

# COVID-19におけるTMA（血栓性微小血管症）

藤村吉博\*

## COVID-19-associated thrombotic microangiopathy (TMA)

Yoshihiro FUJIMURA

**Key words:** COVID-19, TMA, complement activation, VWF, endotheliopathy

### はじめに

2019年12月に武漢を起点として Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV2) パンデミックが始まったが、Coronavirus disease 2019 (COVID-19) 死亡原因として最も多いのが急性呼吸窮迫症候群 (acute respiratory distress syndrome: ARDS) とそれに伴う全身諸臓器の血栓症である。Tangら<sup>1)</sup>の初期報告では「死亡例の多くが汎発性血管内凝固 (DIC) の診断基準を満たす」とされたが、その後 McGonagleら<sup>2)</sup>は、かかる例の殆どは末期患者であり、経過中の病像はサイトカインストームまたはマクロファージ活性化症候群 (macrophage activation syndrome: MAS) に類似し、また血栓症が肺に比較的に限局していることより、肺性血管内凝固症 (pulmonary intravascular coagulopathy) という表現を用いた。この中で、肺小血管のfibrin血栓、高サイトカイン血症、高フェリチン血症、D-dimer高値、fibrinogen高値、血小板数軽度低下～略正常が指摘された。以後、剖検例の蓄積により、肺小血管にはfibrin (凝固) 血栓に加えて、血小板や巨核球を含む微小 (血小板) 血栓が示され、かかる血栓は、肺以外の、心臓、腎臓、肝臓にも発見され、血栓性微小血管症 (thrombotic microangiopathy: TMA) の特徴を持つことが示された<sup>3)</sup>。

TMAは、微小血管症性溶血性貧血、血小板減少、

臓器機能障害、を3主徴とする病理学的診断名であり、その代表には血栓性血小板減少性紫斑病 (thrombotic thrombocytopenic purpura: TTP) や、志賀毒素産生病原大腸菌 *E. coli* O:157 感染に合併する溶血性尿毒症症候群 (hemolytic uremic syndrome: HUS) があるが、これらのTTP/HUS典型例では血小板数は著減している<sup>4)</sup>。一方、COVID-19関連TMAでは血小板数は著減していないこと、また溶血性貧血が殆ど見られない点で、従来のTMAの概念とも少し異なっている。またCOVID-19重篤例は圧倒的に高齢者が多く、かかる患者では経過中に血漿 von Willebrand 因子 (VWF) が著増し、ADAMTS13活性が中等度に低下している。この所見は初期から知られていたが、炎症に伴う反応性のものと考えられ、血栓との関係は明瞭ではなかった。しかしその後、肺TMAの剖検例で肺毛細血管の異常な新生像が見られること、またこの傾向はICU入院期間が長い患者ほど顕著であることが示され、血管新生に関与する因子の一つとしてVWFが改めて注目されることになった<sup>5)</sup>。

重篤化した患者の多くが、高齢者、併存疾患 (糖尿病、高血圧、肥満、癌)、高サイトカイン血症、補体活性化、線溶亢進、VWF高値、血管走行異常、等の特徴を有し、「COVID-19の血栓合併症はサイトカインストームで惹起される血管内皮細胞障害 (endotheliopathy) に起因する」との考えが最近ほぼ定着した。この中で最も注目されるのが補体活性化である。本シリーズ前号では、血液凝固の面から射場先生ら<sup>6)</sup>が詳述されておられるので、本項では最近明らかにされた「補体活性化 - NETosis - 凝固血栓」の紹介と、今後の検証が必要であるが、これま

\*責任者連絡先:

奈良県立医科大学名誉教授 (輸血部気付)

〒634-8521 奈良県橿原市四条町840

Tel: 0744-22-3051, Fax: 0744-25-7657

E-mail: fujimurayoshihiro@gmail.com

表1 COVID-19凝固障害と他のTMAの比較 (Merrill, et al. (文献7), 著者翻訳)

特徴	COVID-19	CAPS*	HUS	aHUS	TTP又は自己免疫(SLE)TTP	DIC
微小血栓	有	有	有	有	有	有
多臓器障害	有	有	有	有	有	有
補体活性化	有	有	有	有	有	無
血小板減少	軽度	軽度	(数)低値	(数)低値	(数)極端に低値	(数)極端に低値
破碎赤血球	無	稀	有	有	有	有
神経症状	有	有	稀	稀	頻回	有
腎合併症	有	有	有	有	有	稀
胃腸管症状	有	有	有	有	有	稀
心臓合併症	有	有	稀	稀	有	稀
LDH高値	有	有	有	有	有	有
凝固時間延長	時々	時々	無	無	無	有
D-dimer高値	有	有	有	有	有	有
ループスアンチコア グジュラント/aPL	有, 要観察	有	稀	稀	有	稀
フィブリノゲン濃度	高値	正常	正常	正常	正常	低値
出血	無	無	無	無	稀	有
既感染との関係	有	時々	有	時々	稀	有
血漿フェレーシス/ 血漿交換の有効性	有, 要観察	有	有	有	有	非適用
治療	抗凝固療法, 可能であれば基礎疾患の治療, 補体活性阻害を標的にした治療, ステロイド, 他の免疫抑制療法, 血漿交換, IVIG					抗凝固療法, 基礎疾患の治療

