



【日本血栓止血学会サイト お役立ちリンク集】

日本血栓止血学会サイトに掲載しているおすすめコンテンツのリンクをご紹介します。

- ・ [診療ガイドライン](#)
- ・ [研修医のお役立ち論文コンテンツ](#)
- ・ [用語集](#)
- ・ [1\) 血栓止血の臨床-研修のために【第2版】（前編）](#)
2018年29巻6号 p. 537-764, 2018.
 - ・ オーバービュー 1編
 - ・ 検査 14編
 - ・ 血小板・血管の異常による出血性疾患 12編
 - ・ 凝固・線溶系異常による出血性疾患 17編
 - ・ 出血性疾患の治療（血液製剤など） 8編
- ・ [2\) 血栓止血の臨床-研修のために【第2版】（後編）](#)
2019年30巻1号 p. 3-247, 2019.
 - ・ 血栓性疾患 17編
 - ・ 血栓性疾患の治療薬 13編
 - ・ 血小板減少を伴う血栓性疾患 18編

本編は次ページより掲載しております。

TMA の遺伝子診断：TTP と aHUS

宮田敏行^{1*}, 小亀浩市²

Genetic diagnosis of TMA: TTP and aHUS

Toshiyuki MIYATA, Koichi KOKAME

要約：血栓性微小血管症の遺伝子研究はこの15年余りの間に大きな進捗が見られた。すなわち、本症の病因は多岐にわたるものの、患者を血栓性血小板減少性紫斑病および非典型尿毒症症候群などの病因別に分類することができ、疾患発症に関わる遺伝子の病的バリエーションが同定されるようになった。これらの研究の中で、日本は特に先天性血栓性血小板減少性紫斑病患者の遺伝子研究で世界をリードしエビデンスを蓄積してきた。また、本邦の非典型尿毒症症候群ではC3 p.Ile1157Thrが多く見られるという欧米の症例には見られない特徴を示した。遺伝子診断において病的バリエーションの判定が重要であるが、非典型尿毒症症候群ではその判定に難しい場合があり、その判定の注意点を述べた。

Key words: thrombotic thrombocytopenic purpura, ADAMTS13, atypical hemolytic uremic syndrome, complement

1. はじめに

血栓性微小血管症 (thrombotic microangiopathy: TMA) は、破碎赤血球を伴う溶血性貧血、消費性血小板減少、微小血管内の血小板血栓による臓器傷害の3主徴を示す病態であり、病因は多岐にわたる。厚生労働科学研究費補助金 (難治性疾患等政策研究事業) 血液凝固異常症に関する調査研究班 TTP グループによりまとめられた「血栓性血小板減少性紫斑病 (TTP) 診療ガイド2017」では、TMAはその病因により、ADAMTS13欠損TMA、感染症合併TMA、補体関連TMA、凝固関連TMA、二次性TMA、その他のTMAに分類される¹⁾。これらの中で遺伝的要因が考えられるのは、ADAMTS13欠損TMAのうちADAMTS13遺伝子の機能喪失変異による先天性血栓性血小板減少性紫斑病 (thrombotic thrombocytopenic purpura: TTP)、補体関連TMAのう

ち補体因子遺伝子の機能獲得変異やその制御因子遺伝子の機能喪失変異による非典型溶血性尿毒症症候群 (atypical hemolytic uremic syndrome: aHUS)、凝固関連TMAに分類される diacylglycerol kinase ϵ (DGKE) 遺伝子異常による DGKE 欠損 TMA、および代謝関連 TMA に分類される methylmalonic aciduria and homocystinuria type C protein (MMACHC) 遺伝子異常による MMACHC 欠損 TMA である。表 1 に TMA 発症に関わる遺伝子バリエーションが同定されている因子の諸性質を示した。これらの中で、先天性 TTP、DGKE 欠損 TMA、MMACHC 欠損 TMA は常染色体劣性遺伝形式をとる。一方、aHUS は病的バリエーション保有者でも発症が見られず浸透率が低い例が見られる。病的バリエーションは疾患の表現型を一義的に決定するのではなく発症の素因と考えられ、これに先天性もしくは後天性の要因が重なると TMA が発症すると考えられる²⁻⁴⁾。

本稿では、遺伝的背景が明らかになっている TMA に絞って、その現況を解説し遺伝子診断に向けた期待や問題点を述べたい。aHUS に関してはすでに本誌に優れた総説が発表されているのでご覧いただきたい⁵⁾。

¹ 国立循環器病研究センター脳血管内科

² 国立循環器病研究センター分子病態部

*責任者連絡先:

国立循環器病研究センター

〒564-8565 大阪府吹田市岸部新町 6-1

Tel: 06-6170-1070

E-mail: miyata@ncvc.go.jp

表1 TMA 発症の原因や素因となる病的バリエーションが同定された遺伝子とそのタンパク質の諸性質

タンパク質名 (遺伝子名)	分子量 (kDa)	アミノ酸 残基数	血中濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	主な機能
ADAMTS13 (ADAMTS13)	190	1427	0.5-1	ずり応力依存的にVWFを切断する血漿メタロプロテアーゼ
Factor H (CFH)	155	1231	400	補体第二経路のC3転換酵素C3bBbの負の制御因子。C3bに結合しC3bBbを解離させる。CFBのC3bへの結合を阻害する。C3bのiC3bさらにC3dgとC3cへの分解・不活化においてCFIのコファクターとして働く
MCP (CD46)	45-70	392	—	細胞表面でCFIによるC3bの分解・不活化のコファクターとして働く1回膜貫通型糖タンパク質
Factor I (CFI)	88	583	20-50	CFH, MCP, CR1, トロンボモジュリンというコファクターの存在下、C3bとC4bを切断し不活化するセリンプロテアーゼ
C3 (C3)	187	1663	1,200	補体系の中心となる因子。プレプロC3:1663残基, β 鎖:645残基(残基番号23-667), α 鎖:992残基(残基番号672-1663)。C3転換酵素C3bBbおよびC2bC4bによりC3aとC3bに切断される。C3bは侵入した微生物などの水酸基とアミノ基に共有結合しオプソニン化する
Factor B (CFB)	90	764	300	CFBはFDaによりBa(234残基, 残基番号26-259)とBb(739残基, 残基番号260-764)に切断される。Bbはセリンプロテアーゼ領域を含み、C3bと結合しC3転換酵素C3bBbを形成する
Diacylglycerol kinase epsilon (DGKE)	64	567	—	シグナル分子であるアラキドン酸含有ジアシルグリセロールをホスファチジン酸に変換する細胞内酵素
Thrombomodulin (THBD)	100	575	—	血管内皮細胞に発現する1回膜貫通型糖タンパク質。トロンビン-トロンボモジュリン複合体を形成し、プロテインCを活性化し、プロテインC抗凝固素を発動させるとともに、TAFIを活性化し線溶系の抑制とC3aとC5aの分解に働く。CFHもしくはC4BPの存在下でCFIによるC3b切断のコファクターとして働く
Plasminogen (PLG)	91	810	200	フィブリンを溶解する線溶系酵素。C3を分解する作用も持つ
Methylmalonic aciduria and homocystinuria type C protein (MMACHC)	32	282	—	必須の補因子であるメチルコバラミン(MeCbl)とアデノシルコバラミン(AdoCbl)の前駆体であるシアノコバラミンの脱シアノ化を触媒する酵素。先天性欠損症はメチルマロン酸尿症とホモシスチン尿症を示す

