

◆トピックス◆

先天性 PAI-1 欠乏症

箕輪 秀樹^{*1*}, 高橋 幸博^{*1}, 中 宏之^{*1}
吉岡 章^{*1}

Congenital Plasminogen Activator Inhibitor-1 (PAI-1) Deficiency

Hideki MINOWA^{*1*}, Yukihiro TAKAHASHI^{*1}, Hiroyuki NAKA^{*1}, Akira YOSHIOKA^{*1}

Key words : plasminogen activator inhibitor-1, delayed bleeding

I 概念・歴史

プラスミノゲンアクチベーターインヒビター 1 (以下, PAI-1) はセリン蛋白分解酵素インヒビター (SERPIN) スーパーファミリーメンバーに属し, プラスミノゲンアクチベーター (PA) に共有結合することにより PA 活性を阻害し, 線維素溶解反応 (以下, 線溶反応) を制御することで止血ならびに血栓形成に重要な役割を演じている¹⁾. PAI-1 の遺伝子は, 7 番染色体の q21.3~q22 に位置し²⁾, その遺伝子長は 12.2 kb で, 9 個のエキソンと 8 個のイントロンからなり, 23 個のアミノ酸のシグナルペプチドと 379 個のアミノ酸からなる成熟 PAI-1 (分子量 52 kDa) の合成を支配している. PAI-1 分子内には S-S 結合が存在しないため, PA 阻害活性を有する活性型 PAI-1 は熱安定性が悪く, 半減期は約 90 分と短く, より密に折り畳まれた構造をとることで潜在型に移行し活性を失う³⁾. 潜在型 PAI-1 はグアニジン塩酸などの変性剤で処理すると再び活性が回復してくる. 血流中では活性型 PAI-1 はビトロネクチンと結合する

ことで自らの構造の安定性を高め⁴⁾, また, 一部は組織型 PA (tPA) およびウロキナゼ型 PA (uPA) との複合体を形成している. PAI-1 は血管内皮細胞, 線維芽細胞, 肝細胞, 脂肪組織において産生される⁵⁾. 血液中の PAI-1 の 93% は血小板 α 顆粒内に存在し⁶⁾, 正常人の血漿中には約 20 ng/ml 程度存在する. 現在までに 4 種類の plasminogen activator inhibitor が見つかったが, これらの中で PAI-1 は血漿中で tPA と uPA を阻害する, 生理的にもっとも重要なものである⁷⁾.

II 病態・遺伝子解析

近年, 血漿中の PAI-1 の増加が, 深部静脈血栓症や心筋梗塞のリスクファクターであると報告された⁸⁾⁹⁾. 実験的にも PAI-1 を過剰に発現させたトランスジェニックマウスでは静脈血栓を引き起こすことも明らかにされ, PAI-1 と血栓症との関連が注目されている¹⁰⁾. また, 最近では骨髄移植後に発症する肝の中心静脈閉塞症 (hepatic veno-occlusive disease) の marker とし

*1 奈良県立医科大学小児科 (〒634-0813 奈良県橿原市四条町 840)

Department of Pediatrics, Nara Medical University (Shinjo-cho 840, Kashihara City, Nara 634-0813, Japan.)

*2 近畿大学医学部奈良病院小児科 (〒630-0293 奈良県生駒市乙田町 1248-1)

Department of Pediatrics, Nara Hospital, Kinki University School of Medicine (Otoda-cho 1248-1, Ikoma City, Nara 630-0293, Japan.) Tel. 0744-29-8881, Fax. 0744-24-9222 e-mail : minowa@nara-med.kindai.ac.jp.

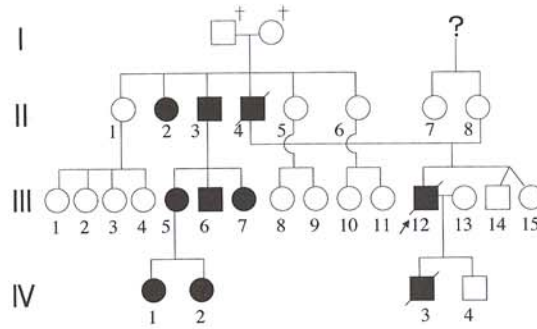


Fig. 1 Family tree of Case 2, 3 and 4.