CAPS\*劇症型抗リン脂質抗体症候群

での基礎研究から導かれた「補体活性化-VWF-血小板血栓」の構図について解説する。

## 1. COVID-19凝固障害症 (coagulopathy: 原文) と他のTMAの比較

2020年にMerrillら<sup>7)</sup>によって報告されたCOVID-19凝固障害症の代表的症状, 止血検査成績, そして血漿フェレーシス/血漿交換療法の有用性について, TMAや他の類似疾患との比較を表1に示す。

VWF-ADAMTS13軸のデータについては, イタリアのManciniら<sup>8)</sup>とPeyvandiら<sup>9)</sup>の個別報告の紹介に留めるが, 血漿VWF濃度は高濃度(268~476%), VWF propeptide (pp)は高値(156~172 IU/dL), 血

漿ADAMTS13活性は軽度低下(55~82%)で, 超高分子量(UL)-VWFマルチマー(M)の出現はなく, また高分子量(HMW)-VWFの割合はICU長期入院例で低下傾向を示した。このUL~HMW-VWFの低下はTMAで血小板凝集塊が形成される際に, その中に取り込まれて消費したか, 或いは重症例では体外式膜型人工肺(ECMO)を使用しており, この回路内で発生する高ずり応力下にADAMTS13で過剰切断された可能性が考えられる<sup>10)</sup>。また, VIII因子活性は208~302%とやはり高値であることを報告している。一方, 血管内皮細胞障害マーカーである可溶性(s)P-selectin, sThrombomodulin (sTHBD), sCD40LなどについてはGoshuaら<sup>11)</sup>が高値と報告し, さらに病状の悪化要因としてのサイトカインに

については Arulkumaran ら<sup>12)</sup> が TNF $\alpha$ , IL-6, IL-10 は高値, IL-1b は正常との報告を行なった. これらサイトカインは SARS-CoV2 感染により, 肺胞レジデント細胞や流血中の白血球やマクロファージから直接的, 間接的に放出されたものと考えられている (後述).

## 2. COVID-19 と肺巨核球症 (megakaryocytopathy)

莖膜 RNA ウイルスである SARS-CoV2 は表面に Spike (S) タンパク質を持つ. S タンパク質は宿主の持つ serine protease (TMPRSS2) で切断され, S1 と S2 部分になり, S1 部分で宿主の angiotensin-converting enzyme (ACE) 2 に結合し, その後 S2 部分で宿主細胞と融合して感染が成立する<sup>13)</sup>. ACE2 分布が相対的に多い器官として, mRNA レベルで肺, 心臓, 大動脈, 腸管 (十二指腸, 小腸, 回腸), 腎臓 (尿細管), リンパ球・節, 精巣, 卵巣, 唾液腺, 乳腺, 脳組織 (扁桃腺, 大脳皮質, 脳幹) などが報告されている<sup>14)</sup>.

2020年7月, ドイツの Ackermann ら<sup>5)</sup> は ARDS で死亡した COVID-19 患者 7 例の剖検で, 肺胞細胞の広範壊死, type 2 肺胞細胞の過形成, 肺胞内の fibrin 沈着, CD4-T 細胞の浸潤顕著, しかし CD8-T 細胞浸潤は軽度という報告をした. 7 例中 4 例で, 直径 1~2 mm の肺小動脈に不完全閉塞のヒアリン血栓も観察された. 血管走行は乱れており, その内径も様々で, 嵌入型血管新生 (intussusceptive angiogenesis) という特徴的な血管走行異常も見られた. かかる血管の変化は ICU での入院期間が長い患者ほど顕著であった. また米国の Fox ら<sup>15)</sup> は ARDS で死亡した 10 名のアフリカ系アメリカ人の剖検で, やはり多数の肺小動脈内血栓があり, これらは fibrin の他に, CD61 陽性を示す血小板と巨核球も含んでいること, そして VWF 免疫染色も陽性であることを報告した. このような巨核球を含む血小板血栓は Rapkiewicz ら<sup>16)</sup> によって, 肺のほか心臓の微小血管でも示され, これらの患者では骨髄での巨核球造血も亢進していた. かかる病態は巨核球症 (megakaryocytopathy) と表現されている. 循環血中の血小板数が著減することなく, 主に肺に限局した血小板血栓が形成され

る原因は不明であるが, 近年の肺レジデント巨核球についての基礎研究結果から以下のような推論ができる.

即ち, 約半世紀前からヒト肺に巨核球が存在することが知られていたが, その役割は不明であった. 2017年に米国の Lefrançois ら<sup>17)</sup> は, マウスを用いた画期的な成果を報告した. これによると, マウスの循環血中の血小板はその半数が肺で, そして残り半数が骨髄で作られているという. しかも, 巨核球の前駆細胞も肺にあり, これらの細胞は骨髄と肺を自在に交通していた. この交通はヒトにおいては未だ確認されていないが, 前記のような COVID-19 死亡例の肺血栓に見られる巨核球や血小板, そして破壊された肺胞組織周辺に巨核球の裸核が多く見られることより, 肺での血小板血栓形成にこれらのレジデント巨核球や血小板が関与することが強く疑われている. また, SARS-CoV2 受容体の ACE2 は巨核球や血小板には発現していないが, 死亡例の肺組織の電顕写真で同ウイルス粒子が巨核球内に存在することが確認されており, また血小板内に同ウイルス RNA 断片も同定されているので, 巨核球への SARS-CoV2 感染は ACE2 以外の経路の存在も考えられているが, 巨核球自らが細胞内細胞貫入現象 (emperipolesis) を示すので, 感染した他細胞を取り込んだ結果との考えもある<sup>18)</sup>. これらの解明は今後の課題となっている.

