

学位論文  
Doctor's Thesis

心房細動患者における血漿フォン・ヴィレブランド因子・ADAMTS13  
濃度の変動と心房リモデリングとの関連についての検討

(Association Between Changes in Plasma Von Willebrand Factor,  
ADAMTS13 Levels and Left Atrial Remodeling in Atrial Fibrillation)

上村 孝史

Takashi Uemura

熊本大学大学院医学教育部博士課程臨床医科学専攻循環器病態学

指導教員

小川 久雄 教授

熊本大学大学院医学教育部博士課程臨床医科学専攻循環器病態学

2009年3月

# 学 位 論 文

## Doctor's Thesis

論文題名 : 心房細動患者における血漿フォン・ヴィレブランド因子・ADAMTS13  
濃度の変動と心房リモデリングとの関連についての検討

(Association Between Changes in Plasma Von Willebrand Factor,  
ADAMTS13 Levels and Left Atrial Remodeling in Atrial Fibrillation)

著 者 名 : 上 村 孝 史

Takashi Uemura

指導教員

小 川 久 雄 教 授

審査委員名 : 病態情報解析学分野担当教授 安東 由喜雄 教授

心臓血管外科学担当教授 川筋 道雄 教授

分子遺伝学担当教授 尾池 雄一 教授

代謝内科学担当教授 荒木 栄一 教授

2009年3月

## 目次

1. 要旨	1-3
2. 発表論文リスト	4-5
3. 謝辞	6
4. 略語一覧	7
5. 研究の背景と目的	8-16
6. 研究方法	17-18
7. 研究結果	19-23
8. 考察	24-26
9. 結語	27
10. 文献	28-34

## 1. 要旨

[ 目的 ] 心房細動はその不整脈自体も問題であるが、脳梗塞の重要な risk factor の1つであることが知られている。フォン・ヴィレブランド因子 (VWF) は損傷された内皮細胞から放出され、血小板の凝集に重要な役割を果たしている。これまでのいくつかの報告により、心房細動では洞調律に比べ VWF が上昇していることが報告されており、VWF は心房細動における血栓塞栓症発症のリスクと関連する有用なマーカーとして考えられている。近年、VWF マルチマーを特異的に切断する酵素である ADAMTS13 (A Disintegrin-like domain And Metalloprotease with Thrombospondin type I motif) が同定され、我々は過去に、急性心筋梗塞急性期において血漿中の VWF 濃度が上昇し、ADAMTS13 濃度が減少していることを報告し、さらに VWF/ADAMTS13 比が急性心筋梗塞後の長期的な血栓性イベント発症の予測因子として有用であることを報告した。しかし、心房細動における ADAMTS13 の役割については、これまで報告がない。本研究の目的は心房細動における VWF・ADAMTS13 の動態、及びそれらに関与する因子について検討することにある。

[ 方法 ] 70 例の発作性心房細動患者 (PAF)・56 例の慢性心房細動患者 (CAF)、および 55 例の対象患者 (control) における血漿中の VWF・ADAMTS13 濃度を ELISA 法にて測定した。

[ 結果 ] 血漿 VWF 濃度 (mU/ml) は control 群に比べて CAF 群・PAF 群において有意に高値を示し ( $2103 \pm 743$ ,  $1930 \pm 676$ ,  $1532 \pm 555$ ,  $P < 0.0001$  in CAF vs. control,  $P = 0.001$  in PAF vs. control)、一方、血漿 ADAMTS13 濃度 (mU/ml) は control 群に比べて CAF 群・PAF 群において有意に低値を示した ( $795 \pm 169$ ,  $860 \pm 221$ ,  $932 \pm 173$ ,  $P = 0.0002$  in CAF vs. controls,  $P = 0.04$  in PAF vs. control)。さらに、VWF/ADAMTS13 比は CAF 群では PAF 群・control 群に比べて有意に高値を示した ( $2.81 \pm 1.30$ ,  $2.34 \pm 0.92$ ,  $1.73 \pm 0.83$ ,  $P = 0.01$  in CAF vs. PAF,  $P < 0.0001$  in CAF vs. controls)。また、VWF/ADAMTS13 比と経胸壁心臓エコー上の左心房径 (mm) との間には有意な相関が認められ ( $r = 0.275$ ,  $P = 0.0002$ )、さらには経食道心臓エコーにて計測した左心耳血流速度 (cm/sec) とは有意な逆相関を認めた ( $r = -0.345$ ,  $P = 0.0018$ )。

〔 考察 〕 心房細動においては血漿 VWF 濃度が上昇し、その切断酵素である ADAMTS13 濃度が低下していて、よりリモデリングの進行した心房でその傾向が強いことが考えられた。

〔 結論 〕 心房細動による心房リモデリングに関連して、血漿 VWF と ADAMTS13 濃度のアンバランスが生じ、そのことが心内血栓形成に影響していることが示唆された。

## Summary

**Introduction**– Previous studies have shown raised plasma von Willebrand factor (VWF) levels in patients with atrial fibrillation (AF). However, little is known about changes of VWF associated with VWF-cleaving protease (ADAMTS13) in AF. The aim of this study was to examine the relationship between changes in plasma VWF and ADAMTS13 levels, and left atrial remodeling in AF patients.

**Materials and Methods**– We measured plasma VWF and ADAMTS13 antigen levels in 70 paroxysmal AF (PAF) patients, 56 chronic AF (CAF) patients, and 55 control subjects.

**Results**– Plasma VWF levels (mU/ml) were significantly higher in CAF and PAF patients compared with the controls ( $2103 \pm 743$ ,  $1930 \pm 676$ ,  $1532 \pm 555$ , respectively,  $P < 0.0001$  in CAF vs. controls,  $P = 0.001$  in PAF vs. control), while ADAMTS13 levels (mU/ml) were significantly lower in CAF and PAF patients compared with the controls ( $795 \pm 169$ ,  $860 \pm 221$ ,  $932 \pm 173$ , respectively,  $P = 0.0002$  in CAF vs. controls,  $P = 0.04$  in PAF vs. control). The VWF/ADAMTS13 ratio was significantly higher in patients with CAF than PAF or controls ( $2.81 \pm 1.30$ ,  $2.34 \pm 0.92$ ,  $1.73 \pm 0.83$ , respectively;  $P = 0.01$  in CAF vs. PAF,  $P < 0.0001$  in CAF vs. controls). There was a significant correlation between the VWF/ADAMTS13 ratio and left atrial diameter (positive correlation;  $r = 0.275$ ,  $P = 0.0002$ ) and left atrial appendage flow velocity (negative correlation;  $r = -0.345$ ,  $P = 0.0018$ ).

**Conclusions**– These findings suggest that the imbalance between plasma VWF and ADAMTS13 levels caused by left atrial remodeling might be closely associated with intra-atrial thrombus formation in AF patients.

## 2. 発表論文リスト

### 関連論文

1. Uemura T, Kaikita K, Yamabe H, Soejima K, Matsukawa M, Fuchigami S, Tanaka Y, Morihisa K, Enomoto K, Sumida H, Sugiyama S, Ogawa H.  
Changes in plasma von Willebrand factor and ADAMTS13 levels associated with left atrial remodeling in atrial fibrillation. *Thromb Res.* 2008 (in press).

### その他の論文

1. Uemura T, Yamabe H, Tanaka Y, Morihisa K, Kawano H, Kaikita K, Sumida H, Sugiyama S, Ogawa H.  
Catheter Ablation of a Polymorphic Ventricular Tachycardia Inducing Monofocal Premature Ventricular Complex. *Intern Med.* 47:1799-1802, 2008.
2. Yamabe H, Tanaka Y, Morihisa K, Uemura T, Kawano H, Nagayoshi Y, Kojima S, Ogawa H.  
Electrophysiologic delineation of the tachycardia circuit in the slow-slow form of atrioventricular nodal reentrant tachycardia. *Heart Rhythm.* 4:713-721, 2007.
3. Tanaka Y, Yamabe H, Morihisa K, Uemura T, Kawano H, Nagayoshi Y, Kojima S, Ogawa H.  
Incidence and Mechanism of Dislocated Fast Pathway in Various Forms of Atrioventricular Nodal Reentrant Tachycardia. *Circ J.* 71:1099-1106, 2007.
4. Koyama J, Yamabe H, Tanaka Y, Morihisa K, Uemura T, Kawano H, Ogawa H, Odagawa Y, Honda T, Honda T.

Spatial and Topologic Distribution of Verapamil-Sensitive Atrial Tachycardia Originating from the Vicinity of the Atrioventricular Node. PACE. 30:1511-1521, 2007

5. Yamabe H, Tanaka Y, Morihisa K, Uemura T, Kawano H, Nagayoshi Y, Kojima S, Ogawa H.

Tachycardia Circuit in Typical Atrial Flutter: The Role of a Posterolateral Line of Block in the Perpetuation of the Tachycardia. PACE. 30:333-342, 2007.