→ propositus

■ : bleeder and tested abnormal

■, ● : bleeder and not tested yet

ても注目されている¹¹⁾。

一方、PAI-1が欠乏もしくは減少している病態では、出血傾向との関連が注目され、既に欧米では4例^{12)~15)}の先天性PAI-1欠乏症が報告されている。PAI-1分子異常例は1992年にFayら¹⁴⁾が初めて報告し、その遺伝子異常を明らかにした。すなわち、PAI-1遺伝子のエキソン4に2塩基のinsertionが存在してstop codonを形成するため、機能しないPAI-1異常蛋白が合成されている。この家系では、7例がホモ接合体のPAI-1完全欠損症であり、外傷や手術後のみ、頭蓋内や関節内出血、手術創からの後出血、過多月経や頻回の歯肉出血などを認めている。しかしながら、ヘテロ接合体の19例では外傷や手術後にも異常な出血はないと報告されている¹⁶⁾。

本邦では、教室のTakahashiら¹⁷⁾(1996)が先天性PAI-1欠乏症の1家系を初めて報告した。その後、箕輪ら¹⁸⁾(1999)が先天性PAI-1欠乏症の2家系におけるPAI-1遺伝子上のpolymorphismを解析した。さらに、Minowaraら¹⁹⁾(1999)が先天性PAI-1欠乏症の小児例4症例を報告した。

今回、われわれが経過を観察している先天性PAI-1欠乏症の症例における出血症状および凝血学的検査所見を中心に文献学的考察を含めて概説する。

III 症 例

1. 先天性PAI-1欠乏症の出血症状

1981年から1999年の間に原因不明の出血傾向を主訴に奈良県立医科大学小児科を受診し、先天性PAI-1欠乏症と診断した6家系8症例について、それぞれの出血症状を示す。

症例1: M.T. 6歳, 男児 (ID 0278009)

この家系については、既にTakahashiらが報告した¹⁷⁾。患児の出血症状は、乳幼児期から皮下出血を反復し、6歳時に抜歯後出血の遷延のため当科を受診した。止血スクリーニング検査および各凝固因子やvon Willebrand因子(vWF)に異常はなく、また、 $\alpha 2$ PI活性やプラスミノゲン活性も正常範囲内であった。確定診断が得られず、その後も外傷後の皮下出血や抜歯後の遷延出血を繰り返していた。

症例2: H.N. 27歳, 男性 (ID 3279251)

(Fig. 1 III-12)

N家系の発端者で、本家系には症例3、症例4を含む10人の出血者が存在する(Fig. 1)。小学生頃から打撲部位に出血斑ができやすく、少しの打撲でも大きな出血斑となり、なかなか消退しなかった。抜歯後および手術後に遷延する異常出血を認めた。26歳時、大腿部を打撲した後に筋肉血腫を形成し、他医にて筋膜切開を行なったが、術後に出血が持続するため塞栓術を要

した。

症例 3: T.N. 2 歳, 男児 (ID 3279235)

(Fig. 1 IV-3)

症例 2 の長男。吸引分娩で出生した。在胎 38 週, 出生体重 2,570 g, Apgar score 1 分値 9 点。日齢 3 に重症黄疸のため交換輸血を受け, 日齢 5 に硬膜下血腫を認め開頭血腫除去術を施行した。術後に縫合部からの出血が持続し, 頻回の輸血と第 XIII 因子製剤の投与により止血した。その後, 生後 9 カ月頃から皮下出血を反復していた。1 歳 5 カ月には口唇裂傷後, いったん止血したが, 再出血し, 止血が困難なため濃厚赤血球輸血, 新鮮凍結血漿, 第 XIII 因子製剤の投与により止血した。

症例 4: T.N. 56 歳, 男性 (ID 3317064)

