

血栓性血小板減少性紫斑病

石西 綾美 松本 雅則 藤村 吉博

要 旨：血栓性血小板減少性紫斑病は血漿交換が著効する全身性重篤疾患であるが、そのEBMが不明であった。2001年にvon Willebrand因子(VWF)切断酵素であるADAMTS13が同定され、典型的TTPではこの酵素に対する活性中和抗体が生じ、血中に切断されない超巨大分子構造を持つVWFが蓄積し、過剰な血小板凝集が起こるためと説明できるようになった。ADAMTS13活性の迅速測定法は本邦で開発された。

(J Jpn Coll Angiol, 2009, 49: 359-364)

Key words: TMA, TTP/HUS, ADAMTS13, UL-VWFm

はじめに

血栓性血小板減少性紫斑病(thrombotic thrombocytopenic purpura, TTP)は、1924年、米国のMoschowitz¹⁾によって最初に報告された。患者は16歳女性で高熱と多臓器障害で入院し、1週間の急性経過にて死亡している。この患者の病理解剖では肺を除く脳、心、肝、腎など全身諸臓器の細小動脈と毛細血管に、広範なガラス様血栓(ヒアリン膜血栓)を認めた。1966年、Amorosi & Ultmann²⁾は自験例16例と文献報告を合わせて255例の類似疾患を解析することにより、Moschowitzの「ヒアリン膜血栓症」に該当する疾患は、① 細血管障害性溶血性貧血、② 破壊性血小板減少、③ 血小板血栓による臓器(特に腎臓)機能障害、④ 発熱、⑤ 動揺性精神神経障害の5徴候からなる「古典的診断基準」を述べた。

一方、1955年ドイツのGasser³⁾らは、後天性溶血性貧血、血小板減少、腎不全の3徴候を呈し、死亡した小児5名の病理解剖で、両側腎皮質の壊死性変化を確認し、このような疾患を溶血性尿毒症症候群(hemolytic uremic syndrome, HUS)と呼んだ。以後、「成人で神経症状優位のものTTP」、そして「小児で腎症状優位のものHUS」と、大まかに鑑別されてきた。近年、TTPとHUSは前記①～③の3徴候が共通であることから、「病理解剖学的診断名」である「血栓性微小血管障害症(thrombotic microangiopathy, TMA)」という診断名が多用される傾向

にある⁴⁾。最近の分類をTable 1に示すが、TTPとHUSのいずれもが先天性と後天性要因によって生ずることが知られており、先天性TTPは後述のADAMTS13遺伝子異常にて、また後天性TTPはADAMTS13に対する自己抗体が産生されて起こり、一方、先天性HUSは補体調節因子の遺伝子異常にて、また後天性HUSの90%以上はペロ毒素を産生する病原大腸菌O157:H7の感染性腸炎に続発することがよく知られている。

本稿では、ADAMTS13を中心にTTPを解説し、その病態と治療について述べる。

UL-VWFmとADAMTS13

止血因子であるvon Willebrand因子(VWF)は、障害血管壁への血小板粘着・凝集と血液凝固第VIII因子の担体蛋白としての二つの重要な機能を持つ。VWFは主に血管内皮細胞で産生され、2050のアミノ酸残基からなる単一サブユニットが、head-to-headそしてtail-to-tailのジスルフィド(SS)結合をすることにより多重体(multimer, M)構造をもつのが特徴である⁵⁾。産生されたVWFmはWeibel-Palade体(WPB)⁶⁾という内皮細胞内の小器官に貯蔵され、刺激により血管腔内に放出される。一方、血管内皮細胞から放出されて間もないVWFは超巨大分子構造を持ち、unusually large VWFm(UL-VWFm)と呼ばれているが、その生物学的比活性はVWFmの中で最も高い。それ故、細小動脈や毛細血管など、「高ずり応力」が生じる

Table 1 Characterization of thrombotic microangiopathies (TMAs)

Diseases	TTP	HUS
	Thrombotic thrombocytopenic purpura (Moschcowitz: 1924)	Hemolytic uremic syndrome (Gasser et al: 1955)
Clinical signs (Classic)	Pentad (Amorosi & Ultmann: 1966)	Triad
① Hemolytic anemia (microangiopathic)	+	+
② Thrombocytopenia (destructive)	+	+
③ Renal insufficiency	+	+
④ Fever	+	-
⑤ Neurological signs (fluctuated)	+	-
Classification (Present)		
Congenital (gene mutations)	ADAMTS13	Complement regulatory factors
Acquired	Positive antibodies to ADAMTS13	Children infected by E. coli O157: H7