2. 先天性 TTP

先天性 TTP は ADAMTS13 遺伝子異常により血漿 ADAMTS13 活性が著減し、全身の微小血管に血小板血栓が形成される遺伝性疾患と定義され、常染色体劣性遺伝形式を示す¹⁾。ADAMTS13 は von Willebrand 因子 (VWF) マルチマーを切断する酵素であり、その活性が著減することで VWF マルチマーの血小板凝集活性を正常に調節することができなくなり、血小板の病的凝集につながる。

複数回の測定で常に血漿 ADAMTS13 活性が低く (正常プール血漿の 10% 未満)、かつインヒビター (ADAMTS13 に対する自己抗体) が陰性の場合、先

天性 TTP の可能性が高い。患者両親の ADAMTS13 活性が低下 (30%~70%) していると、その可能性はさらに高くなる。先天性 TTP の遺伝子解析で対象とする遺伝子は ADAMTS13 のみである。ダイレクト・シーケンシング法で全エクソン (29 個) の塩基配列を調べると、約 9 割の症例で両アレルの異常、すなわち複合ヘテロ接合性あるいはホモ接合性の病的バリエーションが見つかる。ダイレクト・シーケンシング法で両アレルのバリエーションが見つからない場合、ゲノム定量 PCR 法⁶⁾ や次世代シーケンシング等を行うことで ADAMTS13 遺伝子の構造異常が見つかる場合もある。

本邦ではこれまで 56 家系の先天性 TTP 患者が見

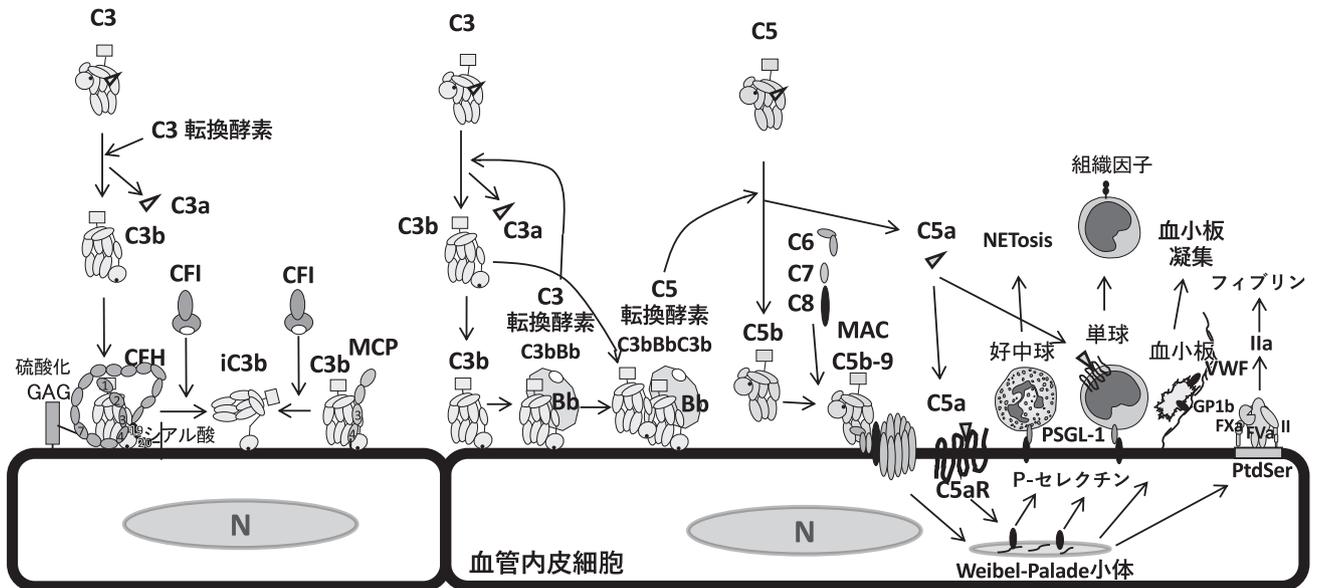


図1 補体因子と補体制御因子の病的遺伝子バリエーションにより生じる血管内皮細胞傷害の考えられる機序

血管内皮細胞上に結合したC3bはCFHもしくはMCPが結合することによりCHIにより分解・不活化される(図の左部分)。補体因子もしくは補体制御因子に病的バリエーションがあると、内皮細胞上でのC3bの分解が不十分になり、C5転換酵素であるC3bBbC3b複合体が形成されC5aとC5b-9が形成される。C5aは白血球走化因子活性、血管透過性活性、平滑筋収縮活性に加え、血管内皮細胞のC5a受容体(C5aR)を介したWeibel-Palade小体のexocytosisを惹起する。その結果、VWFが放出され、一部のVWFは内皮表面に係留し、Pセレクトリンは細胞表面へ提示され、好中球・単球・血小板がそれぞれ内皮に結合する。細胞膜での膜侵襲複合体(MAC)C5b-9の形成は、膜外層に酸性リン脂質ホスファチジルセリン(PtdSer)を露出させ、内皮細胞上にプロトロンビナーゼ複合体(FXa-FVa複合体)、内因系Xase複合体(FIXa-FVIIIa複合体)、外因系Xase複合体(FVIIa-組織因子複合体)形成のための場を提供する。これら一連の内皮細胞傷害の結果、微小血管に血栓が形成されると考えられる¹⁰⁾。

つかっており、うち52家系で両アレル性の病的バリエーションが確認された。同定されたバリエーションは64種類で、その内訳はミスセンス変異が最多で半数以上を占め、フレームシフト変異、ナンセンス変異、スプライシング異常と続く。バリエーションの種類はバラエティに富むが、3家系以上に同定された病的バリエーション(p.Arg193Trp:11家系, p.Cys908Tyr:10家系, p.Gln449*:3家系, p.Ile673Phe:3家系)もある。日本人のADAMTS13遺伝子には6種類のミスセンス多型(p.Thr339Arg, p.Gln448Glu, p.Pro475Ser, p.Pro618Ala, p.Ser903Leu, p.Gly1181Arg)が存在し⁷⁾、これらは患者に見つかっても病的バリエーションと見なさない。先天性TTP患者に腎傷害が見られる例もあるが、これらの患者にはaHUS患者に見られる病的バリエーション(下記参照)は同定されなかった⁸⁾。

