



思いをつないで、  
薬をつくる。

「患者さんの笑顔が見たい。」  
たくさんの方のその思いから、  
私たちの薬づくりがはじまります。  
領域にとらわれることなく、  
必要とする人がいる限り。

**Nobelpharma**  
ノーベルファーマ株式会社

ノーベルファーマのフィロソフィー  
必要なのに頼みられない医薬品・医療機器の提供を  
通じて、社会に貢献する

〒104-0033 東京都中央区新川一丁目17番24号 NMF茅場町ビル  
<https://www.nobelpharma.co.jp>  
医療関係者向けサイト NobelPark <https://nobelpark.jp/>  
製品に関するお問い合わせ 0120-003-140 (土・日・祝日・会社休日を除く)

第51回 日本結合組織学会学術大会 プログラム・抄録集

二〇一九年 東京

第51回

# 日本結合組織学会学術大会

The 51<sup>st</sup> Annual Meeting of the Japanese Society for Matrix Biology and Medicine

プログラム・抄録集



会期

2019年5月31日(金)・6月1日(土)

会場

KFCホール(国際ファッションセンター)

東京都墨田区横網一丁目6番1号

大会長

服部 俊治(ニッピ バイオマトリックス研究所)

## 幹細胞 (ES/iPS細胞) の培養に最適な基質

ラミニンの E8 断片を精製した高純度な細胞培養基質です。

無料サンプル品をご用意しています！  
※1研究室につき1個までとさせていただきます。

詳細はウェブで！

Webページ番号検索

9027



細胞培養手法の習得に  
必要な期間を短縮

細胞培養の拡大効率を  
飛躍的に高める

希釈不要のiMatrix-511  
Easy タイプもあります

[メーカー:株式会社マトリクソーム]



品名	iMatrix-511	iMatrix-511 silk	iMatrix-411	iMatrix-221
産生	遺伝子組換え CHO-S 細胞	遺伝子組換え カイク	遺伝子組換え CHO-S 細胞	遺伝子組換え CHO-S 細胞
用途	ES / iPS 細胞の培養 (フィーダーフリー培養, シングルセル継代)		血管内皮細胞への 分化誘導	心筋細胞の 純化・維持培養

## 基底膜研究にオススメの ターゲット特異的な抗ラミニン抗体

これまで検出困難だったLaminin α3A, α3B, γ2 N末端領域,  
Laminin-511を, それぞれ特異的に認識する  
モノクローナル抗体です。

詳細はウェブで！

Webページ番号検索

68118



本製品は横浜市立大学 木原研究所 宮崎香 名誉教授の研究成果を元に製品化されました。

[メーカー:フナコシ株式会社]



品名 (クローン名)	Anti-Laminin- α3A (BG5)	Anti-Laminin- α3B (F7)	Anti-Laminin-γ2 N-terminal Fragment (P2H)	Anti-Laminin-511 (12D)
特異性	Laminin-332 α3A鎖*1	Laminin-332 α3B鎖	Laminin-γ2鎖N末端の Domain V-NE2	Laminin-511 (Lm511) 三量体*2
商品コード	FDV-0024	FDV-0023	FDV-0025	FDV-0026

\*1 クローンBG5は, 免疫組織染色 (IHC) ではα3A鎖のみに反応します。なお, ELISA, IP, Western Blotにおいてはα3B鎖にも交差性を示します。

\*2 クローン12Dは, Laminin-521に反応しないことが確認されています。

フナコシ株式会社 〒113-0033 東京都文京区本郷 2-9-7  
https://www.funakoshi.co.jp

@Funakoshi\_CoLtd

お問い合わせ	試薬	機器	受託・特注品
	TEL 03-5684-1620 FAX 03-5684-1775 reagent@funakoshi.co.jp	TEL 03-5684-1619 FAX 03-5684-5643 kiki@funakoshi.co.jp	TEL 03-5684-1645 FAX 03-5684-6539 jutaku@funakoshi.co.jp

# ハイネ イーゲル®

## 濃厚流動食品



消化態

浸透圧  
約360mOsm/L

エネルギー  
0.8kcal/mL

- ◆ 日本人の食事摂取基準(2010年版)を参考に各種栄養素を調整、1日あたり1,200~1,600kcalを標準的な摂取量としています。
- ◆ 大豆ペプチド、コラーゲンペプチドを使用した消化態の濃厚流動食品です。
- ◆ 食物繊維にペクチン(100kcalあたり0.9g)を使用しています。
- ◆ pHの低下により液体からゲル状に流動性が変化<sup>(注)</sup>します。
- ◆ 水分補給に配慮し、100kcalあたり摂取できる水分量を110mLに調整しています。
- ◆ 液体栄養としての操作が可能です。

(注)胃酸の分泌量や酸度の違いによって、ゲル状に変化しない場合があります。

### 使用上の注意

- ① 医師、管理栄養士等の指導によりご使用下さい。本品のみで栄養補給する場合は、各種栄養素の補給量や水分量に注意してご使用下さい。
- ② 静脈内には絶対に投与しないで下さい。
- ③ 容器に漏れ、膨張がみられるもの、開封時に内容液の色・味・臭いに異常がみられたもの、または凝固、分離しているものはご使用にならないで下さい。
- ④ 温める場合は開栓せずにお湯に浸け、体温程度を目安として加温して下さい。長時間加熱、繰り返し加熱はしないで下さい。
- ⑤ 果汁などの酸性物質や多量の塩類などの混和は凝固することがありますので避けて下さい。
- ⑥ 開封後はすみやかにご使用下さい。全量を使用しない場合の残液は廃棄し、再使用しないで下さい。
- ⑦ 賞味期限内にご使用下さい。

\*長期に保存した場合、原料由来の成分が沈殿あるいは液表面に浮上し、白くなることがありますので、よく振ってご使用下さい。栄養上に問題はありません。

### 栄養成分表示

	1袋(375mL)あたり	1袋(500mL)あたり
エネルギー	300kcal	400kcal
タンパク質	12.0g	16.0g
脂質	6.6g	8.8g
糖質	46.1g	61.5g
食物繊維	4.1g	5.5g
ナトリウム	499mg	665mg
水分	330g	440g

【大塚製薬の通販】オオツカ・プラスワン  
インターネットや電話でも  
ご購入いただけます。



http://otsuka.jp



0120-256-137  
(通話料無料 受付時間9:00~20:00)



販売者 株式会社大塚製薬工場  
販売提携 大塚製薬株式会社

ハイネイーゲルに関するお問い合わせは  
株式会社大塚製薬工場 お客様相談センター  
☎0120-872-873

# 第51回 日本結合組織学会学術大会

The 51<sup>st</sup> Annual Meeting of the Japanese Society for Matrix Biology and Medicine

プログラム・抄録集

会 期：2019年5月31日（金）・6月1日（土）

会 場：KFC ホール（国際ファッションセンター）

東京都墨田区横網一丁目6番1号

電話：03-5610-5801

URL：http://square.umin.ac.jp/jsmbm2019/

大会長：服部 俊治（ニッピ バイオマトリックス研究所）

May 31(Fri) - June 1 (Sat), 2019

KFC Hall

1-6-1 Yokoami, Sumida, Tokyo 130-0015, Japan

Phone: +81-(3)5610-5801

URL: http://square.umin.ac.jp/jsmbm2019/

Organizer: Shunji Hattori, Ph.D., Nippi Research Institute of Biomatrix



# ご挨拶



第 51 回日本結合組織学会学術大会

大会長 **服部 俊治**

(ニッピバイオマトリックス研究所 顧問)

日本結合組織学会 (JSMBM) の第 51 回学術大会を、2019 年 5 月 31 日 (金)・6 月 1 日 (土) の 2 日間の会期で東京両国駅近辺の KFC ホールにて開催させていただくこととなりました。東京駅からのアクセスも便利です。第 51 回ということは、学会の次の半世紀の始まりである節目の年となります。大学院生、助手時代からお世話になっている、伝統あるこの学術大会を主催させていただくこととなり驚くとともに名誉なことだと思っています。次の半世紀のマトリックス研究の冒険のスタートということで Matrix Quest 2019 をテーマとして開催準備に取り組んでまいりました。

今回の大会では次の点を重点として企画しました。

1. シンポジウムと一般演題では、これまで結合組織学会には参加されなかった分野の先生、海外の若手研究者に来ていただき、我々とマトリックスの未来を語り合いたいと思います。
2. 未来といえば子供。お子様のことがあるので学会に参加しにくいという方のために、今回は託児室を併設する予定です。お子様をお持ちの方で、地方の方、東京でもちょっと遠い方から参加しにくいという方も是非参加をお考えください。6 ヶ月から小学生までの託児を行う予定にしています。
3. ポスターを見ながら議論する時間を十分とって交流を深めてもらうため、ポスター会場、展示時間に出来るだけ余裕のあるプログラムを目指しました。招待演者にも若手研究者との交流の場としてもポスターセッションを活用するようお願いしています。

米国 NIH から Leikin 博士および Vanderbilt 大学から Boudko 博士をおよびしてマトリックス研究の最先端について話していただきます。国内からは東京医科歯科大学赤澤智宏博士に再生医療とマトリックスについて、国立がん研究センター松村保広博士にはガン間質ターゲティング療法について話をさせていただく予定です。さらに海外で活躍する日本人研究者としてノースカロライナ大学の寺嶋雅彦博士と OHSU の石川善弘博士をおよびしてコラーゲン特有の生理現象である架橋や修飾について話をさせていただく予定です。また韓国から若手の研究者もおよびしていますので、マトリックスの研究者が国際的にも気軽に交流できる場となることを期待しています。

平成 27 年度より東京医科歯科大学、順天堂大学とご一緒にダイバーシティ研究環境イニシアティブというプログラムに参加させていただき、多様性について色々と気がつかされることもありました。今回の学会において、女性男性の研究者、年代を超えた研究者、国を超えた研究者、アカデミアと産業界の研究者の交流を通じて、広い視野でマトリックスを捉える手がかりになればと思います。

## WELCOME

Dear Members, Colleagues and Friends of JSMBM,

It is my pleasure to welcome you to Tokyo for the 51st Japanese Society for Matrix Biology and Medicine Annual Meeting. This year the conference is name “Matrix Quest 2019” and it reflects our vision of stepping forward into the society’s next half of the century. Like connective tissues, JSMBM’s aim is to act as bridge between researchers and clinicians.

This meeting will feature:

1. A wide range of researchers from the matrix biology field
2. New to this year - childcare services for researchers with young children at the nursery in the KFC Hall.
3. Extended time in the poster presentation sessions to foster more in-depth discussions amongst attendees

Among the many distinguished guests, we have in attendance, we are delighted to host the following invited speakers:

- Sergey Leikin Ph.D., Chief of Physical Biochemistry  
Eunice Kennedy Shriver National Institute of Child Health and Human Development, National Institute of Health
- Sergei Boudko, Ph.D., Assistant Professor, Vanderbilt University
- Chihiro Akazawa, M.D., Ph.D, Professor, Department of Biochemistry and Biophysics  
Graduate School of Health Care Sciences, Tokyo Medical and Dental University
- Yasuhiro Matsumura, M.D. Ph.D., Chief of Investigative Treatment Division  
National Cancer Center
- Yoshihiro Ishikawa, Ph.D., Oregon Health and Science University
- Masahiko Terashima, Ph.D., University of North Carolina

It is also a privilege to welcome the Korean Society for Matrix Biology to the meeting. KSMB session will feature the following researchers from KSMB:

- Sangmyung Rhee, Chung-Ang University
- Jiyeon Kim, Korea University

Our hope is that this meeting serves as an opportunity for basic and clinical researchers as well as individuals from industry to come together. We are looking forward to welcoming everyone interested in extra cellular matrix.

Best Wishes,

Shunji Hattori  
Chair of the 51st Annual Meeting  
of the Japanese Society for Matrix Biology and Medicine  
Nippi Research Institute of Biomatrix

## 大会組織委員

### 学術大会長

服部 俊治

(ニッピ バイオマトリックス研究所)

### 組織委員

水野 一乗

大谷 安里

楠畑 雅

田中 啓友

多賀 祐喜

(以上 ニッピ バイオマトリックス研究所)

平澤 恵理 (順天堂大学)

山本 卓司 (マトリクスーム社)

後援：株式会社ニッピ

### 第51回学術大会事務局

水野 一乗 (事務局長・学術)

大谷 安里 (庶務・会計)

ニッピ バイオマトリックス研究所

302-0017 茨城県取手市桑原 520-11

Phone: 0297-71-3040

JSMBM51@nippi-inc.co.jp

## Organizing Committee

### Chair

Shunji Hattori, Nippi Research Institute of Biomatrix

### Members

Kazunori Mizuno

Anri Otani

Masashi Kusubata

Keisuke Tanaka

Yuki Taga

(Nippi Research Institute of Biomatrix, Nippi, Inc.)

Eri Hirasawa-Arikawa (Juntendo Univ.)

Takuji Yamamoto (Matrixome, Inc.)

Sponsor: Nippi, Inc.

### Contact Us

Kazunori Mizuno (Chief, Academic)

Anri Otani (Accounting, General affairs)

Nippi Research Institute of Biomatrix

520-11 Kuwabara, Toride, Ibaraki 302-0017, Japan

Phone: +81-297-71-3040

Fax: +81-297-71-3041

E-mail: JSMBM51@nippi-inc.co.jp

URL: <http://square.umin.ac.jp/jsmbm2019>

## 各種委員会・関連行事

### 1. 学術大会

2019年5月31日(金) - 6月1日(土)  
KFC Hall, KFC Hall Annex 3F

### 2. 情報交換会

2019年5月31日(金) 19:00 - 20:45  
KFC ホール 3F (A会場)

### 3. 理事会

2019年5月30日(木) 16:00 - 18:00  
KFC ホール 10F 104室

### 4. 評議委員会

2019年6月1日(土) 12:30 - 13:00  
KFC ホール 3F KFC Annex 室  
(B会場)

### 5. 総会

2019年6月1日(土) 16:40 - 17:20  
KFC ホール 3F (A会場)

## Schedule

### 1. Annual Meeting

May 31st (Fri) - June 1st (Sat)  
KFC Hall, KFC Hall Annex

### 2. Networking Reception

May 31st (Fri) at KFC Hall  
19:00-20:45

### 3. Board Members Meeting

May 30th (Thu)  
KFC Hall 10F Room 104  
16:00-18:00

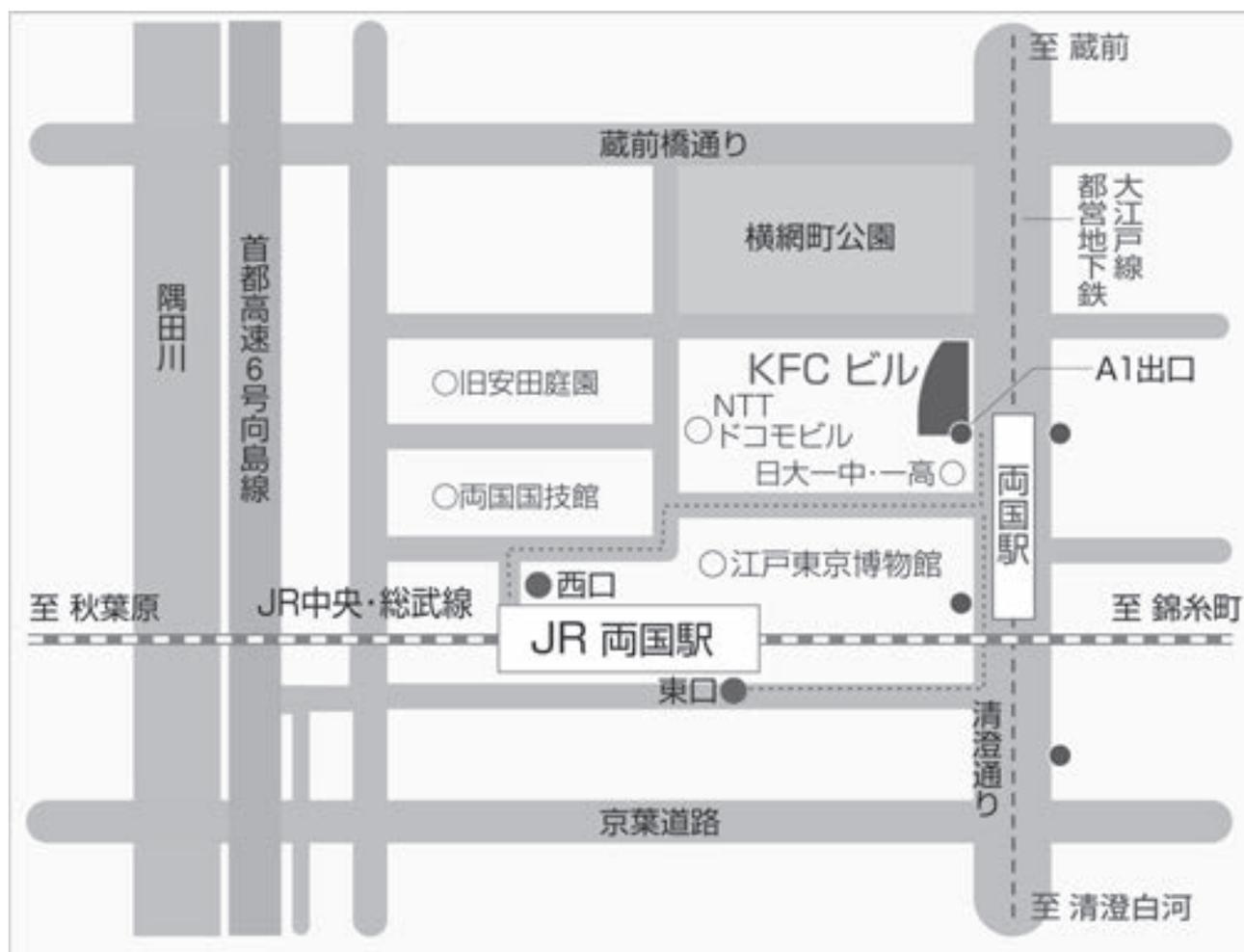
### 4. Councilors Meeting

June 1st (Sat) at KFC Annex  
12:30-13:00

### 5. JSMBM Members Business Meeting

June 1st (Sat) at KFC Hall  
16:40-17:20

## 交通・会場案内 -Access-



### 地下鉄

都営地下鉄大江戸線「両国駅」A1 出入口より徒歩 0 分。

### JR

□ JR 中央・総武線「両国駅」東口より徒歩約 6 分。  
東口改札より線路沿いを千葉方面へ向かい、突き当たり大通りを左折しガードをくぐり、約 200 m 先左手 25 階建てビル。

□ JR 中央・総武線「両国駅」西口より徒歩約 7 分。  
西口改札より両国国技館と江戸東京博物館の間の歩行者用通路に沿って、車止めのある十字路を右折。両国中学校と江戸東京博物館の間のレンガ道を進み大通りを左折し、約 50 m 先左手 25 階建てビル。

### KFC Hall

#### Subway Oedo Line

A1 Exit of Ryogoku Station (station code: E-12) on Toei Subway Oedo Line

#### JR Sobu Line

6 min walk from the East Gate of Ryogoku Station (station code: JB21)

7 min walk from the West Gate of JR Ryogoku Station

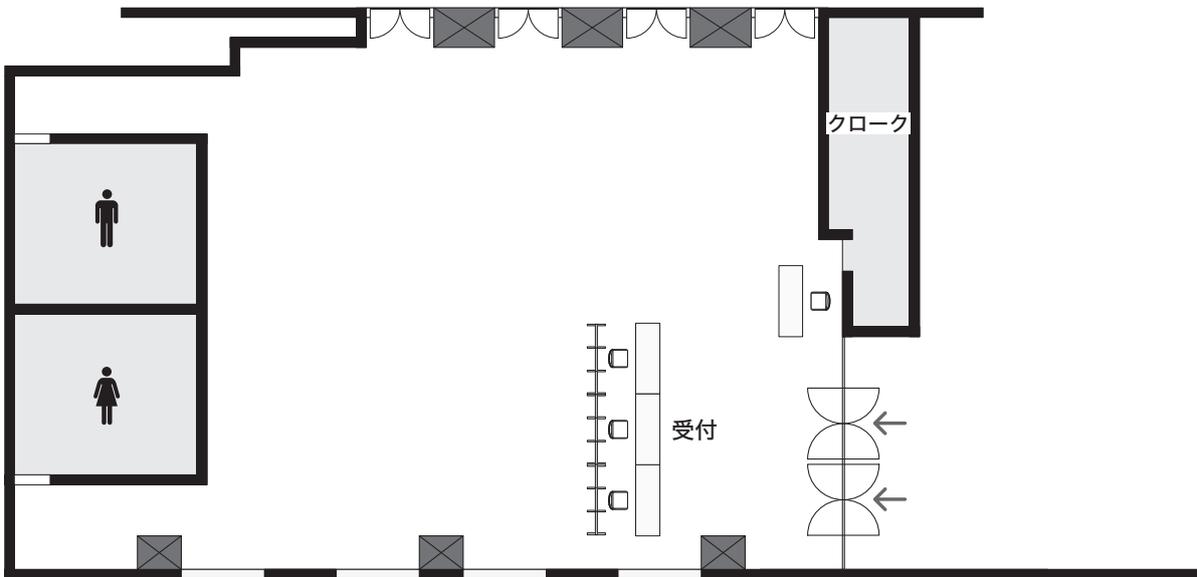
# KFC ホール内のご案内

## 3階



## 3階 ホワイエ

受付およびクローク



## 学術大会参加の皆様へ

### 1. 参加受付のご案内（※事前参加登録はございません）

#### 1) 参加受付（KFC ホール内の総合受付）

5月31日（金）8:00 - 18:00

6月1日（土）8:00 - 15:30

※口演会場 B に受付はございません。

#### 2) 参加費

参加登録票をご記入いただき、受付に会費を添えて提出してください。

お釣りが出ないようにご用意をお願いします。

参加証は氏名・所属をご記入の上、学会場内および懇談会でご着用ください。

- 一般会員： 15,000 円
- 学生会員： 11,000 円（身分を証明するものをご持参ください）
- 非会員： 23,000 円
- 学生非会員： 14,000 円（身分を証明するものをご持参ください）

※情報交換懇談会の会費を含みます。

※学部の学生は無料です。身分を証明するものをご持参ください。

※参加費のお支払は日本円現金でお願い致します。

#### 3) プログラム・抄録集

当日受付にて参加者に配布いたします。

事前に学術大会ホームページでPDF ファイルをダウンロードできます。

### 2. クローク

会場 3F 受付横でお預かりいたします。貴重品は各自でお持ちください。

日時： 5月31日（金）8:00 - 20:55

6月1日（土）8:00 - 17:45

### 3. Young Investigator Award (YIA) applicants

口演発表のある方も、ポスタープレゼンテーションをお願いします。

事前をお願いしてあります審査委員の投票で決定いたします。

表彰は学術大会中の総会（2019年6月1日（土）16:40 - 17:20）で行います。

### 4. 情報交換会のご案内

5月31日（金）19:00 から、学会会場 KFC ホールで行います。情報交換会の参加には事前に学術大会への参加登録が必要です。情報交換会会場に参加受付窓口はございませんので、事前に

学会場にて参加受付をお済ませの上、情報交換会会場で参加証をご提示ください。

## 5. ドリンクコーナー

A 会場 KFC Hall Foyer ホワイエ（3階）内に設置しております。

## 6. 談話スペース

KFC ホール 10 階にラウンジがあります。ソファ、AC 電源などがございます。

## 7. 写真撮影・録音

講演会場、ポスター会場におきましては、写真撮影・ビデオ撮影・録音等は著作権保護および個人情報の観点から全面的に禁止させていただきます。ただし、事前に学会本部へ申請されて許可を得た方に限っては、撮影等を認めることもあります。許可なく撮影、録音を行っている方へは、係の者がお声を掛けさせていただくことがあります。

## 8. 会場内無料 Wi-Fi

会場内で無料 Wi-Fi が利用可能です。

Access Point 名：

3 階 KFC Hall	KFC Hall, KFC Foyer
3 階 KFC Hall Annex	KFC Hall Annex
10 階 lounge	KFC10F, KFC10F-2

Password（すべて共通）：**kfc12345**

## 座長・発表者の方へ

### お願い

- ◎ 本大会の口演スライド、発表用ポスターは英語で作成してください。
- ◎ YIA に応募される方は、口頭発表がある方も必ずポスター展示をお願いします。

### 1. 座長の皆様へ

- ご担当セッションの開始 10 分前までに各会場内の次座長席にご着席ください。

### 2. シンポジウム・特別講演発表者の皆様へ

- 発表セッション開始の 30 分前までに、PC 受付（A 会場横）で試写をお済ませの上、発表 10 分前までに、各会場内左前方の次演者席にご着席ください。
- 講演、シンポジウムでの発表者は質疑応答も含めて事前にお知らせした時間でお願いします。

### 3. 一般演題発表の皆様へ

- 口演時間：一般演題・ワークショップともに、発表8分・質疑2分、計10分です。
- 発表の10分前までに、発表会場内前方の次演者席にお越しください。
- 時間厳守にご協力ください。

### 4. スライドデータ受付方法

- 発表セッション開始の30分前までに、PC受付（A会場横）にUSBメモリをお持ちください。
- 受付時間：5月31日（金）8:00 - 18:00 / 6月1日（土）8:00 - 15:00です。
- 2日目のご発表演題は、1日目の午後以降にデータを受付までご持参ください。

### 5. 口演発表形式

- 発表はWindows 10 OSのPCプレゼンテーションのみで、一面映写です。
- USBメモリにてデータをご持参ください。
- 会場、及びPC受付にはWindows 10搭載PCをご用意しております。
- 使用するアプリケーションソフトはPowerPoint 2016です。このバージョンでの動作状況をご確認ください。
- スライドは、「デザイン」→「ページ設定」→「画面に合わせる（4:3）」で作成してください。
- 受付されたデータはPC内にコピーさせていただき、USBメモリはその場で返却いたします。PC内にコピーした発表データは、発表終了後、学会事務局で責任を持って削除いたします。
- 発表用のファイル名は「演題番号+氏名」としてください。（例：A1-9 山田太郎 .pptx）
- 文字フォントはOSに設定されている標準的なフォントをご使用ください。
- 発表に使用するPCはすべてSXGA+（1400 × 1050）に統一してあります。

#### ※動画データ利用のご発表

- ご発表内容に動画を含む方は、以下を厳守し、必ずPC受付にてお申し出ください。
- 動画ファイルはWindows 10で標準にサポートされている形式のみ受け付けます。その他の形式は再生できない可能性があります。
- 必ず事前にWindows 10 OSのPCでPowerPointファイルの動画が再生できるかご確認ください。
- PowerPointとのリンク状態を保つため、使用動画データも同じファイルと一緒に保存してUSBメモリでご持参ください。

### 6. 発表時のPC操作

演台上にPC、マウスがセットしてありますので、ページ送りは発表者ご自身で行ってください。

## 7. 一般演題ポスター発表の皆様へ

ポスターの作成は英語でお願いします。

YIA に応募される方は、口頭発表がある方も必ずポスター展示もお願いします。

### 1) ポスター展示・撤去について

掲示日程：5月31日（金）8:00 - 10:00

撤去日程：6月1日（土）15:00 - 16:00

撤去日程を過ぎても未撤去のポスターは、事務局で処分させていただきますのでご了承ください。

### 2) ポスター討論は、5月31日（金）の17:45 - 18:45および6月1日（土）の11:20 - 12:20に行います。5月31日は奇数番号のポスター、6月1日は偶数番号のポスターの発表者は、討論時間にポスター前で待機をお願いします。

### 3) 展示方法：

- ポスター本文の貼付面は縦180 cm ×横90 cmです。
- 演題番号は事務局で用意いたします。
- 画鋏など貼付に必要な備品は当日会場にご準備いたします。
- 展示物の学会場・事務局への事前送付はご遠慮ください。

# Registration

## 1. Information on participation reception (Pre-registration is not available.)

### 1) Registration hours

May 31st (Fri), 8:00 - 18:00

June 1st (Sat), 8:00 - 15:30

Reception desk can be found at the 3rd floor of KFC building.

### 2) Registration Fee

Please fill the completed registration form and reception fee to reception upon arrival.

Please write your name and organization on your name badge, which will allow you access to the venue during the meeting.

We encourage you to join the Japanese Society for Matrix Biology and Medicine.

Registration fees:

General members: ¥ 15,000

Student members: ¥ 11,000 (Valid student ID card required.)

Non-members: ¥ 23,000

Student Non Members: ¥ 14,000 (Valid student ID card required.)

\* The Networking Reception on the Friday evening is included with the registration fee.

\* Registration is free for students in Grades 7 – 12 and undergraduate students with a valid Student ID Card.

\* Please make your payment in Japanese currency in cash.

### 3) Program/Abstract Book

Printed copies of the program book will be available at the reception desk.

Digital copies can be accessed on the meeting website.

## 2. Coat Check

Coat Check will be available on 3F at the reception desk. While we endeavor to keep your belongings safe, we cannot be responsible for any lost or stolen items.

Coat Check hours:

Friday May 31, 8:00 - 20:55

Saturday, June 1, 8:00 - 17:45

### **3. Young Investigator Award (YIA) Applicants**

Please be sure to bring your poster to the conference.

The award recipients will be determined by the YIA Committee.

Awards will be presented to the recipients on Saturday June 1st, 16:40 - 17:20.

### **4. Networking Reception**

The Networking Reception will be held at KFC Hall at 19:00 on Friday May 31st. Light refreshments will be served. Registration to the conference is required. Your name badge is required to enter into the Networking Reception.

### **5. Refreshment**

Coffee, tea and water will be served on 3rd floor at KFC Hall Foyer.

### **6. Lounge Access**

The lounge area can be found on the 10th floor of the KFC building. Electric outlet is available in the lounge area.

### **7. Photo and Video Recordings**

Photography and video recordings are not allowed without prior written consent from the Organizing Committee. Unauthorized recordings (including but not limited to photos, videos, audio recordings etc.) of presentations during oral and poster sessions without the express written consent of the JSMBM Organizing Committee is strictly prohibited.

### **8. Wi-Fi Access**

Free Wi-Fi is available in the venue.

Access point name:

3F: KFC Hall                      KFC Hall, KFC Foyer

3F: KFC Hall Annex            KFC Hall Annex

10F: Lobby                        KFC10F, KFC10F-2

Password: kfc12345            for all access points

## To the chairperson / presenter

### **ATTENTION:**

While presentations can be conducted in Japanese, all PowerPoint presentation slides and posters must be in English.

YIA applicants should bring their posters even if only scheduled for an oral presentation.

### **1. Chairpersons**

Please be seated in the "Standby Seat" 10 minutes before the start of the session you are chairing. We thank you in advance for keeping to schedule.

### **2. Presenters**

30 mins prior to the start of the session block you belong to: Please submit your PowerPoint file at the computer station next to the Reception Desk at KFC Hall Foyer. Note that all presenters must submit their PowerPoint file for review, presenting from personal electronic devices will not be accepted.

10 mins prior to your presentation: Please be sure to be in the "Standby Seat" located in the first row. We thank you in advance for your punctuality.

We will also check the data even when bringing in your own laptop, so please be sure to drop in at the PC reception desk.

### **3. For Concurrent oral session presenters**

Duration: For the oral session, there will be 8 minutes of presentation time and 2 minutes for Q&A, totaling 10 minutes per individual presentation.

### **4. Presentation file submission at the PC Desk**

Presenters on Day 1: Friday May 31st:

Please bring your PowerPoint file on a USB memory stick to PC Desk (KFC Hall Foyer) at least 30 minutes before the start of your session block. We encourage you to submit your file early and in advance to ensure sufficient time to review that it is displayed as you had intended.

Presenters on Day 2: Saturday June 1st

Please bring your PowerPoint file on a USB memory stick to PC Desk on after lunch on Day 1 Friday May 31st. Please note that the PC Desk closes at 18:00 that day.

PC Desk hours: Friday May 31 (8:00 - 18:00) / Saturday June 1 (8:00 - 15:00).

## 5. Oral Presentation Format

Presentations will be run on a Windows 10 OS PC, and projected onto one screen.

Please bring your PowerPoint file on a USB memory stick.

Windows 10 PC is available at the PC Desk.

We will be running PowerPoint 2016 on Windows. Please ensure that your file will work in on this version of PowerPoint and on a Windows operating system.

Create slides in Standard 4:3 ratio (Go to "Design" → "Slide size" → "Standard (4: 3)").

Once your PowerPoint file is accepted, it will be transferred onto our computer and the USB memory stick will be returned to you. The data copied on the computer will be deleted after the presentation is completed.

Please make the file name of your presentation is in the following format: "abstract number, full name". (Ex: A1-9 Nippi Taro.pptx)

Please use the standard font set for Windows OS.

All computers used for presentations are connected to a projector with resolutions in SXGA + (1400 × 1050), we encourage you to check the layout on SXGA +.

\* Video Clips in Presentations

If you have the videos in your presentation, please inform the staff at PC Desk.

To keep the linked movie file with the PowerPoint file, save the movie in the PowerPoint file.

## 6. Operating the Computer during Presentations

The computer will be located on the podium. You will have control over navigating through the slides yourself throughout your presentation using this PC.

## 7. Poster Presentations

**The contents of the posters need to be in English.**

Young Investigator Award applicants who are scheduled for an oral presentation still need to bring their posters with them to the conference.

### 1) Poster set-up & Removal

Poster set-up time: May 31st (Fri) 8:30 - 10:00

Poster removal time: June 1st (Sat) 15:00 - 16:00

Please note that we will remove posters that have not been removed by 5 pm.

2) Poster sessions will be held between 17:45 – 18:45 on Friday May 31st for odd numbered posters and 11:20 - 12:20 on Saturday, June 1st for the even numbered posters.

3) Poster format:

The poster panel is 180 cm in length × 90 cm in width.

The abstract number assigned by the Conference Organizer can be found on the upper left corner.

Pins and tape will be available onsite on the day.

Please do not send the posters to the KFC Hall.

# 日程表 5月31日(金)

	A会場 KFC Hall	B会場 KFC Hall Annex	ポスター会場 Annex & Foyer
8:00	8:00 開場		ポスター展示
	8:50 開会挨拶		
9:00	8:55 - 10:15 一般演題 A1-1 - A1-7 座長：中里浩一、百田龍輔	8:55 - 10:05 一般演題 B1-1 - B1-6 座長：大橋俊孝、伊達公恵	
10:00			
	10:20 - 11:45 シンポジウム 1 SY1-1 - SY1-4 バイオマテリアルとしてのコラーゲン 座長：田中啓友、小出隆規		
11:00			
12:00	12:00 - 12:50 ランチョンセミナー 座長：大和雅之 演者：松村保広 共催：ニッピ		
13:00	13:00 - 14:25 シンポジウム 2 SY2-1 - SY2-3 Matrix Quest 2019 座長：Takako Sasaki, Sergei Boudko		
14:00	14:25 - 15:15 MQSL-1 座長：水野一乗 演者：Sergey Leikin		
15:00	15:20 - 16:10 MQSL-2 座長：服部俊治 演者：Chihiro Akazawa		
16:00	16:20 - 17:40 シンポジウム 3 SY3-1 - SY3-4 コラーゲンの多様な翻訳後修飾 座長：多賀祐喜、石川善弘		
17:00			
18:00			17:45 - 18:45 ポスター討論 I (奇数)
19:00	19:00 - 20:45 情報交換会		

# 日程表 6月1日(土)

	A会場	B会場	ポスター会場
	KFC Hall	KFC Hall Annex	Annex & Foyer
8:00	8:00 開場		
9:00	8:30 - 9:50 一般演題 A2-1 - A2-7 座長：入山俊介、柴田峻	8:30 - 9:50 一般演題 B2-1 - B2-7 座長：鍋島一樹、沖田実	ポスター展示
10:00	9:55 - 10:50 一般演題 A2-8 - A2-12 座長：酒井尚雄、米澤朋子	9:55 - 11:15 一般演題 B2-8 - B2-14 座長：雑賀司珠也、畑隆一郎	
11:00	10:50 - 11:20 座長：渡辺秀人 KSMB-JSMBM Symposium		
12:00			11:20 - 12:20 ポスター討論II(偶数)
13:00		12:30 - 13:00 評議委員会	ポスター展示
14:00	13:20 - 15:05 シンポジウム4 SY4-1 - SY4-6 疾患研究における結合組織 座長：平澤恵理、稲垣豊		
15:00	15:15 - 16:30 シンポジウム5 SY5-1 - SY5-3 結合組織の食品利用 座長：楠畑雅、林利彦		
16:00			
17:00	16:40 - 17:20 総会 (YIA 表彰式を含む)		
18:00			
19:00			

# プログラム

## 5月31日(金)

演題番号の後ろの\*印は Young Investigator Award への応募演題です。

演題番号の下の (P○○) はポスター発表における演題番号です。

### A 会場 (KFC Hall)

開会挨拶

8:50 A 会場

### 一般演題 A1-1 - A1-7

8:55 - 10:15 A 会場

座長：中里浩一 日体大  
百田龍輔 岡山大

- A1-1\*** 血管新生におけるアスコルビン酸の影響 3本らせん構造をとらない IV 型コ  
(P39) ラーゲンポリペプチド鎖 (NTH $\alpha$ 1(IV)) 産生  
川野辺裕太<sup>1</sup>、守矢あかね<sup>1,2</sup>、辛英哲<sup>1,2</sup>、今村保忠<sup>1,2</sup>  
1 工学院大学大学院工学研究科、2 先進工学部生命化学科
- A1-2\*** 疑似低酸素条件での3本らせん構造をもたない IV 型コラーゲンポリペプチド鎖  
(P40) (NTH $\alpha$ 1(IV)) の産生  
関根康介<sup>1</sup>、西條湧紀<sup>1</sup>、辛英哲<sup>1,2</sup>、今村保忠<sup>1,2</sup>  
1 工学院大学大学院工学研究科、2 先進工学部生命化学科
- A1-3** I 型コラーゲンによる前駆脂肪細胞の脂肪細胞への分化阻害は YAP の活性化を  
介する  
林利彦<sup>1,2</sup>、Xiaoling Liu<sup>1</sup>、Xinyu Long<sup>1</sup>、Yanfang Gao<sup>1</sup>、Weiwei Liu<sup>1</sup>、  
水野一乗<sup>3</sup>、藤崎ひとみ<sup>3</sup>、服部俊治<sup>3</sup>、小野寺敏<sup>4</sup>、小倉孝之<sup>5</sup>、池島喬<sup>1</sup>  
1 瀋陽薬科大学、2 工学院大学先進工学部・生命化学、3 ニッピバイオマトリックス研究所、  
4 昭和薬科大学、5 ニッピバイオ・ケミカル事業部
- A1-4** I 型コラーゲングルは YAP を介して培養骨格筋細胞 C2C12 の分化を抑制する  
(P41) 鴻崎香里奈、田村優樹、中里浩一  
日本体育大学体育研究所
- A1-5** ヒト肺ガン細胞株 A549 における、I 型コラーゲングル上培養で誘導される  
EMT 様転換と TGF-beta1 処理により誘導される EMT の比較  
藤崎ひとみ<sup>1</sup>、二木杉子<sup>2</sup>、山田雅司<sup>3</sup>、関口清俊<sup>3</sup>、林利彦<sup>4,5</sup>、服部俊治<sup>1</sup>  
1 ニッピ バイオマトリックス研、2 阪医大 生命科学 解剖、3 阪大 蛋白研、4 瀋陽薬大 中日医薬研、  
5 工学院大学先進工学部 生命化学
- A1-6\*** 患者由来線維芽細胞、iPS 細胞を用いた骨形成不全症の病態解析と 4- フェニル  
(P42) 酪酸の効果  
武鍵真司<sup>1</sup>、大幡泰久<sup>1,2</sup>、窪田拓生<sup>1</sup>、多賀祐喜<sup>3</sup>、水野一乗<sup>3</sup>、大菌恵一<sup>1</sup>  
1 大阪大学大学院医学系研究科小児科学、2 大阪大学大学院歯学研究科口腔外科学第一教室、  
3 ニッピ・バイオマトリックス研究所

**A1-7 (P43)** 最新の高精細内視鏡を用いた術中近接拡大画像による fascia の微細構造の観察—臨床の立場からの生体での fascia の認識—

川島清隆<sup>1</sup>、後藤健太郎<sup>1</sup>、市川寛樹<sup>2</sup>

<sup>1</sup> 栃木県立がんセンター 泌尿器科、<sup>2</sup> 柏厚生総合病院 泌尿器科

**シンポジウム1 バイオマテリアルとしてのコラーゲン**

10:20 - 11:45 **A会場**

座長：田中啓友 ニッピ  
小出隆規 早稲田大

**SY1-1** 組織工学的手法による鼓膜再生療法

金丸真一

公益財団法人田附興風会 医学研究所北野病院耳鼻咽喉科・頭頸部外科、  
公益財団法人神戸医療産業都市推進機構 医療イノベーション推進センター

**SY1-2** コラーゲン材料とコラーゲン結合型成長因子を用いた運動器再生

内田健太郎<sup>1</sup>、松下治<sup>2</sup>、井上玄<sup>1</sup>、美間健彦<sup>2</sup>、高相晶士<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 北里大学医学部整形外科学、  
<sup>2</sup> 岡山大学医歯薬学総合研究科 病原細菌学

**SY1-3** コラーゲン3重らせんを模倣するペプチドの基礎および応用研究への利用

小出隆規

早稲田大学 先進理工学部 化学・生命化学科

**SY1-4** ミズクラゲコラーゲン成分の表皮角化細胞に対する生物学的効果の検証

住吉秀明<sup>1,2</sup>、中尾祥絵<sup>1,2</sup>、柳川享世<sup>1,2</sup>、中野泰博<sup>1,2</sup>、岡村陽介<sup>3</sup>、川口章<sup>2</sup>、  
遠藤整<sup>4</sup>、稲垣豊<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Center for Matrix Biology and Medicine, Graduate School of Medicine, Tokai University.,

<sup>2</sup> Department of Regenerative Medicine, Tokai University School of Medicine.,

<sup>3</sup> Department of Engineering Applied Biochemistry, Tokai University.,

<sup>4</sup> Department of Preventive Medicine, Tokai University School of Medicine.

**ランチョンセミナー**

12:00 - 12:50 **A会場**

座長：大和雅之 東京女子医大

**新しい抗体医薬の開発**

松村保広 国立がん研究センター 先端医療開発センター 新薬開発分野

[共催] ニッピ

座長：Takako Sasaki Oita Univ.  
Sergei Boudko Vanderbilt Univ.

**SY2-1** ラミニンアイソフォームを用いた多能性幹細胞からの眼細胞分化と再生医療への応用

林竜平<sup>1,2</sup>

1 大阪大学大学院医学系研究科 幹細胞応用医学寄附講座、  
2 大阪大学大学院医学系研究科 眼科学

**SY2-2** 生体組織透明化による角膜実質代替物の開発と検証

田中佑治

山梨大学医学部附属病院 臨床研究連携推進部  
理研 BDR、iCONM

**SY2-3** Human collagen IV scaffold assembly depends on a chloride ring within the NC1 domain hexamer

Vadim Pedchenko, Elena Pokidysheva, Ryan Bauer, Billy Hudson,

Sergei Boudko

Division of Nephrology and Hypertension and Center for Matrix Biology, Vanderbilt University Medical Center, Nashville, TN, USA

**Matrix Quest Special Lecture - 1**

14:25 - 15:15 A会場

座長：水野一乗 ニッピ

**MQSL-1** Procollagen sorting at ER exit sites

Sergey Leikin

Eunice Kennedy Shriver National Institute of Child Health and Human Development,  
National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA

**Matrix Quest Special Lecture - 2**

15:20 - 16:10 A会場

座長：服部俊治 ニッピ

**MQSL-2** Extracellular matrix environment maintains stemness of skeletal muscle satellite cells; Laminin E8 fragments mimic the niche structure

Chihiro Akazawa

Professor, Department of Biophysics and Biochemistry, Tokyo Medical and Dental University (TMDU)

座長：多賀祐喜 ニッピ  
石川善弘 OHSU

### SY3-1 LC-MS による多様なコラーゲン特異的翻訳後修飾の分析

多賀祐喜、服部俊治  
ニッピ バイオマトリックス研究所

### SY3-2 癌組織における異常なコラーゲンの翻訳後修飾について

寺嶋雅彦<sup>1</sup>、多賀祐喜<sup>2</sup>、齋藤智昭<sup>3</sup>、鶴澤一弘<sup>3</sup>、椎葉正史<sup>3</sup>、丹澤秀樹<sup>3</sup>、  
Antonio Amelio<sup>1</sup>、Becky K. Brisso<sup>4</sup>、Karin Sorenmo<sup>4</sup>、服部俊治<sup>2</sup>、  
Susan W. Volk<sup>4</sup>、山内三男<sup>1</sup>  
1 ノースカロライナ大学 頭蓋顔面口腔学講座、  
2 ニッピ バイオマトリックス研究所、  
3 千葉大学大学院医学研究院 口腔外科学講座、  
4 ペンシルベニア大学 獣医学講座

### SY3-3 Re-evaluation of lysyl hydroxylation in the collagen triple helix regarding site preference and type specific activities

Yoshihiro Ishikawa<sup>1,2</sup>, Yuki Taga<sup>3</sup>, Keith Zientek<sup>4</sup>, Antti Salo<sup>5</sup>,  
Nobuyo Mizuno<sup>4,6</sup>, Olesya Semenova<sup>4</sup>, Sara Tufa<sup>4</sup>, Douglas R. Keene<sup>4</sup>,  
Paul Holden<sup>4</sup>, Kazunori Mizuno<sup>3</sup>, Johanna Myllyharju<sup>6</sup>  
and Hans Peter Bächinger<sup>1</sup>  
1: Department of Biochemistry and Molecular Biology, Oregon Health & Science University, Portland, Oregon, USA,  
2: Departments of Ophthalmology and Anatomy, Institute for Human Genetics University of California San Francisco, USA,  
3: Nippi Research Institute of Biomatrix, Ibaraki, Japan,  
4: Shriners Hospital for Children, Research Department, Portland, Oregon, USA,  
5: Biocenter Oulu and Faculty of Biochemistry and Molecular Medicine, University of Oulu, Oulu, Finland,  
6: Vaccine and Gene Therapy Institute, Oregon Health and Science University, Portland, Oregon, USA

### SY3-4 N<sup>ω</sup>-(carboxymethyl)arginine は糖化に伴って主にコラーゲンに生成する

永井竜児<sup>1</sup>、木下奨<sup>1</sup>、米良克美<sup>1</sup>、多賀祐喜<sup>2</sup>、飯島克昌<sup>2</sup>、服部俊治<sup>2</sup>  
1 東海大学農学部バイオサイエンス学科食品生体調節学研究室、  
2 ニッピ バイオマトリックス研究所

## B会場 (KFC Hall Annex)

### 一般演題 B1-1 - B1-6

8:55 - 10:05 B会場

座長：大橋俊孝 岡山大  
伊達公恵 お茶の水女大

### B1-1 肝硬変におけるビトロネクチンの分子病態 —糖鎖変化とコラーゲン結合性—

伊達公恵<sup>1</sup>、鈴木理沙<sup>2</sup>、玉井幸恵<sup>3</sup>、小川温子<sup>1,2</sup>  
1 お茶の水女子大学・ヒューマンライフィノベーション研究所・糖鎖部門、  
2 お茶の水女子大学大学院・人間文化創成科学研究科、3 聖マリアンナ医科大学・生化学教室

- B1-2** マウス小脳顆粒前駆細胞の軸索決定におけるビトロネクチンの役割  
宮本泰則<sup>1,2</sup>、大石佑子<sup>1,2</sup>、橋本恵<sup>1</sup>、阿部彩香<sup>1,2</sup>、黒田真帆<sup>1,2</sup>  
1 お茶の水女子大学ヒューマンライフイノベーション研究所、2 お茶の水女子大学理学部生物学科
- B1-3\* (P50)** HYBID は変形性膝関節症患者の滑膜線維芽細胞で過剰発現し、関節液中ヒアルロン酸分解に関与する  
塩澤淳<sup>1,2</sup>、Susana de Vega<sup>2</sup>、Mehmet Z. Cilek<sup>2</sup>、良永知穂<sup>2</sup>、中村智美<sup>3</sup>、笠松慎也<sup>3</sup>、吉田浩之<sup>3</sup>、金子晴香<sup>1</sup>、石島旨章<sup>1,2</sup>、金子和夫<sup>1,2</sup>、岡田保典<sup>2</sup>  
1 順天堂大学大学院医学研究科整形外科学講座、2 順天堂大学大学院医学研究科運動器・腫瘍性疾患病態学講座、3 花王株式会社生物科学研究所
- B1-4** 腫瘍 - 間質相互作用における腫瘍細胞上の Emmprin と線維芽細胞上の CD73 の重要性  
青木光希子<sup>1</sup>、古賀佳織<sup>1</sup>、宮崎健<sup>1</sup>、濱崎慎<sup>1</sup>、越川直彦<sup>2</sup>、尾山大明<sup>3</sup>、秦裕子<sup>3</sup>、鍋島一樹<sup>1</sup>  
1 福岡大学医学部病理学講座、2 神奈川県立がんセンター臨床研究所、3 東京大学医科学研究所 疾患プロテオミクスラボラトリー
- B1-5** 心疾患時の死細胞貪食における筋線維芽細胞の役割  
仲矢道雄<sup>1,2</sup>、黒瀬等<sup>1</sup>  
1 九州大学薬学研究院薬効安全性学分野、2 AMED-PRIME
- B1-6\* (P51)** トリ fascia の線維構造研究法の確立  
前田夏希<sup>1</sup>、片桐奨<sup>2</sup>、辛英哲<sup>1,2,3</sup>、今村保忠<sup>1,2,3</sup>  
1 工学院大学大学院工学研究科、2 工学部応用化学科、3 先進工学部生命化学科

## ポスター会場 (Annex & Foyer)

ポスター討論 I (奇数)

17:45 - 18:45 **ポスター会場**

詳細なプログラムは 29 ページをご覧ください。

情報交換会

19:00 - 20:45 **A 会場**

6月1日(土)

A会場 (KFC Hall)

一般演題 A2-1 - A2-7

8:30 - 9:50 A会場

座長：入山俊介 資生堂  
柴田 峻 ロート製薬

**A2-1** ラミニン511E8上で培養したヒト iPS 細胞の脱スクレーパー剥離法の検討：  
トリプシンは剥離効率を低下させる

戎富美<sup>1,2</sup>、山本彩乃<sup>1,2</sup>、谿口征雅<sup>1,2</sup>、大西映里子<sup>1</sup>、阿部純子<sup>1</sup>、関口清俊<sup>1,2</sup>  
1 大阪大学蛋白質研究所、2 株式会社マトリクソーム

**A2-2\*** 表皮の恒常性維持におけるラミニン511の役割  
(P44)

入山俊介、西川紗織、細井純一、天野聡  
資生堂グローバルイノベーションセンター

**A2-3\*** 脳室下帯に存在するフラク톤は神経幹細胞ニッチとして機能する斑点状基底  
(P45) 膜である

佐藤祐哉<sup>1</sup>、浄住大慈<sup>1</sup>、二木杉子<sup>1</sup>、中野伊津子<sup>1</sup>、下野知性<sup>1</sup>、金子奈穂子<sup>2</sup>、  
澤本和延<sup>2,3</sup>、関口清俊<sup>1</sup>  
1 大阪大学 蛋白質研究所、2 名古屋市立大学 医学研究科、3 生理学研究所

**A2-4** コラーゲン結合型ラミニン断片を用いて三次元培養したヒト iPS 細胞塊の形態

佐藤(西内)涼子<sup>1</sup>、戎富美<sup>1,2</sup>、関口清俊<sup>1,2</sup>  
1 大阪大学 蛋白質研究所 マトリクソーム科学(ニッピ) 寄附研究部門、2 (株)マトリクソーム

**A2-5** マウス新生仔網膜血管新生における基底膜蛋白質および MMP の局在  
(P46)

二木杉子<sup>1</sup>、飯田知子<sup>1</sup>、平田あずみ<sup>1</sup>、柴田雅朗<sup>1</sup>、関口清俊<sup>2</sup>、近藤洋一<sup>1</sup>  
1 大阪医科大学医学部解剖学、2 大阪大学蛋白質研究所

**A2-6\*** パルス電気刺激が三次元培養皮膚モデルの細胞外マトリックス関連遺伝子発現  
(P47) に及ぼす影響

占部博也<sup>1</sup>、片山友晶<sup>2</sup>、中村敦也<sup>2</sup>、秋本龍二<sup>1</sup>、神谷章平<sup>1</sup>、市川秀之<sup>1</sup>、  
西山敏夫<sup>1,2</sup>  
1 株式会社ホームイオン研究所、2 東京農工大学農学部附属硬蛋白質利用研究施設

**A2-7\*** 3次元筋細胞培養における細胞外マトリックスの役割  
(P48)

秋葉星哉<sup>1</sup>、中田智史<sup>2</sup>、山下由莉<sup>1</sup>、須藤壘<sup>3</sup>、水野一乗<sup>3</sup>、平澤恵理<sup>1,2</sup>  
1 順天堂大学老人性疾患病態・治療センター、2 順天堂大学女性スポーツ研究センター、3 ニッピ

座長：酒井尚雄 リヴァプール大  
米澤朋子 岡山大

**A2-8\*** Chondroitin sulfate structure bound to immature oligodendrocyte  
(P49) impacts dendritic spine morphology in the somatosensory cortex

Aurelien Kerever, 田中貴大、加藤可那、鈴木佑治、平澤恵理

Research Institute for Disease of Old Age, Juntendo University Graduate school of Medicine

**A2-9** Intracellular Modulation of Thermo-responsive Elastin-like  
Polypeptide-Estrogen Receptor Fusions

Anh Tan Truong<sup>1</sup>, Zhe Li<sup>1</sup>, Hugo Avila<sup>1</sup>, Curtis Toshio Okamoto<sup>1</sup>,  
John Andrew MacKay<sup>1,2,3</sup>

1 Department of Pharmacology and Pharmaceutical Sciences, School of Pharmacy, University of Southern California,

2 Department of Biomedical Engineering, University of Southern California,

3 Department of Ophthalmology, University of Southern California

**A2-10** 変形性関節症滑膜線維芽細胞における IL-1 $\alpha$ 、TNF- $\alpha$ 、TGF- $\beta$ による  
ADAMTS4 (アグリカナーゼ -1) の相乗的発現亢進と抗関節炎製剤による抑制

Mehmet Zeynel Cilek<sup>1,2</sup>、宮前結花<sup>3</sup>、千々岩みゆき<sup>3</sup>、望月早月<sup>3</sup>、伊藤雅俊<sup>3</sup>、  
デベガ・スサーナ<sup>2</sup>、塩澤淳<sup>2,4</sup>、金子晴香<sup>4</sup>、石島旨章<sup>1,2,4</sup>、金子和夫<sup>1,2,4</sup>、  
岡田保典<sup>2,3</sup>

1 順天堂大学スポーツロジセンター、2 順天堂大学大学院医学研究科 運動器・腫瘍性疾患病態学講座、  
3 慶應義塾大学医学部病理学教室、4 順天堂大学大学院医学研究科 整形外科・運動器医学

**A2-11** Hydroxyproline-containing peptide promotes differentiation and  
collagenous fibril network organization in adult tendon cells

酒井尚雄<sup>1</sup>、水野一乗<sup>2</sup>、服部俊治<sup>2</sup>

1 University of Liverpool, UK、2 ニッピ バイオマトリックス研究所

**A2-12** 角膜実質細胞によるコラーゲンゲル収縮能における urokinase-type  
plasminogen activator (u-PA) の影響

西田功一<sup>1</sup>、杉岡孝二<sup>1,2</sup>、村上純子<sup>3</sup>、岡田清孝<sup>4</sup>、西田輝夫<sup>5</sup>、日下俊次<sup>1</sup>

1 近畿大学医学部眼科学教室、2 近畿大学奈良病院眼科、3 啓仁会咲花病院、

4 近畿大学医学部医学基盤教育、5 山口大学医学部眼科学教室

座長：渡辺秀人 愛知医大

**KS1** Microtubule Acetylation Mediates Stromal Fibroblast Activation in  
Breast Cancer Progression

Sangmyung Rhee

Department of Life Science, Chung-Ang University, Seoul, Republic of Korea

## KS2 Integrin activation is a sensor of mechanical force

Jiyeon Kim, and Chungho Kim

Department of Life Sciences, Korea University, South Korea

### シンポジウム4 疾患研究における結合組織

13:20 - 15:05 A会場

座長：平澤恵理 順天堂大  
稲垣 豊 東海大

#### SY4-1 糸球体足細胞（ポドサイト）と糸球体基底膜の濾過障壁としての役割

浅沼克彦

千葉大学大学院医学研究院 腎臓内科学

#### SY4-2 3次元診断による硬化糸球体の診断への試み

山田博之<sup>1,2</sup>、浅沼克彦<sup>1</sup>

1 千葉大学大学院医学研究科腎臓内科学、

2 京都大学大学院医学研究科腎臓内科学

#### SY4-3 肝線維化のメカニズム解析と抗線維化治療アプローチ

池嶋健一

順天堂大学大学院医学研究科消化器内科学

#### SY4-4 慢性肝疾患における TGF- $\beta$ L<sup>59</sup>/LAP 断片測定の意義

横山寛<sup>1</sup>、政木隆弘<sup>2</sup>、井上育代<sup>3</sup>、中村まり子<sup>2</sup>、目崎喜弘<sup>2</sup>、佐伯千里<sup>1</sup>、  
小嶋聡一<sup>3</sup>、松浦知和<sup>2</sup>

1 東京慈恵会医科大学 消化器・肝臓内科、

2 東京慈恵会医科大学 臨床検査医学講座、

3 理化学研究所 肝がん予防研究ユニット

#### SY4-5 過敏性肺炎における線維化病態の解明

宮崎泰成、田坂有理

東京医科歯科大学 統合呼吸器病学

#### SY4-6 私の挑戦：肺線維症線維芽細胞を介する線維化を抑制する高感受性抗線維化薬の探究

渡邊純子、十合晋作、高橋和久

順天堂大学大学院医学研究科呼吸器内科学

座長：楠畑 雅 ニッピ  
林 利彦 瀋陽薬科大

### SY5-1 食品由来コラーゲンペプチド Pro-Hyp は体性幹細胞マーカー p75NTR 発現細胞の成長を促進する

浅井智子<sup>1,2</sup>、吉川一伸<sup>2</sup>、澤田和浩<sup>2</sup>、自見至郎<sup>3</sup>、佐藤健司<sup>2</sup>

1 奈良女子大学生活環境科学部食物栄養学科

2 京都大学大学院農学研究科応用生物科学専攻

3 福岡大学医学部医学科

### SY5-2 魚類由来エラスチンペプチドの組織傷害抑制作用：新規機能性ペプチドとしての有用性

竹森久美子

近畿大学農学部食物栄養学科

### SY5-3 サケ鼻軟骨抽出プロテオグリカンの抗炎症作用

廣瀬昌平<sup>1,2</sup>、浅野クリスナ<sup>1,2</sup>、中根明夫<sup>1</sup>

1 弘前大学大学院医学研究科生体高分子健康科学講座、

2 弘前大学大学院医学研究科感染生体防御学講座

総会 (YIA 表彰式を含む)

16:40 - 17:20 A会場

## B会場 (KFC Hall Annex)

### 一般演題 B2-1 - B2-7

8:30 - 9:50 B会場

座長：鍋島一樹 福岡大  
沖田 実 長崎大

### B2-1 加水分解卵殻膜は III 型コラーゲンに富む弾性のある (ハリのある) 真皮乳頭層を与える

大戸 - 藤田恵理<sup>1</sup>、清水美穂<sup>1</sup>、佐野将英<sup>1</sup>、栗本大嗣<sup>1</sup>、山澤開<sup>1</sup>、跡見友章<sup>2</sup>、桜井隆史<sup>3</sup>、村上義彦<sup>4</sup>、高見拓<sup>4</sup>、村上智亮<sup>5</sup>、吉村浩太郎<sup>6</sup>、長谷部由紀夫<sup>7</sup>、跡見順子<sup>1</sup>

1 農工大材料健康科学、2 杏林大理学療法、3 アステラス再生医療研究所、4 農工大有機材料化学、5 農工大獣医毒性学、6 自治医科大形成外科、7 株式会社アルマード

### B2-2\* 自発的な構造変換により変性コラーゲンへの結合能を獲得するペプチドの設計と合成 (P52)

金井沙也伽、小出隆規

早稲田大学先進理工学研究科化学・生命化学専攻

### B2-3 コラーゲン結合タンパク質に結合する3重らせん配列を取得する酵母-2-ハイブリッドシステムの確立

増田亮<sup>1</sup>、富永裕貴<sup>1</sup>、門之園哲哉<sup>2</sup>、小出隆規<sup>1</sup>

1 早稲田大学先進理工学部、2 東京工業大学生命理工学術院

- B2-4** 特発性上葉優位型肺線維症における肺動脈リモデリングの特徴  
木下義晃<sup>1,2</sup>、渡辺憲太郎<sup>2</sup>、濱崎慎<sup>1</sup>、藤田昌樹<sup>2</sup>、鍋島一樹<sup>1</sup>  
1 福岡大学病院病理部・病理診断科、2 福岡大学病院呼吸器内科
- B2-5** 骨格筋の線維化に対するベルト電極式骨格筋電気刺激法の介入効果  
本田祐一郎<sup>1,2</sup>、田中なつみ<sup>1,2</sup>、梶原康宏<sup>2</sup>、稲富裕也<sup>2</sup>、片岡英樹<sup>2</sup>、坂本淳哉<sup>2</sup>、  
近藤康隆<sup>2</sup>、縄田厚<sup>3</sup>、沖田実<sup>2</sup>  
1 長崎大学病院リハビリテーション部、  
2 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科運動障害リハビリテーション学研究室、3 アルケア株式会社
- B2-6** 骨格筋の線維化の発生に関わるマクロファージ集積機序の検討  
田中なつみ<sup>1,2</sup>、本田祐一郎<sup>1,2</sup>、梶原康宏<sup>1,2</sup>、片岡英樹<sup>2,3</sup>、坂本淳哉<sup>4</sup>、沖田実<sup>4</sup>  
1 長崎大学病院リハビリテーション部、  
2 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科運動障害リハビリテーション学研究室、  
3 社会医療法人長崎記念病院リハビリテーション部、4 長崎大学生命医科学域
- B2-7 (P53)** クロムレザー中の抑制剤による6価クロム生成抑制のメカニズム  
大形公紀<sup>1</sup>、服部俊治<sup>1,2</sup>、吉村圭司<sup>3</sup>、高橋幸資<sup>4</sup>  
1 一般財団法人 日本皮革研究所、2 株式会社ニッピ バイオマトリックス研究所、  
3 一般社団法人 日本皮革産業連合会、4 東京農工大学 農学部

一般演題 **B2-8 - B2-14**

9:55 - 11:15 **B**会場

座長：雑賀司珠也 和歌山県医大  
畑隆一郎 神奈川歯大

- B2-8 (P54)** Lumican 欠失マウスでは角膜実質創傷治癒が遅延する  
鈴木映美<sup>1</sup>、住岡孝吉<sup>1</sup>、岡田由香<sup>1</sup>、宮嶋正康<sup>1</sup>、Chia-Yang Liu<sup>2</sup>、  
Winston W.-Y.Kao<sup>3</sup>、雑賀司珠也<sup>1</sup>  
1 和歌山県立医科大学眼科学教室、2 インディアナ大学、3 シンシナティ大学
- B2-9\* (P55)** 糖化タンパク質受容体 RAGE の新奇内因性リガンドとしてのコラーゲン架橋分子ピリジノリンの同定  
村上庸人<sup>1</sup>、藤野峻行<sup>1</sup>、倉知遼太郎<sup>1</sup>、長谷川俊樹<sup>1</sup>、白井照幸<sup>2</sup>、早瀬文孝<sup>1</sup>、  
渡辺寛人<sup>1</sup>  
1 明治大学農学部、2 女子栄養大学栄養学部
- B2-10\* (P56)** Tenascin-C は p38 MAP キナーゼ経路を介してリンパ管新生を抑制し2次性リンパ浮腫を増悪させる  
加藤大祐、白木裕太、吉田利通、今中恭子  
三重大学大学院医学系研究科修復再生病理学
- B2-11\* (P57)** Tumstatin 活性断片 T3 peptide は心筋虚血再灌流障害を軽減する  
安田純平<sup>1,2</sup>、岡田宗善<sup>1</sup>、山脇英之<sup>1</sup>  
1 北里大学獣医学部獣医薬理学研究室、2 東海大学大学院医学系研究科マトリックス医学生物学センター

**B2-12\*** 動脈管平滑筋細胞間由来 Fibulin-1 は内皮由来 Versican と共役して動脈管内膜  
(P58) 肥厚形成を促進する

伊藤智子<sup>1</sup>、横山詩子<sup>1,2</sup>、石川義弘<sup>1</sup>

1 横浜市立大学医学部循環制御医学、2 東京医科大学細胞生理学

**B2-13\*** 腱マスター転写因子 Mxk とメカニカルストレスを用いた人工腱様組織の作製  
(P59)

片岡健輔<sup>1,2</sup>、千葉朋希<sup>1</sup>、伊藤義晃<sup>1,3</sup>、加藤真理子<sup>1</sup>、中道亮<sup>1,4</sup>、浅原弘嗣<sup>1,4,5</sup>

1 東京医科歯科大学大学院 システム発生・再生医学分野、

2 独立行政法人 日本学術振興会特別研究員 PD、3 東京医科歯科大学 リサーチコアセンター、

4 スクリプス研究所、

5 国立研究開発法人 日本医療研究開発機構 革新的先端研究開発支援事業 AMED-CREST

**B2-14** 口腔癌細胞において癌抑制性ケモカイン CXCL14 の発現は幹細胞マーカーの  
発現を制御する

畑隆一郎<sup>1,2</sup>、陽暁艶<sup>1,2,3</sup>、小澤重幸<sup>1,2</sup>、居作和人<sup>1,4</sup>、生駒丈晴<sup>1,2</sup>、金森慶亮<sup>1,2</sup>、  
鈴木健司<sup>1,2</sup>、前畑洋次郎<sup>1,4</sup>、服部俊治<sup>3</sup>、水野一乗<sup>3</sup>、清野透<sup>5</sup>

1 神奈川歯科大学大学院 口腔難治疾患研究センター、

2 神奈川歯科大学大学院 顎顔面病態診断治療学講座、3 ニッピ バイオマトリックス研究所、

4 神奈川歯科大学大学院 口腔科学講座、5 国立がん研究センター 研・発がん・予防

評議委員会

12:30 - 13:00 Annex

**ポスター会場 (Annex & Foyer)**

ポスター討論 II (偶数)

