



Thrombin-activatable Fibrinolysis Inhibitor (TAFI) の生化学的性質とその欠損マウス

中島輝久* 友清和彦* 水口純*

Thrombin-activatable Fibrinolysis Inhibitor (TAFI) ;
Biochemical Character and Deficient Mice

Teruhisa NAKASHIMA, Kazuhiko TOMOKIYO and Jun MIZUGUCHI

Key words : Thrombin-activatable Fibrinolysis Inhibitor (TAFI), Carboxypeptidase B, TAFI deficient mice

はじめに

血液凝固はフィブリンクロットの形成をその終点とする反応であるが、形成されたクロットはプラスミンによる線溶作用によって分解、代謝される。プラスミンによる線溶は、Lys 結合部位を有するプラスミノゲンまたはプラスミンが、フィブリン断片の COOH 末端の Lys 残基に結合することにより著しく促進される¹⁾。一方、プロテイン C (PC) の活性化プロテイン C (APC) への変換は、トロンビン-トロンボモジュリン複合体によって促進され、産生された APC は、FVIIIa と FVa を不活化し、トロンビンの産生を抑制することが知られている。1990 年~1993 年にかけて、Nesheim らは、組織プラスミノゲンアクチベーター (t-PA) により惹起される血漿クロット (Ca²⁺ とトロンビン添加により作製) の溶解時間が、APC を加えることで短縮することを報告した²⁾³⁾。この APC によるクロット溶解時間の短縮作用についての機序

は明らかにされず、未知の因子の関与が疑われていたが、同定には至っていなかった。しかし、1995 年、Nesheim らは、トロンビンによって活性化される血漿中のエキソプロテアーゼが線溶を阻害することを明らかにし、この酵素を Thrombin-activatable Fibrinolysis Inhibitor (TAFI) と命名した⁴⁾。この酵素の発見によって、これまで明らかにされていなかった上記の APC 添加によるクロット溶解時間の短縮が、APC によるトロンビン産生の抑制と、それに伴う TAFI 活性化の阻害に起因していると理解されるようになった。

本稿では、TAFI の生化学的諸性質と、最近報告されたその欠損マウスについて紹介したい。

TAFI の生化学的性質

TAFI 遺伝子は全長約 48 kb で、13q14.11 に位置し、11 個のエクソンと 10 個のイントロンから構成され⁵⁾⁶⁾、肝臓で分子量約 60,000 の 1

*1 (財) 化学及血清療法研究所 血液製剤研究部 [〒 860-8568 熊本市大窪 1-6-1]
Blood Products Research Department, The Chemo-Sero-Therapeutic Research Institute, KAKETSUKEN
[1-6-1, Okubo Kumamoto, 860-8568, Japan.]
Tel: 096-344-2183 Fax: 096-344-9234

本鎖糖タンパク質として合成, 分泌される⁷⁾. 血漿中では, 酵素前駆体として約 73 nM (約 4.5 $\mu\text{g/ml}$) の濃度で存在する⁸⁾. TAFI の一次構造は, NH_2 末端から 92 個のアミノ酸残基からなる活性化ペプチドと 309 個のアミノ酸残基からなる Catalytic domain で構成されており, 活性発現には亜鉛イオンを必要とする. 活性化ペプチドには複数の N 型糖鎖が存在し⁷⁾, これらの糖鎖は TAFI の血漿中での安定化や⁹⁾ プラスミノゲンとの親和性に関与している¹⁰⁾¹¹⁾ (図 1).

TAFI の全アミノ酸配列は, 既知の血漿由来のプロカルボキシペプチダーゼ B (pro-pCPB) あるいはプロカルボキシペプチダーゼ U (pro-CPU, U; Unstable) と同一であり⁴⁾, また, Catalytic domain は, 膵臓カルボキシペプチダーゼ A (CPA) および B (CPB) とも相同性が約 40% と非常に高い⁷⁾. カルボキシペプチダーゼは, その反応メカニズムによって金属型とセリン型の二つのグループに大別される. また, 基質特異性などからも分類され, 現在, 哺乳類では 13 種見つかっている¹²⁾. 前述の膵臓 CPA と CPB は, 両者とも金属型に分類され, 共に活性中心に亜鉛イオンを含んでおり, それらの基質特異性から A (主に疎水性アミノ酸残基を切断) と B (Lys, Arg 残基を切断) に区別される. TAFI が pro-pCPB と同一であることから判るように, 活性化体である TAFIa は CPB 活性を持つ. これまで膵臓 CPB の基質蛋白質・ペプチドの COOH 末端切断のメカニズムについてはさまざまな解析がなされ, 数種のアミノ酸残基がこの反応に関与していることが判明している¹³⁾.

