

総 説

抗リン脂質抗体症候群

野島順三

山口大学医学部保健学系・基礎検査学講座 宇部市南小串1丁目1-1 (〒755-8505)

Key words : 抗カルジオリピン抗体, ループアンチコアグラント,
全身性エリテマトーデス, 動・静脈血栓症, 習慣性流死産

和文抄録

抗リン脂質抗体症候群は, 抗カルジオリピン抗体やループスアンチコアグラントなどに代表される抗リン脂質抗体 (aPL) の出現と, それに伴う動脈・静脈血栓症や習慣性流死産を特徴とする自己免疫性血栓性疾患であるが, その発症機序は未だ解明されていない。我々は, aPLがリン脂質に直接結合する抗体ではなく種々のタンパク分子が酸性リン脂質に結合し構造変化を起こした際に出現する新たなエピトープを認識して結合する抗体であることに着目し, 5種類のリン脂質結合タンパク [β 2-グリコプロテイン I (β 2-GPI), プロトロンビン (PT), プロテインC (PC), プロテインS (PS), アネキシン V (AN)] に対するaPLを認識エピトープ別に検出するELISAシステムを確立した。そして各エピトープ認識aPLと血栓性合併症との関連を検討した結果, β 2-GPIおよびPTを標的抗原とするaPLは動脈血栓症の発症に関連しており, 特に両抗体が共に陽性の患者群は脳梗塞など重篤な動脈血栓塞栓症の high risk群であることを明らかにした。一方, PCおよびPSに対するaPLは静脈血栓症で特異的に抗体の出現率が高く, 特にPSを標的抗原とするaPLは深部静脈血栓症や肺塞栓症の重要な危険因子であることを見出した。また, ANを標的抗原とするaPLは習慣性流死産の発症に関連していることを確認した。さらにaPLによる血栓形成機序について, β 2-

GP IおよびPTに対するaPLが血小板の活性化を促進し, この血小板活性化促進作用が動脈血栓形成の重要な要因となることを明らかにした。一方, PSに対するaPLが後天性のAPC-resistance反応を惹起し, 静脈血栓塞栓症の発症に強く関連していることを確認した。さらに β 2-GP Iに対するaPLが細胞表面組織因子の発現を増加させ, アテローム性動脈硬化症を引き起こすことを明らかにした。

緒 言

近年, 生活習慣の欧米化に伴い血栓症の頻度は明らかな増加傾向を示しており, わが国においても血栓症関連の研究は重要性を増している。血栓症の発症原因は, 先天性血栓性素因と後天性血栓性素因とに大別される¹⁾。先天性血栓性素因はプロテインC・プロテインS・アンチトロンビンなどの血液凝固制御因子や, プラスミノゲン・プラスミノゲンアクチベーターなどの線溶系促進因子の単一遺伝子の異常を直接の病因とするものが多く, 診断法や治療法の確立は比較的容易である。一方, 後天性の血栓性疾患の場合, 血栓症の発症に複数因子の異常と環境要因が混在しており, 診断法や治療法の確立は極めて困難である。実際, 臨床検査診断学が目覚しく進歩した現在でも後天性血栓症の発症原因を確定できる症例は20%に満たない。

近年, 抗リン脂質抗体症候群 (APS) という新たな疾患概念が後天性血栓性素因の代表的疾患として定着しつつある²⁻⁴⁾。本症候群は, 生体内にリン

脂質に関連する自己抗体である抗リン脂質抗体 (aPL) が産生されることにより動脈・静脈血栓症や習慣性流産等婦人科疾患など特異な病態を呈する患者群の総称であり、その鑑別診断法や治療法に関して急速に研究が進められている。本稿では、APSの疾患概念について解説すると共に、APSの鑑別診断および血栓形成機序について、最近我々が得た知見を中心に概説したい。

1. 抗リン脂質抗体症候群 (APS)