11:20 - 12:20 ポスター会場

詳細なプログラムは 29 ページをご覧ください。

# ポスター発表

会場：KFC Hall Annex、ホワイエ

掲示日程：5月31日（金） 8:00 - 10:00

撤去日程：6月1日（土） 15:00 - 16:00

討論時間：ポスター討論Ⅰ（奇数） 5月31日（金） 17:45 - 18:45

ポスター討論Ⅱ（偶数） 6月1日（土） 11:20 - 12:20

演題番号の後ろの\*印は Young Investigator Award への応募演題です。

演題番号 P39 以降は、一般演題、ポスター発表の両方で発表を行う演題で、一般演題の演題番号を掲載しております。

## P1 ラミニン-511E8領域由来のジストログリカン (DG) 結合ペプチドに対するヒト iPS 細胞の接着

吉川大和<sup>1</sup>、菅原由美香<sup>1</sup>、濱田圭佑<sup>1</sup>、山田雄二<sup>1</sup>、熊井準<sup>1</sup>、金川基<sup>3</sup>、小林千浩<sup>3</sup>、戸田達史<sup>3</sup>、根岸洋一<sup>2</sup>、片桐文彦<sup>1</sup>、保住建太郎<sup>1</sup>、野水基義<sup>1</sup>

1 東京薬科大学 薬学部 病態生化学、2 東京薬科大学 薬学部 薬物送達、  
3 神戸大学大学院 医学研究科 生理学・細胞生物学講座 分子脳科学分野

## P2 真皮のコラーゲン細線維を束ねる糖鎖の立体構造

広瀬拓哉<sup>1</sup>、古庄知己<sup>2</sup>、亀谷清和<sup>3</sup>、高橋直紀<sup>1</sup>、渡邊敬文<sup>1</sup>、今村保忠<sup>4</sup>

1 酪農学園大学獣医解剖学、2 信州大学医学部遺伝医学研究室、  
3 信州大学基盤研究支援センター、4 工学院大学先進工学部

## P3\* ラミニンアイソフォームを利用した iPS 細胞の選択的運命制御と iPS 角膜上皮細胞の単離

柴田峻<sup>1,2</sup>、林竜平<sup>1</sup>、大久保徹<sup>1,2</sup>、工藤裕司<sup>1,2</sup>、片山朋彦<sup>1</sup>、石川幸<sup>1</sup>、小林由紀<sup>1</sup>、  
梶純子<sup>3</sup>、八木恵美子<sup>3</sup>、谿口征雅<sup>3</sup>、本間陽一<sup>1,2</sup>、Andrew J. Quantock<sup>4</sup>、  
西田幸二<sup>1</sup>

1 大阪大学大学院医学系研究科 幹細胞応用医学 / 眼科学、2 ロート製薬株式会社 基礎研究開発部、  
3 大阪大学蛋白質研究所 マトリクソーム科学寄附研究部門、  
4 College of Biomedical and Life Sciences, Cardiff University

## P4 腱形成における XII 型コラーゲンの役割

伊豆弥生<sup>1</sup>、Manuel Koch<sup>2</sup>、David Birk<sup>3</sup>

1 岡山理科大学獣医学部実験動物学講座、  
2 Institute for Oral and Musculoskeletal Biology, Center for Molecular Medicine Cologne, University of Cologne, Cologne, Germany、  
3 University of South Florida, Morsani College of Medicine, Tampa, FL, USA

## P5 放射線誘発線維症における長鎖非コード RNA の関与

矢野博之<sup>1</sup>、濱中良志<sup>2,4</sup>、甲斐浩一<sup>1</sup>、松尾哲孝<sup>3</sup>、吉岡秀克<sup>3,5</sup>

1 大分大学 全学研究推進機構、2 大分大学 医学部 細胞生物学講座、  
3 大分大学 医学部 マトリックス医学講座、4 大分県立看護大学 人間科学講座、5 新別府病院 臨床検査科

**P6** BMP-2 induced osteoblast activity was inhibited in the marrow environment

Ha Thi Nguyen<sup>1,2</sup>, Mitsuaki Ono<sup>2</sup>, Emilio Satoshi Hara<sup>3</sup>, Shuji Noshō<sup>2</sup>,  
Ikue Tosa<sup>2,4</sup>, Takeshi Takarada<sup>4</sup>, Takuo Kuboki<sup>2</sup>, Toshitaka Oohashi<sup>1</sup>

1 Department of Molecular Biology and Biochemistry, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences,

2 Department of Oral Rehabilitation and Regenerative Medicine, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences,

3 Department of Biomaterials, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences,

4 Department of Regenerative Science, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences

**P7** 関節過剰運動症候群患者の血清テネイシンXの測定

山田和夫<sup>1,2</sup>、渡辺淳<sup>3</sup>、竹下治男<sup>2</sup>、藤田京志<sup>4</sup>、三宅紀子<sup>4</sup>、松本直通<sup>4</sup>、松本健一<sup>1</sup>

1 島根大学総合科学支援センター・生体情報・RI、2 島根大学医学部法医学教室、

3 金沢大学附属病院遺伝診療部、4 横浜市立大学医学部遺伝学教室

**P8** TNF $\alpha$ 欠損はマウスレーザー誘発脈絡膜新生血管で、好中球の蓄積と血管内皮細胞のアポトーシスを抑制し、その退縮を遅らせる

岩西宏樹、住岡孝吉、雑賀司珠也

和歌山県立医科大学眼科学教室

**P9** Short-term stability of artificial collagen-like peptide polymer implanted in corneal stroma in rabbits

Nobuyuki Ishikawa<sup>1</sup>, Hiroshi Nose<sup>2</sup>, Shin-ichiro Ichise<sup>3</sup>, Kazuki Kuroda<sup>3</sup>,  
Takaki Koide<sup>3</sup>, Shizuya Saika<sup>1</sup>

1 Department of Ophthalmology, Wakayama Medical University, 2 Kola-gen Pharma,

3 Department of advanced science and engineering, Waseda University

**P10\*** Lack of expression of  $\alpha 6$ (IV) collagen does not result in cochlear malformation and hearing loss in mice

Shaoying Tang<sup>1</sup>、米澤朋子<sup>1</sup>、前田幸英<sup>2</sup>、大野充昭<sup>1</sup>、前場崇宏<sup>1</sup>、大橋俊孝<sup>1</sup>

1 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科分子医化学、

2 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科耳鼻咽喉・頭頸部外科学

**P11** 抗がん剤心毒性モデルにおける好酸球カチオン性タンパクの心保護効果

西村拓人<sup>1</sup>、立木美穂<sup>1</sup>、池村健太郎<sup>2</sup>、稲垣純子<sup>3</sup>、大月孝志<sup>1</sup>、

オメル・ファルク・ハティポール<sup>1</sup>、渡辺彰吾<sup>1</sup>、廣畑聡<sup>1</sup>

1 岡山大学大学院 保健学研究科 検査技術科学分野、2 岡山大学 医学部 保健学科 検査技術科学専攻、

3 岡山大学大学院 医歯薬学総合研究科 細胞化学分野

**P12** Transcriptional changes of the skin during aging process

Ryusuke Momota<sup>1</sup>, Tomoko Yonezawa<sup>2</sup>, Toshitaka Oohashi<sup>2</sup>, Zenzo Isogai<sup>3</sup>

1 Human Morphology, Okayama University, Graduate School of Medicine, Dentistry & Pharmaceutical Sciences,

2 Molecular Biology & Biochemistry, Okayama University, Graduate School of Medicine, Dentistry & Pharmaceutical Sciences,

3 Department of Advanced Medicine, National Center for Geriatrics & Gerontology

- P13** 全身性強皮症の皮膚硬化モデルマウスにおける抗 CTGF 抗体の効果の検討  
牧野雄成<sup>1</sup>、Maria Trojanowska<sup>2</sup>、尹浩信<sup>1</sup>  
 1 熊本大学大学院生命科学研究部皮膚病態治療再建学分野、  
 2 Arthritis Center, Boston University School of Medicine, USA
- P14** TRPV4 欠損の角膜でのマウス角膜血管新生に対する影響  
住岡孝吉、岡田由香、岩西宏樹、安田慎吾、宮嶋正康、雑賀司珠也  
 和歌山県立医科大学眼科学教室
- P15\*** uPAR を高発現する角膜上皮細胞における上皮間葉転換に対するエピガロカテ  
 キンガラート (EGCG) の効果についての検討  
木村優太<sup>1</sup>、坂田喜美<sup>1</sup>、濱野将大<sup>1</sup>、吉田浩二<sup>1,2</sup>  
 1 近畿大学大学院生物理工学研究科生体システム工学専攻病態生化学研究室、  
 2 近畿大学生物理工学部医用工学科
- P16\*** 光老化コラーゲンによる皮膚線維芽細胞の細胞機能調節  
坂上弘明、熊谷瞳子、尾関茉弥、佐藤隆  
 東京薬科大学薬学部生化学教室
- P17\*** 腎不全モデルラットにおける骨のカルバミレーションおよびコラーゲン架橋、  
 骨強度の評価  
熊澤雄基、水野一乗、多賀祐喜  
 (株)ニッピ バイオマトリックス研究所
- P18** ラミニン-インテグリン相互作用の分子メカニズム：相互作用の親和性と特異  
 性を規定する領域の同定  
瀧沢士、谿口征雅、梅純子、関口清俊  
 大阪大学蛋白質研究所 マトリクソーム科学 (ニッピ) 寄附研究部門
- P19** Collagen XVIII deposition in the basement membrane zone beneath  
 the newly forming epidermis during wound healing in mice  
前場崇宏<sup>1</sup>、米澤朋子<sup>1</sup>、大野充昭<sup>1</sup>、友野靖子<sup>2</sup>、Ritva Heljasvaara<sup>3,4</sup>、  
Taina Pihlajaniemi<sup>3</sup>、稲川喜一<sup>5</sup>、大橋俊孝<sup>1</sup>  
 1 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科分子医化学、2 重井医学研究所、  
 3 University of Oulu、4 University of Bergen、5 川崎医科大学形成外科学
- P20\*** ウシ臓器由来 I 型コラーゲンの性状解析および他種間の比較  
八木志乃海<sup>1</sup>、田中啓友<sup>1</sup>、多賀祐喜<sup>1</sup>、遠山周吾<sup>2</sup>、小林英司<sup>2</sup>、服部俊治<sup>1</sup>  
 1 株式会社ニッピ バイオマトリックス研究所、2 慶應義塾大学 医学部 臓器再生医学寄附講座
- P21\*** コラーゲン由来糖鎖修飾ヒドロキシリジンの新規変形性関節症バイオマーカー  
 としての評価  
田中智美<sup>1</sup>、多賀祐喜<sup>1</sup>、金子晴香<sup>2</sup>、石島旨章<sup>2</sup>、平澤 (有川) 恵理<sup>3</sup>、田中啓友<sup>1</sup>、  
水野一乗<sup>1</sup>、楠畑雅<sup>1</sup>、服部俊治<sup>1</sup>  
 1 株式会社ニッピ バイオマトリックス研究所、2 順天堂大学大学院医学研究科 整形外科・運動器医学、  
 3 順天堂大学大学院医学研究科 老人性疾患病態・治療研究センター

- P22** グリモンティア・ホリセー由来コラゲナーゼのコラーゲン結合ドメインの同定  
 田中啓友<sup>1</sup>、寺村直子<sup>1</sup>、林田治<sup>1</sup>、飯嶋克昌<sup>1</sup>、興津輝<sup>2</sup>、水野一乗<sup>1</sup>、服部俊治<sup>1</sup>  
 1ニッピ バイオマトリックス研究所、2東京大学 生産技術研究所
- P23\*** トリペプチド X-Hyp-Gly を高含有するコラーゲン加水分解物の摂取が生体の脂質代謝・骨代謝にもたらす作用  
 遠目塚千紗<sup>1</sup>、多賀祐喜<sup>1</sup>、楠畑雅<sup>1</sup>、熊澤雄基<sup>1</sup>、陽暁艶<sup>1</sup>、船戸紀子<sup>2</sup>、水野一乗<sup>1</sup>  
 1ニッピ バイオマトリックス研究所、2東京医科歯科大学 シグナル遺伝子制御学分野
- P24** RNA 干渉法による特発性肺線維症に重要な分子のサイレンシング  
 Hatipoglu Omer Faruk<sup>1,3</sup>、Eyyup Uctepe<sup>3</sup>、池村健太郎<sup>1</sup>、Esra Gunduz<sup>2,3</sup>、  
 Mehmet Gunduz<sup>2,3</sup>、Muradiye Acar<sup>3</sup>、西村拓人<sup>1</sup>、立木美穂<sup>1</sup>、大月孝志<sup>1</sup>、  
 廣畑聡<sup>1</sup>  
 1岡山大学大学院保健学研究科、2和歌山県立医科大学耳鼻咽喉科、  
 3 TurgutÖzal 大学医学遺伝学科 (トルコ)
- P25** 分子動力学法によるヒト変異 fibulin-4 の解析  
 佐々木隆子<sup>1,2</sup>、Klaus von der Mark<sup>2</sup>、Harald Lanig<sup>3</sup>  
 1大分大学 全学研究推進機構、  
 2 Nikolaus-Fiebiger Center of Molecular Medicine, Friedrich-Alexander University、  
 3 Central Institute for Scientific Computing (ZISC), Friedrich-Alexander University
- P26** 基底膜の局在決定機構の遺伝学的解析  
 伊原伸治、松尾佳苗、古賀朗寛  
 有明工業高等専門学校物質工学科
- P27\*** 生姜プロテアーゼで処理したウシ皮膚Ⅰ型コラーゲンの性質解析  
 陽暁艶、楠畑雅、水野一乗、多賀祐喜  
 (株)ニッピ バイオマトリックス研究所
- P28** 浸潤性膵癌における新規ヒアルロン酸分解酵素 TMEM2 の発現および機能解析  
 工藤遊山、佐藤典宏、安達保尋、天池孝夫、古賀敦大、平田敬治  
 産業医科大学 第一外科
- P29** 演題取り消し
- P30** 筋分化時の細胞外マトリックスを模倣した生体外モデル上での筋芽細胞の分化  
 干場隆志<sup>1</sup>、横山夏海<sup>2</sup>  
 1東京都立産業技術研究センター開発第2部バイオ応用技術グループ、2山形県立米沢興譲館高等学校
- P31\*** 不動に伴う骨格筋の線維化に対する HIF-1  $\alpha$  阻害薬と電気刺激誘発性単収縮運動との併用効果  
 梶原康宏<sup>1,2</sup>、本田祐一郎<sup>1,2</sup>、田中なつみ<sup>1,2</sup>、片岡英樹<sup>1,3</sup>、坂本淳哉<sup>1,4</sup>、沖田実<sup>1,4</sup>  
 1長崎大学大学院医歯薬学総合研究科理学療法学分野、2長崎大学病院リハビリテーション部、  
 3社会医療法人長崎記念病院リハビリテーション部、4長崎大学生命医科学域・保健学系
- P32** クラゲ特異的細胞外マトリックス蛋白質・メソグレインの特性解析  
 内田歩、新井克彦  
 東京農工大学農学部硬蛋白研

- P33** HAND1 転写因子は、長骨において I, V, XI 型コラーゲンの発現を制御する  
船戸紀子<sup>1</sup>、多賀祐喜<sup>2</sup>、楠畑雅<sup>2</sup>、Lindsay E. Laurie<sup>1</sup>、小久保博樹<sup>3,4</sup>、相賀裕美子<sup>3</sup>、後藤希代子<sup>2</sup>、服部俊治<sup>2</sup>  
 1 東京医科歯科大学 シグナル遺伝子制御学分野、2 ニッピ バイオマトリックス研究所、  
 3 国立遺伝学研究所 系統生物研究センター、4 広島大学 医歯薬保健学研究所
- P34** CCL2 secreted from tumor-associated macrophages induces invasive phenotype of breast epithelial cells via ERO1- $\alpha$  and MMP-9  
Seungeun Lee<sup>1</sup>, Eunhye Lee<sup>1</sup>, EunYi Ko<sup>1</sup>, Mina Ham<sup>1</sup>, Hye Min Lee<sup>1</sup>, Eun-Sook Kim<sup>1</sup>, Minsoo Koh<sup>1</sup>, Hyun Kyung Lim<sup>1</sup>, Joohee Jung<sup>1</sup>, So Yeon Park<sup>2</sup>, and Aree Moon<sup>1\*</sup>  
 1 Duksung Innovative Drug Center, College of Pharmacy, Duksung Women's University, Seoul, Korea.  
 2 Department of Pathology, Seoul National University College of Medicine, Seoul National University Bundang Hospital, Seongnam, Korea
- P35** Up-regulation of syndecan-2 in proximal colon correlates with acute inflammation  
Heejeong Hong, Hyun-Kuk Song, and Eok-Soo Oh  
 Department of Life Sciences and the Research Center for Cellular Homeostasis and Ewha Womans University, Seoul, Republic of Korea
- P36** 肝細胞および肝星細胞におけるスーパーエンハンサーシグネチャー  
ジュ・ミンソン、キム・サンキオン  
 ソウル大学校薬学部、ソウル、韓国
- P37** Catalytically inactive receptor tyrosine kinase PTK7 activates FGF receptor-1 and enhances cell proliferation and invasion  
Won-Sik Shin<sup>1</sup>, Hae Won Lee<sup>2</sup>, and Seung-Taek Lee<sup>1</sup>  
 1 Dept. of Biochemistry, Yonsei University, Seoul, Republic of Korea;  
 2 Korea Institute of Radiological and Medical Sciences, Seoul, Republic of Korea
- P38** *Grimontia hollisae* 由来コラゲナーゼの基質特異性  
楠畑雅<sup>1</sup>、林田治<sup>1</sup>、寺村直子<sup>1</sup>、飯嶋克昌<sup>2</sup>、多賀祐喜<sup>1</sup>、田中啓友<sup>1</sup>、服部俊治<sup>1</sup>、水野一乗<sup>1,2</sup>  
 1 ニッピ バイオマトリックス研究所、2 ニッピ バイオ・ケミカル製造部

<b>P39*</b>	一般演題 A1-1
<b>P40*</b>	一般演題 A1-2
<b>P41</b>	一般演題 A1-4
<b>P42*</b>	一般演題 A1-6
<b>P43</b>	一般演題 A1-7
<b>P44*</b>	一般演題 A2-2
<b>P45*</b>	一般演題 A2-3
<b>P46</b>	一般演題 A2-5
<b>P47*</b>	一般演題 A2-6
<b>P48*</b>	一般演題 A2-7
<b>P49*</b>	一般演題 A2-8
<b>P50*</b>	一般演題 B1-3
<b>P51*</b>	一般演題 B1-6
<b>P52*</b>	一般演題 B2-2
<b>P53</b>	一般演題 B2-7
<b>P54</b>	一般演題 B2-8
<b>P55*</b>	一般演題 B2-9
<b>P56*</b>	一般演題 B2-10
<b>P57*</b>	一般演題 B2-11
<b>P58*</b>	一般演題 B2-12
<b>P59*</b>	一般演題 B2-13

# Program

## May 31st, Fri

\*The Young Investigator Award applied abstract  
(P\_) indicates the poster number.

### Room A (KFC Hall)

8:55 - 10:15 Oral Session **A1-1 - A1-7**

Chairs: Koichi Nakazato (NSSU)  
Ryusuke Momota (Okayama Univ.)

- A1-1\*** (P39) Effect of ascorbic acid on angiogenesis production of non-triple helical structure type IV collagen polypeptide (NTH $\alpha$ 1 (IV))  
Yuta Kawanobe (Kogakuin University)
- A1-2\*** (P40) Production of non-triple helical structure type IV collagen polypeptide(NTH $\alpha$ 1 (IV)) under hypoxic conditions  
Kosuke Sekine (Kogakuin University)
- A1-3** Type I collagen inhibits adipogenic differentiation via YAP activation in vitro  
Toshihiko Hayashi (Shenyang Pharmaceutical University)
- A1-4** (P41) YAP-mediated inhibition of C2C12 myoblast differentiation by type I collagen gel  
Karina Kouzaki (Nippon Sport Science University)
- A1-5** Comparison of EMT related cell behaviors in A549 cells; adhesion to type I collagen gels and TGF-beta1 treatment  
Hitomi Fujisaki (Nippi Research Institute of Biomatrix)
- A1-6\*** (P42) Investigation of Osteogenesis Imperfecta in pathology and the effects of 4-phenylbutyric acid utilizing patient-derived fibroblasts and induced pluripotent stem cells  
Shinji Takeyari (Osaka University)
- A1-7** (P43) Observation of fine structure of fascia through high magnified image by latest high-resolution endoscope —recognition of fascia in human living body from a clinical view point.—  
Kiyotaka Kawashima (Tochigi Cancer Center)

10:20 - 11:45 **Symposium 1 Collagen-based biomaterials for regenerative medicine**

---

Chairs: **Keisuke Tanaka** (Nippi)  
**Takaki Koide** (Waseda Univ.)

- SY1-1** Regenerative treatment for the tympanic membrane by using tissue engineering  
**Shin-ichi Kanemaru** (Kitano Hospital)
- SY1-2** Musculoskeletal regeneration by collagen materials and collagen-binding growth factors  
**Kentaro Uchida** (Kitasato Univ.)
- SY1-3** Use of triple-helical peptides for pure and applied researches on collagen  
**Takaki Koide** (Waseda Univ.)
- SY1-4** Verification of biological effects of jellyfish collagen on dermal keratinocytes  
**Hideaki Sumiyoshi** (Tokai Univ.)

12:00 - 12:50 **Lunch Seminar**

---

Chair: **Masayuki Yamato** (Tokyo Women's Medical Univ.)

**Development of New Antibody Medicine**

**Yasuhiro Matsumura** National Cancer Center Japan

13:00 - 14:25 **Symposium 2 Matrix Quest 2019**

---

Chairs: **Takako Sasaki** (Oita Univ.)  
**Sergei Boudko** (Vanderbilt Univ.)

- SY2-1** Co-ordinated generation of ocular cell lineages from pluripotent stem cells using laminin isoforms and its application to regenerative medicine  
**Ryuhei Hayashi** (Osaka Univ.)
- SY2-2** Development of Optical Clearing Techniques for Artificial Corneal Stroma  
**Yuji Tanaka** (Yamanashi Univ.)
- SY2-3** Human collagen IV scaffold assembly depends on a chloride ring within the NC1 domain hexamer  
**Sergei Boudko** (Vanderbilt Univ.)

14:25 - 15:15 Matrix Quest Special Lecture - 1

---

Chair: Kazunori Mizuno (Nippi)

**MQSL-1** Procollagen sorting at ER exit sites

**Sergey Leikin** (NIH)

15:20 - 16:10 Matrix Quest Special Lecture - 2

---

Chair: Shunji Hattori (Nippi)

**MQSL-2** Extracellular matrix environment maintains stemness of skeletal muscle satellite cells; Laminin E8 fragments mimic the niche structure

**Chihiro Akazawa** (TMDU)

16:20 - 17:40 Symposium **3** Diverse post-translational modifications of collagen

---

Chairs: **Yuki Taga** (Nippi)  
**Yoshihiro Ishikawa** (OHSU)

**SY3-1** Analysis of diverse collagen-specific post-translational modifications using LC-MS

**Yuki Taga** (Nippi)

**SY3-2** Aberrant collagen post-translational modification in cancer

**Masahiko Terajima** (UNC)

**SY3-3** Re-evaluation of lysyl hydroxylation in the collagen triple helix regarding site preference and type specific activities

**Yoshihiro Ishikawa** (OHSU)

**SY3-4** N<sup>ω</sup>-(carboxymethyl)arginine dominantly generates during the glycation of collagens

**Ryoji Nagai** (Tokai Univ.)

## Room B (KFC Hall Annex)

8:55 - 10:05 Oral Session **B1-1 - B1-6**

---

Chairs: **Toshitaka Oohashi** (Okayama Univ.)

**Kimie Date** (Ochanomizu Univ.)

- B1-1** Molecular pathophysiology of vitronectin during liver cirrhosis – changes in glycosylation and collagen binding –  
**Kimie Date** (Ochanomizu University)
- B1-2** Role of vitronectin in axon specification of mouse cerebellar granule cell precursors  
**Yasunori Miyamoto** (Ochanomizu University)
- B1-3\*** (P50) HYBID is overexpressed by synovial fibroblasts and implicated in hyaluronan degradation in synovial fluids in knee osteoarthritis patients  
**Jun Shiozawa** (Juntendo University)
- B1-4** The importance of emmprin on the tumor cells and CD73 on the fibroblasts in tumor-stromal interaction  
**Mikiko Aoki** (Fukuoka University)
- B1-5** Role of myofibroblasts in phagocytosis of dead cells during cardiac disease  
**Michio Nakaya** (Kyushu University)
- B1-6\*** (P51) Establishment of fiber structure study method of avian fascia  
**Natsuki Maeda** (Kogakuin University)

## Poster (Annex & Foyer)

17:45 - 18:45 Poster Session I

---

Please see pages 44 - 47

## June 1st, Sat

### Room A (KFC Hall)

#### 8:30 - 9:50 Oral Session **A2-1 - A2-7**

Chairs: **Shunsuke Iriyama** (Shiseido)  
**Shun Shibata** (Rohto Pharmaceutical)

- A2-1** Scraper-free detachment method using EDTA for human induced pluripotent stem cells cultured on laminin-511 E8  
**Fumi Ebisu** (Osaka University)
- A2-2\*** Laminin-511 plays important roles on epidermal homeostasis  
(P44) **Shunsuke Iriyama** (Shiseido)
- A2-3\*** Ventricular-subventricular zone fractones are speckled basement membranes that function as a neural stem cell niche  
(P45) **Yuya Sato** (NHLBI/NIH)
- A2-4** Morphology of human iPS cell spheres cultured on 3D collagen composite gels containing laminin-511 E8 fragment  
**Ryoko Nishiuchi-Sato** (Osaka University)
- A2-5** Localization patterns of basement membrane proteins and MMPs in the developing retinal blood vessels of mouse  
(P46) **Sugiko Futaki** (Osaka Medical College)
- A2-6\*** Effects of pulsed electric stimulation on expression of extracellular matrix-related genes in human skin equivalents  
(P47) **Hiroya Urabe** (Tokyo Univ. of Agric. and Technol.)
- A2-7\*** Role of extracellular matrix on 3D Myoculture formation  
(P48) **Seiya Akiba** (Juntendo University)

#### 9:55 - 10:50 Oral Session **A2-8 - A2-12**

Chairs: **Takao Sakai** (Univ. of Liverpool)  
**Tomoko Yonezawa** (Okayama Univ.)

- A2-8\*** Chondroitin sulfate structure bound to immature oligodendrocyte impacts dendritic spine morphology in the somatosensory cortex  
(P49) **Aurelien Kerever** (Juntendo University)
- A2-9** Intracellular Modulation of Thermo-responsive Elastin-like Polypeptide-Estrogen Receptor Fusions  
**Anh Tan Truong** (USC)

- A2-10** Synergistic up-regulation of ADAMTS4 (aggrecanase-1) by IL-1  $\alpha$ , TNF- $\alpha$  and TGF- $\beta$  and its suppression by anti-arthritic drugs in osteoarthritic synovial fibroblasts  
**Mehmet Zeynel Cilek** (Juntendo University)
- A2-11** Hydroxyproline-containing peptide promotes differentiation and collagenous fibril network organization in adult tendon cells  
**Takao Sakai** (University of Liverpool)
- A2-12** The effects of urokinase-type plasminogen activator (uPA) in collagen degradation by corneal fibroblasts  
**Koichi Nishida** (Kindai University)

10:50 - 11:20 **KSMB-JSMBM Symposium**

---

Chair: **Hideto Watanabe** (Aichi Med. Univ.)

- KS1** Microtubule Acetylation Mediates Stromal Fibroblast Activation in Breast Cancer Progression  
**Sangmyung Rhee** (Chung-Ang Univ.)
- KS2** Integrin activation is a sensor of mechanical force  
**Jiyeon Kim** (Korea Univ.)

13:20 - 15:05 **Symposium 4 Connective Tissue from the aspect of Disease Research**

---

Chairs: **Eri Arikawa-Hirasawa** (Juntendo Univ.)  
**Yutaka Inagaki** (Tokai Univ.)

- SY4-1** The role of kidney podocyte and the glomerular basement membrane in glomerular filtration barrier  
**Katsuhiko Asanuma** (Chiba Univ.)
- SY4-2** Three-dimensional pathological diagnosis of sclerotic lesions in kidney glomeruli  
**Hiroyuki Yamada** (Chiba Univ.)
- SY4-3** Mechanism of hepatic fibrogenesis and anti-fibrotic approach  
**Kenichi Ikejima** (Juntendo Univ.)
- SY4-4** Clinical significance of plasma concentration of L59/LAP-DP in patients with chronic liver disease  
**Hiroshi Yokoyama** (Jikei Univ.)

**SY4-5** Fibrogenesis in hypersensitivity pneumonitis  
Yasunari Miyazaki (TMDU)

**SY4-6** My challenge: the exploration for highly sensitive of antifibrotic agents to attenuate lung fibrotic fibroblasts-mediated fibrotic process  
Junko Watanabe (Juntendo Univ.)

15:15 - 16:30 **Symposium 5 Application of connective tissues to foods**

---

Chairs: Masashi Kusubata (Nippi)  
Toshihiko Hayashi (Shenyang Pharmaceutical Univ.)

**SY5-1** Pro-Hyp, food-derived collagen peptide in blood, enhances growth of fibroblasts expressing somatic stem cell marker, p75NTR  
Tomoko Asai (Nara Women's Univ.)

**SY5-2** Protective effects of fish-derived elastin peptides for tissue injury: Utilization as new functional peptides  
Kumiko Takemori (Kindai Univ.)

**SY5-3** Proteoglycan extracted from salmon cartilage has the anti-inflammatory effect  
Shouhei Hirose (Hirosaki Univ.)

**Room B (KFC Hall Annex)**

8:30 - 9:50 **Oral Session B2-1 - B2-7**

---

Chairs: Kazuki Nabeshima (Fukuoka Univ.)  
Minoru Okita (Nagasaki Univ.)

**B2-1** Solubilized eggshell membrane supplies a type III collagen-rich elastic dermal papilla  
Miho Shimizu (TUAT)

**B2-2\*** Design and synthesis of a peptide that acquires denatured collagen-binding ability by a spontaneous structural rearrangement  
(P52)  
Sayaka Kanai (Waseda University)

**B2-3** A yeast two-hybrid screening system for obtaining triple-helical peptides interacting with collagen-binding proteins  
Ryo Masuda (Waseda University)

- B2-4** Remodeling of pulmonary artery in idiopathic pleuroparenchymal fibroelastosis  
**Yoshiaki Kinoshita** (Fukuoka University)
- B2-5** Effect of belt electrode-skeletal muscle electrical stimulation for immobilization-induced muscle fibrosis  
**Yuichiro Honda** (Nagasaki University)
- B2-6** Mechanisms of macrophage accumulation related to development of skeletal muscle fibrosis  
**Natsumi Tanaka** (Nagasaki University)
- B2-7 (P53)** Inhibition Mechanism of Formation of Hexavalent Chromium in Chrome-Tanned Leather with Combined Inhibitors  
**Koki Ogata** (Japan Institute of Leather Research)

9:55 - 11:15 **Oral Session B2-8 - B2-14**

---

Chairs: **Shizuya Saika** (Wakayama Med. Univ.)  
**Ryu-ichiro Hata** (Kanagawa Dental Univ.)

- B2-8 (P54)** Lacking lumican impairs stromal healing in a mouse cornea  
**Eimi Suzuki** (Wakayama Medical University)
- B2-9\* (P55)** Identification of pyridinoline, a collagen cross-link, as a novel intrinsic ligand for the receptor for advanced glycation end-products  
**Youto Murakami** (Meiji University)
- B2-10\* (P56)** Tenascin-C inhibits lymphangiogenesis via p38 MAP kinase pathway and exacerbates secondary lymphedema  
**Daisuke Kato** (Mie University)
- B2-11\* (P57)** T3 peptide, an active fragment of tumstatin, alleviates cardiac ischemia/reperfusion injury  
**Jumpei Yasuda** (Tokai University)
- B2-12\* (P58)** Coupling of DASMIC-derived fibulin-1 to endothelial cell-derived versican promotes intimal thickening of the ductus arteriosus  
**Satoko Ito** (Yokohama City University)
- B2-13\* (P59)** Generation of engineered-tendon-like-tissue using Mxk with mechanical-stress  
**Kensuke Kataoka** (Tokyo Medical and Dental University)

**B2-14** CXCL14, a unique multistep tumor suppressing chemokine,  
regulates expression of cancer stem cell factors

**Ryu-ichiro Hata** (Kanagawa Dental University)

**Poster (Annex & Foyer)**

11:20 - 12:20 **Poster Session II**

---

Please see pages 44 - 47

# Poster

Poster Session I May 31st, Fri 17:45 - 18:45

Poster Session II June 1st, Sat 11:20 - 12:20

On May 31st, presenting authors with odd-numbered poster boards should present from 17:45-18:45 at Poster Session I.

On June 1st, presenting authors with even-numbered poster boards should present from 11:20-12:20 at Poster Session II.

\*The Young Investigator Award applied abstract

- P1** Attachment of human iPS cells to dystroglycan-binding peptides derived from laminin-511 E8 fragment  
**Yamato Kikkawa** (Tokyo Univ of Pharm & Life Sci)
- P2** Three-dimensional structure of glycosaminoglycan chains bundling collagen fibrils in the dermis  
**Takafumi Watanabe** (Rakuno Gakuen University)
- P3\*** Selective fate determination of iPSCs and isolation of iPSC-derived corneal epithelial cells using laminin isoforms  
**Shun Shibata** (Osaka University)
- P4** The role(s) of collagen XII in tendon fibrillogenesis.  
**Yayoi Izu** (Okayama University of Science)
- P5** Involvement of long non-coding RNA in radiation-induced fibrosis  
**Hiroyuki Yano** (Oita University)
- P6** BMP-2 induced osteoblast activity was inhibited in the marrow environment  
**Mitsuaki Ohno** (Okayama University)
- P7** Measurement of serum tenascin-X in joint hypermobility syndrome patients  
**Kazuo Yamada** (Shimane University)
- P8** Lacking TNF $\alpha$  retards regression of argon laser irradiation-induced choroidal neovascularization with augmentation of neutrophil population and attenuation of vascular endothelial cell apoptosis in mice.  
**Hiroki Iwanishi** (Wakayama Medical University)
- P9** Short-term stability of artificial collagen-like peptide polymer implanted in corneal stroma in rabbits  
**Nobuyuki Ishikawa** (Wakayama Medical University)

- P10\*** Lack of expression of  $\alpha 6$ (IV) collagen does not result in cochlear malformation and hearing loss in mice  
**Shaoying Tang** (Okayama University)
- P11** Cardioprotective effect of eosinophil cationic protein in rat cardiotoxicity model caused by anti-cancer agent  
**Takuto Nishimura** (Okayama University)
- P12** Transcriptional changes of the skin during aging process  
**Ryusuke Momota** (Okayama University)
- P13** Anti-connective tissue growth factor (CTGF) monoclonal antibody reduces skin fibrosis in mice models of systemic sclerosis  
**Katsunari Makino** (Kumamoto University)
- P14** Effect of the loss of TRPV4 on angiogenic response in a mouse cornea  
**Takayoshi Sumioka** (Wakayama Medical University)
- P15\*** Investigation of the effects of EGCG on Epithelial-Mesenchymal Transition (EMT) in Human Corneal Epithelial Cell stably overexpressing urokinase-type plasminogen activator receptor  
**Yuta Kimura** (Kindai University)
- P16\*** Effects of UV-exposed collagen on cell proliferation and MMP production in human dermal fibroblasts  
**Hiroaki Sakaue** (Tokyo Univ of Pharm & Life Sci)
- P17\*** Evaluation of carbamylation, collagen cross-linking, and mechanical strength of bone in a rat model of kidney failure  
**Yuki Kumazawa** (Nippi Research Institute of Biomatrix)
- P18** The amino acid residues that define the specificity and high affinity laminin-integrin interactions  
**Mamoru Takizawa** (Osaka University)
- P19** Collagen XVIII deposition in the basement membrane zone beneath the newly forming epidermis during wound healing in mice  
**Tomoko Yonezawa** (Okayama University)
- P20\*** Characterization and interspecies comparison of bovine organ-derived type I collagen  
**Shinomi Yagi** (Nippi Research Institute of Biomatrix)
- P21\*** Evaluation of collagen-derived hydroxylysine glycosides as novel biomarkers of osteoarthritis  
**Tomomi Tanaka** (Nippi Research Institute of Biomatrix)

- P22** Identification of a novel collagen-binding domain from *Grimontia hollisae* collagenase  
**Keisuke Tanaka** (Nippi Research Institute of Biomatrix)
- P23\*** Effects of X-Hyp-Gly-rich collagen hydrolysate on lipid and bone metabolism in mice  
**Chisa Tometsuka** (Nippi Research Institute of Biomatrix)
- P24** Silencing of Important Molecules in Pathogenesis of Idiopathic Pulmonary Fibrosis via RNA interference  
**Hatipoglu Omer Faruk** (Okayama University)
- P25** Molecular Dynamics simulations on human fibulin-4 mutants  
**Takako Sasaki** (Oita University)
- P26** Genetic analysis of basement membrane deposits in *C. elegans*  
**Shinji Ihara** (National Institute of Technology, Ariake College)
- P27\*** Characterization of bovine skin type I collagen treated with ginger protease  
**Xiaoyan Yang** (Nippi Research Institute of Biomatrix)
- P28** The role and the expression of novel hyaluronidase TMEM2 in PDAC  
**Yuzan Kudo** (University of Occupational and Environmental Health)
- P29** Cancelled
- P30** Myogenesis on in vitro ECM models mimicking ECM at stepwise myogenic differentiation stages  
**Takashi Hoshiba** (Tokyo Metro. Industrial Tech. Research Institute)
- P31\*** Effect of combination with HIF-1  $\alpha$  inhibitor and twitch contraction for immobilized-induced muscle fibrosis  
**Yasuhiro Kajiwara** (Nagasaki University)
- P32** Characterization of jellyfish-specific extracellular matrix protein, mesoglein  
**Ayumi Uchida** (TUAT)
- P33** Overexpression of HAND1 in Long Bones Decreases the Expression of Type I, V, and XI Collagens  
**Noriko Funato** (Tokyo Medical and Dental University)
- P34** CCL2 secreted from tumor-associated macrophages induces invasive phenotype of breast epithelial cells via ERO1- $\alpha$  and MMP-9  
**Aree Moon** (Duksung Women's University)

- P35** Up-regulation of syndecan-2 in proximal colon correlates with acute inflammation  
**Eok-Soo Oh** (Ewha Womans University)
- P36** The super-enhancer signatures in hepatocytes and hepatic stellate cells  
**Sang Geon Kim** (Seoul National University)
- P37** Catalytically inactive receptor tyrosine kinase PTK7 activates FGF receptor-1 and enhances cell proliferation and invasion  
**Seung-Taek Lee** (Yonsei University)
- P38** Substrate specificity of Bacterial Collagenase from *Grimontia hollisae*  
**Masashi Kusubata** (Nippi Research Institute of Biomatrix)

- |             |                   |             |                    |
|-------------|-------------------|-------------|--------------------|
| <b>P39*</b> | Oral Session A1-1 | <b>P50*</b> | Oral Session B1-3  |
| <b>P40*</b> | Oral Session A1-2 | <b>P51*</b> | Oral Session B1-6  |
| <b>P41</b>  | Oral Session A1-4 | <b>P52*</b> | Oral Session B2-2  |
| <b>P42*</b> | Oral Session A1-6 | <b>P53</b>  | Oral Session B2-7  |
| <b>P43</b>  | Oral Session A1-7 | <b>P54</b>  | Oral Session B2-8  |
| <b>P44*</b> | Oral Session A2-2 | <b>P55*</b> | Oral Session B2-9  |
| <b>P45*</b> | Oral Session A2-3 | <b>P56*</b> | Oral Session B2-10 |
| <b>P46</b>  | Oral Session A2-5 | <b>P57*</b> | Oral Session B2-11 |
| <b>P47*</b> | Oral Session A2-6 | <b>P58*</b> | Oral Session B2-12 |
| <b>P48*</b> | Oral Session A2-7 | <b>P59*</b> | Oral Session B2-13 |
| <b>P49*</b> | Oral Session A2-8 |             |                    |



# セミナー&レクチャー

第1日目 5月31日(金)  
(Day 1, May 31st, Fri)

12:00 - 12:50

ランチョンセミナー (Lunch Seminar)

座長：大和雅之 東京女子医大

## 新しい抗体医薬の開発

松村保広 国立がん研究センター 先端医療開発センター 新薬開発分野

[共催] ニッピ

14:25 - 16:10

Matrix Quest Special Lectures

座長：水野一乗 ニッピ

## MQSL-1 Procollagen sorting at ER exit sites

Sergey Leikin

Eunice Kennedy Shriver National Institute of Child Health and Human Development,  
National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA

座長：服部俊治 ニッピ

## MQSL-2 Extracellular matrix environment maintains stemness of skeletal muscle satellite cells; Laminin E8 fragments mimic the niche structure

Chihiro Akazawa

Professor, Department of Biophysics and Biochemistry, Tokyo Medical and Dental University (TMDU)





## 新しい抗体医薬の開発

松村保広

国立がん研究センター 先端医療開発センター 新薬  
開発分野

高分子物質の選択的腫瘍集積性の基本原理である Enhanced Permeability and Retention (EPR) 効果を発表したのが 1986 年であるが、思いもよらず固形がんの治療における DDS 製剤の基本的支柱として、抗がん剤のみならず遺伝子核酸デリバリーの論文に多く引用していただいた。この時は高分子ナノ粒子など持っていなかったので使用した高分子は抗体をはじめとする高分子蛋白であり、生体親和性の高い IgG は正常血管から漏出せず、生体の網内系にも捕獲しづらく、血管透過性の亢進した腫瘍血管から選択的に漏れ、リンパ回収系の未熟さゆえに長く固形がんに残るといったものであった。この 15 年間は抗体療法、体外診断、ADC などの開発を行なっている。自分にとっての抗体医薬は分子標的などではなく DDS 製剤の一つの思いが強い。本講演では抗不溶性フィブリン抗体と抗 TMEM180 抗体、抗 Tissue factor 抗体につき紹介し、それぞれで得られた結果を考察する。

1) EPR 効果は動物レベルでは世界的に証明されたが、DDS 製剤自体の臨床応用が少ない。がんによる血液凝固亢進に続く、がん組織の中の間質形成が DDS 製剤のバリアとなり、ヒトでは効かないと結論づけた。がん間質中の主な成分である不溶性フィブリンのみを認識し、フィブリノゲンや FDP を認識しない抗体を樹立し、その後抗体抗がん剤複合体、Antibody drug conjugate (ADC) を作製した。この ADC はがん間質にデリバリーされ、同部で特異的に抗がん剤をリリースできるようにリンカーを工夫した。臨床に近い KPC マウス自然発生腫瘍がんに対し有意な効果を確認した。がん間質ターゲティング、Cancer stromal targeting (CAST) 療法と命名した。

2) 特殊な方法で見出した新規大腸がん特異分子 TMEM180 の抗体はヒト化にも成功した。TMEM180 は、データベース上では既存のがん特異分子と比較し、著明にがん特異性が高い。免疫染色の結果、大腸がんの 50% で強陽性であり、主要正常臓器に対しては陰性である。TMEM180 分子の転写調節領域には 10 箇所の

## Development of new antibody medicine

Yasuhiro Matsumura

Division of Developmental Therapeutics, EPOC,  
National Cancer Center, Japan

In 1986, Matsumura Y and Maeda H published a paper on the Enhanced Permeability and Retention (EPR) effect, which is the basic principle that underlies the selective accumulation of macromolecular drug delivery systems (DDSs) by tumors. Surprisingly, this paper is often cited not only in studies of anti-cancer agents but also in articles concerning gene nucleic acid delivery as basic pillars of DDS preparations in the treatment of solid cancer. In brief, highly biocompatible IgGs do not leak from normal blood vessels. However, they leak selectively from tumor blood vessels with enhanced vascular permeability. In addition, macromolecular substances that leak into the tumor remain in solid cancers for a long time due to the immaturity of the lymphatic recovery system. Over the last 15 years, we have been developing new antibodies, antibody-drug conjugates (ADC), and so on. In my opinion, antibody drugs are not considered molecular targets, but rather DDS preparations. In this presentation, I introduce an anti-insoluble fibrin antibody, an anti-TMEM180 antibody, and an anti-Tissue factor antibody.

1) The EPR effect has been verified worldwide in non-clinical experiments; however, it has not been widely used in clinics. The stromal formation of cancerous tissue following hypercoagulation due to cancer is believed to serve as a barrier to DDS preparations. Moreover, it was also confirmed that more insoluble fibrin (IF) can be precipitated from more malignant cancers. Based on these data, we sought to produce an antibody that can specifically recognize IF. Consequently, we succeeded in obtaining a mAb which can be distinguished by IF from fibrinogen, soluble fibrin (precursor of fibrin clot), and D-dimer (degradation product of fibrin

Hypoxia responsive element と予想される配列が存在することがわかり、増殖と壊死を繰り返した結果、高く発現すると考えている。治療効果に関しては、種々の腫瘍モデルで効果を認めている。

3) 抗 Tissue factor 抗体においては親和性の高さに比例して抗腫瘍効果が高くなるという一般概念をくつがえすデータを得、その理論を紹介したい。

clot), which are all soluble proteins. Subsequently, we successfully developed an anti-IF ADC conjugated with MMAE via a Val-Leu-Lys linker that is severed specifically by plasmin (PLM). Free MMAE released from the conjugate by PLM may therefore easily reach cancer cells by diffusing through the stromal barrier. MMAE continuously released from IF-ADC bound to the IF scaffold also attacks the tumor vascular endothelial cells. We refer to this strategy as cancer (CA) stroma (S) targeting (T), or CAST therapy.

2) The antibody against TMEM180, a novel colorectal cancer-specific molecule, has also been successfully humanized. TMEM180 is significantly more cancer-specific than existing cancer-specific molecules. It is strongly positive in 50% of colon cancer and negative for major normal organs. There are 10 predicted hypoxia-responsive elements and sequences in the transcriptional regulatory region of the TMEM 180 molecule. Its therapeutic effect has been recognized in various tumor models.

3) I would like to revise the general concept that anti-tissue factor antibodies have high anti-tumor effects that are proportional to their affinity.

## MQSL-1



### **Procollagen sorting at ER exit sites**

#### **Sergey Leikin**

Eunice Kennedy Shriver National Institute of Child Health and Human Development, National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA

Both efficient secretion of properly folded procollagen and degradation of misfolded procollagen are essential for normal function of collagen-producing cells and synthesis of extracellular matrix, yet the secretory and degradative pathways involved are still poorly understood. Skeletal manifestations of Endoplasmic Reticulum (ER) exit site (ERES) malfunction, such as osteogenesis imperfecta (OI) caused by mutations in SEC24D, point to the importance of ERESs in regulating procollagen trafficking. We examined this regulation in osteoblast cultures by live cell imaging and correlative light and electron microscopy of fluorescently-tagged procollagen I, ERES components and other relevant proteins. We found that ERESs containing misfolded procollagen recruited lysosomes, which directly engulfed and degraded the ERESs in a micro-autophagy-like process. Alternatively, properly folded procollagen was delivered from ERESs to Golgi in  $\sim 0.5 \mu\text{m}$  or smaller, rapidly moving transport vesicles. These vesicles contained no HSP47 or COPII coat proteins. Consistently, HSP47 was trafficked from the ER to Golgi only when its RDEL sequence was deleted or mutated. Larger and more stationary puncta and structures that had vesicle-like appearance and did contain HSP47 and/or COPII coat proteins were not transport vesicles. Some were dilated regions of the ER lumen, some were enlarged ERESs, and some were ERESs partially or completely engulfed by LAMP1-positive lysosomal membranes. Taken together, our observations suggest that ERESs play a crucial role in procollagen quality control and sorting. ERESs package folded procollagen for delivery to Golgi into membrane structures, which contain no HSP47 or COPII coat proteins and mature into transport vesicles or possibly direct connections with cis-Golgi. Misfolded procollagen is prevented from being packaged into these membrane structures and retained at ERES, probably because it forms large aggregates, resulting in lysosome recruitment and ERES degradation together with its cargo.

#### **Brief matrix research biography**

After MS in theoretical physics (1984) and Ph.D. in biophysics (1987), I came as a postdoc to NIH (1989), where I received hands-on training in biochemistry, molecular and cell biology, and translational research. I entered the field of matrix biology in early 1990s by studying type I procollagen folding and extracellular interactions of resulting collagen. Over the years, these studies revealed multiple unique physical

properties of collagen and its procollagen precursor, which have important implications in collagen-related diseases. We found that misfolded procollagen causes OI and other bone pathologies primarily by accumulating in the osteoblast ER and thereby leading to cell stress and malfunction. We discovered that procollagen handling by cells does not conform to conventional paradigms of protein folding, trafficking and cell stress response to misfolding, because of the unusual physical properties of its triple helix we described earlier. These observations enabled us to contribute to defining several novel forms of OI and their molecular mechanisms. After identifying autophagic degradation of misfolded procollagen as a constitutive protective mechanism against osteoblast cell stress, we recently embarked on a more in-depth study of this process. The latter work has already revealed a previously unknown pathway of ERES micro-autophagy, non-collagen implications of which are being actively pursued in several laboratories. The current focus of our studies is the mechanisms of folded vs. misfolded procollagen sorting and routing into secretory or autophagic degradation pathways at ERES as well as the better characterization of these pathways.

## MQSL-2



### **Extracellular matrix environment maintains stemness of skeletal muscle satellite cells; Laminin E8 fragments mimic the niche structure**

#### **Chihiro Akazawa**

Professor, Department of Biophysics and Biochemistry, Tokyo Medical and Dental University (TMDU)

Satellite cells function as precursor cells in mature skeletal muscle homeostasis and regeneration. In healthy tissue, these cells are maintained in a state of quiescence by a specialized cellular microenvironment, or niche, formed by myofibers and an extracellular matrix in which laminins form a major component. Laminins are a family of heterotrimeric proteins comprising various combinations of  $\alpha$ -,  $\beta$ -, and  $\gamma$ -chains. Examination of the satellite cell microenvironment *in vivo* revealed that these cells are encapsulated by laminin  $\alpha 2-5$ . We sought to recapitulate this satellite cell niche *in vitro* by culturing mouse and human satellite cells in the presence of recombinant laminin-E8 fragments, which exhibit integrin-binding activity equivalent to that of intact laminin proteins. We find that treatment with laminin-E8 fragments promotes the self-renewal of satellite cells and maintains them in an undifferentiated state, through reduced phosphorylation of JNK and p38. On transplantation into injured muscle tissue in a mouse model system, expanded satellite cells cultured with laminin-E8 fragments enhanced the regeneration of skeletal muscle. Our findings provide an efficient method of satellite cell culture for transplantation therapy by the reconstitution of the satellite cell niche with recombinant laminin-E8 fragments.

Chihiro Akazawa, MD, PhD, received PhD from TMDU after clinical training at the Department of Internal Medicine, University Hospital, TMDU, followed by post-doctoral training with Dr. Stefan F. Heinemann at the Salk Institute for Biological Studies, San Diego. He is currently serving as Program Supervisor and Program Officer of Japan Agency of Medical Research and Development (AMED), Technical Advisor of Ministry of Education, Science Technology, Sports and Culture, Japan (MEXT) and Political Advisor of Japanese Cabinet.

1988-1989	Resident, University Hospital of TMDU
1994-1996	Postdoctoral Fellow, The Salk Institute of Biological Sciences, California
1996-2007	Section Chief, National Institute of Neuroscience, National Center of Neurology and Psychiatry (NCNP), Tokyo
2007-2009	Associate Professor, Department of Biochemistry and Biophysics, Graduate School of Health Care Sciences, TMDU

2009-present Professor and Chief, Department of Biochemistry and Biophysics, Graduate School of Health Care Sciences, TMDU

2009-2016 Program Officer, MEXT

2011-present Vice Dean, Department of Medicine, TMDU, Assistant to the President, TMDU

2012-present Advisor to the Director, Life Sciences Division, MEXT

2017-present Program Supervisor, Research Center Network for Realization of Regenerative Medicine, AMED



# シンポジウム 1 (Symposium 1)

第 1 日目 5 月 31 日 (金)  
(Day 1, May 31st, Fri)

10:20 - 11:45 バイオマテリアルとしてのコラーゲン

座長：田中啓友 ニッピ  
小出隆規 早稲田大

## SY1-1 組織工学的手法による鼓膜再生療法

金丸真一

公益財団法人田附興風会 医学研究所北野病院耳鼻咽喉科・頭頸部外科  
公益財団法人神戸医療産業都市推進機構 医療イノベーション推進センター

## SY1-2 コラーゲン材料とコラーゲン結合型成長因子を用いた運動器再生

内田健太郎<sup>1</sup>、松下治<sup>2</sup>、井上玄<sup>1</sup>、美間健彦<sup>2</sup>、高相晶士<sup>1</sup>

1 北里大学医学部整形外科学

2 岡山大学医歯薬学総合研究科 病原細菌学

## SY1-3 コラーゲン3重らせんを模倣するペプチドの基礎および応用研究への利用

小出隆規

早稲田大学 先進理工学部 化学・生命化学科

## SY1-4 ミズクラゲコラーゲン成分の表皮角化細胞に対する生物学的効果の検証

住吉秀明<sup>1,2</sup>、中尾祥絵<sup>1,2</sup>、柳川享世<sup>1,2</sup>、中野泰博<sup>1,2</sup>、岡村陽介<sup>3</sup>、川口章<sup>2</sup>、遠藤整<sup>4</sup>、稲垣豊<sup>1,2</sup>

1 Center for Matrix Biology and Medicine, Graduate School of Medicine, Tokai University.,

2 Department of Regenerative Medicine, Tokai University School of Medicine.,

3 Department of Engineering Applied Biochemistry, Tokai University.,

4 Department of Preventive Medicine, Tokai University School of Medicine.



金丸眞一

公益財団法人田附興風会 医学研究所北野病院耳鼻咽喉科・頭頸部外科

公益財団法人神戸医療産業都市推進機構 医療イノベーション推進センター

はじめに

鼓膜穿孔のある患者は全世界で 1 億 5 千万人以上と言われていいる。その多くは単純な鼓膜穿孔であると思われ、鼓膜を修復するだけで、聴力は回復すると考えられる。外傷などで生じた急性でかつ小さな鼓膜穿孔の場合は、自然治癒することが多いが、慢性で大きな鼓膜千古王の場合は、自然治癒は起こらないと考えられる。しかし、鼓膜に備わった自己修復能力からすると、十分な再生環境を整えることで、慢性の大きな鼓膜穿孔であっても、再生の可能性は十分にありとされる。そこで、われわれは組織工学の概念を応用し、従来の手術加療なしに大きな鼓膜穿孔を修復する新しい治療法を開発した。

目的/仮説

従来の手術加療なしに鼓膜を再生させる新しい治療法を開発すること

患者と方法

150 名 (年齢:10-91,男=64,女=86) 158 耳の慢性鼓膜穿孔の外来通院の患者が無作為に選択された。患者は、鼓膜穿孔の大きさに応じて、以下のように分類された。穿孔が鼓膜全体の 1/3 以下 Grade I (n=37), 1/3 から 2/3 まで Grade II (n=64) そして 2/3 以上を Grade III (n=47)と 10 名の患者をコントロールとした。

鼓膜修正の材料はとフィブリン糊である。再生方法は、鼓膜穿孔縁を機械的に新鮮創化を行った後、b-FGF あるいはコントロールとしての生理食塩水を浸潤させたゼラチンスポンジをトリミングして鼓膜穿孔部位に留置し、フィブリン糊を滴下した。3 週後に治療効果を判定し、鼓膜再生がなされていない場合は、上記一連の操作を 4 回まで繰り返した。最終評価は、最後の治療から 3 か月後に施行した。

結果

鼓膜穿孔の完全閉鎖率は 4 回の治療で、b-FGF グループで 87% (n=129/148) コントロールグループが 10% (n=1/10)であった。鼓膜再穿孔率は 1.55% (n=2/129)であった。鼓膜再生が成功した患者全例で聴力改善が認められた。深刻な有害事象は一例もなかった。

結論

この研究により、ゼラチンスポンジ、b-FGF とフィブリン糊の組み合わせは、従来の手術治療でなくとも鼓膜再生を可能にすることが分かった。この鼓膜再生療法は、簡単、安全、経済的で低侵襲な外来患者を対象とした革新的治療法である。

キーワード：鼓膜、再生、ゼラチンスポンジ、塩基性線維芽細胞増殖因子

Shin-ichi Kanemaru MD, PhD

Department of Otolaryngology-Head and Neck Surgery, Medical Research Institute, Kitano Hospital, Osaka, Japan

Translational Research Informatics Center, The Foundation for Biomedical Research and Innovation, Kobe, Japan

Introduction

The number of the patients with tympanic membrane perforation(TMP) is more than 150 million all over the world. As major part of these patients are thought to be simple TMPs. Their hearing ability will be able to recover by just repairing TMPs. Acute and small TMPs, such as those caused by injury, will naturally heal themselves, whereas chronic and large TMPs fail to heal spontaneously. Considering this innate potential for repair, the possibility remains for regeneration in chronic and large TMPs if adequate conditions for growth are made available. Applying the principles of modern *in situ* tissue engineering, we developed a novel therapy for large/total TM perforations without the need for conventional surgical treatment.

Objectives/Hypothesis

To establish the new treatment for regeneration of the tympanic membrane (TM) without conventional surgery.

Patients and methods

158 chronic TM perforations from 150 patients (Age:10-91,M=64,F=86) were randomly selected from outpatients with TM perforation. Patients were classified into 3 groups based on the size of the TM perforation: below 1/3 as Grade I (n=37), from 1/3 to 2/3 as Grade II (n=64) and over 2/3 as Grade III (n=47). 10 patients were control among these.

Materials used for the TM repair were a gelatin sponge with b-FGF/saline for control and fibrin glue. After creating a mechanical disruption of the edge of the TMP, a trimmed gelatin sponge was immersed in b-FGF/saline for control placed over the perforation. Fibrin glue was dripped over the sponge. The effectiveness of this therapy was evaluated 3 weeks after treatment. The above treatment was repeated up to 4 times for cases in which complete closure of the TM perforation was not achieved after one round of treatment. Final estimate was performed 3 months after the final treatment.

**Results** Complete closure of the TMP was achieved in 87% (n=129/148) in b-FGF group and 10% in control group of the patients within 4 treatment cycles. Ratio of reperforation was 1.55% (n=2/129). The average hearing levels of all patients with successful TM repair was improved. No serious sequelae were observed in any patient.

Conclusions

This study demonstrates that a combination of gelatin sponge, b-FGF and fibrin glue enables to regenerate the TM without conventional operative procedures. This innovative regenerative therapy is an easy, safe, cost-effective and minimum-invasive outpatient treatment.

Key words: tympanic membrane, regeneration, gelatin sponge, b-FGF(basic-fibroblast growth factor)

## SY1-2

### コラーゲン材料とコラーゲン結合型成長因子を用いた運動器再生

### Musculoskeletal regeneration by collagen materials and collagen-binding growth factors

<sup>1</sup> 内田健太郎、<sup>2</sup> 松下 治<sup>1</sup> 井上 玄、<sup>2</sup> 美間健彦<sup>1</sup> 高相晶士

<sup>1</sup> Kentaro Uchida, <sup>2</sup> Osamu Matsishita, <sup>1</sup> Gen Inoue, <sup>2</sup> Takehiko Mima, <sup>1</sup> Masashi Takaso

<sup>1</sup> 北里大学医学部整形外科

<sup>1</sup> Department of Orthopedic Surgery, Kitasato University

<sup>2</sup> 岡山大学医歯薬学総合研究科 病原細菌学

School of Medicine <sup>2</sup> Department of Bacteriology, Okayama University Graduate School of Medicine

[Introduction] We developed a collagen-based musculoskeletal regeneration system consisting of collagen materials, and basic fibroblast growth factor (bFGF) fused to the polycystic kidney disease (PKD) domain and collagen-binding domain (CBD) of *Clostridium histolyticum* collagenase.

[Introduction] We developed a collagen-based musculoskeletal regeneration system consisting of collagen materials, and basic fibroblast growth factor (bFGF) fused to the polycystic kidney disease (PKD) domain and collagen-binding domain (CBD) of *Clostridium histolyticum* collagenase.

[Purpose] We examined the effectiveness of collagen materials with bFGF-PKD-CBD for bone and peripheral nerve regeneration in a mouse fracture model and a rat sciatic nerve critical-size defect model.

[Purpose] We examined the effectiveness of collagen materials with bFGF-PKD-CBD for bone and peripheral nerve regeneration in a mouse fracture model and a rat sciatic nerve critical-size defect model.

[Materials & Methods] Collagen powder mixed with either PBS (CP/PBS), bFGF (CP/bFGF), or CB-bFGF (CP/CBbFGF) was injected into the mouse fracture site. Micro-CT analysis was performed at 2, 4, and 6 weeks after creation of the fracture. Polyglycolic acid-collagen (PGA-c) nerve conduit immersed in either PBS (PGA-c/PBS), bFGF (PGA-c/bFGF) or bFGF-PKD-CBD (PGA-c/bFGF-PKD-CBD) grafted to rat sciatic nerve defect. Gait analysis were performed at 0, 4, and 8 weeks after creation of the nerve defect.

[Materials & Methods] Collagen powder mixed with either PBS (CP/PBS), bFGF (CP/bFGF), or CB-bFGF (CP/CBbFGF) was injected into the mouse fracture site. Micro-CT analysis was performed at 2, 4, and 6 weeks after creation of the fracture. Polyglycolic acid-collagen (PGA-c) nerve conduit immersed in either PBS (PGA-c/PBS), bFGF (PGA-c/bFGF) or bFGF-PKD-CBD (PGA-c/bFGF-PKD-CBD) grafted to rat sciatic nerve defect. Gait analysis were performed at 0, 4, and 8 weeks after creation of the nerve defect.

[Results and Discussion] The callus volume and bone mineral content in fracture sites injected with CP/bFGF-PKD-CBD at 6 weeks were higher than those of fracture sites injected CP/PBS and CP/bFGF. The recovery rate of the paw print area was significantly greater in the PGA-c/bFGF-PKD-CBD group than the PGA-c/PBS and PGA-c/bFGF groups. bFGF-PKD-CBD/collagen composite is a promising material for musculoskeletal repair in the clinical setting.

[Results and Discussion] The callus volume and bone mineral content in fracture sites injected with CP/bFGF-PKD-CBD at 6 weeks were higher than those of fracture sites injected CP/PBS and CP/bFGF. The recovery rate of the paw print area was significantly greater in the PGA-c/bFGF-PKD-CBD group than the PGA-c/PBS and PGA-c/bFGF groups. bFGF-PKD-CBD/collagen composite is a promising material for musculoskeletal repair in the clinical setting.

キーワード：コラーゲン, 運動器再生

Key words: collagen, musculoskeletal regeneration,

## SY1-3

### コラーゲン 3 重らせんを模倣するペプチドの基礎および 応用研究への利用

### Use of triple-helical peptides for pure and applied researches on collagen

小出隆規

Takaki Koide

早稲田大学 先進理工学部 化学・生命化学科

Department of Chemistry and Biochemistry, School of  
Advanced Science and Engineering, Waseda University

あまたあるタンパク質の中で、コラーゲンはかなり特異な構造と性質を多数有している（以下列挙）。それが動物界の中でもっとも多量に存在するタンパク質であるにもかかわらず、である。

- ・ 巨大なポリペプチドの 3 量体が、さらに多量体を形成し、不溶性のポリマーとなる
- ・ 特異な 3 重らせん構造
- ・ 特殊な翻訳後修飾を高度に受けている
- ・ 特殊な立体構造構築原理（疎水コアを持たない）とその過程（特異的なシャペロン・輸送体の存在）
- ・ 組織構造の維持のみならず、生体高分子と相互作用することにより多種多様な生理機能を発現する

このような特殊性ゆえ、コラーゲンを標的とした研究は、遺伝子組換え法を基盤としたモダンなタンパク質科学的手法の恩恵をほとんど受けることができなかつた。その代りに大いに貢献したのは、コラーゲンの 3 重らせんを模倣するように分子設計された化学合成ペプチドである。このコラーゲンモデルペプチドを用いて、コラーゲンの立体構造の詳細が明らかになっただけでなく、多彩な生理機能を担う、機能をもった 3 重らせん上のペプチド配列が次々と同定され、その機能発現のメカニズムが明らかになってきた。さらに、化学合成ペプチドを高分子化あるいは超分子化することで、細胞外マトリックスとして機能する人工コラーゲン創製の試みも行われている。

本講演では、コラーゲンモデルペプチドを用いた研究の歴史、現状と将来への展望について概説したい。

Although collagen is the most abundant protein in the animal kingdom, it is a peculiar protein in terms of structure and function:

- Huge trimeric protein forming insoluble polymer
- Its unique triple-helical structure
- High content of post-translationally modified amino acid residues
- Its unique folding and biosynthetic processes involving specific chaperones and transporters
- Its exhibition of various physiological functions in addition to its role as a structural protein

Due to such properties, the modern techniques of protein science including recombinant expression are not effective in collagen researches. Instead, chemically synthesized collagen-model peptides that mimic the triple-helical structure have been effectively utilized in the researches. The peptides have greatly contributed to the elucidation of the tertiary structure of collagen as well as the identification of functional amino acid sequences that interact with other biomacromolecules. In addition, researchers have been trying to develop artificial collagen by organizing designed triple-helical peptides.

In this symposium, I will talk about the history, current topics and perspectives of collagen researches based on synthetic triple-helical peptides.