## 3. COVID-19 に伴う補体活性化と血管内皮細胞障害

補体は病原体に対する opsonin 効果, anaphylatoxin (C3a や C5a) 産生を通じて白血球の活性化や局所への動員, また補体活性化 cascade の最終産物として膜障害性複合体 (membrane attack complex: MAC/C5b-9) を形成し, 細胞や微生物の破壊を行う. この補体活性化には, 古典経路, レクチン経路, そして第二経路 (alternative pathway: AP) といった 3 経路があり, 古典経路は抗体産生と結合を通じて, またレクチン経路は病原体の構成成分の mannose を認識する MBP などのレクチンが結合することによって補体活性化が始まる. この両活性化反応において,

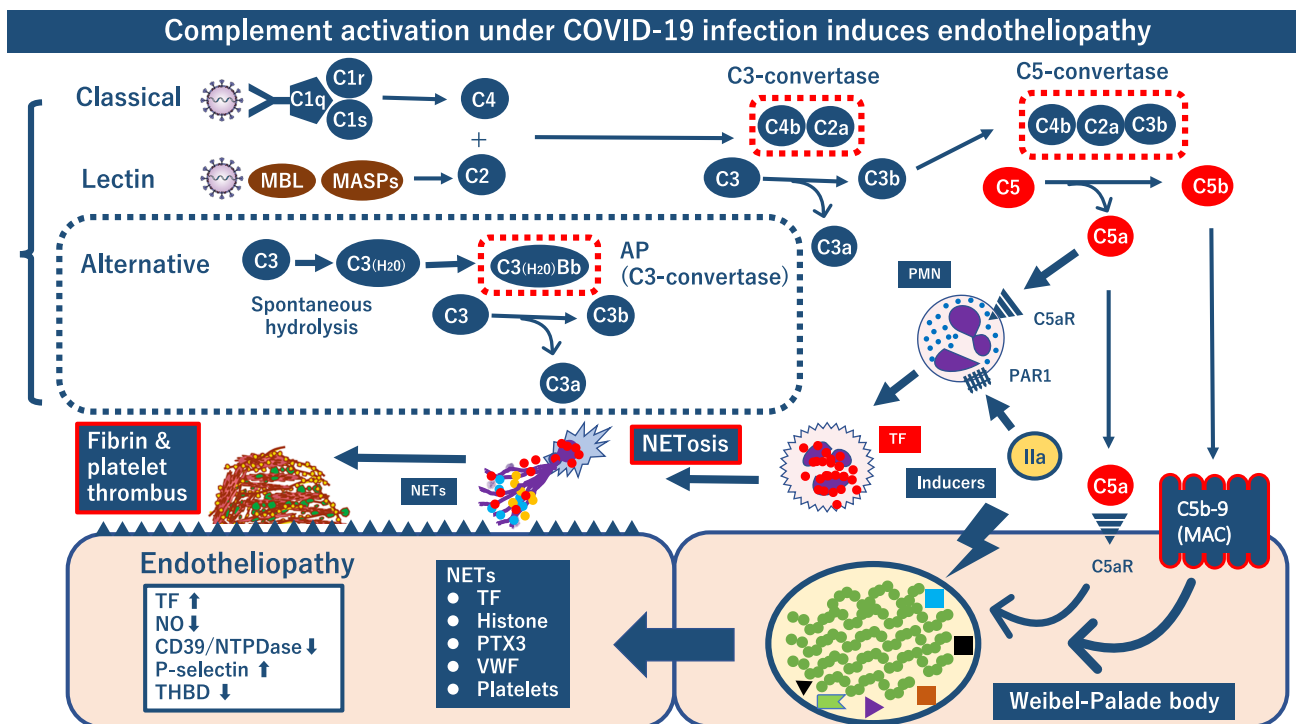


図1 SARS-CoV2 感染時、古典及びレクチン経路活性化を経て、NETosisによって形成される（凝固）血栓（Skendrosら（文献20）を参考に筆者作成）。

SARS-CoV2 感染時、抗体産生を通じて発動される古典経路は補体活性化が開始されるまでに一定の期間が必要である。一方、レクチン経路はSARS-CoV2と即座に反応する。生じたC5aは直接的に血管内皮細胞を障害するが、同時に好中球（PMN）を刺激し、同球内の組織因子（TF）を増生する。このTFを含むNETsが大量に放出されると凝固血栓ができる。NETsの主構成成分であるDNA繊維にはTFの他、histone、PTX3などが結合しており、その他、血小板やVWFも結合するので、凝固（fibrin）血栓の他に、混合型の血小板血栓もできる。Endotheliopathyを起した細胞表面の抗血栓機能は低下する（TF↑、NO↓、CD39↓、P-selectin↑、THBD↓）（本文参照）。