APSは、抗カルジオリピン抗体 (aCL) やループスアンチコアグラント (LA) などに代表されるaPLの出現と、それに伴う種々の血栓性病態を特徴とする自己免疫性血栓性疾患である。本症候群は、1983年にHughesらによりaPLの出現と血栓症や血小板減少症との関連が指摘され⁵⁾、1986年に同研究グループによって提唱された比較的新しい疾患概念である³⁾。APSは、膠原病に合併する続発性APSが大半を占め、基礎疾患として全身性エリテマトーデス (SLE) が最も多い。また、既知の膠原病や明らかな基礎疾患・誘因を持たない若年性の動脈・静脈血栓症や原因不明の習慣性流産患者にもaPLが検出される場合が多く、原発性APSと呼ばれる。

Table 1 抗リン脂質抗体症候群診断基準 (2004年 国際抗リン脂質抗体シンポジウム)

【臨床所見】	
1. 動・静脈血栓症	動・静脈血栓症は、画像診断で明らかにするか、あるいは病理組織学的に血管炎を伴わない血栓であることを確認する必要がある。
2. 婦人科疾患	a. 3回以上連続した妊娠10週以前の流産 (母体の解剖学的異常、内分泌学的異常、父母の染色体異常を除く)。 b. 妊娠10週以降の他に理由のない正常形態児の死亡 c. 重症妊娠中毒症または胎盤機能不全による妊娠34週以前の正常形態児の早産
【検査所見】	
1. 抗カルジオリピン抗体 (aCL)	標準化されたELISAにおいて中等度以上の力価 (> 40 GPL or MPL、> 99パーセントイル) IgG型またはIgM型の抗カルジオリピン抗体が、12週間以上の間隔をあけて2度以上検出される。
2. 抗β2-グロブリン1抗体	標準化されたELISAにおいて中等度以上の力価 (> 99パーセントイル) IgG型またはIgM型の抗β2-グロブリン1抗体が、12週間以上の間隔をあけて2度以上検出される。
3. ループスアンチコアグラント (LA)	12週間以上の間隔をあけて2度以上、国際血栓止血学会標準化委員会のガイドラインに基づいた以下の方法にてループスアンチコアグラント活性が検出される。 a. 活性化部分トロンボプラスチン時間・カオリン凝固時間・希釈ラッセル蛇毒時間・希釈プロトロンビン時間・テキスタリン時間などのスクリーニング検査でリン脂質依存性凝固時間の延長が確認される。 b. 健常人血漿を加えた混合試験にて上記が補正されない。 c. 過剰のリン脂質添加による確認試験において上記が補正される。 d. ヘパリンの投与や凝固第Ⅷ因子へのインヒビターが存在するなどの明らかな凝固異常がある場合を除く。 以上の4項目を確認できた場合にLA活性陽性と判定する。
診断: 臨床所見のうち1項目以上が存在し、かつ検査所見のうち1項目以上を確認したときAPSと診断する。	

さらに、APSの特殊型として劇症型APSがある。本症は全身広範な血栓症で発症し、急激な経過をとり、臓器病変を伴う極めて予後不良なAPSである。

現在APSの診断には2004年の国際抗リン脂質抗体シンポジウムで改定されたAPS診断基準が有用である⁶⁾。つまり、画像検査や病理所見で診断された動脈および静脈の血栓塞栓症や習慣性流産が確認され、さらに検査所見として標準化されたELISAにより検出されたaCL、あるいは国際血栓止血学会のガイドラインに基づいた方法で判定されたLA活性が、12週間以上の間隔をあけて2度以上確認された場合APSと診断される (Table 1)。

APSに関連する血栓症は極めて多彩であり、繰り返して再発するのが特徴である。動脈血栓症では脳血栓による脳梗塞や一過性脳虚血発作など脳血管障害が多く、次いで心筋梗塞や肝梗塞などの臓器障害がみられる⁷⁾。静脈血栓症では下肢深部静脈血栓症が最も多く、しばしば肺塞栓症を併発する。さらに習慣性流産等婦人科疾患もAPSに関連する重要な病態である。これは、aPLによる胎盤内多発性血栓に伴う胎盤の機能不全が原因であると考えられている。

2. 抗リン脂質抗体 (aPL)