ブタ膵臓 CPB を例に挙げて説明すると, COOH 末端切断に関与するアミノ酸残基は, 立体構造的には図 2 のような位置関係にある. これらのアミノ酸のうち His-69, Glu-72, His-196 は, 水分子と共に亜鉛イオンに配位し, 活性中心を形成する. また, これらに隣接する Glu-270 は, 亜鉛イオンに配位している水分子の反

応性を高め, COOH 末端の塩基性アミノ酸残基に連結するペプチド結合のカルボニル基の炭素への求核攻撃を可能にする. この求核反応の際, Glu-270 のカルボキシル基が水分子のプロトンを受け取り, 負の電荷を持った四面体型中間体を形成する. この中間体は亜鉛イオンと Arg-127 により安定化される. これに続き Glu-270 のカルボキシル基がプロトンを基質のアミノ基に供与すると同時に, 基質のペプチド結合が切断され, 新たな COOH 末端が形成される. 図 2 に示した Asn-144, Arg-145, Tyr-248, Asp-255 は基質と酵素の結合に関与するが, 中でも, Asp-255 は, Arg または Lys 残基に対する基質特異性を決定する, いわゆる S1 サイトに相当する¹³⁾¹⁴⁾. ブタ膵臓 CPB との一次構造上の相同性から推測すると, TAFI は, 恐らく図 3 のようなメカニズムによりフィブリン断片の COOH 末端 Lys/Arg を切断し, プラスミンとプラスミノゲンのフィブリンへの結合を阻害しつつ抗線溶作用を発揮すると推定される.

TAFI は単独でも高濃度のトリプシンやプラスミン, トロンビンによる限定水解で活性化ペプチドが遊離し, TAFIa (Mr \sim 35,000) に変換される. しかし, TAFIa は極めて不安定な酵素であり, *in vitro* において温度依存的に高次構造が変化しつつ失活し, 37°C における半減期はわずか 7~8 分という. また, トロンビンやトリプシン, プラスミンによる過度な水解反応によっても容易に不活化される¹⁵⁾¹⁶⁾. また, TAFI のトロンビンによる活性化は, トロンボモジュリンの存在下, $k_{\text{cat}}/K_{\text{m}}$ 値が約 1,250 倍に増強される¹⁷⁾. 最近, TAFI の活性化とトロンボモジュリンとの分子間相互作用についての研究が進み¹⁸⁾¹⁹⁾, TAFI はトロンボモジュリンの上皮細胞成長因子 (EGF) 様ドメイン 3 と結合し, その活性化には EGF 様ドメインの 4, 5, 6 が必須であることが明らかになった. また, TAFI と PC の血中濃度は, それぞれ 73 nM, 65 nM¹⁹⁾²⁰⁾ とほぼ同等で, さらに, トロンビン-トロンボモジュリン複合体の両者に対する K_{m}

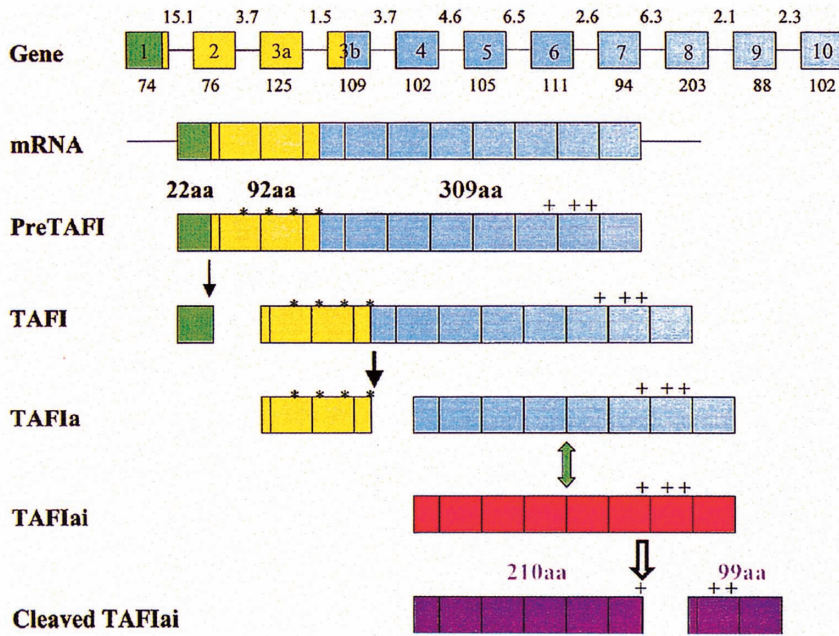


図 1 TAFI の遺伝子および蛋白質構造とその分解産物 (文献 11 より引用・改変)