ところでは立体分子構造が進展型(活性型)に変化し、過剰な血小板凝集・血栓を引き起こすと考えられている。

WPBは電子顕微鏡では蓮根によく似た多孔性構造を持つことが示されており、そこには炎症や白血球の接着、ローリングに関与する接着因子P-selectinも同時に蓄積されている。このP-selectinは血管内皮細胞が活性化され、UL-VWFが放出される際に、同時に血管内皮細胞表面に発現され、UL-VWFを同細胞に係留し、高ずり応力下のADAMTS13による切断が効果的に行われるようにする作用を担っている(Fig. 1)。また興味ある事に、先天性VWF欠損症であるtype 3 von Willebrand病(VWD)患者では血管内皮細胞内のWPBも欠失しており、VWF—WPB間には密接な関係があると考えられている(オランダSanquin, Jan A. van Mourik博士私信)。

ADAMTS13

ADAMTS13(a disintegrin-like and metalloproteinase with thrombospondin type 1 motifs13)は2001年にそのcDNA構造が明らかにされ⁷⁾、ADAMTSファミリーに属する亜鉛型メタロプロテアーゼで13番目に発見されたことからADAMTS13と命名された。ADAMTS13遺伝子は染色体9q34上に位置し、29個のexonから構成され、開始コドンから停止コドンまで4281bp、アミノ酸では1427残基の1本の糖鎖蛋白質である⁸⁾。また、さまざまなドメインを持つマルチドメイン構造から成りたっており、Soejimaら⁹⁾はCys-rich/Spacer (C/Sp)ドメインに、基質であるVWFを認識する必須の領域が存在することを明らかとした。また、後天性TTP患者のADAMTS13に対するIgG型自己(中

和活性)抗体(インヒビター)はC/Spドメインにそのエピトープが存在することも確認されている(Fig. 2)。

ADAMTS13産生細胞

ADAMTS13の産生臓器として最初に肝臓が同定され、同産生細胞については肝星細胞(旧伊東細胞)であることが示された¹⁰⁾。肝星細胞はDisse腔内にあり、類洞血管内皮細胞の外側に張り付くように存在していることから、肝臓の微小循環調節に重要と考えられている。最近Uemuraら¹¹⁾はウイルス肝炎に続発する肝硬変ではその重症度に比例して患者血中のADAMTS13活性が著明に低下する事を報告した。

肝臓以外のADAMTS13蓄積細胞として、血管内皮細胞、血小板、さらに腎臓のpodocyteが報告されているが、これらの生理学的意義は不明である。

ADAMTS13によるUL-VWFのin vivo切断

生体内における「ずり応力」の大きさは、「 τ (ずり応力) = μ (血液粘度) × du (血流速度) / dr (血管内半径)」の式で規定される。つまり、高い血液粘度、細い血管内半径、さらに血流速度が上昇することで、より大きな高ずり応力が生じる。このような状態にあるADAMTS13は静止期に比べて1000倍も高いVWF切断能力を持つともいわれている。

しかし、ADAMTS13活性が先天性もしくは後天性に欠損している場合、基質(substrate, S=UL-VWF)と酵素(enzyme, E=ADAMTS13)間で量的不均衡が生じ、E/S比が極端に低下する。この状況下で生じる血小板血栓により微小循環障害が引き起こされ、重篤な全身性疾患を呈

するのがTTPである。

ADAMTS13活性測定

ADAMTS13活性測定法は1998年以降さまざまなものが考案されたが、古典的測定法ではいずれも精製VWFを基質に用い、またその測定に長時間を要するというもので、手法、手技共に煩雑で一般に普及させることが困難であった。しかし2004年に、国立循環器病センター研究所のKokameら¹²⁾はADAMTS13で容易に切断されるVWF最小基質をVWF-A2ドメイン内の73アミノ酸残基(VWF73)に同定した。これを基質にしたADAMTS13活性測定の簡便迅速化が図られた。彼等は蛍光基と消光基を導入したFRET-VWF73蛍光測定法¹³⁾を開発し、これをキット化したものがTechnoclone GmbH社(ウイーン)で市販され、世界的規模で使用されている。Katoら¹⁴⁾は、ルーチンラボでの利便性を最優先に考え、日本医学臨床検査研究所の日裏らと共同でchromogenic ADAMTS13-act-ELISAを開発した。このアッセイはVWF-A2ドメインのADAMTS13切断断端のアミノ酸残基Tyr1605を特異的に認識するモノクローナル抗体(N10)を作成することにより初めて可能となった。本法での検出限界は0.5%(正常100%として)と超高感度で、さらには従来のVWFm法との相関も $r=0.85$ と良好であった。本アッセイのキット化されたものが本邦ではKainos Lab Inc社(東京)で、また海外ではこれと同じ内容のキットがTechnoclone GmbH社(ウイーン)から市販されている。