### 3. 謝辞

本研究を行うにあたり、全面的に御指導・御支援下さいました熊本大学大学院医学薬学研究部循環器病態学 小川久雄教授に深甚なる謝意を表します。

また、本研究の御指導を頂きました熊本大学医学部附属病院不整脈先端医療講座 山部浩茂教授、熊本大学大学院医学薬学研究部循環器病態学 海北幸一講師をはじめ多くの先生方にも深く感謝致します。

#### 4. 略語一覽

VWF: von Willebrand factor

AF: atrial fibrillation

ADAMTS13: A disintegrin-like domain and metalloprotease with thrombospondin type 1 motif 13

PAF: paroxysmal atrial fibrillation

CAF: chronic atrial fibrillation

SEC: spontaneous echo contrast

ULVWF: unusually large von Willebrand factor

RT-PCR: Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction

LAD: left atrial diameter

LVEF: left ventricular ejection fraction

LAA: left atrial appendage

CRP: C-reactive protein

PT-INR: prothrombin time international normalized ratio

ACE-I: Angiotensin-converting enzyme inhibitor

ARB: Angiotensin II type I receptor blocker

## 5. 研究の背景と目的

### 5-1. 心房細動

心房細動は最も一般的にみられる不整脈である。加齢とともに増加し、罹患率は40歳から緩やかに増加しはじめ、65歳以上でその傾きは急峻となり、40歳以上では2.3%、65歳以上人口では5.9%であった(図1)。背景因子としては、加齢、糖尿病、左室肥大、高血圧、心筋梗塞の既往、心不全、弁膜症があげられる。心房細動は脳卒中や血栓塞栓症の重要な危険因子で、心房細動単独群における脳梗塞発症のリスクは対照群と比較して5.6倍であり、リウマチ性心臓弁膜症に合併した心房細動では17.6%に達する<sup>1-4</sup>。

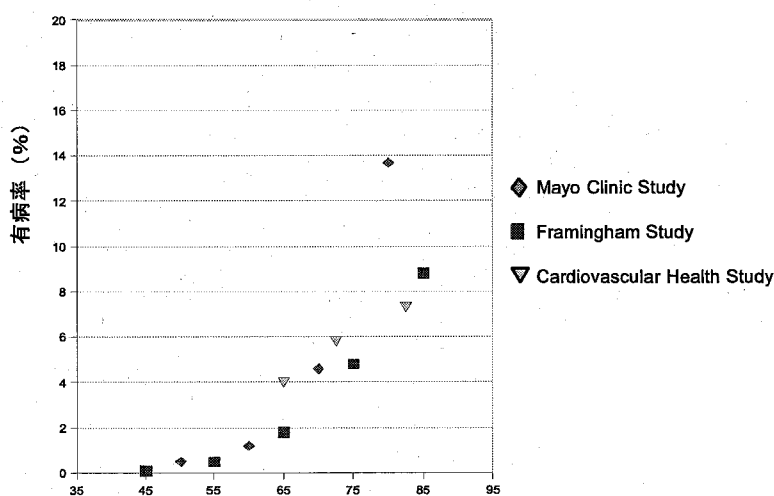


図1 年齢別にみた心房細動有病率

有病率は年齢の範囲の中間に示した。  
点線はこれらの成績から求められた各年齢における有病率を示す。  
(Feinberg WM, et al: Arch Intern Med 1995; 115: 469-73)

心房細動は一般に発作停止様式による分類がなされている。7日間以内に自然停止する心房細動を“発作性(paroxysmal)”と定義し、7日間以上持続し、自然には停止しないが薬物的/電氣的除細動により停止可能なものを“持続性(persistent)”と呼ぶ。除細動に不成功であったものや、除細動を試みられなかった心房細動は“永続性(permanent)”と呼ばれ、永続性とほぼ同義で“慢性(chronic)”という用語も用いられる<sup>5</sup>。

心房細動の発生機序としては、今から 100 年以上前に、興奮波旋回(リエントリー)と、異所性興奮生成の基本的な考え方が提唱され、その後も多くの研究が行われてきたが、近年では動物実験やシュミレーション研究の結果から、leading circle 説<sup>6</sup>、spiral wave reentry 説<sup>7</sup>などが報告されている。また、心房細動発生のトリガーとなる異常興奮の多くが、肺静脈と左心房後壁の接合部や上大静脈と右心房との接合部から生じることが示されている(図 2-3)<sup>8</sup>。

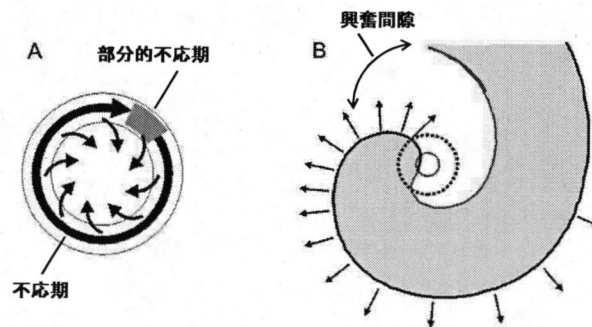


図2 leading circle説(A)とspiral wave reentry説(B)

A : leading circleでは、リエントリーの軌跡は輪状であり、興奮波の先端が不応期の時期を脱した尾端を追いかけるように旋回する。このモデルでは興奮間隙はほとんど存在しない。リエントリーの旋回路の中心部は周囲からの興奮波の進入により常に電気的不応の状態にある。

B : spiral waveでは、リエントリーは渦巻き様に興奮しており、ミアンダリング(さまよい)運動を起こす。旋回領域には十分な興奮間隙が存在する。リエントリーの中心部(コア)は興奮していないが実際には興奮可能であり、このコアの存在がリエントリーの維持に必要である。

(Nattel S : Nature 2002 ; 415 : 219-26)

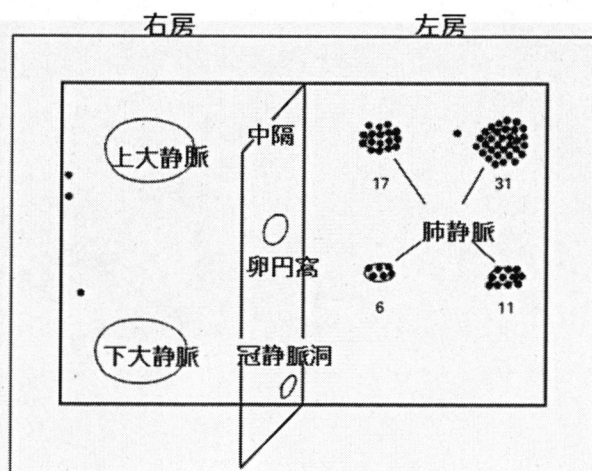


図3 心房細動のトリガーとなる心房性期外収縮の起源部位

肺静脈、特に左上肺静脈起源が最も多かったと報告されている。

(Haissaguerre M, et al : N Engl J Med 1998;339:659-66.)

## 5-2. 心房細動と血栓塞栓症

心房細動を発症すると左房の能動的収縮が消失し、心房内で血流がうっ滞する。構造上の特性から左心耳における血流のうっ滞が最も顕著である。左房内血栓の評価は、経食道心エコーが最も検出感度に優れている。心房細動患者では、左房内に血栓が認められなくても左房内に流動する異常エコー像がしばしば観察され、spontaneous echo contrast (SEC: もやもやエコー) と呼ばれている。このもやもやエコーは赤血球の凝集により超音波の反射が生じて出現すると考えられており、血流うっ滞を示唆する所見である(図4)。左房が能動的に収縮している条件では血管内と同様に活性化凝固因子は血流による希釈効果を受けるが、心房細動では活性化凝固因子が濃縮されやすい条件となり、心内血栓形成に関与すると考えられている。

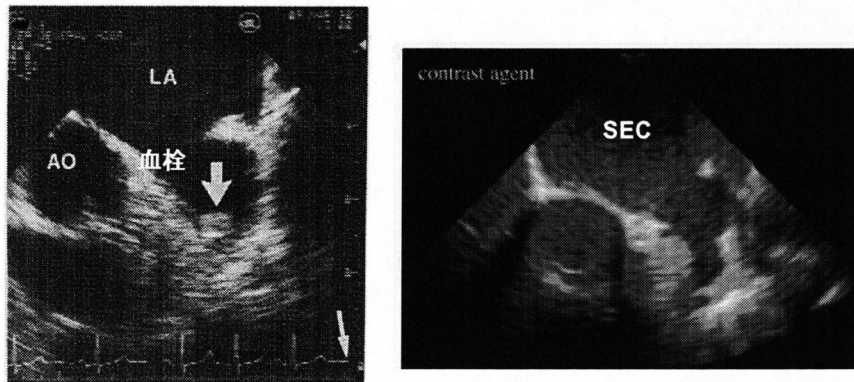


図4 左心耳内血栓(左)ともやもやエコー(右)