エクソンおよびイントロンの長さ (bases, kilobases) はそれぞれボックスの下, ボックスの間に示す。また, シグナルペプチドは緑色, 活性化ペプチドは黄色, Catalytic domain は水色, 構造変化に伴い失活した TAFIa (TAFIai) は赤色, 切断を受けた TAFIai は紫色で示している。なお, *印は糖鎖付加可能な位置を, +印はトロンボリン, トリプシン, プラスミンによる切断部位である Arg-302, Arg-320, Arg-330 を示している。

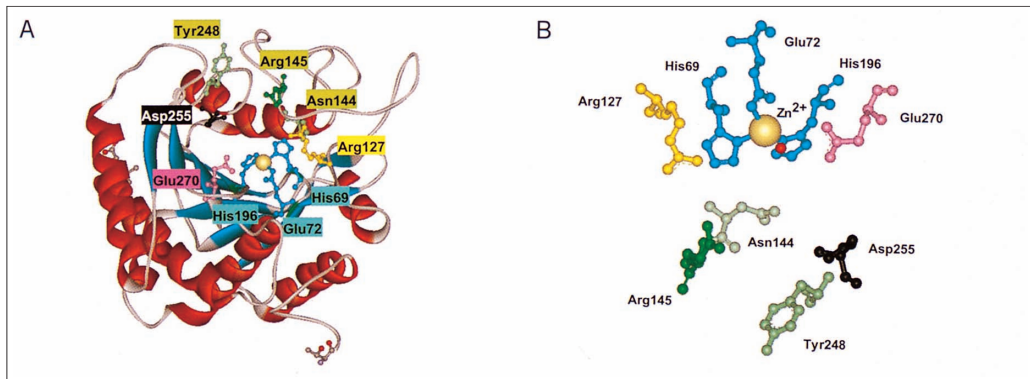


図 2 プタ膵臓カルボキシペプチダーゼ B (CPB) の立体構造

TAFI との相関性が高い膵臓の CPB の立体構造を図 A に示す。図 B では, 膵臓 CPB において Zn^{2+} に配位している His-69, Glu-72, His-196 を水色で, 水分子を赤色で, 水分子の求核攻撃をサポートする Glu-270 を紫色で, Arg-127 を黄色で, 基質との結合に関与する Asn-144, Arg-145, Tyr-248 はそれぞれ緑色で, 基質時異性を決定する Asp-255 は黒色で示している。CPB の結晶解析データは PDB:1NSA を, 画像ソフトは WebLab Viewer (Accelrys Inc.) を使用した。

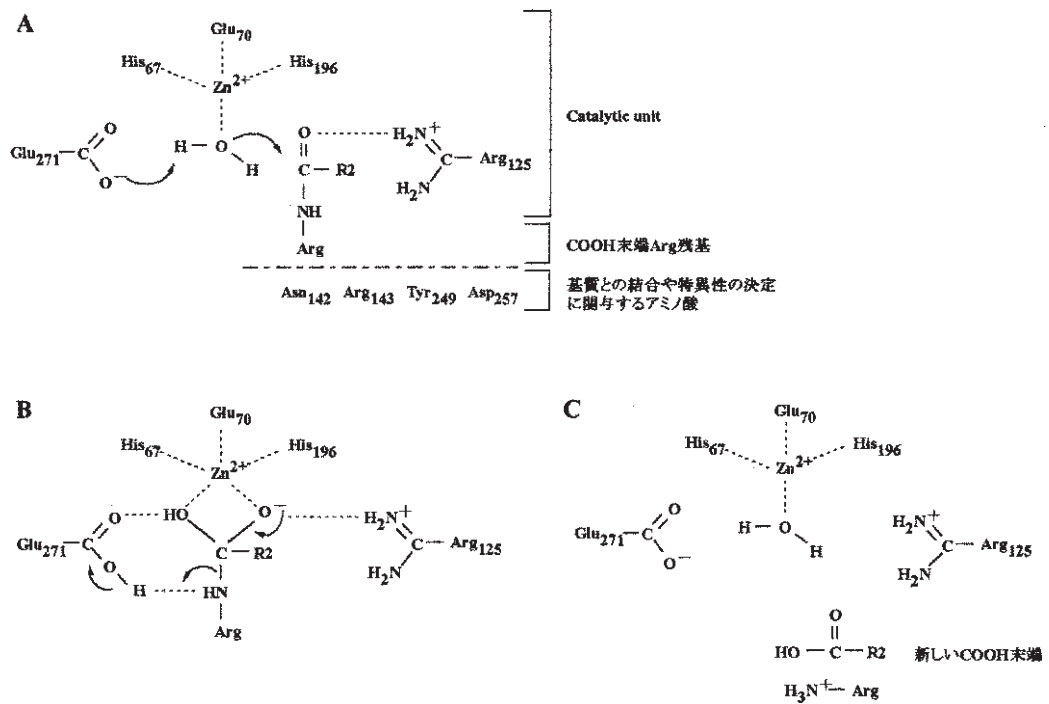


図3 TAFIaのCOOH末端(Arg残基)切断のメカニズム(文献14より引用, 転載許可取得)