キーワード：コラーゲン、ペプチド、3 重らせん

Key words: collagen, peptide, triple helix

## ミズクラゲコラーゲン成分の表皮角化細胞に対する生物学的効果の検証

住吉秀明<sup>1,2</sup>、中尾祥絵<sup>1,2</sup>、柳川享世<sup>1,2</sup>、中野泰博<sup>1,2</sup>、岡村陽介<sup>3</sup>、川口 章<sup>1</sup>、遠藤 整<sup>4</sup>、稲垣 豊<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> 東海大学・大学院マトリックス医学生物学センター、  
<sup>2</sup> 同・医学部再生医療科学、<sup>3</sup> 同・工学部応用化学、  
<sup>4</sup> 同・医学部衛生学公衆衛生学

【背景】我々はミズクラゲコラーゲンが再上皮化を早めることで皮膚再生を促進できる事を報告した。しかし、コラーゲンとはいえども異種タンパク質を直接医療応用することには多くの障壁が考えられる。

【目的】今回の研究ではミズクラゲコラーゲン効果の表皮角化細胞における生物学的基礎について、そしてクラゲの成分を外用薬として使用することを検証した。

【実験方法】① ミズクラゲコラーゲンにより促進される特徴的な伸長部分の形態を電子顕微鏡で精査した。② ヒト初代培養表皮角化細胞を、ミズクラゲまたブタのコラーゲンの添加群と非添加群に分け、48時間の細胞動態をタイムラプスで観察した。③ ミズクラゲコラーゲンをフィルム化した外用薬を作製し、マウスの全層皮膚欠損モデルに *in vivo* の投与実験を行なった。

【結果と考察】① ミズクラゲによって伸長促進される表皮細胞は、薄く平坦な形態と拡大した細胞間隙を特徴とし、伸長端から飛び出して遊走するなど、他に見られない形態を有していた。② 初代培養表皮角化細胞のミズクラゲ添加群にのみ細胞の凝集と張力の発生がみられた。Claudin 1 と Phalloidin で染色すると、ミズクラゲ添加群には細胞接着側に claudin 1 が局在し、より発達したアクチンストレスファイバーの形成が観察された。③ 人工真皮移植モデルマウスにミズクラゲコラーゲンから成るフィルム製剤を貼った群では、人工真皮に含有させた事例と同様の再上皮化の促進作用が認められ、人工真皮内への炎症細胞の浸潤は抑制した。

【結論】ミズクラゲコラーゲンの再上皮化促進効果は、表皮角化細胞への直接的な生物作用であり、その成分を外用薬として用いる事が可能であることが示された。

## Verification of biological effects of jellyfish collagen on dermal keratinocytes

Hideaki Sumiyoshi<sup>1,2</sup>, Sachi Nakao<sup>1,2</sup>, Takayo Yanagawa<sup>1,2</sup>, Yasuhiro Nakano<sup>1,2</sup>, Yosuke Okamura<sup>3</sup>, Akira Kawaguchi<sup>2</sup>, Hitoshi Endo<sup>3</sup>, Yutaka Inagaki<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Center for Matrix Biology and Medicine, <sup>2</sup> Dept. of Regenerative Med., School of Medicine, <sup>3</sup> Dept. of Applied Biochemistry, School of Engineering, <sup>4</sup> Dept. of Preventive Medicine, School of Medicine, Tokai University

【Introduction】 We have previously reported that jellyfish collagen accelerates dermal wound healing by promoting re-epithelialization. However, medical application of proteins from other species may have many difficulties.

【Purpose】 In this study, we evaluated the biological effects of jellyfish collagen on keratinocytes, and examined its usefulness as a medicine for external application.

【Materials & Methods】 ① We examined the characteristic morphology of keratinocytes induced by jelly fish collagen under electron microscope. ② Human primary epidermal keratinocytes were treated with either porcine or jellyfish collagen and observed by time-lapse imaging. ③ Medical patches made of jellyfish collagen films were applied as a paste to the full thickness dermal wound.

【Results and Discussion】 ① Extending keratinocytes enhanced by jellyfish collagen exhibited a flat shape and an expanded intercellular space, which morphology was never seen elsewhere. ② Cellular cohesion and tensile strength were increased only in cultured keratinocytes treated with jellyfish collagen. Claudin 1 was located in the cell adhesion side, and formation of actin stress fibers was more apparent in the jellyfish collagen-treated cells. ③ Application of a jellyfish collagen-containing film on dermal wounds promoted re-epithelialization in the epidermis, while it inhibited infiltration of inflammatory cells to the dermis.

【Conclusion】 The stimulatory effects of jellyfish collagen on re-epithelialization were exerted through its direct biological action on keratinocytes. Jellyfish collagen may serve as a medicine for external application.

キーワード： ミズクラゲコラーゲン、皮膚再生

Key words: Jellyfish collagen, Skin regeneration

# シンポジウム 2 (Symposium 2)

第 1 日目 5 月 31 日 (金)  
(Day 1, May 31st, Fri)

13:00 - 14:25 Matrix Quest 2019

座長 : Takako Sasaki Oita Univ.  
Sergei Boudko Vanderbilt Univ.

**SY2-1** ラミニンアイソフォームを用いた多能性幹細胞からの眼細胞分化と再生医療への応用

林竜平<sup>1,2</sup>

1 大阪大学大学院医学系研究科 幹細胞応用医学寄附講座  
2 大阪大学大学院医学系研究科 眼科学

**SY2-2** 生体組織透明化による角膜実質代替物の開発と検証

田中佑治

山梨大学医学部附属病院 臨床研究連携推進部  
理研 BDR、iCONM

**SY2-3** Human collagen IV scaffold assembly depends on a chloride ring within the NC1 domain hexamer

Vadim Pedchenko, Elena Pokidysheva, Ryan Bauer, Billy Hudson,

Sergei Boudko

Division of Nephrology and Hypertension and Center for Matrix Biology, Vanderbilt University Medical Center, Nashville, TN, USA



**ラミニンアイソフォームを用いた多能性幹細胞からの  
眼細胞分化と再生医療への応用****Co-ordinated generation of ocular cell lineages  
from pluripotent stem cells using laminin isoforms  
and its application to regenerative medicine**<sup>1,2</sup> 林 竜平<sup>1,2</sup> [Ryuhei Hayashi](#)<sup>1</sup> 大阪大学大学院医学系研究科 幹細胞応用医学寄附講座<sup>1</sup> Department of Stem Cells and Applied Medicine, Osaka University Graduate School of Medicine<sup>2</sup> 大阪大学大学院医学系研究科 眼科学<sup>2</sup> Department of Ophthalmology, Osaka University Graduate School of Medicine

眼は異なる細胞系譜の原基より構成される複雑な器官である。例えば、網膜は神経外胚葉に由来する眼胞から発生し、角膜上皮は表面外胚葉由来、虹彩や角膜内皮、実質は神経堤が起源である。近年、我々はヒト多能性幹細胞から、ラミニン 511 E8 断片を足場を用いることで、角膜上皮や網膜の原基細胞などの眼の細胞系譜が多帯状に規則正しく配行した未分化コロニーである SEAM (self-formed ectodermal autonomous multi-zone) を誘導することに成功し、さらにその中から角膜上皮幹・前駆細胞を単離し、機能的な角膜上皮組織を再生可能であることを報告した (Hayashi R. *et al. Nature* 2016, *Nat Protoc.* 2017)。さらに、SEAM 培養において異なるラミニンアイソフォームを足場を用いることで、多能性幹細胞からの眼細胞誘導の分化指向性が大きく変化することを見出した (Shibata S. Hayashi R *et al. Cell Rep* 2018)。目的細胞に適したラミニンアイソフォームを足場を用いることで、多能性幹細胞からの細胞分化の方向性を制御することが可能であり、また、再生医療等で目的細胞を効率良く得る方法としても有用であると考えられる。

The eye is a complex organ whose highly specialized constituent tissues are derived from different primordial cell lineages. The retina, for example, develops from neuroectoderm via the optic vesicle, the corneal epithelium is descended from surface ectoderm, whilst the stroma of the cornea has a neural crest origin. Recently we successfully demonstrated the generation from human pluripotent stem cells (PSCs) of a self-formed ectodermal autonomous multi-zone (SEAM) of ocular cells using laminin 511 E8 fragment as a coating matrix. In some respects the concentric SEAM mimics whole eye development because cell location within different zones is indicative of lineage and this is broad, spanning the ocular surface ectoderm, lens, neuro-retina, and retinal pigment epithelium (Hayashi R. *et al. Nature* 2016, *Nat Protoc.* 2017). Interestingly, the propensity of the ocular cell differentiation was drastically altered by lamin isoforms used as a matrix in the SEAM culture. The approach has translational potential and to demonstrate this we showed the isolation of corneal epithelial progenitor cells from the ocular surface ectodermal zone of the SEAM with a cell sorter using combination of cell surface markers and expansion of them *ex vivo* to form a functional corneal epithelial tissue. Our data indicate that laminin isoforms have great potential to obtain the target cells for regenerative medicine by controlling the differentiation propensity of PSCs.

キーワード：多能性幹細胞、眼、ラミニンアイソフォーム、角膜、再生医療

Key words: Pluripotent stem cells, Eye, Laminin isoforms, Cornea, Regenerative medicine

田中佑治

Yuji Tanaka

山梨大学医学部附属病院 臨床研究連携推進部  
理研 BDR、iCONM

Clinical Trial Management Office, University Hospital,  
University of Yamanashi  
RIKEN BDR, iCONM

【背景】コラーゲンを主成分とする生体組織を透明化する技術を開発した。角膜実質もコラーゲン線維を主成分とする強靱な組織ありかつ透明性を有すが一度混濁すると自然治癒は難しい。

[Introduction] We developed a method to transparentize collagen-rich tissues. Transparent and tough corneal stroma is also collagen-rich tissue, which is not cured spontaneously.

【目的】透明化技術を用いて様々な生体組織から人工角膜を創生できるか検証することを目的とした。

[Purpose] We examined whether it is possible to develop corneal stromal replacements by optical clearing tissues.

【実験方法】強膜（白目）、皮膚真皮、羊膜、コラーゲン薄膜等を乾燥した後、カルボジイミド等を用いて化学架橋を施した。化学架橋する際に、生体膜の積層化や、乾燥-架橋プロセスの繰返しの効果も検証した。それらの光透過性、力学特性等を評価し、家兎の角膜に移植して生体親和性等を検証した。

[Materials & Methods] We examined optical clearing of sclera, dermis, amniotic membrane, and collagen membrane by drying and chemical cross-linking. In addition, effect of both lamination of tissues and repetition of drying/cross-linking process were examined. The obtained tissues were characterized by several method to identify their light transmittance, mechanical property, biocompatibility, and so on.

【結果と考察】本来白濁している強膜、皮膚真皮、羊膜、コラーゲン薄膜、いずれにおいても乾燥後に化学架橋を施すことで透明性を改善することができた。乾燥と架橋のプロセスを繰り返すほど透明性が改善され、破断強度も増した。家兎角膜実質内に移植したところ、いずれの透明化組織においても血管侵入等を認めなかった。最も透明性が高い透明化羊膜は、他の生体膜と比較して厚みが薄く縫合が困難であった。そこでヒト羊膜を積層化した後に同様の透明化処理を行ったところ、羊膜が一体化した状態で透明化し、積層させる羊膜の数が増えるほど破断強度が増した。さらに家兎に表層角膜移植を試みたところ、透明化積層羊膜は縫合が可能であり、かつ角膜上皮細胞が再建されることを確認した。

[Results and Discussion] Light transmittance of sclera, dermis, amniotic membrane, and collagen membrane were improved by drying and chemical cross-linking. In addition, repetition of drying/cross-linking process also improved their transparency. Biocompatibility tests for these materials in rabbit corneal stromal pocket did not show any severe problems such as neovascularization. The light transmittance of amniotic membrane was the highest among them, but its thickness was too thin to suture. For this reason, we examined lamination of amniotic membrane, which resulted in improvement of mechanical properties able to suture for lamellar keratoplasty on rabbit cornea.

角膜への透明化技術活用の可能性が示唆された。

【引用】Y.Tanaka *et al.* Biomaterials 2010,2011, JTERM 2012, T. Hariya, Y.Tanaka *et al.* Biomaterials 2016, S.Yokokura, Y.Tanaka. Curr Ophth Rep 2017.

[References] Y.Tanaka *et al.* Biomaterials 2010,2011, JTERM 2012, T. Hariya, Y.Tanaka *et al.* Biomaterials 2016, S.Yokokura, Y.Tanaka. Curr Ophth Rep 2017.

キーワード：透明化, コラーゲン, 角膜実質

Key words: optical clearing, collagen, corneal stroma

## SY2-3

---

### Human collagen IV scaffold assembly depends on a chloride ring within the NC1 domain hexamer

Vadim Pedchenko, Elena Pokidysheva, Ryan Bauer, Billy Hudson, [Sergei Boudko](#)

Division of Nephrology and Hypertension and Center for Matrix Biology, Vanderbilt University Medical Center, Nashville, TN, USA

Collagen IV is a core molecule of basement membranes, a specialized form of extracellular matrix that is essential for development of tissues and organs and their functions. Collagen IV forms a scaffold for structural integrity of basement membranes and tethers a diverse assortment of molecules. Scaffold assembly involves the oligomerization of  $\alpha$ -chains into protomers and then protomers into scaffolds. The latter stage, which occurs on the outside of cells, is chloride-dependent, whereby a group of six chloride ions induce two trimeric non-collagenous domains (NC1) to self-assemble into a hexamer structure, connecting two protomers of a scaffold. Our recent studies revealed that an additional group of six Cl<sup>-</sup> ions are embedded at the trimer-trimer interface. Here, we explored the functionality of the chloride ions by developing a novel single-chain technology to produce an intermediate NC1-trimer for use in studies that mimic the *in vivo* oligomerization of protomers into scaffolds. We discovered that a ring of twelve chloride ions induce assembly and dynamically stabilize the NC1 hexamer structure. Chloride ions also increase the NC1-hexamer resistance against high temperature irreversible denaturation. Collectively, the findings reveal a fundamental role for chloride ions in the assembly of basement membranes. Furthermore, the NC1-trimer technology is foundational for advancing studies on biology of collagen IV and for development of novel therapy for Alport syndrome, Goodpasture's disease and tumor growth.



# シンポジウム 3 (Symposium 3)

第 1 日目 5 月 31 日 (金)  
(Day 1, May 31st, Fri)

16:20 - 17:40 コラーゲンの多様な翻訳後修飾

座長：多賀祐喜 ニッピ  
石川善弘 OHSU

## SY3-1 LC-MS による多様なコラーゲン特異的翻訳後修飾の分析

多賀祐喜、服部俊治

株式会社ニッピ バイオマトリックス研究所

## SY3-2 癌組織における異常なコラーゲンの翻訳後修飾について

寺嶋雅彦<sup>1</sup>、多賀祐喜<sup>2</sup>、齋藤智昭<sup>3</sup>、鶴澤一弘<sup>3</sup>、椎葉正史<sup>3</sup>、丹澤秀樹<sup>3</sup>、  
Antonio Amelio<sup>1</sup>、Becky K. Brisso<sup>4</sup>、Karin Sorenmo<sup>4</sup>、服部俊治<sup>2</sup>、  
Susan W. Volk<sup>4</sup>、山内三男<sup>1</sup>

1 ノースカロライナ大学 頭蓋顔面口腔学講座

2 ニッピ バイオマトリックス研究所

3 千葉大学大学院医学研究院 口腔外科学講座

4 ペンシルベニア大学 獣医学講座

## SY3-3 Re-evaluation of lysyl hydroxylation in the collagen triple helix regarding site preference and type specific activities

Yoshihiro Ishikawa<sup>1,2</sup>, Yuki Taga<sup>3</sup>, Keith Zientek<sup>4</sup>, Antti Salo<sup>5</sup>,  
Nobuyo Mizuno<sup>4,6</sup>, Olesya Semenova<sup>4</sup>, Sara Tufa<sup>4</sup>, Douglas R. Keene<sup>4</sup>,  
Paul Holden<sup>4</sup>, Kazunori Mizuno<sup>3</sup>, Johanna Myllyharju<sup>6</sup>  
and Hans Peter Bächinger<sup>1</sup>

1: Department of Biochemistry and Molecular Biology, Oregon Health & Science University, Portland, Oregon, USA,

2: Departments of Ophthalmology and Anatomy, Institute for Human Genetics University of California San Francisco, USA,

3: Nippi Research Institute of Biomatrix, Ibaraki, Japan,

4: Shriners Hospital for Children, Research Department, Portland, Oregon, USA,

5: Biocenter Oulu and Faculty of Biochemistry and Molecular Medicine, University of Oulu, Oulu, Finland,

6: Vaccine and Gene Therapy Institute, Oregon Health and Science University, Portland, Oregon, USA

## SY3-4 N<sup>ω</sup>-(carboxymethyl)arginine は糖化に伴って主にコラーゲンに生成する

永井竜児<sup>1</sup>、木下奨<sup>1</sup>、米良克美<sup>1</sup>、多賀祐喜<sup>2</sup>、飯島克昌<sup>2</sup>、服部俊治<sup>2</sup>

1 東海大学農学部バイオサイエンス学科食品生体調節学研究室

2 ニッピバイオマトリックス研究所



## SY3-1

### LC-MSによる多様なコラーゲン特異的翻訳後修飾の分析

### Analysis of diverse collagen-specific post-translational modifications using LC-MS

多賀祐喜、服部俊治

Yuki Taga, Shunji Hattori

株式会社ニッピ バイオマトリックス研究所

Nippi Research Institute of Biomatrix

コラーゲンは [グリシン-アミノ酸 X-アミノ酸 Y] を繰り返し配列から構成されており、様々な修飾酵素によって翻訳後修飾を受ける。プロリンの場合、Y位ではほとんどが4-ヒドロキシプロリン (4-Hyp) へと水酸化される一方、X位では特定の部位でのみ3-Hypへと修飾される。Y位のリジンも一部が水酸化されてヒドロキシリジンとなり、特定部位ではさらに糖鎖修飾される。また、組織に沈着したコラーゲンでは、リジロキシダーゼによるアルデヒド生成から始まる連続的な反応により架橋形成が起こる。これらの翻訳後修飾は、その修飾酵素の異常によって重篤な疾患を発症することからも、生体にとって必須の反応であると言える。一方、非酵素的な反応により、カルボキシメチルアルギニン (グリケーション産物) やヒドロキシホモシトルリン (カルバミレーション産物) もコラーゲンに特徴的に生成され、それら蓄積性の翻訳後修飾も半減期の長いコラーゲンの性質に影響を与えると考えられる。これらの様々なコラーゲン翻訳後修飾の分析は、その生理的意義、疾患との関係の理解に重要となるが、これまでの分析方法では感度・精度の面で問題があった。本発表では、多様なコラーゲン翻訳後修飾を高感度かつ高精度に分析するため、我々がこれまでに開発してきた質量分析 (LC-MS) を用いた分析手法を紹介する。また最近、可溶ゲルを用いた SDS 電気泳動によるコラーゲン  $\alpha$  鎖の分離およびその後の翻訳後修飾分析の技術を開発したため、それについても合わせて紹介する。

Collagen consisting of repeating Gly-Xaa-Yaa triplets undergoes post-translational modifications (PTMs) by various specific enzymes. While almost all proline residues at the Y position are hydroxylated to 4-hydroxyproline, prolyl 3-hydroxylation occurs only at specific X position. A part of lysine residues at the Y position are modified to hydroxylysine and further glycosylated at specific sites. Collagen cross-link formation that is initiated with generation of aldehydes by lysyl oxidase occurs after tissue deposition. Since mutations of the collagen-modifying enzymes cause severe diseases, one could argue that these PTMs are indispensable for the body. Furthermore, there are non-enzymatic PTMs specific to collagen, including carboxymethylarginine (glycation) and hydroxyhomocitrulline (carbamylation), and these cumulative modifications potentially affect the property of collagen having a long half-life. Although analysis of those various PTMs is important to understand their physiological significance and relationship with diseases, existing methods have problems in analytical sensitivity and accuracy. In this presentation, we introduce our methods using LC-MS previously developed to achieve sensitive and accurate analysis of the diverse collagen PTMs. In addition, we show a novel method using SDS-PAGE with a solubilizable polyacrylamide gel for separation of collagen alpha chains and subsequent analysis of collagen PTMs.

キーワード：コラーゲン、翻訳後修飾、質量分析

Key words: collagen, post-translational modification, LC-MS

## 癌組織における異常なコラーゲンの翻訳後修飾について

<sup>1</sup> 寺嶋雅彦、<sup>2</sup> 多賀祐喜、<sup>3</sup> 齋藤智昭、<sup>3</sup> 鶴澤一弘、<sup>3</sup> 椎葉正史、<sup>3</sup> 丹澤秀樹、<sup>1</sup> Antonio Amelio、<sup>4</sup> Becky K. Brisso、<sup>4</sup> Karin Sorenmo、<sup>2</sup> 服部俊治、<sup>4</sup> Susan W. Volk、<sup>1</sup> 山内三男

<sup>1</sup> ノースカロライナ大学 頭蓋顔面口腔学講座

<sup>2</sup> ニッピ バイオマトリックス研究所

<sup>3</sup> 千葉大学大学院医学研究院 口腔外科学講座

<sup>4</sup> ペンシルベニア大学 獣医学講座

【目的】線維性 I 型コラーゲンは細胞外基質において最も豊富に存在する構造タンパク質であり、その特異的な翻訳後修飾は組織の安定化に不可欠である。近年、癌組織におけるコラーゲンの翻訳後修飾、すなわち、リシンの水酸化、糖添加および分子間クロスリンクの重要性が報告されているが、その定量的、部位的变化や腫瘍の進行との関係はまだ十分に解明されていない。そこで、本研究においては、犬の乳癌およびヒトの原発性口腔扁平上皮癌の組織を用い、HPLC 及び質量分析により、コラーゲン翻訳後修飾を定量的に分析した。

【実験方法】組織のサンプルは、NaB<sup>3</sup>H<sub>4</sub>を用いて還元し、アミノ酸およびクロスリンク分析にかけ、一部は質量分析によりコラーゲンの特異的部位におけるリシンの翻訳後修飾を準定量的に調べた。

【結果と考察】犬およびヒトの腫瘍サンプルにおいて、ヒドロキシリシンアルデヒド由来の安定型クロスリンクが有意に増加した。犬の腫瘍においては、I 型コラーゲンの C-及び N-テロペプチドでリシン残基が過剰に水酸化していた。また、ヒトの口腔癌では、腫瘍の進行度と安定型クロスリンクの増加に相関関係が認められた。以上の結果より、腫瘍の I 型コラーゲンではリシルヒドロキシラーゼ 2 (LH2) によるテロペプチドのリシン残基の過剰な水酸化により、安定型クロスリンクが増加し、硬化したコラーゲン線維が、腫瘍の進行や転移にとって重要な役割を果たすことが示唆された。

キーワード：コラーゲン、癌、クロスリンク

## Aberrant collagen post-translational modification in cancer

<sup>1</sup> Masahiko Terajima, <sup>2</sup> Yuki Taga, <sup>3</sup> Tomoaki Saito, <sup>3</sup> Katsuhiko Uzawa, <sup>3</sup> Masashi Shiiba, <sup>3</sup> Hideki Tanzawa, <sup>1</sup> Antonio Amelio, <sup>4</sup> Becky K. Brisson, <sup>4</sup> Karin Sorenmo, <sup>2</sup> Shunji Hattori, <sup>4</sup> Susan W. Volk, <sup>1</sup> Mitsuo Yamauchi

<sup>1</sup> Department of Oral and Craniofacial Health Sciences, University of North Carolina at Chapel Hill; <sup>2</sup> Nippi Research Institute of Biomatrix; <sup>3</sup> Department of Dentistry and Oral-Maxillofacial Surgery, Chiba University; <sup>4</sup> School of Veterinary Medicine, University of Pennsylvania

Fibrillar type I collagen is the most abundant structural protein in the extracellular matrix. Its specific post-translational modifications (PTMs) are essential for the tissue stability. Recently, a critical role of lysine (Lys) PTMs of collagen including hydroxylation, glycosylation, and intermolecular cross-linking in cancer metastasis has been reported. However, the quantitative and molecular site-specific alterations of these PTMs, and their association with cancer progression are still poorly understood. In this study, by using the canine mammary and primary human oral squamous cell carcinoma (OSCC) tissues, we investigated collagen PTMs by HPLC and mass spectrometric analyses. Samples were reduced with NaB<sup>3</sup>H<sub>4</sub> and subjected to amino acid and collagen cross-link analyses. Aliquots were also subjected to mass spectrometric analysis to determine the extent of Lys PTMs at specific molecular sites of collagen. In both tumor types, the stable hydroxylysine aldehyde-derived cross-links were significantly increased. In canine tumors, N- and C- telopeptidyl Lys residues in type I collagen were “over”-hydroxylated. In human OSCC, tumor progression and an increase of stable cross-links were significantly correlated. These data indicate that collagen in tumor stroma could be stiffened by forming the lysyl hydroxylase 2 (LH2)-mediated stable cross-links that may contribute to tumor progression and metastasis.

Key words: collagen, cancer, cross-link

## SY3-3

---

### Re-evaluation of lysyl hydroxylation in the collagen triple helix regarding site preference and type specific activities

Yoshihiro Ishikawa<sup>1,2</sup>, Yuki Taga<sup>3</sup>, Keith Zientek<sup>4</sup>, Antti Salo<sup>5</sup>, Nobuyo Mizuno<sup>4,6</sup>, Olesya Semenova<sup>4</sup>, Sara Tufa<sup>4</sup>, Douglas R. Keene<sup>4</sup>, Paul Holden<sup>4</sup>, Kazunori Mizuno<sup>3</sup>, Johanna Myllyharju<sup>6</sup> and Hans Peter Bächinger<sup>1</sup>

1: Department of Biochemistry and Molecular Biology, Oregon Health & Science University, Portland, Oregon, USA, 2: Departments of Ophthalmology and Anatomy, Institute for Human Genetics University of California San Francisco, USA, 3: Nippi Research Institute of Biomatrix, Ibaraki, Japan, 4: Shriners Hospital for Children, Research Department, Portland, Oregon, USA, 5: Biocenter Oulu and Faculty of Biochemistry and Molecular Medicine, University of Oulu, Oulu, Finland, 6: Vaccine and Gene Therapy Institute, Oregon Health and Science University, Portland, Oregon, USA

#### [Introduction]

Collagen is the most abundant protein in humans and is heavily post-translationally modified. Its biosynthesis is very complex and requires three different hydroxylations (two for proline and one for lysine) that are generated in the rough endoplasmic reticulum (rER). These modifications can only occur on unfolded procollagen chains, followed by the folding of the triple helix. These processes involve many enzymes and chaperones which were collectively termed the molecular ensemble for collagen biosynthesis. However, the function of some of the proteins in this molecular ensemble is controversial. While prolyl 3-hydroxylase 1 and 2 (P3H1, P3H2) were shown to 3-hydroxylate prolines in collagen chains, the function of prolyl 3-hydroxylase 3 (P3H3) is less clear. It has been suggested that this enzyme has no catalytic activity, but instead acts as a chaperone for lysyl-hydroxylase 1 (LH1), which has been characterized as an important hydroxylase to generate hydroxylysine for sugar attachment and crosslinking within collagen triple helical sequences.

#### [Purpose]

If P3H3 is a chaperone for LH1 and this interaction is important for LH1 activity, both P3H3 and LH1 null mice should show similar phenotypes. Collagens from the P3H3 null mouse model and the LH1 null mouse model were extracted and compared. This direct comparison should give us a better understanding of the individual functions of P3H3 and LH1.

#### [Materials & Methods]

We isolated collagens from P3H3 and LH1 null mice and compared their overall modification level by amino acid analysis and detailed posttranslational modifications using MS analysis.

#### [Results and Discussion]

During these studies we discovered three new aspects of modifications of collagen chains.

- 1) P3H3 can act as a chaperone for LH1, but this chaperone function is not required for all LH1 sites.
- 2) There are very specific sites in type I collagen extracted from P3H3 null mice that had less hydroxylysine.
- 3) Surprisingly, type V collagen chains from LH1 null mice contained as much hydroxylysine as WT type V collagen.

---

Key words: collagen, molecules and cells

## SY3-4

N<sup>o</sup>-(carboxymethyl)arginine は糖化に伴って主にコラーゲンに生成する

<sup>1</sup>永井竜児、<sup>1</sup>木下奨、<sup>1</sup>米良克美、<sup>2</sup>多賀祐喜、<sup>2</sup>飯島克昌、<sup>2</sup>服部俊治

<sup>1</sup> 東海大学農学部バイオサイエンス学科食品生体調節学研究室

<sup>2</sup> ニッピバイオマトリックス研究所

【背景】タンパク質とグルコースを *in vitro* で反応させるとメイラード反応によって advanced glycation end products (AGEs)が生成する。生体において AGEs 化タンパク質は加齢に伴って蓄積し、さらに糖尿病合併症、動脈硬化の発症に伴って増加する。N<sup>o</sup>-(carboxymethyl)arginine (CMA)は糖化コラーゲンを酵素的加水分解から酸不安定な AGEs として同定された。しかし、内部標準を用いた定量はなされておらず正確な生体含量は知られていない。

【目的】コラーゲンの糖化に伴う CMA 生成経路の解析および、生体における含量の定量を行った。

【実験方法】CMA は特異的なモノクローナル抗体および、液体クロマトグラフィータンデム型質量分析装置で測定を行った。

【結果と考察】グルコースとコラーゲンを反応させた際、グルコースの濃度依存的に CMA 生成が確認された。さらに CMA はグリオキサールとコラーゲンの反応からも時間依存的に生成された。コラーゲンに生成する AGEs のうち、CMA は主要な AGEs 構造であることから、コラーゲンの糖化、酸化を評価する重要なマーカーとなることが確認された。

N<sup>o</sup>-(carboxymethyl)arginine dominantly generates during the glycation of collagens

<sup>1</sup>Ryoji Nagai, <sup>1</sup>Sho Kinoshita, <sup>1</sup>Katsumi Mera, <sup>2</sup>Yuki Taga, <sup>2</sup>Katsumasa Iijima, <sup>2</sup>Shunji Hattori,

<sup>1</sup>Laboratory of Food and Regulation Biology, Graduate School of Agriculture, Tokai University

<sup>2</sup>Nippi Research Institute of Biomatrix

[Introduction] Incubation of proteins with glucose leads to the generation of advanced glycation end products (AGEs) from the Maillard reaction. The levels of AGE-modified proteins increase during the normal aging process, and enhanced the pathogenesis of diabetic complications and atherosclerosis. N<sup>o</sup>-(carboxymethyl)arginine (CMA) is an acid-labile AGE structure that was discovered in the enzymatic hydrolysate of glycated collagen. However, since an internal standard was not used to quantitate the CMA content in tissues, little is known about the CMA level in organs.

[Purpose] We investigated the mechanism by which CMA is generated in collagen, and quantitated in physiological concentration.

[Materials & Methods] Collagen was incubated with glucose *in vitro*. The amount of CMA was measured by monoclonal antibody and electrospray ionization-liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS).

[Results and Discussion] During incubation of glucose with collagen, CMA formation was enhanced with increasing glucose concentration. CMA formation was also observed upon incubating collagen with glyoxal, and CMA was generated in a time-dependent manner when glyoxal was incubated with collagens. Our study provides evidence that CMA is a representative AGE structure that serve as a useful index to reflect the oxidation and glycation of collagen.

キーワード：コラーゲン、糖化、AGEs、老化

Key words: Collagen, Glycation, AGEs, Aging

# シンポジウム 4 (Symposium 4)

第2日目 6月1日(土)  
(Day 2, June 1st, Sat)

13:20 - 15:05 疾患研究における結合組織

座長：平澤恵理 順天堂大  
稲垣 豊 東海大

## SY4-1 糸球体足細胞（ポドサイト）と糸球体基底膜の濾過障壁としての役割

浅沼克彦

千葉大学大学院医学研究院 腎臓内科学

## SY4-2 3次元診断による硬化糸球体の診断への試み

山田博之<sup>1,2</sup>、浅沼克彦<sup>1</sup>

1 千葉大学大学院医学研究科腎臓内科学

2 京都大学大学院医学研究科腎臓内科学

## SY4-3 肝線維化のメカニズム解析と抗線維化治療アプローチ

池嶋健一

順天堂大学大学院医学研究科消化器内科学

## SY4-4 慢性肝疾患における TGF- $\beta$ L<sup>59</sup>/LAP 断片測定の意義

横山寛<sup>1</sup>、政木隆弘<sup>2</sup>、井上育代<sup>3</sup>、中村まり子<sup>2</sup>、目崎喜弘<sup>2</sup>、佐伯千里<sup>1</sup>、小嶋聡一<sup>3</sup>、松浦知和<sup>2</sup>

1 東京慈恵会医科大学 消化器・肝臓内科、

2 東京慈恵会医科大学 臨床検査医学講座、

3 理化学研究所 肝がん予防研究ユニット

## SY4-5 過敏性肺炎における線維化病態の解明

宮崎泰成、田坂有理

東京医科歯科大学 統合呼吸器病学

## SY4-6 私の挑戦：肺線維症線維芽細胞を介する線維化を抑制する高感受性抗線維化薬の探究

渡邊純子、十合晋作、高橋和久者

順天堂大学大学院医学研究科呼吸器内科学



## SY4-1

糸球体足細胞（ポドサイト）と糸球体基底膜の濾過障壁としての役割

<sup>1</sup>浅沼 克彦

<sup>1</sup>千葉大学大学院医学研究院 腎臓内科学

腎臓の糸球体は血液から原尿を作る特殊な構造をした濾過装置である。糸球体係蹄壁は、内側から糸球体内皮細胞、糸球体基底膜（GBM）、糸球体上皮細胞（ポドサイト）の順に位置している。ポドサイトは GBM の外側に、足突起の噛み合わせ構造を作り、その間には篩構造を持ったスリット膜(SD)が存在し、血清蛋白の最終濾過障壁として機能している。SD 関連蛋白の遺伝子異常が蛋白尿を引き起こし腎不全に導くことが知られている。GBM は分泌された細胞外基質で主にコラーゲン IV とラミニンにより構成されている。それらの細胞外基質のヒト遺伝子異常は、蛋白尿を引き起こし腎不全にいたる。以上の事実から、糸球体濾過という特別な機能は、SD と GBM が担っていることがわかる。本シンポジウムでは、腎糸球体における濾過障壁について概説する。

The role of kidney podocyte and the glomerular basement membrane in glomerular filtration barrier

<sup>1</sup>Katsuhiko Asanuma

<sup>1</sup>Department of Nephrology, Chiba University Graduate School of Medicine

Kidney glomerulus is a highly specialized structure that functions as the basic filtering organ to produce primary urine. The glomerular capillary wall consists of the glomerular basement membrane (GBM), lined on its inner aspect with endothelium and covered on its outer layer by visceral epithelial cells, also called podocytes. Podocytes serve as the final barrier to urinary protein loss through the special formation and maintenance of foot-processes and an interposed slit-diaphragm (SD). Single gene disorders affecting the SD can cause proteinuria resulting in renal failure. The GBM is a dense network of secreted extracellular matrix (ECM) components and mainly contains tissue-restricted isoforms of collagen IV and laminin. Human genetic mutations in the GBM components can also induce proteinuria leading to renal failure. Therefore, the special function of glomerular filtration relies on both the slit-diaphragm and the GBM. In this talk, we will try to make a brief overview about the filtration barrier in kidney glomerulus.

キーワード：糸球体、ポドサイト、糸球体基底膜

Key words: glomerulus, podocyte, glomerular basement membrane

<sup>1,2</sup>山田博之、<sup>1</sup>浅沼克彦

<sup>1,2</sup>Hiroyuki Yamada, <sup>1</sup>Katsuhiko Asanuma

<sup>1</sup> 千葉大学大学院医学研究科腎臓内科学

<sup>1</sup> Department of Nephrology, Graduate School of Medicine, Chiba University, Chiba, Japan

<sup>2</sup> 京都大学大学院医学研究科腎臓内科学

<sup>2</sup> Department of Nephrology, Graduate School of Medicine, Kyoto University, Kyoto, Japan

【背景】難治性ネフローゼ症候群は厚生労働省により指定難病として認定されており、内科的治療に抵抗性であることが多い。一方で、本疾患を疑い腎生検を行っても、得られた腎組織の糸球体に病変である硬化組織を検出できないことがある。適切な治療計画の立案には、正確な病理診断による裏付けが強く望まれるが、現状の2次元の病理診断では裏付けられないことがある。

[Introduction] Refractory nephrotic syndrome is specified as one of the incurable diseases by Japanese government. Even if for the diagnosis of this syndrome we perform kidney biopsy, we may have difficulty in detecting the sclerotic lesions in the glomeruli of biopsy samples. Although the treatment plan should be based on the accurate pathological diagnosis, the present two-dimensional (2D) pathological analysis sometimes do not contribute to the planning.

【目的】透明化手法を用いた3次元での組織の病理診断は、旧来の2次元の病理診断と比較して、あらゆる角度から組織の解析を可能にする。そこで透明化手法を用いた3次元の病理診断を腎糸球体の病理診断に用いれば、旧来の2次元での病理診断と比較してより正確な診断が可能になると仮説し検証した。

[Purpose] Three-dimensional (3D) analysis with optical clearing methods enable a histological examination from every aspect of the tissues, compared with two-dimensional (2D) analysis. In this study, we hypothesized that 3D analysis with optical clearing methods enable more accurate diagnosis than 2D analysis.

【実験方法】ラット腎臓に対して各種透明化手法を用いて透明化し、同時に糸球体の特異的マーカーであるNephrinに対する免疫染色を併用して、いずれの透明化手法が抗原性や構造保持などの点から腎臓の病理診断に適しているか検討した。また、糸球体に硬化病変を起こすとされている抗糸球体基底膜抗体(GBM)腎炎ラットに対して、透明化手法による3次元解析を応用し、病変部位に対する感度を検討した。

[Materials & Methods] We evaluated which optical clearing method is suitable for kidneys and glomeruli in terms of sustaining the antigen and the histological structure. To assess it, we used rat kidneys and immunostained with nephrin, which is a specific marker for glomerulus. Additionally, we applied optical clearing methods to anti-glomerular basement membrane (GBM) nephritis, which induces sclerosis lesion in glomerulus. Then, we examined the sensitivity for lesions in both 2D and 3D analysis.

【結果と考察】各種透明化手法のうち、一部の透明化手法は、糸球体の微細構造を3次元的に可視化することができた。また、GBM腎炎ラットに対する検討では、旧来の2次元での光学顕微鏡での検討と比較して、透明化を用いた3次元解析は硬化性病変の検出率が有意に高かった。透明化手法による病理組織の3次元解析は、病変に対してより高感度な検出が可能になるため、今後ヒト検体への応用が高く望まれる。

[Results and Discussion] A part of the optical clearing methods could three-dimensionally visualize the fine structure of glomeruli. Additionally, the sensitivity in 3D analysis for sclerotic lesions of anti-GBM nephritis rat was significantly higher than in 2D analysis. It is highly desirable that these benefits of 3D pathological analysis with optical clearing methods could be applied to human biopsy samples.

キーワード：硬化糸球体、透明化

Key words: glomerulosclerosis, optical clearing method

池嶋健一

Kenichi Ikejima

順天堂大学大学院医学研究科消化器内科学

Department of Gastroenterology, Juntendo University  
Graduate School of Medicine

肝線維化は遍く慢性肝疾患の進行過程に共通して生じる組織損傷修復異常である。ウイルス性肝炎は近年の抗ウイルス療法が目覚ましい進歩で進展防止が可能になってきているが、メタボリックシンドロームの肝病変である非アルコール性脂肪肝炎（NASH）は依然として根本的治療法が確立しておらず、また高度線維化に対する抗線維化治療もさまざまな実験的アプローチが試みられているものの臨床応用には至っていない。肝線維化のプロセスには肝星細胞（HSCs）の活性化に伴うマトリックス過剰産生が主軸的な役割を演じているが、骨髄由来 fibrocytes や門脈域線維芽細胞などの関与も明らかになり、これらの細胞の機能発現調節には肝内自然免疫系やサイトカイン・ケモカインのネットワークが多面的に作用している。さらに、腸管や脂肪組織、筋組織など様々な臓器相関が肝線維化進展に寄与していることも明らかにされ、抗線維化治療のターゲットとしても注目されている。活性化 HSCs はマトリックスおよび増殖因子による強力な生存シグナルを受けていることが、線維化消退を困難にしている一因と考えられ、HSCs の不活性化ないし特異的アポトーシス誘導などが実験的抗線維化治療へのアプローチとして検討されている。

Hepatic fibrogenesis is a part of aberrant tissue repairing responses against a variety of chronic liver diseases. Though recent advances in the development of direct anti-viral agents (DAAs) achieved efficient prevention of disease progression in chronic viral hepatitis, no practical approaches have been established for metabolic syndrome-related nonalcoholic steatohepatitis (NASH), nor reversal of advanced hepatic fibrosis/cirrhosis of any etiology. It is well recognized that activation of hepatic stellate cells (HSCs) and subsequent, excess production of extracellular matrix (ECM) play a pivotal role in hepatic fibrogenesis. Recently, lines of evidence support the idea that bone marrow-derived fibrocytes and portal fibroblasts also contribute somehow to the profibrogenic responses, where the hepatic innate immune system and cytokine/chemokine network play regulatory roles. Further, emerging evidence indicates the importance of organ-crosstalk among liver, gut, adipose tissue, and skeletal muscle, in hepatic fibrogenesis, suggesting a potential therapeutic targets. Current promising anti-fibrotic approaches include reversal of HSCs from activated to quiescent form, and/or specific induction of apoptosis in activated HSCs, against strong cellular surviving signals through ECM and growth factors.

キーワード：肝星細胞，自然免疫，脂肪肝炎

Key words: hepatic stellate cells, innate immunity, steatohepatitis

<sup>1</sup> 横山寛、<sup>2</sup> 政木隆弘、<sup>3</sup> 井上育代、<sup>2</sup> 中村まり子、<sup>2</sup> 目崎喜弘、<sup>1</sup> 佐伯千里、<sup>3</sup> 小嶋聡一、<sup>2</sup> 松浦知和

<sup>1</sup> Hiroshi Yokoyama, <sup>1</sup> Takahiro Masaki, <sup>3</sup> Ikuyo Inoue, <sup>2</sup> Mariko Nakamura, <sup>2</sup> Yoshihiro Mezaki, <sup>1</sup> Chisato Saeki, <sup>3</sup> Soichi Kojima, <sup>2</sup> Tomokazu Matsuura

<sup>1</sup> 東京慈恵会医科大学 消化器・肝臓内科

<sup>1</sup> Department of Laboratory Medicine, The Jikei University School of Medicine

<sup>2</sup> 東京慈恵会医科大学 臨床検査医学講座

<sup>2</sup> Department of Laboratory Medicine, The Jikei University School of Medicine

<sup>3</sup> 理化学研究所 肝がん予防研究ユニット

<sup>3</sup> Liver Cancer Prevention Research Unit, RIKEN Center for Integrative Medical Sciences

【背景】TGF- $\beta$  は肝線維化の中心的役割を担う線維化誘導因子である。TGF- $\beta$  は Latency associated protein (LAP) によって非活性化された状態で分泌され、血漿カリクレイン、インテグリン、MMP などの宿主因子が特異的に作用することで活性化 TGF- $\beta$  が放出され、生理活性を発揮する。血漿カリクレインは LAP の 58 番目アルギニンと 59 番目のリジンの間を切断することで TGF- $\beta$  を活性化することが報告された。切断された LAP の断片は血中に放出されるが、その切断面を認識する L59 抗体を用いた ELISA 法によって、血漿カリクレイン依存的な TGF- $\beta$  活性化の定量評価が可能となる。

[Introduction] TGF- $\beta$  is a key driver for liver fibrogenesis. Plasma kallikrein (PLK) is a TGF- $\beta$  activator that cleaves the latency-associated protein (LAP) between arginine 58 and lysine 59 residues and releases active TGF- $\beta$  from the latent TGF- $\beta$  complex. The generation of latency-associated protein degradation product (L<sup>59</sup>/LAP-DP), which is recognized by L59 antibodies, reflects PLK-dependent TGF- $\beta$  activation. Plasma concentration of L<sup>59</sup>/LAP-DP can be measured with an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).

【目的】慢性肝疾患患者の血漿カリクレイン依存性 TGF- $\beta$  L<sup>59</sup>/LAP 断片の血中濃度を測定し、臨床的意義を検討する。

[Purpose] We evaluated the PLK-mediated TGF- $\beta$  activation in patients with CLD by measuring the abundance of L<sup>59</sup>/LAP-DP in the plasma.

【実験方法】東京慈恵会医科大学附属病院に通院中の 188 症例の慢性肝疾患患者の血液サンプルを採取し、ELISA 法で血中 L<sup>59</sup>/LAP 断片濃度を測定し、血液生化学データや線維化ステージとの比較を行った。また慢性 C 型肝炎に対しインターフェロン治療を行った 19 症例の治療開始前と開始後 6 ヶ月後の血中 L<sup>59</sup>/LAP 断片濃度を測定し、著効・無効の比較を行った。

[Materials & Methods] Plasma specimens were collected from 188 patients with chronic liver disease. We examined the correlation between plasma concentration of L<sup>59</sup>/LAP-DP and biochemical data or histological fibrosis stage. We also examined the plasma L<sup>59</sup>/LAP-DP level during interferon-based therapy for chronic hepatitis C.

【結果と考察】血中 LAP 断片濃度は血清アルブミン値、FIB-4 index と弱い相関を認めしたが、既存の線維化マーカーとは相関を認めなかった。線維化ステージとの比較では線維化早期に高い傾向を認めた。インターフェロン治療の検討では、血中 L<sup>59</sup>/LAP 断片濃度の増減と著効数・無効数は有意に相関した。血中 LAP 断片濃度は理想的な Liver Fibrogenesis マーカーになることが期待される。

[Results and Discussion] Weak positive correlations were found between the plasma L<sup>59</sup>/LAP-DP level and serum albumin, the FIB-4 value. The plasma L<sup>59</sup>/LAP-DP level at fibrosis stage 1 tend to be higher than at any other stages. The change of plasma L<sup>59</sup>/LAP-DP level during interferon-based therapy for chronic hepatitis C were significantly associated with virological responses. Plasma concentration of L<sup>59</sup>/LAP-DP is expected to be liver fibrogenesis biomarker.

キーワード：肝線維化、TGF- $\beta$  活性化

Key words: Liver fibrogenesis, TGF- $\beta$  activation

宮崎泰成 田坂有理

Yasunari Miyazaki, Yuri Tasaka

東京医科歯科大学 統合呼吸器病学

Tokyo Medical and Dental University, Department of  
Respiratory Medicine

過敏性肺炎(Hypersensitivity pneumonitis: HP)は、特異抗原を吸入した際にアレルギー反応を起こす間質性肺炎である。本疾患の40-80%が慢性化し、5年生存率は45%と特発性肺線維症と類似し予後不良である。そこで、HPにおける線維化機序の研究を行った。急性HPは、Th1ケモカイン・サイトカインにより肉芽腫と胞隔炎を形成する。しかし、線維化病態におけるTh1/Th2バランスは明らかではないので、臨床検体および動物モデルで検討した。血清およびBALFでは、Th1ケモカインCXCL10は急性で増加し、慢性では有意に減少、逆にTh2ケモカインCCL17は急性で減少、慢性で有意に増加していた。線維化の強いUIPパターンでCCL17/CXCL10陽性細胞比が高く、そのリセプターであるCCR4/CXCR3陽性細胞比も有意に高かった。慢性化・線維化するに従ってTh1/Th2バランスがTh2へシフトしていることが分かった。慢性過敏性肺炎マウスモデルでは、A/Jマウス(Th2優位)とC57BL/6マウス(Th1優位)で比較したところ、A/JマウスではTh2サイトカインの上昇とともに線維化病変が強くなり起こった。以上より、過敏性肺炎ではTh1/Th2の免疫バランスがTh1からTh2にシフトし、慢性化・線維化していた。Th2へのシフトを調整するような薬剤が慢性・線維化を抑制する可能性が示され、今後の治療戦略に役立つと考えられる。

Hypersensitivity pneumonitis (HP) is an immune-mediated interstitial pneumonia by the inhalation of a specific antigen. Forty to 80 % of the disease develop pulmonary fibrosis, which is chronic HP, and the prognosis is poor as the 5-year survival rate is approximately 45% similar to idiopathic pulmonary fibrosis. Because of this poor survival, we investigated the mechanism of fibrogenesis in HP. Th1 predominant immune response has been shown to be pivotal in acute HP, little is known about the Th1/Th2 balance in the pathogenesis of “chronic” HP. Therefore, we analyzed clinical samples and murine models of chronic HP. The ratio of CCL17 to CXCL10 in the serum of patients with UIP-like lesions was significantly higher than in patients with cNSIP/OP-like lesions, aBFL and healthy volunteers. The ratio of CCR4 to CXCR3 in patients with UIP-like lesions was significantly higher than in those with cNSIP/OP-like lesions and fNSIP-like lesions. The ratio of CCR4-positive to CXCR3-positive cells correlated with the ratio of CCL17 to CXCL10 in serum. In chronic HP models, the fibrosis scores were significantly increased in Th2-prone A/J mice compared to that in Th1-prone BL/6 mice along with increase of Th2 cytokines. These results suggest that a Th2-skewed immune response has a crucial role in the clinical course of chronic HP.

キーワード：過敏性肺炎、線維化、Th1/2 バランス、CCL17、CCR4

Key words: Hypersensitivity Pneumonitis, Fibrogenesis, Th1/2 balance, chemokine (C-C motif) ligand 17, C-C chemokine receptor type 4

## 私の挑戦:肺線維症線維芽細胞を介する線維化を抑制する高感受性抗線維化薬の探究

<sup>1</sup> 渡邊純子、<sup>1</sup> 十合晋作、<sup>1</sup> 高橋和久

<sup>1</sup> 順天堂大学大学院医学研究科呼吸器内科学

【背景】肺線維芽細胞において TGF- $\beta$  シグナルは細胞外基質 (ECM) の合成、線維芽細胞の遊走、活性型筋線維芽細胞への分化を促進させる。肺線維症の病態には、線維化を強く促進させる筋線維芽細胞の異常集積による肺組織収縮が関与している。

【目的】TGF- $\beta$  1 刺激下での肺線維症線維芽細胞に対する抗線維化薬作用機序と肺線維症線維芽細胞の表現型の変化について解析する。

【実験方法】ヒトの肺線維症肺組織と正常肺組織から分離培養した肺線維芽細胞を用いて、TGF- $\beta$  1 刺激下での抗線維化薬作用機序を解析した。In vitro の肺線維化モデルとして、肺線維芽細胞含有コラーゲンゲル収縮アッセイと fibronectin に対するケモタキシスアッセイを用いた。また肺線維症線維芽細胞の表現型の差異について、CAGE 解析を用いて転写活性遺伝子の網羅的解析を行った。

【結果と考察】Pirfenidone、Nintedanib 及び ERK5 阻害剤は、正常肺線維芽細胞と比較して肺線維症線維芽細胞において、より高感受性に TGF- $\beta$  1 刺激を受けたコラーゲンゲル収縮と fibronectin に対する遊走を著明に抑制した ( $p < 0.05$ )。CAGE 解析では、肺線維症線維芽細胞において、今回の薬理的制御因子も含む 223 遺伝子の転写活性が亢進し、また ECM 制御遺伝子群がリアクトーム解析で亢進していた。これらの抗線維化薬に関連する薬理的制御因子は、肺線維化の進行を阻害する新たな治療標的としての可能性が期待される。

## My challenge: the exploration for highly sensitive of antifibrotic agents to attenuate lung fibrotic fibroblasts-mediated fibrotic process

<sup>1</sup> Junko Watanabe, <sup>1</sup> Shinsaku Togo, <sup>1</sup> Kazuhisa Takahashi

<sup>1</sup> Division of Respiratory Medicine Juntendo University Faculty of Medicine & Graduate School of Medicine

[Introduction] Transforming growth factor (TGF)- $\beta$  signaling in fibroblasts promotes extracellular matrix (ECM) synthesis and fibroblast migration and differentiation into activated myofibroblasts. Lung fibrosis is associated with lung tissue contraction due to abnormal accumulation of myofibroblasts, which aggressively promote the fibrotic process.

[Purpose] Here, we examined the effects of antifibrotic agents on TGF- $\beta$ 1-induced fibrosis and altered phenotype of lung fibrotic fibroblasts.

[Materials & Methods] The effects of antifibrotic agents following TGF- $\beta$ 1 exposure were evaluated in lung fibroblasts isolated from fibrotic human lung tissues. Fibroblast-mediated collagen gel contraction and fibroblast migration were assessed. Phenotypic differences in fibrotic fibroblasts were examined using the cap analysis gene expression method (CAGE) for genome-wide quantification of promoter activity.

[Results and Discussion] Pirfenidone, Nintedanib and ERK5 inhibitor were statistically attenuated the high sensitivity of fibrotic fibroblasts to TGF- $\beta$ 1-stimulated contraction of collagen gels and fibroblast migration towards fibronectin as compared to normal lung fibroblasts ( $p < 0.05$ ). 223 genes of promoter activity involving the present pharmacological regulators were upregulated in fibrotic fibroblasts, and ECM regulation was found to be enriched in the Reactome analysis. Thus, the pharmacological regulators of these antifibrotic agents have also the potential as the new therapeutic targets for preventing the progression of lung fibrosis.

キーワード：肺線維芽細胞, 肺線維症, TGF- $\beta$  1

Key words: lung fibroblast, lung fibrosis, Transforming growth factor- $\beta$ 1

# シンポジウム 5 (Symposium 5)

第2日目 6月1日(土)  
(Day 2, June 1st, Sat)

15:15 - 16:30 結合組織の食品利用

座長：楠畑 雅 ニッピ  
林 利彦 瀋陽薬科大

## **SY5-1** 食品由来コラーゲンペプチド Pro-Hyp は体性幹細胞マーカー p75NTR 発現細胞の成長を促進する

浅井智子<sup>1,2</sup>、吉川一伸<sup>2</sup>、澤田和浩<sup>2</sup>、自見至郎<sup>3</sup>、佐藤健司<sup>2</sup>

1 奈良女子大学生活環境科学部食物栄養学科

2 京都大学大学院農学研究科応用生物科学専攻

3 福岡大学医学部医学科

## **SY5-2** 魚類由来エラスチンペプチドの組織傷害抑制作用：新規機能性ペプチドとしての有用性

竹森久美子

近畿大学農学部食品栄養学科

## **SY5-3** サケ鼻軟骨抽出プロテオグリカンの抗炎症作用

廣瀬昌平<sup>1,2</sup>、浅野クリスナ<sup>1,2</sup>、中根明夫<sup>1</sup>

1 弘前大学大学院医学研究科生体高分子健康科学講座

2 弘前大学大学院医学研究科感染生体防御学講座



**食品由来コラーゲンペプチド Pro-Hyp は体性幹細胞マーカーp75NTR 発現細胞の成長を促進する**

<sup>1,2</sup> 浅井智子, <sup>2</sup> 吉川一伸, <sup>2</sup> 澤田和浩, <sup>3</sup> 自見至郎, <sup>2</sup> 佐藤健司

<sup>1</sup> 奈良女子大学生活環境科学部食物栄養学科

<sup>2</sup> 京都大学大学院農学研究科応用生物科学専攻

<sup>3</sup> 福岡大学医学部医学科

近年、二重盲検プラセボ対照試験において、コラーゲン加水分解物摂取は皮膚や関節の状態、褥瘡の症状を改善することが報告されている。我々は、コラーゲン加水分解物摂取によりヒト血漿中の食品由来コラーゲンペプチド (Pro-Hyp など) が増加することを明らかにしてきた。最近では、コラーゲンを含む調理食品摂取においても、ヒト血中の食品由来コラーゲンペプチドが増加することを明らかにした。In vitro 試験により、Pro-Hyp は、コラーゲンゲルに接着した線維芽細胞の増殖を促進し、ヒアルロン酸・コラーゲンの合成を促進することが明らかになっている。しかしながら、臨床試験での正常組織における線維芽細胞の過剰な増殖は報告されていない。これらの事実から、Pro-Hyp に対する応答性の異なる線維芽細胞が存在すると仮説を立て実験を進めた。具体的には、マウス皮膚由来遊走細胞における体性幹細胞マーカーp75NTR の発現と Pro-Hyp 添加による影響を評価した。その結果、マウス皮膚培養初期に遊走する細胞は、そのほとんどが p75NTR 陽性細胞であり、Pro-Hyp 添加による増加がみられた。さらには p75NTR 陽性細胞の割合は、培養日数を経るにつれ減少するものの、Pro-Hyp の添加により増加を示した。これらの結果から、コラーゲン加水分解物摂取後に血中に増加する Pro-Hyp は、p75NTR 陽性細胞を増殖させることで創傷治癒を促進している可能性が示唆された。

**Pro-Hyp, food-derived collagen peptide in blood, enhances growth of fibroblasts expressing somatic stem cell marker, p75NTR**

<sup>1,2</sup> Tomoko Asai, <sup>2</sup> Kazunobu Yoshikawa, <sup>2</sup> Kazuhiro Sawada, <sup>3</sup> Shiro Jimi, <sup>2</sup> Kenji Sato

<sup>1</sup> Faculty of Human Life and Environment, Nara Women's University, <sup>2</sup> Graduate School of Agriculture, Kyoto University, <sup>3</sup> Faculty of Medicine, School of Medicine, Fukuoka University

Double-blind and placebo-controlled trials have demonstrated that the oral ingestion of collagen hydrolysates improves skin and joint conditions, and bed sore symptom. We have demonstrated that the ingestion of collagen hydrolysate increases food-derived collagen di- and tri- peptides in human blood plasma. In addition, we also reported that the ingestion of collagen rich-cooked meat increases that. In vitro study, Pro-Hyp enhances the proliferation of fibroblasts attached on collagen gel and the synthesis of hyaluronic acid and collagen. In vivo study, however, excess proliferation of fibroblasts in normal tissue have not been reported. These facts suggest that the presence of Pro-Hyp-responding and non-responding fibroblasts in body. We evaluated the effect of Pro-Hyp on p75NTR, the somatic stem cell marker, expression and the proliferation of fibroblasts migrated from mouse skin. In the short period time of cultivation, p75NTR was expressed on most of the cells migrated from mouse skin, and the number of cells migrated from the skin increased by addition of Pro-Hyp. As the cultivations days increased, the rate of p75NTR positive cells to DAPI gradually decreased, but it increased by addition of Pro-Hyp. These facts were suggested that Pro-Hyp, food-derived collagen peptide, might enhance the growth of p75NTR positive cells in the wound healing process.

キーワード: Pro-Hyp, コラーゲンペプチド, p75NTR Key words: Pro-Hyp, collagen peptide, p75NTR

魚類由来エラスチンペプチドの組織傷害抑制作用: 新規機能性ペプチドとしての有用性

近畿大学農学部食品栄養学科

竹森久美子

エラスチンは動脈や肺、皮膚などの伸展性に富んだ組織に多く存在する細胞外マトリックスであり、臓器組織の形態や機能に重要な役割を演じているが、加齢や様々な疾患により変性・分解を受け、動脈硬化や肺気腫および皮膚のしわやたるみなど様々な加齢性疾患が惹き起こされる。変性エラスチンは matrix metalloproteases による分解を受けるが、そのターンオーバーは極めて遅く、組織内での再生はほとんど認められていない。

これまでエラスチンの再生あるいは組織の伸展性の回復の手段として、牛や豚など動物由来のエラスチンあるいはその分解産物の利用が試みられているが、感染やアレルギーなどの様々な問題を抱えている。その代替として、魚類由来エラスチンを酵素分解した可溶性エラスチンが製品化され、コラーゲンと同様にエラスチンを含む健康食品や化粧品の開発に用いられているが、その効果と作用メカニズムは十分に明かにされているとは言い難い。

我々は、エラスチンの崩壊を伴う組織病変の修復や発症抑制に対する魚類動脈球由来の可溶性エラスチンペプチドの有効性に関して、動脈や皮膚を対象として実験的に検討し、①高血圧モデルラットの動脈における内皮細胞傷害や動脈壁伸展性低下さらには腎臓における血管壊死に対する抑制効果、および②紫外線照射による光老化モデルマウスの皮膚における伸展性低下ならびに肥厚・硬化に対する抑制作用を見出した。本シンポジウムではこれらの結果を中心に、エラスチンペプチドの効果について、病理学的・生体力学的・生化学的に検証した結果を紹介するとともに、食品や化粧品などの開発の可能性について考察する。

キーワード： エラスチンペプチド、血管、皮膚

**Protective effects of fish-derived elastin peptides for tissue injury: Utilization as new functional peptides**

Department of Food Science and Nutrition, Faculty of Agriculture, KINDAI University

Kumiko Takemori

Elastic fiber is the part of extracellular matrix contributing to elasticity of elastic tissue, such as arteries, lung and skin. It plays an important role in maintaining the morphology and function of these organs. Degeneration and destruction of elastic fibers frequently occurs and results in arteriosclerosis, emphysema, and dermal atrophy with wrinkles and sagging. Although denatured elastin is degraded by matrix metalloproteases, turnover of elastin metabolism is extremely slow. Therefore, regeneration of elastic fiber is seldom seen in injured tissues.

So far, elastin or its degradation products prepared from cows and pigs has been proposed to repair damaged elastic tissue. However, those sources of elastin may have various problems with contagions, allergies and so on. Recently, fish elastin has been utilized as an alternative material and soluble elastin peptides from fish arteriosus is used in cosmetics and food supplements. However, effects on the vascular wall and/or skin are still unclear.

We investigated effects of soluble elastin peptides from fish arteriosus on vascular wall and skin using animal models by pathological, biomechanical and biochemical examinations, and found the following : 1) Suppression of endothelial cell injury, improvement of distension of the artery and prohibition of angionecrosis in renal small arteries in stroke-prone rats (SHRSP) and 2) Inhibition of increases mechanical stress and epidermal thickening in skin of photoaging model mice using UV irradiation. Based on these findings, it is revealed in this symposium that fish-derived elastin peptides seem to be useful as functional peptides. The mechanisms of such beneficial effects of elastin peptides have yet to be discussed.

Key words: elastin peptide, arteries, skin

## サケ鼻軟骨抽出プロテオグリカンの抗炎症作用

## Proteoglycan extracted from salmon cartilage has the anti-inflammatory effect

<sup>1,2</sup> 廣瀬昌平、<sup>1,2</sup> 浅野クリスナ、<sup>1</sup> 中根明夫<sup>1,2</sup> Shouhei Hirose, <sup>1,2</sup> Krisana Asano, <sup>1</sup> Akio Nakane<sup>1</sup> 弘前大学大学院医学研究科生体高分子健康科学講座<sup>1</sup> Department of Biopolymer and Health Science<sup>2</sup> 弘前大学大学院医学研究科感染生体防御学講座<sup>2</sup> Department of Microbiology and Immunology,  
Hirosaki University Graduate School of Medicine

プロテオグリカン (PG) はコアタンパク質にグリコサミノグリカンと呼ばれる糖鎖が複数結合した巨大複合糖質である。脊椎動物の軟骨および細胞外マトリックスを構成する主成分である PG は、細胞間のシグナル伝達において重要な役割を担っており、補助受容体としての活性およびシグナル分子の分布や活性の調節などの機能を有することが知られている。一般的に糖タンパク質は免疫賦活化あるいは炎症惹起作用を持つ。しかし、我々はサケ鼻軟骨から抽出した PG が熱殺菌大腸菌に対するマクロファージの炎症応答を抑制することを明らかにした。生体内における PG の活性を解析するため、潰瘍性大腸炎モデルマウスおよび実験的自己免疫性脳脊髄炎モデルマウスに PG を連日経口投与すると、腸炎症状および脳脊髄炎症状の発現が抑制された。また、PG は Th1 および Th17 の活性を抑制し、Treg の発現を増強することで炎症抑制作用を示した。さらに、コラーゲン誘導性関節炎モデルマウスに PG を連日経口投与すると関節炎症状が减弱し、脾臓細胞からの炎症性サイトカインの産生が抑制された。食餌性肥満誘導 2 型糖尿病マウスでは、PG 投与によりグルコース投与後血糖値上昇の抑制、脂肪組織における M1 マクロファージ数の減少が認められた。一方で、PG の経口投与は腸内細菌叢を改善する。従って、経口摂取された PG は腸管免疫応答を調節することにより全身炎症反応の制御を行い、その調節に腸内細菌叢が関与すると考えられる。

Proteoglycan (PG) consists of a core protein with one or more covalently attached glycosaminoglycan chain(s). It is a compound of extracellular matrix materials that exists in connecting tissue such as skin and bone. In general, glycoproteins activate immune response or induce inflammation. However, PG extracted from salmon nasal cartilage has a potent effect on suppression of inflammatory responses in mouse macrophage induced by heat-killed *Escherichia coli* in mouse macrophages. In addition, daily oral administration of PG attenuates the severity of experimental inflammatory colitis and autoimmune encephalomyelitis in mice. PG suppressed the expression of Th1- and Th17-related cytokines and induced the expression of Foxp3 which is involved in Treg development. Administration of PG attenuated collagen-induced arthritis and reduced the production of inflammatory cytokines from splenocytes. In a high-fat-diet induced obese mouse model, PG suppressed hyperglycemia after intraperitoneal glucose injection and decreased the proportion of adipose tissue M1 macrophages. Furthermore, PG administration improved intestinal microbiota in mice. These results suggest that PG regulates the systemic inflammatory response by modulating immune cells in intestinal tract and intestinal microbiota may be involved in this regulation.

キーワード：プロテオグリカン、抗炎症

Key words: Proteoglycan, Anti-inflammatory



# KSMB-JSMBM Symposium

第2日目 6月1日(土)  
(Day 2, June 1st, Sat)

10:50 - 11:20

座長：渡辺秀人

Aichi Med. Univ.

**KS1**

**Microtubule Acetylation Mediates Stromal Fibroblast Activation in Breast Cancer Progression**

Sangmyung Rhee

Department of Life Science, Chung-Ang University, Seoul, Republic of Korea

**KS2**

**Integrin activation is a sensor of mechanical force**

Jiyeon Kim, and Chungho Kim

Department of Life Sciences, Korea University, South Korea



Sangmyung Rhee

Department of Life Science, Chung-Ang University, Seoul, Republic of Korea

Biomechanical remodeling of stroma by cancer-associated fibroblasts (CAF) in early stages of cancer is critical for cancer progression, and mechanical cues such as extracellular matrix stiffness control cell differentiation and malignant progression. However, the mechanism by which CAF activation occurs in low stiffness stroma in early stages of cancer is unclear. Here, we investigated the molecular mechanism underlying CAF regulation by SPIN90 and microtubule acetylation under conditions of mechanically soft matrices corresponding to normal stromal rigidity. SPIN90 was downregulated in breast cancer stroma but not tumor, and this low stromal expression correlated with decreased survival in breast cancer patients. Spin90 deficiency facilitated recruitment of mDia2 and APC complex to microtubules, resulting in increased microtubule acetylation. This increased acetylation promoted nuclear localization of YAP, which upregulated expression of myofibroblast marker genes on soft matrices. Spin90 depletion enhanced tumor progression, and blockade of microtubule acetylation in CAF significantly inhibited tumor growth in mice. Together, our data demonstrate that loss of SPIN90-mediated microtubule acetylation is a key step in CAF activation in low stiffness stroma. Moreover, correlation among these factors in human breast cancer tissue supports the clinical relevance of SPIN90 and microtubule acetylation in tumor development.

---

キーワード :

Key words:

### Integrin activation is a sensor of mechanical force

Jiyeon Kim, and Chungho Kim

Department of Life Sciences, Korea University, South Korea

All cell types experience and respond to various mechanical stimuli, such as osmotic pressure, stretch, and compression from their surrounding environment. Especially, blood cells and endothelial cells inside of blood vessels are constantly exposed to and influenced by mechanical force arising from fluid shear stress. Pathologically, the risk of platelet aggregation and ensuing heart attack or stroke increases when platelets are exposed to altered fluid dynamics at stenosis sites in atherosclerosis and at prosthetic heart valves. However, the mechanism of force-induced platelet activation remain little understood. In fact, at present, only several mechanosensitive ion channels and cytoskeletal proteins are proven to be able to respond directly to mechanical force. In this study, we identified integrin  $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$ , the pivotal adhesion molecule of platelets, as the receptor sensing and responding to shear-induced mechanical deformations of the plasma membrane. Specifically, mechanical force directly activates integrin  $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$  to bind to fibrinogen, the molecular bridge for platelet aggregation. We trace the molecular basis of this mechanosensation to interactions of its transmembrane domains with the force-modulated membrane lipid environment. Thus, our study provides a novel mechanism of integrin activation and establishes integrin  $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$  as a founding member of a new class of mechanosensors.