国内でのADAMTS13活性の受託検査は、前記FRET-VWF73を用いる測定はSRL社<<http://www.srl-group.co.jp/>>で実施している。また、chromogenic ADAMTS13-act-ELISAでのADAMTS13とそのインヒビター活性の両測定は三菱化学メデイエンス社<<http://www.medience.co.jp/>>が受託している。

鑑別診断

ADAMTS13の同定により、「先天性TTPはADAMTS13遺伝子異常によって、また後天性TTPはADAMTS13に対するIgG型自己抗体によって、同酵素活性が著減す

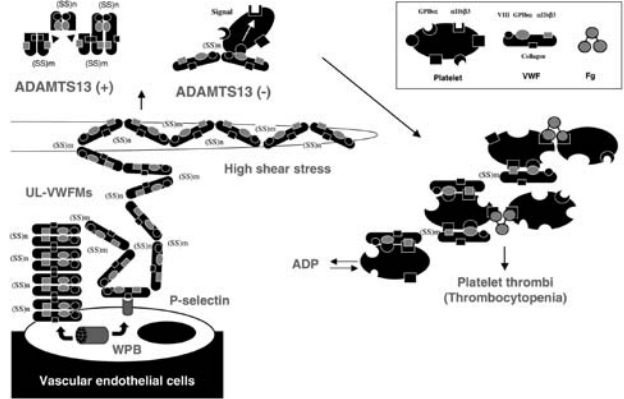


Figure 1 A proposed mechanism of formed platelet thrombi, resulting in thrombocytopenia and organ damages in patients with TTP. Unusually large von Willebrand factor multimers (UL-VWFMs), held together by intersubunit disulfide bonds (SS), are produced in vascular endothelial cells, stored in Weibel-palade bodies (WPB), and then released into circulation constitutively or upon stimulation. P-selectin is also stored in WPB, and released together with UL-VWFMs. UL-VWFMs are linked to vascular endothelial cell surface via P-selectin, and under generation of high shear stress the UL-VWFMs change their molecular conformation to the extended form, to which ADAMTS13 is easily accessible. However, in the absence of ADAMTS13 activity, the uncleaved UL-VWFMs induce platelet aggregation/thrombi, resulting in thrombocytopenia and organ damages in the patients. (日本医事新報 2009)

ADAMTS13

(a disintegrin-like and metalloproteinase with thrombospondin type 1 motifs 13)

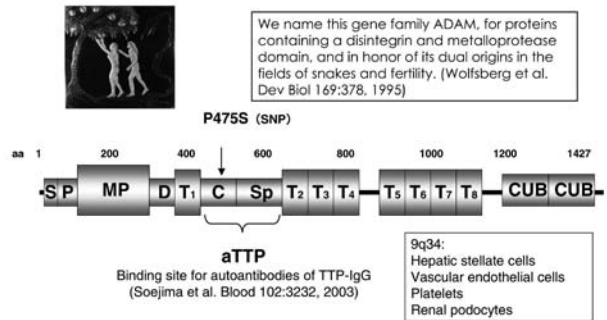


Figure 2 Structure of ADAMTS13, and its nomenclature originated from the myth of Adam and Eve. Lower panel indicates the binding site of autoantibodies (IgG inhibitors) present in patient plasmas with acquired TTP.

る事が原因であること、一方HUSではADAMTS13活性は略正常である」という成績が示された¹⁵⁾。つまり、ADAMTS13活性が著減していればほぼ「定型的」TTPと診断され、さらにADAMTS13インヒビター活性を測定し、陽性(0.5 Bethesda U/mL以上)であれば後天性TTP

を、陰性であればUpshaw-Schulman症候群(USS)(または先天性TTP)を考える。ただインヒビター活性が低値の場合(複数回の測定で0.5~1 Bethesda U/mL)で、特に患者が乳幼児の場合には、先天性か後天性かを明瞭に鑑別できないことがあり、この場合は確定診断のためにADAMTS13遺伝子解析が必須となることもしばしばある。これに対し、ADAMTS13活性が正常ないし軽度低下の場合には、ほとんどインヒビターも陰性で、これらは「非定型」TTPと診断され、実質的にHUSと鑑別不能であるというのが現状である¹⁶⁾。