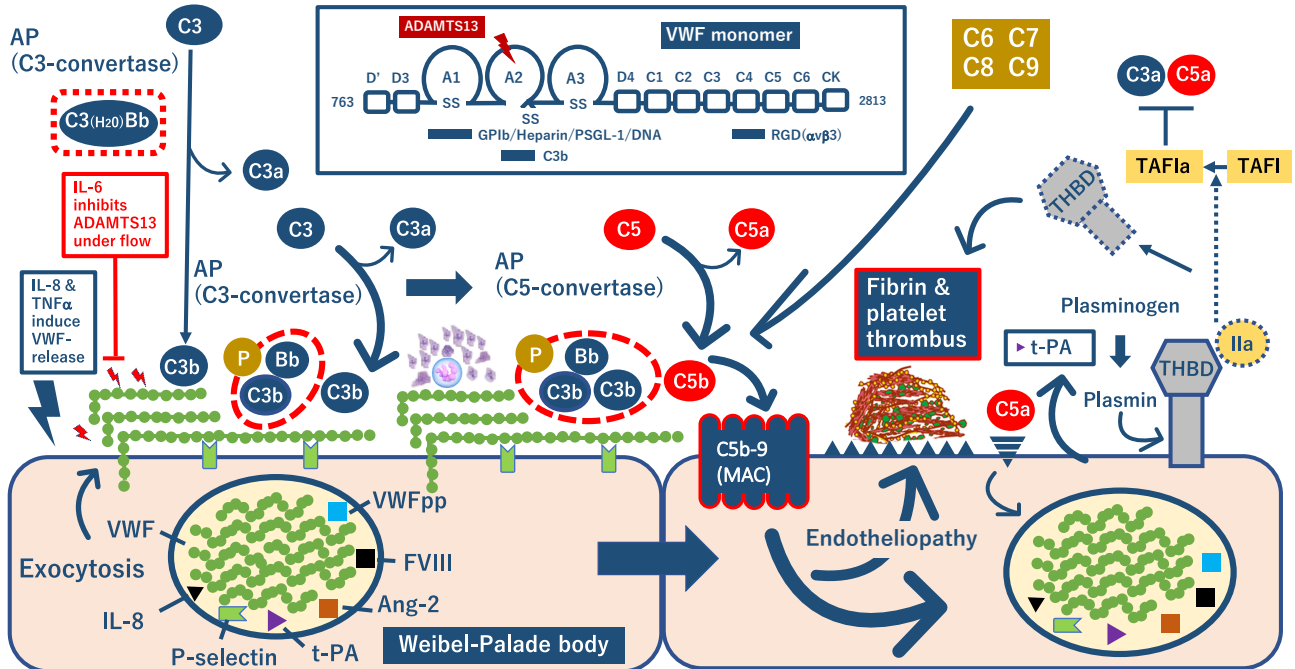
中心となるC3転換酵素（convertase）はC4bC2aである。一方、第二経路は病原体の認識機構を持たず、常時C3が低レベルでH<sub>2</sub>Oと反応して加水分解し、C3（H<sub>2</sub>O）を産生して活性化するという特徴を持つ（tick over）<sup>19)</sup>（図1）。このAP活性化過程で生ずるC3-convertaseはC3bBbで、古典/レクチン経路のものとは異なる（図2）。しかし、いずれの経路の補体活性化であっても、この制御が適切に行われないう状況下では血管内皮細胞障害（endotheliopathy）など、生体に重篤な影響を及ぼす。

#### 1) 古典及びレクチン経路を経て、NETosisによって形成される凝固血栓（図1）

最近Skendrosら<sup>20)</sup>らによって報告された結果に基づいて解説する。彼らはSARS-CoV2感染に伴う強力なサイトカインストームの併存が補体活性化の

引き金になることを前提としている。実際、前記の補体活性化3経路の中で、古典経路は抗体産生を通じて発動されるので発症までに一定の期間が必要であるが、サイトカインストームと血栓症はその前に生じる例も多く、本血栓症における古典経路の役割は定かではないとしている。一方、レクチン経路はSARS-CoV2と即座に反応し、これにてC5aの産生を通じて好中球を活性化する。そこで彼らはまず、COVID-19血栓症の患者血液を用いて、NETs（neutrophil extracellular traps）、組織因子（tissue factor: TF）、TAT複合体、そして可溶性（s）C5b-9（MAC）の定量を行い、これら全てが著増していることを確認した。次に培養ヒト大動脈血管内皮細胞（HAEC）を用いた*ex vivo*実験結果より、SARS-CoV2感染に伴う補体活性化にてC5aが産生され、「C5aで活性化

## Alternative pathway under COVID-19 infection mediates TMA



**図2** SARS-CoV2 感染時、補体第二経路は血管内皮細胞表面に固相化された UL-VWFM を反応場として活性化し、(血小板) 血栓を生じる (筆者作成)。

炎症性サイトカインの IL-8 や TNF $\alpha$  は血管内皮細胞を刺激し、同細胞内小器官である Weibel-Palade 体の exocytosis を惹起して UL-VWFM 放出を促す。一方、IL-6 単独では高ずり応力下に ADAMTS13 活性を阻害する<sup>22)</sup>。その結果、ADAMTS13/VWF 活性比は極端に低下し、微小環境下では局所的 ADAMTS13 活性著減状態を作ると考えられている。