# 一般演題 (口演)

## 第1日目 5月31日(金) (Day 1, May 31st, Fri)

8:55 - 10:15 **A1-1\* (P39) · A1-2\* (P40) · A1-3 · A1-4 (P41) · A1-5 · A1-6\* (P42) · A1-7 (P43)**  
座長：中里浩一 日体大  
百田龍輔 岡山大

## 第2日目 6月1日(土) (Day 2, June 1st, Sat)

8:30 - 9:50 **A2-1 · A2-2\* (P44) · A2-3\* (P45) · A2-4 · A2-5 (P46) · A2-6\* (P47) · A2-7\* (P48)**  
座長：入山俊介 資生堂  
柴田 峻 ロート製薬

9:55 - 10:50 **A2-8\* (P49) · A2-9 · A2-10 · A2-11 · A2-12**  
座長：酒井尚雄 リヴァプール大  
米澤朋子 岡山大

## 第1日目 5月31日(金) (Day 1, May 31st, Fri)

8:55 - 10:05 **B1-1 · B1-2 · B1-3\* (P50) · B1-4 · B1-5 · B1-6\* (P51)**  
座長：大橋俊孝 岡山大  
伊達公恵 お茶の水女大

## 第2日目 6月1日(土) (Day 2, June 1st, Sat)

8:30 - 9:50 **B2-1 · B2-2\* (P52) · B2-3 · B2-4 · B2-5 · B2-6 · B2-7 (P53)**  
座長：鍋島一樹 福岡大  
沖田 実 長崎大

9:55 - 11:15 **B2-8 (P54) · B2-9\* (P55) · B2-10\* (P56) · B2-11\* (P57) · B2-12\* (P58) ·  
B2-13\* (P59) · B2-14**  
座長：雑賀司珠也 和歌山県医大  
畑隆一郎 神奈川歯大



## A1-1\* (P39)

### 血管新生におけるアスコルビン酸の影響

#### 3 本らせん構造をとらないIV型コラーゲンポリペプチド鎖(NTH $\alpha$ 1(IV))産生

川野辺 裕太<sup>1</sup>, 守矢 あかね<sup>1</sup>, 辛 英哲<sup>1,2</sup>,  
今村 保忠<sup>1,2</sup>

工学院大学 <sup>1</sup>大学院工学研究科

<sup>2</sup>先進工学部 生命化学科

【背景】血管新生とは、既存の血管から発芽、伸長して新たに血管ができる現象である。

我々は、線維芽細胞と血管内皮細胞を混合培養(共培養)し血管新生を再現する系で、アスコルビン酸(Asc)存在下、螺旋構造を有しない、Non-Triple Helical collagen  $\alpha$ 1(IV)(NTH $\alpha$ 1(IV))が血管様ネットワーク周辺に局在していることを確認した。血管様ネットワーク構築にNTH $\alpha$ 1(IV)が関与している可能性が示唆された。

【目的】血管新生モデルでの、NTH $\alpha$ 1(IV)の分泌と局在の調節機構を解明するため、NTH $\alpha$ 1(IV)産生へのAscの影響を調べる。

【実験方法】線維芽細胞と血管内皮細胞を単独で播種あるいは共培養し、異なる濃度のAsc添加条件下で7日間培養した。IV型コラーゲンとNTH $\alpha$ 1(IV)の上清への分泌量および、細胞膜或いは細胞内の局在量を調べた。

【結果と考察】線維芽細胞と血管内皮細胞の単独培養あるいは共培養系にて、Asc濃度20 $\mu$ M以下の条件下では、NTH $\alpha$ 1(IV)は細胞外に分泌されていたが、200 $\mu$ M以上では分泌を確認できなかった。一方IV型コラーゲンはAsc濃度に関わらず分泌量に変化はなかった。

単独培養条件では、Asc濃度の増加に従いNTH $\alpha$ 1(IV)の細胞上あるいは細胞内での量は減少し、Asc濃度200 $\mu$ M以上では殆ど確認出来なかった。また、IV型コラーゲンはAsc濃度に依存せず、その量は変わらなかった。一方、共培養条件下では、Asc濃度2mM条件下でも量は減少したものの、ネットワークの周囲にNTH $\alpha$ 1(IV)が局在した。

これらの結果から、単独培養ではNTH $\alpha$ 1(IV)はAsc濃度が上昇すると産生が抑制されるが、共培養条件下ではAsc存在下でも異種細胞間相互作用によってNTH $\alpha$ 1(IV)が局所で産生及び局在していると考えられる。

### Effect of ascorbic acid on angiogenesis

#### production of non-triple helical structure type IV collagen polypeptide (NTH $\alpha$ 1(IV))

Yuta Kawanobe<sup>1</sup>, Akane Moriya<sup>1</sup>, Yongchol Shin<sup>1,2</sup>,  
Yasutada Imamura<sup>1,2</sup>

Kogakuin University <sup>1</sup>Graduate School of Engineering,

<sup>2</sup>School of Advanced Engineering, Department of Chemistry and Life Science

[Introduction]Angiogenesis is a phenomenon in which new blood vessels are formed by sprouting and elongation from existing blood vessels. We found that non-triple helical structure type IV collagen polypeptide (NTH $\alpha$ 1(IV)) is localized around the vascular-like network in the presence of ascorbic acid (Asc), using the co-culture angiogenesis model with fibroblasts and vascular endothelial cells(VECs).

[Purpose] To clarify the regulatory mechanism of secretion and localization of NTH $\alpha$ 1(IV) in the model of angiogenesis, we investigated the effect of Asc on the production of NTH $\alpha$ 1(IV).

[Materials & Methods] Fibroblasts and VECs were cultured alone or co-cultured for 7 days with different concentrations of Asc. We examined the secretion of type IV collagen and NTH $\alpha$ 1(IV) into the culture medium or localization on the cell membrane or inside the cell.

[Results and Discussion] With Asc concentration less than 20 $\mu$ M, NTH $\alpha$ 1(IV) was secreted from fibroblasts or VECs alone, or co-culture system, whereas with Asc concentration greater than 200 $\mu$ M, secretion of NTH $\alpha$ 1(IV) could not be detected. Secretion of type IV collagen did not change regardless of Asc concentration.

Under monoculture conditions, NTH $\alpha$ 1(IV) was decreased around or inside the cell as Asc concentration was increased. NTH $\alpha$ 1(IV) could not be found at Asc concentration higher than 200 $\mu$ M. The amount of type IV collagen around and inside the cell did not change at different concentrations of Asc. Whereas, under co-culture conditions, NTH $\alpha$ 1(IV) localized to the periphery and inside of the network even at 2mM Asc concentration, although the amount of NTH $\alpha$ 1(IV) was decreased.

These results suggest that under monoculture conditions the production of NTH $\alpha$ 1(IV) is suppressed when Asc concentration increases, but under co-culture conditions NTH $\alpha$ 1(IV) is locally produced and localizes due to heterogeneous cell-cell interactions even in the presence of Asc.

キーワード：アスコルビン酸、血管新生、NTH $\alpha$ 1(IV)

Key words : Ascorbic acid, Angiogenesis, NTH $\alpha$ 1(IV)

## A1-2\* (P40)

### 疑似低酸素条件での3本らせん構造をもたないIV型コラーゲンポリペプチド鎖(NTH $\alpha$ 1(IV))の産生

関根 康介<sup>1</sup>, 西條 湧紀<sup>1</sup>, 辛 英哲<sup>1,2</sup>,

今村 保忠<sup>1,2</sup>

工学院大学 <sup>1</sup>大学院工学研究科

<sup>2</sup>先進工学部 生命化学科

【序】3本らせん構造をとらないコラーゲンポリペプチド鎖をNTH(Non-Triple Helical collagen polypeptide)と呼び、IV型コラーゲン $\alpha$ 1鎖についてはNTH $\alpha$ 1(IV)と記す。アスコルビン酸はNTH $\alpha$ 1(IV)の産生を制御する。腫瘍においてNTH $\alpha$ 1(IV)の産生が亢進することから、腫瘍や血管新生に関連があると示唆されている。腫瘍は低酸素条件で悪性度が高くなることが知られており、その原因の一つとして(低酸素誘導因子-1 $\alpha$ )HIF-1 $\alpha$ があげられる。本研究では、低酸素及び疑似低酸素条件でのNTH $\alpha$ 1(IV)産生を調べ、HIF-1 $\alpha$ との相関を検討することにした。

【実験方法】ヒト胎児肺由来線維芽細胞(TIG-1)を血清培地でコンフルエント状態になるまで培養した。その後、血清培地または2mM A2Pを含む血清培地に、2種類の疑似低酸素化合物DFOまたはCoCl<sub>2</sub>をそれぞれ添加した培地に交換した。低酸素状態は、アネロパック・ケンキ5%を用いて密閉容器中で実現した。24時間後に培養上清を回収し、細胞可溶化液を回収しWestern Blottingで分析した。

【結果及び考察】DFOを用いた疑似低酸素培養を行った結果、A2Pの有無にかかわらず、NTH $\alpha$ 1(IV)産生とHIF-1 $\alpha$ の検出量が増加した。NTH $\alpha$ 1(IV)が増加したのは、HIF-1 $\alpha$ と同様、DFOにより水酸化反応が阻害された可能性が考えられる。低酸素培養でも同様の結果となった。しかし、CoCl<sub>2</sub>を用いた疑似低酸素培養を行った結果、A2Pの有無に関わらずHIF-1 $\alpha$ の検出量は増加したが、NTH $\alpha$ 1(IV)産生には変化がなかった。このことから、HIF-1 $\alpha$ の下流にNTH $\alpha$ 1(IV)はなくHIF-1 $\alpha$ とNTH $\alpha$ 1(IV)は独自の作用ではないかと考えられる。

### Production of non-triple helical structure type IV collagen polypeptide(NTH $\alpha$ 1(IV)) under hypoxic conditions

Kosuke Sekine<sup>1</sup>, Yuki Saijo<sup>1</sup>, Yongchol Shin<sup>1,2</sup>,

Yasutada Imamura<sup>1,2</sup>

Kogakuin University <sup>1</sup>Graduate School of Engineering,

<sup>2</sup>School of Advanced Engineering, Department of Chemistry and Life Science

【Preface】 Non-triple helical collagen polypeptide is called NTH for short, and NTH for type IV collagen  $\alpha$ 1 chain is described as NTH $\alpha$ 1(IV). Ascorbic acid controls the production of NTH $\alpha$ 1(IV). It is suggested that NTH $\alpha$ 1(IV) production are related to tumor and angiogenesis. Tumors shows higher malignancy under hypoxic conditions which is regulated by hypoxia inducible factor-1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ). In this study, NTH $\alpha$ 1(IV) productions under hypoxic and pseudo hypoxic conditions were investigated and its correlation with nuclear translocation of HIF-1 $\alpha$  was discussed.

【Experimental Method】 Human fetal lung fibroblasts (TIG-1) were cultured in serum medium until confluency. Thereafter, it was replaced with a serum medium supplemented with either one of two kinds of pseudo hypoxic compounds, DFO or CoCl<sub>2</sub>, in the presence or absence of ascorbate (A2P). The culture under hypoxic condition was carried out with a sealed container using AnaeroPack·Kenki 5%. After 24 hours, the cultured supernatants and the cell lysates were collected and analyzed by Western Blotting.

【Results and Discussion】 Pseudo hypoxic culture using DFO increased the NTH $\alpha$ 1(IV) production and the detection of HIF-1 $\alpha$  regardless of ascorbate. The production of NTH $\alpha$ 1(IV) may be due to inhibition of the hydroxylation reaction by DFO so that DFO reduces HIF-1 $\alpha$  degradation by lowering prolyl hydroxylation. Similar results were obtained in hypoxic culture. The detected amount of HIF-1 $\alpha$  increased in presence of CoCl<sub>2</sub> irrespective of A2P but there was no change in NTH $\alpha$ 1(IV) production. From these results, it is considered that NTH $\alpha$ 1(IV) production is not regulated directly by HIF-1 $\alpha$ .

キーワード：IV型コラーゲン,アスコルビン酸,低酸素

Key words: Type IV collagen, Ascorbic Acid, Hypoxia

## A1-3

### I型コラーゲンによる前駆脂肪細胞の脂肪細胞への分化阻害はYAPの活性化を介する

<sup>1,2</sup>林利彦、<sup>1</sup>刘晓玲、<sup>1</sup>龍新宇、<sup>1</sup>高琰芳、<sup>1</sup>劉偉偉、<sup>3</sup>水野一乗、<sup>3</sup>藤崎ひとみ、<sup>3</sup>服部俊治、<sup>4</sup>小野寺敏、<sup>5</sup>小倉孝之、<sup>1</sup>池島喬

<sup>1</sup>瀋陽薬科大学、<sup>2</sup>工学院大学先進工学部、<sup>3</sup>ニッピバイオマトリックス研究所、<sup>4</sup>昭和薬科大学、<sup>5</sup>ニッピバイオ・ケミカル事業部

【背景】前駆脂肪細胞の増殖と遊走が起きた後、脂肪細胞への分化が誘導され、脂肪組織が形成される。著者らの先行研究ではマウス前駆脂肪細胞3T3-L1の増殖と遊走にI型コラーゲンが有効であることを示している。

【目的】前駆脂肪細胞の脂肪細胞への分化に対するI型コラーゲンの作用およびその機構を解明すること。

【実験方法】3T3-L1前駆脂肪細胞および皮下脂肪組織から採取した脂肪前駆細胞をI型コラーゲンコート上で培養し、脂肪細胞への分化を脂質の蓄積および脂肪分化因子の発現をマーカーとして、検討した。【結果と考察】先行研究で、I型コラーゲンコートにより、これらの細胞でYAP (yes-associated protein)の核内移行が観察されることを示した。3T3-L1細胞でも高脂肪食摂取マウスの脂肪組織の細胞でも核内YAPは低下していた。I型コラーゲンコート上の脂肪前駆細胞ではYAPが上がっていることに呼応して、脂肪細胞への分化は抑制されていた。YAP阻害剤、verteporfin、を用いたり、YAPのsiRNAによりYAP発現量を抑えたりすると、YAPの核内存在量が減り、脂肪への分化は促進される。一方、YAPをYAPプラスミドで感染して発現を高めたり、YAPを不活性化するLATS1 (large tumor suppressor 1)のKDを行ったりすると、YAPの核内存在が増し、脂肪細胞への分化は阻害される。これらの結果はI型コラーゲンが脂肪への分化を阻害するのはI型コラーゲンがYAPを活性化するためであることを示している。

### Type I collagen inhibits adipogenic differentiation via YAP activation *in vitro*

<sup>1,2</sup>Toshihiko Hayashi, <sup>1</sup>Xiaoling Liu, <sup>1</sup>Xinyu Long, <sup>1</sup>Yanfang Gao, <sup>1</sup>Weiwei Liu, <sup>3</sup>Kazunori Mizuno, <sup>3</sup>Hitomi Fujisaki, <sup>3</sup>Shunji Hattori, <sup>4</sup>Satoshi Onodera, <sup>3</sup>Takayuki Ogura, <sup>1</sup>Takashi Ikejima

<sup>1</sup>Shenyang Pharmaceutical University, <sup>2</sup>Dept of Chem and Life Sci, Adv Eng, Kogakuin Univ, <sup>3</sup>Nippi Res Inst Biomatrix, <sup>4</sup>Dept Clin Biomed Sci, Showa Pharm Univ, <sup>5</sup>Nippi BC Division

[Introduction] Adipose tissue formation is initiated with proliferation of preadipocytes and migration before undergoing further differentiation into mature adipocytes. Previous studies show that type I collagen (col I) provides a good substratum for 3T3-L1 preadipocytes to grow and migrate. [Purpose] Whether and how col I affects adipogenic differentiation of preadipocytes is examined. [Materials & Methods] Lipid accumulation as well as adipogenic factors, representing *in vitro* adipogenesis of the 3T3-L1 preadipocytes or the mouse primary adipocyte precursor cells derived from subcutaneous adipose tissue in inguinal region are examined by the culture on col I. [Results and Discussion] Previous study shows that col I enhances the nuclear translocation of yes-associated protein (YAP). Present study shows that down-regulation of YAP is associated with *in vitro* adipogenesis of 3T3-L1 preadipocytes as well as with *in vivo* adipose tissue of high-fat diet fed mice. Increased expression of YAP in the cells cultured on col I-coated dishes is correlated with repression of adipogenic differentiation processes. The inactivation of YAP with YAP inhibitor, verteporfin, or YAP small-interfering RNA (siRNA) enhanced adipogenic differentiation and reversed the inhibitory effect of col I. Activation of YAP either by the transfection of YAP plasmid or the silence of large tumor suppressor 1 (LATS1), an inhibitory kinase of YAP, inhibited adipogenic differentiation. The results indicate that col I inhibits adipogenic differentiation via YAP activation *in vitro*.

キーワード：I型コラーゲン、前駆脂肪細胞、脂肪分化、YAP

Key words: collagen I, preadipocyte, adipogenic differentiation, YAP

## A1-4 (P41)

### I型コラーゲンは YAP/TAZ を介して培養骨格筋細胞 C2C12 の分化を抑制する

鴻崎香里奈<sup>1</sup>、田村優樹<sup>1</sup>、中里浩一<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 日本体育大学体育研究所

【背景】メカノセンサーである YAP/TAZ は細胞の分化に強い影響を与える。骨格筋分化において YAP/TAZ の活性化は分化を負に制御をすることが報告されている。一方、ごく最近、未分化の筋芽細胞株 C2C12 は I 型コラーゲンゲル上 (on gel) 培養にて YAP/TAZ が活性化することが報告された。これらの報告は筋芽細胞の分化は on gel で抑制される可能性を強く示唆している。ただし on gel 培養における C2C12 の分化に関しては未検討である。

【目的】on gel 培養が筋芽細胞 C2C12 細胞の分化に与える影響を検討することで、異なる力学的環境下での骨格筋分化における YAP/TAZ の役割を明らかにする。

【実験方法】C2C12 細胞を対象とした。On gel およびプラスチック皿上にて C2C12 細胞を培養し、分化前の YAP/TAZ の活性化を免疫組織化学染色にて検討した。分化後、形態観察、myogenic regulatory factors: MRFs (MyoD, myogenin) 発現、ミオシン重鎖発現を Western blotting 法にて定量することで分化の程度を評価した。さらに YAP/TAZ の siRNA 処理がプラスチック皿上および on gel での C2C12 細胞の分化に与える影響を検討した。

【結果と考察】分化前、on gel 培養では YAP/TAZ 活性化が抑制された。プラスチック皿上では分化誘導後 1 週間で筋管形成、MRFs およびミオシン重鎖発現が上昇したが、on gel 培養ではそれらが抑制された。YAP および TAZ の siRNA 処理によって C2C12 細胞のプラスチック皿上での分化は抑制され、on gel では特に YAPsiRNA にて分化抑制傾向が促進された。以上の結果から I 型コラーゲンは YAP/TAZ を介して C2C12 の分化を抑制すると結論した。

キーワード：コラーゲン、骨格筋細胞、ゲル、YAP/TAZ

### Type I collagen gel inhibit C2C12 myoblast differentiation via YAP/TAZ

<sup>1</sup> Karina Kouzaki, Yuki Tamura, and Koichi Nakazato

<sup>1</sup> Research Institute for Sport Science, Nippon Sport Science University

[Introduction] YAP/TAZ is known as a mechanosensory protein and has significant impact on cell differentiation. Activation of YAP/TAZ inhibited differentiation of muscle cells. YAP/TAZ activation in undifferentiated C2C12 myoblasts was induced on type I collagen gel (on-gel). These lines of evidences strongly suggest that on-gel culture inhibit differentiation of myoblasts.

[Purpose] The aim of this study is to examine the effect of on-gel culture on differentiation of C2C12 cells and to assess the role of YAP/TAZ in muscle cell differentiation under different mechanical culture conditions.

[Materials & Methods] Mouse C2C12 cells were cultured on type I collagen gel (on-gel) and on plastic dish. Activation of YAP/TAZ before differentiation was examined by immunohistochemistry. After in the differentiation medium, morphology, expressions of myogenic regulatory factors: MRFs (MyoD and myogenin) and myosin heavy chains were examined to evaluate differentiation states. YAP/TAZ knockdowns by using siRNAs were also conducted on-gel and on plastic C2C12 cells.

[Results and Discussion] Before differentiation, YAP/TAZ activation was not observed on-gel culture. On plastic dish, myotube formation and MRFs and myosin heavy chain expressions were observed at one week in differentiation medium. On the other hand, differentiation was completely blocked by on-gel culture. Knockdown of YAP and/or TAZ inhibited myotube formation on plastic dish and accelerated differentiation inhibition, especially by YAP siRNA. Collectively, we conclude that that type I collagen gel inhibit C2C12 myoblast differentiation via YAP/TAZ.

Key words: collagen, skeletal muscle cell, gel, YAP/TAZ

## A1-5

### ヒト肺ガン細胞株 A549 における、I 型コラーゲンゲル上培養で誘導される EMT 様転換と TGF- $\beta$ 1 処理により誘導される EMT の比較

藤崎ひとみ<sup>1</sup>、二木杉子<sup>2</sup>、山田雅司<sup>3</sup>、関口清俊<sup>3</sup>、  
林利彦<sup>4, 5</sup>、服部俊治<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ニッピ バイオマトリックス研、<sup>2</sup> 阪医大 生命科学解剖、<sup>3</sup> 阪大 蛋白研、<sup>4</sup> 瀋陽薬大 中日医薬研、<sup>5</sup> 工学院大学先進工学部 生命化学

【背景】我々は昨年度の本大会で、I 型コラーゲン再構成線維(以下ゲル)上で培養したヒト肺ガン細胞株 A549 に、上皮-間葉転換(EMT)様のカドヘリンスイッチが誘導されることを報告した。しかしその細胞性質の変化は一般的に EMT の特徴といわれる転換と比較して、異なる点も多いことがわかってきた。成長因子の刺激による EMT 誘導、中でも TGF- $\beta$ による誘導は多くの報告があり、方法が確立している。そこで我々は、ゲル上培養で惹起される細胞の性質変化を TGF- $\beta$ 1 処理で誘導される変化と比較し、I 型コラーゲン線維がガン浸潤時に果たす役割を考察することにした。【方法】ゲル上で培養した A549 細胞と、TGF- $\beta$ 1 を添加し、未処理の培養容器上で培養した細胞を time lapse 観察、遺伝子解析法を用いて比較した。【結果】EMT の指標である カドヘリンスイッチはゲル上で培養した細胞にも TGF- $\beta$ 1 処理細胞と同様に誘導された。しかし細胞形態ははっきり異なり、TGF- $\beta$ 1 処理細胞は単独で線維芽細胞様によく伸展し、移動能が高かった。それに対しゲル上培養では細胞間には N-カドヘリンを介した細胞塊が形成され、移動能も低かった。また TGF- $\beta$ のオートクラインに関しても差が生じた。【考察】EMT が誘導されると、細胞は単独での遊走能が高くなり、間質への浸潤を促進すると言われている。また一旦 EMT が誘導されると、TGF- $\beta$ 産生量が上がりオートクラインループにより EMT の進行を促進するという説も報告されている。しかし我々の実験系では I 型コラーゲンゲル上で A549 細胞の移動能は低下し、細胞間が密に接着し、TGF- $\beta$ 1、2 の産生量も下がった。Matrix Stiffness の関与などさらなる考慮が必要だが、我々はこの現象は I 型コラーゲンの、上皮ガン細胞浸潤に対する阻害的作用の可能性を示唆していると考えている。

キーワード： ガン、コラーゲンオンゲル培養、EMT

### Comparison of EMT related cell behaviors in A549 cells; adhesion to type I collagen gels and TGF- $\beta$ 1 treatment

H. Fujisaki<sup>1</sup>, S. Futaki<sup>2</sup>, M. Yamada<sup>3</sup>, K. Sekiguchi<sup>3</sup>,  
T. Hayashi<sup>4, 5</sup>, S. Hattori<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Nippi Res. Inst. Biomatrix, <sup>2</sup>Dept. Anat. Cell Biol. Osaka Med. College, <sup>3</sup>Inst. Protein Res. Osaka Univ., <sup>4</sup>China-Japan Res Inst of Med & Pharm Sci, Shenyang Pharm Univ. Univ., Dept of Chem and Life Sci, Adv Eng, Kogakuin Univ,

【Background】In some kinds of cancer cells, adhesion to type I collagen induce Epithelial- mesenchymal transition (EMT)-like transition. We showed that on type I collagen gel culture A549 cells also were induced EMT-like behaviors last year. EMT is a fundamental biological process whereby cancer cells invade adjacent tissues. TGF- $\beta$ 1-treated cells show typical EMT induced cell behavior. So, following the last year's study, we report about the comparison of EMT related cell behaviors in A549 cells between TGF- $\beta$ 1-treated cells and on-gel cultured cells. 【Methods】A549 cells cultured on type I collagen gels for 2 days were compared with TGF- $\beta$ 1-treated A549 cells by using time lapse observation, DNA array and qPCR analysis. 【Results】A549 cells cultured on gels and treated with TGF- $\beta$ 1, both showed cadherin switching. E-cadherin expression decreased and N-cadherin expression rose. But cell shapes and migration activity were different. TGF- $\beta$ 1 treated cell induced weakened cell-cell interaction, resulting in cell scatter. Cell shape changed to be elongated shape like fibroblast. The velocity is faster than TGF- $\beta$ 1 non-treated cell. On the other hand, in culture on type I collagen gels, cells formed colonies and cell shapes were rather round. Cells hardly scattered and the velocity was slower than on non-treated dish surface. TGF- $\beta$  family works by functioning in a autocrine manner. mRNA levels of TGF- $\beta$  1, - $\beta$  2 were higher in TGF- $\beta$ -treated cells than on gel cultured cells. 【Conclusion】There were some EMT related differences including cell migration between TGF- $\beta$ 1-treated and on-gel cultured A549 cell behaviors. These observations indicate that type I collagen gels (fibrils) regulate cancer cell invasion complicatedly.

Key words: cancer, collagen on gel culture, EMT

## A1-6\* (P42)

### 患者由来線維芽細胞、iPS 細胞を用いた骨形成不全症の病態解析と4-フェニル酪酸の効果

<sup>1</sup> 武鍵真司、<sup>1,2</sup> 大幡泰久、<sup>1</sup> 窪田拓生、<sup>3</sup> 多賀祐喜、  
<sup>3</sup> 水野一乗、<sup>1</sup> 大藺恵一  
<sup>1</sup> 大阪大学大学院医学系研究科小児科学  
<sup>2</sup> 大阪大学大学院歯学研究科口腔外科学第一教室  
<sup>3</sup> ニッピ・バイオマトリックス研究所

【背景】骨形成不全症(OI)は主に *COL1A1*、*COL1A2* 遺伝子変異により骨脆弱性をきたす疾患である。4-フェニル酪酸(4-PBA)は OI ゼブラフィッシュモデルに対して効果を示し、新規治療薬として期待される薬剤である。

【目的】OI 患者由来の細胞を用いて、OI の病態解析と4-フェニル酪酸の効果を検討する。

【実験方法】*COL1A1* あるいは *COL1A2* 遺伝子変異を同定した OI 患者 6 例から、皮膚線維芽細胞を採取し、以下の実験を行った。小胞体(ER)内への I 型コラーゲン蓄積の程度を蛍光免疫染色によって評価した。I 型コラーゲンの遺伝子発現を RT-qPCR で、蛋白量を ELISA で評価した。細胞から分泌された I 型コラーゲンの電気泳動パターンを SDS-PAGE で、翻訳後修飾を LC-MS で評価した。線維芽細胞から iPS 細胞を作成し、iPS 細胞から分化誘導した骨芽細胞での石灰化能をアリザリンレッド染色により観察した。上記の実験で 4-PBA の効果を検討した。

【結果と考察】OI の線維芽細胞ではプロコラーゲンの過剰な ER への蓄積がみられ、4-PBA によって蓄積が減少した。I 型コラーゲンの遺伝子発現、蛋白量はともにグリシン置換変異の OI で増加しており、4-PBA によっていずれも減少した。分泌された I 型コラーゲンの電気泳動パターンはグリシン置換変異の OI で健常より幅の広いバンドがみられ、LC-MS ではリジンの糖鎖過修飾がみられた。4-PBA によって電気泳動パターンに変化はなかったが、LC-MS では過修飾が部分的に改善した。誘導骨芽細胞の石灰化能はグリシン置換変異の OI で低下しており、4-PBA 添加によって石灰化能が改善した。4-PBA はすでに他の疾患に対して臨床で使用されており、OI の新規治療薬として期待される。

キーワード： 骨形成不全症、4-フェニル酪酸

### Investigation of Osteogenesis Imperfecta in pathology and the effects of 4-phenylbutyric acid utilizing patient-derived fibroblasts and induced pluripotent stem cells

<sup>1</sup> Shinji Takeyari, <sup>1,2</sup> Yasuhisa Ohata, <sup>1</sup> Takuo Kubota, <sup>3</sup> Yuki Taga, <sup>3</sup> Kazunori Mizuno, <sup>1</sup> Keiichi Ozono  
<sup>1</sup> Department of Pediatrics, Osaka University Graduate School of Medicine, <sup>2</sup> The 1st. Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Osaka University Graduate School of Dentistry, <sup>3</sup> Nippi Research Institute of Biomatrix

[Introduction] Osteogenesis imperfecta (OI) is a group of genetic disorders that mainly affect the bones. 4-phenylbutyric acid (4-PBA) might be a new medicine, which was reported to ameliorate the phenotype of an OI zebrafish model. [Purpose] We aimed to analyze the pathology of OI and the effects of 4-PBA on patient-derived fibroblasts and induced pluripotent stem cells (iPSCs).

[Materials & Methods] Dermal fibroblasts were obtained from 6 patients with OI. Endoplasmic reticulum (ER) retention of type I procollagen was observed by immunofluorescent staining. Protein level and mRNA level of type I collagen were measured by ELISA and real-time PCR, respectively. The molecular weight of secreted type I collagen was analyzed by SDS-PAGE. Post-translational modifications of type I collagen were analyzed by LC-MS. Normal and OI iPSCs were established from fibroblasts, and induced to osteoblasts. Mineralization was assessed by Alizarin Red S staining. We evaluated the effects of 4-PBA on above experiments.

[Results and Discussion] In OI fibroblasts, there was excessive amount of procollagen in ER. 4-PBA decreased the retention. In OI with a glycine substitution, the protein and mRNA levels of type I collagen were increased and canceled by 4-PBA. SDS-PAGE showed the retarded band and LC-MS analysis showed overglycosylation of type I collagen with a glycine substitution. 4-PBA partially improved overglycosylation. Osteoblasts differentiated from OI iPSCs exhibited impaired calcification, and 4-PBA improved it. Since 4-PBA has already been approved for other disease, we may reposition 4-PBA for OI.

Key words: Osteogenesis Imperfecta, 4-PBA

## A1-7 (P43)

### 最新の高精細内視鏡を用いた術中近接拡大画像による fascia の微細構造の観察 —臨床の立場からの生体での fascia の認識—

<sup>1</sup>川島清隆、<sup>1</sup>後藤健太郎、<sup>2</sup>市川寛樹

<sup>1</sup>栃木県立がんセンター 泌尿器科

<sup>2</sup>柏厚生総合病院 泌尿器科

【背景】これまで手術に於いて筋膜 (fascia) は膜構造であると認識されてきた。しかし剥離層の認識は術者間で未だにずれが多く、再現性に乏しい。近年、高精細内視鏡による近接拡大画像を通した術中の生体での観察により、fascia は多層性ではなく立体的網目状構造であることが明らかにされている。また fascia の国際的研究団体である Fascia Research Society では fascia を筋肉や臓器を覆うものという限定的な用法ではなく、広い意味でとらえることを提唱している。Fascia はコラーゲンとエラスチンからなる立体的網目状構造を基本構造とし、gland substance で満たされる細胞外マトリックスであり、全身に連なり、力学的に形態を維持し、全身を制御する重要なシステムであるとしている。

【目的と方法】我々も高精細腹腔鏡を用い、fascia の観察を行った。

【結果と考察】コラーゲン線維束と思われる線維が交錯し、牽引によって立体的網目状構造が出現し、その形状は外力に応じダイナミックに変化する様子などが観察された。Fascia は多彩な表現形を示し、強度、細胞制御など必要、目的に応じ loose から dense などシームレスに連続的に移行する (gradient を持つ) 結合組織そのものであると認識した方がその本質を理解しやすいと考えられた。我々も fascia という用語を広い意味で用いるべきであると考えた。今後 fascia の解明は急速に進むと思われるが、その認識、定義について十分議論されるべきであると考えられた。

Observation of fine structure of fascia through high magnified image by latest high-resolution endoscope —recognition of fascia in human living body from a clinical view point.—

<sup>1</sup>Kiyotaka Kawashima, <sup>1</sup>Kentaro Goto, <sup>2</sup>Hiroki Ichikawa

<sup>1</sup>Department of Urology, Tochigi Cancer Center

<sup>2</sup>Department of Urology, Kashiwa kousei General Hospital

[Introduction] In surgery, fascia has been thought to be as layer structure. But there is no consensus about recognition of dissect layer. Recently it has been clarified that fascia is a three-dimensional network-like structure from the observation using high-resolution endoscop in human living bogy through surgery. And Fascia Research Society recommended to recognize fascia in broad meaning. They think fascia is extracellular matrix based on a three-dimensional network made of collagen and elastin, filled with gland substance. unite whole body, maintain shape and is important system to control whole boy.

[Purpose & Methods] We observed fine structure of fascia by high-resolution endoscope.

[Results and Discussion] In high magnified view, closing of fivers that thought to be collagen bundle are observed in fascia. By traction, fascia appeared as three-dimensional network-like structure and the shape changed dynamically depend on force. Fascia showed various phenotypes. It was thought that we should recognize fascia as connective tissue that changed loose to cense depending on purpose or needs such as strength or cell regulation. We thought that the term of fascia should be use in a broad meaning. It was thought that the elucidation of fascia would advance rapidly in near future

, but it was thought that the recognition and the definition should be argued enough.

キーワード： 筋膜、結合組織細胞外マトリックス

Key words: fascia, connective tissue, extracellular matrix

## A2-1

### ラミニン 511E8 上で培養したヒト iPS 細胞の脱スクレーパー剥離法の検討:トリプシンは剥離効率を低下させる

<sup>1, 2</sup> 戎 富美、<sup>1, 2</sup> 山本 彩乃、<sup>1, 2</sup> 谿口 征雅、<sup>1</sup> 大西 映里子、<sup>1</sup> 阿部 純子、<sup>1, 2</sup> 関口 清俊

<sup>1</sup> 大阪大学蛋白質研究所

<sup>2</sup> 株式会社マトリクソーム

【背景と目的】ラミニン 511 のインテグリン結合部位だけを含む組換え断片（以下、511E8）は多能性幹細胞に対する接着活性が強いことから、ヒト多能性幹細胞の培養基質として広く利用されている。しかし、その非常に強い接着活性のため、細胞の剥離・回収にはスクレーパー操作が推奨されており、これが自動培養装置や多層フラスコに実装する際の技術的な課題となっている。本研究では、この課題を解決するため、511E8 上で培養したヒト iPS 細胞をスクレーパーを使わずに安定的に剥離する方法を検討した。

【方法】EDTA を剥離液としてヒト多能性幹細胞を剥離する既報告を参考にして、511E8 上で培養したヒト iPS 細胞の剥離条件を検討した。特に剥離液が EDTA だけを含む場合と EDTA とトリプシンを含む場合の剥離率の違いに注目して検討を行なった。

【結果と考察】5 mM EDTA/PBS(-) を剥離液として用い、37°C で 15 分間加温することにより、511E8 上で培養したヒト iPS 細胞をスクレーパー操作なしで安定に剥離・回収する方法を確立した。EDTA にトリプシンを添加すると、予想に反して剥離効率は低下し、その低下はトリプシン阻害剤の添加により相殺された。今回の我々の結果は、1) トリプシンを含まず、EDTA (5 mM) だけを含む剥離液を用いると、511E8 上で培養したヒト iPS 細胞を効率よく、かつ安定的に剥離・回収できること、2) トリプシンのプロテアーゼ活性が剥離効率を低下させる何らかの分子機構がヒト iPS 細胞で作動している可能性を示唆している。

### SCRAPER-FREE DETACHMENT METHOD USING EDTA FOR HUMAN INDUCED PLURIPOTENT STEM CELLS CULTURED ON LAMININ-511E8

<sup>1, 2</sup> Fumi Ebisu, <sup>1, 2</sup> Ayano Yamamoto, <sup>1, 2</sup> Yukimasa Taniguchi, <sup>1</sup> Eriko Onishi, <sup>1</sup> Junko Abe, <sup>1, 2</sup> Kiyotoshi Sekiguchi

<sup>1</sup> Institute for Protein Research, Osaka University

<sup>2</sup> Matrixome, Inc

【Introduction and Purpose】Recombinant E8 fragment of laminin-511 (511E8) is widely used in the culturing of human pluripotent stem cells (hPSCs) because of maintenance of long-term single cell passaging, pluripotency, and an undifferentiated state. 511E8 is a truncated form of laminin-511, and shows strong binding activity with integrin  $\alpha 6 \beta 1$ , an isoform predominantly expressed on hPSCs. However, because of their strong interaction with each other, scraping is required to harvest the cultured cells with a conventional trypsin-EDTA dissociation solution. Nevertheless, cell scraping cannot be used when cells are cultured on multi-layer flasks or in automated cell culture systems. In this study, we aim to develop a scraper-free cell detachment method for human induced pluripotent stem cells (hiPSCs) cultured on 511E8.

【Methods】By referring to the protocols available to date, we examined whether incubation of hiPSCs with 5 mM EDTA at 37°C for 15 min enabled to detach the cells with high efficiency without compromising cell viability. The inclusion of trypsin to EDTA was also tested to see if there were any additional gain to cell detachment efficiency.

【Results and Discussion】We found that more than 95% of hiPSCs were detached without compromising cell viability with 5 mM EDTA alone. Surprisingly, the addition of trypsin decreased the detachment efficiency. This decrease was rescued when enough trypsin inhibitor was added to neutralize the enzyme, therefore the lowered detachment rate must be a result of its proteolytic activity, suggesting an ill-defined mechanism operating in hiPSCs that renders them less susceptible for cell detachment by depletion of divalent cations.

キーワード： LM511E8, hiPS 細胞剥離、EDTA

Key words: LM511E8, hiPSC detachment, EDTA

## A2-2\* (P44)

### 表皮の恒常性維持におけるラミニン 511 の役割

### Laminin-511 plays important roles on epidermal homeostasis

入山俊介、西川紗織、細井純一、天野聡

Shunsuke Iriyama, Saori Nishikawa, Junichi Hosoi, Satoshi Amano

資生堂グローバルイノベーションセンター

Shiseido Global Innovation Center

日常紫外線を浴びている皮膚は、基底膜分解が亢進し、表皮恒常性も低下することが知られている。表皮基底層に存在する表皮幹細胞は表皮細胞の増殖分化のバランスを保つことで皮膚の恒常性維持に寄与している。加齢に伴い表皮の恒常性に影響を与える因子を明らかにするために、日頃紫外線を浴びている顔面皮膚における表皮幹細胞の変化と維持機構について研究を行った。表皮幹細胞のマーカーとして知られる MCSP、 $\beta 1$  インテグリンに対する抗体を用いた免疫染色を行ったところ、MCSP、 $\beta 1$  インテグリン陽性細胞は加齢に伴い減少した。基底膜成分であるラミニン 511 も同様に顔面皮膚において加齢に伴い減少していた。ラミニン 511 は  $\beta 1$  インテグリンと相互作用することから、我々はラミニン 511 が表皮幹細胞の維持に寄与していると仮説を立てた。培養表皮細胞は、ラミニン 511 コートによって MCSP 陽性細胞の維持、各種幹細胞マーカーの遺伝子発現亢進、コロニー形成の亢進が見られた。さらに、UVB を照射した器官培養皮膚モデルではラミニン 511、MCSP 陽性細胞は減少するが、MMP 阻害剤、ヘパラーゼ阻害剤を添加することで、ラミニン 511、MCSP 陽性細胞は減少せずに維持された。以上の結果から、ラミニン 511 は日常紫外線を浴びている皮膚において MCSP 陽性の表皮幹細胞の維持に寄与しているものと考えられた。

Daily exposure to sunlight damages the epidermal basement membrane (BM) and disrupts epidermal homeostasis. Inter-follicular epidermal stem cells are known to regulate epidermal proliferation and differentiation, leading to the maintenance of epidermal homeostasis. Since it is important to identify the principal factors that influence the disruption of epidermal homeostasis in skin aging process, we tried to clarify the factors which influence the maintenance of the inter-follicular epidermal stem cells effect in sun exposure skins. We found that sun-exposed skin showed the reduction of not only MCSP and beta1 integrin positive stem/progenitor cells but also laminin-511 at the dermal-epidermal junction as compared with sun-protected skin. Since laminin-511 interacts with beta1 integrin, which is known to be related with stem cell function, we hypothesized that laminin-511 may be involved in maintenance of MCSP-positive epidermal stem /progenitor cells in epidermis. Laminin-511 not only maintained MCSP-positive cells but also increased gene expression levels of several stem cell markers and colony formation efficiency. Laminin-511 was damaged at DEJ and MCSP-positive epidermal cells were reduced at basal layer of epidermis by UVB exposure in human skin culture model, which were protected by treatment with the MMP inhibitor and the heparanase inhibitor. These results suggest laminin-511 may be key molecule for the protection of MCSP-positive epidermal stem progenitor cells in epidermis from sun exposure.

キーワード：ラミニン 511、幹細胞、表皮恒常性

Key words: laminin-511, stem cells, homeostasis

## A2-3\* (P45)

脳室下帯に存在するフラク톤は神経幹細胞ニッチとして機能する斑点状基底膜である

<sup>1</sup>佐藤祐哉、<sup>1</sup>浄住大慈、<sup>1</sup>二木杉子、<sup>1</sup>中野伊津子、<sup>1</sup>下野知性、<sup>2</sup>金子奈穂子、<sup>2,3</sup>澤本和延、<sup>1</sup>関口清俊

<sup>1</sup> 大阪大学 蛋白質研究所

<sup>2</sup> 名古屋市立大学 医学研究科

<sup>3</sup> 生理学研究所

【背景・目的】基底膜は上皮細胞の直下に存在するシート状の細胞外マトリックスであり、組織幹細胞の挙動を制御する幹細胞ニッチの一つとして着目されている。成体の神経幹細胞は側脳室の脳室下帯に存在し、そのニッチとして上皮細胞や血管などが報告されている。しかしながら、神経幹細胞のニッチとして基底膜が機能しているのか不明であった。

【実験方法】ホールマウント染色法を用いて、マウス脳室下帯に存在する基底膜を神経幹細胞・上皮細胞マーカーと共染色し、脳室下帯を構成する細胞と基底膜との位置関係を精査した。

【結果と考察】脳室下帯ホールマウント免疫染色により、上皮細胞の細胞間および直下に斑点状の基底膜が存在することを見出した。この斑点状基底膜は神経幹細胞と接しており、「フラク톤」と呼ばれる基底膜構造と同一の分子組成であった。神経幹細胞/アストロサイト特異的なラミニン (LM)  $\alpha 5$  鎖コンディショナルノックアウトマウスでは斑点状基底膜の LM  $\alpha 5$  鎖蓄積が有意に低下していた。また、LM のインテグリン結合能を消失させるコンディショナルノックインマウスは斑点状基底膜の数や大きさが減少し、ニューロスフィア形成能が顕著に低下していた。以上の結果から、斑点状基底膜は神経幹細胞/アストロサイトが産生する基底膜であり、その形成にインテグリンと LM との相互作用が関与していること、ならびに成体神経幹細胞のニッチとして機能している可能性が強く示唆された。

Ventricular-subventricular zone fractones are speckled basement membranes that function as a neural stem cell niche

<sup>1</sup>Yuya Sato, <sup>1</sup>Daiji Kiyozumi, <sup>1</sup>Sugiko Futaki, <sup>1</sup>Itsuko Nakano, <sup>1</sup>Chisei Shimono, <sup>2</sup>Naoko Kaneko, <sup>2,3</sup>Kazunobu Sawamoto, <sup>1</sup>Kiyotoshi Sekiguchi

<sup>1</sup> Inst. Protein Res., Osaka Univ.

<sup>2</sup> Nagoya City Univ. Grad. School. Med. Sci.

<sup>3</sup> Natl. Inst. Physiol. Sci.

Neural stem cells (NSCs) are retained in the adult ventricular-subventricular zone (V-SVZ), a specialized neurogenic niche with a unique cellular architecture. It currently remains unclear whether or how NSCs utilize basement membranes (BMs) in this niche. Here, we examine the molecular compositions and functions of BMs in the adult mouse V-SVZ. Whole-mount V-SVZ immunostaining revealed that fractones, which are fingerlike processes of extravascular BMs, are speckled BMs unconnected to the vasculature, and differ in their molecular composition from vascular BMs. Glial fibrillary acidic protein (GFAP)-positive astrocytes and NSCs produce and adhere to speckled BMs. Furthermore, *Gfap-Cre*-mediated *Lamc1*<sup>flox(E1605Q)</sup> knockin mice, in which integrin-binding activities of laminins are specifically nullified in GFAP-positive cells, exhibit a decreased number and size of speckled BMs and reduced in vitro neurosphere-forming activity. Our results reveal niche activities of fractones/speckled BMs for NSCs and provide molecular insights into how laminin-integrin interactions regulate NSCs in vivo.

キーワード：基底膜、神経幹細胞ニッチ、ホールマウント脳室下帯染色

Key words: basement membrane, neural stem cell niche, whole mount V-SVZ imaging

## A2-4

### コラーゲン結合型ラミニン断片を用いて三次元培養したヒト iPS 細胞塊の形態

<sup>1</sup> 佐藤 (西内) 涼子、<sup>1,2</sup> 戎 富美、<sup>1,2</sup> 関口 清俊

<sup>1</sup> 大阪大学 蛋白質研究所 マトリクソーム科学  
(ニッピ) 寄附研究部門

<sup>2</sup> (株) マトリクソーム

【背景と目的】ラミニン-511 の E8 フラグメント (511E8) はヒト iPS 細胞の培養基材として、現在広範に使用されている。以前、我々は 511E8 にフィブロネクチンのコラーゲン結合ドメイン (CBD) を付加したコラーゲン結合型 511E8 (CBD-511E8) を作製し、511E8 の細胞接着活性をコラーゲン基質に与えた三次元培養基材の創出を試みた。その結果、ヒト iPS 細胞はコラーゲンゲル上では増殖しないが、コラーゲンと CBD-511E8 を組み合わせて作成した三次元培養基材上では、多数の球状塊を形成することを明らかにした (Sato-Nishiuchi et al., *Matrix Biology*, **65**, 75-90, 2018)。しかし、細胞塊の内部構造については不明であった。そこで本研究では、三次元培養基材上で形成されたヒト iPS 細胞塊の内部構造を明らかにすることを目的とした。

【結果と考察】ヒト iPS 細胞塊をゲルごと固定し、凍結切片を作製して、免疫組織染色解析を行った。未分化マーカーである Oct3/4 と Nanog で染色したところ、細胞塊全体が染まっていたが、周囲の染色がやや強い傾向が認められた。また、細胞塊の一部はゲルに埋まっており、内部に 1 個~数個の中空が形成されていた。E-カドヘリン抗体で染色したところ、全体が強く染色されていて、細胞が中空に対して垂直に配向し、極性化していることが明らかとなった。この形態は、着床後のヒト初期胚で観察されるエピブラストに似ていた。これから、CBD-511E8 とコラーゲンを組み合わせて作成した三次元培養基材上でのヒト iPS 細胞塊の形成が、初期発生を模倣している可能性が示唆された。

### Morphology of human iPS cell spheres cultured on 3D collagen composite gels containing laminin-511 E8 fragment

<sup>1</sup> Ryoko Sato-Nishiuchi, <sup>1,2</sup> Fumi Ebisu, <sup>1,2</sup> Kiyotoshi Sekiguchi

<sup>1</sup> Division of Matrixome Research and Application, Institute for Protein Research, Osaka University

<sup>2</sup> Matrixome Inc.

[Introduction and Purpose] Laminin-511 E8 fragment (511E8) has been shown to support long-term self-renewal of human iPS cells. Previously, we attempted to endow the cell-adhesive activity of 511E8 to collagen matrices, thereby fabricating three-dimensional culture scaffolds, by attaching collagen-binding domain (CBD) of fibronectin to 511E8 (CBD-511E8). Although human iPS cells did not grow on collagen gel, they formed many spheres on collagen composite gel containing CBD-511E8 (Sato-Nishiuchi et al., *Matrix Biology*, **65**, 75-90, 2018). However, the inner morphology of human iPS cell sphere is not yet known. We therefore attempted to elucidate the inner structure of the human iPS cell sphere in this study.

[Results and Discussion] The human iPS cell spheres and whole gel were fixed together, and then frozen sections were prepared for immunostaining. Although the undifferentiated markers, Oct3/4 and Nanog, were entirely detected in the iPS cell sphere, strong staining was observed in the peripheral region. Furthermore, a part of human iPS cell sphere was buried in the gel, and contained one or a few hollows in the sphere. E-cadherin was strongly detected in whole sphere, and the cells aligned vertical to the hollow, and polarized. The human iPS cell sphere resembles in the shape of epiblast, the pluripotent stem cells in post-implantation embryos. These results indicate that the formation of human iPS cell spheres on CBD-511E8 and collagen composite gel may recapitulate the early stages in embryonic development.

キーワード： ラミニン、コラーゲン、iPS 細胞

Key words: Laminin, Collagen, iPS cell

## A2-5 (P46)

マウス新生仔網膜血管新生における基底膜蛋白質および MMP の局在

<sup>1</sup> 二木杉子、<sup>1</sup> 飯田知子、<sup>1</sup> 平田あずみ、<sup>1</sup> 柴田雅朗、<sup>2</sup> 関口清俊、<sup>1</sup> 近藤洋一

<sup>1</sup> 大阪医科大学医学部解剖学

<sup>2</sup> 大阪大学蛋白質研究所

血管基底膜は内皮細胞を支える基質で、毛細血管から大血管まで広く存在する。血管内皮細胞は基底膜を足場として互いに密着し、周皮細胞や血管平滑筋細胞もそれぞれ固有の基底膜を有して血管壁の機能や恒常性維持に寄与している。他方、血管新生やリモデリングの際には基底膜の分解や再構成などの変化がおこると考えられているが、その詳細なプロセスや制御機構については明らかとなっていない。我々はマウス新生仔網膜における血管網形成をモデルとして、血管新生やリモデリングにおける基底膜蛋白質の局在を詳細に観察した。基底膜は新生血管の先端に位置する tip 細胞の細胞体周囲にも存在する一方、tip 細胞の先端から突出したフィロポディア様突起の大半は基底膜を持たないことが認められた。血管伸長先端部の基底膜と、網膜中心に近い発達した血管の基底膜とでは基底膜構成因子や分解酵素の局在に差異があることも見出された。さらに、新生仔網膜におけるマトリックスメタロプロテイナーゼ (MMPs) の発現を検討したところ、MMP-9 が新生血管周囲に局在することを見出した。

Localization patterns of basement membrane proteins and MMPs in the developing retinal blood vessels of mouse.

<sup>1</sup> Sugiko Futaki、<sup>1</sup> Tomoko Iida、<sup>1</sup> Azumi Hirata、<sup>1</sup> Masa-Aki Shibata、<sup>2</sup> Kiyotoshi Sekiguchi、<sup>1</sup> Yoichi Kondo

<sup>1</sup> Laboratory of Anatomy & Cell Biology, Osaka Medical College

<sup>2</sup> Institute for Protein Research, Osaka University

Endothelial basement membrane (BM) is a sheet-like extracellular matrix lining at the abluminal surface of endothelium and plays critical roles in vascular function. During angiogenesis, the BM is digested locally when endothelial cells sprout, and reassembled when a new branch is formed. However, the detailed changes of BMs in developing blood vessels remain to be clarified. We used neonatal mouse retina as a model of angiogenesis and observed BM structure and composition. Whole-mount immunohistochemistry revealed co-localization of major BM proteins around the endothelial tip cells suggesting the presence of endothelial BM even at the growing tip of angiogenic vessels. On the other hand, The BM proteins were hardly detected around the filopodia protruding from the tip cells. We also investigated expression of MMPs and found that MMP-9 immunoreactivities were in association with endothelial BMs, suggesting that MMP-9 plays a role in remodeling of endothelial BM in developing retinal vascular network.

キーワード： 基底膜、血管新生、MMP

Key words: Basement membrane, Angiogenesis, MMPs

## A2-6\* (P47)

### パルス電気刺激が三次元培養皮膚モデルの細胞外マトリックス関連遺伝子発現に及ぼす影響

占部博也<sup>1</sup>、片山友晶<sup>2</sup>、中村敦也<sup>2</sup>、秋本龍二<sup>1</sup>、  
神谷章平<sup>1</sup>、市川秀之<sup>1</sup>、西山敏夫<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> 株式会社ホームイオン研究所

<sup>2</sup> 東京農工大学農学部附属硬蛋白質利用研究施設

【背景】皮膚への電気刺激は、創傷治癒など組織修復を促進することが知られている。我々は、パルス電気刺激(4800Hz, 3V or 5V)が、(1)ラット真皮のコラーゲン産生促進 (J. Cosmet. Sci., 2009)、(2)表皮ケラチノサイトの分化促進 (Mol. Cell. Biochem., 2013)、(3)線維芽細胞の増殖促進と線維性コラーゲン遺伝子発現促進 (第50回日本結合組織学会)を報告した。

【目的】パルス電気刺激の生体皮膚への効果を明らかにするために、三次元培養皮膚モデルを用いて表皮-真皮相互作用や構造形成への影響を検討した。

【実験方法】I型コラーゲンゲル内でヒト真皮線維芽細胞を培養し収縮したコラーゲンゲルを真皮モデルとした。この収縮ゲル上でヒト表皮ケラチノサイトを培養し、重層させ三次元培養皮膚モデルを作製した。皮膚モデルおよび真皮モデルへの通電方法は、カーボン電極を培養皿側面に設置する方法を用いた。パルス周波数4800Hz、電圧3Vと5Vで、1日5分、5日間通電した。通電後、皮膚モデルを回収し、表皮層と真皮層を分離してRNAを回収した。リアルタイム定量PCRにより細胞外マトリックス関連遺伝子発現を解析した。

【結果と考察】皮膚モデルへのパルス電気刺激により、3V群で真皮側のCOL3A1、COL7A1、ELNの発現量が有意に増加した。真皮モデルのみの系では変化なかった。その他の遺伝子発現に影響はなかった。免疫組織学的解析からVII型コラーゲンの染色性が増加傾向にあった。以上から、パルス電気刺激(4800Hz, 3V)は、三次元培養皮膚モデルにおいて表皮-真皮相互作用を介し、真皮モデル線維芽細胞のCOL3A1、COL7A1、ELN遺伝子発現を促進する可能性が示唆された。

キーワード：パルス電気刺激、皮膚モデル

### Effects of pulsed electric stimulation on expression of extracellular matrix-related genes in human skin equivalents

Hiroya Urabe<sup>1</sup>, Tomoaki Katayama<sup>2</sup>, Atsuya Nakamura<sup>2</sup>,  
Ryuji Akimoto<sup>1</sup>, Shohei Kamiya<sup>1</sup>, Hideyuki Ichikawa<sup>1</sup>,  
Toshio Nishiyama<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Homerion Laboratory Inc., Shibuya, Tokyo, Japan

<sup>2</sup> Scleroprotein Res. Inst., Fac. of Agric., Tokyo Univ. of Agric. and Technol., Fuchu, Tokyo, Japan

【Introduction】Electric stimulation (ES) to the skin has been reported to promote tissue repair such as wound healing. We have also reported that pulsed electric stimulation (PES: 4800 Hz, 3 V or 5 V) promoted (1) collagen production in rat dermis (J. Cosmet. Sci., 2009), (2) keratinocyte differentiation (Mol. Cell. Biochem., 2013), and (3) fibroblast proliferation and fibrillar collagen gene expression (50th JSMBM, 2018).

【Purpose】To elucidate effects of PES on the skin, we investigated epidermal-dermal interaction and structural formation using human skin equivalents (HSEs).

【Materials & Methods】HSEs were prepared by culturing human keratinocytes on the surface of type I collagen gel contracted by human skin fibroblasts (dermal equivalents: DEs). HSEs and DEs were exposed to the electric field of 3 V or 5 V (control: 0V) at a frequency of 4800 Hz for 5 min a day for 5 days. After separating epidermal layer and dermal layer, RNA was extracted from each layer to quantify expression of extracellular matrix-related gene by real-time PCR.

【Results and Discussion】PES to HSEs (4800 Hz, 3 V) significantly increased expression levels of COL3A1, COL7A1 and ELN mRNA in DEs of HSEs, while no significant change was observed in DEs alone. There was no significant affect on other gene expression examined. Immunohistological analysis showed the staining of type VII collagen tended to increase. From the results, it was suggested that PES could promote COL3A1, COL7A1 and ELN expression of fibroblasts in HSEs through epidermal-dermal interaction.

Key words: pulsed electric stimulation, skin equivalents

## A2-7\* (P48)

### 3次元筋細胞培養における細胞外マトリックスの役割

秋葉星哉<sup>1</sup>、中田智史<sup>2</sup>、山下由莉<sup>1</sup>、須藤塁<sup>3</sup>、水野一乗<sup>3</sup>、平澤恵理<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>順天堂大学老人性疾患病態・治療センター、<sup>2</sup>順天堂大学女性スポーツ研究センター、<sup>3</sup>ニッピBC事業部 バイオマトリックス研究所

【背景と目的】我々は脱細胞した筋組織とヒト疾患 iPS 細胞を用いて疾患特異的な筋組織を三次元構築し、精度の高い筋疾患の病態解析と薬効の評価系の開発を目指している。本研究では、マウス筋芽細胞株 C2C12 細胞で筋組織の三次元構築を検討するとともに、筋管形成に対する細胞外マトリックスの影響を評価した。

【実験方法】動物骨格筋スライスを 1%SDS 溶液中で脱細胞化し、C2C12 細胞の細胞懸濁液を脱細胞化した筋スライスに移植後、14 日間培養した。脱細胞状況は、核染色 (DAPI) により確認した。再細胞化の評価は筋分化マーカー (desmin, myogenin, dystrophin) の発現により評価した。また、筋管の配向と細胞外マトリックス分子の配向の関連を検討するために、細胞外マトリックス分子の免疫染色を行った。さらに、筋管形成に影響を与える可能性のある細胞外マトリックス分子を検討するために、コンドロイチナーゼ、ヘパリチナーゼによる脱細胞化処理が筋管形成に与える影響の検討を行った。

【結果】SDS 溶液による脱細胞処理により、細胞の消失と細胞外マトリックス構造の保持が確認された。iPS 再細胞移植後は、desmin, myogenin 双方の発現を伴う筋管様構造が確認され、C2C12 細胞が筋管細胞に分化し、再細胞化されたことが示された。また、共焦点顕微鏡解析では形成される筋管が脱細胞化筋の細胞外マトリックス構造に沿って配向することを見出した。加えて、コンドロイチナーゼによるコンドロイチン硫酸の消化は筋管形成を促進することが明らかになった。

【考察】C2C12 細胞による筋組織再構成に細胞外マトリックスが重要であることがわかった。この 3 次元培養の実現によりメカニカルストレス負荷可能な病態再現性の高いモデル系の構築が可能となった。

### Role of extracellular matrix on 3D Myoculture formation

Seiya Akiba<sup>1</sup>, Satoshi Nakada<sup>2</sup>, Yuri Yamashita<sup>1</sup>, Rui Sudo<sup>3</sup>, Kazunori Mizuno<sup>3</sup>, Eri Arikawa-Hirasawa<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Research Institute for Diseases of Old Age<sup>2</sup>, Japanese Center for Research on Women in Sport Juntendo Univ <sup>3</sup>R&D Section, BC Div. Nippi, & Nippi Research Institute of Biomatrix

**Introduction:** Our final goal is to develop a reliable drug efficacy evaluation system by constructing disease-specific muscle tissue in three dimensions (3D) using decellularized muscle tissue and human disease iPS cells. In this study, muscle tissue was examined three - dimensionally in mouse myoblast cell line C2C12 cells and the influence of extracellular matrix (ECM) on myotube formation was evaluated

**Methods:** Skeletal muscle sections were decellularized in 1% SDS buffer and confirmed with DAPI staining. C2C12 cells were harvested to decellularized sections and incubated for 14 days. We evaluated of recellularization by expression of myogenic differentiation marker such as, desmin, myogenin, and dystrophin. To evaluate the distribution of myotubes and ECM, we did immunostaining of ECM molecules. Also, chondroitinase and heparitinase were added to investigate the effects on myotube formation.

**Results:** After decellularization treatment, disappearance of cells and retention of extracellular matrix structure were confirmed. Following recellularization, a myotube-like structure with expression of both desmin and myogenin was confirmed, indicating that C2C12 cells differentiated into myotubes. Confocal microscopic analysis confirmed that the myotubes formed are oriented along the extracellular matrix structure of the decellularizing muscle. In addition, it was confirmed that digestion of chondroitin sulfate by chondroitinase promotes myotube formation.

**Conclusion** We verified that ECM is an important factor for myogenesis. Our 3D-ECMs culture system would be a promising strategy to construct the evaluation system, which is high reproducibility of the pathology for variable muscle disorders.

キーワード： 細胞外マトリックス C2C12 細胞

Key words: extracellular matrix C2C12 cells

### **Chondroitin sulfate structure bound to immature oligodendrocyte impacts dendritic spine morphology in the somatosensory cortex.**

Aurelien Kerever, Takahiro Tanaka, Kana Kato, Yuji Suzuki, Eri Arikawa-Hirasawa

Research Institute for Disease of Old Age,  
Juntendo University Graduate school of Medicine

During the critical period of development synaptic plasticity is at its highest. When this period ends, the cortical network styles and synaptic plasticity is greatly reduced. One of the key factors for the reduction of synaptic plasticity is the appearance of extracellular matrix (ECM) structure, especially chondroitin sulfates that cover existing synapses, and repress the formation of new ones. Perineuronal nets (PNN) are ECM structures that cover the cell body and proximal dendrite of GABAergic interneurons. PNN are known to actively participate in the closing of the critical period of development through the inhibitory action of their CS chains. However, there are other sources of CS chains in the cortex and their roles remain poorly understood. We recently found that a CS structure revealed by CS56 epitope specifically covers early immature oligodendrocyte. These CS patches appear at the end of the critical period of development and remain in the adult brain but their distribution differs from PNN.

In this study, we used 3D confocal imaging of biocytin injected pyramidal neurons from cortical layer2/3 of the somatosensory cortex to image the dendritic spines. We further developed an algorithm to classify the dendritic spines. Then, we investigated whether pyramidal neuron dendrite in the somatosensory cortex going through CS patches presented a spine density/morphology different than those outside CS patches. We found that inside CS patches, dendritic spines were characteristic of a more mature cortex with more robust synaptic connections.

---

キーワード :

Key words:

**Intracellular Modulation of Thermo-responsive Elastin-like Polypeptide-Estrogen Receptor Fusions**

Anh Tan Truong, Zhe Li, Hugo Avila, Curtis Toshio Okamoto, John Andrew MacKay

Department of Pharmacology and Pharmaceutical Sciences,  
School of Pharmacy. University of Southern California,  
USA

Aberrant gene expression resulting as a consequence of nuclear hormone estrogen receptor (ER) dysregulation has been implicated in the development of numerous diseases. Understanding these events require precise manipulation of the cells' machinery, but many technologies used to study signaling and transcription lack the temporal control to rapidly modulate these biological processes. This limitation could be addressed by the introduction of elastin-like polypeptides (ELPs) which are biocompatible, thermally responsive biopolymers that self-assemble into microdomains of ELP-fusions within cells. Our research group recently discovered that these fusion proteins can modulate precise processes involved in cell trafficking and signaling. They are now being investigated to modulate estrogen receptor (ER) signaling and gene regulation. ER has been implicated in a variety of diseases such as breast cancer and Sjögren's Syndrome, and although this receptor has been well studied, the lack of effective drug therapy and resistance requires attention to develop a deeper understanding of the underlying mechanisms. Thus, ELP-ER fusions have been generated and successfully expressed in HEK-293T (ER-) and MCF7 (ER+) cell lines. They coalesce in the nucleus or cytoplasm at physiological temperatures and rapidly resolubilize at room temperature. These preliminary data indicate that these fusions retain ELP self-assembling properties and may control ER signaling and gene regulation. The ability manipulate ELP-ER with spatiotemporal control and precision may allow this fusion to serve as a powerful tool in the study ER-mediated biological processes.