抗リン脂質抗体には、固相化カルジオリピンを用いたELISAにより定量されるaCLと、リン脂質依存性凝固反応に対する阻害活性として検出されるLA活性とがある。

当初、aCLはカルジオリピンなどの酸性リン脂質に直接結合する自己抗体だと考えられていた。しかし、研究の過程で自己免疫疾患由来のaCLはカルジオリピンに直接反応するのではなく、カルジオリピンと結合する際にβ2-グロブリン1 (β2-GPI) という血漿タンパクの関与を必要とすることが明らかとなった⁸⁻¹⁰⁾。その後、aCLはカルジオリピンなどの酸性リン脂質に結合することにより構造変化を起こしたβ2-GPI分子上に現れる新たなエピトープを認識して結合する抗体、すなわち抗CL/β2-GPI抗体であることが確認された (図1-A)¹¹⁻¹³⁾。

さらに近年、β2-GPI以外の標的抗原として注目されているリン脂質結合タンパクがプロトロンビンである¹⁴⁻¹⁶⁾。活性化血小板膜表面の主要な陰イオン

リン脂質であるフォスファチジルセリンを固相化抗原とし、その上から一定量の精製ヒトプロトロンビンを添加して抗フォスファチジルセリン/プロトロンビン抗体（抗PS/PT抗体）として検出するELISAが確立された（図1-B）^{17, 18)}。本抗体はフォスファチジルセリンに結合することにより構造変化を起こしたプロトロンビン分子上のエピトープを認識して結合する抗体だと考えられている。

LA活性は国際血栓止血学会標準化委員会により次のように定義されている¹⁹⁾。1) *In vitro*でのリン脂質依存性凝固時間の延長、2) 凝固時間延長の原因がインヒビターであることの証明、3) 存在するインヒビターが個々の凝固因子に対してではなくリン脂質に対して特異的であることの証明、これらを全て満たしてはじめてLA活性陽性と判定される²⁰⁻²²⁾。近年の研究よりLA活性の主な原因抗体が抗PS/PT抗体であることが明らかとなった¹⁷⁾。従来のリン脂質依存性凝固検査でLA活性陽性と判定されてきた症例の約60%が抗PS/PT抗体によるものと考えられる。また、以前から抗CL/ β 2-GP I抗体にもLA活性を示すタイプの抗体が存在していることが知られて

おり、少なくとも2種類以上の抗リン脂質抗体がLA活性の発現に関連していると推測される¹⁸⁾。

3. aPLの認識エピトープ解析によるAPSの鑑別診断

最近、aPLは認識するエピトープの違いにより幾つかのタイプに分類されることが明らかとなってきた^{16, 23, 24)}。前述した如く、aPLは酸性リン脂質に結合し構造変化を起こした β 2-GP IあるいはPT分子上のエピトープを認識して結合する抗体である。さらに β 2-GP IやPTと同様にプロテインC (PC)、プロテインS (PS)、アネキシンV (AN)などのリン脂質結合タンパクも酸性リン脂質に結合し構造変化を起こすことが知られており、それぞれaPLの重要なエピトープ提供タンパクである可能性が考えられる²⁵⁾。我々は、APSに関連する多彩な臨床病態を解明し、有効な治療法を確立するためには、これら全てのリン脂質結合タンパクに対するaPLの検索が必須と考え、5種類のリン脂質結合タンパク (β 2-GP I, PT, PC, PS, AN) に対するaPLを、それぞれ認識するエピトープ別に検出するELISAを確立