3. aHUS

1) 補体第二経路の過剰な活性化による血管内皮細胞傷害

aHUSでは、i) 補体制御因子の機能喪失変異、ii) 補体因子の機能獲得変異、iii) 補体制御因子CFHの自己抗体、のいずれかにより、血管内皮細胞上で過剰な補体反応が進行し、膜侵襲複合体C5b-9形成による内皮細胞傷害が起こるとともに、アナフィラトキシンC5aにより好中球や単球が局所に遊走され炎症と血栓形成が進行する(図1)。

補体反応は古典経路、第二経路、レクチン経路という3つの活性化経路がある^{9,10)}。このうち、第二経路は活性化因子を必要とせず、tick-overと呼ばれるC3の自己活性化で開始する⁹⁾。すなわち、C3のチオエステル結合はH₂Oと反応してC3(H₂O)を形

成し、CFDで活性化されたBbがこれに結合し、液相でC3転換酵素活性をもつC3(H₂O)Bb複合体ができる。これがC3をC3aとC3bに切断・活性化する。C3bは露出したチオエステル結合により非特異的に周辺の、例えば微生物の表面の水酸基やアミノ基に共有結合することにより微生物をマクロファージ等に取り込まれやすくする(オプソニン化する)とともに、C5転換酵素(C3bBbC3b)を形成し、膜侵襲複合体C5b-9を形成し微生物膜にポアをつくり殺菌する。一方、C3bが血管内皮細胞上に結合すると細胞傷害が進行するため、膜上で起こる補体の活性化を阻止する必要がある。内皮細胞に結合したC3bには内皮細胞の膜上に存在する補体制御因子CFHもしくはMCPが結合し、プロテアーゼCFIによる分解を受けiC3bさらにC3dgとC3cに変換される。これらのC3b分解物はC5転換酵素を形成できないので補体反応が進行せず内皮細胞傷害は阻止される。aHUSでは、補体制御因子(CFH, MCP, CFI)の機能喪失変異、CFHの自己抗体、補体因子(C3, CFB)の機能獲得変異により、血管内皮細胞上での迅速なC3b分解・不活化が起こらず、その結果C5aとC5bが産生され膜侵襲複合体C5b-9の形成による内皮細胞傷害が生じTMAを示すこととなる(図1)¹⁰⁾。

2) CFHの機能喪失変異によるaHUS

CFHは血管内皮細胞上での補体活性化を阻止する因子として最も重要である(表1)。CFHは60個程度のアミノ酸からなるshort consensus repeat(SCR)とよばれるドメインが20個繋がった、血漿中の可溶性補体制御因子である^{9, 10)}。CFHのN末端側のSCR1-4はC3bに結合する領域である。セリンプロテアーゼCFIは液相中や細胞膜上に形成されたC3b-CFH複合体のC3bを切断・不活化する。CFHはC3bに結合するのでC3転換酵素(C3bBb)からBbを解離させるdecay accelerating factor能を有する。CFHのSCR20は細胞膜上にあるシアル酸を末端にもつ糖鎖やヘパラン硫酸グリコサミノグリカン鎖に結合する領域である。CFHの内皮細胞上への結合は補体の活性化の抑制に極めて重要である。病的バリエーションもしくはCFHに対する自己抗体によりCFHが細胞上に結合できないと内皮細胞上で過剰な補体の活性化が起こり、内皮細胞傷害が進行し重篤なaHUSを

示す。エクリズマブが使われる以前の研究では、CFHバリエーション保有者(多くはSCR20のバリエーション保有者)は早期にaHUSを発症し再発率が高く最も予後が悪いと報告されている^{4, 11, 12)}。一方、CFHのSCR1-4のバリエーションは液相での補体活性化の抑制が不完全になりC3の活性化が進行する。aHUS患者はSCR19-20にバリエーションが集中しておりSCR1-4のバリエーションは少ない¹³⁾。一方、加齢性黄斑変性症やC3腎症ではSCR1-4に多くのバリエーションが同定されている^{13, 14)}。したがって、aHUSは細胞膜上での、加齢性黄斑変性症やC3腎症は液相での補体の過剰な活性化が病因と考えられる。このように、CFHは3つのメカニズム、すなわちi) C3bのCFIによる分解促進、ii) C3bとCFBの会合阻害、iii) C3bBb複合体の解離促進、を通してC3転換酵素を阻害する⁹⁾。

染色体1q32領域にはSCRを有するregulator of complement activation(RCA)タンパク質をコードする遺伝子が集中して存在し、それらの塩基配列相関性は高い。なかでもCFH遺伝子の近傍には相関性が高いCFHR3遺伝子とCFHR1遺伝子が存在し、特にCFH SCR19-20・CFHR3 SCR4-5・CFHR1 SCR4-5のアミノ酸配列の同一性は極めて高い。CFH遺伝子とCFHR3遺伝子やCFHR1遺伝子の間で組み換えが起こると、SCR19-20を欠失する短鎖CFHや、CFH-CFHR3キメラタンパク質、CFH-CFHR1キメラタンパク質などが産生される。これらのCFHバリエーション分子はCFH SCR19-20を欠くため内皮細胞への結合能を示さずaHUS発症の極めて強い遺伝的要因となる。これらのCFH病的バリエーション保有者の血清の溶血活性を測定すると、強い溶血が観察される。

表2に日本人と欧米人のaHUSの遺伝子解析の結果をまとめた。CFHのバリエーションは欧米の患者では20%~28%に見られるものの、本邦の患者では10%(104人中10人)にしか同定されていない¹⁵⁾。

3) CFHの機能を阻害する自己抗体によるaHUS

RCA領域では遺伝子組み換えによりCFHR3とCFHR1の両遺伝子の欠損が起こりやすい。欧米では両遺伝子の完全欠損者にCFHの自己抗体が統計学的に多くみられるとの報告がある¹⁶⁾。しかし、日本人ではCFHR3とCFHR1の遺伝子欠損の頻度は低いので、自己抗体産生と完全欠損の統計学的な関連は

表2 各国のaHUS患者(補体関連TMA)の遺伝子バリエーションと抗CFH抗体の保有者の頻度

	日本	フランス	イタリア	米国	欧州コンソーシアム*
CFH, %	10	28	24	27	19.8
MCP, %	5	10	7	5	8.1
CFI, %	0	10	4	8	5.8
C3, %	31	8	4	2	5.6
CFB, %	0	2	< 1	4	1.1
2つの遺伝子の変異, %	6	4	3	n.d.	3
抗CFH抗体, %	19	6	3	n.d.	n.d.
変異と抗体保有者, %	65	60	46	46	40.4
aHUS総数	104	214	273	144	795

文献37の表に文献15のデータを加筆した。*フランス, イタリア, イギリス, スペイン, n.d.: not determined.