TAFIaは、亜鉛イオンにHis-67, Glu-70, His-196と水分子が配位することにより触媒基を形成し、隣接するGlu-271のカルボキシル基によって、この配位している水分子の反応性が高まり、基質のカルボニル基の炭素が求核攻撃される(図A)。この際、Glu-271のカルボキシル基はプロトンを受け取り、負の電荷を持つ四面体型中間体が形成される(図B)。この中間体は亜鉛イオンとArg-125によって安定化される。そして、Glu-271のカルボキシル基がプロトンを基質のアミノ基に供与すると同時に基質のペプチド結合が切断され、新たなCOOH末端が形成する(図C)。Asn-142, Arg-143, Tyr-249, Asp-257は基質と酵素の結合に關与するが、中でも、Asp-257は、TAFIaのArgまたはLys残基に対する基質認識の役割を果たしている¹³⁾¹⁴⁾

値は、それぞれ0.5~2.1 μM および1.4~2.4 μM と大差は見られない¹⁸⁾¹⁹⁾。したがって、血中ではトロンビン-トロンボモジュリン複合体によるTAFIとPCの活性化は、それぞれ同程度であり、お互いに拮抗しているものと推測される。しかし、生体内での両者の活性化のバランスがどのように調節されているのか、その詳細は未だ明らかでない(図4)。

現在、TAFIはその抗線溶作用から、血栓症などの疾患との関連について注目されているが、これまでTAFI欠損患者は見つかっていない²¹⁾。また、健常人においてTAFIの血漿中の抗原量は73 nMといわれているものの、実際に

は血漿中のTAFI抗原レベルはさまざまである。その原因はいくつかのポリモルフィズムにあるとされており、これまでプロモーター領域のほか、Open Reading Frame (ORF) 領域や3'領域で合計10数カ所のポリモルフィズムが見出され、抗原量の変化やさまざまな疾患との関連が報告されている。それらの中で、ORF領域にある505 A/G, 1057 C/Tのポリモルフィズムでは、Ala-147がThrに、Thr-325がIleに変異しており、両者の機能的な差異も調べられている²²⁾。Ala-147のポリモルフィズムについては機能的差は見られないものの、Ile-325の変異体では半減期が正常分子の約2倍に延長し、

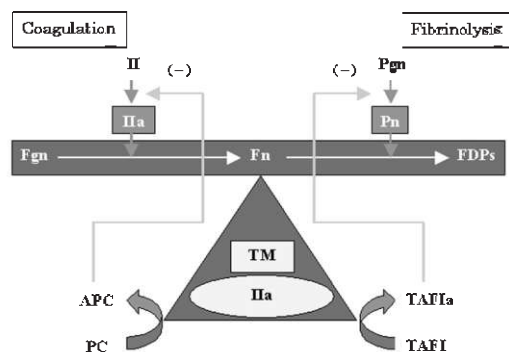


図 4 トロンビン (IIa)-トロンボモジュリン (TM) 複合体を中心とした凝固・線溶モデル (文献 11 より引用)

IIa-TM 複合体はプロテイン C (PC) および TAFI を活性化して、それぞれ IIa とプラスミン (Pn) の形成を阻害する。II; プロトロンビン, APC; 活性化プロテイン C, TAFI; Thrombin-activatable Fibrinolysis Inhibitor, TAFIa; 活性化 TAFI, Pgn; プラスミノゲン, Fgn; フィブリノゲン, Fn; フィブリン, FDPs; フィブリン分解産物。

さらにクロット溶解時間の延長能も約 1.6 倍と高い。しかし、このポリモルフィズムと心筋梗塞のリスクの間には相関がないという²³⁾。一方、プロモーター領域にある -438 A/G のポリモルフィズムと血漿中の TAFI 抗原量との相関についても調べられている。この変異では、抗原量が正常値と比較し、最大 50% 以上の差が見られ、抗原量の増加が血栓症のリスクを上昇させている可能性が示唆される²⁴⁾。また、男女間で TAFI 抗原量を比較すると、女性は加齢と共に、もしくは経口避妊薬の使用により抗原量が増加する傾向にあるが、男性は加齢によって抗原量の増加は見られないという²¹⁾。さらに、血中の TAFI レベルの増加は静脈血栓の mild risk factor になり²¹⁾、一方、TAFI レベルの減少は冠状動脈性疾患の risk factor ともいわれている²⁵⁾。しかし、これらの報告からも TAFI の生理的意義は未だ明白とは言えず、欠損マウスからの情報が待たれていた。