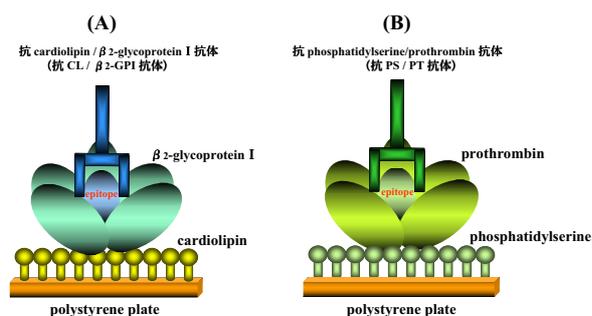


図1 代表的な抗リン脂質抗体のELISAにおける反応模式図

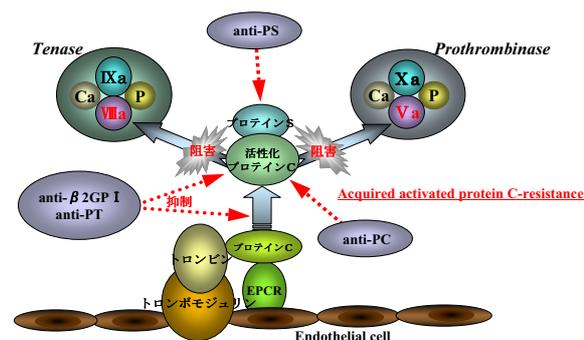


図3 抗リン脂質抗体による後天性活性化プロテインCレジスタンス反応

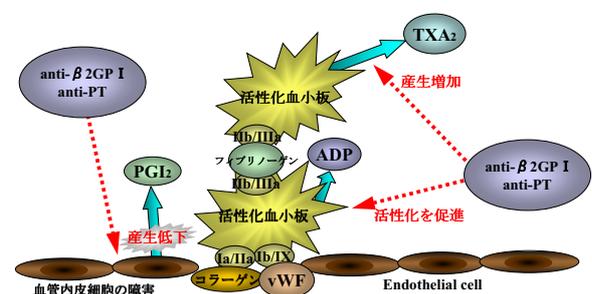


図2 抗リン脂質抗体による血小板活性化の促進

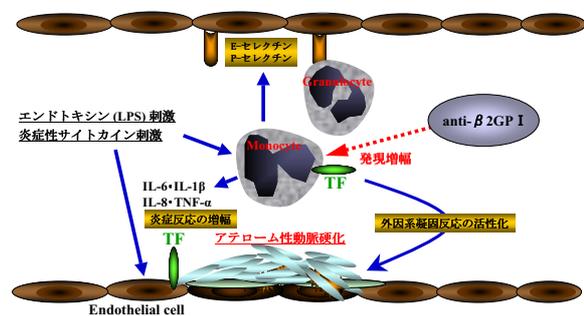


図4 抗リン脂質抗体による単球表面組織因子発現の増幅

し、各エピトープ認識aPLと血栓性合併症との関連について検討した²⁵⁾。その結果、 β 2-GP IおよびPTを標的抗原とするaPLは、動脈血栓症の発症に関連しており、特に両抗体が共に陽性の患者群は脳梗塞や一過性脳虚血発作など重篤な動脈血栓症のhigh risk群であることを明らかにした²⁵⁾。一方、PCおよびPSに対するaPLは静脈血栓症で特異的に抗体の出現率が高く、特にPSを標的抗原とするaPLは深部静脈血栓症や肺塞栓症の重要な危険因子となることを見出した²⁵⁾。また、ANを標的抗原とするaPLは習慣性流死産の発症に関連している可能性が示唆された²⁵⁾。このように患者血中に出現するaPLの認識エピトープの違いにより発症する合併症に相違が認められ、APSに関連する多彩な合併症は抗体のタイプや多様性に起因していると推測される。

4. 各種aPLによる血栓形成機序

aPLによる血栓形成機序は大きく分けて2通りの作用が考えられる。一つは抗体が β 2-GP IやPTなどのエピトープ提供タンパクを介して血小板活性化や血管内皮細胞に及ぼす作用である²⁶⁻²⁹⁾。我々は、*In vitro*の実験において β 2-GP IとPTを標的抗原とするaPLが無刺激の正常血小板の活性化は惹起しないが、低濃度ADPなど他の因子による可逆性の血小板活性化を明らかに促進することを見出した^{30,31)}。さらに、それらのaPLを高力価で持つ患者の生体内血小板は非常に活性化されやすい状態で循環していることを確認した³¹⁾。APS患者では生体内でthromboxane A₂ (TXA₂)の産生が増加していることが報告されている¹⁶⁾。これは生体内で血小板の活性化が異常亢進し、その結果、活性化血小板によるTXA₂産生が増加している証拠である。またaPLが血管内皮細胞に障害をもたらしprostacyclin (PGI₂)の産生が抑制されることが知られている。活性化血小板からのTXA₂産生が亢進し、血管内皮細胞からのPGI₂産生が低下することによりTXA₂/PGI₂バランスが崩れ血栓形成傾向に傾くことが推測される。aPLによる血小板活性化亢進や血管内皮細胞障害などの作用は、特に血小板血栓による動脈血栓症の発症に関連していると考えられる(図2)。もう一つの作用は抗体がエピトープ提供タンパクを介して活性化プロテインC (APC)系凝固