また、ADAMTS13活性は播種性血管内凝固(disseminated intravascular coagulation, DIC)やヘパリン起因性血小板減少症(heparin-induced thrombocytopenia, HIT)では略正常であることから、これらの鑑別診断にも有用であることが示された。しかし、その後、敗血症に伴うDICでは細菌プロテアーゼないし顆粒球エラスターゼによりADAMTS13が破壊され、失活するためにUL-VWFMが出現し、一見TTPと鑑別し難い状態にあるのではないかという興味ある報告がなされている¹⁷⁾。

TMAの分類

奈良医大輸血部では1998年からFurlanら¹⁵⁾のVWFマルチマー法にて、また2005年からはKatoら¹⁴⁾のchromogenic-act-ELISAにてADAMTS13活性測定を行ってきた。これまで全国の医療施設から測定を依頼された検体数は延べ2万件を超える。その結果、2008年12月までにADAMTS13活性と同インヒビター、さらに臨床検査データとを照合しTMAと診断した919症例の詳細をTable 2に示す¹⁸⁾。ここでのTMA診断基準とはDIC徴候を除外した、① 細血管障害性溶血性貧血(ヘモグロビン<12g/dL, 原則としてハプトグロン検出感度以下)、② 破壊性血小板減少(<100×10⁶/L)、③ 血栓による臓器(特に腎臓)機能障害、の3徴候である。

先天性TMAは、「幼小児期からの反復性TTP-HUS様症状の発現」あるいは「家族性TTP-HUS発症」のあるものとした。このうち、ADAMTS13活性が著減し、同インヒビター陰性のものは先天性TTP(前記USS)と診断されたが、それ以外は原因不明のままである。この中には補体調節因子(Factor H, Factor I, CD46)の遺伝子異常によるものが含まれると考えられるが、未解決のままで今後の研究課題にもなっている。

後天性TMAは、原因が不明なもの(特発性、一次性)

と、基礎病態として、薬剤、膠原病、悪性腫瘍、造血幹細胞・臓器移植、妊娠、HIVなどの感染症に関連して起こるもの(続発性、二次性)とがある¹⁹⁾。このうちADAMTS13活性著減、同酵素に対する自己抗体(主にIgG型のインヒビター)陽性のいわゆる「定型的TTP」はTMA全体のほぼ1/3を占めていた。

TTPの治療

先天性TTP(USS)患者の中で、新生児期に重症黄疸のため交換輸血が実施され、早期に発見されたケースは幼少期にUSSの診断がなされている。一方、新生児期に重症黄疸がなく、幼少期にみられた血小板減少も特発性血小板減少性紫斑病(idiopathic thrombocytopenic purpura, ITP)やEvans症候群などと誤った診断をなされたケースでは、成人期、特に女性の場合は妊娠をきっかけにTTPを発症することがしばしば見受けられる。また後方視的には、TTP発症後もITP、Evans症候群、妊娠中毒症、HELLP症候群、習慣性流産、等とさまざまな別病名がつけられていたことも現在では判明している。USS患者が妊娠を機にTTPを発症するのは、妊娠の2nd-3rd trimesterには血中VWF量が200~500%にまで上昇するのが最も大きな原因とされている。また、USS妊婦のTTP発症防止には新鮮凍結血漿(fresh frozen plasma, FFP)輸注によるADAMTS13補充療法が最も有効と考えられている¹⁶⁾。

後天性TTPに関しては、ADAMTS13活性著減、同インヒビター陽性のいわゆる「定型的TTP」には血漿交換(plasma exchange, PE)療法が有効である。われわれのTMA分類では、特発性や妊娠、薬剤に合併した症例に多くみられた。PEの有用性についてのevidence-based medicine(EBM)は、① ADAMTS13インヒビターの除去、② ADAMTS13の補充、③ UL-VWFMの除去、そして④ 止血に必要な正常サイズVWFの補充、で説明されるが、⑤ 炎症性高サイトカイン血症の是正も効能として期待されている。また、最近難治性TTPに対して、免疫抑制剤のピンクリスチンとリツキサン(保険適用外)を併用し寛解に至った報告もある²⁰⁾。とりわけリツキサンは抗CD20キメラ型モノクロナール抗体で、Bリンパ球を特異的に認識し、IgG型抗ADAMTS13自己抗体(インヒビター)の産生を抑制する。それ故、その適応はPEに対して難治性である場合等に最も有効と考えられる。その他、膠原病や薬剤性TTPのうち、抗血小板薬チクロピジン服用による「定型的TTP」例もまたPE療法による予後が