TAFI 欠損マウスからの情報

Nagashima らは、exon 8 と 9 をコードする DNA セグメントを削除して、ヘテロ接合体 (TAFI^{+/-}) マウスを作出し、さらに TAFI^{+/-} マウス同士を交配させることで TAFI ホモ接合体 (TAFI^{-/-}) マウスを作出した²⁶⁾。誕生した 259 匹の新生仔のうち、ホモ接合体は全体の 25% と、メンデル理論値に従っており、TAFI の欠損は胎仔の発生、発育に影響を与えなかった。TAFI 欠損マウスは、24 カ月の観測では正常に成長し、外見的にも特に異常は認められなかった。Wagenaar らのグループも同様な結果を報告している²⁷⁾。また、ホモ接合体同士の交配でも正常な繁殖力を示し、作出された TAFI 欠損マウスは、血球成分の数と割合、血漿中のフィブリノゲンレベル、PT (プロトロンビン時間)、APTT (活性化部分トロンボプラスチン時間) においても野生型との違いは見られず、さらに肝臓、腎臓の機能にも異常はなかった。

TAFI の欠損と止血についての関連を調べるため、野生型と TAFI 欠損マウスの尻尾切断面からの 30 分間の出血量を測定したが、両者の間に有意な差は見られず、抗凝固剤である低分子ヘパリンを投与しても、両者に有意な差はなかった (図 5a, b)。このことから、TAFI は止血に対して影響を及ぼさないものと考えられる。

次にフィブリン溶解における TAFIa の役割と TAFI 欠損の影響を調べるため、野生型と欠損マウスの血漿を用いたクロット溶解テストを行った。野生型の場合、50 nM のトロンボモジュリン存在下でのクロット溶解時間は、少なくとも 2 倍に延長したが (図 6a)、TAFI 欠損マウスの場合、トロンボモジュリン存在下でもクロット溶解時間は変化しなかった (図 6b)。この野生型に見られる溶解時間の延長は、ジャガイモの Carboxypeptidase Inhibitor (CPI) の添加によって回復したが、TAFI 欠損マウスの場合には溶解時間に変化はなかった。このことは TAFI がクロット溶解時間を遅延するとい

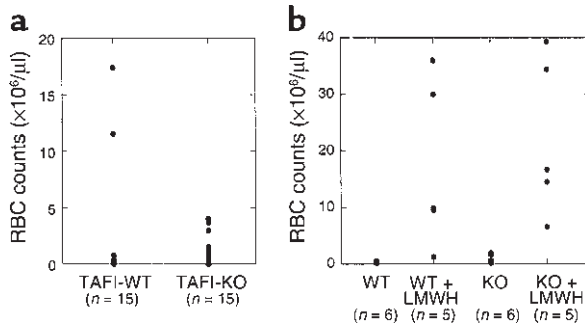


図5 野生型とTAFI欠損マウスの尻尾切断面からの出血量(文献26より引用, 転載許可取得)

野生型(WT)とTAFI欠損マウス(KO)の腹腔内にペントバルビタールを注射し, 尻尾の先端から1 mmの部分切断後, 37°C, 30分間生理食塩水に浸漬し, cell counterで生理食塩水中の赤血球(RBC)数を測定した(a). 低分子ヘパリン(LMWH) (Lovenox, 3 mg/kg body weight)投与群では, 尻尾切断前に静脈注射し, 同様に赤血球数を測定した. 両群で優位な差は見られなかった(b).

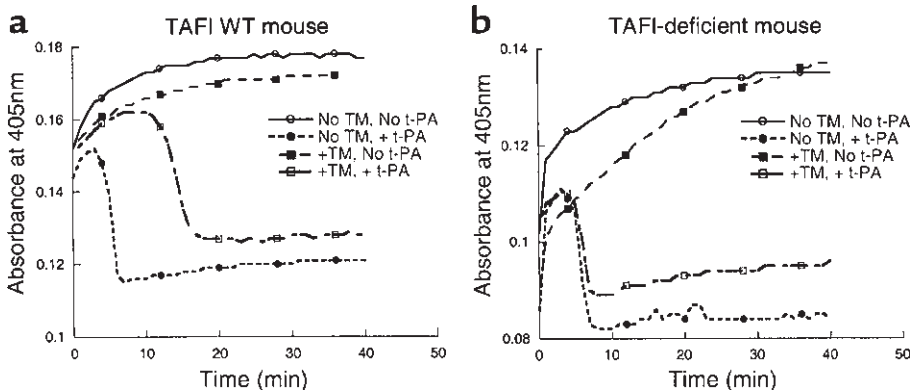


図6 (a) 野生型(WT)および(b) TAFI欠損マウス(KO)血漿のクロット溶解のプロファイル(文献26より引用, 転載許可取得)

野生型およびTAFI欠損マウス血漿に, Ca^{2+} , ヒトトロンビン をそれぞれ終濃度 17 mM, 2.35 NIH U/ml になるように添加し, クロットを形成させ, ヒト t-PA (0.3017 μg/ml) および可溶性ヒト組織プラスチノーゲン (TM) (50 nM) のフィブリン溶解に対する影響を A405 nm の濁度を指標に評価した. t-PA 存在下におけるフィブリン溶解時間は, TM の添加により野生型は 2 倍に延長し, TAFI 欠損では変化がなかった.