示されていない。本邦のaHUS患者104人中、20人が抗CFH抗体を保有していたが、この20人は病的遺伝子バリエーションを保有していなかった¹⁵⁾。

4) MCPの機能喪失変異によるaHUS

MCP (CD46) は一回膜貫通領域をもつ膜タンパク質で細胞外領域に4つのSCRをもち、SCR3-4がC3bの結合領域である(表1)。本邦のaHUS患者では104人中8人にMCPのバリエーションが同定された。このうち3人はホモ接合体、1人は複合ヘテロ接合体であり、3人はaHUSの病的バリエーションC3 p.Ile1157Thrも保有していた(表3)¹⁵⁾。このように、MCPバリエーションはホモ接合体や複合ヘテロ接合体、他の病的バリエーションをあわせ持つ例がこれまでもよく観察されている¹⁷⁾。エクリズマブが使われる以前の研究では、MCPバリエーションを保有する小児では再発は見られるものの予後が良く^{4, 12)} 腎移植の転帰も良いと報告されている¹⁸⁾。

5) CFIの機能喪失変異によるaHUS

CFIは血中を循環する2本鎖の補体制御セリンプロテアーゼである(表1)。CFIは前駆体から活性型への変換に必要な限定分解を必要とせず、触媒ドメインであるL鎖に基質C3bやC4bが結合するとH鎖のアロステリックな阻害がなくなり活性型へとコンフォメーションが変化する¹⁹⁾。これまで本邦のaHUS患者にCFIの病的バリエーションは報告されていない(表2)。

6) C3の機能獲得変異によるaHUS

CFHおよびMCPとの結合能が低下するC3のバリエーションは、CHIによるC3bの分解が遅延し補体系が過剰に活性化されるので機能獲得変異でありaHUS発症の病的バリエーションである。欧米のaHUSではC3バリエーション保有者は少ない(2%~8%, 表2)が、本邦のaHUS患者104人中には32人(31%)がC3バリエーションを保有していた(表2)¹⁵⁾。そのうち、16家系24人にp.Ile1157Thrという同一の病的バリエーションを認めた(aHUS患者全体の23%に相当)(表3)。三重大学では14家系19人に本バリエーションを認めている^{20, 21)}。C3b-CFH SCR1-4複合体の立体構造からみると^{22, 23)}、C3 p.Ile1157ThrはCFH SCR4との結合部位に位置するので、C3バリエーション分子はCFH結合能が低下し、過剰な補体活性化能(すなわち機能獲得)を示すと考えられる²⁴⁾。事実、組み換えC3 p.Ile1157Thrバリエーション分子のCFH結合能とMCP結合能はともに約50%に低下しており²⁵⁾、CFHとMCPへの結合の低下のため血管内皮細胞上でC3bが分解されず、C3転換酵素とC5転換酵素が形成され、C5b-9による膜侵襲複合体形成による細胞傷害が生じaHUSを発症すると考えられる。C3 p.Ile1157Thrをもつ患者はaHUSの再発を認めるもののフォローアップでよりよい転帰を示し、多くは支持療法や血漿療法で寛解に入った(それぞれ65%および35%)^{15, 20)}。海外にも本バリエーション保有者が見られ

表3 1998年から2016年に日本で登録されたaHUS患者104人に遺伝子解析を行い48人に同定された27バリエーション

遺伝子	人数	対立遺伝子	アミノ酸変異	SNP rs	日本人での頻度 (ToMMo)
C3 (32人)	1	heterozygote	p.Ser179Pro	—	—
	1	heterozygote	p.Ser182Pro	—	—
	1	heterozygote	p.Pro214Ser	—	—
	1	heterozygote	p.Arg425Cys	rs200967589	0.0012
	1	heterozygote	p.Val555Ile	rs767334972	—
	1	heterozygote	p.Arg1042Leu	—	—
	1	heterozygote	p.Lys1105Gln	—	—
	24	heterozygote	p.Ile1157Thr	—	—
	1	heterozygote	p.Glu1160Lys	—	—
CFH (10人)	1 ^a	heterozygote	p.Phe176Leu	rs762132970	—
	1	heterozygote	p.Arg232Gln	—	—
	1 ^a	heterozygote	p.His651Tyr	—	0.0012
	1	heterozygote	p.Asp798Asn	rs55931547	0.0015
	1	heterozygote	p.Ser1191Trp	—	—
	1	heterozygote	p.Glu1198Val	—	—
	1	heterozygote	p.Glu1198Asp	—	—
	2	heterozygote	p.Arg1215Gly	rs121913051	—
	3	heterozygote	p.Arg1215Gln	—	—
THBD	1 ^a	heterozygote	p.Thr500Met	—	0.0001
MCP (8人)	2	homozygote	p.Cys64Tyr	—	—
	3 ^a	heterozygote	p.Thr98Ile	rs116800126	0.0015
	1	homozygote	p.Asn170Metfs*9 ^c	—	—
	1 ^b	heterozygote	p.Tyr189Asp	rs202071781	—
	1 ^a	heterozygote	p.Pro195Ser	rs773860894	0.0003
	1 ^b	heterozygote	p.Ala359Val	rs767322836	—
DGKE (1人)	1 ^b	heterozygote	p.Leu24Cysfs*145 ^d	—	—
	1 ^b	heterozygote	p.(Ala405-Glu428del) ^e	—	—

文献15を一部改編した。ToMMo：<https://jmorp.megabank.tohoku.ac.jp/201909/>、アミノ酸番号は開始Metを1とする。^a病原性が知られている他のaHUSバリエーションも保有、^b2つの異なる病原性バリエーションをもつ（複合ヘテロ接合体）、^cc.509delAによるフレームシフト変異、^dc.71delTによるフレームシフト変異、^ec.1213-2A>Gによるスプライシング異常。

る。患者には頻回にaHUSの再発が見られるものの、20年間にわたり蛋白尿や高血圧を示さず正常な腎機能を保持している²⁶⁾。

7) CFBの機能獲得変異によるaHUS

CFBはプロテアーゼ前駆体であり、Mg²⁺存在下で

C3bに結合しC3転換酵素C3bBb複合体を形成する(表1)。aHUSではCFBのバリエーションはまれであり、海外では<1%~4%と報告されている(表2)。CFBの病的バリエーションはC3転換酵素の機能亢進と補体制御因子に対する抵抗性の獲得で説明される。本邦