第二経路の C3b は tick over にて絶えず産生 (図 1) されており、また C3b と UL-VWFM は高ずり応力下で結合するので、刺激により血管内皮細胞表面に放出され固相化された UL-VWFM を反応場として活性化反応が進む。最終産物である C5b-9 は内皮細胞障害を惹起し、一方で固相化 UL-VWFM には直接血小板が結合するので、この 2 つの機構で血小板血栓が誘導され、この中に (肺) 巨核球も巻き込まれる。WPB には VWF の他、IL-8、P-selectin、t-PA、Ang-2、FVIII、そして VWFpp が含まれている。t-PA は plasmin 生成を介して THBD の切断 (shedding) を行い、凝固 (fibrin) 血栓を誘導する。Ang-2 が放出されると、血管新生が起こるが、VEGFR2 など他の血管新生因子との協調性がうまくゆかず脆弱な血管形成に留まる<sup>26-28)</sup>。(挿入図は A1-A2-A3 ループ構造を持つ VWF 単体と主たる機能ドメインを示す。p-selectin glycoprotein ligand-1: PSGL-1<sup>34)</sup>, DNA<sup>21)</sup>) (本文参照)

された好中球内で TF が産生され、これを含む NETs が大量に放出されることによって血栓ができる」とのシナリオを報告した。実際、NETs の主構成成分である DNA 繊維<sup>21)</sup>には TF, histone, PTX3 (pentraxin3) などが結合しており、これには血小板や VWF も結合するので、凝固 (fibrin) 血栓ができるが、同時に血小板血栓もできる混合型血栓であると説明できる。彼らは、さらに C5a, C5b, そして MAC (C5b-9) 形成を経由する endotheliopathy についても述べているが、これは下記の第二経路の項で説明する。

### 2) 第二経路で、血管内皮細胞表面の固相化 UL-VWFM を反応場として形成される血小板血栓 (図 2)

COVID-19 血栓症において、第二経路の関与の重要性は最近多くの研究者が指摘しているが、その機構の詳細な説明は未だ十分ではない。そこで、これ迄の歴史的経過を振り返って検証することにした。

シナリオの発端は 1985 年の Sadler ら<sup>22)</sup> の VWF cDNA cloning に始まる。彼らは VWF の A ドメインが補体 FB とアミノ酸配列相同性があることを報告し、FB は C3b と結合することから、補体と VWF の

関係に注目した。次に、2004年頃から培養ヒト臍帯血管内皮細胞 (Human Umbilical Vein Endothelial Cells: HUVECs) を用いた *ex vivo* のフロー環境下での血小板血栓測定装置が開発され、ずり応力依存性の血小板粘着や凝集反応がリアルタイムで観察できるようになった。この測定系で、HUVECsをヒスタミン刺激すると、ADAMTS13非存在下では、UL-VWFMが細胞外に放出されるが、同時に放出されるP-selectinを錨として、UL-VWFMは細胞表面に紐状に固相化され、ADAMTS13存在下ではこれが瞬時に切断されることが示された。

この測定系を用い、Bernardoら<sup>23)</sup>は、炎症性サイトカイン3種 (TNF $\alpha$ , IL-8, IL-6) に注目し、TNF $\alpha$ とIL-8, そしてIL-6とその可溶性受容体 (sIL-6R) の複合体は、HUVECからのUL-VWFM放出の誘導物質として働くが、一方で、IL-6単独はフロー下でADAMTS13活性を阻害することを示した。これにて、これら3種のサイトカインが同時に存在する環境下 (例: サイトカインストーム) では生物学的活性の高いUL-VWFMが血管内皮細胞表面に蓄積され、同細胞表面が易血小板血栓形成の反応の場となることが示唆された。

その後、非典型HUS (aHUS) が補体及び補体制御因子の異常で起こることが明らかにされたが、ここで、前記のVWF-Aドメインと補体FBのアミノ酸配列相同性が見直され、2013年Turnerら<sup>24)</sup>は上記フロー測定系を用いて、ヒスタミン刺激したHUVECから放出されたUL-VWFMに、多くの補体及びその制御因子が結合することを示した。これらはC3, FB, Factor D (FD), Factor P (properdin), C5, Factor H (FH), Factor I (FI) であった。興味あることにC4のみはUL-VWFMに結合しないことが確認された。即ち、古典/レクチン経路は活性化に際しC3-及びC5-convertaseを形成するにはC4bが必須であるが、第二経路はこれを必要としないので、VWF依存性補体活性化の存在を仮想すれば、この第二経路が反応の場として重要と考えられた。さらに、2017年にBettoniら<sup>25)</sup>は遺伝性ADAMTS13活性欠損症である先天性TTP患者の血中sC5b-9 (sMAC) を測定し、急性期には高値で寛解期には低下することを発見した。この所見を *ex vivo* で再現する過程で、彼らは活

性補体C3bが特異なループ構造を持つVWF-A2ドメインに結合することを示した。このC3bは静止系液相では非活性型VWF (球型) に結合しないが、化学還元したVWF単体や遺伝子発現VWF-A2とは結合することから、VWFの立体構造に依存した結合反応という特性を示した。一方、SARS-CoV2感染ではVWF量は著増し、ADAMTS13活性は軽度低下を示すが、この低下は消耗性と考えられている。これにてADAMTS13/VWF活性比は著しく低下するが、さらに前記の炎症性サイトカイン (TNF $\alpha$ とIL-8, そしてIL-6) が存在すると、その活性比は極端に低下し、微小環境下では局所的ADAMTS13活性著減状態を構築すると考えられている。