うこれまでの知見と一致する.

また, 動脈および静脈血栓における TAFI 欠損の影響についても調べた. ここではローズベンガル投与後, 頸動脈あるいは頸静脈に 540 nm の波長の光(緑色光)を照射することで, その周辺に一重項酸素を発生させ, これにより生じる血栓形成の時間を, 野生型と TAFI 欠損マウスとで比較した. 動脈血栓形成の時間は野生型が 59.1 ± 6.3 min ($n=14$), TAFI 欠損マウスが 59.2 ± 5.2 min ($n=15$) と両者に差はなく, 一方, 静脈血栓形成の時間も, 野生型が 81.8 ± 41.4 min ($n=6$), TAFI 欠損マウスが 55.8 ± 43.8 min ($n=4$) であり, 両者に有意な差は認

められず, これらのモデルでは血栓形成に対する TAFI の影響は認められなかった.

さらに, 野生型と TAFI 欠損マウスに致死量のトロンビン及び LPS を投与し, 生体内でのフィブリン溶解に対する TAFI の潜在的な関与を調べたが, 両者の生存率に違いはなかった(表1, 図7). そして, 蛇毒由来の FX 活性化酵素(RVV-X)を投与した亜急性の凝固モデルにおいても, 投与2時間後, 16時間後の血漿中のフィブリン濃度, 血小板数は野生型, TAFI 欠損マウスともに有意に減少していたが, 両者の生存率に差はなかった(表2). したがって, TAFI は生体内でのフィブリン溶解に対し, そ

表 1 トロンビンの大量投与による生存率 (文献 26 より引用, 転載許可取得)

トロンビン投与量	TAFI ^{+/+} 生存率 (%)	TAFI ^{-/-} 生存率 (%)
1,600 NIH U/kg	87 (n=8)	62 (n=8)
2,400 NIH U/kg	78 (n=9)	64 (n=11)
3,200 NIH U/kg	60 (n=15)	50 (n=12)

ヒトトロンビンを腹腔内に注射し, 10 分後の生存率を算出した. n は個体数を表す.

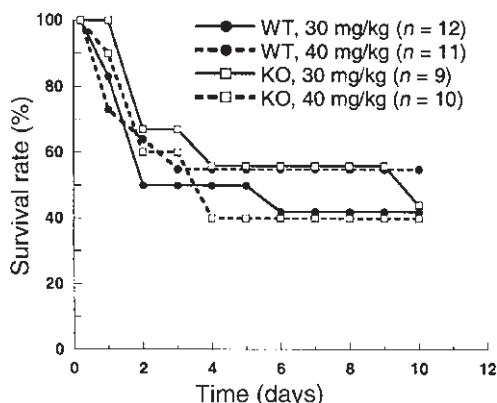


図 7 エンドトキシン投与後の野生型 (WT) および TAFI 欠損マウス (KO) の生存率 (文献 26 より引用, 転載許可取得)

生理食塩水に溶解した LPS (*Escherichia coli* LPS, serotype 0111:B4) を腹腔内に注射し, その生存率をプロットしたが, 両群に差は見られなかった.

表 2 FX 活性化酵素投与 2 時間後および 16 時間後の生存率, フィブリノゲンレベル, 血小板数の変化 (文献 26 より引用, 転載許可取得)

	TAFI ^{+/+} (n=15)	TAFI ^{-/-} (n=15)
生存率 (%)		
2 時間後	93	87
16 時間後	53	60
フィブリノゲンレベル (%)		
投与前	100 ± 35	96 ± 26
2 時間後	53 ± 23	56 ± 16
16 時間後	83 ± 34	106 ± 56
血小板数 (10 ⁹ /L)		
投与前	1,013 ± 176	1,053 ± 288
2 時間後	328 ± 252	416 ± 239
16 時間後	319 ± 285	353 ± 142

マウスに 150 μg/kg の RVV-X を腹腔内に投与し, 2 時間後および 16 時間後の生存率, フィブリノゲンレベル, 血小板数を測定した.

n は個体数を表す.

れほど大きな影響を与えないものと推測される.