では aHUS を発症する大家系に CFB p.Lys350Asn が同定されている²⁷⁾。この家系のバリエーション保有者 8 人のうち 2 人は aHUS を発症したが 6 人は aHUS を発症していない。本バリエーションは VWF type A (VWA) ドメイン内の Mg²⁺ adhesion site 近傍にある。組み換え体の機能解析により、CFB バリエーション分子は C3b に強く結合し高い溶血活性を示し、CFH による C3b-CFB バリエーション分子の解離は弱く、C3 転換酵素活性を示す iC3bBb バリエーション分子複合体を形成し、バリエーション分子を含む血清は血管内皮細胞上への C3 の高い沈着が観察された²⁸⁾。これより本バリエーション分子は、C3 転換酵素の機能亢進と CFH に対する抵抗性の両機能を獲得したと考えられた。CFB の VWA ドメイン内の他のバリエーション分子も C3b に強く結合するので、この領域内のバリエーション分子は同様の機序で機能を獲得すると考えられる。本邦では C3 糸球体腎炎の女兒と膜性増殖性糸球体腎炎の履歴をもつ母に VWA ドメイン内の p.Ser367Arg が同定されている²⁹⁾。

CFB バリエーションの発現機能解析が行われ、バリエーションの病因が検討された。それによると、15 個のバリエーションのうち 9 個は病因に関係しないという³⁰⁾。バリエーションの機能を予測する *in silico* 解析は機能解析結果と一致せず、その使用は慎重になるべきだと述べている。

4. 凝固関連 TMA

1) DGKE 欠損 TMA

1 歳未満で高血圧を伴う aHUS 患者の遺伝子解析より DGKE バリエーションのホモ接合体/複合ヘテロ接合体が同定された³¹⁾。DGKE は細胞内シグナル分子であるアラキドン酸含有ジアシルグリセロールをホスファチジン酸に変換する酵素である(表 1)。本邦の aHUS 患者にも DGKE バリエーション複合ヘテロ接合体が報告されている^{15, 32)}。DGKE バリエーションは C3 腎症の患者にも同定される³³⁾。DGKE の病的バリエーションによる TMA が凝固関連 TMA に分類されるかは議論がある。DGKE はあらゆる組織に発現するが、なかでも精巣・心筋・骨格筋・腎に高発現し、腎では podocyte と内皮細胞に高発現する。DGKE 遺伝子

欠損マウスは出産可能で見かけ上の異常は見られないものの、糸球体を詳しく観察すると内皮細胞が傷害を受けやすく、加齢により糸球体基底膜の肥厚を伴う糸球体のうっ血と局所毛細管の閉塞が観察された³⁴⁾。DGKE 遺伝子欠損マウスの腎ではシクロオキシゲナーゼ 2 とプロスタグランジン E2 の誘導が阻害され、抗血栓性を示す PECAM-1 の発現が低下していた。

2) THBD 関連 TMA

凝固系との関連で aHUS 患者にトロンボモジュリン(遺伝子名: THBD)の機能喪失変異が同定され、遺伝子バリエーションと aHUS との関連が注目を集めている³⁵⁾。トロンボモジュリンは CFH もしくは C4BP 存在下で CFI による C3b の切断・不活化を促進し、トロンボモジュリンバリエーション分子は C3b 不活化促進活性が低下することが示された³⁵⁾。しかし、発現実験が行われて aHUS の病的バリエーションの 1 つとされた p.Asp486Tyr の吹田研究でのアレル頻度は 1.1% であり、まれなバリエーションではないため aHUS の素因とは考えにくい³⁶⁾。その後の海外の研究では、トロンボモジュリンの機能喪失変異が aHUS の病的バリエーションであることを支持する報告は見当たらない³⁷⁾。本邦の研究では、aHUS 患者に THBD p.Thr500Met を認めるが、本バリエーションを保有する患者は病的バリエーション CFH p.Arg1215Gln をあわせ持つため、THBD p.Thr500Met の aHUS 発症への意義は不明である¹⁵⁾。

3) PLG 関連 TMA

aHUS 患者にプラスミノゲン(遺伝子名: PLG)のミスセンス変異が比較的多く同定されたので、プラスミノゲンが aHUS の候補遺伝子である可能性が報告された³⁸⁾。しかし、その後これを支持する報告はない³⁷⁾。日本人約 25 人に 1 人にみられるプラスミノゲン異常症(p.Ala620Thr)は aHUS と関連を示さなかった³⁹⁾。

5. 代謝関連 TMA

コバラミンの代謝に関連する MMACHC 遺伝子に機能喪失変異が生じるとコバラミン欠損症を伴うメチルマロン酸尿症とホモシスチン尿症が見られ、慢

性TMAを含む種々の傷害が観察される(表1)^{2,40)}。MMACHCは必須補因子であるメチルコバラミン(MeCbl)とアデノシルコバラミン(AdoCbl)の前駆体であるシアノコバラミンの脱シアノ化を触媒する酵素である。MeCblはホモシステイン代謝に必須で、AdoCblはメチルマロン酸-CoAの分解に必須なので、本酵素の先天性欠損症は血中のホモシステインとメチルマロン酸が高値を示す。

6. 遺伝子診断におけるバリエーション判定の注意点

ヒト遺伝子には極めて多くのバリエーションがあり、それらの多くは疾患に関連しない。aHUSの遺伝子診断では7個程度の候補遺伝子を対象にバリエーションを同定するため、ほとんどの解析例で幾つかのミスセンス変異が同定される。一般住民にもまれなバリエーション(minor allele frequencyが1%以下のバリエーション)が数多く見られるので、疾患群で見いだされたまれなバリエーションが病的かどうかの判定は難しい。aHUSを例として、バリエーションの判定に関して注意すべき6つの点をあげたい。

1) 一般住民でのアレル頻度

aHUSはまれな遺伝性疾患である。したがって、原因となる病的バリエーションはその頻度が極めて低いと予想される。aHUSの病的バリエーションの判定において頻度は重要なポイントである。欧米人と日本人でバリエーションの頻度が大きく異なる場合があるので、頻度は日本人を対象に求められた値を用いるべきである。日本人のバリエーションの頻度は東北メディカル・メガバンク機構が日本人約4,700人の全ゲノム解析を行ったデータベース Integrative Japanese Genome Variation Database (iJGVD) に示されている (<https://www.megabank.tohoku.ac.jp/>)⁴¹⁾。さらに日本人ゲノム配列のバリエーションとそれに関する疾患情報や関連論文などを収集・整理したデータベースである TogoVar (日本人ゲノム多様性統合データベース) も参考になる (<https://togovar.biosciencedbc.jp/>)。

2) バリエーションと家系内 aHUS 発症および強い溶血活性との cosegregation

疾患に強くリンクするバリエーションは浸透度が高い。大きくない影響を与えるバリエーションは浸透度が低い。

variants of unknown significance に分類されるバリエーションでも高い浸透度を示す場合は病的と考えられる。aHUSは必ずしもメンデル遺伝形式を取らないので aHUS の病的バリエーション判定は難しい。aHUS患者に同定される遺伝子バリエーションはヘテロ接合体であり、保因者は必ずしも aHUS を発症するものではなく、不完全な疾患発症の浸透度を示す。aHUS患者では赤血球溶血活性は有用なマーカーである。本邦では奈良医大が開発した定量的羊赤血球溶血活性が用いられている。本法で強い溶血活性が認められる aHUS患者は、CFH SCR19-20 内のバリエーション、CFH 自己抗体、C3 p.Lys1105Gln のいずれかを保有していた²⁴⁾。