---

キーワード :

Key words: Elastin-like polypeptide, estrogen receptor

## 変形性関節症滑膜線維芽細胞における IL-1 $\alpha$ 、TNF- $\alpha$ 、TGF- $\beta$ による ADAMTS4 (アグリカナーゼ-1) の相乗的発現亢進と抗関節炎製剤による抑制

メフメットゼイネルチレッキ<sup>1,2</sup>, 宮前結花<sup>3</sup>, 千々岩みゆき<sup>3</sup>, 望月早月<sup>3</sup>, 伊藤雅俊<sup>3</sup>, デベガスサーナ<sup>2</sup>, 塩澤 淳<sup>4</sup>, 金子晴香<sup>4</sup>, 石島旨章<sup>1,2,4</sup>, 金子和夫<sup>1,2,4</sup>, 岡田保典<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>順天堂大学スポーツロジセンター

<sup>2</sup>順天堂大学大学院医学研究科 運動器・腫瘍性疾患病態学講座

<sup>3</sup>慶應義塾大学医学部病理学教室

<sup>4</sup>順天堂大学大学院医学研究科 整形外科・運動器医学

**背景と目的:** 変形性関節症(OA)関節軟骨破壊に細胞外マトリックス分解は必須であり、ヒアルロン酸(HA)-アグリカンネットワーク分解によりスタートする。アグリカン分解にはアグリカン分解能を有するADAMTS1、4、5、8、9、15、16、18、20が関わる可能性が指摘されているが、OAにおいてどの分子が作用するかや発現調節に関する情報は限られている。

**材料と方法:** 人工膝関節全置換術で得られたOA滑膜組織におけるADAMTS分子発現をRT-PCRとqPCRで解析した。培養滑膜線維芽細胞をIL-1 $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 、TGF- $\beta$ 、VEGF、HB-EGFで刺激しADAMTS4発現変化をqPCRと免疫ブロッティングで解析し、下流シグナル経路を特異的阻害剤を用いて調べ、高分子ヒアルロン酸(Suvenyl®)、アダリムマブ(Humira®)、トシリズマブ(Actemra®)を含む抗関節炎製剤のADAMTS4発現に対する効果を検討した。

**結果と考察:** ADAMTS1、4、5、9、16はOA滑膜組織および滑膜線維芽細胞において発現しており、IL-1 $\alpha$ 、TNF- $\alpha$ 、TGF- $\beta$ はADAMTS4発現を著しく亢進したが、VEGFとHB-EGFでは不変であった。ADAMTS1、5、9、16発現はこれら因子では顕著な変化を示さず、ADAMTS8、15、18、20の発現は観察されなかった。ADAMTS4発現は、IL-1 $\alpha$ +TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\alpha$ +TGF- $\beta$ 、IL-1 $\alpha$ +TNF- $\alpha$ +TGF- $\beta$ で相乗的に亢進した。阻害実験により、IL-1 $\alpha$ で発現誘導したADAMTS4は主としてTAK1を介しており、TNF- $\alpha$ 誘導性ADAMTS4発現はTAK1とNF- $\kappa$ Bを介することを証明した。TGF- $\beta$ 刺激性ADAMTS4発現は、ALK5/Smad2/3とTAK1経路を介しており、アダリムマブはTNF- $\alpha$ 誘導性発現を完全に阻害した。IL-1 $\alpha$ +TNF- $\alpha$ +TGF- $\beta$ 刺激下でのADAMTS4発現は、アダリムマブとTAK1阻害剤またはALK5/Smad2/3阻害剤の組み合わせでほぼ完全に阻害された。本研究結果は、ADAMTS4がOA滑膜組織の主要アグリカナーゼであり、IL-1 $\alpha$ 、TNF- $\alpha$ 、TGF- $\beta$ がOA滑膜線維芽細胞でのADAMTS4発現を相乗的に亢進することを示すとともに、抗TNF- $\alpha$ 抗体薬と細胞内シグナル分子阻害剤の併用が新規OA治療薬になる可能性を示唆している。

キーワード: ADAMTS4、変形性関節症、滑膜、

## Synergistic up-regulation of ADAMTS4 (aggrecanase-1) by IL-1 $\alpha$ , TNF- $\alpha$ and TGF- $\beta$ and its suppression by anti-arthritis drugs in osteoarthritic synovial fibroblasts

Mehmet Zeynel Cilek<sup>1,2</sup>, Yuka Miyamae<sup>3</sup>, Miyuki Chijiwa<sup>3</sup>, Satsuki Mochizuki<sup>3</sup>, Masatoshi Ito<sup>3</sup>, Susana de Vega<sup>2</sup>, Jun Shiozawa<sup>4</sup>, Haruka Kaneko<sup>4</sup>, Muneaki Ishijima<sup>1,2,4</sup>, Kazuo Kaneko<sup>1,2,4</sup>, and Yasunori Okada<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Sportology Center, Juntendo University, Tokyo, Japan

<sup>2</sup>Department of Pathophysiology for Locomotive and Neoplastic Diseases, Juntendo University Graduate School of Medicine, Tokyo, Japan

<sup>3</sup>Department of Pathology, Keio University School of Medicine, Tokyo, Japan

<sup>4</sup>Department of Medicine for Orthopedics and Motor Organ, Juntendo University Graduate School of Medicine, Tokyo

**Background and purpose:** Osteoarthritis (OA) is characterized by excessive ECM degeneration in the articular cartilage. The cartilage destruction in OA is initiated by degradation of the hyaluronan (HA)-aggrecan networks prior to collagen degradation, and ADAMTS1, 4, 5, 8, 9, 15, 16, 18 and 20 are suggested to be involved in aggrecan degradation. However, limited information is available for which species play a major role in OA and how the expression is regulated.

**Material and Methods:** Screening of the expression for aggrecanolytic ADAMTS species in OA synovial tissues was done by RT-PCR and qPCR. Effects of IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ , VEGF or HB-EGF on the ADAMTS4 expression were analyzed by qPCR and immunoblotting. The signaling pathways of these cytokines were examined by using their specific inhibitors, and effects of anti-arthritis drugs including high-molecular-weight HA (Suvenyl®), adalimumab (Humira®; anti-TNF antibody) and tocilizumab (Actemra®; anti-IL-6R antibody) on the ADAMTS4 expression were examined by immunoblotting.

**Results and Discussion:** Among the ADAMTS species examined, ADAMTS1, 4, 5, 9 and 16 were expressed in OA synovium. IL-1 $\alpha$ , TNF- $\alpha$  and TGF- $\beta$ , but not VEGF or HB-EGF, markedly up-regulated the ADAMTS4 expression, but effects of these factors were minimal on the expression of ADAMTS1, 5, 9 and 16. No expression of ADAMTS8, 15, 18 and 20 was observed. The ADAMTS4 expression was synergistically up-regulated by IL-1 $\alpha$ +TNF- $\alpha$ , IL-1 $\alpha$ +TGF- $\beta$ , or IL-1 $\alpha$ +TNF- $\alpha$ +TGF- $\beta$ . Inhibition studies demonstrated that IL-1 $\alpha$ -induced ADAMTS4 expression is predominantly through TAK1, and TNF- $\alpha$ -stimulated expression is via TAK1 and partially by NF- $\kappa$ B. TGF- $\beta$ -stimulated expression was through the ALK5/Smad2/3 and TAK1 pathways. Adalimumab blocked the TNF- $\alpha$ -stimulated expression. Under the co-stimulation with IL-1 $\alpha$ , TNF- $\alpha$  and TGF- $\beta$ , the ADAMTS4 expression was abolished by combination of adalimumab, TAK1 inhibitor and ALK5/Smad2/3 inhibitor. Our results demonstrate that ADAMTS4 is a major aggrecanase in OA synovium and synergistically up-regulated by IL-1 $\alpha$ , TNF- $\alpha$  and TGF- $\beta$  in OA synovial fibroblasts, and suggest that combined treatment with anti-TNF- $\alpha$  antibody and signaling pathway inhibitor(s) may be an effective therapy for OA patients.

Key words: ADAMTS4, osteoarthritis, synovium

### **Hydroxyproline-containing peptide promotes differentiation and collagenous fibril network organization in adult tendon cells**

<sup>1</sup> Takao Sakai, <sup>2</sup> Kazunori Mizuno, <sup>2</sup> Shunji Hattori

<sup>1</sup> Dep Mol Clinical Pharm, Inst Trans Med, Univ Liverpool, Liverpool, L69 3GE, UK; <sup>2</sup> Nippi Research Institute of Biomatrix, Ibaraki, Japan

Collagen is the most abundant scaffolding extracellular matrix (ECM) in tissue/organ stroma and significantly contributes to tissue/organ integrity. Growing evidence indicates that collagen-derived hydroxyproline (Hyp)-containing peptides are known to show a variety of physiological properties in tissue and organs. However, how Hyp-containing peptides could modulate cellular behavior still remains largely unknown. Since tendon is a dense connective tissue rich in collagenous ECMs in the body, we explored the functional contribution of proline-Hyp (Pro-Hyp), a major degradation product of collagen, to adult tendon cells. Here we show that Pro-Hyp peptide can stimulate cell proliferation and maturation/differentiation in adult tenocytes and tendon progenitor cells. These are accompanied by significantly upregulated tendon development/maturation markers. Furthermore, Pro-Hyp significantly enhances fibronectin-dependent type I collagen assembly through increased active  $\beta$ 1-integrin, and chemotactic activities. Taken together, these findings indicate that Hyp-containing peptides increase cellular homeostasis and ECM network organization in tendon cells. Thus, Hyp-containing peptides could have a potential to improve the slow-healing response to an adult tendon injury *in vivo* by promoting tendon cell differentiation and maturation and/or enhancing collagen fibrillogenesis following injury.

---

キーワード : コラーゲン, 内皮細胞, ゲル

Key words: Hyp-containing peptide, tendon cells

### 角膜実質細胞によるコラーゲングル収縮能における urokinase-type plasminogen activator (u-PA) の影響

西田功一<sup>1</sup>、杉岡孝二<sup>2</sup>、村上純子<sup>3</sup>、岡田清孝<sup>4</sup>、西田輝夫<sup>2,5</sup>、日下俊次<sup>1</sup>

<sup>1</sup>近畿大学医学部眼科学教室

<sup>2</sup>近畿大学奈良病院眼科

<sup>3</sup>啓仁会咲花病院

<sup>4</sup>近畿大学医学部医学基盤教育

<sup>5</sup>山口大学医学部眼科学教室

【目的】角膜実質細胞によるコラーゲングル収縮能における uPA の影響について検討したので報告する。

【実験方法】uPA 遺伝子欠損マウス (uPA-KO) およびその野生型マウス (uPA-WT) マウスから分離培養した角膜実質細胞をコラーゲングル内で三次元培養し、ゲルの直径を測定して2群間で比較した。さらに、創の収縮作用が myofibroblasts の作用であるのかを確認するため、 $\alpha$  SMA を創傷治癒過程の組織で免疫組織学的に観察した。角膜実質細胞から lysate を作成し Western-blot 法により  $\alpha$  SMA の発現をタンパク質レベルで検討した。また uPA-KO および uPA-WT マウスから角膜実質細胞を分離培養し、両群の細胞における  $\alpha$  SMA の mRNA 量を real time-reverse transcription PCR 法により検討した。さらにコラーゲンのレセプターである uPAR-associated protein (uPARAP) 抗体を用い、uPARAP が角膜実質細胞のゲル収縮能に与える影響について検討した。

【結果と考察】uPA-WT の角膜実質細胞は uPA-KO よりも強くコラーゲングルを収縮させた。しかしながら、 $\alpha$  SMA のタンパク発現量と mRNA 発現量は uPA-WT と uPA-KO の間で差を認めなかった角膜実質細胞由来の uPA がコラーゲンに対し何らかの影響を与えており、その機序には uPARAP が関与していると考えられた。

The effects of urokinase-type plasminogen activator (uPA) in collagen degradation by corneal fibroblasts

Koichi Nishida<sup>1</sup>, Koji Sugioka<sup>2</sup>, Junko Murakami<sup>3</sup>, Kiyotaka Okada<sup>4</sup>, Teruo Nishida<sup>5</sup>, Shunji Kusaka<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Ophthalmology, Kindai University

<sup>2</sup>Department of Ophthalmology, Kindai University Nara Hospital <sup>3</sup>Sakibana Hospital <sup>4</sup>Division of Basic Medical Science, Kindai University

<sup>5</sup>Department of Ophthalmology, Yamaguchi University

【Purpose】 Urokinase-type plasminogen activator (uPA) plays an important role in corneal wound healing. We investigated the effects of uPA in collagen degradation by corneal fibroblasts.

【Methods】 Primary cultures of mouse corneal fibroblasts were established from uPA-WT and uPA-KO mice. These corneal fibroblasts were embedded in collagen gel. Gel contraction were evaluated by measurement of changes in gel diameter. Western blotting and Real-time RT-PCR was conducted to examine  $\alpha$ SMA expressions in mouse ocular fibroblasts. In addition, we investigated the effect of the uPAR-associated protein (uPARAP) which is an endocytic receptor for collagen on corneal fibroblasts-mediated collagen gel contraction.

#### 【Results and Discussion】

Collagen gel contraction by uPA-WT was more enhanced than uPA-KO. The amounts of  $\alpha$ SMA did not increase both mRNA and protein level. However, the addition of uPARAP antibody significantly attenuated the collagen gel contraction by corneal fibroblasts instead. These suggest that uPARAP may contribute to the promotion of collagen gel contraction by corneal fibroblasts.

キーワード： uPA, コラーゲングル収縮、角膜

Key words: uPA, collagen gel contraction, cornea

## 肝硬変におけるビトロネクチンの分子病態 —糖鎖変化とコラーゲン結合性—

<sup>1</sup> 伊達公恵、<sup>2</sup> 鈴木理沙、<sup>3</sup> 玉井幸恵、<sup>1,2</sup> 小川温子

<sup>1</sup> お茶の水女子大学・ヒューマンライフイノベーション研究所・糖鎖部門

<sup>2</sup> お茶の水女子大学大学院・人間文化創成科学研究科

<sup>3</sup> 聖マリアンナ医科大学・生化学教室

【背景】肝硬変は、細胞外マトリックスタンパク質の変化と過剰な蓄積により、組織が線維化して機能不全となる疾患である。ビトロネクチン (VN) は、主に肝臓で合成され、細胞外マトリックスや血漿中に存在する多機能接着性糖タンパク質である。当研究室では、種々の哺乳動物血漿由来の VN について、糖鎖修飾や糖鎖変化に伴う活性への影響を明らかにした。しかし、肝疾患における VN の糖鎖に関する論文報告はない。

【目的】肝硬変患者と健常者の VN の血漿中含量、糖鎖修飾およびコラーゲン結合性を解析、比較し、肝硬変における VN 糖鎖の役割を明らかにする。

【実験方法】肝硬変患者と健常者の血漿を用いて、イムノドットブロッキング分析により VN 含量を比較した。VN を、血漿からヘパリンアフィニティークロマトグラフィーにより精製し、レクチン反応性と HPLC での糖組成分析から VN の糖鎖修飾を解析した。コラーゲン結合性は ELISA を用いた。シアル酸除去 VN、フコース除去 VN、N-型糖鎖除去 VN を調製し、コラーゲン結合性を比較した。

【結果と考察】肝硬変患者血漿中の VN 含量は、健常者に比べて 2/3 に減少し、精製 VN 量も低下した。肝硬変 VN の糖鎖は、多分岐化およびフコースとシアル酸含量が増加した。肝硬変患者では、血漿中に存在する VN のうち、コラーゲン結合活性を有する活性型 VN の割合が健常者よりも増加した。一方、精製 VN のコラーゲン結合性には差がなかった。

肝硬変患者血漿中では、VN が活性化され、コラーゲン結合を介して組織中に取り込まれ易くなることで、線維化に影響を与えることが示唆された。

キーワード：ビトロネクチン、コラーゲン、肝硬変、糖鎖修飾

## Molecular pathophysiology of vitronectin during liver cirrhosis – changes in glycosylation and collagen binding –

Kimie Date<sup>1</sup>, Risa Suzuki<sup>2</sup>, Sachie Oda-Tamai<sup>3</sup>, Haruko Ogawa<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Human Life Innovation Institute, <sup>2</sup> Graduate School of Humanities and Sciences, Ochanomizu University

<sup>3</sup> Department of Biochemistry, St. Marianna University School of Medicine

[Introduction] Liver cirrhosis (LC) is a disease characterized by pathological accumulation and alteration of ECM proteins. Vitronectin (VN) is a multifunctional adhesive glycoprotein that is present in ECM and plasma. We reported the structures of N-glycans of porcine and human plasma VNs and their ligand binding activities. However, changes in glycosylation on VN in LC have not been elucidated.

[Purpose] To clarify the role of glycosylation on VN in LC, we determined the glycosylation and collagen-binding activity of plasma VN in LC patients and normal humans.

[Materials & Methods] Human plasma from LC and normal individuals were used. VN levels in the plasma were analyzed by dot-blotting. VNs were purified from the plasma by the repeated affinity chromatography using the heparin-column. Glycosylation of VNs were determined by the carbohydrate analyses and the lectin reactivity. The collagen-binding activities of VNs were measured by ELISA.

[Results and Discussion] Plasma level of VN in LC declined to 2/3 that in normal plasma. The carbohydrate analyses of LC-VN revealed that branching, fucosylation, and sialylation of N-glycans were higher than those of normal VN. The ratio of active VN, which has collagen-binding activities, increased 2.8 times in LC plasma, whereas purified LC-VN exhibited similar binding activities toward type I, IV, and V collagens to those of normal VN.

These results suggest that the activation of VN in LC plasma contribute to the matrix incorporation of VN and liver fibrosis.

Key words: Vitronectin, Collagen, Liver cirrhosis, glycosylation

## B1-2

### マウス小脳顆粒前駆細胞の軸索決定におけるビトロネクチンの役割

宮本泰則<sup>1,2</sup>、大石佑子<sup>1,2</sup>、橋本恵<sup>1</sup>、阿部彩香<sup>1,2</sup>、黒田真帆<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>お茶の水女子大学

ヒューマンライフイノベーション研究所

<sup>2</sup>お茶の水女子大学 理学部生物学科

【背景】細胞外マトリックス分子ビトロネクチン (VN) は、発生過程の神経系において発現が見られ、運動神経、視神経の分化促進に寄与することが知られている。さらに我々のグループにおいて、小脳顆粒前駆細胞において VN が発現し、その初期分化段階を VN が促進することを見出した。この初期分化段階で起こる現象として、軸索決定に着目した。

【目的】小脳顆粒前駆細胞の軸索決定における VN の役割を解析する。

【実験方法】生後 6 日目マウスから単離した初代培養の小脳顆粒前駆細胞の軸索の本数を軸索マーカー Tau1 染色により計測することにより軸索決定への VN、その受容体及び細胞内シグナル因子の寄与を検討した。

【結果と考察】まず、VN の効果を見たところ VN 欠損マウス由来の小脳顆粒前駆細胞は野生型と比較して有意に軸索無しの細胞割合が増大した。一方野生型に VN を添加した際に、軸索を複数持つ細胞割合が増大した。この VN 添加による複数軸索を持つ細胞割合増大効果が受容体候補の  $\beta 5$  インテグリンのノックダウンにより打ち消され、VN の受容体として  $\alpha \beta 5$  インテグリンが機能していることが示された。さらに細胞内シグナル伝達系を検討したところ、PI-3 キナーゼ阻害因子により VN による複数軸索を持つ細胞数増大機能が阻害された。また、 $\beta 5$  インテグリンのノックダウンによる複数軸索を持つ細胞数の低下が、GSK3 $\beta$  阻害剤により打ち消された。

以上のことから小脳顆粒前駆細胞において、VN/ $\alpha \beta 5$  インテグリン/PI-3 キナーゼ/GSK3 $\beta$  の経路により軸索決定が担われていることが示された。

キーワード：ビトロネクチン、軸索決定

### Role of vitronectin in axon specification of mouse cerebellar granule cell precursors

Yasunori Miyamoto<sup>1,2</sup>, Yuko Oishi<sup>1,2</sup>, Kei Hashimoto<sup>1</sup>, Ayaka Abe<sup>1,2</sup>, Maho Kuroda<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Institute for Human Life Innovation, Ochanomizu University

<sup>2</sup> Department of Biology, Ochanomizu University

[Introduction] Vitronectin (VN), one of extracellular matrix proteins, is expressed in the developing nervous system and is known to contribute to the differentiation of motor neuron and neuroretina cell. We revealed that VN is expressed in mouse cerebellar granule cell precursor (CGCP) and promotes the progress of the initial differential stage in CGCP. We focused axon specification which is shown in the initial differential stage.

[Purpose] The role of VN in the axon specification of CGCP was analyzed.

[Materials & Methods] The axons were stained with an antibody for an axon marker, Tau1 in the primary culture of CGCP, isolated from postnatal day 6 mice. The effect of VN, its receptor, and signal transduction factor on the axon number was analyzed as a parameter of axon specification.

[Results and Discussion] First, we observed that VN deficiency decreased the ratio of CGCPs with multi-axon, but VN addition increased that. The increase of the ratio of CGCPs with multi-axon by VN addition was diminished by the knockdown of  $\beta 5$  integrin, a candidate of VN receptor, indicating that  $\alpha \beta 5$  integrin is served as a receptor for VN in CGCP. Furthermore, we analyzed the cell signaling pathway for axon specification. An inhibitor for PI3 kinase suppressed the increase of the ratio of CGCPs with multi-axon by VN addition. In addition, the decrease of the ratio of CGCPs with multi axon by  $\beta 5$  knockdown was recovered by an inhibitor for GSK3 $\beta$ .

Taken together, these results indicated that the pathway of VN/ $\alpha \beta 5$  integrin/PI-3 kinase/GSK3 $\beta$  is responsible for the axon specification of CGCPs.

Key words: vitronectin, axon specification

## B1-3\* (P50)

### HYBID は変形性膝関節症患者の滑膜線維芽細胞で過発現し、関節液中ヒアルロン酸分解に関与する

塩澤淳<sup>1,2</sup>、Susana de Vega<sup>2</sup>、Mehmet Z. Cilek<sup>2</sup>、良永知穂<sup>2</sup>、中村智美<sup>3</sup>、笠松慎也<sup>3</sup>、吉田浩之<sup>3</sup>、金子晴香<sup>1</sup>、石島旨章<sup>1,2</sup>、金子和夫<sup>1,2</sup>、岡田保典<sup>1,2</sup>

順天堂大学大学院医学研究科整形外科学講座<sup>1</sup>、順天堂大学大学院医学研究科運動器・腫瘍性疾患病態学講座<sup>2</sup>、花王株式会社生物科学研究所<sup>3</sup>

【背景と目的】HYBID (hyaluronan binding protein involved in hyaluronan depolymerization, KIAA1199) と HYBID 類似分子である TMEM2 (Transmembrane protein2) はヒアルロン酸 (HA) 分解に重要な役割を果たしている。変形性膝関節症 (膝 OA) 患者の滑膜組織における HYBID と TMEM2 の発現を検討するとともに、HYBID 発現と関節液中 HA 低分子化との関係及び HYBID 発現調節因子について解析した。

【方法】OA 滑膜組織での HYBID と TMEM2 発現は定量 PCR 法を用いて解析し、OA 関節液中 HA 分子量はゲル濾過法を用いて検討した。OA 滑膜線維芽細胞を種々のサイトカインで刺激し、HYBID 発現調節因子を解析した。

【結果】OA 滑膜組織における HYBID mRNA 発現は、対照とした正常滑膜組織に比べて有意に亢進していた。一方、TMEM2 mRNA 発現は OA 滑膜組織で有意に低下していた。HYBID は主に OA 滑膜組織の CD68 陰性滑膜表層細胞と表層細胞下層の線維芽細胞に免疫組織学的に局在していた。OA 滑膜組織における HYBID mRNA 発現レベルと関節液中 HYBID タンパク濃度は、OA 関節液中の HA 低分子化と正の相関を示したが、関節液中 HA 濃度とは相関しなかった。OA 滑膜線維芽細胞を 12 種類のサイトカインなどで刺激したところ、HYBID 発現は IL-6 刺激により有意に亢進した。IL-6 は OA 滑膜組織の滑膜表層細胞や下層のマクロファージと線維芽細胞で産生されており、OA 滑膜組織での IL-6 タンパク濃度と HYBID mRNA 発現レベルは正の相関を示した。

【結論】OA 滑膜組織では、IL-6 により刺激された滑膜線維芽細胞が HYBID を発現亢進し、関節液中の HA 低分子化に関与している可能性が示唆された。

### HYBID is overexpressed by synovial fibroblasts and implicated in hyaluronan degradation in synovial fluids in knee osteoarthritis patients

Jun Shiozawa<sup>1,2</sup>、Susana de Vega<sup>2</sup>、Mehmet Z. Cilek<sup>2</sup>、Chiho Yoshinaga<sup>2</sup>、Tomomi Nakamura<sup>3</sup>、Shinya Kasamatsu<sup>3</sup>、Hiroyuki Yoshida<sup>3</sup>、Haruka Kaneko<sup>1</sup>、Muneaki Ishijima<sup>1</sup>、Kazuo kaneko<sup>1,2</sup>、and Yasunori Okada<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dep of Med for Orthop Motor Organ, Juntendo Univ Sch of Med; <sup>2</sup>Dep of Pathophysiol for Locomo and Neoplast Dis, Juntendo Univ Sch of Med; <sup>3</sup>Biol Sci Res, Kao Corp.

**Objective:** Hyaluronan (HA)-binding protein involved in HA depolymerization (HYBID, alias KIAA1199) and transmembrane protein 2 (TMEM2), the latter of which is a transmembrane protein with sequence similarity to HYBID, play a key role in HA degradation. To test the involvement of these molecules in HA degradation in synovial fluid (SF) in patients with knee osteoarthritis (knee OA), we examined their expression in OA synovial tissue and relationship between HYBID expression and molecular weight of HA in SF, and investigated regulators of HYBID gene expression.

**Methods:** The mRNA expression levels of HYBID and TMEM2 in OA and control normal synovia were measured by quantitative real-time PCR, and molecular weight of HA in SF from OA patients was determined by size exclusion chromatography. OA synovial fibroblasts were treated with 12 factors to examine stimulators for HYBID expression.

**Results:** The mRNA expression level of HYBID was significantly higher in OA synovium than in normal control synovium, whereas the TMEM2 expression was reduced in OA synovium. Immunohistochemistry indicated that HYBID is localized mainly to CD68-negative synovial lining cells and sub-lining fibroblasts in OA synovium. The mRNA and protein expression levels of HYBID in OA synovium and SF were positively correlated with distribution of lower-molecular-weight HA (LMW-HA) in SF, but not concentrations of HA. Among the factors examined, interleukin-6 (IL-6) significantly up-regulated the HYBID expression in OA synovial fibroblasts. Concentrations of IL-6, which was expressed by synovial lining cells and sub-lining macrophages and fibroblasts, positively correlated with the HYBID expression in OA synovium.

**Conclusion:** Our data suggest that HYBID overexpressed by IL-6-stimulated synovial fibroblasts is implicated in HA degradation in OA synovium, leading to accumulation of LMW-HA in OA SF.

キーワード: 変形性関節症、ヒアルロン酸分解、HYBID、KIAA1199、関節液

Keywords: Osteoarthritis, Hyaluronan, Degradation, HYBID, KIAA1199, Synovial fluid

## B1-4

### 腫瘍-間質相互作用における腫瘍細胞上の Emmprin と線維芽細胞上の CD73 の重要性

青木光希子<sup>1</sup>、古賀佳織<sup>1</sup>、宮崎健<sup>1</sup>、濱崎慎<sup>1</sup>、越川直彦<sup>2</sup>、尾山大明<sup>3</sup>、秦裕子<sup>3</sup>、鍋島一樹<sup>1</sup>

福岡大学医学部病理学講座<sup>1</sup>、神奈川県立がんセンター臨床研究所<sup>2</sup>、東京大学医科学研究所 疾患プロテオミクスラボラトリー<sup>3</sup>

【背景】腫瘍細胞と線維芽細胞が相互作用し、MMP-2の産生を促す際に emmprin(extracellular matrix metalloproteinase inducer)が重要な役割を果たしていることが分かっているが、詳しいメカニズムについては多くの不明な点が残っている。Emmprin機能阻害活性を有するPeptideを用いた先行実験にて、細胞膜上で emmprinと複合体を形成する分子の存在が推定された。この結果をもとにMS解析を行い、腫瘍細胞と線維芽細胞を共培養した際に emmprinと複合体を形成する因子の中からCD73を選出した。

【目的】CD73が emmprinと複合体を形成し、MMP-2の産生調整に関わっているか、*In vivo*における emmprin発現とCD73発現について検討した。

【方法・結果】腫瘍細胞株(類上皮肉腫、扁平上皮癌)と不死化した線維芽細胞(ST353i)を用いて実験を行った。免疫沈降、PLA法、蛍光免疫染色を用いて emmprinとCD73の複合体形成を確認した。腫瘍細胞と線維芽細胞を共培養した際のMMP-2産生亢進は、siRNAを用いたCD73の抑制により減少した。線維芽細胞上のCD73のみをsiRNAを用いて抑制すると腫瘍細胞と線維芽細胞の共培養からのMMP-2の産生抑制が抑制された。また、線維芽細胞単独でもMMP-2を産生しており、CD73の抑制によりMMP-2産生が抑制された。外耳道扁平上皮癌において、腫瘍細胞に emmprinが高発現し、間質にCD73が高発現した群の予後が最も不良となった。

【結語】腫瘍細胞上の emmprinと線維芽細胞上のCD73が複合体を形成し、MMP-2の産生調整に関与している。腫瘍細胞の emmprin発現と、間質におけるCD73発現が腫瘍浸潤に重要な役割を果たしている可能性がある。

The importance of emmprin on the tumor cells and CD73 on the fibroblasts in tumor-stromal interaction

M. Aoki<sup>1</sup>, K. Koga<sup>1</sup>, M. Miyazaki<sup>1</sup>, M. Hamasaki<sup>1</sup>, N. Koshikawa<sup>2</sup>, M. Oyama<sup>3</sup>, H. Kozuka-Hata<sup>3</sup>, K. Nabeshima<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Pathology, Fukuoka University Hospital and School of Medicine; <sup>2</sup>Division of Cancer Cell Research Kanagawa Cancer Center Research Institute; <sup>3</sup>Medical Proteomics Laboratory, Institute of Medical Science, University of Tokyo

【Background】Emmprin plays an important role in tumor and stromal cell intreraction. However, the underlying mechanism of emmprin activity remains unclar. Our previous study showed the existence of a molecular complex of emmprin. Mass spectrometry analysis performed to determine the composition of emmprin molecular complex revealed CD73 as an emmprin interacting protein

【Objective】We investigated whether CD73 complexes with emmprin and regulates matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) production. Furthermore, the expression of emmprin and CD73 was analyzed *in vivo* in patients with squamous cell carcinoma. 【Methods and Results】Tumor cell lines and immortalized fibroblasts were used to investigate emmprin-CD73 interaction. We confirmed emmprin complexes with CD73 using IP and PLA, and fluorescent immunostaining. CD73 siRNA inhibited increased MMP-2 production from a co-culture of tumor cells and fibroblasts, an effect observed only for CD73 expressed on fibroblast knockdown. Furthermore, fibroblasts when cultured alone also produce MMP-2, the production of which was inhibited by CD73 siRNA. In the squamous cell carcinoma patients, those with high emmprin expression on the tumor cells and high CD73 expression on the stromal cells showed poor prognosis.

【Conclusion】Emmprin on the tumor cells forms a complex with CD73 on the fibroblasts to regulate the production of MMP-2. Emmprin on the tumor cells and CD73 on the fibroblasts may plays an important role in tumor invasion.

キーワード： 浸潤, MMP, Emmprin

Key words: Invasion, MMP, Emmprin

仲矢道雄<sup>1, 2</sup>、黒瀬等<sup>1</sup>Michio Nakaya<sup>1, 2</sup>, Hitoshi Kurose<sup>1</sup><sup>1</sup>九州大学薬学研究院薬効安全性学分野、<sup>2</sup>AMED-PRIME<sup>1</sup> Department of Pharmacology and Toxicology, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Kyushu University ; <sup>2</sup> AMED-PRIME**【背景および目的】**

心筋梗塞時には、梗塞した血管によって酸素や栄養が供給されていた多くの心筋細胞が壊死する。一方で、高血圧などによる心肥大時においても酸化ストレス等によって、多くの細胞が死ぬことが知られている。こういった死細胞は、マクロファージなどの貪食細胞によって速やかに貪食される。しかしながらこれまで、心疾患時の死細胞貪食に関する分子メカニズムは、あまりわかっていなかった。そこで本研究では、心疾患時の死細胞貪食のメカニズムについて筋線維芽細胞に着目して研究を行った。

**【結果と考察】**

野生型マウスに心肥大モデル処置を施し、処置後に発現が上昇する貪食関連分子を探索した。その結果、分泌性の貪食促進因子である MFG-E8 と Gas6 の発現量が顕著に上昇することを見出した。MFG-E8 と Gas6 を産生する細胞を検討した所、筋線維芽細胞がこれら分子を産生することが明らかとなった。さらに、筋線維芽細胞が MFG-E8 の受容体であるインテグリン  $\alpha_v\beta_3$  を発現し、MFG-E8 を介して死細胞を貪食することを見出した。一方、Gas6 の受容体である MER は、筋線維芽細胞には、ほぼ発現せず、マクロファージ (Gas6 を発現しない) に強く発現し、このマクロファージが、筋線維芽細胞の産生する Gas6 を介して死細胞を貪食することを新たに見出した。すなわち、筋線維芽細胞は、心肥大時の死細胞貪食に関わる分泌性の貪食促進因子の供給源として働くと考えられた。

**[Introduction & Purpose]**

During myocardial infarction, many myocardial cells that have been supplied with oxygen and nutrients by infarcted vessels undergo necrosis. On the other hand, many cells are known to die by oxidative stress during cardiac hypertrophy due to hypertension. These dead cells are promptly engulfed by phagocytes such as macrophages. However, the molecular mechanisms underlying the phagocytosis of dead cells during cardiac disease is not well understood. In this study, we investigated the phagocytosis of dead cells during heart disease, focusing on myofibroblasts.

**[Results and Discussion]**

We generated a cardiac hypertrophy model using wild type mice and determined the phagocytosis-related molecules whose expression increased under the condition. We found that the expression of MFG-E8 and Gas6, both secreted proteins that promote phagocytosis, increased markedly. Interestingly, MFG-E8 and Gas6 were produced by myofibroblasts. We further found that myofibroblasts expressed integrin  $\alpha_v\beta_3$ , a receptor of MFG-E8, and phagocytosed dead cells via MFG-E8. By contrast, MER, a receptor of Gas6, is hardly expressed in myofibroblasts and is strongly expressed in macrophages (not expressing Gas6). Macrophages thus engulfed dead cells through Gas6 produced by myofibroblasts. In summary, myofibroblasts might serve as a source of secretory molecules that promote engulfment during cardiac hypertrophy.

キーワード：筋線維芽細胞, 貪食

Key words: myofibroblast, phagocytosis

## B1-6\* (P51)

### トリfasciaの線維構造研究法の確立

前田 夏希<sup>1</sup>, 片桐 奨<sup>2</sup>, 辛 英哲<sup>1,2,3</sup>, 今村 保忠<sup>1,2,3</sup>

工学院大学 <sup>1</sup>大学院工学研究科

<sup>2</sup>工学部 応用化学科 <sup>3</sup>先進工学部 生命化学科

【背景】 fasciaは、伸縮性に富む線維が全身につながるネットワークとなっている。臓器や筋肉等のあらゆる構造物を包んでおり、境界をなしている。内部を体液やリンパ液が流れ、その中を走行する毛細血管や神経、リンパ管を保護したり、直接の情報伝達も行くと考えられている。しかし、臓器や器官によって構造や機能に違いがあるかなど、その全貌はまだ明らかにされていない。

【目的】線維がfasciaをどのように構成しているかを理解するために、fasciaを取り出し、生化学的な処理と光学顕微鏡の観察を組み合わせ、線維構造について調べる。

【実験方法】 (1) トリむね肉の皮と筋肉の間の筋膜を fasciaとした。採取後、6M Urea中でfasciaを4°C、一晩攪拌した。次に、1M グアニジン塩酸を含むPBS溶液中で、氷上にて3分静置した。PBSで洗浄後、elastase処理しこれを試料とした。

(2) コラーゲン線維の可視化には、FITC標識Collagen Hybridizing Peptide (CHP) を用いた。上記の試料にCHP溶液を加え、暗所で一晩静置した。試料をスライドガラス上に広げ、2.5%メチルセルロースで線維を吸着した。その後、カバーガラスを被せ光学顕微鏡で観察した。

(3) エラスチン線維を免疫蛍光染色によって可視化した。コラーゲン線維と同様の方法で、光学顕微鏡で観察した。

【結果と考察】採取試料に6M Urea処理を行うことでコラーゲン線維がはっきり見えるようになった。処理の抽出物はVI型コラーゲンに富んでいたため、I型やIII型コラーゲンからなるコラーゲン線維のコントラストは、VI型コラーゲンのバックグラウンド染色を除去することによって強調されたと考えられる。エラスチン染色はグアニジン塩酸処理をすることにより明瞭になった。この処理により、おそらくエピトープをブロックしていた表面上の成分が除去された、あるいはエラスチンの立体配座を変化させることによって、抗体がエピトープに接近したと推察した。elastase処理ではエラスチン線維が消失したことから、染色の特異性が示された。

キーワード : fascia、筋膜、エラスチン

### Establishment of fiber structure study method of avian fascia

Natsuki Maeda<sup>1</sup>, Shou Katagiri<sup>2</sup>, Yongchol Shin<sup>1,2,3</sup>, Yasutada Imamura<sup>1,2,3</sup>

Kogakuin University <sup>1</sup>Graduate School of Engineering,

<sup>2</sup>Faculty of Engineering, Department of Applied Chemistry,

<sup>3</sup>School of Advanced Engineering, Department of Chemistry and Life Science

[Background] Fascia is a stretchable structure in which fibers are connected to each other continuously throughout the body. It encloses all structures such as organs and muscles and forms boundary between them. Fascia is thought to be a space in which body fluids and lymph fluids flow and enfolds capillary vessels, nerves and lymph vessels. It also may involve in information transfer between separated parts in a body. However, the comprehensive understanding of fascia such as whether there are differences in structure and function between organs, have not yet been clarified.

[Purpose] In order to understand how the fibers constitute fascia, fascia is taken from body and subjected to biochemical treatments followed by observation with optical microscope.

[Experimental method](1) Fascia was striped off from breast meats of chicken. After harvesting, fascia was stirred overnight at 4 ° C in PBS containing 6M Urea. The sample was transferred into PBS solution containing 1M guanidine hydrochloride and stood for 3 min on ice. After washing with PBS, the sample was treated with elastase in some cases.

(2) FITC-labeled Collagen Hybridizing Peptide (CHP) was used for visualizing collagen fibers. CHP solution was added to the fascia samples, it was allowed to stand overnight in the dark. The samples were spread on a slide glass and immobilized with 2.5% methyl cellulose. After overlaid with a cover glass, the specimen was observed with an optical fluorescence microscope.

(3) Elastin fibers were visualized by immunofluorescence staining.

[Results and Discussion] Collagen fiber became clearly visible by performing 6M Urea treatment on the fascia sample. Since the extract by the treatment was rich in type VI collagen, it is thought that the contrast of collagen fibers consisting of type I and type III collagens was enhanced by removing background staining of type VI collagen. Elastin staining became more obvious by treatment with guanidine hydrochloride. The treatment enabled the antibody accessible to epitope, probably by removing blocking components on surface of elastin fiber or changing the conformation of elastin. The result that the staining of fibers was disappeared by elastase treatment, indicates specificity of the staining.

Key words: fascia, fascia, elastin

## 加水分解卵殻膜は III 型コラーゲンに富む弾性のある (ハリのある) 真皮乳頭層を与える

<sup>1</sup> 大戸-藤田恵理、<sup>1</sup> 清水美穂、<sup>1</sup> 佐野将英、<sup>1</sup> 栗本大嗣、<sup>1</sup> 山澤 開、<sup>2</sup> 跡見友章、<sup>3</sup> 桜井隆史、<sup>4</sup> 村上義彦、<sup>4</sup> 高見拓、<sup>5</sup> 村上 智亮、<sup>6</sup> 吉村浩太郎、<sup>7</sup> 長谷部由紀夫、<sup>1</sup> 跡見順子

<sup>1</sup> 農工大材料健康科学、<sup>2</sup> 杏林大理学療法、<sup>3</sup> アステラス再生医療研究所、<sup>4</sup> 農工大有機材料化学、<sup>5</sup> 農工大獣医毒性学、<sup>6</sup> 自治医科大形成外科、<sup>7</sup> 株式会社アルマード

【背景】顔の皮膚の老化の徴候は、寿命および慢性疾患 に関連する。しかし、老化した皮膚の健康は広く研究されて いない。健康な若い皮膚では、真皮は III 型コラーゲンが豊富な真皮乳頭を形成し、毛細血管が酸素と栄養素を基底表皮細胞に供給する。鶏卵殻膜 (ESM) は、アジア諸国の皮膚治療のための民間療法として長年使われてきた。我々は以前に、人工のホスホリルコリンポリマーに結合した可溶化卵殻膜 (S-ESM) を付けた培養皿上でヒト皮膚線維芽細胞 (HDF) を培養する実験系を設計し、S-ESM 環境で誘導される III 型コラーゲンなどの若い乳頭真皮を促進する遺伝子を見出した。【目的】本研究では、皮膚 ECM 物性の加齢変化とそれを分泌する線維芽細胞の S-ESM への応答の関係を明らかにすることを目的とした。【実験方法】III/I 型比率を変えたコラーゲンゲルの動的粘弾性、細胞の代謝活性、マウス皮膚への S-ESM 塗布による ECM 変化、ヒトの実験を行った。【結果と考察】III 型を 20%含有するゲルが 100% I 型コラーゲンゲルより高い弾性をもたらした ( $p < 0.05$ )、そのゲル上の HDF は高いミトコンドリア活性を示した。ヘアレスマウスの皮膚への S-ESM 塗布—皮膚層別遺伝子発現解析により、III 型コラーゲンの有意な増加を見出した。ピクロシリウスレッド染色により、S-ESM 処置後の乳頭真皮において III 型コラーゲンが有意に増加することが示された。さらに、S-ESM 塗布は、ヒトの腕の弾力性を有意に改善し、顔のしわを低減した。本研究は天然素材卵殻膜の健康効果を物性、細胞代謝、組織からヒトへとつないで検証することで、ESM が、III 型コラーゲンの増加により、組織弾性の喪失を減少させることによって、健康寿命延伸に貢献することが示唆された。

## Solubilized eggshell membrane supplies a type III collagen-rich elastic dermal papilla

<sup>1</sup>Eri Ohto-Fujita, <sup>1</sup>Miho Shimizu, <sup>1</sup>Shoei Sano, <sup>1</sup>Masashi Kurimoto, <sup>1</sup>Kai Yamazawa, <sup>2</sup>Tomoaki Atomi, <sup>3</sup>Takashi Sakurai, <sup>4</sup>Yoshihiko Murakami, <sup>4</sup>Taku Takami, <sup>5</sup>Tomoaki Murakami, <sup>6</sup>Kotaro Yoshimura, <sup>7</sup>Yukio Hasebe, <sup>1</sup>Yoriko Atomi Atomi  
<sup>1</sup>Material Health Science Lab., Tokyo University of Agriculture and Technology (TUAT), <sup>2</sup>Department of Physical Therapy, Kyorin University, <sup>3</sup>Astellas Institute for Regenerative Medicine, <sup>4</sup>Department of Organic and Polymer Materials Chemistry, TUAT, <sup>5</sup>Laboratory of Veterinary Toxicology, TUAT, <sup>6</sup>Department of Plastic Surgery, Jichi Medical University, <sup>7</sup>Almado inc

[Introduction] Signs of aging in facial skin correlate with lifespan and chronic disease; however, the health of aging skin has not been extensively studied. In healthy young skin, the dermis forms a type III collagen-rich dermal papilla, where capillary vessels supply oxygen and nutrients to basal epidermal cells. Chicken eggshell membranes (ESMs) have been used as traditional medicines to promote skin wound healing in Asian countries for many years. Previously, we designed an experimental system in which human dermal fibroblasts (HDFs) were cultured on a dish with a solubilized ESM (S-ESM) bound to an artificial phosphorylcholine polymer; we found that genes that promoted the health of the papillary dermis, such as those encoding type III collagen were induced in the S-ESM environment. [Purpose] In this study, we aimed to clarify the relationship between skin ECM physical properties and response to fibroblasts to S-ESM. [Materials & Methods] Dynamic viscoelasticity of collagen gel with different III / I type ratio, metabolic activity of cells, ECM change by S-ESM application to mouse skin, human experiments were carried out. [Results and Discussion] A gel with a ratio of 20% type III collagen, similar to that of the baby skin resulted in a higher elasticity than 100% type I ( $p < 0.05$ ) and that HDFs on the gel showed high mitochondrial activity. Further evaluations to identified the effects of S-ESM on gene expression in the skin of hairless mice and found significant increase of type III collagen in S-ESM. Picrosirius Red staining supported the type III-rich papillary dermis after S-ESM treatment. Moreover, S-ESM application significantly improved human arm elasticity and reduced facial wrinkles. Thus, ESMs may have applications in extending lifespan by reducing the loss of tissue elasticity through the increase of type III collagen.

キーワード：卵殻膜、真皮乳頭層、III 型コラーゲン

Key words: eggshell membrane, papillary dermis, type III collagen

## B2-2\* (P52)

### 自発的な構造変換により変性コラーゲンへの結合能を獲得するペプチドの設計と合成

金井沙也伽、小出隆規

早稲田大学先進理工学研究科化学・生命化学専攻

様々な疾患は、コラーゲンの変性を伴うと考えられている<sup>(1)</sup>。よって変性コラーゲンに結合する化合物は疾患部のイメージングやドラッグデリバリーへの応用が期待される。Yu らのグループは、Pro-Hyp-Gly (Hyp: 4-hydroxyproline)の繰り返し配列をもつ collagen-mimetic peptides (CMPs)が変性コラーゲンとハイブリッド形成する能力に着目した研究を行っている<sup>(2)</sup>。また、当研究室では CMP を 2 本平行に束ねた環状 CMP を合成し、変性コラーゲンへの結合親和性を一本鎖 CMP の約 150 倍にまで向上させた<sup>(3)</sup>。この環状 CMP を用いた *in vivo* の実験では、悪性腫瘍への CMP の集積が確認された。しかし、これらの CMP は自己集合能を有するため、投与直前に（加熱）変性処理を必要とする。そこで、本研究では直前の変性処理を必要としない CMP の開発を目的とした分子改変を行った。

Pro-Hyp-Gly の繰り返し配列中に *O*-アシルイソアミノ酸を導入したエステル体の CMP を設計し、これを化学合成した。ELISA を用いた変性コラーゲンへの結合能評価より、エステル体の CMP は、直前に変性処理せずとも、系内で *O*→*N*アシル転位することでアミド体となり、変性コラーゲンへの結合能を獲得することが明らかになった。

したがって、*O*-アシルイソアミノ酸を導入したエステル体の CMP は、生体内で活性物へと変換されるプロドラッグとして、*in vivo* の実験への応用が期待される。

(1) H. Wahyudi *et al.*, *J Control Release*. 2016, **240**, 323-331.

(2) Wang *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.* 2005, **127**, 4130-4131.

(3) K. K. Takita *et al.*, *ChemBioChem*. 2018, **19**, 1613-1617.

### Design and synthesis of a peptide that acquires denatured collagen-binding ability by a spontaneous structural rearrangement

S. Kanai, T. Koide

Department of Chemistry and Biochemistry, School of Advanced Science and Engineering, Waseda University

Several diseases are known to be accompanied by local denaturation of collagen<sup>(1)</sup>. Thus, peptides that detect denatured collagen would be useful in theranostics for such diseases. Collagen-mimetic peptides (CMPs) that consist of Pro-Hyp-Gly (Hyp: 4-hydroxyproline) repeated sequences have been reported to hybridize with denatured collagen<sup>(2)</sup>. We have previously developed cyclic CMPs with improved denatured collagen-binding affinity<sup>(3)</sup>. They have been further applied to *in vivo* fluorescent imaging of tumors in mice. However, the CMPs have a self-assembling propensity which compete with desired hybridization with denatured collagen. Therefore, they have to be denatured just before use. To minimize such a troublesome handling procedure, we have successfully developed a pre-denaturation-free CMP.

We chemically introduced an *O*-acyl-isopeptide unit into the peptide chain. The resulting ester-type CMP spontaneously formed native amide-type peptides in physiological pH by *O*-*N* acyl migration. As expected, the ester-type CMP lost its self-assembling property. ELISA assay revealed that the CMP acquired the ability to hybridize with collagen after *in situ* conversion of the ester to the corresponding amide.

Based on the results, possible applications of the prodrug type CMP to *in vivo* studies will be discussed.

(1) H. Wahyudi *et al.*, *J Control Release*. 2016, **240**, 323-331.

(2) Wang *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.* 2005, **127**, 4130-4131.

(3) K. K. Takita *et al.*, *ChemBioChem*. 2018, **19**, 1613-1617.

キーワード： コラーゲン ペプチド

Key words: collagen peptide

## B2-3

### コラーゲン結合タンパク質に結合する3重らせん配列を取得する酵母-2-ハイブリッドシステムの確立

<sup>1</sup> 増田亮、<sup>1</sup> 富永裕貴、<sup>2</sup> 門之園哲哉、<sup>1</sup> 小出隆規

<sup>1</sup> 早稲田大学 先進理工学部

<sup>2</sup> 東京工業大学 生命理工学術院

【背景】コラーゲン3重らせん上には、様々な機能性タンパク質と結合する配列が提示されている。これらの配列の同定は、コラーゲンの構造の一部を模倣した化学合成3重らせんペプチドによってなされてきた<sup>1,2</sup>。したがって、コラーゲン結合性タンパク質が結合する3重らせん配列の情報は、天然コラーゲン上に存在する配列に限定して取得されてきた。

【目的】ランダムな配列を有する3重らせんペプチドの分子集団を酵母内に構築し、その中から標的タンパク質に相互作用する3重らせん配列を酵母-2-ハイブリッド(Y2H)法によって取得する系を確立する。

【実験方法】Y2H法では、同一酵母内に発現させた3重らせんペプチドと標的タンパク質が相互作用するとレポーター遺伝子が発現するため、選択培地によるセクションが可能となる。本研究では、標的タンパク質としてインテグリン $\alpha 1\beta 1$ および $\alpha 2\beta 1$ のコラーゲン結合ドメイン( $\alpha 1I$ ドメインおよび $\alpha 2I$ ドメイン)を採用した。

【結果と考察】 $10^6$ 程度の多様性を有するランダムな3重らせんペプチドを発現する酵母ライブラリを構築した。この酵母ライブラリ中から、ペプチドと $\alpha 1I$ ドメインあるいは $\alpha 2I$ ドメインと相互作用するクローンをそれぞれ取得することができた。本発表では、得られた3重らせんペプチドの標的的特異性についても結果を報告する。

1. Raynal, N. *et al. J. Biol. Chem.* **281**, 3821 (2006).

2. Hamaia SW. *et al. J. Biol. Chem.* **287**, 26019 (2012).

### A yeast two-hybrid screening system for obtaining triple-helical peptides interacting with collagen-binding proteins

<sup>1</sup> Ryo Masuda, <sup>1</sup> Hiroki Tominaga, <sup>2</sup> Tetsuya Kadonosono, <sup>1</sup> Takaki Koide

<sup>1</sup> Waseda University

<sup>2</sup> Tokyo Institute of Technology

[Introduction] There are various protein-binding sequences on the collagen triple helix. They were mainly identified by utilizing chemically synthesized triple-helical peptides which mimic parts of collagen molecules.

[Purpose] To prepare a peptide library containing random triple-helical sequences in yeast cells, and to develop a yeast two-hybrid (Y2H) system for obtaining the peptides which interact with proteins of interest.

[Materials & Methods] In this research, we selected binding sequences against integrin  $\alpha 1\beta 1$  and  $\alpha 2\beta 1$  ( $\alpha 1I$  and  $\alpha 2I$  domains, respectively) domains.

[Results and Discussion] We prepared a random triple-helical peptide library of  $10^6$  diversity. From the library, we selected positive clones that showed Y2H interaction with  $\alpha 1I$  or  $\alpha 2I$  domain. In this presentation, we will show binding specificity of novel triple-helical peptides identified.

キーワード：コラーゲン,コラーゲン結合性タンパク質,3重らせんペプチド

Key words: collagen, collagen-binding proteins, triple-helical peptides

## B2-4

### 特発性上葉優位型肺線維症における肺動脈リモデリングの特徴

木下 義晃<sup>1, 2</sup>、渡辺 憲太朗<sup>2</sup>、濱崎 慎<sup>1</sup>、藤田 昌樹<sup>2</sup>、鍋島 一樹<sup>1</sup>

<sup>1</sup>福岡大学病院 病理部・病理診断科

<sup>2</sup>福岡大学病院 呼吸器内科

【背景】特発性上葉優位型肺線維症 (idiopathic pleuroparenchymal fibroelastosis: 以下 IPPFE) は上肺野の胸膜下を病変の主座とし、組織学的に肺胞壁の弾性線維化と肺胞腔内膠原線維化を特徴とする原因不明の間質性肺炎である。我々はこれまで、IPPFE では特発性肺線維症 (idiopathic pulmonary fibrosis: 以下 IPF) と比較して有意に弾性線維が増加し、リンパ管増生が認められることを報告した。本研究では IPPFE の肺動脈における組織学的変化について検討した。

【方法】IPPFE 18 例、IPF 30 例、正常肺 5 例を検討した。各症例の肺切片を EvG 染色し、150-1000  $\mu\text{m}$  の血管外径を持つ肺動脈を抽出した。血管外径に占める内膜、中膜、外膜厚の割合 (%) 及び中膜面積に占める弾性線維の割合 (%) を定量した。

【結果】1) 中膜の検討では、IPF または IPPFE の中膜厚は正常肺に比べ有意に高値であった。また IPF と IPPFE の中膜厚は同等であった。外膜の検討では、IPF の外膜厚は正常肺と同等であったが、IPPFE の外膜厚は正常肺や IPF より有意に高値であった。

2) 中膜に占める弾性線維の割合は、IPF および IPPFE では正常肺に比べ有意に高値であった。また IPPFE における中膜に占める弾性線維の割合は IPF より有意に高値であった。

【結語】筋性動脈におけるリモデリングの組織学的特徴は IPPFE と IPF とでは異なり、IPPFE では中膜弾性線維の増加と外膜の膠原線維による肥厚が特徴である。

キーワード：弾性線維、肺動脈、中膜

### Remodeling of pulmonary artery in idiopathic pleuroparenchymal fibroelastosis

Yoshiaki Kinoshita<sup>1, 2</sup>, Kentaro Watanabe<sup>2</sup>, Makoto Hamasaki<sup>1</sup>, Masaki Fujita<sup>2</sup>, Kazuki Nabeshima<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Pathology, Fukuoka University School of Medicine and Hospital

<sup>2</sup>Department of Respiratory Medicine, Fukuoka University Hospital

[Introduction] Idiopathic pleuroparenchymal fibroelastosis (IPPFE) is a rare subtype of interstitial pneumonia that consists of alveolar septal elastosis and intra-alveolar collagenosis, predominantly in the upper lobes. We previously showed that intense elastosis and proliferation of lymphatic vessels within the fibrotic tissue are distinct histological features of IPPFE. In this study, we examined the characteristics of remodeling of pulmonary arteries in IPPFE patients.

[Materials & Methods] This study included 18 patients with IPPFE, 30 patients with IPF, and 5 patients with normal lungs. On EVG-stained slides, we selected pulmonary arteries with the external diameter of 150-1000  $\mu\text{m}$  and calculated the percentage of the thickness of each layer of the wall (intima, media, and adventitia) to the external diameter. In addition, we quantified the percentage of elastic fibers in the media of pulmonary arteries (elastic fiber score, EFS).

[Results] 1) Medial thickness in IPF or in IPPFE was significantly higher than that in normal lung. Medial thickness in IPF was equivalent to that in IPPFE. The adventitial thickness was equivalent between normal lung and IPF, while, the adventitial in IPPFE was significantly thicker than that in IPF.

2) EFS in IPF and in IPPFE was significantly higher than that in normal lung. IPPFE showed higher EFS than that of IPF.

[Conclusion] Histologic pattern of remodeling in muscular pulmonary arteries was different between IPPFE and IPF; medial elastosis and fibrous thickening of the adventitia were distinct features of IPPFE.

Key words: elastic fiber, pulmonary artery, media endothelial cell, gel

## B2-5

### 骨格筋の線維化に対するベルト電極式骨格筋電気刺激法の介入効果

本田祐一郎<sup>1,2)</sup>, 田中なつみ<sup>1,2)</sup>, 梶原康宏<sup>2)</sup>, 稲富裕也<sup>2)</sup>, 片岡英樹<sup>2)</sup>, 坂本淳哉<sup>2)</sup>, 近藤康隆<sup>2)</sup>, 縄田 厚<sup>3)</sup>, 沖田 実<sup>2)</sup>

- 1) 長崎大学病院リハビリテーション部
- 2) 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科運動障害リハビリテーション学研究室
- 3) アルケア株式会社

骨格筋の伸張性低下に由来する関節運動制限は筋性拘縮と呼ばれ, その主要な病態はコラーゲンの過剰増生に起因した骨格筋の線維化である. そして, これまでの自験例の結果から, 骨格筋の線維化の発生メカニズムの上流には筋核のアポトーシスを契機としたマクロファージの集積とそれに伴う筋線維萎縮の発生が関与すると予想している. つまり, この発生メカニズムを踏まえると, 骨格筋の線維化を予防するためには筋線維萎縮に対して効果的な介入戦略が必要であり, 最近開発されたベルト電極式骨格筋電気刺激法 (Belt electrode-skeletal muscle electrical stimulation ; B-SES) は下肢の広範囲の骨格筋に筋収縮が誘発できることから, 有効な介入戦略になると推測される. そこで, 本研究では 2 週間の不動によって惹起されるラットヒラメ筋の線維化に対する B-SES の効果を検証した. 結果, 不動処置のみ群 (不動群) と不動の過程で B-SES による筋収縮運動を負荷した群 (B-SES 群) の足関節背屈可動域と筋線維横断面積は無処置の対照群より有意に低値であったが, この 2 群を比較すると B-SES 群が有意に高値であった. また, B-SES 群の筋核数は不動群よりも有意に高値で, 対照群との有意差を認めなかった. さらに, B-SES 群のマクロファージ数や線維化関連分子である IL-1 $\beta$ , TGF- $\beta$ 1,  $\alpha$ -SMA それぞれの mRNA 発現量ならびにコラーゲン含有量は不動群よりも有意に低値で, 対照群との有意差も認めなかった. 以上のことから, B-SES による筋収縮運動は筋線維萎縮と線維化の発生を抑制する効果があり, このことが足関節背屈可動域制限の進行抑制効果につながったと推察される. つまり, B-SES による筋収縮運動は筋性拘縮の予防戦略として有用であることが示唆された.

キーワード: 線維化, B-SES, 筋収縮運動

Effect of belt electrode-skeletal muscle electrical stimulation for immobilization-induced muscle fibrosis  
Yuichiro Honda<sup>1, 2)</sup>, Natsumi Tanaka<sup>1, 2)</sup>, Yasuhiro Kajiwara<sup>2)</sup>, Yuya Inadomi<sup>2)</sup>, Hideki Kataoka<sup>2)</sup>, Junya Sakamoto<sup>2)</sup>, Yasutaka Kondo<sup>2)</sup>, Atsushi Nawata<sup>3)</sup>, Minoru Okita<sup>2)</sup>

- 1) Department of Rehabilitation, Nagasaki University Hospital
- 2) Laboratory of Locomotive Rehabilitation Science, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences
- 3) ALCARE Co., Ltd

Muscle contracture is limited range of joint motion from organic alteration of skeletal muscle, muscle fibrosis induced by collagen overexpression is main lesion. From our pilot studies, muscle atrophy via macrophages accumulation with myonuclear apoptosis may relate to the mechanism of muscle fibrosis. Namely, an intervention strategy suppressing muscle atrophy is necessary for preventing immobilization-induced muscle fibrosis, belt electrode-skeletal muscle electrical stimulation (B-SES) that contract wide range of lower limb muscles may be an effective intervention strategy. Therefore, present study confirmed that effect of muscle contractile exercise by B-SES for muscle fibrosis in 2-week immobilized rat soleus muscles. In the result, range of motion on dorsiflexion and muscle cross section area in the immobilization group (with fixation of both ankle joints for 2 weeks) and B-SES group (with muscle contractile exercise by B-SES induced in the soleus muscle in the immobilization period) was significantly lower than that in the control group, and these parameters were higher in the B-SES group than in the immobilization group. The number of myonuclei in B-SES group was higher than immobilization group, this parameter was no significant difference between B-SES and control group. Additionally, the number of macrophages, IL-1 $\beta$ , TGF- $\beta$ 1, and  $\alpha$ -SMA mRNA expression, and collagen content were higher than immobilization group, this parameter was no significant difference between B-SES and control group. In summary, muscle contractile exercise by B-SES prevented of muscle atrophy and muscle fibrosis, these changes led to suppression of limited range of motion on dorsiflexion. In other words, muscle contractile exercise by B-SES is effective against muscle contracture.

Key words: fibrosis, B-SES, muscle contractile exercise

## 骨格筋の線維化の発生に関わるマクロファージ集積機序の検討

田中なつみ<sup>1,2</sup>, 本田祐一郎<sup>1,2</sup>, 梶原康宏<sup>1,2</sup>, 片岡英樹<sup>2,3</sup>, 坂本淳哉<sup>4</sup>, 沖田 実<sup>4</sup>

<sup>1</sup>長崎大学病院リハビリテーション部

<sup>2</sup>長崎大学大学院医歯薬学総合研究科運動障害リハビリテーション学研究室

<sup>3</sup>社会医療法人長崎記念病院リハビリテーション部

<sup>4</sup>長崎大学生命医科学域

これまでわれわれは、骨格筋の線維化によって引き起こされる筋性拘縮の発生メカニズムにマクロファージの集積が強く関与することを報告してきた。しかし、その詳細な機序については明らかにできていない。一方、先行研究では骨格筋の線維化が発生する際には筋線維萎縮も併発し、これには筋核のアポトーシスが影響するとされている。つまり、筋核のアポトーシスによって筋線維萎縮が発生し、不要となった細胞質領域の処理のためにマクロファージが集積するのではないかと仮説できる。そこで、本研究では1, 2週間弛緩位で不動化したラットヒラメ筋を検索材料として用い、上記の仮説を検証した。その結果、不動1, 2週ともに筋核のアポトーシスの指標であるTUNEL陽性細胞数、マクロファージの指標であるCD11b陽性細胞数ならびにその遊走因子であるMCP-1 mRNA発現量、線維化の指標であるタイプI・IIIコラーゲン mRNA発現量は対照群より有意に高値で、筋線維横断面積と筋核数は対照群よりも有意に低値を示した。また、一つの筋核が制御する細胞質領域の指標である筋核ドメインは不動1週では対照群との有意差を認めず、不動2週で対照群よりも有意に高値を示した。さらに、不動期間の違いによる比較では、筋線維横断面積と筋核ドメインのみ不動2週が不動1週よりも有意に低値を示した。すなわち、不動化した骨格筋では筋核のアポトーシスが発生し、このことが筋線維萎縮の発生に直接的な影響をおよぼし、これを契機にマクロファージが集積すると考えられ、このような機序が骨格筋の線維化の発生メカニズムに関与している可能性が示唆された。

## Mechanisms of macrophage accumulation related to development of skeletal muscle fibrosis

Natsumi Tanaka<sup>1,2</sup>, Yuichiro Honda<sup>1,2</sup>, Yasuhiro Kajiwara<sup>1,2</sup>, Hideki Kataoka<sup>2,3</sup>, Junya Sakamoto<sup>4</sup>, Minoru Okita<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Department of Rehabilitation, Nagasaki University Hospital

<sup>2</sup>Laboratory of Locomotive Rehabilitation Science, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences

<sup>3</sup>Department of rehabilitation, Nagasaki Memorial hospital

<sup>4</sup>Institute of Biomedical Sciences, Nagasaki University

We have reported that macrophage accumulation is strongly involved in the mechanism of the development of muscle contracture caused by fibrosis of skeletal muscle. However, the mechanisms underlying macrophage accumulation are unclear. On the other hand, previous studies reported that myonuclear apoptosis affect muscle fiber atrophy occurring at the same time skeletal muscle fibrosis. Therefore, we hypothesized that macrophages accumulated for processing unnecessary cytoplasmic regions induced by muscle fiber atrophy via myonuclear apoptosis. Accordingly, we examined the hypothesis with 1- and 2-week immobilized rat soleus muscles. In the results, at each time points, TUNEL-positive cells as apoptotic markers, CD11b-positive cells as macrophage markers, monocyte chemotactic protein (MCP)-1, and type I・III collagen as fibrotic marker in the immobilization group were significantly higher than those in the control group. The number of myonuclei and cross sectional area (CSA) were significantly lower in the immobilization group than those in the control group at both time points. In addition, myonuclear domain size as dominant area per myonucleus was significantly lower in the immobilization group than that in the control group at 2 weeks after immobilization. Only the CSA and myonuclear domain size at 2 weeks were significantly lower than that at 1 week in the immobilization group. In summary, we surmised that the macrophages accumulation occurred by muscle fiber atrophy via myonuclear apoptosis, and these alteration may related to the developmental mechanisms of immobilized-induced muscle fibrosis.

キーワード：線維化、マクロファージ、アポトーシス

Key words: fibrosis, macrophages, apoptosis

## B2-7 (P53)

### クロムレザー中の抑制剤による6価クロム生成抑制のメカニズム

<sup>1</sup> 大形公紀、<sup>1,2</sup> 服部俊治、<sup>3</sup> 吉村圭司、<sup>4</sup> 高橋幸資

<sup>1</sup> 一般財団法人 日本皮革研究所

<sup>2</sup> 株式会社ニッピ バイオマトリックス研究所

<sup>3</sup> 一般社団法人 日本皮革産業連合会

<sup>4</sup> 東京農工大学 農学部

#### 【要旨】

3(2)-*t*-ブチル-4-ヒドロキシアニソール (BHA)、アスコルビン酸 (AsA)、およびコラーゲンペプチド (CP) からなる混合抑制剤を用いた、クロムレザーからの6価クロム (Cr<sup>6+</sup>) 生成の完全な抑制が達成されたことをこれまでに報告している。本研究では、抑制剤の併用による抑制メカニズムの解明を以下の3つの観点から検討を行った。1) クロムレザー中の脂質の酸化生成物からラジカルを除去することによる3価クロム (Cr<sup>3+</sup>) のCr<sup>6+</sup>への変換の阻害、2) 還元条件の変化、3) CPとのキレート化によるCr<sup>3+</sup>錯体の安定化について検討を行った。抑制剤で処理したクロムレザーから抽出した脂質の電子スピン共鳴 (ESR) に測定では、フリーラジカルがBHAによって消光されることを示した。AsAは脂質のカルボニル価および過酸化価を低下させることから、AsAの還元作用の有用性を示した。クロムレザーの0.1mol/Lのリン酸カリウム緩衝液 (pH 5.5) を用いた抽出液にCPを添加すると、その濃度に応じてCr<sup>3+</sup>のCr<sup>6+</sup>への変換が抑制されることから、CPのキレート化による安定化が示唆された。このように、混合抑制剤によるクロムレザーのCr<sup>6+</sup>生成の完全な抑制は、BHAのラジカル捕捉作用、AsAによる還元作用およびCPによるキレート作用によって達成できることが明らかになった。

### Inhibition Mechanism of Formation of Hexavalent Chromium in Chrome-Tanned Leather with Combined Inhibitors

<sup>1</sup> Koki Ogata, <sup>1</sup>Shunji Hattori, <sup>3</sup> Keiji Yoshimura and <sup>4</sup> Koji Takahashi

<sup>1</sup> Japan Institute of Leather Research

<sup>2</sup> Nippi Research Institute of Biomatrix

<sup>3</sup> Japan Leather and Leather Goods Industries Association

<sup>4</sup> Tokyo University of Agriculture and Technology

#### [Abstract]

It has been reported that the perfect inhibition of hexavalent chromium (Cr<sup>6+</sup>) formation from Cr-tanned leather with combined inhibitors consisting of 3(2)-*t*-butyl-4-hydroxyanisole (BHA), ascorbic acid (AsA), and collagen peptide (CP) was achieved. In this study, the inhibition mechanism with combined inhibitors was investigated according to the following three viewpoints; 1) inhibition of conversion of trivalent chromium (Cr<sup>3+</sup>) to Cr<sup>6+</sup> by scavenging radicals from the oxidative products of the lipid in the Cr-tanned leather, 2) alterations in the reducing conditions, and 3) stabilization of Cr<sup>3+</sup>-complex by chelating with CP. Electron Spin Resonance of the lipid extracted from the Cr-tanned leather treated with combined inhibitors showed that free radicals were quenched by BHA. AsA depressed the carbonyl value and peroxide value of the lipid, indicating usability of the reducing action of AsA. Adding CP to the extract with 0.1 mol/L potassium phosphate buffer (pH 5.5) of the Cr-tanned leather showed that the conversion of Cr<sup>3+</sup> to Cr<sup>6+</sup> was inhibited depending on its concentration, suggesting stabilization by chelation of CP. It is thus clarified that the perfect inhibition of the Cr<sup>6+</sup> formation in chrome-tanned leather with combined inhibitors could be achieved through the radical scavenging action of BHA, alterations in the reducing conditions with AsA, and chelating action with CP.