LA: 左房、AO: 大動脈  
SCE: spontaneous echo contrast (もやもやエコー)  
左心耳内に血栓を認める。

しかし、血栓形成を規定する主要因子が血流うっ滞だけではないことも事実である。最近、心房細動における脳梗塞発症のリスクが集積すると脳梗塞の発症率が上昇することが注目され、CHADS2 スコアが提唱されている<sup>9</sup>。CHADS2 は Congestive heart failure、Hypertension、Age  $\geq$  75 歳、Diabetes Mellitus、Stroke/TIA の頭文字をとって命名されたスコアで、前4つの項目には1点を、脳梗塞発症リスクの高い Stroke/TIA の既往には2点を付与し、合算して算出する。点数

が高いほど脳梗塞発症のリスクが高くなり、リスクの集積が脳梗塞の大きなリスクとなることを示している。この結果から考慮すると、高齢者あるいは高血圧、糖尿病などを合併する例では、種々の凝固因子や血小板が全身を循環する過程で活性化され、それらが血流のうっ滞した左房に流入することにより左房内血栓の核となることが考えられている(図5)。

図5 CHADS2 スコア

CHADS2 スコアにおけるリスクと配点		CHADS2 スコアと脳梗塞年間発症率				
リスク	点	CHADS2 スコア	患者数 (n=1733)	脳梗塞発症例	発症率	95%信頼区間
Congestive heart disease	1	0	120	2	1.9	(1.2~3.0)
Hypertension	1	1	463	17	2.8	(2.0~3.8)
Age ≥75 歳	1	2	523	23	4.0	(3.1~5.1)
Diabetes Mellitus	1	3	337	25	5.9	(4.6~7.3)
Stroke/TIA	2	4	220	19	8.5	(6.3~11.1)
		5	65	6	12.5	(8.2~17.5)
		6	5	2	18.2	(10.5~27.4)

(Gage BF, et al : JAMA 2001; 285: 2864-2870)

### 5-3. 心房細動に伴う心房筋リモデリング

心房細動は、発症すると徐々にその発作頻度、持続時間が増加し、やがて持続性・永続性心房細動に至る傾向があり、Allesie らは、心房細動が心房筋の電気生理学性質を変化させて、心房細動を持続させやすくすることをヤギの実験で実証した。彼らは心房細動がいったん発症すると心房細動が起こりやすくなる現象を atrial fibrillation begets atrial fibrillation (心房細動の悪循環)と名付けた<sup>10</sup>。心房細動が引き起こす心房の電気生理学的変化としては、①心房不応期の短縮、②心房不応期の基本周期依存性の減弱、③心房内伝導時間の延長が挙げられ、これらの電気生理学的变化は心房筋の電気的リモデリングと呼ばれ、心房細動の持続・再発に深く関与していると考えられている。

また、心房細動が持続すると、頻拍による細胞内 Ca<sup>2+</sup>過負荷による細胞

傷害、血行動態不全を介した壁張力増大に伴う細胞変性や線維化が起こる<sup>11</sup>。また、発作が長期間にわたる場合、心房径の拡大も助長され、これらの組織構造の変化を構造的リモデリングと呼ばれる。これらの変化は、細胞の興奮性を低下させ、また細胞間連結を破壊することにより、心房筋内での伝導ブロックがより容易になり、リエントリーの形成が助長される(図6)。

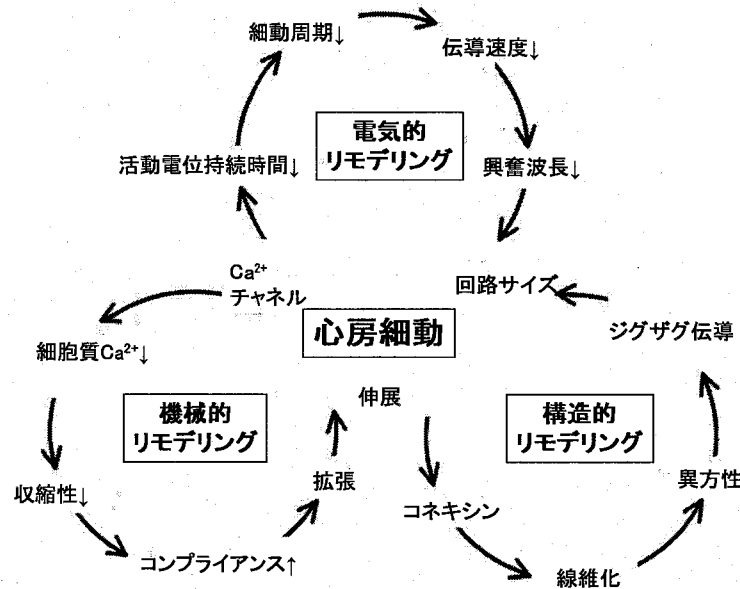


図6 心房細動に伴う電気的、機械的および構造的リモデリング  
(Alessie M, et al : Cardiovasc Res 2002; 54: 230-246)

#### 5-4. 心房細動と内皮機能障害

血管内皮機能障害は心血管イベント発症と強い関係がある。高血圧・肥満・運動不足を降圧薬・減量・有酸素運動で治療すると血管内皮機能は改善しうる。血管内皮機能障害があると血栓が形成されやすく、心房細動の脳梗塞発症のメカニズムの1つとして、心房細動に伴う血管内皮機能障害が想定されており、これまでもいくつかの研究により心房細動と内皮機能障害との関連が示されている。心房細動患者では、プレチスモグラフィーにより評価した血管内皮機能が洞調律患者に比べ有意に障害されており、除細動で洞調律に復すると血管内皮機能の改善が認められることや<sup>12</sup>、また血管内皮機能障害の血栓マーカーであるフォン・ウィレブランド因子が上昇しており、洞調律に復すると低下すること<sup>13</sup>が報告されている。

## 5-5. ヴォン・ヴィレブランド因子(VWF)と ADAMTS13

ヴォン・ヴィレブランド因子; von Willebrand factor (VWF) は、血管内皮細胞や巨核球で産生される巨大糖タンパクで、2050 残基のアミノ酸からなる分子量約 25 万のモノマーが、分子間でジスルフィド結合を介して N 末側と N 末側、C 末側と C 末側で互い違いに重合したマルチマーを形成する<sup>14</sup>。VWF モノマーは、血液凝固第Ⅷ因子やヘパリンなどと結合する D' , D3 ドメイン、血小板膜糖タンパク GPIb やコラーゲンなどと相互作用する A1, A3 ドメイン、あるいは血小板膜糖タンパク GPIIb/IIIa と相互作用する C ドメインなど、種々の機能ドメインの集合体で、マルチドメイン構造を有する。さらに VWF マルチマーは血管内の血流中において発生するずり応力により、球状構造から伸展構造に構造変化することにより血小板凝集に関与する機能ドメインが露出され、血小板凝集が惹起されるのではないかと推察されている(図 7)<sup>15</sup>。

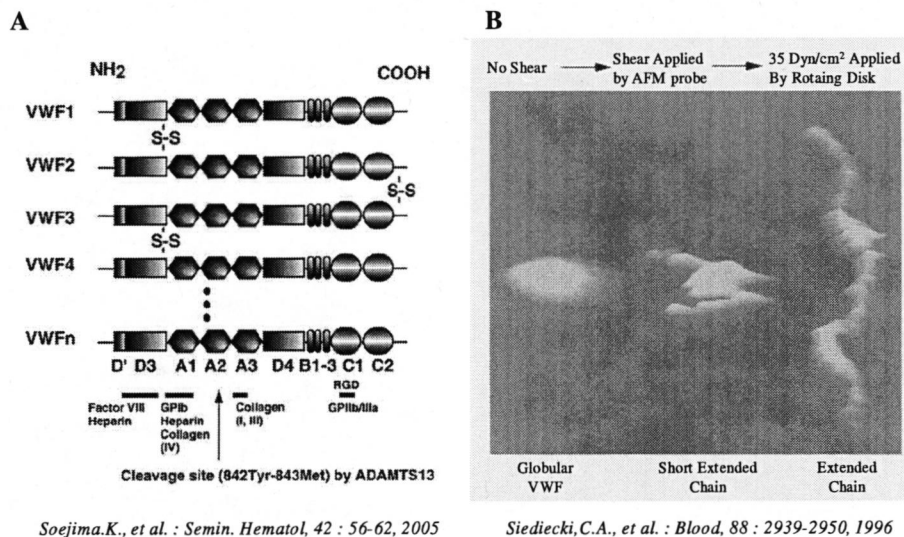


図7 VWFの構造

A. VWFのマルチドメイン構造とジスルフィド結合。B. VWFマルチマーの電子顕微鏡図で、高ずり応力下、球状構造から伸展構造に構造が変化し、分子内部に埋もれていた機能ドメインが露出し血小板凝集が惹起されると推察される。一方で、この構造変化はADAMTS13の切断部位も露出させることになり、VWFの切断も生じることになる。



