identified in a congenital dysfibrinogenemia associated with posttraumatic bleeding, fibrinogen Asahi. *J Clin Invest* **83**: 1590-1597, 1989.
  - 27) Mosesson MW, Siebenlist KR, DiOlio JP, Matsuda M, Hainfeld JF, Wall JS: The role of fibrinogen D domain intermolecular association sites in the polymerization of fibrin and fibrinogen Tokyo II ( $\gamma$  275 Arg  $\rightarrow$  Cys). *J Clin Invest* **96**: 1053-1058, 1995.
  - 28) Rosenberg JB, Newman PJ, Mosesson MW, Guillin M-C, Amrani DL: Paris I dysfibrinogenemia: A point mutation in intron 8 results in insertion of a 15 amino acid sequence in the fibrinogen  $\gamma$ -chain. *Thromb Haemost* **69**: 217-220, 1993.
  - 29) Matsuda M, Sugo T: Hereditary disorders of fibrinogen. *Ann NY Acad Sci*, in press.
  - 30) Soria J, Soria C, Caen JP: A new type of congenital dysfibrinogenemia with defective fibrin lysis—Dusard syndrome: possible relation to thrombosis. *Brit J Haematol* **53**: 575-586, 1983.
  - 31) Koopman J, Haverkate F, Grimbergen J, Lord ST, Mosesson MW, DiOrio JP, Siebenlist KS, Legrand C, Soria J, Soria C, Caen JR: Molecular basis for fibrinogen Dusart (A $\alpha$  554 Arg  $\rightarrow$  Cys) and its association with abnormal fibrin polymerization and thrombophilia. *J Clin Invest* **91**: 1637-1643, 1993.
  - 32) Collet JP, Woodhead JL, Soria J, Soria C, Mirshahi M, Caen JP, Weisel JW: Fibrinogen Dusart: Electron microscopy of molecules, fibers and clots, and viscoelastic properties of clots. *Biophys J* **70**: 500-510, 1996.
  - 33) Mosesson MW, Siebenlist KR, Hainfeld JF, Wall JS, Soria J, Soria C, Caen JP: The relationship between the fibrinogen D domain self-association/cross-linking site ( $\gamma$ XL) and the fibrinogen Dusart abnormality (A $\alpha$  R554C-albumin). Clues to thrombophilia in the "Dusart syndrome". *J Clin Invest* **97**: 2342-2350, 1996.
  - 34) Wada Y, Lord ST: A correlation between thrombotic disease and a specific fibrinogen abnormality (A $\alpha$  554 Arg  $\rightarrow$  Cys) in two unrelated kindred, Dusart and Chapel Hill III. *Blood* **84**: 3709-3714, 1994.
  - 35) Carrell N, Gabriel DA, Blatt PM, Carr ME, McDonagh J: Hereditary dysfibrinogenemia in a patient with thrombotic disease. *Blood* **62**: 439-447, 1983.
  - 36) Marchi R, Lundberg U, Grimbergen J, Koopman J, Torres A, de Bosch NB, Haverkate F, Arocha-Pinango CL: Fibrinogen Caracas V, an abnormal fibrinogen with an A $\alpha$  532 Ser  $\rightarrow$  Cys substitution associated with thrombosis. *Thromb Haemost* **84**: 263-270, 2000.
  - 37) Koopman J, Haverkate F, Grimbergen J, Engesser J, Novakova I, Kerst AFJA, Lord ST: Abnormal fibrinogens Ijmuiden (B $\beta$ Arg<sub>14</sub> $\rightarrow$ Cys) and Nijmegen (B $\beta$ Arg<sub>44</sub> $\rightarrow$ Cys) form disulfide-linked fibrinogen-albumin complexes. *Proc Natl Acad Sci USA* **89**: 3478-3482, 1992.
  - 38) Liu CY, Koehn JA, Morgan FJ: Characterization of fibrinogen New York I. A dysfunctional fibrinogen with a deletion of B $\beta$  (9-72) corresponding exactly to exon 2 of the gene. *J Biol Chem* **260**: 4390-4396, 1985.
  - 39) Koopman J, Haverkate F, Lord ST, Grimbergen J, Mannucci PM: Molecular basis of fibrinogen Naples associated with defective thrombin binding and thrombophilia. Homozygous substitution of B $\beta$  68 Ala  $\rightarrow$  Thr. *J Clin Invest* **90**: 238-244, 1992.
  - 40) Koopman J, Haverkate F, Briët E, Lord ST: A congenitally abnormal fibrinogen ss (Vlissingen) with a 6-base deletion in the  $\gamma$  chain gene, causing defective calcium binding and impaired fibrin polymerization. *J Biol Chem* **266**: 13456-13461, 1991.