(Fig. 1 II-4)

症例 2 の父。20 歳頃から歯肉出血が頻繁にみられ止血しにくかった。50 歳および 55 歳時に痔核の手術後, いったん止血したが再出血し, 止血困難なために再手術を要した。

症例 5: M.Y. 14 歳, 女子 (ID 4229193)

家族歴に明らかな出血傾向を認めない。外傷後の皮下出血の反復と, 採血部位の出血の遷延および過多月経を認めた。

症例 6: A.N. 12 歳, 女子 (ID 4232445)

家族歴に明らかな出血傾向を認めない。乳幼児期から皮下出血を反復しており, バレーボールが当たったところが皮下出血となり, また, 過多月経を認めた。

症例 7: M.S. 36 歳, 女性 (ID 3917975)

家族歴に明らかな出血傾向を認めない。幼児期には特に出血傾向はみられなかったが, 思春期以降, 全身に出血斑ができやすく, 抜歯後に遷延する異常出血を認めた。特に, 35 歳時, 不妊症のための体外受精目的で超音波下に経腔採卵を施行したところ, 術後に大量の腹腔内出血をきたし, 赤血球輸血 (計 1,000 ml) と新鮮凍結血漿 (4 単位) などの投与により止血した。

症例 8: T.D. 36 歳, 女性 (ID 3958159)

幼少時, 膝の外傷後にいったん止血したが,

再出血を認めた。12 歳と 17 歳時, 抜歯後に再出血し, 翌日まで止血しなかった。また, 針で指をついた後や, にきびを搔爬して出血するとなかなか止血しなかった。

なお, いずれの症例も点状出血や関節内出血などの自発出血は認めていない。

2. 凝血学的検査

PAI-1 の測定値には日内変動がみられ, 運動や駆血によって測定値が変動する。検体はあらかじめインフォームドコンセントを得た後, 午前 8 時から 10 時の間に, 安静臥床で, 駆血せずに末梢静脈から採血した。また, 上肢に限られた部位での PAI-1 の放出を検討するために静脈駆血試験を行った。静脈駆血試験は Dieval¹³⁾ の方法に準じて最高血圧と最低血圧の間中血圧で 5 分間駆血した後に末梢静脈から採血した。

凝固・線溶系検査として, 出血時間, 血小板数, プロトロンビン時間 (PT), 活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT) および各凝固因子活性, 第 XIII 因子抗原, vWF, Euglobulin 溶解時間, プラスミノゲン活性, $\alpha 2$ PI 活性, tPA 抗原, PAI 活性, PAI-1 抗原, tPA・PAI-1 複合体, プラスミン・ $\alpha 2$ -PI 複合体を各測定キットおよび標準的な方法により測定した。

1) 止血スクリーニング検査

全ての症例において出血時間, 血小板数, PT および APTT に異常なく, 第 XIII 因子抗原および vWF にも異常を認めなかった。また, 全ての症例で $\alpha 2$ PI 活性とプラスミノゲン活性は正常範囲内であった (Table 1)。

2) 線溶系検査 (PAI-1 関連検査)

ユーグロブリン溶解時間は小児例 (症例 1, 2, 5, 6) では全例で明らかな短縮がみられた。症例 4 を除いて tPA 抗原の高値を示した症例はみられなかった。PAI 活性は症例 7 を除く全症例で低下しており, PAI-1 抗原も症例 1, 症例 3, 症例 5 および症例 6 で低値であった。tPA・PAI-1 複合体は症例 4 を除く全例で低下傾向であった。また, プラスミン・ $\alpha 2$ PI 複合体は症