キーワード：6価クロム,抑制剤,抑制メカニズム

Key words: Hexavalent chromium, Combined inhibitors, Mechanism of inhibition

## B2-8 (P54)

**演題名: Lumican 欠失マウスでは角膜実質創傷治癒が遅延する**

筆者: <sup>1</sup>鈴木映美、<sup>1</sup>住岡孝吉、<sup>1</sup>岡田由香、<sup>1</sup>宮嶋正康、  
<sup>2</sup>Chia-Yang Liu<sup>2</sup>、<sup>3</sup>Winston W.-Y.Kao、<sup>1</sup>雑賀司珠也

<sup>1</sup>和歌山県立医科大学眼科学教室

<sup>2</sup>インディアナ大学

<sup>3</sup>シンシナティ大学

**【背景】** Lumican はケラタン硫酸プロテオグリカンのコア蛋白質の一種であり、角膜でコラーゲン線維配列制御、上皮治癒、局所炎症に関与している。

**【目的】** Lumican ノックアウト (KO) マウスを用いて、角膜実質切開創の創傷治癒過程における Lumican の役割を検討すること。

**【実験方法】** KO マウス (n=11) 及び野生型 C57BL/6J マウス (WT、n=11) を用い、マイクロサージカルナイフで片眼の角膜中央部に幅 1.8mm の角膜全層切開モデルを作成した。一定期間後、組織学的に創癒合率を創断端距離の評価から統計評価した。免疫組織化学的に F4/80 マクロファージ抗原、 $\alpha$  平滑筋アクチン ( $\alpha$  SMA、筋線維芽細胞マーカー)、フィブロネクチン発現を検討した。WT (n=20) 及び KO マウス (n=20) の治癒過程の角膜での、F4/80、 $\alpha$  SMA、コラーゲン 1a1 の mRNA 発現を real-time RT-PCR 法で評価した。

**【結果と考察】**

創断端距離の評価から lumican 遺伝子欠失角膜では WT マウスと比較し、5 日目で角膜実質の癒合治癒が有意に遅延していた。免疫組織化学的検討では lumican 欠損は筋線維芽細胞の出現を抑制していたが、フィブロネクチンの蛋白質発現には影響しなかった。治癒過程 3 日後での real-time RT-PCR 法より  $\alpha$  SMA mRNA 発現が KO 角膜で抑制されていた。F4/80 mRNA 発現から見たマクロファージ浸潤は KO マウスで促進されていた。コラーゲン 1a1 発現に差異は検出されなかった。

Lumican は角膜実質切開創の健全な治癒に必要である。

**Lacking lumican impairs stromal healing in a mouse cornea**

<sup>1</sup>Eimi Suzuki, <sup>1</sup>Takayoshi Sumioka, <sup>1</sup>Yuka Okada, <sup>1</sup>Masayasu Miyajima <sup>2</sup>Chia-Yang Liu, <sup>3</sup>Winston W.-Y.Kao, <sup>1</sup>Shizuya Saika

<sup>1</sup>Wakayama Medical University, Wakayama, Japan

<sup>2</sup>School of Optometry, Indiana University

<sup>3</sup>Department of Ophthalmology, University of Cincinnati

**【Introduction】** Lumican is the family of small leucine-rich proteoglycan that is involved in modulation of collagen fiber arrangement, epithelial repair or local inflammation.

**【Purpose】** To determined in mice if loss of lumican affects the process of the wound healing in the stroma of an incision-injured cornea.

**【Materials & Methods】** Lumican-null (KO) mice (n=31) or C57BL/6J (WT) mice (n=31) were used. A full-thickness penetrating incision injury (1.8 mm in length) was produced in the central cornea by using a micro surgical knife under general anesthesia. The injury was not sutured. Oat day 5 post-injury the eyes were processed for histology and immunohistochemistry for wound healing-related components. The degree of wound healing was examined based on the distance between each corneal stromal cutting edge in sections. Another sets of samples at day 3 were processed for RNA extraction and for real-time RT-PCR.

**【Results and Discussion】** Healing of incision injury in corneal stroma was delayed by the loss of lumican as observed with the WT samples at day 5. Immunohistochemical examination showed less population of  $\alpha$ -smooth muscle actin ( $\alpha$ SMA)-positive myofibroblasts. Loss of lumican suppressed mRNA expression of  $\alpha$ SMA. Macrophage infiltration as evaluated by F4/80 mRNA expression was promoted in KO. There was no significant difference in the expression level of collagen 1a1 between WT and KO tissues. Lumican is essential to the normal tissue repair in corneal stroma in mice.

キーワード: Lumican、角膜実質、創傷治癒

Key words: Lumican, corneal stroma, wound healing

## B2-9\* (P55)

### 糖化タンパク質受容体 RAGE の新奇内因性リガンドとしてのコラーゲン架橋分子ピリジノリンの同定

<sup>1</sup> 村上庸人、<sup>1</sup> 藤野峻行、<sup>1</sup> 倉知遼太郎、<sup>1</sup> 長谷川俊樹、  
<sup>2</sup> 白井照幸、<sup>1</sup> 早瀬文孝、<sup>1</sup> 渡辺寛人

<sup>1</sup> 明治大学農学部

<sup>2</sup> 女子栄養大学栄養学部

【背景】 糖尿病患者の体内ではタンパク質が糖とメイラード反応をおこし、複雑な翻訳後修飾である Advanced glycation end-products (AGEs) が生成する。組織に蓄積した AGEs は受容体 RAGE との相互作用を介して細胞の機能障害をひきおこし、糖尿病合併症の発症に関与する。われわれは近年、多様な AGE 構造のうち、3-ヒドロキシピリジニウム (3HP) 構造を有する特定の AGE が RAGE に結合し、細胞毒性を示すことを見出している。一方、健常者の体内で RAGE が 3HP 構造を認識する生理的意義は不明である。ピリジノリンは 3HP 構造をもつ内因性のコラーゲン架橋構造であり、コラーゲン分解のバイオマーカーとして知られているが、受容体を介した作用についての報告はない。

【目的】 本研究は「ピリジノリンが RAGE の内因性のリガンドとして機能する」という仮説の当否を明らかにすることを目的として解析を行った。

【実験方法】 ウシアキレス腱を 6M 塩酸中で加水分解した後、各種クロマトグラフィーによりピリジノリンを単離した。ピリジノリンと RAGE の直接的な相互作用は Biacore を用いた表面プラズモン共鳴法により検証した。さらに、培養細胞の遺伝子発現に対するピリジノリンの作用を Real-time PCR により解析した。

【結果と考察】 ピリジノリンが高度に精製されたことを逆相 HPLC 分析により確認した。表面プラズモン共鳴解析においてはピリジノリンと RAGE の直接的な結合が示され、解離定数  $K_D$  は  $4.38 \times 10^{-5}$  (M) であった。さらに、培養細胞系においてピリジノリンが特定の遺伝子の発現を調節することが明らかとなった。以上の結果からピリジノリンが RAGE の内因性のリガンドとして機能し、細胞に作用しうることが示唆された。

キーワード： RAGE、ピリジノリン、コラーゲン

### Identification of pyridinoline, a collagen cross-link, as a novel intrinsic ligand for the receptor for advanced glycation end-products

<sup>1</sup> Yoto Murakami, <sup>1</sup> Takayuki Fujino, <sup>1</sup> Ryotaro Kurachi, <sup>1</sup> Toshiki Hasegawa, <sup>2</sup> Teruyuki Usui, <sup>1</sup> Fumitaka Hayase, <sup>1</sup> Hirohito Watanabe

<sup>1</sup> Faculty of Agriculture, Meiji University

<sup>2</sup> Faculty of Nutrition, Kagawa Nutrition University

[Introduction] Heterogeneous post-translational modification called advanced glycation end-products (AGEs) are formed on tissue or serum proteins under diabetic conditions. AGEs-modified proteins are involved in the pathogenesis of diabetic complications, through an interaction with the receptor for AGEs (RAGE). We recently revealed that RAGE specifically recognizes 3-hydroxypyridinium (3HP)-containing AGEs and evokes cytotoxicity. However, the physiological significance of 3HP recognition by RAGE remains unclear. Pyridinoline (Pyr) is an endogenous collagen cross-link containing the 3HP moiety. Although Pyr has been used as a biomarker of collagen degradation, no possible physiological effects or receptors of Pyr have been characterized.

[Purpose] We aimed to examine the hypothesis that Pyr is a novel intrinsic ligand for RAGE.

[Materials & Methods] Pyr was isolated from the hydrolysate of bovine achilles tendons by several chromatographic separations. Physical interaction between Pyr and RAGE was evaluated by surface plasmon resonance (SPR) analysis using a Biacore system. Effects of Pyr on gene expression of cultured cells were assessed by real-time PCR analyses.

[Results and Discussion] Highly purified Pyr was detected on reversed-phase HPLC analysis. Direct binding of Pyr to RAGE was observed on SPR assays, and the  $K_D$  value was  $4.38 \times 10^{-5}$  (M). Real-time PCR analyses showed that Pyr regulates expression of several genes on cultured cells. These results suggest that Pyr acts as an intrinsic ligand for RAGE and subsequently modulates cellular functions.

Key words: RAGE, Pyridinoline, Collagen

## B2-10\* (P56)

### Tenascin-C は p38 MAP キナーゼ経路を介してリンパ管新生を抑制し2次性リンパ浮腫を増悪させる

<sup>1</sup> 加藤大祐、<sup>1</sup> 白木裕太、<sup>1</sup> 吉田利通、<sup>1</sup> 今中恭子

<sup>1</sup> 三重大学大学院医学系研究科修復再生病理学

#### 【背景】

Tenascin-C (TNC) は癌組織や組織リモデリングの際に発現するが、近年、組織修復におけるリンパ管新生の重要性が注目されている。

#### 【目的】

TNC がリンパ管新生に及ぼす影響を解明する。

#### 【実験方法】

in vitro の評価はヒト皮膚リンパ管内皮細胞 (HDLEC) を用い、in vivo の評価は WT と TNC-KO マウスを用いて尾部リンパ浮腫モデルを作成し、評価した。

#### 【結果】

2 次性リンパ浮腫モデルマウスの検討では、WT と比較して TNC-KO マウスで有意に尾部リンパ浮腫が軽減していた。このメカニズムについて in vitro で検討を行った。TNC 投与で HDLEC は有意に細胞数が減少し、さらに TNC 添加群では Ki-67 陽性細胞の減少、cleaved caspase-3 陽性細胞の増加が見られた。これらの結果は TNC が HDLEC の細胞増殖を抑制し、アポトーシスを誘導することを示唆した。また TNC は HDLEC のチューブ形性能を有意に低下させた。次にこれらの変化に関与するシグナル経路について探索を行った。TNC 添加後 30 分より p38 MAPK のリン酸化レベルが有意に増加し、さらに上流の MKK3/6 と下流の転写因子である ATF2 のリン酸化レベルも優位に増加した。TNC と共に P38 MAPK 阻害剤 (SB203580) を投与すると TNC 添加に伴う変化は抑制された。

#### 【結果】

Tenascin-C は p38 MAP kinase 経路を介して、リンパ管新生を抑制する。

### Tenascin-C inhibits lymphangiogenesis via p38 MAP kinase pathway and exacerbates secondary lymphedema

<sup>1</sup> Daisuke Katoh, <sup>1</sup> Yuta Shiraki, <sup>1</sup> Toshimichi Yoshida, <sup>1</sup> Kyoko Imanaka

<sup>1</sup> Department of Pathology and Matrix Biology, Mie University Graduate School of Medicine

#### [Introduction]

Tenascin-C (TNC) is highly expressed in tissue remodeling conditions such as inflammation and cancer. Recent studies have demonstrated the importance of lymphangiogenesis in tissue remodeling.

#### [Purpose]

We here examine the relationship between TNC and lymphangiogenesis.

#### [Materials & Methods]

We used human dermal lymphatic endothelial cell (HDLEC) in vitro. We used mouse tail model of secondary lymphedema in vivo.

#### [Results]

TNC-KO mice had significantly decreased tail edema, compared to WT mice. In vitro analysis, TNC decreased the number of HDLEC. TNC also decreased the number of Ki-67-positive cells, and increased the number of cleaved caspase-3 positive cells. These results suggest TNC suppress proliferation and promote apoptosis of HDLEC. In addition, TNC impaired the tube formation ability of HDLEC. Next, we examined the signaling pathway mediating these effects. TNC increased phosphorylation levels of MKK 3/6, p38 MAP kinase, and ATF-2. Inhibition of p38 MAP kinase (SB203580) suppressed the TNC-induced the changes.

#### [Conclusion]

Tenascin-C inhibits lymphangiogenesis via p38 MAP kinase signaling pathway.

Tenascin-C, リンパ管内皮細胞, リンパ浮腫

Tenascin-C, Lymphatic endothelial cell, Lymph edema, endothelial cell, gel

## B2-11\* (P57)

### Tumstatin 活性断片 T3 peptide は心筋虚血再灌流障害を軽減する

安田純平<sup>1, 2</sup>、岡田宗善<sup>1</sup>、山脇英之<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 北里大学獣医学部 獣医薬理学研究室

<sup>2</sup> 東海大学大学院医学系研究科 マトリックス医学生物学センター

**【背景】** 心筋梗塞の治療として推奨される早期再灌流療法では、再灌流時の活性酸素種 (reactive oxygen species; ROS) の増加による心筋細胞の傷害、すなわち虚血再灌流 (ischemia/reperfusion; I/R) 障害が問題となっている。IV型コラーゲン $\alpha 3$ 鎖の分解断片 tumstatin は抗血管新生作用を持つが、その心臓における役割には不明な点が多い。我々はこれまで、tumstatin の活性断片 T3 peptide が H9c2 心筋芽細胞において ROS の 1 つである過酸化水素により誘導される細胞死に対して保護的にはたらくことを明らかにした。本研究は T3 peptide が I/R 障害に対して心保護的に働くという仮説を立て、*in vitro* ならびに *ex vivo* モデルを用いて検証した。

**【方法と結果】** *In vitro* I/R モデルとして、H9c2 心筋芽細胞を低酸素・低栄養下で培養した後、再酸素・再栄養化した (oxygen-glucose deprivation/reperfusion; OGD/R)。OGD 刺激中の T3 peptide の添加は OGD/R 誘導性細胞死、細胞内 ROS 産生、ミトコンドリア断片化、そして cleaved capase-3 発現を抑制した。*Ex vivo* I/R モデルとしては、雄性 Wistar ラットの摘出心臓組織を用いてランゲンドルフ灌流心を作製し、栄養液の灌流を 30 分間停止後に 60 分間の再灌流を行った。T3 peptide を I/R 前 10 分間の前灌流液中に添加し、左心室内腔圧 (left ventricular developed pressure; LVDP) と心電図測定を行ったところ、T3 peptide は I/R 誘導性の LVDP 低下、ならびに心室性期外収縮などの不整脈の発生を抑制した。I/R 後の心臓組織を triphenyltetrazolium chloride 染色して梗塞領域を測定したところ、T3 peptide は I/R による梗塞領域の形成を抑制した。

**【考察】** 本研究により、T3 peptide が抗酸化作用を介して心筋 I/R 障害を軽減すること、ならびに同障害を抑制するための早期再灌流療法に用いる新規創薬標的分子としての tumstatin の有用性が示唆された。

キーワード： 虚血再灌流障害、tumstatin

### T3 peptide, an active fragment of tumstatin, alleviates cardiac ischemia/reperfusion injury

Junpei Yasuda<sup>1, 2</sup>, Munyoshi Okada<sup>1</sup>, Hideyuki Yamawaki<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratory of Veterinary Pharmacology, Kitasato University School of Veterinary Medicine

<sup>2</sup> Center for Matrix Biology and Medicine, Graduate School of Medicine, Tokai University

**【Introduction】** Ischemia/reperfusion injury (I/R) through the increase in reactive oxygen species (ROS) is a critical issue in the treatment of myocardial infarction. Tumstatin, a cleaved fragment of type IV collagen  $\alpha 3$  chain, is an endogenous anti-angiogenic factor, while its role in the heart has not been clarified. We previously reported that T3 peptide, an active fragment of tumstatin, inhibited hydrogen peroxide-induced cell death in H9c2 cardiomyoblasts. In the present study, we tested the hypothesis that T3 peptide exerts cardioprotective effect on I/R injury by using *in vitro* and *ex vivo* models.

**【Methods & Results】** An *in vitro* I/R model was established using H9c2 cardiomyoblasts exposed to oxygen-glucose deprivation/reperfusion (OGD/R). Administration of T3 peptide during the OGD suppressed OGD/R-induced cell death, intracellular ROS production, mitochondrial fragmentation, and cleaved capase-3 expression. Langendorff perfused rat heart tissue was utilized for establishing an *ex vivo* I/R model. Ten minutes after the pre-perfusion of T3 peptide, the heart was exposed to ischemia for 30 min followed by 60 min of reperfusion. Left ventricular developed pressure (LVDP) and electrocardiogram were examined during I/R. T3 peptide suppressed I/R-induced decreases in LVDP, ventricular premature beats, and other arrhythmic events. Excised heart tissues after I/R were stained with triphenyltetrazolium chloride to measure the size of infarcted region. T3 peptide suppressed I/R-induced formation of infarcted region.

**【Conclusion】** In this study, we revealed for the first time that T3 peptide alleviated cardiac I/R injury via antioxidant effects. Tumstatin used in early reperfusion therapy may serve as a novel target molecule for suppressing cardiac I/R injury.

Key words: ischemia/reperfusion injury, tumstatin

## B2-12\* (P58)

### 動脈管平滑筋細胞間由来 Fibulin-1 は内皮由来 Versican と共役して動脈管内膜肥厚形成を促進する

<sup>1</sup>伊藤 智子、<sup>1,2</sup>横山 詩子、<sup>1</sup>石川 義弘

<sup>1</sup>横浜市立大学医学部循環制御医学

<sup>2</sup>東京医科大学細胞生理学

【背景】動脈管は胎盤循環を基礎とした胎児循環に必須だが、出生後は速やかに閉鎖する。我々は、動脈管閉鎖には、胎盤由来プロスタグランジン E<sub>2</sub>(PGE<sub>2</sub>)-EP4 シグナルがヒアルロン酸産生を介して内膜肥厚を形成することが重要であることを示してきた。本研究は、PGE<sub>2</sub>により平滑筋細胞が血管内腔側に向けて空間的方向性をもって遊走するメカニズムを解明することを目的として行った。【方法】胎生 21 日の胎児ラット動脈管初代平滑筋培養細胞 (DASMCs) を用いて、マイクロアレイ解析、生化学的解析を行った。EP4 欠損マウス (EP4KO) 動脈管組織の免疫染色を行った。DASMCs の内皮方向への遊走は、シリコン製インサートを用いて DASMCs とヒト内皮細胞を同一平面上で培養して評価した。【結果】マイクロアレイ解析で、EP4 刺激により DASMCs で最も発現が増加した遺伝子は *Fbln1* だった。定量的 PCR で約 300 倍 (n=6-10, p<0.01)、蛋白は約 30 倍増加 (n=5, p<0.01) した。FACS 解析では、fibulin-1 は DASMC 由来、versican V0 / V1 は動脈管内皮細胞由来であることが示された。EP4KO マウスは動脈管開存症の表現型を示し、動脈管での fibulin-1 の発現は抑制されていた。一方、versican V0 / V1 の発現は、EP4KO、野生型マウス共に内皮に局在し、EP4 発現の影響を受けていなかった。DASMCs と内皮細胞を共培養すると、EP4 刺激により DASMCs は内皮方向に著明に遊走した。siRNA を用いて平滑筋細胞での fibulin-1 または内皮細胞での versican の発現を抑制すると、DASMCs の内皮細胞への遊走は抑制された (n=6-18, p<0.05)。【結論】PGE<sub>2</sub>-EP4 刺激で DASMCs から fibulin-1 が分泌され、内皮細胞由来の versican と結合することで、血管内腔側に向かう DASMCs の一方向性遊走が生じ動脈管内膜肥厚が形成される可能性が示された。

キーワード： fibulin-1; 内膜肥厚; versican

### Coupling of DASMC-derived fibulin-1 to endothelial cell-derived versican promotes intimal thickening of the ductus arteriosus

<sup>1</sup>Satoko Ito, <sup>1,2</sup> Utako Yokoyama, <sup>1</sup> Yoshihiro Ishikawa

<sup>1</sup> Cardiovascular Research Institute, Yokohama City University

<sup>1</sup> Department of physiology, Tokyo Medical University

[Introduction] Ductus arteriosus is essential for fetal circulation, and immediately closes after birth. We have previously demonstrated that prostaglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>)-EP4 signaling promoted hyaluronan-mediated smooth muscle cell (SMC) migration and subsequent intimal thickening (IT) of ductus arteriosus (DA). We aimed to clarify the mechanisms of PGE<sub>2</sub>-EP4-mediated directional SMC migration toward endothelial cells (ECs). [Methods and results] Microarray analysis in DASMCs revealed that the most up-regulated genes by EP4 stimulation was *Fbln1*. qRT-PCR and immunoblot analysis confirmed PGE<sub>2</sub>-EP4-mediated increase in fibulin-1 (approximately 300-fold and 30-fold, respectively). FACS analysis of rat DA showed that fibulin-1 was derived from DASMCs and fibulin-1 binding protein versican V0 / V1 was derived from ECs. Immunofluorescent staining of neonatal DA tissue from EP4-deficient mice (EP4KO) exhibited patent ductus arteriosus (PDA), where fibulin-1 expression was suppressed. Versican V0 / V1 were highly expressed in the ECs of both EP4KO and wild-type mice. When DASMCs were co-cultured with ECs, EP4 stimulation markedly promoted directional DASMC migration toward ECs. This directional DASMC migration was attenuated by fibulin-1-targeted siRNA in DASMCs or versican-targeted siRNA in ECs (n=6-18, p<0.05). [Conclusion] Fibulin-1 was secreted from DASMCs through PGE<sub>2</sub>-EP4 signaling. Fibulin-1 binds to EC-derived versican, and fibulin-1-versican complex induces directional SMC migration toward internal lumen, which may induce IT formation in the DA.

Key words: fibulin-1; intimal thickening; versican

## B2-13\* (P59)

### 腱マスター転写因子 Mxk とメカニカルストレスを用いた人工腱様組織の作製

<sup>1,2</sup> 片岡健輔、<sup>1</sup> 千葉朋希、<sup>1,3</sup> 伊藤義晃、<sup>1</sup> 加藤真理子、<sup>1,4</sup> 中道亮、<sup>1,4,5</sup> 浅原弘嗣

<sup>1</sup> 東京医科歯科大学大学院 システム発生・再生医学分野

<sup>2</sup> 独立行政法人 日本学術振興会特別研究員 PD

<sup>3</sup> 東京医科歯科大学 リサーチコアセンター

<sup>4</sup> スクリプス研究所

<sup>5</sup> 国立研究開発法人 日本医療研究開発機構 革新的先端研究開発支援事業 AMED-CREST

【背景】我々はマウス胚全転写因子の発現部位を解析した whole mount *in situ* hybridization データベース“EMBRYS”を構築し、本データベースにおける遺伝子発現解析より腱特異的に発現する転写因子 Mxk を新規に同定した。作出された Mxk KO マウスにおいては全身の腱が低形成となる表現型を示した。

【目的】Mxk KO マウスの表現型は Mxk が腱の腱マスター転写因子の1つである可能性を示唆した。今回我々は *in vitro* において腱様組織形成を行うことを目的とし Mxk 定常発現細胞をハイドロゲルに包埋し徐々にメカニカルストレス負荷を課す実験系を構築した。

【実験方法・結果】マウス間葉系幹細胞株である C3H10T1/2 に対してレトロウイルスを用いて Mxk を導入することで、腱様細胞へと分化した Mxk 定常発現 C3H10T1/2 を作成した。*in vitro* における人工腱様組織形成のため、本細胞をコラーゲンゲルに包埋し、その上で、細胞伸展装置を用いてメカニカルストレスを課した。その結果、作成された人工腱様組織は発生過程の腱と同様の構造である、細胞とコラーゲン線維束が張力方向に水平な方向性を持って配向していることを明らかとした。

【結論・考察】以上の結果は Mxk が腱の発生に関与するのみならず、メカニカルストレスに応答し腱組織を形成するために必要な因子であることを示唆した。

キーワード： Mohawk (Mxk), 腱, 組織工学

### Generation of engineered-tendon-like-tissue using Mxk with mechanical-stress

<sup>1,2</sup> Kensuke KATAOKA, <sup>1</sup> Tomoki CHIBA, <sup>3</sup> Yoshiaki ITO, <sup>1</sup> Mariko KATO, <sup>4</sup> Ryo NAKAMICHI, <sup>1,4,5</sup> Hiroshi ASAHARA

<sup>1</sup> Department of Systems BioMedicine, Tokyo Medical and Dental University, Tokyo, Japan

<sup>2</sup> Research Fellow of Japan Society for the Promotion of Science, Tokyo, Japan

<sup>3</sup> Research Core, Tokyo Medical and Dental University, Tokyo, Japan

<sup>4</sup> Department of Molecular Medicine, The Scripps Research Institute, La Jolla, USA

<sup>5</sup> AMED-CREST, Japan Agency for Medical Research and Development, Tokyo, Japan

【Introduction】We constructed the whole mount *in situ* hybridization database “EMBRYS” which analyzed the expression pattern of all transcription factors in the mouse embryo, and identified a novel transcription factor Mxk showing the tendon specific expression. Mxk KO mice show hypoplastic tendon throughout the body.

【Purpose】These results suggest that Mxk is one of master transcription factor for tendon development. Here we tried to generate artificial tendon-like tissue by combination of Mxk stably expressing cell with a three-dimensional cyclic-mechanical-stretch culture system.

【Materials & Methods, Results】We established Mxk stably expressing C3H10T1/2 cells by using a retrovirus. Mxk stably expressing C3H10T1/2 cells showed strong upregulation of tendon-related genes such as *Coll1a1*, and *Scx*. Mxk stably expressing C3H10T1/2 cells were embedded in collagen gel and tension loading was applied by the cell stretching device. Collagen gel embedded Mxk stably expressing cells with tension loading showed horizontal orientation of collagen fibers and cells.

【Discussion】These results suggest that Mxk is not only a master transcription factor for tendon cells but also the responsible gene for forming the tension-dependent structurally organized tendon tissue.

Key words: Mohawk (Mxk), tendon, tissue engineering

## B2-14

### 口腔癌細胞において癌抑制性ケモカイン CXCL14 の 発現は幹細胞マーカーの発現を制御する

<sup>1,2</sup>畑隆一郎、<sup>1,2,3</sup>陽暁艶、<sup>1,2</sup>小澤重幸、<sup>1,4</sup>居作和人、  
<sup>1,2</sup>生駒丈晴、<sup>1,2</sup>金森慶亮、<sup>1,2</sup>鈴木健司、<sup>1,4</sup>前畑洋  
次郎、<sup>3</sup>服部俊治、<sup>3</sup>水野一乗、<sup>5</sup>清野透

神奈川歯科大学大学院、<sup>1</sup>口腔難治疾患研究センター、  
<sup>2</sup>顎顔面病態診断治療学講座、<sup>3</sup>ニッピ° バイオマトリ  
ックス研究所、神奈川歯科大学大学院、<sup>4</sup>口腔科学講座、  
<sup>5</sup>国立がん研究センター 発がん・予防

【背景】我々は CXCL14 を野生型マウスの 10 倍発現する  
トランスジェニックマウスを用いて、ケモカイン  
CXCL14 が 発癌、癌の増殖、転移のすべての段階を抑制  
する多段階癌抑制分子であることを明らかにした  
(Hata, *et al. Scientific Reports* 2015, Yang, *et al. J Oral Biosci* 2016)。【目的】本研究では CXCL14 の腫瘍  
抑制の分子機構を明らかにするために、口腔癌細胞  
(HSC-3)を用いて、CXCL14 遺伝子の導入、或いは欠損が  
癌幹細胞マーカーの発現に及ぼす影響を検討した。【実  
験方法】 HSC-3 細胞、および CXCL14 遺伝子を導入した  
HSC-3-CXCL14 細胞、CXCL14 遺伝子を欠損させた  
HSC-3-1A 細胞を播種し、RNA を採取、精製後 RT-PCR 法  
を用いて種々の遺伝子の発現量を比較した。また、一  
部の細胞についてはヌードマウスの皮下に移植し、腫  
瘍の増殖と癌幹細胞マーカーの発現を検討した。【結果  
と考察】 HSC-3-CXCL14 細胞において幹細胞遺伝子  
NANOG の発現レベル、及び癌幹細胞マーカーの CD44v3、  
CD44v6、及び CD44v9 の発現は HSC-3 細胞および  
HSC-3-1A 細胞より有意に低い値を示した。ヌードマウ  
ス皮下における移植実験では、CXCL14 遺伝子の発現を  
欠損した HSC-3-1A 細胞は HSC-3 細胞より大きな腫瘍を  
形成し、腫瘍内の NANOG、KLF4、及び癌幹細胞マーカー  
CD44v3、CD44v6、および CD44v9 の発現量も高かった。  
HSC-3 細胞において CXCL14 は幹細胞マーカーおよび癌  
幹細胞マーカーの発現などを介して癌幹細胞性を制御  
している可能性が示された。

### CXCL14, a unique multistep tumor suppressing chemokine, regulates expression of cancer stem cell factors

<sup>1,2</sup>Ryu-Ichiro Hata, <sup>1,2,3</sup>Xiaoyan Yang, <sup>1,2</sup>Shigeyuki  
Ozawa, <sup>1,4</sup>Kazuhito Izukuri, <sup>1,2</sup>Takeharu Ikoma, <sup>1,2</sup>Keisuke  
Kanamori, <sup>1,2</sup>Kenji Suzuki, <sup>1,4</sup>Yojiro Maehata, <sup>3</sup>Shunji  
Hattori, <sup>3</sup>Kazunori Mizuno, <sup>5</sup>Tohru Kiyono  
<sup>1</sup>Oral Health Sci. Res. Ctr. <sup>2</sup>Dept. Dentomaxillofacial Diag.  
Treat., <sup>3</sup>Nippi Research Institute of Biomatrix, <sup>4</sup>Dept. Oral  
Science, Kanagawa Dent. Univ., <sup>5</sup>Div. Carcinogen. and  
Canc. Prevent., Natl. Cancer Ctr. Res. Inst.

[Introduction] We previously reported that the chemokine  
CXCL14 is a multistep tumor suppressor that suppresses  
carcinogenesis, tumor growth and metastasis (Hata, *et al. Scientific Reports* 2015, Yang, *et al., J Oral Biosci* 2016).  
[Purpose] In order to clarify molecular mechanisms of this  
unique tumor suppression mechanisms by CXCL14, we  
investigated effects of CXCL14 on the expression of cancer  
stem cell factors. [Materials & Methods] Tongue carcinoma  
derived HSC-3 cells, and their CXCL14 gene knockout  
(HSC-3-1A) cells and CXCL14 gene overexpressed  
(HSC-3-CXCL14) cells, were cultured and gene expression  
levels of stem cell factors including cancer stem cells were  
determined by RT-PCR after purification of RNAs. In some  
experiments, size of tumors formed by these cells and  
expression levels of those factors were determined. [Results  
and Discussion] Expression level of NANOG was higher in  
HSC-3-1A cells and HSC-3 cells compared with that of  
HSC-3-CXCL14 cells. Representative cancer stem cell  
factors such as CD44v3, CD44v6 and CD44v9 were also  
higher in HSC3-1A and HSC-3 cells compared with  
HSC-3-CXCL14 cells. When cells were injected into back  
skin of nude mice, HSC-3-1A cells produced much larger  
tumors compared with parental HSC-3 cells. Also,  
expression levels of NANOG, KLF4, CD44v3, CD44v6 and  
CD44v9 in HSC-3-1A cells were significantly higher than  
those of HSC-3 cells. These lines of evidence suggest that  
CXCL14 regulates cancer stemness in oral carcinoma.

キーワード：ケモカイン, CXCL14, 癌幹細胞マーカー

Key words: CXCL14, cancer stem cells, CD44v



# 一般演題（ポスター）

演題番号の後ろの\*印は Young Investigator Award への応募演題です。

会場：KFC Hall Annex、ホワイエ **P1 ~ P59**

※ P39 ~ P59 の抄録は一般演題（口演）に掲載されています。

**第1日目 5月31日（金）**  
(Day 1, May 31st, Fri)

17:45 - 18:45 ポスター討論Ⅰ（奇数）

**第2日目 6月1日（土）**  
(Day 2, June 1st, Sat)

11:20 - 12:20 ポスター討論Ⅱ（偶数）



## ラミニン-511E8 領域由来のジストログリカン (DG) 結合ペプチドに対するヒト iPS 細胞の接着

<sup>1</sup>吉川大和、<sup>1</sup>菅原由美香、<sup>1</sup>濱田圭佑、<sup>1</sup>山田雄二、<sup>1</sup>熊井準、<sup>3</sup>金川基、<sup>3</sup>小林千浩、<sup>3</sup>戸田達史、<sup>2</sup>根岸洋一、<sup>1</sup>片桐文彦、<sup>1</sup>保住健太郎、<sup>1</sup>野水基義

<sup>1</sup>東京薬科大学 薬学部 病態生化学教室、<sup>2</sup>薬物送達教室、<sup>3</sup>神戸大学大学院 医学研究科 生理学・細胞生物学講座 分子脳科学分野

ヒト人工多能性幹細胞 (human-induced pluripotent stem cells, hiPSCs) の培養には、増殖および未分化性維持のために、足場となる培養基質が必要である。これまでにラミニン-511 (LM-511) の有効性が示され、最近では、その機能領域であるラミニン-511 E8 断片 (LM511-E8) が利用されている。hiPSCs の LM511-E8 への接着は、主に  $\alpha 6 \beta 1$  インテグリンとの結合によることが明らかになっている。しかしながら、LM511-E8 による hiPSCs の培養において、非インテグリン受容体の関与は十分に明らかにされていない。本研究では、ラミニン-511 の非インテグリン受容体の 1 つである dystroglycan (DG) に着目した。免疫染色、Flow cytometry、laminin overlay assay の結果、hiPSCs にラミニン結合能を持つ DG が発現していることを見出した。また、マウス  $\alpha$ -ジストログリカン (MsDG) とヒト免疫グロブリンの Fc ドメインを融合した組換えタンパク質 (MsDG-Fc) を作製し、LM511-E8 との結合を検討した。その結果、LM-511 に比べて弱いものの、DG は LM511-E8 領域に結合能した。さらに、LM511-E8 のアミノ酸配列を網羅する合成ペプチドのライブラリーを作製し、DG との結合および hiPSCs との細胞接着を評価した。その結果、5 種類のペプチドが DG との結合活性を示し、hE8A5-20 (KTLPQLLAKLSI) に高い細胞接着活性が示された。hE8A5-20 の DG 結合に関与する最小配列は LLAKLSI であり、9 番目の K が DG との結合に中心的な役割を果たしていた。さらに、ペプチド-キトサンマトリックスを用いた細胞接着アッセイは、hE8A5-20 がバイオマテリアルへ応用できる可能性を示した。

## Attachment of human iPS cells to dystroglycan-binding peptides derived from laminin-511 E8 fragment

<sup>1</sup>Yamato Kikkawa, <sup>1</sup>Yumika Sugawara, <sup>1</sup>Keisuke Hamada, <sup>1</sup>Yuji Yamada, <sup>1</sup>Jun Kumai, <sup>3</sup>Motoi Kanagawa, <sup>3</sup>Kazuhiro Kobayashi, <sup>3</sup>Tatsushi Toda, <sup>2</sup>Yoichi Negishi, <sup>1</sup>Fumihiko Katagiri, <sup>1</sup>Kentaro Hozumi, <sup>1</sup>Motoyoshi Nomizu

<sup>1</sup>Dep of Clin Biochem and <sup>2</sup>Dep of Drug Deliv & Mol Biopharm, Tokyo Univ of Pharm & Life Sci. <sup>3</sup>Div of Neurol/Mol Brain Sci, Kobe Univ Sch of Med.

Human induced pluripotent stem cells (hiPSCs) grow indefinitely in culture and have the potential to regenerate various tissues. In the development of cell culture systems, a fragment of laminin-511 (LM511-E8) was found to improve the proliferative expansion of stem cells. The adhesion of undifferentiated cells to LM511-E8 is mainly mediated through integrin  $\alpha 6 \beta 1$ . However, the involvement of non-integrin laminin receptors are still unexplored in stem cell culture. Here we show that dystroglycan (DG) is strongly expressed in hiPSCs. The fully glycosylated DG is functionally active for laminin binding. Induction of cell differentiation is accompanied by synthesis of alternative DG glycosylation states. Although it has been suggested that LM511-E8 lacks DG binding sites, the fragment weakly binds to DG. We further identified the DG binding sequence in LM511-E8 using synthetic peptides. Of the peptides, hE8A5-20 (human laminin  $\alpha 5$  2688-2699: KTLPQLLAKLSI) derived from the laminin coiled-coil domain exhibited DG binding affinity and cell adhesion activity. Deletion and mutation studies show that LLAKLSI is the active core sequence of hE8A5-20, and that K2696 is a critical amino acid for DG binding. We further show that hiPSCs adhere to hE8A5-20-conjugated chitosan matrices. These results show that DG binding peptides could be useful to design biomaterials to maintain pluripotency of stem cells and to modulate cellular differentiation.

## 真皮のコラーゲン細線維を束ねる糖鎖の立体構造

<sup>1</sup> 広瀬拓哉、<sup>2</sup> 古庄知己、<sup>3</sup> 亀谷清和、<sup>1</sup> 高橋直紀、  
<sup>1</sup> 渡邊敬文、<sup>4</sup> 今村保忠

<sup>1</sup> 酪農学園大学獣医解剖学  
<sup>2</sup> 信州大学医学部遺伝医学研究室  
<sup>3</sup> 信州大学基盤研究支援センター  
<sup>4</sup> 工学院大学先進工学部

【目的】皮膚の真皮はコラーゲン線維を豊富に含む組織である。真皮のコラーゲン線維では方向の揃ったコラーゲン細線維が Decorin の糖鎖 (Glycosaminoglycan chains: GAG 鎖) によって束ねられている。近年、コラーゲン細線維と GAG 鎖の構造については腱で三次元的な形態解析が行われ、コラーゲン細線維の D 周期と一致して GAG 鎖がリングメッシュ構造を成すことが明らかになった (Watanabe, et al. 2016)。本研究では腱と並んでコラーゲン線維の豊富な真皮の GAG 鎖の三次元的な形態解析を行った。

【方法】提供されたヒトの皮膚サンプルにグルタールアルデヒド固定と Cupromeronic blue 染色を同時に施し、樹脂包埋したサンプルから厚さ 200~250nm の超薄切片を作製し、STEM Tomography を用いて解析した。得られたデータは解析ソフトを用いて連続断面画像に変換し、GAG 鎖の形態を抽出、立体構築した。

【結果と考察】真皮では、腱で提唱されたリングメッシュ様の構造は認められた。しかしながら、相違点として、1) GAG 鎖同士の相互作用ではなく、コラーゲン細線維と GAG 鎖の相互作用によって、コラーゲン細線維が束ねられること、2) 複数の GAG 鎖がそれぞれ部分的にコラーゲン細線維を覆うことでリングメッシュ様構造を形成することを構造的に明らかにした。この知見から新たな GAG 鎖の立体構造モデルとして segmented ring mesh モデルを提唱する。

## Three-dimensional structure of glycosaminoglycan chains bundling collagen fibrils in the dermis

<sup>1</sup>Takuya Hirose, <sup>2</sup>Tomoki Kosho, <sup>3</sup>Kiyokazu Kametani,  
<sup>1</sup>Naoki Takahashi, <sup>1</sup>Takafumi Watanabe, <sup>4</sup>Yasutada Imamura

<sup>1</sup>Laboratory of Anatomy, Rakuno Gakuen University,  
<sup>2</sup>Department of Medical Genetics, Shinshu University  
<sup>3</sup>Research Center for Supports to Advanced Science, Shinshu University  
<sup>4</sup>School of Advanced Engineering, Kogakuin University

[Introduction] The dermis of the skin includes abundantly collagen fibers. Collagen fibrils constituting collagen fiber are bundled by Decorin GAG (Glycosaminoglycan chains). At this meeting two years ago, we presented the three-dimensional morphological structures of collagen fibrils and GAG chains in tendon and suggested that GAG chains form a ring mesh structure consistent with the d-bands of collagen fibrils.

[Purpose] In this study, three-dimensional morphological analysis of GAG chains in dermis, which including collagen fiber same to tendon, was performed.

[Materials & Methods] We used Scanning transmission electron microscope Tomography to examine the three-dimensional organization of the GAG chains in the dermis of human skin embedded in epoxy resin after staining with Cupromeronic blue, which specific stains GAG chains. The obtained data was converted to a continuous cross-sectional image by using analysis software, and the morphology of the GAG chains were extracted and stereoscopically constructed.

【Results and Discussion】 In the dermis, a ring mesh-like structure proposed for tendon was recognized. However, there are differences: 1) Collagen fibrils are bundled not by interaction between GAG chains but by interaction between collagen fibrils and GAG chains, 2) several GAG chains surround partially collagen fibril to form a ring mesh like structure. From this finding, we propose a segmented ring mesh model as a new three-dimensional structure model of GAG chain.

キーワード：真皮、グリコサミノグリカン、

Key words: dermis, glycosaminoglycan

## ラミニンアイソフォームを利用した iPS 細胞の選択的運命制御と iPS 角膜上皮細胞の単離

<sup>1,2</sup>柴田峻, <sup>1</sup>林竜平, <sup>1,2</sup>大久保徹, <sup>1,2</sup>工藤裕司, <sup>1</sup>片山朋彦, <sup>1</sup>石川幸, <sup>1</sup>小林由紀, <sup>3</sup>梶純子, <sup>3</sup>八木恵美子, <sup>3</sup>谿口征雅, <sup>1,2</sup>本間陽一, <sup>4</sup>Andrew J. Quantock, <sup>3</sup>関口清俊, <sup>1</sup>西田幸二

<sup>1</sup>大阪大学大学院医学系研究科 幹細胞応用医学/眼科学

<sup>2</sup>ロート製薬株式会社 基礎研究開発部

<sup>3</sup>大阪大学蛋白質研究所 マトリクソーム科学寄附研究部門

<sup>4</sup>College of Biomedical and Life Sciences, Cardiff University

【背景】我々はこれまでに、iPS 細胞に対して、ラミニン(LN)511E8 断片上で自律的な分化を促すことで、眼全体の発生を模倣した構造を誘導し、そこから機能的な iPS 角膜上皮シートを作製することに成功している(Hayashi *et al*, *Nature* 2016)。

【目的】眼系統への分化における LN の役割を解明し、iPS 角膜上皮の単離において LNE8 のアイソフォームへの接着の利用を検討することを目的とした。

【実験方法】LN アイソフォーム(111, 211, 332, 411, 511) の E8 断片上で iPS 細胞から眼細胞への分化誘導を行い、分化指向性を解析した。また、iPS 由来の様々な細胞種の LNE8 への接着特性を解析した。

【結果と考察】眼系統への分化において LN332E8 は角膜上皮への分化を、LN211E8 は神経堤への分化を促した。ラミニンによる分化制御には接着の強度を介した YAP, Wnt シグナルが関与していた。また、iPS 角膜上皮やその他の眼細胞が特定の LNE8 に接着しやすいことがわかった。磁気分離と接着性を組み合わせることで純度の高い iPS 角膜上皮シートの作製に成功した。以上より、分化誘導や単離において適切な LN アイソフォームを選択することで効率的な iPS 角膜上皮シート作製工程の確立に寄与できることが示された。

キーワード：iPS 細胞、眼細胞分化、ラミニン

## Selective fate determination of iPSCs and isolation of iPSC-derived corneal epithelial cells using laminin isoforms

<sup>1,2</sup>Shun Shibata, <sup>1</sup>Ryuhei Hayashi, <sup>1,2</sup>Toru Okubo, <sup>1,2</sup>Yuji Kudo, <sup>1</sup>Tomohiko Katayama, <sup>1</sup>Yuki Ishikawa, <sup>1</sup>Yuki Kobayashi, <sup>3</sup>Junko Toga, <sup>3</sup>Emiko Yagi, <sup>3</sup>Yukimasa Taniguchi, <sup>1,2</sup>Yoichi Honma, <sup>4</sup>Andrew J. Quantock, <sup>3</sup>Kiyotoshi Sekiguchi, <sup>1</sup>Kohji Nishida

<sup>1</sup>Department of Stem Cells and Applied

Medicine/Ophthalmology, Osaka University Graduate School of Medicine

<sup>2</sup>Research and Development Division, ROHTO Pharmaceutical Co., Ltd.

<sup>3</sup>Institute for Protein Research, Osaka University

<sup>4</sup>College of Biomedical and Life Sciences, Cardiff University

[Introduction] We established a multilayered structure that reproduces the whole eye development, generated from induced pluripotent stem cells (iPSCs) on laminin-511 fragment (LN511E8). Furthermore, by isolating iPSC-derived corneal epithelial cells (iCECs), we successfully fabricated functional iCEC sheet (Hayashi R. *et al*, *Nature* 2016).

[Purpose] To elucidate the role of LN during ocular lineage differentiation and to investigate use of LNE8 isoforms for isolation of iCECs.

[Material & Methods] We investigated differentiation propensity on each LNE8 (111, 211, 332, 411, and 511) during ocular cell differentiation. In addition, adhesion properties of differentiated ocular-related cell types, derived from iPSCs, to LNE8 isoforms were analyzed.

[Results and Discussion] LN332E8 and LN211E8 promoted differentiation of iCECs and neural crest cells, respectively. We found that LNE8 isoforms influenced ocular differentiation *via* YAP and Wnt signals, which was dependent on adhesion strength. Moreover, iCECs and other ocular-related cells, preferentially adhered to specific LNE8 isoforms. Here, we fabricated a highly pure iCEC sheet by combining magnetic separation and LNE8 adhesion. Thus, use of specific LN isoforms to differentiate and isolate desired cell-types, contributes to establishment of efficacious iCEC sheet manufacture for research and clinic.

Key words: induced pluripotent stem cells (iPSCs), ocular cell differentiation, laminin

伊豆弥生<sup>1</sup>、Manuel Koch<sup>2</sup>、David Birk<sup>3</sup>

Yayoi Izu<sup>1</sup>、Manuel Koch<sup>2</sup>、David Birk<sup>3</sup>

1 岡山理科大学獣医学部獣医学科

2 Institute for Oral and Musculoskeletal Biology, Center for Molecular Medicine Cologne, University of Cologne, Cologne, Germany

3 University of South Florida, Morsani College of Medicine, Tampa, FL, USA

1 Department of Veterinary Medicine, Okayama University of Science, Okayama, Japan

2 Institute for Oral and Musculoskeletal Biology, Center for Molecular Medicine Cologne, University of Cologne, Cologne, Germany

3 University of South Florida, Morsani College of Medicine, Tampa, FL, USA

腱は筋肉から骨へと力を伝搬し、腱の可動と関節の安定性に寄与している。近年、我々は、XII 型コラーゲン遺伝子変異が筋肉と結合組織に重複して障害を来す疾患の原因であることを報告した。罹患者は、出生後はほとんど歩けず、重度な関節の拘縮や弛緩を示す。このため、XII 型コラーゲンは腱の重要な制御因子であることが推測される。本研究は、腱形成における XII 型コラーゲン機能を解明するために、*Coll2a1* 欠損マウスの長趾屈筋腱 (FDL) を用いて解析を行った。XII 型コラーゲンは生後初期から成熟期に至るまで FDL 全域に発現していた。*Coll2a1* 欠損 FDL では腱の階層構造が消失し、細線維系や線維間の隙間が変化していることがわかった。また、*Coll2a1* 欠損は腱細胞の突起形成を抑制し、隣接する細胞間との結合/コミュニケーションを障害していた。さらに、力学的強度の解析では、*Coll2a1* 欠損 FDL では野生型と比較し剛性が低下していた。また、*Coll2a1* 欠損腱細胞では、I 型コラーゲン分泌が亢進していた。以上の結果から、XII 型コラーゲンは腱細胞の細胞形態および細胞間コミュニケーションを制御することで、線維形成に必要な I 型コラーゲンの産生や細線維形成、さらには力学的強度の維持の役割を担うことが示唆された。

Tendons are responsible for transmission of mechanical force from muscle to bone, allowing for mobility and joint stability. Recently we have reported that the patients with *COL12A1* mutations have an overlapping phenotype combining clinical involvement from muscle and from connective tissue. The patient had barely strength at birth, strikingly hypermobile distal joints, and absence of deep tendon reflexes. These clinical manifestations indicate a critical role(s) of collagen XII in tendon. In this study, we demonstrate the role(s) of collagen XII during fibrillogenesis in FDL tendons. Collagen XII is expressed in FDLs from newborn through adults. *Coll2a1* deficiency disrupted tendon hierarchical structure and altered fibril profiles. In cellular level, *Coll2a1* deficiency impaired adjacent tenocyte-tenocyte connection/communication. Moreover, *Coll2a1* deficiency decreased tendon stiffness when compared to wt control. Furthermore, *Coll2a1* deficient tenocyte secrete less collagen I compared to wt. In conclusion, we demonstrate that collagen XII regulates tenocyte cell shape and intracellular connection/communication, thereby regulating collagen I secretion, fibrillogenesis, and mechanical property of tendon.

キーワード： 腱細胞、XII 型コラーゲン、細胞間コミュニケーション

Key words: Tenocyte, Collagen XII, Intracellular communication

## 放射線誘発線維症における長鎖非コード RNA の関与

<sup>1</sup>矢野 博之 <sup>2,4</sup>濱中 良志 <sup>1</sup>甲斐 浩一  
<sup>3</sup>松尾 哲孝 <sup>3,5</sup>吉岡 秀克

<sup>1</sup>大分大学 全学研究推進機構

<sup>2</sup>大分大学 医学部 細胞生物学講座

<sup>3</sup>大分大学 医学部 マトリックス医学講座

<sup>4</sup>大分県立看護大学 人間科学講座

<sup>5</sup>新別府病院・臨床検査科

【背景】放射線誘発線維症 (RIF) はがん治療や放射線被爆事故時、副作用としてみられ、当該臓器の機能低下をきたす。私たちは現在まで、RIF における I 型コラーゲンの過剰な合成に、TGF- $\beta$ /Smad 系や miR-29b が関与していることを報告してきた。

【目的】本研究では RIF における ncRNA の一つである lncRNA の役割を調べるために、培養細胞およびマウス組織を用いて解析した。

【実験方法】NIH-3T3 細胞及び C57BL/6 マウスの肺に 10 グレイの放射線を照射し、lncRNA 量を real-time PCR 法で調べた。さらに細胞を用いて、過剰発現及び阻害実験を行った。

【結果と考察】前回、報告した培養細胞を用いた lncRNA array 解析結果をもとに、放射線により発現低下した lncRNA-X について、マウス肺組織における発現の変化を測定した。その結果、照射マウスの肺において、非照射マウスと比較して lncRNA-X の発現は低下していた。生体内においても放射線により lncRNA-X の発現が減少することが分かった。

さらに、放射線による I 型コラーゲン発現増加への lncRNA-X の機能を調べた。NIH-3T3 細胞において、放射線により I 型コラーゲンの発現が増加するが、lncRNA-X 過剰発現した場合、この増加が抑えられた。一方、lncRNA-X の発現を阻害した場合、放射線による I 型コラーゲンの発現増加が、より顕著になった。

RIF の発生過程に lncRNA-X が関与していることが示唆される。

## Involvement of long non-coding RNA in radiation-induced fibrosis

<sup>1</sup>Hiroyuki Yano, <sup>2,4</sup>Ryoji Hamanaka, <sup>1</sup>Koichi Kai,  
<sup>3</sup>Noritaka Matsuo, <sup>3,5</sup>Hidekatsu Yoshioka,

<sup>1</sup> Research Promotion Institute, Oita University

<sup>2</sup> Department of, Faculty of Cell Biology, Oita University

<sup>3</sup> Department of Faculty of Matrix Medicine, Oita University

<sup>4</sup> Department of Human Sciences, Oita University of Nursing and Human Sciences

<sup>5</sup> Department of Clinical Examination, Shinbeppu Hospital

[Introduction] Side effects radiation-induced fibrosis (RIF) include reduction in the function of organs during cancer treatment and accidental exposure to radiation. We previously reported that the TGF- $\beta$ /Smad signal system and miR-29b are involved in the excessive synthesis of type I collagen in RIF.

[Purpose] To assess the role of long non-coding RNA (lncRNA), which is a type of non-coding RNA (nc RNA), we performed an analysis using cultured cells and mice.

[Materials & Methods] NIH-3T3 cells and the lungs of C57BL/6 mice were irradiated with gamma rays at 10 Gy. Real-time PCR was performed to measure the lncRNA level. Overexpression and inhibition experiments of lncRNA were performed using NIH-3T3 cells.

[Results and Discussion]. The previous results of lncRNA array demonstrated the decreased expression of a lncRNA-X induced by radiation in cultured cells. The expression of lncRNA-X also decreased in the lung after radiation. Furthermore, overexpression of lncRNA-X depressed the excessive expression of type I collagen after radiation in NIH-3T3 cells. Conversely, the inhibition of lncRNA-X resulted in a further increase in the expression of type I collagen after radiation.

These data suggest that lncRNA-X might be involved in RIF.

キーワード：放射線誘発線維症, lncRNA, コラーゲン

Key words: RIF, lncRNA, collagen

---

**BMP-2 induced osteoblast activity was inhibited in the marrow environment.** **BMP-2 induced osteoblast activity was inhibited in the marrow environment.**

<sup>1,2</sup> Ha Thi Nguyen, <sup>1</sup> Mitsuaki Ono, <sup>3</sup> Emilio Satoshi Hara, <sup>2</sup> Shuji Noshio, <sup>2,4</sup> Ikuo Tosa, <sup>4</sup> Takeshi Takarada, <sup>2</sup> Takuo Kuboki, <sup>1</sup> Toshitaka Oohashi

<sup>1</sup> Molecular Biology and Biochemistry, <sup>2</sup> Oral Rehabilitation and Regenerative Medicine, <sup>3</sup> Biomaterials, <sup>4</sup> Regenerative Science, Okayama Univ.

[Introduction] Bone morphogenetic protein 2 (BMP-2) is a potent growth factor that promotes bone and cartilage formation. However, an increasing number of reports have demonstrated the side effects of BMP-2 therapy. Therefore, a deeper understanding of the effect of BMP-2 on different cells other than those involved directly in bone remodeling, is of fundamental importance to promote a more effective delivery of BMP-2 to patients.

[Purpose] The purpose of this research is to reveal the effect of BMP-2 in the marrow environment.

[Materials & Methods] BMP-2 adsorbed in freeze-dried collagen were transplanted into the calvarial bone (less marrow) and inside the femoral cavity (rich marrow) in C57BL/6 mice and *Colla1*-GFP transgenic mice. *In vitro*, experiments analyzing luciferase activity of C2C12 cells with the BMP-responsive element (BRE) by co-culture cells technique directly or indirectly.

[Results and Discussion] BMP-2 could induce bone formation in marrow-absent calvarial bone or outside cortical bone, however, could not induce bone formation in the femur marrow. In *Colla1*-GFP transgenic mice, a scarce number of osteoblasts in BMP-2-treated femurs were observed, whereas in control group, osteoblasts were abundant. In co-culture cells experiment revealed that bone marrow cells inhibit BMP-2 induce osteoblast differentiation effect on osteoblasts by direct cell-cell contact. Collectively, these results showed that the effect of BMP-2 in inducing bone formation is remarkably repressed by marrow cells via direct cell-cell contact with osteoblasts.

---

キーワード : BMP-2, 骨髄, 骨芽細胞活性

Key words: BMP-2, Bone marrow, Osteoblast activity

## 関節過剰運動症候群患者の血清テネイシン X の測定

## Measurement of serum tenascin-X in joint hypermobility syndrome patients

<sup>1,2</sup>山田和夫、<sup>3</sup>渡辺淳、<sup>2</sup>竹下治男、<sup>4</sup>藤田京志、<sup>4</sup>三宅紀子、<sup>4</sup>松本直通、<sup>1</sup>松本健一

<sup>1,2</sup>Kazuo Yamada, <sup>3</sup>Atsushi Watanabe, <sup>2</sup>Haruo Takeshita, <sup>4</sup>Atsushi Fujita, <sup>4</sup>Noriko Miyake, <sup>4</sup>Naomichi Matsumoto, <sup>1</sup>Ken-ichi Matsumoto

<sup>1</sup>島根大・総科支セ・生体情報・RI、<sup>2</sup>島根大・医・法医学、<sup>3</sup>金沢大・附属病院・遺伝診療部、<sup>4</sup>横浜市立大・医・遺伝学

<sup>1</sup>Dept. of Biosign. and Radioiso. Exp., Interdiscip. Cent. for Sci. Res., Org. for Res., Shimane Univ., <sup>2</sup>Dept. of Leg. Med., Shimane Univ., Sch. of Med., <sup>3</sup>Div. of Clin. Genet., Kanazawa Univ. Hosp., <sup>4</sup>Dept. of Hum. Genet., Yokohama City Univ., Sch. of Med.

**[背景]** 関節過剰運動症候群 (JHS) (関節可動亢進型エーラス・ダンロス症候群 (hEDS))は、関節可動亢進、慢性疼痛、疲労、皮膚の変化をきたす遺伝性の結合組織の疾患である。EDS は臨床的症状と原因遺伝子に基づいて13のサブタイプに分類される。マトリセルラータンパク質であるテネイシン X (TNX) は、EDS の原因遺伝子の一つとして同定されている。また、TNX ハプロ不全を持つ JHS/hEDS 患者が存在することも報告されている。我々はこれまでに、ナノ液体クロマトグラフィータンデム質量分析法 (Nano-LC/MS/MS) を用いて血清型テネイシン X (sTNX) を定量する方法を開発し、本法が TNX 欠損型 EDS の診断に有用であることを報告した。

**[Introduction]** Joint hypermobility syndrome (JHS) (also termed hypermobility type Ehlers-Danlos syndrome, hEDS) is a heritable connective tissue disorder that is characterized by generalized joint hypermobility, chronic pain, fatigue, and minor skin changes. According to the causative genes and clinical features, EDS has been classified into thirteen types of EDS. A matricellular protein, tenascin-X (TNX), was identified as one of the causative genes of EDS. It was also reported that there is a subset of patients with JHS/hEDS who have haploinsufficiency of TNX. We have already developed a quantification method for the serum form of TNX (sTNX) using nano-liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC/MS/MS) and reported that this method is useful for diagnosis of TNX-deficient type of EDS.

**[目的]** 今回、JHS/hEDS 患者血清中の sTNX 濃度により、JHS/hEDS の診断が可能かどうかを検討するため、JHS/hEDS 患者の sTNX 濃度を測定した。

**[Purpose]** In this study, we measured the concentrations of sTNX in JHS/hEDS patients to investigate whether JHS/hEDS can be diagnosed by TNX concentration in sera.

**[実験方法]** JHS/hEDS 患者血清を還元、アルキル化後、リジル C とトリプシンで消化し、消化物を強陽イオン交換クロマトグラフィーで分画後、sTNX 濃度を Nano-LC/MS/MS を用いて定量した。また、JHS/hEDS 患者の *TNXB* の遺伝子解析を行った。

**[Materials and Methods]** Twelve abundant protein-depleted sera from JHS/hEDS patients were reduced, alkylated, and digested with Lys-C and trypsin. The digests were then fractionated by strong cation exchange chromatography. The peptide derived from sTNX was measured and quantified by using a triple quadrupole mass spectrometer. The whole exome sequences of the patients were also analyzed.

**[結果と考察]** JHS/hEDS 患者の約半数で sTNX 濃度が健常人に比べ有意に減少していた。しかしながら、JHS/hEDS 患者の *TNXB* には、変異、挿入、欠失は一人を除き、認められなかった。その一名の患者においては、ヘテロ変異 ((c.4957>T (p.Arg1653\*)) が認められた。これらの結果は、*TNXB* に変異が検出されない場合において、sTNX 濃度の測定は JHS/hEDS の診断に有用であることを示唆する。

**[Results and discussion]** The sTNX concentrations in half of the JHS/hEDS patients were significantly lower than those in healthy individuals. However, no mutation, insertions or deletions were found in the TNX exon sequence of the JHS/hEDS patients except for one in patients. That patient has a heterozygous mutation. Although the mutations in *TNXB* are not detected, measurement of the sTNX concentration in sera from patients with JHS/hEDS is valuable for the diagnosis of JHS/hEDS.

キーワード： 関節過剰運動症候群、関節可動亢進型エーラス・ダンロス症候群、テネイシン X

Key words: Joint hypermobility syndrome, Hypermobility type Ehlers-Danlos syndrome, Tenascin-X

## TNF $\alpha$ 欠損はマウスレーザー誘発脈絡膜新生血管で、好中球の蓄積と血管内皮細胞のアポトーシスを抑制し、その退縮を遅らせる

岩西宏樹、住岡幸吉、雑賀司珠也  
和歌山県立医科大学 眼科学教室

**目的:** 加齢性黄斑変性症の動物モデルであるアルゴンレーザー誘発脈絡膜新生血管 (CNV) の発育に対するマウス TNF $\alpha$  欠損の影響とその背景を評価すること。

**方法:** 6-8 週齢オスの野生型 (WT) マウスと TNF $\alpha$  欠損 (KO) マウス を用いた。(1) WT (n=15) 及び KO (n=15) マウスの眼底にレーザー照射で CNV を誘発した。7、14 および 21 日後に発症した CNV をフルオレスセイン標識デキストランによる眼底血管造影で描出し CNV の成長を評価した。(2) 同様のレーザー照射 WT (n=60)、KO (n=60) の 1. 3. 5. 7. 9 日後に網脈絡膜組織から RNA を採取し、VEGF-A, IL-6, F4/80, TGF $\beta$ 1, MPO, MMP-2, MMP-9, MCP-1 の mRNA 発現を real-time RT-PCR にて比較検討した。(3) 網膜毛細血管内皮細胞 (HRMECs) に TNF $\alpha$  (0、1.5、10 ng/ml) を添加し Dead Cell Apoptosis Kit を用いてアポトーシス細胞を染色した。新生血管キットを用い HRMECs による管腔構造に対する TNF $\alpha$ 添加の影響を検討した。

**結果:** (1) レーザー照射 1 及び 2 週間における CNV 面積は両群間に有意差はなかったが、レーザー3 週間後の CNV 面積は TNF $\alpha$  KO マウスで有意 ( $P < 0.05$ ) に大きかった。(2) レーザー照射脈絡膜組織では、照射 1. 3. 5. 日後の MPO 発現が KO マウスで有意に ( $P < 0.05$ ) 高かった。(3) TNF $\alpha$  添加により HRMECs のアポトーシスが有意に増加した ( $P < 0.05$ )。TNF $\alpha$  添加は HRMECs の管腔形成を有意に抑制した ( $P < 0.05$ )。

**結語:** TNF $\alpha$  欠損によりマウスレーザー誘発 CNV の退縮は遷延する。レーザー照射組織における好中球の蓄積と血管内皮細胞のアポトーシスの減少が、このメカニズムに関与していると考えられた。

キーワード: TNF $\alpha$ 、脈絡膜血管新生、アポトーシス

Lacking TNF $\alpha$  retards regression of argon laser irradiation-induced choroidal neovascularization with augmentation of neutrophil population and attenuation of vascular endothelial cell apoptosis in mice.

Hiroki Iwanishi, Takayoshi Sumioka, Shizuya Saika

Department of Ophthalmology, Wakayama Medical University

**Purpose:** To evaluate the effects of the loss of TNF $\alpha$  on the development and condition of argon-laser-induced choroidal neovascularization (CNV) in mice. The pathology is an animal model of human age-related macular degeneration.

**Methods:** Male wild-type (WT) and TNF $\alpha$ -null (KO) mice of 6-8 week-old were used. (1) Laser-photocoagulation was performed in the ocular fundus of WT (n = 15) and KO (n = 15) mice to induce CNV. FITC-labeled dextran-angiography was performed to evaluate the size of CNV at day7, 14 and 21. (2) Total RNA was extracted from chorio-retinal tissue at day 0, 1, 3, 5, 7 and 9 post-laser irradiation in WT (n = 60) and KO (n = 60) mice. Real-time RT-PCR was ran for mRNAs of VEGF-A, IL-6, F4/80, TGF $\beta$ 1, MPO, MMP-2, MMP-9 and MCP-1. (3) Primary human retinal microvascular endothelial cells (HRMECs) were plated in a 96-well plate. After treatment with 0, 1, 5, 10 ng/ml TNF $\alpha$ , the level of apoptosis was assayed by using Dead Cell Apoptosis Kit. Fluorescence microscopic observation and software-assisted analysis were performed to examine the effects of supplementation of TNF $\alpha$  on HRMECs apoptosis.

**Results:** (1) The size of laser-induced CNV formation was significantly larger in KO mice at day 21, but not other timepoints, than in WT mice ( $P < 0.05$ ). (2) Lacking TNF $\alpha$  augmented MPO-positive neutrophil infiltration at day1, 3, 5. (3) TNF $\alpha$  induced apoptosis of HRMECs and decreased the size of tube-like structure formed by the cells ( $P < 0.05$ ).

**Conclusions:** TNF $\alpha$  gene knockout retards regression of CNV induced by argon laser irradiation in mice. The mechanism underlying the phenotype might include the augmentation of neutrophil population in the treated tissue and attenuation of vascular endothelial cell apoptosis.

Key words: TNF $\alpha$ , choroidal neovascularization, apoptosis

---

## Short-term stability of artificial collagen-like peptide polymer implanted in corneal stroma in rabbits

Nobuyuki Ishikawa<sup>1</sup>、Hiroshi Nose<sup>2</sup>、Shin-ichiro Ichise<sup>3</sup>、Kazuki Kuroda<sup>3</sup>、Takaki Koide<sup>3</sup>、Shizuya Saika<sup>1</sup>

1. Department of Ophthalmology, Wakayama Medical University
2. Kola-gen Pharma
3. Department of advanced science and engineering, Waseda University

**【Purpose】** We evaluated short-term stability of a gel button of collagen-like peptide polymer in the corneal stroma and stromal tissue reaction in response to its implantation in rabbits.