制御機構を阻害することである。 β 2-GP IやPTを標的抗原とするaPLがAPC系凝固制御機構を間接的に阻害することは幾つかの研究グループにより報告されている³²⁻³⁹⁾。最近我々は、PSを標的抗原とするaPLがAPCの抗凝固活性を阻害し、後天性のAPCレジスタンス (APC-R)を惹起することを見出し、このAPC-Rが深部静脈血栓症の発症の病因となることを明らかにした(図3)^{40,41)}。このように、aPLが標的とするリン脂質結合タンパクの種類によりaPLの血栓形成機序が異なること、そしてこれらの異なる血栓形成機序が幾つか組み合わせることによりAPSの様々な合併症が発症すると推測された。

5. aPLによる細胞表面TF発現増加とアテローム性動脈硬化症

APSの基礎疾患として最も代表的なSLEでは、免疫応答・炎症反応・感染に伴うエンドトキシンやサイトカインによる細胞刺激により、単球・マクロファージや血管内皮細胞における組織因子(TF)の発現が誘発されやすい。これらの細胞表面におけるTFの発現増加は、外因系凝固反応を活性化させ血栓形成を誘発するだけではなく、炎症性サイトカインの産生・分泌や接着分子の発現を促すことにより炎症反応を増幅させ、動脈硬化などの血管病変を引き起こすことが知られている⁴²⁻⁴⁴⁾。

最近我々は、 β 2-GP Iを標的抗原とするaPLが、細胞表面レセプターを介して単球を活性化することにより単球表面TFの発現を増幅させ、アテローム性動脈硬化を惹起することを確認した(図4)⁴⁵⁾。さらに、aPLに関連するアテローム性動脈硬化は閉塞性動脈硬化症へと進行し、狭心症や心筋梗塞など虚血性心疾患を引き起こす極めて重要な危険因子となることを明らかにした⁴⁶⁾。

結 語

近年、APSの病態解明は分子レベルの研究により新たな展開を迎えようとしている。APSに関連する合併症は、脳血管障害や虚血性心疾患などの動脈血栓症から深部静脈血栓症や肺塞栓症などの静脈血栓症から、さらには習慣性流死産等婦人科疾患など極めて多彩であり、それぞれの病態に各々異

なった血栓形成作用が複雑に関与していると推測される。

本稿では、aPLが認識するエピトープ提供タンパクの違いにより、血小板活性化促進作用や凝固制御機構に対する阻害作用、さらには細胞表面TF発現増幅作用など様々な血栓形成機序が生じ、それらが複雑に絡み合っ種々の血栓性病態が発症する可能性を紹介した。