Table 1 Hemostatic findings in 8 cases of congenital PAI-1 deficiency

Case	Age	Bleeding time (min)	Platelet count ($\times 10^3/\mu l$)	PT (sec)	APTT (sec)	Fibrinogen (mg/dl)	F.XIII antigen (%)	vWF: Ag (%)	vWF: Rcof (%)	$\alpha 2PI$ activity (%)	Plasminogen activity (%)
1	6	3.0	380	13.0	50.0	220	100	100	66	110	100
2	2	1.5	223	10.9	23.5	371	70	214	192	118.7	114
3	27	2.0	132	11.3	38.4	218	90	172	184	98	100
4	56	3.0	176	10.3	33.4	317	ND	ND	ND	83	110
5	14	1.5	205	12.6	40.0	223	79	96	86	94	76
6	12	1.5	219	11.7	41.2	198	90	88	80	120	99
7	36	3.5	186	11.4	32.5	212	91	42	32	71	81
8	36	3.0	288	11.6	33.3	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Normal	<5.0	150~400	11~13	30~50	160~350	70~140	75~150	50~150	70~130	80~120	

ND: not detected

Table 2 Fibrinolytic parameters in 8 cases of congenital PAI-1 deficiency

Case	Euglobulin lysis time (min)	tPA antigen (ng/ml)	PAI activity (U/ml)	PAI-1 antigen (ng/ml)	tPA/PAI complex (ng/ml)	PIC ($\mu g/ml$)
1	60	2.9	3.0	4.9	4.4	1.7
2	90	4.6	1.3	13.8	5.2	4.0
3	155	2.8	4.1	1.8	5.7	0.4
4	210	12.1	1.1	14.1	14.7	0.17
5	60	2.7	<1.0	1.6	5.0	0.5
6	90	1.9	<1.0	4.4	5.0	0.3
7	225	2.7	12.1	9.0	5.3	1.3
8	210	1.1	5.6	24.7	7.2	0.5
Normal (n=30)	>120#	4.3 \pm 2.0	14.2 \pm 7.4	16.6 \pm 8.1	10.0 \pm 4.5	<0.8

Normal (n=20)

Table 3 Changes of euglobulin lysis time, tPA antigen, PAI activity, PAI-1 antigen, tPA · PAI complex in the venous occlusion test in 6 cases of congenital PAI-1 deficiency

Case	Euglobulin lysis time (min)		tPA antigen (ng/ml)		PAI activity (U/ml)		PAI-1 antigen (ng/ml)		tPA/PAI complex (ng/ml)	
	Before	After	Before	After	Before	After	Before	After	Before	After
1	120	60	2.9	5.6	3.0	<1.0	4.9	4.5	4.4	9.1
3	175	120	5.6	5.6	3.6	2.9	7.8	6.5	5.5	7.4
4	210	>720	12.1	14.2	1.1	1.0	21.1	21.5	14.7	ND
5	60	45	2.7	3.1	<1.0	1.0	1.6	3.0	5.0	6.0
7	225	240	2.5	3.6	12.1	6.1	9.0	6.8	5.3	8.9
8	210	165	1.1	1.7	5.6	2.9	24.7	12.0	7.2	10.6
Normal (n=6)	>120	>120	5.0 \pm 2.0	7.5 \pm 2.5	15.5 \pm 2.5	14.0 \pm 4.0	22.5 \pm 14.5	26.5 \pm 11.5	7.0 \pm 3.0	9.5 \pm 4.5

ND: not detected

例1, 症例2および症例7で上昇しており, 線溶の亢進を示した (Table 2).