VWFは血液凝固第Ⅷ因子の安定化因子として、血液凝固第Ⅷ因子と複合体を形成し血中を循環しているほか、傷害を受けた血管壁から露呈した内皮下組織への血小板粘着・凝集反応の際のコラーゲンとの橋渡しをすることで、血小板血栓の形成に重要な役割を担っている<sup>16,17</sup>。VWFは、血管内皮細胞内では通常の large マルチマーよりさらに高分子量の Unusually large VWF マルチマー (ULVWF) として存在することが知られているが、血流中へ放出されると速やかに部分的に加水分解されて分子量 500~20000kDa の不連続に分布するマルチマーパターンを示すようになる。そして、VWF の血小板粘着・凝集などの生物学的活性は分子量に依存しており、マルチマーが高分子量であるほどその活性は強い(図 8)。



Sejima K, et al. : *Semin. Hematol*, 42 : 56-62, 2005

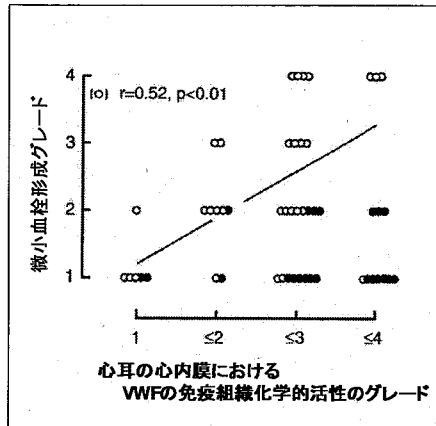
図8 VWF媒介性の血小板血栓形成

傷害を受けた内皮からその刺激によって放出されたULVWFは、高ずり応力により構造変化を生じ、傷害部位の内皮下組織コラーゲンと相互作用しつつ、露呈されたさまざまな機能ドメインにより、まずは血小板の膜上のGPIIbと相互作用することで、血小板を粘着させる。

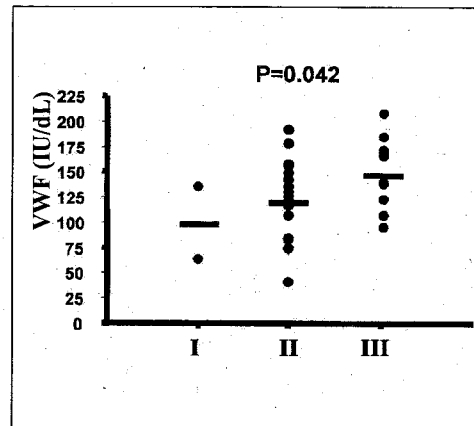
心房細動における VWF に関する報告は、これまでもいくつか散見され、心房細動患者における血漿 VWF 濃度は洞調律の対照患者に比べて高値であり、さらに血漿 VWF 濃度が高値であることが心房細動症例における脳塞栓症発症のリスクと関連する報告されている<sup>18-21</sup>。また、Fukuchi らは、心房細動症例における左心耳の病理組織像にて心内膜における VWF の免疫組織化学的活性と微小血栓形成グレードとの間に有意な相関関係があることを示し、Goldsmith らは、電子顕微鏡を用いて評価

した左心耳の内膜損傷の程度と血漿中の VWF の濃度とが相関することを報告している (図 9)<sup>22, 23</sup>。

図9



**心耳心内膜におけるVWFの免疫組織化学的活性と微小血栓形成グレードとの関係**  
 心耳の心内膜の病理組織において、VWFの免疫組織化学的活性と心内膜表面での微小血栓形成グレードとの間には有意な相関関係が認められ、心内膜におけるVWFの発現が多いほど、心内膜表面での微小血栓形成傾向が強いことが示された。(ただし、●:ワーファリン治療を受けている患者は除外してある。)  
 (Fukuchi, M., et al. JACC, 37: 1436-1442, 2001)

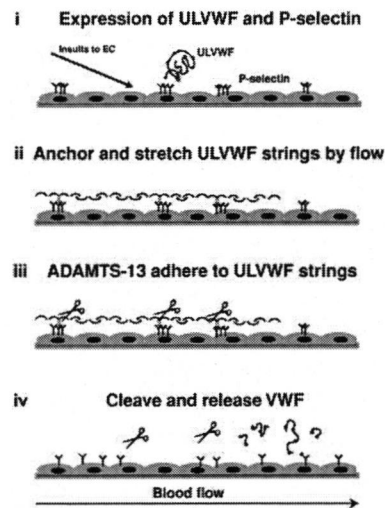


**左心耳における心内膜損傷グレードと血漿VWF濃度との関係**  
 電子顕微鏡を用いて、左心耳の心内膜損傷の程度をグレードI~IIIまで分類し、血漿VWF濃度との関係を検討したところ、心内膜の損傷が強いほど、血漿VWF濃度が高いことが示された。  
 (Goldsmith, I., et al. Am Heart J, 140: 777-784, 2001)

近年、複数のグループにより VWF を特異的に切断する酵素である ADAMTS13 が同定された<sup>24-26</sup>。ADAMTS13 は、ADAMTS (A Disintegrin-like domain and Metalloprotease with Thrombospondin type 1 motif) ファミリーに属する亜鉛型メタロプロテアーゼで、VWF の Tyr842-Met843 を特異的に切断する酵素 (VWF 切断酵素) である<sup>27, 28</sup>。主な産生臓器は肝臓で、その中でも肝星細胞との報告がなされている。しかし、Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) を用いた発現解析によれば ADAMTS13 の mRNA は肝臓以外にも種々の臓器で検出されている<sup>26, 29, 30</sup>。最近ではさらに血小板<sup>31</sup>あるいは血管内皮細胞<sup>32</sup>での発現も報告されている。臨床的には、ADAMTS13 活性の低下は、血栓性血小板減少性紫斑病 (TTP)、肝硬変、慢性の腎障害、癌の転移、急性の炎症などで認められ<sup>33-35</sup>、ADAMTS13 と VWF 抗原量とが逆相関関係にあることが報告されている<sup>36</sup>。

ADAMTS13 による ULVWF 切断のメカニズムとしては、刺激によって放出された ULVWF が P-セレクチンを介して血管内皮上にアンカリングし、血管内のずり応力

よりコンフォメーションの変化を生じ、露呈した A2 ドメイン内の Tyr842-Met843 が ADAMTS13 により速やかに加水分解されると推察されている (図 10)<sup>37</sup>。



**図10 ADAMTS13によるULVWF切断のメカニズム**  
 刺激によって放出されたULVWFはP-セレクトリンを介して血管内皮上にアンカリングする。このアンカリングによって、ULVWFはずり応力下進展し、ADAMTS13によって切断を受けやすくなる。  
*Padilla, A., et al. : Blood, 103 : 2150-2156, 2004*

## 5-6. 本研究の目的

心房細動と内皮機能障害の間には深い関係があると考えられており、血管内皮機能障害を反映する VWF は、心房細動における血栓塞栓症発症のリスクと関連する有用なマーカーとして考えられている。また、我々は過去に、急性心筋梗塞急性期・不安定狭心症において血漿中の VWF 濃度が上昇し、ADAMTS13 濃度が減少していることを報告し、さらに VWF/ADAMTS13 比が急性心筋梗塞後の長期的な血栓性イベント発症の予測因子として有用であることを報告した<sup>38-40</sup>。しかし、心房細動における ADAMTS13 の役割については、これまで報告がない。本研究の目的は心房細動における VWF・ADAMTS13 の動態、及びそれらに關与する因子について検討することにある。

## 6. 研究方法

### 6-1. 対象

本研究は当院で心疾患の加療を受けた 181 症例を対象とした。その内訳は、56 症例の慢性心房細動患者 (CAF 群; 男性 41 名、女性 15 名、平均年齢  $70 \pm 11$  歳)、70 症例の発作性心房細動患者 (PAF 群; 男性 49 名、女性 21 名、平均年齢  $68 \pm 8$  歳)、及びそれぞれの群と年齢・性別を合致させた 55 名の心房細動の既往のない対象患者 (CTL 群) である。CAF 群は、少なくとも 6 週間以上の間隔をあけて心電図にて心房細動が持続していることが確認された症例とし、PAF 群は過去に心電図にて心房細動が記録されたことがある症例とした (試験時は洞調律)。本研究においては、①心血管・脳血管イベントの急性期や血栓性疾患、②膠原病やその他の活動性炎症性疾患、③慢性腎不全、④慢性肝不全 を除外基準とした。本研究の実施にあたっては大学倫理委員会からの承諾を受け、全ての患者からインフォームド・コンセントを得た。