これらの研究成果をもとに、VWF依存性の第二経路活性化機構を図2に従って説明する。即ち、SARS-CoV2の生体侵入経路は気道から肺胞に至り、肺胞細胞や同レジデント細胞に感染し傷害する。これを受けマクロファージ、CD4-T細胞からは直接また好中球を介して間接的に様々な炎症性サイトカインが放出されるが、特に、IL-8, TNF $\alpha$ , そしてIL-6+同可溶性受容体 (sIL-6R) などは血管内皮細胞を刺激し、同細胞内小器官であるWeibel-Palade体 (WPB) からUL-VWFMの放出を促す。この放出は開口分泌 (exocytosis) と呼ばれ、細胞表面から内容物を血管腔内に放出するが、UL-VWFMは同時に内皮細胞表面に移動したP-selectinを錨として細胞表面に係留され、これが血流のずり応力を受けて進展構造となり、VWFの3ループドメイン (A1-A2-A3) は分子表面に露出する。VWF-A1ループは血小板GPIb結合ドメイン、そしてVWF-A2ループにはADAMTS13切断部位と共にC3b結合ドメインがある。このVWF-A2ドメインとC3b結合は親和性が強く、一旦結合すると、その立体構造が変化して、補体調節因子であるFHやFIとの反応が減弱すると説明されている。即ち、UL-VWFMに結合したC3bにはproperdin (P) 及びFB由来のBbが結合し、UL-VWFM上でAP (C3-convertase) (C3bBb) が形成される。この後、AP (C5-convertase) (C3bBbC3b) が形成され、さらにC6~C9を結合し、最終的にC5b-9 (MAC) となり、これが血管内皮細胞障害を引き起こす。

UL-VWFMはWPBの主要構成成分であるが、こ

れ以外に IL-8, angiopoietin-2 (Ang-2), t-plasminogen activator (t-PA) などが含まれている<sup>26)</sup>。IL-8 放出は UL-VWFM 放出の自己増幅を行い、細胞膜上の UL-VWFM と C3b 結合を促進する。また血小板血栓形成も促す。t-PA 放出は plasmin 形成を通じて、血管内皮細胞表面の thrombomodulin (THBD) を切断する。THBD は thrombin と結合し、thrombin を不活化すると共に、THBD-thrombin 複合体は TAFI を TAFIa (carboxypeptidase B) に活性化し、TAFIa は C3a, C5a を分解し不活性化する。これより THBD が切断 (shedding) されることより、血管内皮細胞の持つ「抗血栓機能」は低下して「向血栓機能」に転じる。また同時放出される Ang-2 は本来、VEGFR2 シグナルと協調し血管内皮細胞の増生と移動を促し、VWF は  $\alpha\beta 3$  を介して血管平滑筋の成長を促すが、この両シグナルの均衡が崩れると、脆弱な血管が形成されると説明できる<sup>27,28)</sup>。

## おわりに

COVID-19 の治療は抗ウイルス剤、ワクチンが注目されているが、感染回復期血漿<sup>29)</sup> や抗サイトカイン受容体 (IL-6R) 抗体療法<sup>30)</sup> の効用も限定的ではあるが示された。また、これまで COVID-19 関連血栓症の治療にヘパリン使用が推奨されているが、ヘパリンは凝固阻止作用と共に、VWF-A1 ループドメイン<sup>31)</sup> に結合し、VWF の血小板 GPIb への結合を阻害する作用<sup>32)</sup> もあり、結果的に VWF 依存性血小板凝集を阻害することは銘記すべきである。また少数例ではあるが重症者に対する血漿交換療法の成功例<sup>12)</sup> や、より新しくは抗補体 (抗 C5 抗体など) 療法の成果<sup>33)</sup> も報告されるようになった。これらの治療成績は本項で紹介したシナリオと矛盾のないものであるが、治療の最終目標は血管内皮細胞の恒常性 (ホメオスターシス) の回復と思われる。今後の展開を見守りたい。

著者の利益相反 (COI) の開示：

役員・顧問職・社員など (日本赤十字社)、特許使用料 (アルフレッサ)、その他の報酬 (Alexion, シスメックス, TAKEDA, カイノス)