3) 静脈駆血試験

症例2および症例6を除いた6症例に静脈駆血試験を行った。症例1, 症例3, 症例7および症例8では, 駆血負荷により PAI 活性および

PAI-1 抗原は低下した。また, 症例4および症例5では PAI 活性は低値のままで PAI-1 抗原もほとんど上昇しなかった (Table 3)。

3. PAI-1 ノックアウトマウスの成績と先天性欠乏症との整合性

ノックアウトマウスを用いた検討²⁰⁾による

Table 4 Polymorphisms and their gene frequencies of PAI-1 gene

Location in PAI-1 gene	Position	Polymorphism	Gene frequencies		References
Promoter region	-844	G/A	G 0.44	A 0.56	21)
Promoter region	-675	4G/5G	4G 0.51	5G 0.49	22)
Promoter region	-196~-153	(CA)n repeat			23)
Exon 2 (signal sequence)	1,334	G/A	G 0.91	A 0.09	18)
Exon 2 (signal sequence)	1,340	G/A	G 0.98	A 0.02	18)
Intron 4	6321~6358	(CA)n repeat			24)
Intron 7	9,785	G/A	G 0.81	A 0.19	21)
Exon 9 (untranslated region)	11,053	T/G	T 0.59	A 0.41	21)
Exon 9 (untranslated region)	11,320~11,345	9 bases insertion /deletion	insertion 0.84	deletion 0.16	21)
3-flanking region		Hind III RFLP			3)

RFLP: restriction fragment length polymorphism

と, PAI-1^{+/+} マウスと PAI-1^{-/-} マウスにおける全血凝固塊の溶解は, PAI-1^{-/-} マウスで有意に線溶亢進を認めた。また, foodpad に endotoxin を注入した後の静脈血栓の形成試験では, PAI-1^{-/-} マウスにおいて血栓の形成が有意に少なかった。しかしながら, PAI-1^{+/+} マウスと PAI-1^{-/-} マウスにおけるしっぽの切断および盲腸の切除後の出血時間, 再出血, 出血量には有意差を認めなかった。ヒトでは再出血傾向が認められるのに, マウスでは再出血がないのは, マウスの線溶亢進状態がヒトよりも mild であり, 活性型 PAI-1 の血漿濃度が wild type マウスでは 2 ng/ml 以下で, ヒトでは 10 ng/ml であり, マウスの方が基礎値が低いことが考えられる。また, 種に依存した血漿 tPA や線溶系のほかの因子の相違がマウスとヒトの phenotype の相違に関与しているのかもしれない。

IV 診断および治療

PAI-1 欠乏症の診断は臨床症状, 凝固・線溶学的検査および抗線溶薬投与による出血症状の改善などから総合的に行われるものである。α2 PI 欠乏症に比べて出血症状は比較的軽度であり, 外傷や抜歯, 手術などのエピソードの後に

のみ出血症状を認める。これらの出血症状は抗線溶薬投与により止血が得られている。通常の止血スクリーニング検査では明らかな異常を認めず, α2 PI や第 XIII 因子, プラスミノゲンは正常である。ユーグロブリン溶解時間の短縮やプラスミン・α2 PI 複合体の上昇などは線溶亢進を示し, PAI-1 活性および PAI-1 抗原量の低下が確定診断となる。しかしながら, 症例 7 のように PAI-1 活性および PAI-1 抗原が正常下限である症例も存在する。症例 7 では, 出血症状および抗線溶薬投与により出血症状の改善が得られており, 静脈駆血試験で PAI-1 活性および PAI-1 抗原が低下していることから PAI-1 欠乏症と診断した。出血部位局所での線溶活性を測定する方法はなく, 血中 PAI-1 濃度が局所での線溶活性を示すわけではない。したがって, 局所での PAI-1 の動態を調べるために, 現在のところ静脈駆血試験で PAI-1 の放出を測定する方法がとられている。

V PAI-1 遺伝子の Polymorphism

PAI-1 遺伝子における polymorphism は, 現在までに既に 10 カ所が報告されている (Table 4)。PAI-1 遺伝子の polymorphism と血栓または止血との関連性については, PAI-1 の高値と

血栓症との関連が注目されている²⁵⁾。PAI-1 遺伝子 promoter 領域の-675 部位に存在する Guanine のリピート数の違いによる 4G/5G polymorphism が血中 PAI-1 レベルと関連し²³⁾、4G で PAI-1 レベルが高いとされている。また、この polymorphism が糖尿病患者での冠動脈疾患の発症率に関与すること²⁶⁾も報告された。しかし、その後、この 4G/5G polymorphism と動静脈血栓症との関連については否定的な報告²⁴⁾もある。

-675 部位の 4G/5G polymorphism のほかに、イントロン4の(CA)nリピートのリピート数と血中 PAI-1 レベルとの間に負の相関関係が見出されている²¹⁾²⁷⁾。