### 6-2. 血漿 VWF・ADAMTS13 濃度の測定

血液サンプルは全ての症例において空腹時に採血し、採血後は速やかに  $4^{\circ}\text{C}$ 、3000 回転で遠心分離した後、 $-80^{\circ}\text{C}$  で凍結し、測定されるまで凍結保存した。血漿 VWF 抗原濃度 (mU/ml) は ELISA 法 (Asserachron VWF; Roche, Tokyo, Japan) で測定し、血漿 ADAMTS13 抗原濃度 (mU/ml) も従来の方法に準じ、ELISA 法を用いて測定した<sup>41</sup>。

### 6-3. 心臓超音波検査

全例において経胸壁心臓超音波検査を施行した。左房径 (LAD) は胸骨左縁長軸断面像で測定し、左室駆出率 (LVEF) は心尖部四腔断面像にて測定した。また 78 症例 (CTL 群; 21 例、PAF 群; 44 例、CAF 群; 13 例) においては、経食道心臓超音波検査を施行し、左心耳血流速度 (LAA flow velocity) を測定し、それぞれの因子と血漿 VWF 濃度および ADAMTS13 濃度との関連について検討した。

#### 6-4. フォローアップ

サンプル採取後、全ての症例において主要血栓性イベント(急性冠症候群、症候性脳血管障害、末梢動脈/静脈血栓症)、および心臓死の有無についてフォローアップを行った(21±7カ月間)。

#### 6-5. 統計学的解析

すべての結果は、平均値±標準誤差(mean±SD)、および症例数にて表記した。CTL群・PAF群・CAF群間におけるそれぞれの因子の比較には、一元配置分散分析法を用いて評価し、多重比較検定(Fisher's PLSD法)を行った。2変数間の相関の程度の検定には、ピアソンの積率相関係数(Pearson's correlation coefficient)を用いた。P値0.05未満を有意と判定した。

## 7. 研究結果

### 7-1. 患者背景

研究対象となった患者の臨床的特徴を表1に示した。CTL群・PAF群・CAF群において、年齢、性別、高血圧・脂質異常症・糖尿病・冠動脈疾患の既往に有意差は認められなかったが、血漿高感度C-reactive protein(CRP)はCTL群・PAF群に比べCAF群において有意に高値であった。また、心臓超音波検査でのLADは、CTL群に比べPAF群・CAF群において有意に高値であり、LVEFおよびLAA flow velocityはCTL群に比べPAF群・CAF群において有意に低値であった。

表 1. 患者背景

	Control (n=55)	PAF (n=70)	CAF (n=56)	P 値
年齢 (歳)	66.2 ± 9.2	67.9 ± 8.4	69.5 ± 11.4	0.10
男性/女性 (n)	33 / 22	49 / 21	41 / 15	0.29
高血圧 (n)	22 (28%)	33 (41%)	25 (31%)	0.72
脂質異常症 (n)	23 (42%)	30 (43%)	14 (25%)	0.08
糖尿病 (n)	10 (18%)	20 (29%)	10 (18%)	0.25
冠動脈疾患 (n)	9 (16%)	12 (17%)	16 (29%)	0.19
高感度 CRP	0.11 ± 0.15	0.11 ± 0.16	0.22 ± 0.34 <sup>‡</sup>	0.0028
PT-INR	0.99 ± 0.06	1.32 ± 0.52 <sup>†</sup>	1.82 ± 0.46 <sup>‡</sup>	<0.0001
左房径 (mm)	36.2 ± 5.4	40.5 ± 6.8 <sup>†</sup>	47.0 ± 7.0 <sup>‡</sup>	<0.0001
左室駆出率 (%)	70.1 ± 6.7	63.6 ± 8.5 <sup>†</sup>	55.8 ± 10.9 <sup>‡</sup>	<0.0001
左心耳血流速度	59.0 ± 11.7	44.7 ± 16.7 <sup>†</sup>	32.9 ± 14.0 <sup>‡</sup>	<0.0001

結果は平均値±標準偏差、もしくは症例数で表記した。

†P < 0.05 比対照群、 ‡P < 0.05 比対照群

PAF, paroxysmal atrial fibrillation; CAF, chronic atrial fibrillation;

CRP, C-reactive protein; PT-INR, prothrombin time international normalized ratio;

試験時に投与されていた薬剤歴を表2に示した。ワーファリンはPAF群の49%、CAF群で89%の症例で投与されていた。アスピリンはCTL群の11%、PAF群の21%、CAF群の27%で投与されていた。ACE阻害薬/AT1受容体ブロッカー (ARB) は、CTL群に比べ、PAF群・CAF群において有意に多くの症例で投与されていた。しかし、多変量解析の結果、これらの薬剤は血漿VWF・ADAMTS13濃度に影響を与えていなかった。

表 2. 各群における内服状況

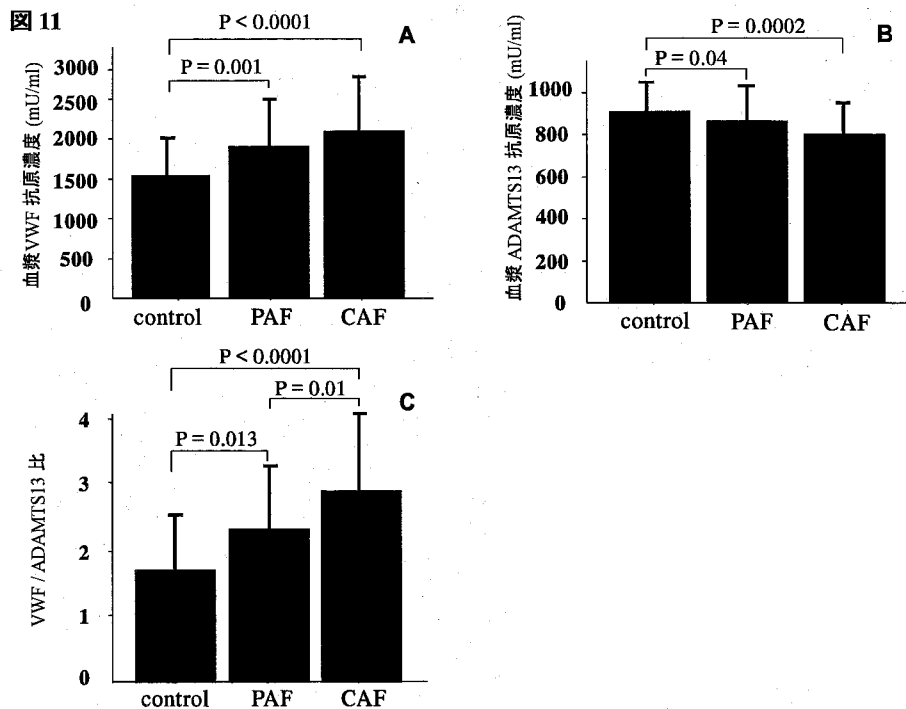
	Control (n=55)	PAF (n=70)	CAF (n=56)	P 値
ワーファリン	1 (2%)	34 (49%)	50 (89%)	<0.0001
アスピリン (n)	6 (11%)	15 (21%)	15 (27%)	0.10
ACE-I / ARB	12 (22%)	31 (44%)	37 (66%)	<0.0001
スタチン (n)	7 (13%)	16 (23%)	10 (18%)	0.35

結果は、パーセンテージもしくは症例数で表記した。

ACE-I, Angiotensin-converting enzyme inhibitor; ARB, Angiotensin II type I receptor blocker.