3) バリエーションのタンパク質機能への影響

バリエーションがタンパク質機能に影響を与えることを明らかにすることはバリエーションの評価に極めて有用である。CFH⁴²⁾、C3²⁵⁾、CFB³⁰⁾ で aHUS患者に同定されたミスセンス変異を持つバリエーションタンパク質の大規模な機能解析が発表されている。しかし、トロンボモジュリンの項で紹介したように、発現実験で機能低下を示すバリエーションが必ずしも aHUS の病的バリエーションであるとは限らないことに注意が必要である。

4) *de novo* バリエーションの同定

両親には見られないものの小児に見られる *de novo* バリエーションは aHUS ではまれだが、病的バリエーションであることを強く示唆する³⁷⁾。

5) タンパク質の立体構造情報を用いたバリエーションの評価

補体は複合体として機能する場合が多い。C3b-CFH-SCR1-4^{22,23)}、C3bB と C3bBD*⁴³⁾、C3d-CFH19-20⁴⁴⁾、C3b-MCP-SCR3-4²³⁾、C3b-CFH-SCR1-4-CFI⁴⁵⁾ などの補体複合体の立体構造が決定されている。複合体のタンパク質の接触面にバリエーションが位置すると複合体形成が妨げられる場合が多いので²⁴⁾、複合体でのバリエーションの立体構造での位置を知ることは機能への影響を考える上でたいへん重要な情報を与える。

6) *in silico* の構造予測

Polyphen2, SIFT, Mutation Taster などバイオインフォマティクスを用いて、バリエーションがタンパク質に影響を与える度合いを数値で示すプログラムがある。新規のバリエーションや variants of unknown

significance に分類されるバリエーションはこれらの手法を用いて評価する。しかし、これらの値をあまり信用できないという論文もある³⁰⁾。最近凝固 V 因子欠損症 east Texas bleeding disorder および Factor V Amsterdam が一塩基置換による新規スプライス部位でのスプライス異常であると報告された^{46,47)}。バリエーションを評価する際には *in silico* を用いてスプライスへの影響も検討するべきであろう。

7. おわりに

TMA は病因に沿った患者の類別が可能となってきた。遺伝子から見ると、常染色体劣性遺伝形式をとる先天性 TTP, DGKE 欠損 TMA, MMACHC 欠損 TMA は遺伝子解析により診断をしやすい。一方、補体関連 TMA の aHUS は浸透率が低い例があるので慎重な判定が求められる。病的バリエーションや自己抗体の有無は、aHUS の重症度予測や移植後の再発リスクの予測、また抗補体薬エクリズマブの選択を考える上で重要性は増している。

著者全員の利益相反 (COI) の開示：

宮田, 小亀：特許使用料 (株式会社ペプチド研究所, 株式会社カイノス, 株式会社エスアールエル, Peptides International, Inc)

文献

- 血液凝固異常症に関する調査研究班 TTP グループ：松本雅則, 藤村吉博, 和田英夫, 小亀浩市, 宮川義隆, 上田恭典, 日笠聡, 森木隆典, 八木秀男, 宮田敏行, 村田満：血栓性血小板減少性紫斑病 (TTP) 診療ガイド 2017. 臨床血液 **58**: 271–281, 2017.
- George JN, Nester CM: Syndromes of thrombotic microangiopathy. *N Engl J Med* **371**: 654–666, 2014.
- De Vriese AS, Sethi S, Van Praet J, Nath KA, Fervenza FC: Kidney disease caused by dysregulation of the complement alternative pathway: An etiologic approach. *J Am Soc Nephrol* **26**: 2917–2929, 2015.
- Fakhouri F, Zuber J, Fremeaux-Bacchi V, Loirat C: Haemolytic uraemic syndrome. *Lancet* **390**: 681–696, 2017.
- 加藤秀樹, 菅原有佳, 南学正臣：次世代シーケンサーを用いた非典型溶血性尿毒症症候群の遺伝子診断. 日血栓止血会誌 **28**: 33–40, 2017.
- Eura Y, Kokame K, Takafuta T, Tanaka R, Kobayashi H, Ishida F, Hisanaga S, Matsumoto M, Fujimura Y, Miyata T: Candidate gene analysis using genomic quantitative PCR: Identification of ADAMTS13 large deletions in two patients with Upshaw-Schulman syndrome. *Mol Genet Genomic Med* **2**: 240–244, 2014.
- Kokame K, Kokubo Y, Miyata T: Polymorphisms and mutations of ADAMTS13 in the Japanese population and estimation of the number of patients with Upshaw-Schulman syndrome. *J Thromb Haemost* **9**: 1654–1656, 2011.
- Fan X, Kremer Hovinga JA, Shirohani-Ikejima H, Eura Y, Hirai H, Honda S, Kokame K, Taleghani MM, von Krogh AS, Yoshida Y, Fujimura Y, Lammle B, Miyata T: Genetic variations in complement factors in patients with congenital thrombotic thrombocytopenic purpura with renal insufficiency. *Int J Hematol* **103**: 283–291, 2016.
- Merle NS, Church SE, Fremeaux-Bacchi V, Roumenina LT: Complement system Part I—Molecular mechanisms of activation and regulation. *Front Immunol* **6**: 262, 2015.
- 宮田敏行, 井上徳光：血栓と補体. 補体 **55**: 13–45, 2018.
- Noris M, Caprioli J, Bresin E, Mossali C, Pianetti G, Gamba S, Daina E, Fenili C, Castelletti F, Sorosina A, Piras R, Donadelli R, Maranta R, van der Meer I, Conway EM, Zipfel PF, Goodship TH, Remuzzi G: Relative role of genetic complement abnormalities in sporadic and familial aHUS and their impact on clinical phenotype. *Clin J Am Soc Nephrol* **5**: 1844–1859, 2010.
- Fremeaux-Bacchi V, Fakhouri F, Garnier A, Bienaime F, Dragon-Durey MA, Ngo S, Moulin B, Servais A, Provot F, Rostaing L, Burtey S, Niaudet P, Deschenes G, Lebranchu Y, Zuber J, Loirat C: Genetics and outcome of atypical hemolytic uremic syndrome: A nationwide French series comparing children and adults. *Clin J Am Soc Nephrol* **8**: 554–562, 2013.
- Cantsilieris S, Nelson BJ, Huddleston J, Baker C, Harshman L, Penewit K, Munson KM, Sorensen M, Welch AE, Dang V, Grassmann F, Richardson AJ, Guymer RH, Graves-Lindsay TA, Wilson RK, Weber BHF, Baird PN, Allikmets R, Eichler EE: Recurrent structural variation, clustered sites of selection, and disease risk for the complement factor H (CFH) gene family. *Proc Natl Acad Sci U S A* **115**: E4433–E4442, 2018.
- Osborne AJ, Breno M, Borsa NG, Bu F, Fremeaux-Bacchi V, Gale DP, van den Heuvel LP, Kavanagh D, Noris M, Pinto S, Rallapalli PM, Remuzzi G, Rodriguez de Cordoba S, Ruiz A, Smith RJH, Vieira-Martins P, Volokhina E, Wilson V, Goodship THJ, Perkins SJ: Statistical validation of rare complement variants provides insights into the molecular basis of atypical hemolytic uremic syndrome and C3 glomerulopathy. *J Immunol* **200**: 2464–2478, 2018.
- Fujisawa M, Kato H, Yoshida Y, Usui T, Takata M, Fujimoto M, Wada H, Uchida Y, Kokame K, Matsumoto M, Fujimura Y, Miyata T, Nangaku M: Clinical characteristics and genetic backgrounds of Japanese patients with atypical hemolytic uremic syndrome. *Clin Exp Nephrol* **22**: 1088–1099, 2018.
- Jozsi M, Licht C, Strobel S, Zipfel SL, Richter H, Heinen S, Zipfel PF, Skerka C: Factor H autoantibodies in atypical hemolytic uremic syndrome correlate with CFHR1/CFHR3 deficiency. *Blood* **111**: 1512–1514, 2008.
- Bresin E, Rurali E, Caprioli J, Sanchez-Corral P, Fremeaux-Bacchi V, Rodriguez de Cordoba S, Pinto S, Goodship TH, Alberti M, Ribes D, Valoti E, Remuzzi G, Noris M, European Working Party on Complement Genetics in Renal Diseases: Combined complement gene mutations in atypical hemolytic uremic syndrome influence clinical phenotype. *J Am Soc*