今後、それぞれのエピトープ提供タンパクの解析がさらに進み、個々の抗体が及ぼす作用が明らかになるにつれ、APSの病態が解明されると期待される。

文 献

- 1) Lane DA, Mannucci PM, Bauer KA, Bertina RM, Bochkov NP, Boulyjenkov V, Chandy M, Dahlbäck B, Ginter EK, Miletich JP, Rosendaal FR, Seligsohn U. Inherited thrombophilia : Part 1. *Thromb Haemost* 1996 ; **76** : 651-662.
- 2) Hughes GR. The antiphospholipid syndrome : ten years on. *Lancet* 1993 ; **342** : 341-344.
- 3) Hughes GR, Harris NN, Gharavi AE. The anticardiolipin syndrome. *J Rheumatol* 1986 ; **13** : 486-489.
- 4) Khamashta MA, Hughes GR. Antiphospholipid antibodies and antiphospholipid syndrome. *Curr Opin Rheumatol* 1995 ; **7** : 389-394.
- 5) Harris EN, Gharavi AE, Boey ML, Patel BM, Mackworth-Young CG, Loizou S, Hughes GR. Anticardiolipin antibodies : detection by radioimmunoassay and association with thrombosis in systemic lupus erythematosus. *Lancet* 1983 ; **2** : 1211-1214.
- 6) Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Brey RL, Cervera R, Derksen RH, DE Groot PG, Koike T, Meroni PL, Reber G, Shoenfeld Y, Tincani A, Vlachoyiannopoulos PG, Krilis SA. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *J Thromb Haemost* 2006 ; **4** : 295-306.
- 7) Nojima J, Suehisa E, Akita N, Toku M, Fushimi R, Tada H, Kuratsune H, Machii T, Kitani T, Amino N. Risk of arterial thrombosis in patients with anticardiolipin antibodies and lupus anticoagulant. *Br J Haematol* 1997 ; **96** : 447-450.
- 8) Galli M, Comfurius P, Maassen C, Hemker HC, de Baets MH, van Breda-Vriesman PJ, Barbui T, Zwaal RF, Bevers EM. Anticardiolipin antibodies (ACA) directed not to cardiolipin but to a plasma protein cofactor. *Lancet* 1990 ; **335** : 1544-1547.
- 9) Matsuura E, Igarashi Y, Fujimoto M, Ichikawa K, Koike T. Anticardiolipin cofactor (s) and differential diagnosis of autoimmune disease. *Lancet* 1990 ; **336** : 177-178.
- 10) McNeil HP, Simpson RJ, Chesterman CN, Krilis SA. Anti-phospholipid antibodies are directed against a complex antigen that includes a lipid-binding inhibitor of coagulation : beta 2- glycoprotein I (apolipoprotein H) . *Proc Natl Acad Sci U S A* 1990 ; **87** : 4120-4124.
- 11) Igarashi M, Matsuura E, Igarashi Y, Nagae H, Ichikawa K, Triplett DA, Koike T. Human beta2-glycoprotein I as an anticardiolipin cofactor determined using mutants expressed by a baculovirus system. *Blood* 1996 ; **87** : 3262-3270.
- 12) Matsuura E, Igarashi Y, Fujimoto M, Ichikawa K, Suzuki T, Sumida T, Yasuda T, Koike T. Heterogeneity of anticardiolipin antibodies defined by the anticardiolipin cofactor. *J Immunol* 1992 ; **148** : 3885-3891.
- 13) Matsuura E, Igarashi Y, Yasuda T, Triplett DA, Koike T. Anticardiolipin antibodies recognize beta 2-glycoprotein I structure altered by interacting with an oxygen modified solid phase surface. *J Exp Med* 1994 ; **179** : 457-462.
- 14) Galli M, Barbui T. Antiprothrombin antibodies : detection and clinical significance in the antiphospholipid syndrome. *Blood* 1999 ; **93** : 2149-2157.