## 7-2. 血漿 VWF・ADAMTS13 濃度、および VWF/ADAMTS13 比

血漿 VWF・ADAMTS13 濃度、および VWF/ADAMTS13 比を図 11 に示した。血漿 VWF 濃度は CTL 群 ( $1532 \pm 555$  mU/ml) に比べ PAF 群 ( $1930 \pm 676$  mU/ml)・CAF 群 ( $2103 \pm 743$  mU/ml) において有意に高値であった ( $P=0.001$ ; CTL 群 vs. PAF 群、 $P<0.0001$ ; CTL 群 vs. CAF 群)。一方、血漿 ADAMTS13 濃度は CTL 群 ( $932 \pm 173$  mU/ml) に比べ PAF 群 ( $860 \pm 221$  mU/ml)・CAF 群 ( $795 \pm 169$  mU/ml) において有意に低値であった ( $P=0.04$ ; CTL 群 vs. PAF 群、 $P=0.0002$ ; CTL 群 vs. CAF 群)。我々は、今回の検討において、血栓形成傾向を表す指標として VWF/ADAMTS13 比を算出して用いたが、VWF/ADAMTS13 比は CTL 群 ( $1.73 \pm 0.83$ )・PAF 群 ( $2.34 \pm 0.92$ ) に比べ、CAF 群 ( $2.81 \pm 1.30$ ) において有意に高値であった ( $P=0.01$ ; PAF 群 vs. CAF 群、 $P<0.0001$ ; CTL 群 vs. CAF 群)。



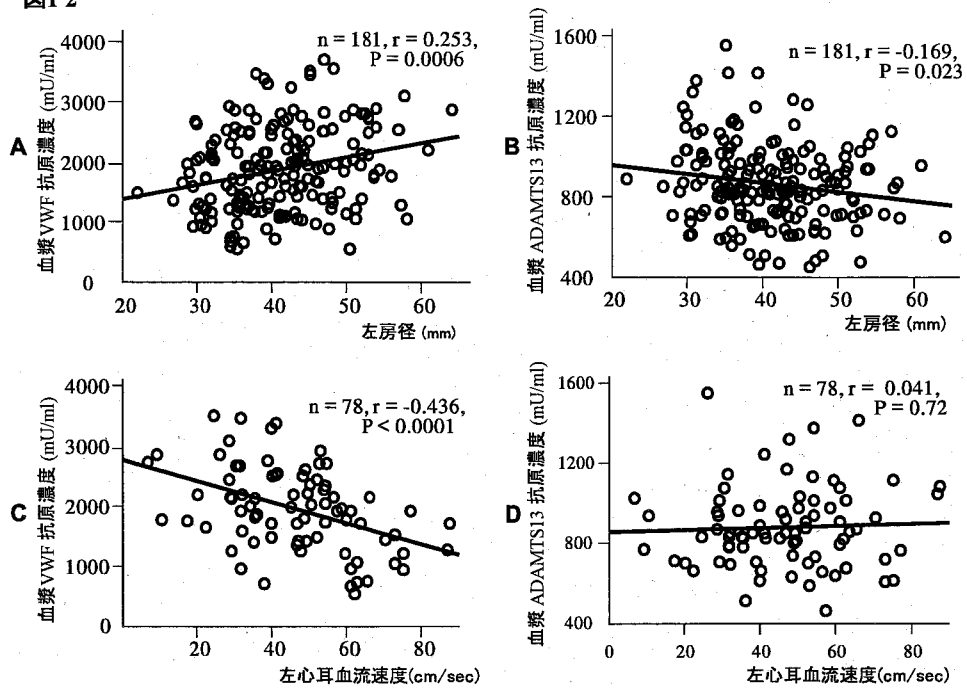
**3群間の血漿VWF濃度、ADAMTS13濃度、VWF/ADAMTS13比の比較**  
 結果は平均値±標準偏差で表記した。PAF, paroxysmal atrial fibrillation; CAF, chronic atrial fibrillation;  
 血漿VWF濃度は心房細動症例において有意に高く、一方、血漿ADAMTS13濃度は有意に低値であった。

### 7-3. 血漿VWF・ADAMTS13濃度と心臓超音波所見

心房細動症例における心房リモデリングと血漿VWF・ADAMTS13濃度の関連を検証する為に、経胸壁心臓超音波検査によるLADと経食道心臓超音波検査によるLAA flow velocityを測定し、血漿VWF・ADAMTS13濃度との相関関係を検討した(図12)。血漿VWF濃度は、LADと正の相関関係を認め( $r=0.253, P=0.0006$ )、LAA flow velocityとは負の相関関係を認めた( $r=-0.436, P<0.0001$ )。それに対し、血漿ADAMTS13濃度はLADおよびLAA flow velocityと有意な相関は認めなかった。VWF/ADAMTS13比においては、LADと正の相関関係を認め( $r=0.275, P=0.0002$ )、LAA flow velocityとは負の相関関係を認めた( $r=-0.345, P=0.0018$ )(図13)。

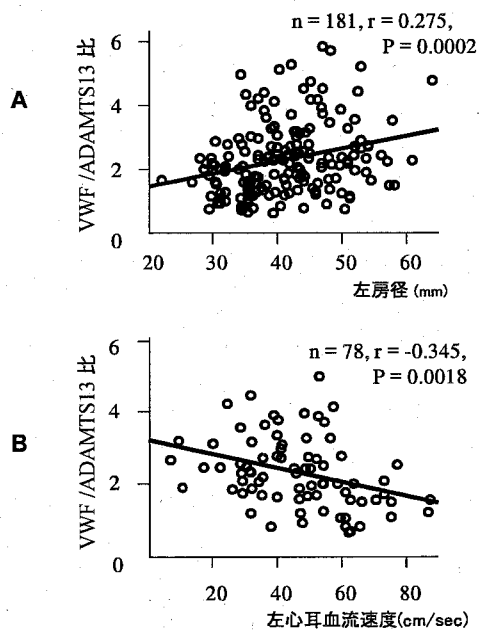


図12



血漿 VWF 濃度および ADAMTS13 濃度と、左心房径・左心房血流速度との相関関係

図13



VWF/ADAMTS13 比と左心房径・左心房血流速度との相関関係

#### 7-4. フォローアップ期間における血栓性イベントの発生

我々は全ての症例において、サンプル採取後の主要な血栓性イベントの発生の有無について追跡した。平均のフォローアップ期間は 21 カ月 (5-30 カ月) であった。その期間中に 3 例 (1.7%; PAF 群の 1 症例、CAF 群の 2 症例) において、新たに症候性脳梗塞の発症が認められた。その他の症例では主要血栓性イベントは認められなかった。脳梗塞を発症した 3 症例では、脳梗塞の発症を認めなかったその他の心房細動症例に比べ、血漿 VWF 濃度 ( $2982 \pm 211$  vs.  $1983 \pm 700$ ) ・ VWF/ADAMTS13 比 ( $3.72 \pm 0.92$  vs.  $2.52 \pm 1.12$ ) が高い傾向にあり、血漿 ADAMTS13 濃度は低い傾向 ( $792 \pm 206$  vs.  $832 \pm 202$ ) にあった。

## 8. 考察

本研究において、我々は心房細動症例における血漿 VWF・ADAMTS13 濃度について検討した。過去に、心房細動患者における血漿 VWF 濃度は洞調律の対照患者に比べて高値であることが報告されており<sup>18,19</sup>、さらに血漿 VWF 濃度が高値であることが心房細動症例における脳塞栓症を含むイベント発生の予測因子となりうるということが報告されている<sup>20</sup>。今回、我々は心房細動症例において血漿 VWF 濃度が上昇していることに加え、血漿 ADAMTS13 濃度が減少していることを示し、さらにそれらが心房リモデリングの指標と関連があることを示した。

血栓の形成においては、一般にウィルヒョウの三徴(①血流の低下、②血管壁(内皮)の障害、③血管内凝固因子の異常)が必要である。しかし、心房細動において血栓塞栓症を発症する機序については、まだ十分に解明されている訳ではない。心房細動における心内血栓形成に左房内の血流低下が最も重要な因子となっていることは明らかであるが、加齢や高血圧、糖尿病といった全身性の疾患を有する患者において、より多くの血栓塞栓症が認められるということは、単に左房内の血流の低下だけではなく、全身性の因子が心内血栓の形成に関与していることを示唆している。内皮機能障害は血栓形成とアテローム発生において、病態生理学的に最初のプロセスとして関係していることが示唆されており、血管における炎症や拡張障害、凝固能の亢進とも関連していると考えられている。一般に、生体内においては、内皮機能は傷害された血管内皮から放出される血漿中の種々のマーカーを測定することにより推測され、血漿 VWF 濃度の上昇は内皮機能障害を表す指標として広く利用されている。

本研究において、PAF 群・CAF 群において血漿 VWF 濃度が有意に高値であったことは、心房細動症例では対照群に比べてより進行した内皮機能障害を有し、易血栓形成性にあることが示唆される。これまでの報告でも、心房細動の心内血栓形成に心内膜における VWF の発現の亢進が関係していることが示されている<sup>21,22</sup>。生体内において、ADAMTS13 によって VWF の多量体がより小さな断片に切断されることにより、血漿中の VWF の活性が低下する。一般に、種々の環境下で VWF と ADAMTS13

の活性は負の相関関係が存在することが報告されており<sup>33,36</sup>、その相関関係は臨床的に重要な意義がある。血漿 VWF 濃度が高値であることが血栓形成の危険因子であることから、VWF の切断酵素である ADAMTS13 が負の相関関係で低値であることは、更に血栓形成のリスクを増大させることになると考えられる。最近、Bongers らは、脳梗塞を発症した患者では対照患者と比べ血漿中の VWF の抗原量と活性が有意に高値であり、ADAMTS13 活性は低値傾向(統計学的な有意差はなし)であることを示した<sup>42</sup>。さらに、我々は過去に VWF/ADAMTS13 比が急性心筋梗塞後の長期的な血栓性イベント発症の予測因子として有用であることを報告した<sup>39</sup>。これらのことは、血漿中の VWF と ADAMTS13 とのバランスが血栓形成に重要な役割を果たしている可能性を示唆する。それゆえ、我々は仮説として心房細動症例における心内血栓に ADAMTS13 が関係していると考えた。本研究は心房細動症例における血漿 ADAMTS13 濃度を検討した初めての報告であり、実際に血漿 ADAMTS13 濃度は対照群に比べて有意に低値であった。加えて、VWF/ADAMTS13 比は CTL 群・PAF 群に比べ、CAF 群において有意に高値であった。