## 文献

- 1) Tang N, Li D, Wang X, Sun Z: Abnormal coagulation parameters are associated with poor prognosis in patients with novel coronavirus pneumonia. *Thromb Haemost* **4**: 844–847, 2020.
- 2) McGonagle D, O'Donnell JS, Sharif K, Emery P, Bridgewood C: Immune mechanisms of pulmonary intravascular coagulopathy in COVID-19 pneumonia. *Lancet Rheumatol* **7**: e437–e445, 2020.
- 3) Menter T, Haslbauer JD, Nienhold R, Savic S, Hopfer H, Deigendesch N, Frank S, Turek D, Willi N, Pargger H, Bassetti S, Leuppi JD, Cathomas G, Tolnay M, Mertz KD, Tzankov A: Postmortem examination of COVID-19 patients reveals diffuse alveolar damage with severe capillary congestion and variegated findings in lungs and other organs suggesting vascular dysfunction. *Histopathology* **2**: 198–209, 2020.
- 4) 松本雅則：TMA の分類と診断。血栓止血誌 **31**: 3–6, 2020.
- 5) Ackermann M, Verleden SE, Kuehnel M, Haverich A, Welte T, Laenger F, Vanstapel A, Werlein C, Stark H, Tzankov A, Li WW, Li VW, Mentzer SJ, Jonigk D: Pulmonary vascular endothelialitis, thrombosis, and angiogenesis in Covid-19. *N Engl J Med* **383**: 120–128, 2020.
- 6) 射場 敏明, 比企 誠：COVID-19 における凝固異常と血栓症。血栓止血誌 **31**: 600–603, 2020.
- 7) Merrill J, Erkan D, Winakur J, James JA: Emerging evidence of a COVID-19 thrombotic syndrome has treatment implications. *Nat Rev Rheumatol* **16**: 581–589, 2020.
- 8) Mancini I, Baronciani L, Artoni A, Colpani P, Biganzoli M, Cozzi G, Novembrino C, Anzoletti MB, Zan VD, Pagliari MTi, Gualtierotti R, Aliberti S, Panigada M, Grasselli G, Blasi F, Peyvandi F: The ADAMTS13-von Willebrand factor axis in COVID-19 patients. *J Throm Hemost* **23**: 10.1111/jth.15191, 2020.
- 9) Peyvandi F, Artoni A, Novembrino C, Aliberti S, Panigada M, Boscarino M, Gualtierotti R, Rossi F, Palla R, Martinelli I, Grasselli G, Blasi F, Tripodi A: Hemostatic alterations in COVID-19. *Haematologica* 2020 Aug 27. doi: 10.3324/haematol.2020.262634.
- 10) Hayakawa M, Takano K, Kayashima M, Kasahara K, Fukushima H, Matsumoto M: Management of a COVID-19 patient during ECMO: Paying attention to acquired von Willebrand syndrome. *J Atheroscler Thromb* 2020 Oct 28. doi: 10.5551/jat.58362.
- 11) Goshua G, Pine AB, Meizlish ML, Chang CH, Zhang H, Bahel P, Baluha A, Bar N, Bona RD, Burns AJ, Dela Cruz CS, Dumont A, Halene S, Hwa J, Koff J, Menninger H, Neparidze N, Price C, Siner JM, Tormey C, Rinder HM, Chun HJ, Lee AI: Endotheliopathy in COVID-19-associated coagulopathy: Evidence from a single-centre, cross-sectional study. *Lancet Haematology* **8**: e575–e582, 2020.
- 12) Arulkumaran N, Thomas M, Brealey D, Alwan F, Singh D, Lunn M, Welch A, Clark S, Raith E, Reddy U, Low R, Leverett D, Singer M, Scully M: Plasma exchange for COVID-19 thrombo-inflammatory disease. *EJHaem* **30**: 10.1002/jha2.140, 2020.
- 13) Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, Krüger N, Herrler T, Erichsen S, Schiergens TS, Herrler G, Wu NH, Nitsche A, Müller MA, Drosten C, Pöhlmann S: SARS-CoV-2

- cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor. *Cell* **181**: 271–280, 2020.
- 14) Lukiw WJ, Pogue A, Hill JM: SARS-CoV-2 Infectivity and neurological targets in the brain. *Cell Mol Neurobiol* **25**: 1–8, 2020.
  - 15) Fox SE, Akmatbekov A, Harbet JL, Li Guang, Brown JQ, Vander Heide RS: Pulmonary and cardiac pathology in African American patients with COVID-19: An autopsy series from New Orleans. *Lancet* **7**: 681–686, 2020.
  - 16) Rapkiewicz AV, Mai X, Carson SE, Pittaluga S, Kleiner DE, Berger JS, Thomas S, Adler NM, Charytan DM, Gasmi B, Hochman JS, Reynolds HR: Megaloryocytes and platelet fibrin thrombi characterize multi-organ thrombosis at autopsy in CPVID-19: A case series. *EClinicalMedicine* **24**: 100434, 2020.
  - 17) Lefrançois E, Ortiz-Muñoz G, Caudrillier A, Mallavia B, Liu F, Sayah DM, Thornton EE, Headley MB, David T, Coughlin SR, Krummel MF, Leavitt AD, Passetué E, Looney MR: The lung is a site of platelet biogenesis and a reservoir for haematopoietic progenitors. *Nature* **544**: 105–109, 2017.
  - 18) Gu SX, Tyagi T, Jain K, Gu V, Hee-Lee S, Hwa JM, Kwan JM, Krause DS, Lee A, Halene S, Martin KA, Chun HJ, Hwa J: Thrombocytopeny and endotheliopathy: Crucial contributors to COVID-19 thromboinflammation. *Nat Rev Cardiol* **2020**. s41569-020-00469-1.
  - 19) 加藤規利, 立奈良崇, 丸山彰一: aHUSの病態と臨床. *血栓止血誌* **31**: 45–54, 2020.
  - 20) Skendros P, Mitsios A, Chrysanthopoulou A, Mastellos DC, Metallidis S, Rafailidis P, Ntinopoulou M, Sertaridou E, Tsironidou V, Tsigalou C, Tektonidou M, Konstantinidis T, Papagoras C, Mitroulis I, Germanidis G, Lambris JD Ritis K: Complement and tissue factor-enriched neutrophil extracellular traps are key drivers in COVID-19 immunothrombosis. *J Clin Invest* **130**: 6151–6157, 2020.
  - 21) Grässle S, Huck V, Pappelbaum KI, Gorzelanny C, Aponte-Santamaría C, Baldauf C, Gräter F, Schneppenheim R, Obser T, Schneider SW: Von Willebrand factor directly interacts with DNA from neutrophil extracellular traps. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **34**: 1382–1389, 2014.
  - 22) Sadler JE: The molecular biology of human von Willebrand factor, in Zimmerman TS, Ruggeri ZM (eds): *Coagulation and bleeding disorders: The role of factor VIII and von Willebrand factor*. Marcel-Dekker Inc., 1989, 117–135.
  - 23) Bernardo A, Ball C, Nolasco L, Moake JF, Dong J-F: Effects of inflammatory cytokines on the release and cleavage of the endothelial cell-derived ultralarge von Willebrand factor multimers under flow. *Blood* **104**: 100–106, 2004.
  - 24) Turner NA, Moake J: Assembly and activation of alternative complement components on endothelial cell-anchored ultralarge von Willebrand factor links complement and hemostasis-thrombosis. *PLoS One* **8**: e59372, 2013.
  - 25) Bettoni S, Galbusera M, Gastoldi S, Donadelli R, Tentori C, Sparta G, Bresin E, Mele C, Alberti M, Tortajada A, Yebenes H, Remuzzi G, Noris M: Interaction between multimeric von Willebrand factor and complement: A fresh look to pathophysiology of microvascular thrombosis. *J Immunology* **199**: 1021–1040, 2017.
  - 26) van Mourik JA, Romani de Wit T, Voorberg J: Biogenesis and exocytosis of Weibel-Palade bodies. *Histochem Cell Biol* **117**: 113–122, 2002.
  - 27) Starke R, Ferraro F, Paschalaki KE, Dryden N, McKinnon TAJ, Sutton RE, Payne EM, Haskard DO, Hughes AD, Cuyler DF, Laffan MA, Randi A: Endothelial von Willebrand factor regulates angiogenesis. *Blood* **117**: 1071–1080, 2011.
  - 28) Randi AM, Laffan MA: von Willebrand factor and angiogenesis: Basic and applied issues. *J Thromb Haemost* **15**: 13–20, 2017.
  - 29) Libster R, Marc GP, Wappner D, Coviello S, Bianchi A, Braem V, Esteban I, Caballero MT, Wood C, Berrueta M, Rondan A, Lescano G, Cruz P, Ritou Y, Viña F, Paggi DA, Esperante S, Ferreti A, Gastón Ofman, Álvaro Ciganda ÁI, Rodríguez R, Lantos J, Valentini R, Itcovici N, Hintze A, Oyarvide ML, Etchegaray C, Neira A, Name I, Alfonso J, Castelo RL, Caruso G, Rapelius S, Alvez F, Etchenique F, Dimase F, Alvarez D, Aranda SS, Yanotti CS, De Luca J, Baglivo SJ, Laudanno S, Nowogrodzki F, Larrea R, Silveyra M, Leberzstein G, Debonis A, Molinos A, González M, Perez E, Kreplak N, Argüello SP, Gibbons L, Althabe F, Bergel E, and Polack FP, for the Fundación INFANT–COVID-19 Group: Early high-titer plasma therapy to prevent severe Covid-19 in older adults. *N Engl J Med* **384**: 610–618, 2021.
  - 30) Xu X, Han M, Li T, Sun W, Wang D, Fu B, Zhou Y, Zheng X, Yang Y, Li X, Zhang Z, Pan A, Wei H: Effective treatment of severe COVID-19 patients with tocilizumab. *Proc Natl Acad Sci U S A* **117**: 10970–10975, 2020.
  - 31) Fujimura Y, Titani K, Holland LZ, Roberts JR, Kostel P, Ruggeri ZM, Zimmerman TS: A heparin-binding domain of human von Willebrand factor. Characterization and localization to a tryptic fragment extending from amino acid residue Val-449 to Lys-728. *J Biol Chem* **262**: 1734–1739, 1987.
  - 32) Sobel M, McNeill PM, Carlson PL, Kenmode JC, Adelman B, Conroy R, Marques D: Heparin inhibition of von Willebrand factor-dependent platelet function in vitro and in vivo. *J Clin Invest* **87**: 1787–1793, 1991.
  - 33) Annane D, Heming N, Grimaldi-Bensouda L, Frémeaux-Bacchi V, Vigan M, Roux AL, Marchal A, Michelon H, Rottman M, Moine P; Garches COVID 19 Collaborative Group: Eculizumab as an emergency treatment for adult patients with severe COVID-19 in the intensive care unit: A proof-of-concept study. *EClinicalMedicine* **28**: 100590, 2020.
  - 34) Pendu R, Terraube V, Christophe OD, Gahmberg CG, de Groot PG, Lenting PJ, Denis CV: P-selectin glycoprotein ligand 1 and 2-integrins cooperate in the adhesion of leukocytes to von Willebrand factor. *Blood* **108**: 3746–3752, 2006.