Shinohara らは, *in vitro* の試験で TAFIa が

ブラジキニンの COOH 末端 Arg 残基を切断し, 不活性化する可能性を示唆した²⁸⁾. そこで, *in vivo* においてその可能性を調べるため, ブラ

ジキニン産生を誘導するカオリン投与により起こるとされる writhing 症状 (腹部収縮, 体のねじり, 後肢伸展) を指標に, その評価を行った. TAFI 欠損マウスおよび野生型の腹腔内にカオリンを注入後, 15 分間に writhing を示すマウスの数は, TAFI 欠損で 1.21 ± 1.85 匹 ($n=14$), 野生型では 1.29 ± 1.78 匹 ($n=14$) であり有意差はなかった. このことから TAFI は, ブラジキニンの分解に主要な役割を果たさないと推定される.

おわりに

TAFI の生理的役割を明らかにするために TAFI 欠損マウスが作出され, 各種試験が行われた. 結果を要約すると, ① TAFI 欠損マウスは正常に出生, 発育し, 繁殖力も保持していた. ② TAFI 欠損マウスは野生型と比較して, 各種血球成分の数, 血漿中のフィブリノゲンレベル, PT, APTT に変化はなく, 肝臓, 腎臓の機能にも異常は見られなかった. ③ 止血機能にも異常は認められなかったが, TAFI 欠損マウス血漿のトロンボモジュリン存在下でのクロット溶解時間は野生型よりも短かった. ④ CPI で前処理したマウスが writhing 反応を示すことが報告されているが, TAFI 欠損マウスと野生型では writhing 反応を示すマウスの数に違いは見られず, TAFIa はブラジキニンの分解に影響を与えないことが示唆された.

TAFIa はフィブリン断片の COOH 末端 Lys 残基を切断することによって線溶を阻害するとされるが, 上記の試験結果から推定すると, 生体内における TAFI の線溶に対する影響は非常に小さいものと推測される. また, 今回の試験では, *in vitro* の実験から期待されていたような, TAFI の新しい生理的役割を見出せなかったが, 今後, アナフィラトキシンのような他の活性化ペプチドの分解を担う TAFI の役割についても調べる必要があろう. しかし, カルボキシペプチダーゼ様酵素は生体内に幾種類

かあることから, それらによる代替も考えられ, ノックアウトマウスを用いた TAFI の解析にはかなりの困難が伴うものと予測される.

謝 辞: 御校閲を戴きました岩永貞昭先生 ((財) 化学及血清療法研究所顧問) に深謝いたします.

文 献

- 1) 浦野哲盟: t-PA の分子構造と血栓溶解機構. 病態生理 **13**: 673-679, 1994.
- 2) Bajzar L, Fredenburgh JC, Nesheim ME: The activated protein C-mediated enhancement of tissue-type plasminogen activator-induced fibrinolysis in a cell-free system. J Biol Chem **265**: 16948-16954, 1990.
- 3) Bajzar L, Nesheim ME: The effect of activated protein C on fibrinolysis in cell-free plasma can be attributed specifically to attenuation of prothrombin activation. J Biol Chem **268**: 8608-8616, 1993.
- 4) Bajzar L, Manuel R, Nesheim ME: Purification and characterization of TAFI, a thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor. J Biol Chem **270**: 14477-14484, 1995.
- 5) Tsai SP, Drayna D: The gene encoding human plasma carboxypeptidase B (CPB2) resides on chromosome 13.3. Genomics **14**: 549-550, 1992.
- 6) Vanhoof G, Wauters J, Schatteman K, Hendriks D, Goossens F, Bossuyt P, Scharpe S: The gene for human carboxypeptidase U (CPU) - a proposed novel regulator of plasminogen activation - maps to 13q14.11. Genomics **38**: 454-455, 1996.
- 7) Eaton DL, Malloy BE, Tsai SP, Henzel W, Drayna D: Isolation, molecular cloning, and partial characterization of a novel carboxypeptidase B from human plasma. J Biol Chem **266**: 21833-21838, 1991.
- 8) Bajzar L, Nesheim ME, Tracy PB: The profibrinolytic effect of activated protein C in clots formed from plasma is TAFI-dependent. Blood **88**: 2093-2100, 1996.
- 9) Valnickova Z, Thogersen IB, Christensen S, Chu CT, Pizzo SV, Enghild JJ: Activated human plasma carboxypeptidase B is retained in the blood by binding to alpha2-macroglobulin and pregnancy zone protein. J Biol Chem **271**: 12937-12943, 1996.
- 10) Mao SS, Cooper CM, Wood T, Shafer JA, Gardell SJ: Characterization of plasmin-mediated activation of plasma procarboxypeptidase B. Modulation by glycosaminoglycans. J Biol Chem **274**: 35046-35052, 1999.
- 11) Bajzar L: Thrombin activatable fibrinolysis inhibitor and an antifibrinolytic pathway. Arterioscler Thromb Vasc Biol **20**: 2511-2518, 2000.
- 12) Aloy P, Companys V, Vendrell J, Aviles FX, Fricker LD, Coll M, Gomis-Ruth FX: The crystal structure of the inhibitor-complexed carboxypeptidase D domain II and the modeling of regulatory carboxypeptidases. J Biol Chem **276**: 16177-16184, 2001.
- 13) Coll M, Guasch A, Aviles FX, Huber R: Three-dimen-