心房細動において血漿 ADAMTS13 濃度が低下する具体的な機序については定かではなく、よって我々は、血漿 ADAMTS13 濃度が低値であることが血漿 VWF 濃度の上昇に繋がるのか、もしくは血漿 VWF 濃度の上昇により消費性に血漿 ADAMTS13 濃度が減少するのかについては、推測することしかできない。これまでの報告では、血漿 ADAMTS13 活性が Interleukin-6 により抑制されることが示されており<sup>43</sup>、また心房細動においては Interleukin-6 を含む炎症性マーカーが上昇していることも報告されている<sup>44,45</sup>。本研究においても血漿高感度 CRP は CAF 群で有意に高値であった。よって、心房細動によって引き起こされた炎症が ADAMTS 活性を低下させ、そのことが更なる血漿 VWF 濃度の上昇に関与している可能性が考えられた。

さらに本研究では、血漿 VWF 濃度および VWF/ADAMTS13 比は LAD との間には有意な正の相関関係を認め、LAA flow velocity との間には有意な負の相関関係が認められることが示された。このことは、これまでの報告と同様に、よりリモデリングの進行した心房や、より負荷のかかった左心耳では易血栓形成状態にあることを支持している<sup>46-48</sup>。

本研究では、抗血小板療法や抗凝固療法は血漿 VWF および ADAMTS13 の濃度に影響を与えなかった。これまでの報告でも、Matsumoto らが脳梗塞症例で検討した研究において、アスピリンとチクロピジンによる薬物療法でも血漿 VWF および ADAMTS13 濃度の有意な変化は認めず<sup>49</sup>、Li らが慢性心房細動症例で報告したものは、ワーファリンによる抗凝固療法でも血漿 VWF 濃度の減少は認められなかった<sup>50</sup>。ワーファリンによる抗凝固療法の ADAMTS13 濃度に与える影響についての報告は殆どなされていないが、本研究においてワーファリン治療を受けている症例での PT-INR 値と血漿 ADAMTS13 濃度との相関関係を検討したが、両者に有意な相関関係は認めなかった。このように、一般的な抗血小板療法や抗凝固療法が血漿 VWF および ADAMTS13 濃度に影響を与えないということは、換言すれば、血漿 VWF および ADAMTS13 濃度は心房細動の血栓形成に関する新たなアップストリーム治療の指標となり得る可能性を有していることを示唆している。

## 9. 結語

本研究においては、心房細動症例における血漿 VWF および ADAMTS13 濃度の関係について検討を行った。心房細動症例では対照群に比べ、血栓形成傾向を示唆する指標である VWF/ADAMTS13 比が有意に高値を示し、それは心房のリモデリングや左心耳の負荷と密接な関係があることが解った。このことより、心房細動症例による心房リモデリングに関連して、血漿 VWF と ADAMTS13 濃度のアンバランスが生じ、そのことが心内血栓形成に影響していることが示唆された。

## 10. 文献

1. Feinberg WM, Blackshear JL, Laupacis A, Kronmal R, Hart RG. Prevalence, age distribution, and gender of patients with atrial fibrillation. Analysis and implications. *Arch Intern Med* 1995;155:469-73.
2. Benjamin EJ, Wolf PA, D'Agostino RB, Silbershatz H, Kannel WB, Levy D. Impact of atrial fibrillation on the risk of death: the Framingham Heart Study. *Circulation* 1998;98:946-52.
3. Kannel WB, Abbott RD, Savage DD, McNamara PM. Epidemiologic features of chronic atrial fibrillation: the Framingham study. *N Engl J Med* 1982;306:1018-22.
4. Wolf PA, Dawber TR, Thomas HE, Jr., Kannel WB. Epidemiologic assessment of chronic atrial fibrillation and risk of stroke: the Framingham study. *Neurology* 1978;28:973-7.
5. Fuster V, Ryden LE, Cannom DS, Crijns HJ, Curtis AB, Ellenbogen KA, Halperin JL, Le Heuzey JY, Kay GN, Lowe JE, Olsson SB, Prystowsky EN, Tamargo JL, Wann S, Smith SC, Jr., Jacobs AK, Adams CD, Anderson JL, Antman EM, Halperin JL, Hunt SA, Nishimura R, Ornato JP, Page RL, Riegel B, Priori SG, Blanc JJ, Budaj A, Camm AJ, Dean V, Deckers JW, Despres C, Dickstein K, Lekakis J, McGregor K, Metra M, Morais J, Osterspey A, Tamargo JL, Zamorano JL. ACC/AHA/ESC 2006 Guidelines for the Management of Patients with Atrial Fibrillation: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines and the European Society of Cardiology Committee for Practice Guidelines (Writing Committee to Revise the 2001 Guidelines for the Management of Patients With Atrial Fibrillation): developed in collaboration with the European Heart Rhythm Association and the Heart Rhythm Society. *Circulation* 2006;114:e257-354.
6. Allesie MA, Bonke FI, Schopman FJ. Circus movement in rabbit atrial muscle as a mechanism of tachycardia. III. The "leading circle" concept: a new model of circus

movement in cardiac tissue without the involvement of an anatomical obstacle. *Circ Res* 1977;41:9–18.

7. Pertsov AM, Davidenko JM, Salomonsz R, Baxter WT, Jalife J. Spiral waves of excitation underlie reentrant activity in isolated cardiac muscle. *Circ Res* 1993;72:631–50.

8. Haissaguerre M, Jais P, Shah DC, Takahashi A, Hocini M, Quiniou G, Garrigue S, Le Mouroux A, Le Metayer P, Clementy J. Spontaneous initiation of atrial fibrillation by ectopic beats originating in the pulmonary veins. *N Engl J Med* 1998;339:659–66.

9. Gage BF, Waterman AD, Shannon W, Boechler M, Rich MW, Radford MJ. Validation of clinical classification schemes for predicting stroke: results from the National Registry of Atrial Fibrillation. *Jama* 2001;285:2864–70.

10. Wijffels MC, Kirchhof CJ, Dorland R, Allessie MA. Atrial fibrillation begets atrial fibrillation. A study in awake chronically instrumented goats. *Circulation* 1995;92:1954–68.

11. Daoud EG, Knight BP, Weiss R, Bahu M, Paladino W, Goyal R, Man KC, Strickberger SA, Morady F. Effect of verapamil and procainamide on atrial fibrillation–induced electrical remodeling in humans. *Circulation* 1997;96:1542–50.

12. Takahashi N, Ishibashi Y, Shimada T, Sakane T, Ohata S, Sugamori T, Ohta Y, Inoue S, Nakamura K, Shimizu H, Kato H, Murakami Y. Impaired exercise–induced vasodilatation in chronic atrial fibrillation—role of endothelium–derived nitric oxide. *Circ J* 2002;66:583–8.

13. Nikitovic D, Zacharis EA, Manios EG, Malliaraki NE, Kanoupakis EM, Sfiridaki KI, Skolidis EI, Margioris AN, Vardas PE. Plasma Levels of Nitrites/Nitrates in Patients with Chronic Atrial Fibrillation are Increased after Electrical Restoration of Sinus Rhythm. *J Interv Card Electrophysiol* 2002;7:171–6.

14. Ruggeri ZM, Zimmerman TS. The complex multimeric composition of factor VIII/von Willebrand factor. *Blood* 1981;57:1140–3.