また、われわれが新たに見いだした PAI-1 分子のシグナルペプチドをコードする遺伝子上の 1340 G/A 点変異は polymorphism であると考えられるが、その出現頻度は 1340 G が 0.98、1340 A が 0.02 ときわめて稀であり、家系内の出血症状の有無と点変異の有無が一致していることから、gene expression を含めた検討が必要であると考えている¹⁸⁾。

VI 解析・診断施設の紹介

奈良県立医科大学小児科学教室では、先天性 PAI-1 欠乏症も含め、種々の凝固・線溶系の異常症の診断と止血管理を行っており、成人も含めた全国からの紹介患者に対応している。現在、先天性 PAI-1 欠乏症は遺伝子診断も可能であり、今後、さらなる症例の追加により、先天性 PAI-1 欠乏症の病因と病態を明らかにしたい。

文 献

- 1) Wiman B: Plasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1) in plasma: Its role in thrombotic disease. *Thromb Haemost* **74**: 71-76, 1995.
- 2) Klinger KW, Winqvist R, Riccio A, Andreassen PA, Sartprio R, Nielson LS, Stuart N, Stanislavovits P, Watkins P, Douglas R, Grzesschik K-H, Alitalo K, Blasi F, Dano K: Plasminogen activator inhibitor type 1 gene is located at region q21.3~q22 of chromosome 7 and genetically linked with cystic fibrosis. *Proc Natl Acad Sci USA* **84**: 8548-8552, 1987.
- 3) Mottonen J, Strand A, Symersky J, Sweet RM, Danley DE, Geoghegan KF, Gerard RD, Goldsmith EJ: Structural basis of latency in plasminogen activator inhibitor-1. *Nature* **355**: 270-273, 1992.
- 4) Declerck PJ, Mol MD, Alessi M-C, Baudner S, Paques E-P, Preissner KT, Muller-Berghaus G, Collen D: Purification and characterization of a plasminogen activator inhibitor 1 binding protein from human plasma. *J Biol Chem* **263**: 15454-15461, 1988.
- 5) Sawdey MS, Loskutoff DJ: Regulation of murine type 1 plasminogen activator inhibitor gene expression *in vivo*. *J Clin Invest* **88**: 1346-1353, 1991.
- 6) Booth NA, Simpson AJ, Bennett B, MacGregor IR: Plasminogen activator inhibitor (PAI-1) in plasma and platelets. *Br J Haematol* **70**: 327-333, 1988.
- 7) Loskutoff DJ, Sawdey M, Mimuro J: Type 1 plasminogen activator inhibitor. *Prog Hemostas Thromb* **9**: 87-115, 1989.
- 8) Wiman B, Ljungberg B, Chemielewska J, Urden G, Blomback M, Johnsson H: The role of the fibrinolytic system in deep vein thrombosis. *J Lab Clin Med* **105**: 265-270, 1985.
- 9) Hamsten A, Wiman B, de Faire U, Blomback M: Increased plasma levels of a rapid inhibitor of tissue plasminogen activator in young survivors of myocardial infarction. *N Engl J Med* **313**: 1557-1563, 1985.
- 10) Erickson LA, Fici GJ, Lund JE, Boyle TP, Polites HG, Marotti KR: Development of venous occlusions in mice transgenic for the plasminogen activator inhibitor-1 gene. *Nature* **346**: 74-76, 1990.
- 11) Salat C, Holler E, Kolb H J, Pihusch R, Reinhardt B, Penovici M, Ledderose G and Hiller E: The