Table 2 Plasma levels of ADAMTS13:AC and ADAMTS13:INH in 919 patients with thrombotic microangiopathies (TMAs) registered at Nara Medical University during July 1998-December 2008 (Internal Medicine 2009)

	Acquired TMAs										Total				
	Congenital TMAs			Idiopathic											
	Upshaw-Schulman syndrome (USS) (n=41)	Unknown etiology (n=24)		Thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP) (n=284)	Hemolytic-uremic syndrome (HUS) (n=106)	Drug-induced		Conective tissue diseases and Autoimmune diseases (CTDs/ADs) (n=221)		Malignancies (n=61)		Hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) (n=54)	Pregnancy (n=15)	E. coli O157: H7 infection (n=32)	Others (Liver cirrhosis, etc) (n=46)
ADAMTS13:AC (%)	(n=41)	(n=24)		(n=284)	(n=106)	Ticlopidine (n=22)/ Clopidogrel (n=1)	Mitomycin C (n=10)	Pegylated-interferon (n=1)/ Sildenafil (n=1)	(n=221)	(n=61)	(n=54)	(n=15)	(n=32)	(n=46)	(n=919)
<3	40	0	195	0	0	0	2	46	5	0	4	0	13	324	
3~<25	1	4	72	20	2	0	0	66	23	18	4	5	16	233	
25~<50	0	9	14	48	1	5	0	66	22	24	4	17	6	216	
≥50	0	11	3	38	1	3	0	43	11	12	3	10	11	146	
ADAMTS13:INH (U/ml)	(n=41)	(n=23)	(n=282)	(n=43)	(n=22/n=1)	(n=7)	(n=1/n=1)	(n=187)	(n=26)	(n=15)	(n=8)	(n=17)	(n=23)	(n=697)	
≥2	0	0	120	0	0	0	0	28	5	0	3	0	9	180	
0.5~<2	0	0	129	2	0	0	2	80	8	4	2	1	8	242	
<0.5	41	23	33	41	2	7	0	79	13	11	3	16	6	275	

() Sample number determined

良好とされる。

最後に、ADAMTS13活性が軽度から中程度低下のいわゆる「非定型TTP」症例についてであるが、これもPEの治療対象となるとされている。しかし、その効果は「定型的TTP」のほうが優れている。また、前記の薬剤TTPの中で、ともにチエノピリジン誘導体であるチクロピジンによるものは多くが「定型的TTP」であるが、クロピドグレルはそのほとんどが「非定型TTP」であることが示された²¹⁾。しかし、後者の場合もPEにて一定の治療成果が得られることも判明している。

おわりに

このように、ADAMTS13の発見により過去10年間にTTPの病態解明は大きな進歩を遂げた。とりわけ本症に対するPE療法、FFP輸注、そして新旧の免疫抑制剤の治療効果のEBMが確立された意義は大きい。さらに、今日ではTTP診断はもちろんのこと、血小板輸血の適応、小児期におけるITP診断、診断治療抵抗性を認めたTTP症例等においてADAMTS13活性の測定は必須であり、今後ベッドサイドでの治療方針の決定に役立つよう、早期に臨床応用されることを期待している。

文 献

- 1) Moschowitz E: Hyaline thrombosis of the terminal arterioles and capillaries: a hitherto undescribed disease. Proc N Y Pathol Soc, 1924, **24**: 21-24.
- 2) Amorosi EL, Ultmann JE: Thrombotic thrombocytopenic purpura: report of 16 cases and review of the literature. Medicine, 1966, **45**: 139-159.
- 3) Gasser C, Gautier E, Steck A et al: Hämolytisch-urämische Syndrome: bilaterale Nierenrindennekrosen bei akuten erworbenen hämolytischen Anämien. Schweiz Med Wochenschr, 1955, **85**: 905-909.
- 4) Fujimura Y, Matsumoto M: Registry of 919