15. Siedlecki CA, Lestini BJ, Kottke-Marchant KK, Eppell SJ, Wilson DL, Marchant RE. Shear-dependent changes in the three-dimensional structure of human von Willebrand factor. *Blood* 1996;88:2939-50.
16. Sixma JJ, Sakariassen KS, Beeser-Visser NH, Ottenhof-Rovers M, Bolhuis PA. Adhesion of platelets to human artery subendothelium: effect of factor VIII-von Willebrand factor of various multimeric composition. *Blood* 1984;63:128-39.
17. Sporn LA, Marder VJ, Wagner DD. von Willebrand factor released from Weibel-Palade bodies binds more avidly to extracellular matrix than that secreted constitutively. *Blood* 1987;69:1531-4.
18. Lip GY, Lowe GD, Rumley A, Dunn FG. Increased markers of thrombogenesis in chronic atrial fibrillation: effects of warfarin treatment. *Br Heart J* 1995;73:527-33.
19. Gustafsson C, Blomback M, Britton M, Hamsten A, Svensson J. Coagulation factors and the increased risk of stroke in nonvalvular atrial fibrillation. *Stroke* 1990;21:47-51.
20. Conway DS, Pearce LA, Chin BS, Hart RG, Lip GY. Plasma von Willebrand factor and soluble p-selectin as indices of endothelial damage and platelet activation in 1321 patients with nonvalvular atrial fibrillation: relationship to stroke risk factors. *Circulation* 2002;106:1962-7.
21. Heppell RM, Berkin KE, McLenachan JM, Davies JA. Haemostatic and haemodynamic abnormalities associated with left atrial thrombosis in non-rheumatic atrial fibrillation. *Heart* 1997;77:407-11.
22. Fukuchi M, Watanabe J, Kumagai K, Katori Y, Baba S, Fukuda K, Yagi T, Iguchi A, Yokoyama H, Miura M, Kagaya Y, Sato S, Tabayashi K, Shirato K. Increased von Willebrand factor in the endocardium as a local predisposing factor for thrombogenesis in overloaded human atrial appendage. *J Am Coll Cardiol* 2001;37:1436-42.
23. Goldsmith I, Kumar P, Carter P, Blann AD, Patel RL, Lip GY. Atrial endocardial changes in mitral valve disease: a scanning electron microscopy study. *Am Heart J* 2000;140:777-84.

24. Fujikawa K, Suzuki H, McMullen B, Chung D. Purification of human von Willebrand factor-cleaving protease and its identification as a new member of the metalloproteinase family. *Blood* 2001;98:1662-6.
25. Gerritsen HE, Robles R, Lammle B, Furlan M. Partial amino acid sequence of purified von Willebrand factor-cleaving protease. *Blood* 2001;98:1654-61.
26. Soejima K, Mimura N, Hirashima M, Maeda H, Hamamoto T, Nakagaki T, Nozaki C. A novel human metalloprotease synthesized in the liver and secreted into the blood: possibly, the von Willebrand factor-cleaving protease? *J Biochem* 2001;130:475-80.
27. Furlan M, Robles R, Lamie B. Partial purification and characterization of a protease from human plasma cleaving von Willebrand factor to fragments produced by in vivo proteolysis. *Blood* 1996;87:4223-34.
28. Tsai HM. Physiologic cleavage of von Willebrand factor by a plasma protease is dependent on its conformation and requires calcium ion. *Blood* 1996;87:4235-44.
29. Zheng X, Chung D, Takayama TK, Majerus EM, Sadler JE, Fujikawa K. Structure of von Willebrand factor-cleaving protease (ADAMTS13), a metalloprotease involved in thrombotic thrombocytopenic purpura. *J Biol Chem* 2001;276:41059-63.
30. Plaimauer B, Zimmermann K, Volkel D, Antoine G, Kerschbaumer R, Jenab P, Furlan M, Gerritsen H, Lammle B, Schwarz HP, Scheiflinger F. Cloning, expression, and functional characterization of the von Willebrand factor-cleaving protease (ADAMTS13). *Blood* 2002;100:3626-32.
31. Suzuki M, Murata M, Matsubara Y, Uchida T, Ishihara H, Shibano T, Ashida S, Soejima K, Okada Y, Ikeda Y. Detection of von Willebrand factor-cleaving protease (ADAMTS-13) in human platelets. *Biochem Biophys Res Commun* 2004;313:212-6.
32. Shang D, Zheng XW, Niiya M, Zheng XL. Apical sorting of ADAMTS13 in vascular endothelial cells and Madin-Darby canine kidney cells depends on the CUB domains and their association with lipid rafts. *Blood* 2006;108:2207-15.

33. Mannucci PM, Canciani MT, Forza I, Lussana F, Lattuada A, Rossi E. Changes in health and disease of the metalloprotease that cleaves von Willebrand factor. *Blood* 2001;98:2730–5.
34. Ono T, Mimuro J, Madoiwa S, Soejima K, Kashiwakura Y, Ishiwata A, Takano K, Ohmori T, Sakata Y. Severe secondary deficiency of von Willebrand factor–cleaving protease (ADAMTS13) in patients with sepsis–induced disseminated intravascular coagulation: its correlation with development of renal failure. *Blood* 2006;107:528–34.
35. Yamazaki S, Taki M, Yasumuro Y, Takayama S, Miyake F, Fujimura Y, Suzuki Y. [Von Willebrand factor–cleaving protease activity in patients of collagen disease with antiphospholipid antibodies]. *Rinsho Byori* 2002;50:301–7.
36. Reiter RA, Knobl P, Varadi K, Turecek PL. Changes in von Willebrand factor–cleaving protease (ADAMTS13) activity after infusion of desmopressin. *Blood* 2003;101:946–8.
37. Padilla A, Moake JL, Bernardo A, Ball C, Wang Y, Arya M, Nolasco L, Turner N, Berndt MC, Anvari B, Lopez JA, Dong JF. P–selectin anchors newly released ultralarge von Willebrand factor multimers to the endothelial cell surface. *Blood* 2004;103:2150–6.
38. Kaikita K, Soejima K, Matsukawa M, Nakagaki T, Ogawa H. Reduced von Willebrand factor–cleaving protease (ADAMTS13) activity in acute myocardial infarction. *J Thromb Haemost* 2006;4:2490–3.
39. Matsukawa M, Kaikita K, Soejima K, Fuchigami S, Nakamura Y, Honda T, Tsujita K, Nagayoshi Y, Kojima S, Shimomura H, Sugiyama S, Fujimoto K, Yoshimura M, Nakagaki T, Ogawa H. Serial changes in von Willebrand factor–cleaving protease (ADAMTS13) and prognosis after acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 2007;100:758–63.
40. Fuchigami S, Kaikita K, Soejima K, Matsukawa M, Honda T, Tsujita K, Nagayoshi Y, Kojima S, Nakagaki T, Sugiyama S, Ogawa H. Changes in plasma von Willebrand factor–cleaving protease (ADAMTS13) levels in patients with unstable angina. *Thromb Res* 2008;122:618–23.

41. Soejima K, Nakamura H, Hirashima M, Morikawa W, Nozaki C, Nakagaki T. Analysis on the molecular species and concentration of circulating ADAMTS13 in Blood. *J Biochem* 2006;139:147–54.
42. Bongers TN, de Maat MP, van Goor ML, Bhagwanbali V, van Vliet HH, Gomez Garcia EB, Dippel DW, Leebeek FW. High von Willebrand factor levels increase the risk of first ischemic stroke: influence of ADAMTS13, inflammation, and genetic variability. *Stroke* 2006;37:2672–7.
43. Bernardo A, Ball C, Nolasco L, Moake JF, Dong JF. Effects of inflammatory cytokines on the release and cleavage of the endothelial cell-derived ultralarge von Willebrand factor multimers under flow. *Blood* 2004;104:100–6.
44. Conway DS, Buggins P, Hughes E, Lip GY. Relationship of interleukin-6 and C-reactive protein to the prothrombotic state in chronic atrial fibrillation. *J Am Coll Cardiol* 2004;43:2075–82.
45. Psychari SN, Apostolou TS, Sinos L, Hamodraka E, Liakos G, Kremastinos DT. Relation of elevated C-reactive protein and interleukin-6 levels to left atrial size and duration of episodes in patients with atrial fibrillation. *Am J Cardiol* 2005;95:764–7.
46. Fatkin D, Kelly R, Feneley MP. Left atrial appendage blood velocity and thromboembolic risk in patients with atrial fibrillation. *J Am Coll Cardiol* 1994;24:1429–30.
47. Handke M, Harloff A, Hetzel A, Olschewski M, Bode C, Geibel A. Left atrial appendage flow velocity as a quantitative surrogate parameter for thromboembolic risk: determinants and relationship to spontaneous echocontrast and thrombus formation—a transesophageal echocardiographic study in 500 patients with cerebral ischemia. *J Am Soc Echocardiogr* 2005;18:1366–72.
48. Mondillo S, Sabatini L, Agricola E, Ammaturro T, Guerrini F, Barbati R, Pastore M, Fineschi D, Nami R. Correlation between left atrial size, prothrombotic state and markers of endothelial dysfunction in patients with lone chronic nonrheumatic atrial fibrillation. *Int J Cardiol* 2000;75:227–32.

49. Matsumoto M, Kawaguchi S, Ishizashi H, Yagi H, Iida J, Sakaki T, Fujimura Y. Platelets treated with ticlopidine are less reactive to unusually large von Willebrand factor multimers than are those treated with aspirin under high shear stress. *Pathophysiol Haemost Thromb* 2005;34:35–40.
50. Li-Saw-Hee FL, Blann AD, Lip GY. Effects of fixed low-dose warfarin, aspirin-warfarin combination therapy, and dose-adjusted warfarin on thrombogenesis in chronic atrial fibrillation. *Stroke* 2000;31:828–33.