- Nephrol **24**: 475–486, 2013.
- 18) Caprioli J, Noris M, Brioschi S, Pianetti G, Castelletti F, Bettinaglio P, Mele C, Bresin E, Cassis L, Gamba S, Porrati F, Bucchioni S, Monteferrante G, Fang CJ, Liszewski MK, Kavanagh D, Atkinson JP, Remuzzi G, International Registry of R, Familial HT: Genetics of HUS: The impact of MCP, CFH, and IF mutations on clinical presentation, response to treatment, and outcome. *Blood* **108**: 1267–1279, 2006.
 - 19) Roversi P, Johnson S, Caesar JJ, McLean F, Leath KJ, Tsiptsoglou SA, Morgan BP, Harris CL, Sim RB, Lea SM: Structural basis for complement factor I control and its disease-associated sequence polymorphisms. *Proc Natl Acad Sci U S A* **108**: 12839–12844, 2011.
 - 20) Matsumoto T, Fan X, Ishikawa E, Ito M, Amano K, Toyoda H, Komada Y, Ohishi K, Katayama N, Yoshida Y, Matsumoto M, Fujimura Y, Ikejiri M, Wada H, Miyata T: Analysis of patients with atypical hemolytic uremic syndrome treated at the Mie University Hospital: Concentration of C3 p.I1157T mutation. *Int J Hematol* **100**: 437–442, 2014.
 - 21) Matsumoto T, Toyoda H, Amano K, Hirayama M, Ishikawa E, Fujimoto M, Ito M, Ohishi K, Katayama N, Yoshida Y, Matsumoto M, Kawamura N, Ikejiri M, Kawakami K, Miyata T, Wada H: Clinical manifestation of patients with atypical hemolytic uremic syndrome with the C3 p.I1157T variation in the Kinki region of Japan. *Clin Appl Thromb Hemost* **24**: 1301–1307, 2018.
 - 22) Wu J, Wu YQ, Ricklin D, Janssen BJ, Lambris JD, Gros P: Structure of complement fragment C3b-factor H and implications for host protection by complement regulators. *Nature Immunology* **10**: 728–733, 2009.
 - 23) Forneris F, Wu J, Xue X, Ricklin D, Lin Z, Sfyroera G, Tzekou A, Volokhina E, Granneman JC, Hauhart R, Bertram P, Liszewski MK, Atkinson JP, Lambris JD, Gros P: Regulators of complement activity mediate inhibitory mechanisms through a common C3b-binding mode. *EMBO J* **35**: 1133–1149, 2016.
 - 24) Yoshida Y, Miyata T, Matsumoto M, Shirotani-Ikejima H, Uchida Y, Ohyama Y, Kokubo T, Fujimura Y: A novel quantitative hemolytic assay coupled with restriction fragment length polymorphisms analysis enabled early diagnosis of atypical hemolytic uremic syndrome and identified unique predisposing mutations in Japan. *PLoS One* **10**: e0124655, 2015.
 - 25) Schramm EC, Roumenina LT, Rybkine T, Chauvet S, Vieira-Martins P, Hue C, Maga T, Valoti E, Wilson V, Jokiranta S, Smith RJ, Noris M, Goodship T, Atkinson JP, Fremeaux-Bacchi V: Mapping interactions between complement C3 and regulators using mutations in atypical hemolytic uremic syndrome. *Blood* **125**: 2359–2369, 2015.
 - 26) Siomou E, Gkoutas A, Serbis A, Kollios K, Chaliasos N, Fremeaux-Bacchi V: aHUS associated with C3 gene mutation: A case with numerous relapses and favorable 20-year outcome. *Pediatr Nephrol* **31**: 513–517, 2016.
 - 27) Funato M, Uemura O, Ushijima K, Ohnishi H, Orii K, Kato Z, Yamakawa S, Nagai T, Ohara O, Kaneko H, Kondo N: A complement factor B mutation in a large kindred with atypical hemolytic uremic syndrome. *J Clin Immunol* **34**: 691–695, 2014.
 - 28) Roumenina LT, Jablonski M, Hue C, Blouin J, Dimitrov JD, Dragon-Durey MA, Cayla M, Fridman WH, Macher MA, Ribes D, Moulouguet L, Rostaing L, Satchell SC, Mathieson PW, Sautes-Fridman C, Loirat C, Regnier CH, Halbwachs-Mecarelli L, Fremeaux-Bacchi V: Hyperfunctional C3 convertase leads to complement deposition on endothelial cells and contributes to atypical hemolytic uremic syndrome. *Blood* **114**: 2837–2845, 2009.
 - 29) Imamura H, Konomoto T, Tanaka E, Hisano S, Yoshida Y, Fujimura Y, Miyata T, Nunoi H: Familial C3 glomerulonephritis associated with mutations in the gene for complement factor B. *Nephrol Dial Transplant* **30**: 862–864, 2015.
 - 30) Marinuzzi MC, Vergoz L, Rybkine T, Ngo S, Bettoni S, Pashov A, Cayla M, Tabarin F, Jablonski M, Hue C, Smith RJ, Noris M, Halbwachs-Mecarelli L, Donadelli R, Fremeaux-Bacchi V, Roumenina LT: Complement factor B mutations in atypical hemolytic uremic syndrome-disease-relevant or benign? *J Am Soc Nephrol* **25**: 2053–2065, 2014.
 - 31) Lemaire M, Fremeaux-Bacchi V, Schaefer F, Choi M, Tang WH, Le Quintrec M, Fakhouri F, Taque S, Nobili F, Martinez F, Ji W, Overton JD, Mane SM, Nurnberg G, Altmuller J, Thiele H, Morin D, Deschenes G, Baudouin V, Llanas B, Collard L, Majid MA, Simkova E, Nurnberg P, Rioux-Leclerc N, Moeckel GW, Gubler MC, Hwa J, Loirat C, Lifton RP: Recessive mutations in DGKE cause atypical hemolytic-uremic syndrome. *Nature Genetics* **45**: 531–536, 2013.
 - 32) Miyata T, Uchida Y, Ohta T, Urayama K, Yoshida Y, Fujimura Y: Atypical haemolytic uraemic syndrome in a Japanese patient with DGKE genetic mutations. *Thromb Haemost* **114**: 862–863, 2015.
 - 33) Ozaltin F, Li B, Rauhauser A, An SW, Soylemezoglu O, Gonul, II, Taskiran EZ, Ibsirlioglu T, Korkmaz E, Bilginer Y, Duzova A, Ozen S, Topaloglu R, Besbas N, Ashraf S, Du Y, Liang C, Chen P, Lu D, Vadnagara K, Arbuckle S, Lewis D, Wakeland B, Quigg RJ, Ransom RF, Wakeland EK, Topham MK, Bazan NG, Mohan C, Hildebrandt F, Bakkaloglu A, Huang CL, Attanasio M: DGKE variants cause a glomerular microangiopathy that mimics membranoproliferative GN. *J Am Soc Nephrol* **24**: 377–384, 2013.
 - 34) Zhu J, Chaki M, Lu D, Ren C, Wang SS, Rauhauser A, Li B, Zimmerman S, Jun B, Du Y, Vadnagara K, Wang H, Elhadi S, Quigg RJ, Topham MK, Mohan C, Ozaltin F, Zhou XJ, Marciano DK, Bazan NG, Attanasio M: Loss of diacylglycerol kinase epsilon in mice causes endothelial distress and impairs glomerular Cox-2 and PGE2 production. *Am J Physiol Renal Physiol* **310**: F895–908, 2016.
 - 35) Delvaeye M, Noris M, De Vriese A, Esmon CT, Esmon NL, Ferrell G, Del-Favero J, Plaisance S, Claes B, Lambrechts D, Zoja C, Remuzzi G, Conway EM: Thrombomodulin mutations in atypical hemolytic-uremic syndrome. *N Engl J Med* **361**: 345–357, 2009.
 - 36) Sugiyama S, Hirota H, Kimura R, Kokubo Y, Kawasaki T, Suehisa E, Okayama A, Tomoike H, Hayashi T, Nishigami K, Kawase I, Miyata T: Haplotype of thrombomodulin gene associated with plasma thrombomodulin level and deep vein thrombosis in the Japanese population. *Thromb Res* **119**: 35–43, 2007.
 - 37) Vieira-Martins P, El Sissy C, Bordereau P, Gruber A, Rosain J, Fremeaux-Bacchi V: Defining the genetics of thrombotic