- relevance of plasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1) as a marker for the diagnosis of hepatic veno-occlusive disease in patients after bone marrow transplantation. *Leukemia and Lymphoma* **33**: 25-32, 1999.
- 12) Schleef RR, Higgins DL, Pillemer E, Levitt LJ: Bleeding diathesis due to decreased functional activity of type 1 plasminogen activator inhibitor. *J Clin Invest* **83**: 1747-1752, 1989.
- 13) Dieval J, Nguyen G, Gross S, Delobel J, Kruihof KO: A lifelong bleeding disorder associated with a deficiency of plasminogen activator inhibitor type 1. *Blood* **77**: 528-532, 1991.
- 14) Fay WP, Shapiro AD, Shih JL, Schleef RR, Ginsburgh D: Brief report: Complete deficiency of plasminogen activator inhibitor type 1 due to a frameshift mutation. *N Engl J Med* **327**: 1729-1733, 1992.
- 15) Lee MH, Vosburgh E, Anderson K, McDonagh J: Deficiency of plasma plasminogen activator inhibitor 1 results in hyperfibrinolytic bleeding. *Blood* **81**: 2357-2362, 1993.
- 16) Fay WP, Parker AC, Condrey LR, Shapiro AD: Human plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) deficiency: Characterization of a large kindred with a null mutation in the PAI-1 gene. *Blood* **90**: 204-208, 1997.
- 17) Takahashi Y, Tanaka T, Minowa H, Ookubo Y, Sugimoto M, Nakajima M, Miyauchi Y, Yoshioka A: Hereditary partial deficiency of plasminogen activator inhibitor-1 associated with a lifelong bleeding tendency. *Int J Hematol* **64**: 61-68, 1996.
- 18) 箕輪秀樹, 中 宏之, 堀江妥永子, 高橋幸博, 吉岡章: プラスミノゲンアクチベーターインヒビター1 (PAI-1) シグナルペプチド遺伝子上の新しい polymorphism; 1340 G/A (-7 Val / Ile). *血栓止血誌* **10**: 267-277, 1999.
- 19) Minowa H, Takahashi Y, Tanaka T, Naganuma K, Ida S, Maki I and Yoshioka A: Four cases of bleeding diathesis in children due to congenital plasminogen activator inhibitor-1 deficiency. *Haemostasis* **29**: 286-291, 1999.
- 20) Carmeliet P, Stassen JM, Schoonjans L, Ream B, Oord JJ, Moi MD, Mulligan RC, Collen D: Plasminogen activator inhibitor-1 gene-deficient mice II. Effects on hemostasis, thrombosis and thrombolysis. *J Clin Invest* **92**: 2756-2760, 1993.
- 21) Mansfield MW, Strickland MH, Carter AM, Grant PJ: Polymorphisms of the plasminogen activator inhibitor-1 gene in type 1 and type 2 diabetes, and in patients with diabetic retinopathy. *Thromb Haemost* **71**: 731-736, 1994.
- 22) Bosma PJ, van den Berg EA, Kooistra T, Siemieniak DR, Slightom JL: Human plasminogen activator inhibitor-1 gene. *J Biol Chem* **263**: 9129-9141, 1988.
- 23) Dawson SJ, Wiman B, Hamsten A, Green F, Humphries S, Henney AM: The two allele sequences of a common polymorphism in the promoter of the plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) gene respond differently to interleukin-1 in HepG2 cells. *J Biol Chem* **268**: 10739-10745, 1993.
- 24) Ridker PM, Hennekens CH, Lindpaintner K, Stampfer MJ, Miletich JP: Arterial and venous thrombosis is not associated with the 4G/5G polymorphism in the promoter of the plasminogen activator inhibitor gene in a large cohort of US men. *Circulation* **95**: 59-62, 1997.
- 25) Di Minno G, Grandone E, Margaglione M: Clinical relevance of polymorphic markers of arterial thrombosis. *Thromb Haemost* **78**: 462-466, 1997.
- 26) Mansfield MW, Strickland MH, Grant PJ: Plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) promoter polymorphism and coronary artery disease in non-insulin-dependent diabetes. *Thromb Haemost* **74**: 1032-1034, 1995.
- 27) Dawson S, Hamsten A, Wiman B, Henney A, Humphries S: Genetic variation at the plasminogen activator inhibitor-1 locus is associated with altered levels of plasma plasminogen activator inhibitor-1 activity. *Arterioscler Thromb* **11**: 183-190, 1991.