- 15) Nojima J, Kuratsune H, Suehisa E, Futsukaichi Y, Yamanishi H, Machii T, Kitani T, Iwatani Y, Kanakura Y. Anti-prothrombin antibodies combined with lupus anti-coagulant activity is an essential risk factor for venous thromboembolism in patients with systemic lupus erythematosus. *Br J Haematol* 2001 ; **114** : 647-654.
- 16) Roubey RA. Autoantibodies to phospholipid-binding plasma proteins : a new view of lupus anticoagulants and other "antiphospholipid" autoantibodies. *Blood* 1994 ; **84** : 2854-2867.
- 17) Atsumi T, Ieko M, Bertolaccini ML, Ichikawa K, Tsutsumi A, Matsuura E, Koike T. Association of autoantibodies against the phosphatidylserine-prothrombin complex with manifestations of the antiphospholipid syndrome and with the presence of lupus anticoagulant. *Arthritis Rheum* 2000 ; **43** : 1982-1993.
- 18) Nojima J, Iwatani Y, Suehisa E, Kuratsune H, Kanakura Y. The presence of anti-phosphatidylserine/prothrombin antibodies as risk factor for both arterial and venous thrombosis in patients with systemic lupus erythematosus. *Haematologica* 2006 ; **91** : 699-702.
- 19) Wilson WA, Gharavi AE, Koike T, Lockshin MD, Branch DW, Piette JC, Brey R, Derksen R, Harris EN, Hughes GR, Triplett DA, Khamashta MA. International consensus statement on preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome : report of an international workshop. *Arthritis Rheum* 1999 ; **42** : 1309-1311.
- 20) Galli M, Finazzi G, Barbui T. Antiphospholipid antibodies : predictive value of laboratory tests. *Thromb Haemost* 1997 ; **78** : 75-78.
- 21) Galli M, Finazzi G, Bevers EM, Barbui T. Kaolin clotting time and dilute Russell's viper venom time distinguish between prothrombin-dependent and beta 2-glycoprotein I-dependent antiphospholipid antibodies. *Blood* 1995 ; **86** : 617-623.
- 22) Triplett DA. Lupus anticoagulants / antiphospholipid-protein antibodies : the great imposters. *Lupus* 1996 ; **5** : 431-435.
- 23) Galli M, Beretta G, Daldossi M, Bevers EM, Barbui T. Different anticoagulant and immunological properties of anti-prothrombin antibodies in patients with antiphospholipid antibodies. *Thromb Haemost* 1997 ; **77** : 486-491.
- 24) Galli M, Ruggeri L, Barbui T. Differential effects of anti-beta2-glycoprotein I and antiprothrombin antibodies on the anticoagulant activity of activated protein C. *Blood* 1998 ; **91** : 1999-2004.
- 25) Nojima J, Kuratsune H, Suehisa E, Futsukaichi Y, Yamanishi H, Machii T, Iwatani Y, Kanakura Y. Association between the prevalence of antibodies to beta (2) -glycoprotein I, prothrombin, protein C, protein S, and annexin V in patients with systemic lupus erythematosus and thrombotic and thrombocytopenic complications. *Clin Chem* 2001 ; **47** : 1008-1015.
- 26) Campbell AL, Pierangeli SS, Wellhausen S, Harris EN. Comparison of the effects of anticardiolipin antibodies from patients with the antiphospholipid syndrome and with syphilis on platelet activation and aggregation. *Thromb Haemost* 1995 ; **73** : 529-534.
- 27) Martinuzzo ME, Maclouf J, Carreras LO, Levy-Toledano S. Antiphospholipid antibodies enhance thrombin-induced platelet activation and thromboxane formation. *Thromb Haemost* 1993 ; **70** : 667-671.
- 28) Pierangeli SS, Colden-Stanfield M, Liu X, Barker JH, Anderson GL, Harris EN. Antiphospholipid antibodies from antiphospholipid syndrome patients activate endothelial cells in vitro and in vivo. *Circulation* 1999 ; **99** : 1997-2002.
- 29) Raschi E, Testoni C, Borghi MO, Fineschi S,