- sional structure of porcine procarboxypeptidase B: a structural basis of its inactivity. *EMBO J* **10**:1-9, 1991.
- 14) Bouma BN, Marx PF, Mosnier LO, Meijers JC: Thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor (TAFI, plasma procarboxypeptidase B, procarboxypeptidase R, procarboxypeptidase U). *Thromb Res* **101**:329-354, 2001.
 - 15) Boffa MB, Wang W, Bajzar L, Nesheim ME: Plasma and recombinant thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor (TAFI) and activated TAFI compared with respect to glycosylation, thrombin/thrombomodulin-dependent activation, thermal stability, and enzymatic properties. *J Biol Chem* **273**:2127-2135, 1998.
 - 16) Boffa MB, Bell R, Stevens WK, Nesheim ME: Roles of thermal instability and proteolytic cleavage in regulation of activated thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor. *J Biol Chem* **275**:12868-12878, 2000.
 - 17) Bajzar L, Morser J, Nesheim ME: TAFI, or plasma procarboxypeptidase B, couples the coagulation and fibrinolytic cascades through the thrombin-thrombomodulin complex. *J Biol Chem* **271**:16603-16608, 1996.
 - 18) Kokame K, Zheng X, Sadler JE: Activation of thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor requires epidermal growth factor-like domain 3 of thrombomodulin and is inhibited competitively by protein C. *J Biol Chem* **273**:12135-12139, 1998.
 - 19) 小亀浩市: TAFI 活性化とトロンボモジュリンのドメイン構造. *日本血栓止血学会誌* **9**:445-450, 1998.
 - 20) Bauer KA: Inherited and aquired hypercoagulable states, in Loscalzo J, Schafer AI (eds): *Thrombosis and hemorrhage*, Williams & Wilkins, Baltimore, 863-900, 1998.
 - 21) van Tilburg NH, Rosendaal FR, Bertina RM: Thrombin activatable fibrinolysis inhibitor and the risk for deep vein thrombosis. *Blood* **95**:2855-2859, 2000.
 - 22) Schneider M, Boffa MB, Stewart R, Rahman M, Koschinsky ML, Nesheim ME: Two naturally occurring variants of TAFI (Thr-325 and Ile-325) differ substantially with respect to thermal stability and antifibrinolytic activity of the enzyme. *J Biol Chem* **277**:1021-1030, 2002.
 - 23) Morange PE, Henry M, Frere C, Juhan-Vague I: Thr325Ile polymorphism of the TAFI gene does not influence the risk of myocardial infarction. *Blood* **99**:1878-1879, 2002.
 - 24) Cushman M, Folsom AR, Wang L, Heckbert, White RH, Aleksic N, Tsai MY, Tracy RP: A prospective study of Thrombin-Activatable Fibrinolysis Inhibitor (TAFI) concentration and the TAFI -438A polymorphism in relation to venous thromboembolism: The longitudinal investigation of thromboembolism etiology (LIFE). XVIII ISTH Abstracts, OC974, 2001.
 - 25) Morange PE, Aubert H, Henry M, Nanni I, Aillaud MF, Alessi MC, Hawe E, Yudkin J, Margaglione M, Minno GD, Hamsten A, Humphries SE, Juhan-Vague I: Evaluation of TAFI plasma antigen and genotypes in myocardial infarction patients and controls from the North and South Europe (HIFMECH Study).3 XVIII ISTH Abstracts, P2023, 2001.
 - 26) Nagashima M, Yin ZF, Zhao L, White K, Zhu Y, Lasky N, Halks-Miller M, Broze GJ Jr, Fay WP, Morser J: Thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor (TAFI) deficiency is compatible with murine life. *J Clin Invest* **109**:101-110, 2002.
 - 27) Wagenaar GTM, Girma M, Havik SR, Voskuilen MC, Bouma BN, Meijers JCM: Generation and characterization of thrombin activatable fibrinolysis inhibitor deficient mice. XVIII ISTH Abstracts, OC1759, 2001.
 - 28) Shinohara T, Sakurada C, Suzuki T, Takeuchi O, Campbell W, Ikeda S, Okada N, Okada H: Pro-carboxypeptidase R cleaves bradykinin following activation. *Int Arch Allergy Immunol* **103**:400-404, 1994.