- microangiopathies. *Transfus Apher Sci* **54**: 212–219, 2016.
- 38) Bu F, Maga T, Meyer NC, Wang K, Thomas CP, Nester CM, Smith RJ: Comprehensive genetic analysis of complement and coagulation genes in atypical hemolytic uremic syndrome. *J Am Soc Nephrol* **25**: 55–64, 2014.
- 39) Miyata T, Uchida Y, Yoshida Y, Kato H, Matsumoto M, Kokame K, Fujimura Y, Nangaku M: No association between dysplasminogenemia with p.Ala620Thr mutation and atypical hemolytic uremic syndrome. *Int J Hematol* **104**: 223–227, 2016.
- 40) Beck BB, van Spronsen F, Diepstra A, Berger RM, Komhoff M: Renal thrombotic microangiopathy in patients with cblC defect: Review of an under-recognized entity. *Pediatr Nephrol* **32**: 733–741, 2017.
- 41) Tadaka S, Katsuoka F, Ueki M, Kojima K, Makino S, Saito S, Otsuki A, Gocho C, Sakurai-Yageta M, Danjoh I, Motoike IN, Yamaguchi-Kabata Y, Shiota M, Koshiha S, Nagasaki M, Minegishi N, Hozawa A, Kuriyama S, Shimizu A, Yasuda J, Fuse N, Tohoku Medical Megabank Project Study G, Tamiya G, Yamamoto M, Kinoshita K: 3.5KJPNv2: An allele frequency panel of 3552 Japanese individuals including the X chromosome. *Hum Genome Var* **6**: 28, 2019.
- 42) Merinero HM, Garcia SP, Garcia-Fernandez J, Arjona E, Tortajada A, Rodriguez de Cordoba S: Complete functional characterization of disease-associated genetic variants in the complement factor H gene. *Kidney Int* **93**: 470–481, 2018.
- 43) Forneris F, Ricklin D, Wu J, Tzekou A, Wallace RS, Lambris JD, Gros P: Structures of C3b in complex with factors B and D give insight into complement convertase formation. *Science* **330**: 1816–1820, 2010.
- 44) Kajander T, Lehtinen MJ, Hyvarinen S, Bhattacharjee A, Leung E, Isenman DE, Meri S, Goldman A, Jokiranta TS: Dual interaction of factor H with C3d and glycosaminoglycans in host-nonhost discrimination by complement. *Proc Natl Acad Sci U S A* **108**: 2897–2902, 2011.
- 45) Xue X, Wu J, Ricklin D, Forneris F, Di Crescenzo P, Schmidt CQ, Granneman J, Sharp TH, Lambris JD, Gros P: Regulator-dependent mechanisms of C3b processing by factor I allow differentiation of immune responses. *Nat Struct Mol Biol* **24**: 643–651, 2017.
- 46) Vincent LM, Tran S, Livaja R, Benseid TA, Milewicz DM, Dahlback B: Coagulation factor V(A2440G) causes east Texas bleeding disorder via TFPIalpha. *J Clin Invest* **123**: 3777–3787, 2013.
- 47) Cunha ML, Bakhtiari K, Peter J, Marquart JA, Meijers JC, Middeldorp S: A novel mutation in the F5 gene (factor V Amsterdam) associated with bleeding independent of factor V procoagulant function. *Blood* **125**: 1822–1825, 2015.