- Meroni PL. Endothelium activation in the antiphospholipid syndrome. *Biomed Pharmacother* 2003 ; **57** : 282-286.
- 30) Nojima J, Kuratsune H, Suehisa E, Kitani T, Iwatani Y, Kanakura Y. Strong correlation between the prevalence of cerebral infarction and the presence of anti-cardiolipin/beta2-glycoprotein I and anti-phosphatidylserine / prothrombin antibodies--Co-existence of these antibodies enhances ADP-induced platelet activation in vitro. *Thromb Haemost* 2004 ; **91** : 967-976.
- 31) Nojima J, Suehisa E, Kuratsune H, Machii T, Koike T, Kitani T, Kanakura Y, Amino N. Platelet activation induced by combined effects of anticardiolipin and lupus anticoagulant IgG antibodies in patients with systemic lupus erythematosus--possible association with thrombotic and thrombocytopenic complications. *Thromb Haemost* 1999 ; **81** : 436-441.
- 32) Aznar J, Villa P, Espana F, Estelles A, Grancha S, Falco C. Activated protein C resistance phenotype in patients with antiphospholipid antibodies. *J Lab Clin Med* 1997 ; **130** : 202-208.
- 33) Ehrenforth S, Radtke KP, Scharrer I. Acquired activated protein C-resistance in patients with lupus anticoagulants. *Thromb Haemost* 1995 ; **74** : 797-798.
- 34) Ieko M, Ichikawa K, Triplett DA, Matsuura E, Atsumi T, Sawada K, Koike T. Beta2-glycoprotein I is necessary to inhibit protein C activity by monoclonal anticardiolipin antibodies. *Arthritis Rheum* 1999 ; **42** : 167-174.
- 35) Male C, Mitchell L, Julian J, Vegh P, Joshua P, Adams M, David M, Andrew ME. Acquired activated protein C resistance is associated with lupus anticoagulants and thrombotic events in pediatric patients with systemic lupus erythematosus. *Blood* 2001 ; **97** : 844-849.
- 36) Malia RG, Kitchen S, Greaves M, Preston FE. Inhibition of activated protein C and its cofactor protein S by antiphospholipid antibodies. *Br J Haematol* 1990 ; **76** : 101-107.
- 37) Martinuzzo M, Forastiero R, Adamczuk Y, Cerrato G, Carreras LO. Activated protein C resistance in patients with anti-beta 2 glycoprotein I antibodies. *Blood Coagul Fibrinolysis* 1996 ; **7** : 702-704.
- 38) Picillo U, De Lucia D, Palatiello E, Scuotto A, Marcialis MR, Pezzella S, Tirri G. Association of primary antiphospholipid syndrome with inherited activated protein C resistance. *J Rheumatol* 1998 ; **25** : 1232-1234.
- 39) Ruiz-Arguelles GJ, Garces-Eisele J, Alarcon-Segovia D, Ruiz-Arguelles A. Activated protein C resistance phenotype and genotype in patients with primary antiphospholipid syndrome. *Blood Coagul Fibrinolysis* 1996 ; **7** : 344-348.
- 40) Nojima J, Kuratsune H, Suehisa E, Iwatani Y, Kanakura Y. Acquired Activated Protein C Resistance Associated with IgG Antibodies against beta2-Glycoprotein I and Prothrombin as a Strong Risk Factor for Venous Thromboembolism. *Clin Chem* 2005 ; **51** : 545-552.
- 41) Nojima J, Kuratsune H, Suehisa E, Kawasaki T, Machii T, Kitani T, Iwatani Y, Kanakura Y. Acquired activated protein C resistance is associated with the co-existence of anti-prothrombin antibodies and lupus anticoagulant activity in patients with systemic lupus erythematosus. *Br J Haematol* 2002 ; **118** : 577-583.
- 42) Roubey RA. Tissue factor pathway and the antiphospholipid syndrome. *J Autoimmun* 2000 ; **15** : 217-220.
- 43) Sherer Y, Shoenfeld Y. Mechanisms of disease : atherosclerosis in autoimmune diseases. *Nat Clin Pract Rheumatol* 2006 ; **2** : 99-106.
- 44) Wolberg AS, Roubey RA. Mechanisms of

- autoantibody-induced monocyte tissue factor expression. *Thromb Res* 2004 ; **114** : 391-396.
- 45) Nojima J, Masuda Y, Iwatani Y, Suehisa E, Futsukaichi Y, Kuratsune H, Watanabe Y, Takano T, Hidaka Y, Kanakura Y. Tissue factor expression on monocytes induced by anti-phospholipid antibodies as a strong risk factor for thromboembolic complications in SLE patients. *Biochem Biophys Res Commun* 2008 ; **365** : 195-200.
- 46) Nojima J, Masuda Y, Iwatani Y, Kuratsune H, Watanabe Y, Suehisa E, Takano T, Hidaka Y, Kanakura Y. Arteriosclerosis obliterans associated with anti-cardiolipin antibody/beta2-glycoprotein I antibodies as a strong risk factor for ischaemic heart disease in patients with systemic lupus erythematosus. *Rheumatology (Oxford)* 2008 ; **47** : 684-689.