**【Method】** Adult Japanese albino rabbit received a circular wound in the central cornea (n = 4). A gel button of artificial collagen-like peptide polymer of the same size as the stromal wound was implanted. The space between the implanted gel and the corneal stromal wound was filled with fibrin glue. Rabbits of the control group did not receive its implantation. The ocular surface was covered with a soft contact lens after gel implantation to prevent its dropping-off. At days 3 and 7, eyes were enucleated and processed for histology and immunohistochemistry. Distribution of myofibroblasts in corneal stroma was examined by using alpha smooth muscle actin staining.

**【Result】** Artificial collagen-like peptide polymer remained in the wound without dropping-off at day 3 and 7. Gel button implantation seemed to suppress myofibroblast appearance around the wound at day 7.

**【Conclusion】** Artificial collagen-like peptide polymer remained on the ocular surface in the short term. Implantation of the artificial collagen-like peptide polymer seemed to suppress stromal fibrotic reaction by keratocytes. To apply corneal diseases, we have to perform further investigation of mechanism of scarring suppression, nemedium/long term stability and material.

**Lack of expression of  $\alpha 6(\text{IV})$  collagen does not result in cochlear malformation and hearing loss in mice**

<sup>1</sup>Shaoying Tang, <sup>1</sup>Tomoko Yonezawa, <sup>2</sup>Yukihide Maeda, <sup>1</sup>Mitsuaki Ono, <sup>1</sup>Takahiro Maeba, <sup>1</sup>Toshitaka Oohashi

<sup>1</sup>Molecular Biology and Biochemistry, <sup>2</sup>Otolaryngology, Okayama Univ. Grad. Sch. Of Med. Dent and Pharm.

[Introduction] Cochlea is a major organ in labyrinth and the lesions of cochlea are associated with various hearing disorders. Collagen IV is a major component of basement membrane (BM) which is comprised of six  $\alpha$  chains encoded by *COL4A1* to *COL4A6*. Mutations in *COL4A3*, *COL4A4* and *COL4A5* are responsible for Alport syndrome resulting renal failure with hearing impairment and ocular abnormalities. A recent report presented that the mutation (p.Gly591Ser) in *COL4A6* was associated with cochlea malformation and X-linked nonsyndromic hearing loss. However, the distribution and functions of  $\alpha 6(\text{IV})$  chain in cochlea have not been clearly disclosed.

[Purpose] To reveal an association of the lack of expression of  $\alpha 6(\text{IV})$  chain with hearing function.

[Materials & Methods] Immunohistochemistry, high-resolution micro computed tomography (micro-CT) and auditory brainstem response (ABR) were performed using *Col4a6* KO and wild type mice.

[Results and Discussion] Immunohistochemistry showed that  $\alpha 6(\text{IV})$  chain is present in the basal of interdental cells, vascular BM in spiral limbus, inner sulcus, outer sulcus, root cells in spiral ligament, stria vascularis and the border of vestibular membrane. The structure of cochlea in *Col4a6* KO mice had no significant differences comparing with wild type mice according to micro-CT results. Click-ABR hearing threshold in *Col4a6* KO mice ( $40 \pm 3.5$  dB SPL) was also similar with that in wild type mice ( $43 \pm 2.7$  dB SPL). Our results suggested that the lack of expression of  $\alpha 6(\text{IV})$  chain has no effect on the cochlea structure and the hearing function in mice.

---

キーワード : コラーゲン, 内皮細胞, ゲル

Key words: Collagen IV, Cochlea, Hearing loss

## 抗がん剤心毒性モデルにおける好酸球カチオン性タンパクの心保護効果

西村拓人<sup>1)</sup>、立木美穂<sup>1)</sup>、池村健太郎<sup>2)</sup>、稲垣純子<sup>3)</sup>、大月孝志<sup>1)</sup>、オメル・ファルク・ハティポール<sup>1)</sup>、渡辺彰吾<sup>1)</sup>、廣畑聡<sup>1)</sup>

1) 岡山大学大学院 保健学研究科 検査技術科学分野、  
2) 岡山大学 医学部 保健学科 検査技術科学専攻、3)  
岡山大学大学院 医歯薬学総合研究科 細胞化学分野

【背景】好酸球カチオン性タンパク(ECP)は好酸球中に含まれる分子量 16~22kDa のタンパク質である。ECP は抗菌性などの免疫防御能を示すとされているが、近年、新たな作用として酸化ストレス抑制作用が見出された。ドキソルビシン(DOX)は心筋の線維化を伴う重篤な副作用(心毒性)を引き起こす抗がん剤で、その発生機序には酸化ストレスの関与が示唆されている。さらに、DOX と分子標的治療薬ハーセプチン(HER)との併用療法の際に心毒性のリスク増が報告されている。

【目的】 DOX と HER 併用負荷モデルに ECP を投与し、その心保護効果について検討を行った。

【方法】6週齢の雄性 Sprague-Dawley ラットを、対照群、抗がん剤群(AC 群)、抗がん剤+ECP 群(AC+E 群)の 3 群に分けた。抗がん剤投与の後、心エコー検査を行い、血液および心臓を摘出した。

【結果】心エコー検査において心収縮機能を示す駆出率(EF)および左室内径短縮率(%FS)は AC 群で低下し、AC+E 群では有意に改善した。生化学検査ではクレアチンキナーゼ(CK)およびトロポニン T は AC 群で上昇し、AC+E 群では改善傾向がみられた。定量 PCR では AC 群においてヘモオキシゲナーゼ-1(HO-1)や脳性ナトリウム利尿ペプチド(BNP)の発現が増加し、AC+E 群では改善傾向が見られた。Masson Trichrome 染色では AC 群で心線維化を認め、中には乳頭筋に強い線維化を来した個体も認めた。

【考察および結論】抗がん剤投与ラットモデルでみられた心副作用は ECP 投与により改善がみられた。ECP の併用は新たな支持療法として抗がん剤治療の将来に貢献できるかもしれない。

キーワード： がん心臓病学、線維化、酸化ストレス

## Cardioprotective effect of eosinophil cationic protein in rat cardiotoxicity model caused by anti-cancer agent

Takuto Nishimura<sup>1</sup>, Miho Tachiki<sup>1</sup>, Kentaro Ikemura<sup>1</sup>, Junko Inagaki<sup>2</sup>, Takashi Ohtsuki<sup>1</sup>, Omer Faruk Hatipoglu<sup>1</sup>, Shogo Watanabe<sup>1</sup>, Satoshi Hirohata<sup>1</sup>

1) Department of Medical Technology, Graduate School of Health Sciences, Okayama University, 2) Department of Medical Technology, Faculty of Health Sciences, Okayama University Medical school, 3) Department of Cell Chemistry, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences

【Background】Eosinophil Cationic Protein (ECP) is a 16~22 kDa protein contained in eosinophils. ECP has immune-protective abilities. Recently, we found that ECP showed an anti-oxidative stress effect. Doxorubicin (DOX) is an anti-cancer drug notorious for serious side effect (i.e., cardiotoxicity). In addition, combination chemotherapy of DOX and Herceptin (HER) has been reported to increase the risk of cardiotoxicity. Oxidative stress has been implicated for anti-cancer agent-induced cardiotoxicity.

【Objective】We examined the cardioprotective effect by ECP in rat cardiotoxicity model caused by DOX and HER.

【Methods】Sprague Dawley rats (6 weeks old) were divided into 3 groups (control, anti-cancer drug (AC group) and anti-cancer drug with ECP (AC+E group). After anti-cancer drug administration, cardiac function was determined by echocardiography and the heart and blood were examined.

【Results】Cardiac function including ejection fraction (EF) and fractional shortening (% FS) were significantly worse in AC group, while it was preserved in AC+E group. Serum creatine kinase (CK) and troponin T levels were elevated in the AC group, while they were attenuated in AC+E group. Heme oxygenase-1 (HO-1) and brain natriuretic peptide (BNP) mRNA levels were increased in the AC group, while they were attenuated in the AC+E group. Masson trichrome staining demonstrated myocardial fibrosis in the AC group.

【Discussion and conclusion】Our rat model showed cardiac side effect caused by DOX and HER. ECP attenuated unfavorable cardiac dysfunction by anti-cancer drugs. ECP may be useful as a novel supportive agent in chemotherapy.

Key words: cardio-oncology, fibrosis, oxidative stress

**Transcriptional changes of the skin during aging process**

<sup>1</sup>Ryusuke Momota, <sup>2</sup>Tomoko Yonezawa, <sup>2</sup>Toshitaka Oohashi, <sup>3</sup>Zenzo Isogai

<sup>1</sup>Human Morphology, <sup>2</sup>Molecular Biology & Biochemistry, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry & Pharmaceutical Sciences

<sup>3</sup>Department of Advanced Medicine, National Center for Geriatrics & Gerontology

[Introduction] At the interface of our body, skin is always exposed to stimuli and accumulates damages, leading to the condition “aged skin”, characterized by wrinkles, pigmentations and less elasticity. Deep understanding of aged skin is important to prevent premature aging and to provide better healthcare.

[Purpose] To understand how gene expression changes over ages in real-life environments, we analyzed all the transcripts (56206) in the skin from the GTEx project, a publicly available resource collected from nearly 1000 individuals. To study internal aging factors, we mainly focused on the samples derived from sun-protected skin.

[Material & Methods] Transcriptome data of the skin was divided into subgroups by donors' age (20s to 60s) and body sites (suprapubic: sun-protected, lower leg: sun-exposed). Expression level of each transcript was compared among the different groups and by linear regression analysis.

[Results & Discussion] Linear regression analysis of transcripts from sun-protected skin revealed that more genes were upregulated than downregulated during aging process. Functional analyses of GO-terms revealed that genes encoding for RNA processing, splicing, ribonucleoproteins, transmembrane glycoproteins, mitochondrial complex I, keratinization, microtubules, and proteasome complex were significantly affected during aging. Collectively, these results indicate that the attenuated governance of transcription and ROS generation, to which ECM-related pathways are vulnerable, underlie internal skin aging and that there is a chronological suppressing machinery on gene expression, which is diminishing over ages.

## 全身性強皮症の皮膚硬化モデルマウスにおける抗 CTGF 抗体の効果の検討

<sup>1</sup> 牧野雄成、<sup>2</sup> Maria Trojanowska、<sup>1</sup> 尹浩信

<sup>1</sup> 熊本大学大学院皮膚病態治療再建学分野

<sup>2</sup> ボストン大学リウマチセンター(米国)

【背景】全身性強皮症とは皮膚のみならず多臓器に線維化を生じ得る疾患である。全身性強皮症の線維化病態に対する connective tissue growth factor (CTGF/CCN2) の関与の報告はあるが、CTGF を治療の標的とした検討は十分になされていない。

【目的】本研究では、全身性強皮症モデルマウスの皮膚線維化に対する影響を、平滑筋細胞/線維芽細胞特異的 CTGF ノックアウトマウスと、抗ヒト CTGF 抗体 (FG-3019) を用いて検討した。

【実験方法】全身性強皮症のモデルマウスとしてアンギオテンシン II モデルを使用、アンギオテンシン II を、マウス皮下に留置した浸透圧ポンプによって 14 日間暴露させ皮膚硬化を誘導した。アンギオテンシン II 投与を CTGF ノックアウトマウス、もしくは腹腔内に週 3 回 FG-3019 を投与したマウスに行い、それぞれ皮膚線維化の変化を皮膚厚測定、ヒドロキシプロリンアッセイにより検討した。また  $\alpha$ SMA、PDGFR $\beta$ 、vWF の免疫染色や procollagen の蛍光免疫染色を行い、それぞれの染色の陽性細胞の数を検討した。

【結果と考察】アンギオテンシン II 誘導皮膚線維化は、CTGF ノックアウトマウスと、FG-3019 投与のいずれのマウスにおいても抑制された。また CTGF 阻害により、皮膚真皮における  $\alpha$ SMA、PDGFR $\beta$ 、procollagen 陽性細胞は減少していた。さらに、アンギオテンシン II マウスモデルにおいて、CTGF 抑制により皮膚真皮血管の vWF 染色性は低下しており、血管障害を抑制していることが示唆された。CTGF を阻害することは全身性強皮症の線維化を抑制する治療標的になり得ると考えられた。

## Anti-connective tissue growth factor (CTGF) monoclonal antibody reduces skin fibrosis in mice models of systemic sclerosis

<sup>1</sup> Katsunari Makino, <sup>2</sup> Maria Trojanowska, <sup>1</sup> Hironobu Ihn

<sup>1</sup> Department of Dermatology and Plastic Surgery, Kumamoto University, Japan

<sup>2</sup> Arthritis Center, Boston University School of Medicine, USA

[Introduction] Systemic sclerosis (SSc) is characterized by fibrosis of the skin and multiple organs. Although the involvement of connective tissue growth factor (CTGF/CCN2) has been reported in SSc fibrosis, the therapeutic potential of targeting CTGF in SSc has not been well investigated.

[Purpose] Our purpose was to examine the therapeutic potential of CTGF blockade in a mouse model of SSc using two approaches: smooth muscle cell fibroblast-specific deletion of CTGF (CTGF knockout (KO)) or a human anti-CTGF monoclonal antibody, FG-3019.

[Materials & Methods] Angiotensin II (Ang II) was administered for 14 days by subcutaneous osmotic pump to CTGF KO or C57BL/6 J mice. FG-3019 was administered intraperitoneally three times per week for 2 weeks. Skin fibrosis was examined by histology and hydroxyproline assay. Immunohistochemistry staining was used for  $\alpha$  smooth muscle actin ( $\alpha$ SMA), platelet-derived growth factor receptor  $\beta$  (PDGFR $\beta$ ), von Willebrand factor (vWF), and immunofluorescence staining was utilized for procollagen.

[Results and Discussion] Ang II-induced skin fibrosis was attenuated in both CTGF KO and FG-3019-treated mice. The blockade of CTGF reduced the number of cells expressing PDGFR $\beta$ , procollagen,  $\alpha$ SMA in the dermis. In addition, inhibition of CTGF attenuated vascular injury as measured by the presence of vWF staining. Our data suggest that inhibition of CTGF signaling presents an attractive therapeutic approach in SSc.

キーワード : CTGF/CCN2、線維化、全身性強皮症

Key words: CTGF/CCN2, fibrosis, systemic sclerosis

## TRPV4 欠損の角膜でのマウス角膜血管新生に対する影響

住岡孝吉、岡田由香、岩西宏樹、安田慎吾、宮嶋正康、  
雑賀司珠也

和歌山県立医科大学 眼科学教室

【目的】 Transient Receptor Potential Vanilloid 4 (TRPV4) は熱性痛覚過敏や疼痛に関与するイオンチャネル型受容体である。TRPV4 ノックアウトマウス (KO) の角膜の血管新生過程が野生型マウスと比較して変化があるかどうかを検討した。機序解明を目的としてヒト臍帯静脈血管内皮細胞 (HUVEC) の血管新生活性に対する TRPV4 阻害薬の効果を検討した。

【方法】 (1) KO 群 (n=24)、野生種群 (WT 群: C57BL/6, n=25) の 2 群それぞれに、Accu-TEMP® を用いて角膜中央を焼灼し、角膜血管新生モデルを作成した。経時的に角膜の凍結切片を作成し、血管内皮同定を目的として CD31 に対する免疫組織化学的染色を行い、角膜実質内に伸展した新生血管の長さを測定した。また、焼灼 3 日後の角膜で vascular endothelial growth factor-A (VEGF-A)、F4/80 マクロファージ抗原、 $\alpha$  平滑筋アクチン ( $\alpha$  SMA)、Interleukin-6 (IL-6) の mRNA 発現を real-time RT-PCR で検討した。(2) VEGF 存在下 HUVEC 培養で、コントロール培養、または培養液中に Sulforaphane (陽性対象)、TRPV4 アンタゴニスト (HC-067047) 0.1、1、10 ( $\mu$ M) を添加し、一定時間後に管腔構造の長さを測定し比較検討した。

【結果】 (1) 創傷作成 7 日後で輪部からの CD31 陽性角膜新生血管の伸展は KO 群で WT 群と比較し有意に抑制されていた。焼灼 3 日後の F4/80 mRNA 発現量は KO 群では WT 群と比較し有意に抑制されていた。VEGF-A、 $\alpha$  SMA、IL-6 は KO 群では抑制傾向にあるものの有意な差はみられなかった。(2) VEGF 存在下 HUVEC の血管新生作用は TRPV4 アンタゴニスト添加で濃度依存的に有意に抑制されていた。

【結論】 TRPV4 は角膜血管新生過程と創部マクロファージ浸潤に関与している。

キーワード: TRPV4、角膜、血管新生

## Effect of the loss of TRPV4 on angiogenic response in mouse cornea

Takayoshi Sumioka, Yuka Okada, Hiroki Iwanishi, Shingo Yasuda, Masayasu Miyajima, Shizuya Saika

Wakayama Medical University, Ophthalmology

**Purpose:** To investigate the alteration of angiogenic response in a transient receptor potential vanilloid 4 (TRPV4) -null mouse cornea in comparison with a wild-type (WT) mouse. Effect of adding a TRPV4 antagonist on HUVEC's angiogenic behavior was also examined. TRPV4 is a cation channel type receptor involved in febrile hyperalgesia and pain as well as multiple cell behavior modulation as a mechanosensor. **Methods:** (1) Corneal neovascularization from the limbal vessels was induced by cauterization of the central cornea of an eye of both C57BL/6 (WT) mice (n = 24) and TRPV4-null (KO) mice (n = 25) by using a disposable tool of Accu-temp. Cryosection of the cornea were processed for immunohistochemistry for CD31. mRNA Expression of angiogenic growth factors and inflammatory cell markers in tissue was examined at day 3 by using TaqMan real time-RT-PCR. (2) Effects of adding Sulforaphane (positive control) or HC-067047 (a TRPV4 inhibitor) on angiogenic behaviors of human umbilical vein endothelial cells (HUVECs) under VEGF-plus condition. The length of tube-like structure formation was compared and examined after 12 hours. **Results:** (1) The length of the CD31-labeled neovascularization from the limbus was less in KO mice as compared with WT mice at day 7. mRNA expression of F4/80 macrophage antigen was significantly less in a KO cornea as compared with a WT cornea at day 3. (2) VEGF-driven angiogenic behavior of HUVEC was significantly suppressed by the addition of TRPV4 antagonist in a concentration-dependent manner. **Conclusions:** TRPV4 signal is involved in macrophage infiltration and corneal stromal neovascularization in a mouse cornea.

Key words: TRPV4, cornea, neovascularization

## uPAR を高発現する角膜上皮細胞における上皮間葉転換に対するエピガロカテキンガレート(EGCG)の効果についての検討

<sup>1</sup>木村優太、<sup>1</sup>坂田喜美、<sup>1</sup>濱野将大、<sup>1,2</sup>吉田浩二

<sup>1</sup>近畿大学大学院生物理工学研究科生体システム工学専攻、

<sup>2</sup>近畿大学生物理工学部医用工学科

【目的】臓器線維症の原因の 1 つとして上皮系の細胞が間葉系の性質を獲得する上皮間葉転換(EMT)がある。EMT は TGF- $\beta$  によって誘導される。また epigallocatechin gallate (EGCG)はカテキンの 1 種で抗癌作用、抗アレルギー作用など様々な生理活性を持つ物質である。細胞性線溶は細胞表面に存在する受容体を介し細胞機能に影響を与えることが明らかになりつつある。細胞性線溶に参与する urokinase-type plasminogen activator receptor (uPAR)を高発現させたヒト角膜上皮細胞(HCEC: Human Corneal Epithelial Cell)を用いて、uPAR が TGF- $\beta$  の EMT 誘導作用および EGCG の TGF- $\beta$  活性に及ぼす効果について、細胞形態の観察やウエスタンブロット法などにより検討する。

【方法】HCEC+Empty と HCEC+uPAR をそれぞれ培養し、TGF- $\beta$  処理群と(TGF- $\beta$ +EGCG)処理群においてセルライゼット調製を行った。ウエスタンブロット法にてマーカータンパク質の発現量を解析した。間葉系細胞のマーカーとして Fibronectin(FN)、 $\alpha$ -smooth muscle actin(SMA)、上皮系細胞のマーカーとして E-cadherin(E-cad)、内部標準として Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase(GAPDH)を用いた。

【結果と考察】TGF- $\beta$  と EGCG を同時添加した際、+Empty と比較して+uPAR において FN と E-cad の発現については大きな差異は見られず、 $\alpha$ -SMA については+uPAR において発現が抑制される傾向にあった。よって TGF- $\beta$  が FN および E-cad の発現に与える作用には、EGCG は関与しないと考えられる。一方、 $\alpha$ -SMA の発現結果からは、uPAR は TGF- $\beta$  誘導性の EMT に関与しており、EGCG は uPAR と協調して EMT の誘導を抑制すると推察される。

Investigation of the effects of EGCG on Epithelial-Mesenchymal Transition (EMT) in Human Corneal Epithelial Cell stably overexpressing urokinase-type plasminogen activator receptor

<sup>1</sup>Yuta Kimura, <sup>1</sup>Kimi Sakata, <sup>1</sup>Shota Hamano,

<sup>1,2</sup>Koji Yoshida

<sup>1</sup>Department of Biological System Engineering, Graduate School of BOST, Kindai University

<sup>2</sup>Department of Biomedical Engineering, Faculty of BOST, Kindai University

[Purpose] One of the driving forces behind fibrosis is epithelial mesenchymal transition (EMT), a process where epithelial cells gain mesenchymal properties. EMT is induced by TGF- $\beta$ . Epigallocatechin gallate (EGCG) is a kind of catechin and is a substance having various physiological activities such as anti-cancer and anti-allergic action. It is becoming clear that cellular fibrinolysis affects cell function via receptors present on the cell surface. By using human corneal epithelial cells (HCEC) highly expressing urokinase-type plasminogen activator receptor (uPAR), the effects of uPAR and EGCG on TGF- $\beta$ -inducing EMT were studied. Microscopic observation of cell morphology and western blotting analysis were performed.

[Methods] Lysates from HCECs transfected with either empty vector (Empty) or uPAR expressing vector (uPAR) were prepared and cultured in the presence or absence of TGF- $\beta$  and EGCG. Fibronectin (FN) and  $\alpha$ -smooth muscle actin (SMA) were used as mesenchymal markers. E-cadherin was used as a marker of epithelial cell phenotype and glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) as an internal standard.

[Results and Discussion] When HCECs were treated with TGF- $\beta$  and EGCG, there was no significant expression difference between control and +uPAR cells for FN and E-cadherin.  $\alpha$ -SMA expression seemed to be suppressed in +uPAR cells. Therefore, EGCG appears to have no effect on inducing the expression of FN and E-cadherin via TGF- $\beta$  signaling. Judging from the expression of  $\alpha$ -SMA, we presume that uPAR is involved in the EMT induction by TGF- $\beta$  and that EGCG cooperates with uPAR in suppressing the EMT induction.

キーワード: uPAR、上皮間葉転換、TGF- $\beta$ 、EGCG

Key words: uPAR、EMT、TGF- $\beta$ 、EGCG

## 光老化コラーゲンによる皮膚線維芽細胞の細胞機能調節

坂上弘明、熊谷瞳子、尾関栄弥、佐藤隆

東京薬科大学 薬学部 生化学教室

【目的】皮膚の弾力維持には真皮に存在する細胞外マトリックス(ECM)が重要な役割を担っている。紫外線(UV) 露光部皮膚では、非露光部皮膚と比べシワの形成速度が速く、変性した ECM も多く蓄積されていると報告されている。本研究では、変性 ECM による皮膚線維芽細胞の機能調節とシワ・たるみの発症との関連性を明らかにするために、ヒト皮膚線維芽細胞(HDF)における細胞増殖および matrix metalloproteinase (MMP)産生調節に対する UV 曝露コラーゲンの作用を検討した。【方法】ウシ由来 I 型コラーゲン溶液に UVB (75 J/cm<sup>2</sup>)を照射し、UVB 照射コラーゲン (光老化コラーゲン) 溶液を調製した。HDF を光老化コラーゲンを用いて包埋培養し、細胞増殖およびコラーゲンゲルの収縮を解析した。また、proMMPs-1 および-2 の産生調節を Western blot および gelatin zymography 法により解析した。【結果】光老化コラーゲンにおいて、カルボニル化および断片化が有意に検出された。また、光老化コラーゲンにて包埋培養した HDF では、対照群と比較して細胞の形態が変化し、細胞増殖が抑制され、ゲルの収縮が減弱することが判明した。しかしながら、光老化コラーゲン包埋培養は HDF の proMMPs-1 および-2 産生には影響を及ぼさなかった。【考察】UVB 曝露によるコラーゲンの変性は、HDF の足場形成に影響を及ぼし、その細胞増殖を抑制するものと示唆される。また、光老化コラーゲンが HDF の MMP 産生に影響を及ぼさないことは、UVB 露光部皮膚において変性コラーゲンの蓄積が生じるものと示唆される。本研究成果は、皮膚のシワ・たるみの発症機構の解明に繋がるものと期待される。

## Effects of UV-exposed collagen on cell proliferation and MMP production in human dermal fibroblasts

Hiroaki Sakaue, Toko Kumagai, Maya Ozeki, and Takashi Sato

Department of Biochemistry, School of Pharmacy, Tokyo University of Pharmacy and Life Sciences

[Objective] Extracellular matrix (ECM) in dermis plays important roles to maintain cutaneous functions such as elasticity and moisturization. Ultraviolet (UV) exposure has been reported to accelerate the formation of wrinkles rather than the intrinsic aging of skin. In addition, abnormal ECMs have been reported to be detectable in the dermis of UV-exposed skin. Therefore, these reports allow us to speculate that UV-mediated ECM abnormalities result in the dysregulation of dermal fibroblast functions, which in turn is associated with wrinkle formation. In this study, we have examined the effect of UV-exposed collagen on cellular functions in dermal fibroblasts. [Materials & Methods] Type I collagen solution (1 mg/mL) was irradiated for 24 h with UVB (75 J/cm<sup>2</sup>). Human dermal fibroblasts (HDF) were embedded in gel prepared with the UVB-exposed collagen solution, and then cultivated to analyze cell proliferation and gel contraction. The regulation of promatrix metalloproteinases (proMMPs)-1 and -2 was analyzed by Western blotting and gelatin zymography. [Results] Carbonylated and fragmented collagen (termed as photoaged collagen) was detectable by the UVB irradiation. An alteration of cell morphology and decreases in cell proliferation and gel contraction were observed in the HDF embedded with photoaged collagen. However, there was no change in the regulation of proMMPs-1 and -2 production in the photoaged-collagen-embedded HDF. [Discussion] These results suggest that photoaged collagen elicits a decrease in HDF proliferation due to the dysregulation of scaffold formation. Furthermore, the accumulation of photoaged collagen may exceed the MMP-mediated proteolysis in dermis, leading to wrinkle formation in the skin.

キーワード : UVB、コラーゲン、ヒト皮膚線維芽細胞

Key words: UVB, collagen, human dermal fibroblast, MMP

## 腎不全モデルラットにおける骨のカルバミレーションおよびコラーゲン架橋、骨強度の評価

<sup>1</sup> 熊澤雄基、<sup>1</sup> 水野一乗、<sup>1</sup> 多賀祐喜

<sup>1</sup> (株)ニッピ バイオマトリックス研究所

カルバミレーションは尿素の分解物であるイソシアニド酸がタンパク質のアミノ基と反応する非酵素的な翻訳後修飾であり、タンパク質の構造や機能に変化を及ぼす。我々は最近、hydroxylysine を由来とするコラーゲン特有のカルバミレーション産物 hydroxyhomocitrulline (HHCit) を同定した (Taga et al., Cell Chem. Biol., 2017)。これまでに、HHCit が加齢とともに組織コラーゲン中で蓄積すること、HHCit 形成が競合的に成熟架橋形成を阻害すること、腎不全患者の血中で HHCit 濃度が著しく高値となることを見出している。腎不全患者では骨折発生率が高いことが知られており、コラーゲンのカルバミレーションがその一因である可能性が示唆される。そこで本研究では、腎不全モデル動物として 5/6 腎摘出 (NTX) ラットを用い、腎不全による骨の HHCit 量の変動、およびその架橋形成、骨強度との相関を解析することにした。

腎摘出後 6 週間時点において、NTX 群の骨ではコントロール群に対して約 2 倍の HHCit が検出され、さらに血中の HHCit 濃度も NTX 群で約 3 倍まで増加していた。ただし、コラーゲン成熟架橋であるピリジノリン、デオキシピリジノリン含量に変化は見られず、3 点曲げ試験による骨強度の変化も認められなかった。今回の実験条件では、腎摘出による HHCit の増加は加齢に伴う生理的な変化と同程度であったため、コラーゲン架橋にまでは影響を与えなかったと考えられる。現在、他の腎不全モデルとして、アデニン投与により腎障害を誘導したラットを用いた実験を進めており、本発表ではその実験結果についても報告する予定である。

キーワード：カルバミレーション、コラーゲン架橋、腎不全

## Evaluation of carbamylation, collagen cross-linking, and mechanical strength of bone in a rat model of kidney failure

<sup>1</sup> Yuki Kumazawa, <sup>1</sup> Kazunori Mizuno, <sup>1</sup> Yuki Taga

<sup>1</sup> Nippi Research Institute of Biomatrix

Carbamylation is a nonenzymatic post-translational modification caused by reacting urea-derived isocyanate with primary amino groups of protein and changes protein structure and function. We recently identified a collagen-specific carbamylation product, named hydroxyhomocitrulline (HHCit), derived from hydroxylysine (Taga et al., Cell Chem. Biol., 2017). We found that HHCit accumulates in tissue collagen with aging, HHCit formation competitively inhibits formation of mature cross-links, and the blood level of HHCit is significantly higher in dialysis patients. It is known that the incidence of fractures is increased by kidney failure, and thus, we consider that collagen carbamylation is a possible risk factor of bone fragility. Here, we investigated the kidney failure-related alteration of HHCit content in bone and its relationship with collagen cross-link formation and mechanical strength of bone using the 5/6 nephrectomy (NTX) rat model.

At 6 weeks after the NTX surgery, the increase in HHCit in bone collagen and serum in the NTX group compared to the sham-operated group was observed by LC-MS analysis using a triple quadrupole mass spectrometer (3200 QTRAP, AB Sciex). In contrast, there was no change in mature collagen cross-links and mechanical strength of bone. The increase in HHCit caused by NTX was relatively low, comparable to the physiological accumulation of HHCit with aging. Thus, we consider that HHCit formation was not enough to inhibit formation of collagen cross-links under the experimental conditions. We are now performing similar experiments using adenine-administered rats as another animal model of kidney failure.

Key words: carbamylation, collagen cross-link, kidney failure

## ラミニン-インテグリン相互作用の分子メカニズム：相互作用の親和性と特異性を規定する領域の同定

瀧沢士<sup>1</sup>、谿口征雅<sup>1</sup>、梶純子<sup>1</sup>、関口清俊<sup>1</sup>

<sup>1</sup>大阪大学蛋白質研究所マトリクソーム科学（ニッピ）寄附研究部門

ラミニンは  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  鎖からなる基底膜の主要な接着分子であり、細胞表面受容体インテグリンとの結合を介して細胞の挙動を制御する。ラミニンのインテグリン結合部位はラミニンの  $\alpha$  鎖の 3 つの球状ドメイン（LG1-3）に存在し、その結合活性の発現には  $\gamma$  鎖の C 末端領域（ $\gamma$ -tail）に含まれる Glu 残基の寄与が不可欠である。最近我々は、 $\gamma$ -tail の Glu 残基がインテグリン  $\beta$  鎖側のリガンド認識部位である MIDAS の 2 価金属イオンに配位することを明らかにした。しかし、LG1-3 のどの部位がインテグリンとの結合に関わるかは未だ不明である。そこで我々は、生化学的手法を用いて LG1-3 上に存在するインテグリン結合部位を探索した。LG1-3 上の全アミノ酸のうち、脊椎動物間で保存された 25 個のアミノ酸を順次 Ala 残基に置換した 25 種のラミニン変異体を調製し、インテグリン結合活性を測定した。その結果、LG2 上の 5 個の塩基性残基を Ala 残基に置換すると、インテグリン結合活性が著しく低下した。Ala 置換によってインテグリン結合活性が低下する塩基性残基がインテグリンとの結合に直接関与する可能性をさらに調べるため、分子間架橋形成を指標とした検証実験を実施した。具体的には、LG2 の当該塩基性残基に Cys 残基を導入したラミニン変異体とインテグリン  $\alpha$  鎖のリガンド認識部位近傍に Cys 残基を導入した変異体を哺乳動物細胞に共発現させ、ジスルフィド結合で架橋された複合体を生じる組み合わせを網羅的に検索した。その結果、LG2 の塩基性残基とインテグリン  $\alpha$  鎖の分子表面に露出する特定の酸性残基との間で分子間架橋物の生成が確認された。以上の結果は、LG2 がラミニン  $\alpha$  鎖上のインテグリン結合領域であり、この領域の塩基性残基とインテグリン  $\alpha$  鎖の酸性残基との静電相互作用がラミニン-インテグリン間の高親和性結合に必要であることを示している。

キーワード： 基底膜、ラミニン、インテグリン

## The amino acid residues that define the specificity and high affinity laminin-integrin interactions

M. Takizawa<sup>1</sup>, Y. Taniguchi<sup>1</sup>, J. Toga<sup>1</sup>, K. Sekiguchi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Division of Matrixome Research and Application, Institute for Protein Research, Osaka University

Laminins are basement membrane proteins composed of  $\alpha$ ,  $\beta$  and  $\gamma$  chains. Laminins elicit a variety of cellular responses through interactions with cell surface receptors including integrins. Accumulating evidence indicates that the integrin binding site is mapped to the three laminin-globular domains of  $\alpha$  chain (LG1-3), whose integrin-binding activity is strictly dependent on the Glu residue in the C-terminal region of  $\gamma$  chain ( $\gamma$ -tail). Recently, we found that the  $\gamma$ -tail directly interacts with integrin, with the Glu residue coordinating the metal ion in MIDAS of integrin  $\beta$  subunit. However, it has long been an open question how LG1-3 contribute to the integrin binding activity of laminins. Here, we sought to identify the integrin recognition site(s) within LG1-3 by biochemical analyses.

A series of Ala substitutions for amino acid residues conserved among vertebrates (fish, frog, chicken, mouse, human) and assessment of the integrin binding activity of the laminin mutants revealed that five basic residues of LG2 are involved in integrin binding. Electron micrographs of the laminin-integrin complex showed that integrin always bound to a specific region of LG1-3 where the five basic residues are predicted to reside. Intermolecular disulfide formation screening with a panel of Cys-substituted laminin and integrin mutants demonstrated that the basic residues are in close proximity to the surface-exposed acidic region of integrin  $\alpha$  subunit. These results together lead us to conclude that LG2 directly interact with integrin  $\alpha$  subunit, with the basic residues electrostatically attracting the surface-exposed acidic region of integrin  $\alpha$  subunit.

Key words: basement membrane, laminin, integrin

---

**Collagen XVIII deposition in the basement membrane zone beneath the newly forming epidermis during wound healing in mice**

<sup>1</sup> Takahiro Maeba, <sup>1</sup> Tomoko Yonezawa, <sup>1</sup> Mitsuaki Ono, <sup>2</sup> Yasuko Tomono, <sup>3,4</sup> Ritva Heljasvaara, <sup>3</sup> Taina Pihlajaniemi, <sup>5</sup> Kiich Inagawa, <sup>1</sup> Toshitaka Oohashi

<sup>1</sup> Molecular Biology & Biochemistry, Okayama Univ. Grad. Sch. of Med. Dent and Pharm. <sup>2</sup> Shigei Medical Research Institute, <sup>3</sup> University of Oulu, <sup>4</sup> University of Bergen, <sup>5</sup> Kawasaki Medical School

[Introduction] The skin covers the entire external surface of the body and maintains the body's homeostasis. Following injury, skin wound healing is rapidly initiated. Re-epithelialization is an important step in repairing damaged skin and is accomplished by the migration, proliferation and differentiation of keratinocytes. Collagen XVIII, which is a heparan sulfate proteoglycan, is known to exist widely in various basement membranes (BMs).

[Purpose] To investigate the function of collagen XVIII in skin wound healing.

[Materials & Methods] We used a mouse excisional wound splinting model for the analysis. Immunohistochemistry and transmission electron microscopy (TEM) were performed.

[Results and Discussion] Immunohistochemistry demonstrated that collagen XVIII was deposited in the BM zone beneath newly forming epidermis in day 3 and 6 wound. Laminin-332 was colocalized with collagen XVIII in the epidermal BM zone at day 3 and 6. The deposition of  $\alpha 1(\text{IV})$  collagen and nidogen-1 occurred later than that of collagen XVIII. The ultrastructure of epidermal BM was discontinuous at day 3, whereas on day 6 a continuous BM was observed in the region proximal to the wound edge. The short isoform of collagen XVIII was present in the epidermal BM zone at day 3 wound, while the middle/long isoforms of collagen XVIII was present in the epidermal BM zone at day 6 not day 3 wound. Furthermore, re-epithelialization was accelerated in *Coll8A1* knockout mice compared with that of wild type mice. Our results suggested that collagen XVIII plays a role in the formation of dermal-epidermal junction and the modulation of re-epithelialization.

---

キーワード :

Key words: Collagen XVIII, Skin wound healing

## ウシ臓器由来 I 型コラーゲンの性状解析および他種間の比較

八木志乃海<sup>1</sup>、田中啓友<sup>1</sup>、多賀祐喜<sup>1</sup>、遠山周吾<sup>2</sup>、  
小林英司<sup>2</sup>、服部俊治<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 株式会社ニッピ バイオマトリックス研究所

<sup>2</sup> 慶応義塾大学 医学部 臓器再生医学寄附講座

我々は 2017 年の本学会において、ブタで臓器により I 型コラーゲンの熱安定性や翻訳後修飾、線維形成プロファイル等の性状が異なることを報告した。今回はこれらのコラーゲンの臓器特異性が他の種でも維持されているのかを明らかにするため、ウシにおける各種臓器由来 I 型コラーゲンの性状解析を行った。ウシの心臓、脾臓、腎臓、肝臓、肺、角膜、皮膚の 7 種の臓器から I 型コラーゲンを精製し、種々の分析に供した。円偏光二色性分析による変性温度の比較では、皮膚と比較し、内臓由来 I 型コラーゲンで変性温度が高くなることが明らかになった。興味深いことに角膜は皮膚に近い変性温度を示した。変性温度に影響を与えるヒドロキシプロリン (Hyp) の量をアミノ酸分析で調べたところ、皮膚、角膜と比較して内臓由来 I 型コラーゲンで Hyp の割合が高かった。また、ヒドロキシリジン (Hy1) の含有率も高く、糖鎖付加や架橋形成にも各臓器で違いがある可能性が示唆された。LC-MS でコラーゲン特有の翻訳後修飾アミノ酸 3-Hyp、4-Hyp、galactosyl hydroxylysine (GHL) や glucosyl galactosyl hydroxylysine (GGHL) を定量したところ、これらの量にも違いがみられ、特に 3-Hyp は内臓に多く含まれる傾向がみられた。コラーゲンの線維形成を調べたところ、線維の形成速度や最終濁度が各臓器で異なり、また AFM による再生線維の観察でも形成線維の太さや線維束の状態の違いがみられた。以上の結果から、ブタと同様にウシにおいても I 型コラーゲンの臓器特異性を確認されることが明らかとなった。臓器コラーゲンの性状は種間を超えて維持されているものと考えられる。また、現在、胎盤組織由来 I 型コラーゲンの性状をヒト、ウシ、ブタで比較することを検討しており、種間のコラーゲンの性状に関するデータとして本データも併せて報告できればと考えている。

キーワード： コラーゲン、臓器特異性、種間比較

## Characterization and interspecies comparison of bovine organ-derived type I collagen

Shinomi Yagi<sup>1</sup>, Keisuke Tanaka<sup>1</sup>, Yuki Taga<sup>1</sup>, Shugo Tohyama<sup>2</sup>, Eiji Kobayashi<sup>2</sup>, Shunji Hattori<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Nippi Research Institute of Biomatrix

<sup>2</sup> Department of Organ Fabrication, Keio University School of Medicine

We previously reported that the properties of porcine type I collagen such as thermal stability, post-translational modification patterns and fibril formation profile differ depending on each organ. In this study, we analyzed the properties of bovine various organ-derived type I collagen in order to clarify whether this organ specificity of collagen is maintained in other species.

Type I collagen from bovine was extracted from the heart, spleen, kidney, liver, lung, cornea and skin by pepsin treatment. Circular dichroism analysis revealed that type I collagens from internal organs have higher denaturation temperatures compared to skin and cornea collagen. When the amount of hydroxyproline (Hyp) affecting thermal stability was determined by amino acid analysis, the Hyp contents were higher in internal organ collagens than in skin and cornea collagen. In addition, the hydroxylysine (Hyl) content in internal organ collagens was higher than in skin type I collagen. LC-MS analysis revealed that the amounts of 3-Hyp, galactosyl hydroxylysine (GHL), glucosyl galactosyl hydroxylysine (GGHL) were also different depending on the organs.

The cornea collagen particularly contained glycosylated products of Lys. Furthermore, the kinetics of collagen fibril formation was different, and AFM observation of collagen fibrils showed different morphology regarding fibril thickness and bundled structures.

We found that each bovine organ-derived type I collagen have organ specificity as well as pigs. It is considered that the properties of organ-derived collagen are maintained beyond species. We believe that cells in each organ synthesize and deposit tissue-specific type I collagen for its biological role.

Key words: collagen, organ specificity, interspecies comparison

## コラーゲン由来糖鎖修飾ヒドロキシリジンの変形性膝関節症新規バイオマーカーとしての評価

## Evaluation of collagen-derived hydroxylysine glycosides as novel biomarkers of knee osteoarthritis

<sup>1</sup> 田中智美、<sup>1</sup> 多賀祐喜、<sup>2</sup> 金子晴香、<sup>2</sup> 石島旨章、<sup>3</sup> 平澤（有川）恵理、<sup>1</sup> 田中啓友、<sup>1</sup> 水野一乗、<sup>1</sup> 楠畑雅、<sup>1</sup> 服部俊治

<sup>1</sup> Tomomi Tanaka, <sup>1</sup> Yuki Taga, <sup>2</sup> Haruka Kaneko, <sup>2</sup> Muneaki Ishijima, <sup>3</sup> Eri Arikawa-Hirasawa, <sup>1</sup> Keisuke Tanaka, <sup>1</sup> Kazunori Mizuno, <sup>1</sup> Masashi Kusubata, <sup>1</sup> Shunji Hattori

<sup>1</sup> 株式会社ニッピ バイオマトリックス研究所

<sup>1</sup> Nippi Research Institute of Biomatrix

<sup>2</sup> 順天堂大学大学院医学研究科 整形外科・運動器医学

<sup>2</sup> Department of Medicine for Orthopaedics and Motor

<sup>3</sup> 順天堂大学大学院医学研究科 老人性疾患病態・治療研究センター

Organ, Juntendo University Graduate School of Medicine

<sup>3</sup> Research Institute for Diseases of Old Age, Juntendo University Graduate School of Medicine

変形性膝関節症（膝 OA）は、軟骨や骨など膝関節内構造物の質的及び形態学的変化のために歩行時痛や可動域制限を招き、移動機能障害により生活の質が低下する疾患である。尿や血液中の因子の中で実臨床にて利用可能な膝 OA のバイオマーカーは存在せず、より早期から利用可能な精度の高いバイオマーカーが強く望まれている。そこで我々は、軟骨や骨の主成分であるコラーゲンに焦点を当て、新規 OA バイオマーカーの開発を行うことにした。

Knee osteoarthritis (OA) is a joint disease caused by qualitative and morphological changes of knee joint tissues, including cartilage and bone, and shows pain during walking and a limitation in range of motion. There is no biomarker of knee OA available for clinical use. A definitive biomarker that enables early and accurate diagnosis is demanded. Here, we aimed to establish a novel OA biomarker by focusing on collagen that is a major component of cartilage and bone.

まず、質量分析（LC-MS）による尿・血液検体でのスクリーニングを行った結果、コラーゲン特異的翻訳後修飾アミノ酸であるヒドロキシプロリンやヒドロキシリジン（Hyl）では膝 OA と対照（膝前十字靭帯損傷）で有意な差は検出されなかった一方、Hyl の糖鎖修飾産物 GHL・GGHL の濃度が膝 OA 患者で顕著に増加することが明らかとなった。そこで次に、Hyl には反応せず、GHL と GGHL に特異的に反応する抗体を作製し、これを用いて競合 ELISA 測定系を構築した。年齢をマッチさせた尿検体（膝 OA 患者 31 検体、健常人 43 検体）を新たに分析した結果、LC-MS により膝 OA 患者での GHL+GGHL 値の有意な増加が確認され（ $p=0.00004$ ）、さらに ELISA 測定でも膝 OA 患者での有意な阻害率の上昇が検出された（ $p=0.003$ ）。これらは既存の OA バイオマーカーと比較しても良好な結果であった。以上より、GHL・GGHL は新たな OA 診断マーカーとなり得る可能性が示唆された。

LC-MS analysis of blood and urine samples showed that the concentration of collagen-specific post-translational modifications, including hydroxyproline and hydroxylysine (Hyl), was not significantly different between knee OA patients and controls (anterior cruciate ligament injury). In contrast, significant increases in Hyl glycosides, including galactosyl-Hyl (GHL) and glucosyl-galactosyl-Hyl (GGHL), were observed in knee OA patients. Thus, we next prepared antibody specifically recognizes GHL and GGHL but not Hyl, and established a competitive ELISA method using the antibody. Comparing urine samples from knee OA patients (N=31) and healthy subjects (N=43), the GHL+GGHL value obtained by LC-MS significantly increased in knee OA patients ( $p=0.00004$ ), and inhibition of the anti-GHL/GGHL antibody by knee OA patients' urine was also significantly high ( $p=0.003$ ). These results were better than that obtained by existing biomarkers, which suggests that GHL and GGHL can be new good diagnostic biomarkers.

キーワード：変形性関節症、コラーゲン、バイオマーカー

Key words: osteoarthritis, collagen, biomarker

## グリモンティア・ホリセー由来コラーゲナーゼのコラーゲン結合ドメインの同定

田中啓友<sup>1</sup>、寺村直子<sup>1</sup>、林田 治<sup>1</sup>、飯嶋克昌<sup>1</sup>、  
興津 輝<sup>2</sup>、水野一乗<sup>1</sup>、服部俊治<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ニッピ バイオマトリックス研究所

<sup>2</sup> 東京大学 生産技術研究所

グリモンティア・ホリセー1706B株が産生するコラーゲナーゼは、触媒ドメインとPPCドメインから成る74kDaのタンパク質である。我々は以前にPPCドメインがコラーゲン分解活性に寄与することを見出したが、その詳細な機能は解明されていない。本研究では、PPCドメインを含むC末端セグメントの組換えタンパク質を複製し、C末端セグメントがコラーゲン結合ドメイン(CBD)として機能するか検証した。

結合実験を行った結果、C末端セグメントはコラーゲンに結合し、ゼラチンには結合しなかった。すなわち、C末端セグメントはコラーゲンの三重らせん構造を認識して結合することが明らかとなった。さらには、既知の微生物コラーゲナーゼ由来のCBDであるクロストリジウム・ヒストリティカム由来CBDとの比較実験を行った。結合実験により、C末端セグメントは生理的条件下でI型～V型コラーゲンに結合することが明らかとなり、この性質はクロストリジウム由来CBDと同様であった。C末端セグメントの一次配列はクロストリジウム由来CBDと大きく異なるが、*in silico*二次構造予測を行うと両者ともβシートとランダムコイルから成り、二次構造の分布は類似していると予想された。CDスペクトルからの二次構造予測でも、両者の二次構造の組成は類似していた。しかし、C末端セグメントとクロストリジウム由来CBDでは逆平行βシート構造の組成が異なることが明らかとなり、両者の立体構造は異なる可能性が示唆された。

以上の結果、グリモンティア・ホリセーコラーゲナーゼのC末端セグメントはCBDとして働き、74kDaコラーゲナーゼにおいて触媒ドメインのコラーゲン分解活性を促進することが明らかとなった。

キーワード：微生物由来コラーゲナーゼ、コラーゲン結合ドメイン

## Identification of a novel collagen-binding domain from *Grimontia hollisae* collagenase

Keisuke Tanaka<sup>1\*</sup>, Naoko Teramura<sup>1</sup>, Osamu Hayashida<sup>1</sup>,  
Katsumasa Iijima<sup>1</sup>, Teru Okitsu<sup>2</sup>, Kazunori Mizuno<sup>1</sup> and  
Shunji Hattori<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Nippi Research Institute of Biomatrix

<sup>2</sup>Institute of Industrial Science, The University of Tokyo

The collagenase secreted from *Grimontia hollisae* strain 1706B is a 74 kDa protein that consists of two parts; the catalytic domain and the C-terminal segment including bacterial prepeptidase C-terminal (PPC) domain. The function of PPC domain from *G. hollisae* collagenase is unclear, however we have found that the C-terminal segment positively contributes to the collagenolytic activity as a part of the 74 kDa collagenase. Here, we produced the recombinant protein of the C-terminal segment, and examined its collagen-binding capability to confirm whether the C-terminal segment serves as a collagen-binding domain (CBD).

The binding assay showed that the C-terminal segment binds to native collagen, but not to denatured collagen (gelatin), indicating that the C-terminal segment binds to collagen by recognizing its triple-helical conformation. Next, we characterize the C-terminal segment by comparing with the CBDs from *Clostridium histolyticum* collagenases through binding assays, sequence alignments, *in silico* prediction analysis and circular dichroism analysis. The C-terminal segment possesses the binding affinity to various types of collagens under the physiological conditions regarding salt concentration and pH. These binding characteristics of the C-terminal segment is similar to those of clostridial CBDs. The C-terminal segment has a completely different primary structure from those of the clostridial CBDs, but *in silico* prediction indicates that the C-terminal segment may be homologous to clostridial CBDs in secondary structure. CD analysis also revealed that they were similar in the percentage of protein secondary structure content. However, the C-terminal segment possesses a different proportion of antiparallel β-sheet components compared to the clostridial CBDs. These results suggest that the C-terminal segment might be different from the clostridial CBDs in tertiary structure.

In conclusion, the C-terminal segment from *G. hollisae* collagenase is a novel collagen-binding domain and enhances collagenolytic activity of the catalytic domain in 74 kDa *G. hollisae* collagenase.

Key words: bacterial collagenase, collagen-binding domain

## トリペプチド X-Hyp-Gly を高含有するコラーゲン加水分解物の摂取が生体の脂質代謝・骨代謝にもたらす作用

## Effects of X-Hyp-Gly-rich collagen hydrolysate on lipid and bone metabolism in mice.

<sup>1</sup> 遠目塚千紗、<sup>1</sup> 多賀祐喜、<sup>1</sup> 楠畑雅、<sup>1</sup> 熊澤雄基、<sup>1</sup> 陽  
曉艶、<sup>2</sup> 船戸紀子、<sup>1</sup> 水野一乗

<sup>1</sup> Chisa Tometsuka, <sup>1</sup> Yuki Taga, <sup>1</sup> Masashi Kusubata, <sup>1</sup> Yuki  
Kumazawa, <sup>1</sup> Xiaoyan Yang, <sup>2</sup> Noriko Funato, <sup>1</sup> Kazunori  
Mizuno

<sup>1</sup> ニッピ バイオマトリックス研究所

<sup>1</sup> Nippi Research Institute of Biomatrix

<sup>2</sup> 東京医科歯科大学 シグナル遺伝子制御学分野

<sup>2</sup> Department of Signal Gene Regulation, Tokyo Medical and  
Dental University

コラーゲン加水分解物の摂取には様々な健康効果が報告されており、近年の研究により、コラーゲン由来オリゴペプチドがその生理活性の本体であると考えられている。これまでに我々は、コラーゲン由来オリゴペプチドが、細胞や生体の脂質代謝に影響をもたらすこと、ショウガ酵素により生成される特徴的なコラーゲン由来トリペプチド X-hydroxyproline (Hyp)-Gly が骨分化促進作用を有することを報告している。そこで本研究では、生理活性ペプチド X-Hyp-Gly を高含有するショウガ酵素分解コラーゲン加水分解物 (GDCH) が、脂質代謝および骨代謝にもたらす効果を生体にて評価する目的で研究を行った。

It has been reported that ingestion of collagen hydrolysate has various beneficial effects, and recent findings have suggested that collagen-derived oligopeptides act as active ingredients. In our previous studies, collagen oligopeptides and collagen hydrolysate affected lipid metabolism *in vitro* and *in vivo*, respectively, and collagen-derived X-hydroxyproline (Hyp)-Gly-type tripeptides uniquely generated by ginger protease showed promoting effects on osteoblast differentiation. In this study, we aimed to evaluate the effects of ginger-degraded collagen hydrolysate (GDCH) that substantially contains the bioactive X-Hyp-Gly tripeptides on lipid and bone metabolism *in vivo*.

6週齢の雄 BALB/c マウスを 14%カゼイン含有試料(対照群) または 10%カゼイン+4% GDCH 含有試料 (GDCH 群) で 10 週間飼育し、血液・肝臓・脂肪組織中の脂質成分(コレステロールや中性脂肪)、および骨密度や骨代謝関連因子の解析を行った。その結果、GDCH を摂取させたマウスでは、血中のコレステロールや中性脂肪の低下、白色脂肪組織中の脂肪細胞の縮小など、脂質代謝への作用が認められた。肝臓中のコレステロール値は上昇しており、これは、生体の恒常性維持のための反応と予想される。今後、GDCH 摂取による血中リポ蛋白質の組成変動や、コレステロールの吸収・排出への影響について、さらに詳細に検証する。GDCH により脂質代謝には明らかな効果が認められた一方、骨に対する有益な作用は認められなかった。今回の実験では若齢健常マウスを用いたが、生体における GDCH の骨への効果については、骨粗鬆症モデルのような骨脆弱条件での検証が必要と考える。

Male BALB/c mice at 6 weeks of age were raised with diets containing 14% casein (control group) or 10% casein + 4% GDCH (GDCH group) for 10 weeks. In the GDCH group, blood cholesterol and triglyceride were significantly decreased, and the size of adipocytes in white adipose tissue was also significantly reduced. While at the same time, the cholesterol level in the liver was increased in the GDCH-fed mice, which is possibly to maintain the lipid homeostasis. As further experiments, we plan to analyze the detailed alterations of subclasses of blood lipoprotein and absorption/excretion of cholesterol induced by GDCH intake. No beneficial effect of GDCH on bone metabolism was observed in this study using the young normal mice. An osteoporosis model would be appropriate to evaluate the effects of GDCH on bone.

キーワード: コラーゲンペプチド摂取、骨、コレステロール、中性脂肪

Key words: collagen peptide intake, bone, cholesterol, triglyceride

## ブレオマイシン誘発性肺線維症を軽減する新規分子の機能解析

ハティポール・オメル・ファルク<sup>1,3</sup>、エユプ・ウチュテペ<sup>3</sup>、池村健太郎<sup>1</sup>、グンデウズ・エスラ<sup>2,3</sup>、グンデウズ・メーメット<sup>2,3</sup>、アジャル・ムラディエ<sup>3</sup>、西村拓人<sup>1</sup>、立木美穂<sup>1</sup>、大月孝志<sup>1</sup>、廣畑 聡<sup>1</sup>

<sup>1</sup>岡山大学大学院保健学研究科、<sup>2</sup>和歌山県立医科大学耳鼻咽喉科、<sup>3</sup>TurgutÖzal 大学医学遺伝学科(トルコ)

【目的】特発性肺線維症 (IPF) は、下気道および肺間質に過剰量の筋線維芽細胞および細胞外マトリックス成分が沈着することを特徴とする疾患である。平均余命は、診断後 3 年間である。近年、上皮間葉移行 (EMT) がこの疾患の病因に関与していると考えられるようになってきている。分子 X は、IPF 患者肺の肺胞上皮細胞に局在しており、IPF 患者気管支肺胞洗浄液の分子 X 濃度が有意に高いことが報告されている、しかし、これまでのところ、分子 X の IPF における EMT への作用を検討した報告はない。そこで我々は EMT 誘導および肺線維症実験モデルにおいて分子 X を siRNA によりノックダウンし、IPF における分子 X の役割を検討した。

【方法】A549 細胞 (ヒト肺胞基底上皮腺癌細胞) を用いて分子 X の siRNA によるサイレンシングによる、ウェスタンブロット分析およびリアルタイム PCR を使い、EMT 関連分子および線維化マーカーの変更を検討した。さらに、私たちは siRNA を使って MoleculeX をノックダウンし、ブレオマイシン誘発 PF のマウスにおける効果的な治療であるかどうかを判断しました

【結果】 A549 細胞を TGFβ1 刺激すると上皮マーカー遺伝子である (E-カドヘリン)mRNA 発現が A549 細胞では大きく減少した。EMT における 分子 X の役割を調べるために動物モデルで及び A549 細胞に分子 X siRNA をトランスフェクションし、TGF-β1 で 48 時間処理すると、上皮マーカー (E-カドヘリン、ビメンチン) の発現上昇と間葉マーカー (COL1A2、フィブロネクチン) の発現の減少が見られた。

【結語】分子 X を対象とした RNAi によるサイレンシングは EMT 関連遺伝子に作用することで、新たな IPF の治療戦略となる可能性があると考えられた。

## MoleculeX siRNA attenuates bleomycin-induced pulmonary fibrosis

OF Hatipoglu<sup>1,3</sup>, E Uctepe<sup>3</sup>, K Ikemura<sup>1</sup>, E. Gunduz<sup>2,3</sup>, M. Gunduz<sup>2,3</sup>, M. Acar<sup>3</sup>, T Nishimura<sup>1</sup>, M Tachiki<sup>1</sup>, T Ohtsuki<sup>1</sup>, S Hirohata<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Okayama University Graduate School of Health Sciences; <sup>2</sup>Wakayama Medical University Hospital Otolaryngology; <sup>3</sup>Turgut Özal University Department of Medical Genetics. (Turkey)

[Objective] Idiopathic Pulmonary Fibrosis (IPF) is a disease that is characterized by the deposition of an excessive degree of myofibroblast cells and extracellular matrix components in the lower respiratory tract and lung interstitium. Median survival is 3 years after initial diagnosis. Recently, epithelial mesenchymal transition (EMT) thought to be involved in the pathogenesis of this disease. We found that molecule X was localized to alveolar epithelial cells in IPF lungs and was also significantly elevated in bronchoalveolar lavage from IPF patients. We investigated the fundamental role of molecule X in IPF pathogenesis, with knockdown of molecule X by siRNA in epithelial-mesenchymal transition (EMT) and fibrosis.

[Methods] We investigated EMT-related molecules and fibrosis markers were examined using western blot analysis and real-time PCR by silencing of molecule X with siRNA using A549 cells (lung carcinoma). In addition, we knocked down molecule X using siRNA to determine whether the use of molecule X siRNA is an effective therapeutic strategy in mice with bleomycin-induced PF

[Results] Stimulation of TGFβ1 greatly decreased the mRNA level of the epithelial marker genes in A549 cells. Then we investigated the effect of knockdown of molecule X by siRNA on the EMT. In order to investigate the role of Molecule X in EMT. In animal model and A549 cells were transfected with molecule X siRNA and treated with TGF-β1 for 48 hours to increase the expression of epithelial markers (E-cadherin, vimentin) and to decrease the mesenchymal markers (COL1A2, fibronectin).

[Conclusion] Silencing EMT-related genes by RNAi has the potential to revolutionize current treatment standards.

キーワード： 特発性肺線維症,上皮間葉移

Key words: IPF, EMT

## 分子動力学法によるヒト変異 fibulin-4 の解析

佐々木隆子<sup>1,2</sup>, Klaus von der Mark<sup>2</sup>, Harald Lanig<sup>3</sup><sup>1</sup> 大分大学医学部・生化学 2、<sup>2</sup> Nikolaus-Fiebiger Center of Molecular Medicine,  
Friedrich-Alexander University<sup>3</sup> Central Institute for Scientific Computing (ZISC),  
Friedrich-Alexander University

## 【背景】

Fibulin-4 は弾性線維形成に必須のタンパク質で、ヒトではその遺伝子変異による動脈瘤などの血管障害や皮膚弛緩症が報告されている。Fibulin-4 は、6つの EGF 様ドメインと C 末の fibulin type C-terminal domain から成るが、N 末の EGF 様ドメインは通常のものとは少し異なっている。本研究では、これまでに報告されている変異の中で、EGF ドメインのカルシウム結合性に関与する 2 種のアミノ酸変異 (EGF2 の E126K, EGF4 の D203A) に伴う構造の変化を分子動力学法により解析した。

## 【方法】

分子動力学解析のための fibulin-4 のモデルはヒト fibrillin-1 の EGF 様ドメインの構造を基に作成した。また、リコンビナントタンパク質を発現・精製し、変異による機能等に対する影響を *in vitro* で解析した。

## 【結果と考察】

変異 fibulin-4 では、弾性線維成分である LTBP1, LTBP4, fibrillin-1 などに対する結合性ならびに細胞外マトリックスへの沈着の低下が観察された。

分子動力学解析により、これら 2 種の変異体はカルシウム結合に関与するアミノ酸の変異ではあるが、必ずしもカルシウム結合性を失っているわけでないこと、さらに EGF3 と EGF4 の間のループ構造が不安定であるという結果が得られた。E126 は EGF2 の N 末側に位置するが、このアミノ酸残基の置換が離れた部位の構造に影響していることを示唆している。

## Molecular Dynamics simulations on human fibulin-4 mutants

Takako Sasaki<sup>1,2</sup>, Klaus von der Mark<sup>2</sup>, Harald Lanig<sup>3</sup><sup>1</sup> Dept. of Biochemistry, Faculty of Medicine, Oita University<sup>2</sup> Nikolaus-Fiebiger Center of Molecular Medicine,  
Friedrich-Alexander University<sup>3</sup> Central Institute for Scientific Computing (ZISC),  
Friedrich-Alexander University

## [Introduction]

Fibulin-4 is a 50 kDa glycoprotein and plays an important role in the development and function of elastic tissues. Mutations in the human fibulin-4 gene *EFEMP2* have been identified in patients affected with various arteriopathies including aneurysm, arterial tortuosity, stenosis, and other defects of vascular and elastic tissues, but the molecular basis of most genotype-phenotype correlations is still unknown. Here we present biochemical and computer modeling approaches designed to gain further insight into changes in structure and function of two fibulin-4 mutations (E126K and D203A).

## [Materials &amp; Methods]

The fibulin-4 model without N- and C-terminal domains comprises five EGF domains 2-6 and was built using the solution structure of a pair of calcium-binding epidermal growth factor (EGF)-like domains of human fibrillin-1 as template.

Recombinant wild type and two mutant proteins were expressed and purified for biochemical analyses.

## [Results and Discussion]

Molecular dynamics studies indicated that the E126K and D203A mutations do not necessarily result in a direct loss of the complexed Ca<sup>2+</sup> ion, but in significantly enhanced fluctuations within the connecting loop between EGF3 and EGF4 domains and other conformational changes. These results may explain the changes of the observed biochemical properties of the E126K and D203A fibulin-4 mutants.

キーワード： fibulin-4、変異、コンピューター  
シミュレーション

Key words: fibulin-4, mutation, computer simulation

## 基底膜の局在決定機構の遺伝学的解析

<sup>1</sup>伊原伸治, 松尾佳苗<sup>1</sup>, 古賀朗寛<sup>1</sup><sup>1</sup>有明工業高等専門学校物質工学科

【背景】基底膜の構造は、無脊椎動物から脊椎動物まで進化的に保存されたタンパク質から構成されるシート状の複合体である。基底膜は、その構造的な特徴から細胞の極性維持や組織間境界の障壁として作用する。

【目的】基底膜は上皮細胞の基底側に形成される構造体であるが、どのようにして目的の器官に局在するのか、またどのようにして基底膜を構築するのか、不明である。

【実験方法】線虫 *C. elegans* は体が半透明であり、基底膜の主要構成成分であるラミニンや IV 型コラーゲンを蛍光蛋白質で可視化することで、基底膜タンパク質の局在を解析することのできる実験モデルである。

我々は、内在性の基底膜タンパク質の細胞外の組織局在を明らかにするために、ゲノム編集技術と *C. elegans* を用いて基底膜タンパク質である IV 型コラーゲン、ナイドゲン、ヘミセンチンの可視化を行った。

【結果と考察】3種類の基底膜タンパク質 IV 型コラーゲン、ナイドゲン、ヘミセンチンが組織ごとに異なる局在パターンを示す事が明らかになった。さらに可視化基底膜の局在を指標にして変異体のスクリーニングを行い、IV 型コラーゲンが局在異常を示す複数の変異体を樹立した。それらの変異体では、IV 型コラーゲンが基底膜に殆ど局在しない表現型や、従来、基底膜に局在しない分泌型 GFP が基底膜に局在するといった表現型を示した。これらの観察結果は、能動的に基底膜タンパク質の局在を決定する分子機構が存在することを示唆している。

Genetic analysis of basement membrane deposits in *C. elegans*.<sup>1</sup>Shinji Ihara<sup>1</sup>, Kanae Matsuo<sup>1</sup>, Akihiro Koga<sup>1</sup><sup>1</sup>Department of Chemical and Biological Engineering, Ariake National College of Technology,

[Introduction] The structure of the basement membrane (BM) is evolutionarily conserved from invertebrates to mammals. They function as effective barriers that surround distinct tissues and prevent the aberrant traffic of cells across tissue boundaries.

[Purpose] Although BMs form the basal surface of all epithelia, little is known about the delivery and remodeling of BM proteins.

[Materials & Methods] *Caenorhabditis elegans* is a semi-transparent soil nematode that is used to visualize major components of BM proteins such as laminin and type IV collagen *in vivo* by fluorescence tagging. To understand the localization patterns of BM proteins *in vivo*, we used the CRISPR/Cas9 technology to visualize three BM structural proteins using the fluorescence tags. Using these fluorescence-tagged transgenic lines, we conducted ethyl methanesulfonate mutagenesis screening to isolate *ael-1* (Abnormal Localization of Emb-9, homolog of type IV collagen in *C. elegans*) mutant.

[Results and Discussion] The *ael-1* mutant exhibits less type IV collagen localization on the basement membrane. We are in the process of characterizing the *ael-1* mutant in detail and accordingly elucidating the regulation of delivery to the cell surface. Our genetic analyses suggest positive regulation to determine unique localization patterns for BM proteins in *C. elegans*.