- patients with thrombotic microangiopathies across Japan: Database of Nara Medical University during 1998–2008. *Internal Medicine*, 2009 (in press).
- 5) Fujimura Y, Titani K: Structure and function of von Willebrand factor. In: *Haemostasis and Thrombosis*. Bloom AL, Forbes CD, Thomas DP et al eds. Edinburgh, London, Madrid, Melbourne, New York, Tokyo, Churchill Livingstone, 1994, 379–395.
 - 6) Metcalf DJ, Nightingale TD, Zenner HL et al: Formation and function of Weibel-Palade bodies. *J Cell Sci*, 2008, **121** (Pt 1): 19–27.
 - 7) Soejima K, Mimura N, Hirashima M et al: A novel human metalloprotease synthesized in the liver and secreted into the blood: possibly, the von Willebrand factor-cleaving protease? *J Biochem*, 2001, **130**: 475–480.
 - 8) 藤村吉博: ADAMTS13-TMAの診断と血小板輸血の重要指標-. *日血栓止血会誌*, 2006, **17**: 144–164.
 - 9) Soejima K, Matsumoto M, Kokame K et al: ADAMTS-13 cysteine-rich/spacer domains are functionally essential for von Willebrand factor cleavage. *Blood*, 2003, **102**: 3232–3237.
 - 10) Uemura M, Tatsumi K, Matsumoto M et al: Localization of ADAMTS13 to the stellate cells of human liver. *Blood*, 2005, **106**: 922–924.
 - 11) Uemura M, Fujimura Y, Matsumoto M et al: Comprehensive analysis of ADAMTS13 in patients with liver cirrhosis. *Thromb Haemost*, 2008, **99**: 1019–1029.
 - 12) Kokame K, Matsumoto M, Fujimura Y et al: VWF73, a region from D1596 to R1668 of von Willebrand factor, provides a minimal substrate for ADAMTS-13. *Blood*, 2004, **103**: 607–612.
 - 13) Kokame K, Nobe Y, Kokubo Y et al: FRETs-VWF73, a first fluogenic substrate for ADAMTS13 assay. *Br J Haematol*, 2005, **129**: 93–100.
 - 14) Kato S, Matsumoto M, Matsuyama T et al: Novel monoclonal antibody-based enzyme immunoassay for determining plasma levels of ADAMTS13 activity. *Transfusion*, 2006, **46**: 1444–1452.
 - 15) Furlan M, Robles R, Galbusera M et al: von Willebrand factor-cleaving protease in thrombotic thrombocytopenic purpura and the hemolytic-uremic syndrome. *N Engl J Med*, 1998, **339**: 1578–1584.
 - 16) 藤村吉博: Upshaw-Schulman症候群-仮面血小板減少症-. *日小児会誌*, 2006, **110**: 1491–1504.
 - 17) Ono T, Mimuro J, Madoiwa S et al: 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**: 528–534.
 - 18) 藤村吉博: 血栓性血小板減少性紫斑病の診断と治療. *日本医事新報*, 2009, **4435**: 45–51.
 - 19) Matsumoto M, Yagi H, Ishizashi H et al: The Japanese experience with thrombotic thrombocytopenic purpura-hemolytic uremic syndrome. *Semin Hematol*, 2004, **41**: 68–74.
 - 20) 金子仁臣, 松本雅則, 岡本浩平 他: RituximabとVinorelbineの併用が奏効した難治性血栓性血小板減少性紫斑病. *臨床血液*, 2007, **48**: 144–147.
 - 21) Bennett CL, Kim B, Zakarija A et al: Two mechanistic pathways for thienopyridine-associated thrombotic thrombocytopenic purpura: a report from the SERF-TTP Research Group and the RADAR Project. *J Am Coll Cardiol*, 2007, **50**: 1138–1143.

Thrombotic Thrombocytopenic Purpura

Ayami Isonishi, Masanori Matsumoto, and Yoshihiro Fujimura

Department of Blood Transfusion Medicine, Nara Medical University, Nara, Japan

Key words: TMA, TTP/HUS, ADAMTS13, UL-VWFM

Thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP) is a life-threatening generalized disorder, characterized by the pentad (Amorosi and Ultmann, 1966). Since the early 1990's, plasma exchange (PE) became the first line of treatment for TTP, but the mechanism by which PE is effective in this clinical situation has not been well understood. After the discovery of ADAMTS13 in 2001, however, its specific role to cleave unusually large von Willebrand factor multimers (UL-VWFMS), which are biologically the most active forms of VWF, has documented that acquired TTP showing a severely decreased ADAMTS13 activity is caused by developing its autoantibodies. Further, convenient and rapid assays for determining ADAMTS13 activity have been established by Japanese researchers, and are now widely used in the world. (*J Jpn Coll Angiol*, 2009, **49**: 359–364)

Online publication December 10, 2009

脈管学 Vol. 49, 2009