キーワード：基底膜、IV型コラーゲン

Key words: basement membrane, type IV collagen

## 生姜プロテアーゼで処理したウシ皮膚I型コラーゲンの性質解析

<sup>1</sup> 陽曉艶、<sup>1</sup> 楠畑雅、<sup>1</sup> 水野一乗、<sup>1</sup> 多賀祐喜

<sup>1</sup> (株)ニッピ バイオマトリックス研究所

I型コラーゲンは細胞外マトリックスの主要な成分であり、長い三重らせん領域とその両端の短い非三重らせん領域（テロペプチド）から構成されている。テロペプチド領域はコラーゲンの分子内、分子間架橋の形成に重要であり、また過去の研究により、キウイプロテアーゼ（アクチニジン）を使ってテロペプチド領域を切断することでI型コラーゲンの線維形成能が大きく変化することが報告されている（Kunii et al., J. Biol. Chem., 2010）。生姜プロテアーゼは生姜根茎に多量に存在するタンパク質分解酵素であり、強いゼラチナーゼ活性に加え弱いコラーゲナーゼ活性も有することが知られている。これまでに我々は、このユニークな植物プロテアーゼを利用して新規コラーゲン加水分解物を開発している（Taga et al., J. Agric. Food Chem., 2016）。本研究では、コラーゲンの線維形成能や熱安定性に対するN末端、C末端領域の寄与をさらに詳細に評価するため、生姜プロテアーゼを用いてI型コラーゲンの末端領域を切断し、その性質解析を行うことにした。

ウシ皮膚酸可溶性I型コラーゲン（ASC）を生姜プロテアーゼと22°Cで1日間インキュベートした。N末端配列解析の結果、生姜プロテアーゼは $\alpha 1(I)$ 鎖のMet<sup>3</sup>-Gly<sup>4</sup>結合および $\alpha 2(I)$ 鎖のMet<sup>6</sup>-Gly<sup>7</sup>結合を切断することが明らかとなった。これらの切断部位は三重らせん領域内に達しており、アクチニジンによる切断部位よりもさらに内側であった。現在、生姜プロテアーゼで処理したASCについて、線維形成能や熱安定性の解析を行っており、さらにC末端側の切断部位も質量分析により同定を試みる予定である。

キーワード：コラーゲン、生姜プロテアーゼ、線維形成

## Characterization of bovine skin type I collagen treated with ginger protease

<sup>1</sup> Yang Xiao-Yan, <sup>1</sup> Kusubata Masashi, <sup>1</sup> Kazunori Mizuno, <sup>1</sup> Yuki Taga

<sup>1</sup> Nippi Research Institute of Biomatrix

Type I collagen is a major component of extracellular matrix and consists of a long triple helical domain and short amino/carboxy non helical domains (N- and C-telopeptides). The telopeptides are important to form intra- and intermolecular cross-linking of collagen. A previous study reported that kiwifruit protease (actinidin) produced monomeric type I collagen by hydrolyzing peptide bonds at the telopeptides, which markedly affected fibril formation (Kunii et al., J. Biol. Chem., 2010). Ginger protease is a cysteine protease abundantly present in ginger rhizome (*Zingiber officinale*). The protease has strong gelatinase activity and also weak collagenase activity. We used the unique plant protease to produce a novel type of collagen hydrolysate as a functional food (Taga et al., J. Agric. Food Chem., 2016). In this study, we aimed to characterize type I collagen treated with ginger protease to further estimate the contribution of the N- and C-terminal regions to fibril formation and thermal stability of collagen.

Acid-solubilized bovine skin type I collagen (ASC) was incubated with ginger protease at 22°C for 1 day. N-terminal sequence analysis of resulting ASC revealed that ginger protease cleaved between Met<sup>3</sup> and Gly<sup>4</sup> in  $\alpha 1(I)$  chain and Met<sup>6</sup> and Gly<sup>7</sup> in  $\alpha 2(I)$  chain. These cleavage sites were located in the triple helical domain and a little inner region than those of actinidin. We are now performing fibril formation and thermal stability assays of the ginger protease-treated ASC. In addition, we are going to try to identify cleavage sites in the C-terminal domain by mass spectrometric analysis.

Key words: collagen, ginger protease, fibril formation

## 浸潤性膵癌における新規ヒアルロン酸分解酵素 TMEM2 の発現および機能解析

工藤遊山 佐藤典宏 安達保尋 天池孝夫 古賀敦大  
平田敬治  
産業医科大学 第一外科

【背景】ヒアルロン酸 (Hyaluronan : HA) は、細胞外マトリックスを構成する重要な構成因子であり、種々の癌において腫瘍進展と深く関連している。我々は、膵癌において HYAL1 や KIAA1199 といった HA 分解酵素が過剰発現しており、膵癌細胞の悪性を促進していることを見いだした。今回、新たに HA 分解酵素として報告された Transmembrane Protein 2 (TMEM2) の膵癌における発現および機能解析を行った。

【方法】(1) 当科で切除し、病理組織学的に浸潤性膵癌と診断された 100 例について免疫組織学的染色法を用いて TMEM2 の発現を調べた。さらに、TMEM2 発現と臨床病理学的因子の全生存期間との相関関係を、単変量、多変量解析を用いて分析した。(2) リアルタイム RT-PCR にて、膵癌細胞株における TMEM2、KIAA1199 の mRNA 発現を調べ、TMEM2、KIAA1199 の発現が高い細胞株をそれぞれの特異的 siRNA でノックダウンし、遊走能の変化を調べた。

【結果】(1) 免疫組織学的染色では膵癌組織の細胞質における TMEM2 の高発現を 22 例 (22%) に認めた。全生存期間は、TMEM2 高発現群が低発現群に比較して有意に短かった (生存期間中央値: 12.5 カ月 vs 25.3 カ月,  $p=0.013$ )。また、多変量解析においては TMEM2 高発現 (ハザード比: 1.981, 95%信頼区間: 1.172-3.349,  $p=0.011$ ) が予後不良を予測する独立因子であった。(2) 膵癌細胞株の一部で TMEM2, KIAA1199 双方の mRNA の高発現を認め、KIAA1199 のノックダウンでは遊走能が低下したのに対し、TMEM2 のノックダウンによって遊走能が亢進した。

### 【結語】

TMEM2 は膵癌で過剰発現していた。TMEM2 は HA の代謝経路で KIAA1199 と相互的に作用し、膵癌の新たな治療ターゲットとなる可能性がある。

キーワード: 膵癌, ヒアルロン酸, TMEM2

## The role and the expression of novel hyaluronidase TMEM2 in PDAC

Yuzan Kudo, Norihiro Sato, Yasuhiro Adachi, Takao Amaike, Atsuhiko Koga, Keiji Hirata  
Surgery 1,

University of occupational and environmental health

[Introduction] Hyaluronan (HA), a major extracellular matrix component, is closely associated with tumor development in various cancers. We previously reported that HA-degrading enzyme such as HYAL1, KIAA1199, is overexpressed and promotes malignant transformation in pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC). This time, we performed expression and functional analysis of Transmembrane Protein 2 (TMEM2), newly reported as HA-degrading enzyme in PDAC.

[Materials & Methods] (1) We used immunohistochemistry to analyze TMEM2 protein expression in FFPE tissue from 100 patients with PDAC resected in our hospital. The correlation between TMEM2 expression and overall survival of clinicopathological variables was analyzed using univariate and multivariate analysis. (2) The mRNA expression of TMEM2, KIAA1199 in PDAC cell line was examined by RT-PCR. For knockdown of TMEM2 and KIAA1199, corresponding specific siRNAs were used.

[Results] (1) Immunohistochemical analysis revealed high expression of TMEM2 in 22 (22%) of 100 PDAC tissues. The overall survival was significantly shorter in patients with high TMEM2 expression than in patients with low TMEM2 expression ( $P=0.013$ ). In multivariate analysis, high TMEM2 expression ( $P=0.011$ ) was independent factor predicting poor prognosis. (2) High expression of both TMEM2 and KIAA1199 mRNA was observed in a part of the PDAC cell line and the migration decreased by knockdown of KIAA1199, whereas the migration enhanced by knockdown of TMEM2.

[Conclusion] TMEM2 was overexpressed in PDAC. TMEM2 may interact with KIAA1199 on HA metabolism and be a new therapeutic target for PDAC.

Key words: PDAC, Hyaluronan, TMEM2

**P29**

演題取り消し

## 筋分化時の細胞外マトリックスを模倣した生体外モデル上での筋芽細胞の分化

<sup>1</sup>千場隆志、<sup>2</sup>横山夏海

<sup>1</sup>東京都立産業技術研究センター、<sup>2</sup>山形県立米沢興譲館高等学校

### 【背景】

筋芽細胞が筋管細胞へと分化する際、細胞周囲の ECM は分化段階に応じて組成を変化させる。しかし、このようになりモデリングにより変化する ECM の組織体全体が筋芽細胞の分化に与える影響の解析は立ち遅れている。そこで本研究では、生体外で筋分化を誘導しながら ECM を細胞直下に再構築させ、各分化段階に達した時点で細胞成分のみを除去(脱細胞化)することにより、筋分化時の ECM を模倣した生体外モデルを作製した。また作製したモデル上で筋芽細胞の分化を誘導し、ECM が筋分化に与える影響を評価した。

### 【実験方法】

マウス筋芽細胞株 C2C12 を分化誘導後、界面活性剤/アルカリ処理を行い、さらに核酸分解酵素を用いることで脱細胞化を行い、ECM モデルを作製した。作製したモデル上に再度 C2C12 細胞を播種、培養し、種々の実験を行った。

### 【結果と考察】

筋管細胞の出現と *Myog* および *Myh4* の発現パターンより分化状態を定義後、脱細胞化処理を行った。作製した ECM モデル上で再度、筋分化を誘導したところ、分化初期の ECM を模倣したマトリックス(分化初期 ECM)上で筋分化が最も促進された。さらにそのメカニズムを評価するために、筋分化を抑制する *Ids* の発現量を計測したところ、分化初期 ECM 上で *Ids* の発現が抑制されていた。またこの発現抑制は BMP の添加によりみられなくなった。そのため、分化初期 ECM 上では BMP シグナルが抑制されたため *Ids* の発現が抑制され、その結果、筋分化が促進されたと考えられた。

キーワード：筋分化、生体外モデル

## Myogenesis on *in vitro* ECM models mimicking ECM at stepwise myogenic differentiation stages

<sup>1</sup>Takashi Hoshiba and <sup>2</sup>Natsumi Yokoyama

<sup>1</sup>Tokyo Metropolitan Industrial Technology Research Institute, <sup>2</sup>Yamagata Prefectural Yonezawa Kojo-kan Senior High School

### [Introduction]

When myogenesis is proceeded, ECM composition is changed according to myogenic differentiation stages. However, it is not well understood the role of this ECM remodeling and how remodeled ECM regulate myoblasts differentiation comprehensively. Here, we prepared *in vitro* ECM models mimicking native ECM at stepwise myogenic differentiation stages with *in vitro* myogenic differentiation culture and decellularization technique to remove cellular components specifically. Also, we examined the effects of these *in vitro* ECM models on myogenesis.

### [Experimental]

Murine myoblast cell line, C2C12 were cultured under myogenic condition. After the culture, the cells were specifically removed by detergent/alkaline treatment, followed by nucleases treatment for the preparation of *in vitro* ECM models. And the experiments were done after C2C12 culture on these ECM models.

### [Results and discussion]

The myogenic stages were determined by myotube appearance and myogenic gene expression pattern. After the decellularization, C2C12 were again cultured under myogenic condition. The myogenesis promoted on the model mimicking ECM at early stage (early stage ECM) the most strongly. The expression of myogenic inhibitory factors, *Ids*, was suppressed on early stage ECM. And this suppression was recovered by BMP. These results suggested that early stage ECM suppressed BMP signaling to suppress *Ids* expression. And this suppression of *Ids* expression led to the promotion of myogenesis.

Key words: Myogenesis, *in vitro* ECM model

## 不動に伴う骨格筋の線維化に対する HIF-1 $\alpha$ 阻害薬と電気刺激誘発性単収縮運動との併用効果

梶原康宏<sup>1,2</sup>, 本田祐一郎<sup>1,2</sup>, 田中なつみ<sup>1,2</sup>, 片岡英樹<sup>1,3</sup>, 坂本淳哉<sup>1,4</sup>, 沖田 実<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup> 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科理学療法学分野

<sup>2</sup> 長崎大学病院リハビリテーション部

<sup>3</sup> 社会医療法人長崎記念病院リハビリテーション部

<sup>4</sup> 長崎大学生命医科学域・保健学系

急性期医療では外傷を呈した患者に対して患部の安静や治癒促進を目的に不動といわれる医学的処置が施される。しかし、その弊害として生じるのが関節運動制限を主症状とする拘縮であり、その主要な病態は骨格筋の線維化といわれている。そして、いったん拘縮が進行してしまうと、リハビリテーション（以下、リハ）介入の効果は乏しいとされ、上記のような不動の過程でも何らかの戦略を講じ、拘縮の予防に努める必要がある。一方、先行研究では骨格筋の線維化の標的分子として hypoxia-inducible factor (HIF) -1 $\alpha$  が想定されており、自験例ではその発現を薬剤で阻害すると線維化の進行が抑制されることを確かめている。つまり、不動が必要な場合でも薬剤の先行投与によって HIF-1 $\alpha$  の発現を阻害し、その後リハ介入を実施すれば骨格筋の線維化の進行抑制に効果的ではないかと考えられる。そこで、本研究ではラット足関節不動モデルを用い、1) 不動処置のみの不動群、2) 不動の過程で HIF-1 $\alpha$  阻害薬を投与する投与群、3) 不動2週間からヒラメ筋に電気刺激誘発性単収縮運動を行うリハ介入群、4) 不動の過程で HIF-1 $\alpha$  阻害薬を先行投与し、不動2週間より単収縮運動を行う併用群といった4群のプロトコルを設定し、上記の点について検討した。結果、ヒラメ筋における HIF-1 $\alpha$  発現量とコラーゲン含有量、ならびに transforming growth factor (TGF) - $\beta$ 1,  $\alpha$ -smooth muscle actin (SMA), type I・III collagen それぞれの mRNA 発現量は、投与群と併用群が不動群とリハ介入群より有意に低値であった。また、足関節背屈可動域は投与群と併用群が不動群とリハ介入群より有意に高値であった。なお、すべてのパラメータとも投与群と併用群との間に有意差を認めなかった。以上の結果より、不動の過程で HIF-1 $\alpha$  阻害薬を先行投与し、その後、電気刺激誘発性単収縮運動を行うことで不動に伴う骨格筋の線維化ならびに拘縮の進行を抑制するが、併用による相乗効果は少ないことが示唆された。

## Effect of combination with HIF-1 $\alpha$ inhibitor and twitch contraction for immobilized-induced muscle fibrosis

Yasuhiro Kajiwara<sup>1,2</sup>, Yuichiro Honda<sup>1,2</sup>, Natsumi Tanaka<sup>1,2</sup>, Hideki Kataoka<sup>1,3</sup>, Junya Sakamoto<sup>1,4</sup>, Minoru Okita<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup> Department of Physical Therapy Science, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences

<sup>2</sup> Department of Rehabilitation, Nagasaki University Hospital

<sup>3</sup> Department of Rehabilitation, Nagasaki Memorial Hospital

<sup>4</sup> Institute of Biomedical Sciences, Nagasaki University

In acute care, immobilization treatment do to patient with trauma for rest and promotion healing, muscle fibrosis leading to joint contracture occurs as adverse effect. However, no therapeutic effect can be obtained even if rehabilitation is started after the development of immobilization-induced muscle fibrosis. On the other hand, we suppose that hypoxia-inducible factor (HIF)-1 $\alpha$  is one of target factor of muscle fibrosis, we revealed that HIF-1 $\alpha$  inhibition suppressed the progress of fibrosis in rat soleus muscles. Therefore, the progression of muscle fibrosis may be suppressed by rehabilitation after HIF-1 $\alpha$  inhibition via preliminary administration of drugs even if patient need immobilization treatment. Accordingly, in present study, we investigated this hypothesis using an immobilized (with fixation of both ankle joint) rat model. The rats were divided into 1) IM group; immobilization only, 2) YC-1 group; treated with YC-1 as HIF-1 $\alpha$  inhibitor, 3) Rehabilitation intervention (RI) group; twitch contraction after 2 weeks immobilization, 4) YC-1+RI group; treated with YC-1 in immobilization period and twitch contraction after 2 weeks immobilization. In the result, HIF-1 $\alpha$  and collagen content were lower in the YC-1 and YC-1+RI groups than in the IM and RI groups. In addition, transforming growth factor (TGF)- $\beta$ 1,  $\alpha$ -smooth muscle actin (SMA), and type I and III collagen mRNA expression were lower in the YC-1 and YC-1+RI groups than in the IM and RI groups. The range of motion on dorsiflexion was higher in the YC-1 and YC-1+ RI groups than in the IM and RI groups. Moreover, all parameter showed no significant differences between the YC-1 and YC-1+RI groups. In summary, rehabilitation after HIF-1 $\alpha$  inhibition via preliminary administration of drugs suppressed the progression of muscle fibrosis, synergistic effect by combination of rehabilitation and HIF-1 $\alpha$  inhibition was small.

キーワード： 線維化, HIF-1 $\alpha$  阻害薬, 単収縮運動,

Key words: fibrosis, HIF-1 $\alpha$  inhibitor, twitch contraction

**クラゲ特異的細胞外マトリックス蛋白質・メソグレインの特性解析**

内田 歩、新井 克彦

東京農工大学・農学部・硬蛋白研

【背景】クラゲの中膠にはコラーゲンに加えて、クラゲ特有の細胞外マトリックスであるメソグレインが存在すること並びにその部分塩基配列をロシアのグループが報告しているが、全塩基配列および機能については不明である。【目的】本研究ではメソグレインの全塩基配列を決定し、機能解析のために組換え蛋白質の合成を試みた。【実験方法】ミズクラゲ幼生（エフィラおよびメテフィラ）およびメデュサは人工海水中で繁殖させたポリプより得、孵化直後のアルテミアを与えて飼育した。エフィラ由来 mRNA を精製した後、既知の部分塩基配列を元に RACE により全塩基配列を決定し、メソグレインの可溶性組換え蛋白質はブレヴィバチルス発現系により合成した。クラゲ抽出液および組換え蛋白質は、抗メソグレイン・モノクローナル抗体によるウェスタンブロット並びに細胞接着実験に用いた。さらに、同一抗体を用いてエフィラのホールマウント免疫染色を行った。【結果と考察】クローニングされたメソグレイン cDNA の全塩基配列は 1571 bp でコーディング領域は 1335 bp、全アミノ酸配列は 445 残基であった。生体から抽出したメソグレインは約 45 kDa の単一バンドを示し、出生直後のエフィラに比較して、より成長したメテフィラにおいてその蛋白質量が増加した。さらに、ホールマウント免疫染色により、抗メソグレイン抗体はエフィラの触手原基と考えられる突起から分泌される球状体を認識した。一方、組換え蛋白質は細胞接着阻害作用を示した。以上の結果より、メソグレインはクラゲの中膠の発達に伴い増加し、クラゲの「傘」の形成に重要な成分であると考えられる。

キーワード：ミズクラゲ、メソグレイン

**Characterization of jellyfish-specific extracellular matrix protein, mesoglein**

Ayumi Uchida, Katsuhiko Arai

Department of Tissue Physiology, Tokyo University of Agriculture and Technology

[Introduction] Mesoglein was reported as a component of mesoglea in jellyfish by Matveev et al. However, the complete cDNA sequence and its function has been clarified. [Purpose] In this study, we tried to determine the complete cDNA sequence and to analyze the function of mesoglein by production of the recombinant protein. [Materials & Methods] Several developmental stages (ephyra, metephyra and medusa) of jellyfish (*Aurelia sp.*) were obtained by breeding of the polyp in artificial seawater and feeding daily with freshly hatched *Artemia*. Full length cDNA of mesoglein was determined by RACE with ephyra-derived mRNA and the recombinant protein was synthesized with *Brevibacillus* expression system. These samples were subjected to western blotting and cell adhesion analyses. Furthermore, localization of mesoglein in the ephyra was analyzed by whole-mount immunohistochemical staining. [Results and Discussion] Full length of cDNA corresponding to mesoglein was 1571 bp and an open reading frame of 1335 bp encoding a protein of 445 amino acid residues. Western blotting revealed approximately 45 kDa single band in the extraction of jellyfish and the content of mesoglein increased according to the growth. In addition, it was revealed that mesoglein was secreted as granules from the anlage of tentacles. On the other hand, the recombinant protein corresponding to mesoglein showed inhibitory activity for cell adhesion. As results, mesoglein increased according as the growth of mesoglea in jellyfish and is thought to be a important to form the umbrella (exumbrella and subumbrella).

Key words: jellyfish, mesoglein

## HAND1 転写因子は、長骨において I, V, XI 型コラーゲンの発現を制御する

<sup>1</sup> 船戸紀子、<sup>2</sup> 多賀祐喜、<sup>2</sup> 楠畑雅、<sup>1</sup> Lindsay E. Laurie、<sup>3,4</sup> 小久保博樹、<sup>3</sup> 相賀裕美子、<sup>2</sup> 後藤希代子、<sup>2</sup> 服部俊治

<sup>1</sup> 東京医科歯科大学 シグナル遺伝子制御学分野

<sup>2</sup> ニッピ バイオマトリックス研究所

<sup>3</sup> 国立遺伝学研究所 系統生物研究センター

<sup>4</sup> 広島大学 医歯薬保健学研究所

【背景】コラーゲンの発現が変化すると、骨の異常につながる。bHLH 型転写因子 HAND1 は、発生中の長骨に発現し、その形態形成に関わることが分かっている。

【目的】HAND1 が、なぜ長骨の形態形成にかかわるのか理解するため、骨のコラーゲンの発現とコラーゲンに関わるマイクロ RNA や分子に着目して検討する。

【実験方法】*Hand1* を過剰発現させた遺伝子改変マウスを用いて、マスマスペクトロメトリー解析、組織解析、X 線マイクロ CT 解析、リアルタイム PCR を行った。

【結果と考察】マスマスペクトロメトリー解析より、野生型マウスの骨において、生後、I 型コラーゲンに対する V 型および XI 型コラーゲンの発現量比の上昇が明らかとなった。しかし、*Hand1* 遺伝子改変マウスでは、その上昇が遅れが認められた。リアルタイム PCR では、*Hand1* 遺伝子改変マウスにおいて、I, V 型および XI 型コラーゲン、また、コラーゲン発現に関わる転写因子をコードする *Runx2* と *Sp7* (*osterix*) の発現が著しく低下していた。さらに、I 型コラーゲン *COL1A1* および *COL1A2* の発現を抑制するマイクロ RNA *miR-196a* および *miR-196b* の発現について調べたところ、*Hand1* 遺伝子改変マウスにおいて有為に発現が上昇していた。これらの結果から、HAND1 が長骨の成長に関わる各種コラーゲンの発現に様々な形で関与し、生後の形態形成に関わることが示唆された。

## Overexpression of HAND1 in Long Bones Decreases the Expression of Type I, V, and XI Collagens

<sup>1</sup> Noriko Funato, <sup>2</sup> Yuki Taga, <sup>2</sup> Masashi Kusubata, <sup>1</sup> Lindsay E. Laurie, <sup>3,4</sup> Hiroki Kokubo, <sup>3,4</sup> Yumiko Saga, <sup>2</sup> Kiyoko Ogawa-Goto, <sup>2</sup> Shunji Hattori

<sup>1</sup> Department of Signal Gene Regulation, Tokyo Medical and Dental University

<sup>2</sup> Nippi Research Institute of Biomatrix

<sup>3</sup> Division of Mammalian Development, National Institute of Genetics

<sup>4</sup> Graduate School of Biomedical and Health Sciences, Hiroshima University

[Introduction] Temporal and/or spatial modifications in collagen gene regulation result in a multitude of bone defects. The basic helix-loop-helix transcription factor HAND1, which is expressed in developing long bones, is involved in the morphogenesis of long bones.

[Purpose] To understand the underlying mechanisms of HAND1 in bone development, we have characterized and examined the expression of fibril-forming collagens from *Hand1*-overexpressing mice along with the expression of microRNAs and bone-related genes.

[Materials and Methods] Mass spectrometric analysis, bone staining, histochemistry, microcomputed tomography (micro-CT), and qPCR were performed using *Hand1*-overexpressing mice.

[Results and Discussion] Mass spectrometric analysis revealed that the expression of types V and XI collagens relative to that of type I collagen in the diaphyses of wild-type mice was increased during postnatal development. However, the increase was delayed by the continuous expression of *Hand1* in osteochondral progenitors. The qPCR results showed that mRNA expression of types I, V, and XI collagens was decreased in the *Hand1* mutant bones. The expression of *Runx2* and *Sp7*, master molecules responsible for osteoblast differentiation and collagen expression, was also significantly decreased. Furthermore, *miR-196a* and *miR-196b*, which directly regulate the expression of *COL1A1* and *COL1A2*, were upregulated in the *Hand1* mutants. These results demonstrate that HAND1 plays multiple roles in the temporal expression of collagens involved in endochondral ossification, which may result in the development of long bone defects.

キーワード：コラーゲン、転写因子、マイクロ RNA、長骨 Key words: collagen, HAND1, microRNA, long bone

---

**CCL2 secreted from tumor-associated macrophages induces invasive phenotype of breast epithelial cells via ERO1- $\alpha$  and MMP-9**

Seungeun Lee<sup>1</sup>, Eunhye Lee<sup>1</sup>, EunYi Ko<sup>1</sup>, Mina Ham<sup>1</sup>, Hye Min Lee<sup>1</sup>, Eun-Sook Kim<sup>1</sup>, Minsoo Koh<sup>1</sup>, Hyun Kyung Lim<sup>1</sup>, Joohee Jung<sup>1</sup>, So Yeon Park<sup>2</sup>, and Aree Moon<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Duksung Innovative Drug Center, College of Pharmacy, Duksung Women's University, Seoul, Korea, <sup>2</sup>Department of Pathology, Seoul National University College of Medicine, Seoul National University Bundang Hospital, Seongnam, Korea

Tumor-associated macrophages (TAMs) are major components of tumor microenvironment that promote invasion and metastasis of cancer cells. In this study, we investigated the effect of TAMs on phenotypic conversion of non-neoplastic MCF10A human breast epithelial cells using an indirect co-culture system. Co-culture with TAMs induced epithelial-to-mesenchymal transition, invasive phenotype, and MMP-9 upregulation in MCF10A cells. Comparative proteomic analysis revealed that endoplasmic reticulum oxidoreductase (ERO)1- $\alpha$  was increased in MCF10A cells co-cultured with TAMs compared to that in mono-cultured cells. ERO1- $\alpha$  was crucial for TAMs-induced invasive phenotype and MMP-9 upregulation involving transcription factors c-fos and c-Jun. Cytokine array analysis showed that levels of interleukin (IL)-6, C-X-C motif ligand (CXCL)1, C-C motif ligand (CCL)2, growth-regulated protein (GRO), IL-8, and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) were increased in conditioned media of co-cultured cells. Among these cytokines increased in conditioned media of co-cultured cells, CCL2 was secreted from TAMs, leading to induction of ERO1- $\alpha$ , MMP-9 upregulation, and invasiveness in MCF10A cells. Our findings elucidated a molecular mechanism underlying the aggressive phenotypic change of non-neoplastic breast cells by co-culture with TAMs, providing useful information for prevention or treatment of recurrent breast cancer

**Up-regulation of syndecan-2 in proximal colon correlates with acute inflammation**Heejeong Hong, Hyun-Kuk Song, and Eok-Soo Oh

Department of Life Sciences and the Research Center for Cellular Homeostasis and Ewha Womans University, Seoul 03760, Republic of Korea

We previously reported that syndecan-2 expression is increased on the colonic epithelium during chronic inflammation. Here, we report that syndecan-2 exhibits a different pattern of site-specific colonic expression during acute inflammation. Syndecan-2 expression was upregulated predominantly in the proximal colon of DSS-induced colitis mice. The colitis-associated up-regulation of syndecan-2 was barely detected in Rag-1<sup>-/-</sup> mice under colitis-inducing conditions. Increased syndecan-2 expression correlated with increased levels of infiltrated CD4<sup>+</sup> IL17A<sup>+</sup> T cells in the proximal colon. Serum levels of IL17A were increased during the acute inflammatory response in normal mice, but not Rag-1<sup>-/-</sup> mice. IL17A directly induced IL17RA and syndecan-2 expression in *ex vivo*-cultured proximal colon tissues and adenoma cell lines from proximal colon. IL17RA knockdown reduced the IL17A-mediated syndecan-2 expression in SNU1235 cells. No elevation of syndecan-2 or IL17RA was observed in colonic tissues from IL-17A<sup>-/-</sup> mice during colitis induction. Finally, increased expression of syndecan-2 and IL17RA was observed in the proximal colons of CLP-induced sepsis mice and infectious pan colitis patients. Together, these data suggest that acute inflammation induces syndecan-2 expression predominantly in the proximal colon via IL17A-IL17RA signaling during the early stage of the inflammatory response, and that proximal colonic syndecan-2 might be a biomarker for acute inflammation.

## 肝細胞および肝星細胞におけるスーパーエンハンサーシグネチャー

ジュ・ミンソンとキム・サンキオン

ソウル大学校薬学部、ソウル 08826、韓国

【背景】 傷害を受けた肝臓は正常な機能を失い、同時に重要な同一性遺伝子が減少する。 Super-enhancers は哺乳動物細胞の同一性に寄与する。

【目的】 この研究では、全ゲノム解析およびスーパーエンハンサー分布の階層的順序付けを用いて、肝細胞および肝星細胞 (HSC) におけるスーパーエンハンサーシグネチャーを調べた。

【実験方法】 LRH1 駆動経路およびゲノム全体にわたるエンハンサーシグナルの分布は、ヒト DNase-seq データベースを用いてならびに細胞および動物実験によって分析された。

【結果と考察】 コア転写因子 (TF) 遺伝子座のスーパーエンハンサーシグナルは、健康な肝臓において高度に肝臓に富むパターンを示した。 Nr5a2、Hnf4a、Ppara および Rxra に存在するスーパーエンハンサー領域におけるゲノム配列は、異なる種にわたって高度に保存されていた。 HSC の GO 分析において、レチノイン酸に対する細胞応答および細胞外マトリックス構成に関連するエフェクター分子をコードする遺伝子は、HSC におけるスーパーエンハンサーであった。 コア転写調節因子の 2 つのサブセットは、レチノイン酸に関連した核内受容体、および SMAD-TGF $\beta$  シグナル伝達を含んでいた。 HSC は、レチノイン酸応答および TGF $\beta$  シグナルのスーパーエンハンサープロファイルを示し、超エンハンサーの細胞型特異性および疾患進行における非実質細胞の異なる役割を裏付けている。

## The super-enhancer signatures in hepatocytes and hepatic stellate cells

Min Sung Joo and Sang Geon Kim

College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 08826, Republic of Korea

[Introduction] The injured liver loses normal function, with concomitant decrease of key identity genes. Super-enhancers contribute to mammalian cell identity.

[Purpose] This study investigated the super-enhancer signatures in hepatocytes and hepatic stellate cells (HSCs) using genome-wide analysis and hierarchical ordering of super-enhancer distribution.

[Materials & Methods] LRH1-driven pathway and the distribution of enhancer signals across the genome were analyzed using the human DNase-seq database and by cell and animal experiments.

[Results and Discussion] The super-enhancer signals at the core transcription factor (TF) loci showed a highly liver-enriched pattern in healthy liver. The genomic sequences at the super-enhancer regions residing Nr5a2, Hnf4a, Ppara and Rxra were highly conserved across different species. In the GO analysis of HSCs, the genes encoding effector molecules related to cellular responses to retinoic acid and extracellular matrix organization were super-enhancers in HSCs. Two subsets of core transcriptional regulators included nuclear receptors related to retinoic acid, and SMAD-TGF $\beta$  signaling. HSCs showed a super-enhancer profile of retinoic acid response and TGF $\beta$  signal, corroborating the cell-type specificity of superenhancers and the differing roles of non-parenchymal cells in disease progression.

肝細胞、HSC、スーパーエンハンサーシグネチャー

Key words: hepatocyte, HSC, super-enhancer signatures

**Catalytically inactive receptor tyrosine kinase PTK7 activates FGF receptor-1 and enhances cell proliferation and invasion**

Won-Sik Shin<sup>1</sup>, Hae Won Lee<sup>2</sup>, and Seung-Taek Lee<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept. of Biochemistry, Yonsei University, Seoul 03722, Republic of Korea; <sup>2</sup>Korea Institute of Radiological and Medical Sciences, Seoul 01812, Republic of Korea

[Introduction] Protein tyrosine kinase 7 (PTK7), a catalytically defective receptor protein tyrosine kinase, is upregulated in esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) and promotes proliferation, survival, migration, and invasion of ESCC cells.

[Purpose] This study analyzed the molecular mechanism for the oncogenic properties of PTK7 in ESCC cells.

[Materials & Methods] Expression of mRNAs and proteins and analyses of signal transduction and protein interaction were performed in ESCC cell lines and in part in ESCC tissues.

[Results & Discussion] PTK7-induced tumorigenesis is blocked by a multi-target RPTK inhibitor TKI-258. Among TKI-258-sensitive RPTKs, fibroblast growth factor receptor 1 (FGFR1) is significantly upregulated in ESCC tissues and cell lines. PTK7 knockdown not only reduced phosphorylation of FGFR1, but also activation of downstream signaling proteins in ESCC TE-10 cells. PTK7 knockdown reduced FGF-induced proliferation and invasion in ESCC cells. PTK7 knockdown also reduced gelatin degradation and MMP-9 secretion in TE-10 cells. PTK7-mediated upregulation of MMP-9 has also been observed in other ESCC cell lines and in three-dimensional cultures of TE-10 cells. Moreover, MMP-9 expression positively correlated with PTK7 expression in ESCC tumor tissue. Taken together, our data demonstrate that PTK7 binds and activates FGFR1, and thus increases oncogenicity of PTK7- and FGFR1-positive cancers such as ESCC.

---

Key words: PTK7, FGFR1, ESCC, proliferation, invasion

***Grimontia hollisae* 由来コラゲナーゼの基質特異性****Substrate specificity of Bacterial Collagenase from *Grimontia hollisae***

<sup>1</sup> 楠畑 雅、<sup>1</sup> 林田 治、<sup>1</sup> 寺村 直子、<sup>2</sup> 飯嶋 克昌、<sup>1</sup> 多賀 祐喜、<sup>1</sup> 田中 啓友、<sup>1</sup> 服部 俊治、<sup>1,2</sup> 水野 一乗

<sup>1</sup> Masashi Kusubata <sup>1</sup> Osamu Hayashida, <sup>1</sup> Naoko Teramura, <sup>2</sup> Katsumasa Iijima, <sup>1</sup> Keisuke Tanaka, <sup>1</sup> Shunji Hattori, <sup>1,2</sup> Kazunori Mizuno

<sup>1</sup> ニッピ バイオマトリックス研究所

<sup>1</sup> Nippi Research Institute of Biomatrix

<sup>2</sup> ニッピ バイオ・ケミカル製造部

<sup>2</sup> Biological and Chemical Products Division, Nippi

【背景】寺村らは、*Grimontia hollisae* 由来のコラゲナーゼの一次配列を決定、リコンビナント酵素を製し(J Bacteriol. 193:3049-56 (2011))、Brightase C と命名した。従来から知られている *Clostridium* 属由来コラゲナーゼと細胞分散などで比較しているが、基質特異性の違いははっきりしていない。

[Introduction] Brightase C is recombinant bacterial collagenase from *Grimontia hollisae* (J Bacteriol. 193:3049-56 (2011)). Substrate specificity of Brightase C is not characterized compared with well-characterized *Clostridium* collagenase.

【目的】バクテリア由来コラゲナーゼは、コラーゲンから(Gly-X-Y)<sub>n</sub> で示されるペプチドを生成させる。このペプチドを分析して基質特異性を明らかにする。

[Purpose] Bacterial collagenases cleave -Y-Gly bond of -Gly-X-Y- collagen sequence. The objective of this study was the analysis of cleaved peptide profiles of Brightase C to compare with *Clostridium* collagenase.

【実験方法】ウシ I 型コラーゲンを基質として *Clostridium* 属由来酵素と Brightase C から生成するペプチド量と種類をサイズ排除クロマトグラフィーとプロテインシークエンサーで分析した。

[Materials & Methods] Bovine type I collagen was hydrolyzed by the two collagenases. The generated peptides were analyzed by SEC and Edman degradation.

【結果と考察】 Brightase C は 90% 以上のコラーゲンを G-X-Y 型のトリペプチドまで分解したが、*Clostridium* 属由来では、70% 未満であった。また Brightase C で生成するトリペプチド GER は *Clostridium* 属由来酵素ではほとんど生成しなかった。分解されていない画分から GQRGERGFHyp という 9 アミノ酸からなるペプチドを同定した。このペプチドを合成し、2 つのコラゲナーゼを作用させると Brightase C はトリペプチドに分解できるが、*Clostridium* 属由来酵素では、分解出来ない事を確認した。Brightase C は *Clostridium* 属由来とは異なる基質特異性を有する。

[Results and Discussion] Brightase C hydrolyzed 90% or more of type I collagen to G-X-Y type tripeptides. However, *Clostridium* collagenase cleaved to G-X-Y type tripeptides less than 70% under the same experimental condition. In addition, little GER tripeptide was found in *Clostridium* collagenase digested sample but Brightase C digested peptides sample had a significant amount of GER tripeptide. We detected a nonapeptide GQRGERGFHyp in the *Clostridium* collagenase digested sample. The synthesized this nonapeptide was treated by the two enzymes. Brightase C formed GER tripeptide but *Clostridium* collagenase didn't. Brightase C has a different substrate specificity from that *Clostridium* collagenase.

キーワード：コラゲナーゼ、コラーゲン

Key words: Bacterial collagenase, collagen

# 日本結合組織学会

The Japanese Society for Matrix Biology and Medicine

役員・事務局

歴代学会長（理事長）および会長

名誉会員

理事・評議員

これまでの学術集会

学会賞受賞者

理事会議事録



## 2019 年度 日本結合組織学会役員

**理事長** 渡 辺 秀 人 愛知医科大学 分子医科学研究所

**理 事** (基礎系)

小 出 隆 規 早稲田大学先進理工学部 化学・生命化学科  
大 橋 俊 孝 岡山大学大学院医歯学総合研究科 分子医化学  
佐 藤 隆 東京薬科大学薬学部 生化学・分子生物学  
中 邨 智 之 関西医科大学 薬理学  
鍋 島 一 樹 福岡大学医学部 病理学  
野 水 基 義 東京薬科大学薬学部 病態生化学  
服 部 俊 治 ニッピ バイオマトリックス研究所  
望 月 早 月 防衛医科大学校 外科学  
吉 田 利 通 三重大学大学院医学系研究科 修復再生病理学

(臨床系)

芦 田 昇 京都大学大学院医学研究科 循環器内科学  
石 黒 直 樹 名古屋大学大学院医学系研究科 整形外科学  
磯 貝 善 蔵 国立長寿医療研究センター 先端診療部皮膚科  
稲 垣 豊 東海大学医学部 再生医療科学  
尹 浩 信 熊本大学大学院医学薬学研究部 皮膚機能病態学  
木 村 友 厚 富山大学医学部 整形外科学  
雑 賀 司珠也 和歌山県立医科大学 眼科学  
佐 藤 正 人 東海大学医学部 整形外科学  
平 澤 恵 理 順天堂大学医学部 老人性疾患病態・治療センター

**監 事** 稲 垣 豊 東海大学医学部 再生医療科学  
服 部 俊 治 ニッピ バイオマトリックス研究所

(五十音順)

**事務局** 日本結合組織学会 事務局

〒 480-1195 愛知県長久手市岩作雁又 1 番地 1  
愛知医科大学分子医科学研究所内  
Tel. 0561-62-3311 (内線 12087) Fax. 0561-63-3532  
E-mail: jsmbm@aichi-med-u.ac.jp

## 日本結合組織学会 歴代会長（理事長）

歴代	氏名	主たる役職	在任期間
1	大 高 裕 一 Yuichi Otaka	東京医科大学 教授 病理学	自 1974年8月1日 至 1991年6月25日
2	永 井 裕 Yutaka Nagai	東京医科歯科大学 教授 難治疾患研究所	自 1991年6月26日 至 1994年6月16日
3	森 陽 Yo Mori	東京薬科大学 学長 生物薬学	自 1994年6月17日 至 1997年6月5日
4	早 川 太 郎 Taro Hayakawa	愛知学院大学歯学部 教授 生化学	自 1997年6月6日 至 1999年6月10日
5	林 利 彦 Toshihiko Hayashi	東京大学大学院総合文化研究科 教授 生命環境科学系	自 1999年6月11日 至 2001年6月7日
6	新 海 宏 Hiroshi Shinkai	千葉大学医学部 教授 皮膚科学	自 2001年6月8日 至 2003年6月6日
7	木 全 弘 治 Koji Kimata	愛知医科大学分子医科学研究所 教授 所長	自 2003年6月7日 至 2005年5月26日
8	西 田 輝 夫 Teruo Nishida	山口大学医学部 教授 分子感知医科学講座(眼科)	自 2005年5月27日 至 2007年5月8日
9	岡 田 保 典 Yasunori Okada	慶応義塾大学医学部 教授 病理学	自 2007年5月9日 至 2009年6月6日
10	伊 東 晃 Akira Ito	東京薬科大学薬学部 教授 病態生化学	自 2009年6月7日 至 2011年6月10日
11	鍋 島 一 樹 Kazuki Nabeshima	福岡大学医学部 教授 病理学	自 2011年6月11日 至 2016年3月31日
12	稲 垣 豊 Yutaka Inagaki	東海大学医学部 教授 再生医療科学	自 2016年4月1日 至 2018年3月31日
13	渡 辺 秀 人 Hideto Watanabe	愛知医科大学 分子医科学研究所	自 2018年4月1日 至 現在

## マトリックス研究会 歴代会長

歴代	氏名	主たる役職	在任期間
1	河瀬 収 Osamu Kawase	熊本大学 教授 体質医学研究所	自 1961 年度 至 1974 年度
2	永井 裕 Yutaka Nagai	東京医科歯科大学 教授 難治疾患研究所	自 1975 年度 至 1993 年度
3	林 利彦 Toshihiko Hayashi	東京大学 教授 大学院総合文化研究科	自 1994 年度 至 2000 年度
4	木全 弘治 Koji Kimata	愛知医科大学 教授 分子医科学研究所	自 2001 年度 至 2003 年度
5	畑 隆一郎 Ryu-ichiro Hata	神奈川歯科大学 教授 口腔生化学	自 2004 年度 至 2009 年度
6	野水 基義 Motoyoshi Nomizu	東京薬科大学 教授 病態生化学	自 2010 年度 至 2012 年度
7	渡辺 秀人 Hideto Watanabe	愛知医科大学 教授 分子医科学研究所	自 2013 年度 至 2015 年度

2015 年 4 月 1 日、日本結合組織学会と発展的統合 ( 英文名称 : The Japanese Society for Matrix Biology and Medicine)

# 日本結合組織学会 名誉会員

(マトリックス研究会 名誉会員も含む)

## JSMBM Honorary Fellows

伊東 晃	東京薬科大学附属社会医療研究所 理事長	永井 裕	東京医科歯科大学 名誉教授
岩田 久	名古屋大学 名誉教授	中西 功夫	金沢大学 名誉教授
入江 伸吉	ニッピバイオマトリックス研究所 元所長	並木 脩	昭和大学医学部 客員教授
岩本 幸英	九州大学 名誉教授	西田 輝夫	山口大学 名誉教授
遠藤 正彦	弘前大学 名誉教授	野田 春彦	東京大学 名誉教授
大平 敦彦	愛知医科大学 客員教授	畑 隆一郎	神奈川歯科大学 口腔難治疾患研究 センター長
岡崎 勲	国際医療福祉大学 教授	早川 太郎	愛知学院大学 名誉教授
岡田 保典	順天堂大学 客員教授	林 利彦	東京大学 名誉教授
折居 忠夫	岐阜大学 名誉教授	平川 舜	東邦大学 名誉教授
木全 弘治	愛知医科大学 名誉教授	開 祐司	京都大学再生医科学研究所生体分 子設計学分野
久保木芳徳	北海道大学 名誉教授	藤田 拓男	神戸大学 名誉教授
小泉富美朝	富山医科薬科大学 名誉教授	藤本大三郎	東京農工大学 名誉教授
新海 滄	千葉大学 名誉教授	藤原 作平	大分大学医学部皮膚科
杉村 隆	国立がんセンター 名誉総長	宮田 暉夫	高研バイオサイエンス研究所 元所 長
鈴木 旺	名古屋大学 元教授	山田 和順	名古屋市立大学 元教授
鈴木不二男	大阪大学 名誉教授	吉岡 秀克	大分大学医学部マトリックス医学 講座
妹尾 春樹	秋田大学 名誉教授	吉沢 善作	東北大学 名誉教授
手塚 統夫	自治医科大学 元教授	渡辺 洋望	渡辺医院
東條 毅	国立病院機構 東京医療センター 名誉院長		

(五十音順)

## 日本結合組織学会 理事・評議員

氏名	所属機関
芦田 昇	京都大学大学院医学研究科 循環器内科
阿部 重人	医療法人盤陽会 高坂クリニック
天野 聡	資生堂リサーチセンター スキンケア研究開発センター
新井 克彦	東京農工大学硬蛋白研農学部 硬蛋白質利用研究施設
石川 治	群馬大学医学部 皮膚科
石黒 直樹	名古屋大学大学院医学系研究科 整形外科学
石島 旨章	順天堂大学医学部 整形外科学
磯貝 善蔵	国立長寿医療研究センター 先端診療部皮膚科
磯川 桂太郎	日本大学歯学部 解剖学教室第2講座
板野 直樹	京都産業大学総合生命科学部 生命システム学科
稲垣 豊	東海大学医学部 再生医療科学
井上 紳太郎	岐阜薬科大学 化粧品健康学
猪山 賢一	JCHO 熊本総合病院病理診断科
今井 一志	日本歯科大学生命歯学部 生化学
今田 啓介	東京薬科大学薬学部 薬学基礎実習教育センター
今村 保忠	工学院大学先進工学部 生命化学科
岩城 正佳	
尹 浩信	熊本大学大学院医学薬学研究部 皮膚機能病態学
榎本 宏之	日本イーライリリー（株）研究開発本部／医学科学本部筋骨格領域
大内 栄子	協和ファーマケミカル（株）事業開発部
大橋 俊孝	岡山大学大学院医歯学総合研究科 分子医化学
岡元 孝二	(株)バイタルソース応用研究所
岡山 實	京都産業大学 鳥インフルエンザ研究センター
小川 正樹	東京女子医科大学 母子総合医療センター
沖田 実	長崎大学大学院医歯薬学総合研究科
小田 恵夫	
柏原 直樹	川崎医科大学 腎臓・高血圧内科
柏崎 一男	国家公務員共済組合連合会立川病院 内科
勝田 省吾	金沢医科大学
加藤 靖正	奥羽大学歯学部 口腔機能分子生物学
門谷 裕一	北里大学医療衛生学部
上條 竜太郎	昭和大学歯学部 口腔生化学
川口 鎮司	東京女子医科大学 膠原病リウマチ痛風センター
河原 栄	福井総合病院 病理診断科
北川 裕之	神戸薬科大学 生化学

吉川大和	東京薬科大学薬学部 病態生化学
木村友厚	富山大学医学部 整形外科学
清浦有祐	奥羽大学歯学部 口腔病態解析制御学
黒江清郎	黒江内科
小出隆規	早稲田大学先進理工学部 化学・生命化学科
香宗我部 滋	東京都立府中療育センター
今 淳	青森県立保健大学健康科学部 栄養学科
雑賀司珠也	和歌山県立医科大学 眼科学
阪本桂造	西蒲田整形外科
雑喉正泰	愛知医科大学 眼科学
笹栗靖之	産業医科大学 二病理学教室
笹野泰之	東北大学大学院歯学研究科 顎口腔形態創建学
佐藤敦久	国際医療福祉大学 三田病院内科
佐藤隆	東京薬科大学薬学部 生化学・分子生物学
佐藤正人	東海大学医学部 整形外科学
潮見隆之	慶應義塾大学 医学部 病理学教室
四方英夫	関東信越厚生局 神奈川事務所
清水宏	北海道大学大学院医学研究科 皮膚科学
下田将之	慶應義塾大学医学部 病理学
杉岡孝二	近畿大学医学部奈良病院
住吉秀明	東海大学医学部 再生医療科学
宿南知佐	広島大学大学院 医歯薬保健学研究院 基礎生命化学部門 生体分子機能学
関口清俊	大阪大学蛋白質研究所
高塚純	医療法人 相模原中央病院
高橋勇二	東京薬科大学生命科学部
高原照美	富山大学医学部 第三内科
滝川正春	岡山大学歯学部 先端領域研究センター
滝野隆久	金沢大学がん研究所
竹鼻真	慶應義塾大学 薬学部 分子機能生理学講座
田仲和宏	大分大学医学部 整形外科・人工関節学
田中孝昭	国立病院機構 宇都宮病院
玉井克人	大阪大学医学系研究科 再生誘導医学寄附講座
近間泰一郎	広島大学大学院 医歯薬保健学研究院 視覚病態学
鶴田大輔	大阪市立大学 皮膚科
永田和宏	京都産業大学総合生命科学部
中村司	新松戸中央総合病院 腎臓内科
中村敏也	弘前大学大学院 保健学研究科
中邨智之	関西医科大学 薬理学

中 村 博 幸	金沢大学大学院医学系研究科 がん医科学専攻細胞浸潤学
鍋 島 一 樹	福岡大学医学部 病理学
新 岡 真 希	東海大学 伊勢原研究推進部 生命科学統合支援センター
西 田 佳 弘	名古屋大学医学部附属病院 整形外科
西 山 敏 夫	東京農工大学 農学部附属硬蛋白質利用研究施設
野 間 隆 文	徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部 分子医化学
野 水 基 義	東京薬科大学薬学部 病態生化学
長谷川 正 裕	三重大学大学院医学系研究科 整形外科
服 部 俊 治	ニッピ・バイオマトリックス研究所
浜 本 龍 生	(医) 博生会浜本内科
平 川 聡 史	愛媛大学医学部附属病院 皮膚科
平 澤 恵 理	順天堂大学大学院医学研究科
平 林 義 章	名古屋文理大学健康生活学部 健康栄養学科
廣 畑 聡	岡山大学大学院保健学研究科 検査技術科学
藤 沢 隆 一	北海道大学 歯学部 口腔健康科学
藤 原 泰 之	東京薬科大学薬学部 公衆衛生学
古 松 毅 之	岡山大学医学部 整形外科
保 住 建太郎	東京薬科大学薬学部 病態生化学
堀 内 圭 輔	防衛医科大学校 整形外科学
前 野 正 夫	日本大学 歯学部 衛生学講座
松 本 健 一	島根大学総合科学研究支援センター 生体情報・R I 実験分野
松 本 嘉 寛	九州大学医学部 整形外科
水 野 一 乘	ニッピ バイオマトリックス研究所
村 垣 泰 光	和歌山県立医科大学 第一病理学教室
望 月 早 月	防衛大学校 外科学
百 田 龍 輔	岡山大学
柳 沢 裕 美	筑波大学 生命領域学際研究センター
山 口 典 子	秋田大学大学院医学研究科基礎看護学
山 本 千 夏	東邦大学薬学部 衛生化学教室
吉 田 利 通	三重大学大学院医学系研究科 修復再生病理学
吉 野 肇 一	慈誠会上板橋病院
米 田 雅 彦	愛知県立大学看護学部 栄養代謝学・分子生物学
若 木 邦 彦	新潟県立新発田病院病理検査科
渡 邊 淳	日本医科大学 第2生化学
渡 辺 研	国立長寿医療センター研究所 運動器疾患研究部
渡 辺 秀 人	愛知医科大学 分子医科学研究所
輪 千 浩 史	星薬科大学 臨床化学

## 日本結合組織学会学術大会

	会 長	所 属	開催地	開催年月日
第1回	大 島 良 雄	東京大学 物療内科	東京	1969年7月12日
第2回	大 高 裕 一	東京医科大学 病理	東京	1970年7月17・18日
第3回	川 村 太 郎	東京大学 皮膚科	東京	1971年7月9・10日
第4回	諸 富 武 文	京都府立医科大学 整形外科	京都	1972年7月14・15日
第5回	福 代 良 一	金沢大学 皮膚科	金沢	1973年7月21・22日
第6回	谷 奥 喜 平	岡山大学 皮膚科	倉敷	1974年7月19・20日
第7回	阿 武 喜美子	お茶の水女子大 生物化学	東京	1975年7月11・12日
第8回	中 川 正	名古屋大学 整形外科	名古屋	1976年6月25・26日
第9回	吉 沢 善 作	東北大学 医化学	仙台	1977年7月15・16日
第10回	梶 川 欽一郎	金沢大学 病理	金沢	1978年7月14・15日
第11回	高 久 功	長崎大学 眼科	長崎	1979年7月13・14日
第12回	大 藤 真	岡山大学 内科	岡山	1980年7月11・12日
第13回	津 山 直 一	東京大学 整形外科	東京	1981年8月1・2日
第14回	中 尾 亨	札幌医科大学 小児科	札幌	1982年7月22・23日
第15回	藤 田 拓 男	神戸大学 内科	神戸	1983年7月7・8日
第16回	鈴 木 旺	名古屋大学 化学	名古屋	1984年7月5・6日
第17回	濱 島 義 博	京都大学 病理	京都	1985年7月4・5日
第18回	本 間 光 夫	慶應大学 内科	東京	1986年7月11・12日
第19回	宇 宿 源太郎	熊本大学 遺伝医研発生	熊本	1987年7月2・3日
第20回	松 本 淳	福島県立医科大学 整形外科	福島	1988年6月29・30日
第21回	宮 本 昭 正	東京大学 物療内科	東京	1989年7月10・11日
第22回	永 井 裕	東京医科歯科大学 難研異常代謝	東京	1990年7月23・24日
第23回	三 村 康 男	徳島大学 眼科	徳島	1991年6月25・26日
第24回	京 極 方 久	東北大学 病理学	仙台	1992年6月19・20日
第25回	鈴 木 不二男	大阪大学 生化学	大阪	1993年6月17・18日
第26回	折 井 忠 夫	岐阜大学 小児科	岐阜	1994年6月16・17日
第27回	森 陽	東京薬科大学 生化学	横浜	1995年6月22・23日
第28回	中 西 功 夫	金沢大学 病理	金沢	1996年6月6・7日
第29回	遠 藤 正 彦	弘前大学 生化学	弘前	1997年6月5・6日

第30回	大 島 章	和歌山県立医科大学 病理	和歌山	1998年6月11・12日
第31回	岩 田 久	名古屋大学 整形外科	名古屋	1999年6月10・11日
第32回*	平 川 舜	東邦大学 産婦人科	東京	2000年5月24・25日
第33回	岡 崎 勲	東海大学 地域保健学	東京	2001年6月7・8日
第34回	藤 井 克 之	東京慈恵会医科大学 整形外科学	浜松	2002年4月4・5日
第35回	西 田 輝 夫	山口大学 眼科学	宇部	2003年6月6・7日
第36回	岩 本 幸 英	九州大学医学部 整形外科学	福岡	2004年6月3・4日
第37回	木 村 友 厚	富山医科薬科大学 整形外科学	富山	2005年5月26・27日
第38回	石 川 治	群馬大学大学院 皮膚病態学	前橋	2006年5月11・12日
第39回*	岡 田 保 典	慶應義塾大学 病理学	東京	2007年5月9-11日
第40回*	伊 東 晃	東京薬科大学 生化学・分子生物学	東京	2008年5月29-31日
第41回*	畑 隆一郎	神奈川歯科大学 腫瘍制御病態学分野	葉山	2009年6月4日-7日
第42回*	妹 尾 春 樹	秋田大学大学院 細胞生物学	秋田	2010年8月19日・20日
第43回*	藤 原 作 平	大分大学 皮膚科学	大分	2011年6月10日・11日
第44回*	安 達 栄治郎	北里大学大学院 医療系研究科	東京	2012年6月7日・8日
第45回*	雑 賀 司珠也	和歌山県立医科大学 眼科学	和歌山	2013年6月28日・29日
第46回*	渡 辺 秀 人	愛知医科大学 分子医科学研究所	名古屋	2014年6月5日-7日
第47回	稲 垣 豊	東海大学 再生医療科学	東京	2015年5月15・16日
第48回	宇 谷 厚 志	長崎大学 皮膚科学	長崎	2016年6月24・25日
第49回	吉 田 利 通	三重大学大学院	津	2017年6月16・17日
第50回	鍋 島 一 樹	福岡大学修復再生病理学	福岡	2018年6月29・30日
第51回	服 部 俊 治	ニッピ バイオマトリックス研究所	東京	2019年5月31日・6月1日

\* マトリックス研究会との合同開催

第 47 回以降は、マトリックス研究会と発展的統合

( 英文名称：The Japanese Society for Matrix Biology and Medicine)

## コラーゲン研究会・マトリックス研究会\*

	会 頭	所 属	開催地	開催年月日
第1回	井 上 吉 之	京都大学	京都（京都大学楽友会館）	1959. 6. 7.
第2回	三 浦 修	日本大学医学部	東京（日本大学歯学部）	1959.11. 7.
第3回	伊勢村 壽 三	大阪大学 蛋白質研究所	大阪（大阪大学）	1960. 4.10.
第4回	新 島 迪 夫	東京医科歯科大学 医学部	東京（東京医科歯科大学）	1960.11.27.
第5回	中 島 章 夫	京都大学工学部	京都（京都大学工学部）	1961. 5.14.
第6回	小 林 忠 義	慶応大学医学部	東京（慶応大学医学部）	1961.11.12.
第7回	伊勢村 壽 三	大阪大学 蛋白質研究所	大阪（大阪大学蛋白質研）	1962. 5. 4.
第8回	安孫子 義 弘	日本皮革研究所	東京（日本皮革研究所）	1962.11.15.
第9回	山 田 博	京都府立医科大学	京都（京都府立医科大学）	1963. 5.11.
第10回	川 村 亮	東京農工大学 農学部	東京（東京農工大学）	1963.11.10.
第11回	野 田 春 彦	東京大学理学部	東京（東京大学理学部）	1964. 5. 9.
第12回	大 庭 成 一	富士写真フィルム 研究所	富士写真フィルム研究所	1964.11.14.
第13回	伊勢村 壽 三	大阪大学 蛋白質研究所	大阪（大阪大学蛋白質研）	1965. 5.15.
第14回	鶴藤 丞	東京大学薬学部	東京（東京大学医学部）	1965.11. 4.
第15回	川村 亮	東京農工大学 農学部	東京（私学会館）	1966. 6.12.
第16回	川瀬 収	熊本大学体質研	東京（国立教育会館）	1966. 8.26.
第17回	安孫子 義 弘	日本皮革研究所	東京（日本皮革研究所）	1967.11.11.
第18回	深田 栄 一	理化学研究所	東京（理化学研究所）	1968.10. 4.

第19回	佐々木 哲	東京医科歯科大学 歯学部	東京（東京医科歯科大学）	1969. 6. 8.
第20回	大庭成一	富士写真フィルム 研究所	富士写真フィルム研究所	1969.12.20.
第21回	永井裕	東京医科歯科大学 医学部	東京（東京医科歯科大学）	1970.12.13.
第22回	紺野邦夫	昭和大学医学部	東京（昭和大学医学部）	1971.12.12.
第23回	野田春彦	東京大学理学部	東京（東京大学理学部）	1973.12. 8.
第24回	榭原俊平	大阪大学 蛋白質研究所	大阪（大阪大学蛋白質研）	1974.11.30.
第25回	佐々木 哲	東京医科歯科大学 歯学部	東京（東京医科歯科大学）	1977. 3. 5.
第26回	永井裕	東京医科歯科大学 難治疾患研究所	東京（東京医科歯科大学）	1977.10.17.
第27回	永井裕	東京医科歯科大学 難治疾患研究所	八王子（大学セミナーハウス）	1980. 3.21-22.
第28回	永井裕	東京医科歯科大学 難治疾患研究所	東京（東京医科歯科大学）	1981. 3.19-20.
第29回	伊勢村 壽三	近畿大学医学部	神戸 （関西地区セミナーハウス）	1982. 3.19-20.
第30回	森 陽	東京薬科大学	八王子（大学セミナーハウス）	1983. 3.18-19.
第31回	藤本大三郎	浜松医科大学	浜松（サンビーチ浜松）	1984. 3.16-17.
第32回	宇宿源太郎	熊本大学 体質医学研究所	阿蘇（阿蘇観光ホテル）	1985. 3.15-16.
第33回	手塚統夫	自治医科大学	小山（自治医科大学）	1986. 3.19-20.
第34回	早川太郎	愛知学院大学 歯学部	名古屋（愛知会館）	1987. 3.13-14.
第35回	宮田輝夫	高研バイオサイエンス 研究所	東京（東京医科歯科大学）	1988. 3.11-12.
第36回	久保木芳徳	北海道大学歯学部	北海道（トマム）	1989. 6.16-17.
第37回	新海 宏	大分医科大学	別府（山海閣）	1990. 3.23-24.
第38回	永井裕	東京医科歯科大学 難治疾患研究所	東京（東京医科歯科大学）	1991. 3.26.

第39回	中川 秀夫	富山医科薬科大学 薬学部	富山（立山国際ホテル）	1992. 3.15-16.
第40回	岡崎 勲	東海大学医学部	大磯（大磯プリンスホテル）	1993. 3.18-19.
第41回	二宮 善文	岡山大学医学部	東京（日本海運倶楽部）	1994. 3.18-19.
第42回	大山 俊郎	東京都 老人医療センター	東京（アジュール竹芝）	1995. 3.16-17.
第43回	木全 弘治	愛知医科大学 分子医科学研究所	名古屋 （名古屋ガーデンパレス）	1996. 3.27-28.
第44回	西田 輝夫	山口大学医学部	宇部（宇部全日空ホテル）	1997. 4.14-15.
第45回	妹尾 春樹	秋田大学医学部	秋田（秋田市文化会館）	1998. 4.30- 5.1.
第46回	大平 敦彦	愛知県 心身障害者 コロニー	瀬戸 （愛知県労働研修センター）	1999. 6. 8-9.
第47回**	林 利彦 入江 伸吉	東京大学大学院 ニッピバイオ マトリックス研究所	東京（日本都市センター会館）	2000. 5.23-24.
第48回	岩田 和士	富士薬品工業	高岡（雨晴温泉）	2001. 4.16-17.
第49回	藤井 克之	東京慈恵会医科大学 整形外科	浜松（アクトシティ浜松）	2002. 4. 4-5.
第50回	畑 隆一郎	神奈川歯科大学 口腔生化学講座	葉山（湘南国際村センター）	2003. 3.21-22.
第51回	開 祐司	京都大学 再生医科学研究所	京都（アピカルイン京都）	2004. 4. 9-10.
第52回	吉岡 秀克 藤原 作平	大分大学医学部	大分（ゆふいん七色の風）	2005. 3.19-20.
第53回	安達 栄治郎 黒柳 能光	北里大学大学院 医療系研究科	箱根（ホテル箱根アカデミー）	2006. 3.25-26.
第54回**	岡田 保典	慶応大学 医学部 病理学	東京（北とぴあ）	2007. 5. 9-11.
第55回**	野水 基義	東京薬科大学薬学部 病態生化学	東京（こまばエミナース）	2008. 5.29-31.
第56回**	畑 隆一郎	神奈川歯科大学 生化学分子生物学	葉山（湘南国際村センター）	2009. 6. 4-7.
第57回**	妹尾 春樹	秋田大学大学院 医学系研究科	秋田 （秋田拠点センター・アルヴェ）	2010. 8.19-20.

第58回**	藤原 作平	大分大学医学部 皮膚科	大分（別府ビーコンプラザ）	2011. 6.10-11.
第59回**	安達 栄治郎	北里大学 医療系研究科	東京（日本青年館ホテル）	2012. 6. 7-8.
第60回**	雑賀 司珠也	和歌山県立医科大学 眼科学	和歌山 （和歌山県立医科大学）	2013. 6.28-29.
第61回**	渡辺 秀人	愛知医科大学 分子医科学研究所	名古屋（ウインクあいち）	2014. 6. 5-7.

\* 1991年4月1日より、マトリックス研究会と改称

\*\* 日本結合組織学会との合同開催

2015年4月1日、日本結合組織学会と発展的統合（英文名称：The Japanese Society for Matrix Biology and Medicine）

## 日本結合組織学会 大高賞受賞者 JSMBM Otaka Prize Recipients

( ) 内は受賞時の所属  
since 2015

- 2015 吉田 浩之 (花王株式会社 生物科学研究所)  
Hiroyuki Yoshida (Kao)  
KIAA1199, a deafness gene of unknown function, is a new hyaluronan binding protein involved in hyaluronan depolymerization.  
Proc Natl Acad Sci USA 110: 5612-5617, 2013
- 2016 多賀 祐喜 (株式会社ニッピ・バイオマトリックス研究所)  
Yuki Taga (Nippi Research Institute of Biomatrix)  
Developmental stage-dependent regulation of prolyl 3-hydroxylation in tendon type I collagen. J Biol Chem 291: 837-847, 2016
- 2017 下田 将之 (慶應義塾大学医学部・病理学教室)  
Masayuki Shimoda (Keio University)  
Hyaluronan-binding protein involved in hyaluronan depolymerization controls endochondral ossification through hyaluronan metabolism.  
Am J Pathol 187: 1162-1176, 2017
- 2018 佐藤 (西内) 涼子 (大阪大学)  
Ryoko Nishiuchi-Sato (Osaka University)  
Recombinant laminin fragments endowed with collagen-binding activity: a tool for conferring laminin-like cell-adhesive activity to collagen matrices. Matrix Biology, 65, 75-90, 2018

## 日本結合組織学会 学術賞受賞者

( ) 内は受賞時の所属

- 2005 永井 裕 (東京医科歯科大学 名誉教授)  
森 陽 (東京薬科大学 名誉教授)
- 2006 新海 法 (千葉大学大学院医学研究院 教授)  
早川 太郎 (愛知学院大学 名誉教授)  
林 利彦 (帝京平成大学薬学部 教授)
- 2007 木全 弘治 (愛知医科大学分子医科学研究所 所長・教授)
- 2008 受賞者なし
- 2009 畑 隆一郎 (神奈川歯科大学歯学部 教授)
- 2010 遠藤 正彦 (弘前大学 学長)  
鈴木不二男 (大阪大学 名誉教授)  
西田 輝夫 (山口大学 副学長)

2011	受賞者なし
2012	受賞者なし
2013	受賞者なし
2014	受賞者なし
2015	受賞者なし
2016	伊東 晃 (東京薬科大学附属社会医療研究所 理事長・主任教授) 岡田 保典 (順天堂大学 客員教授) 妹尾 春樹 (秋田大学 名誉教授)
2017	関口 清俊 (大阪大学蛋白質研究所・寄附研究部門 教授)

## 日本結合組織学会 功労賞受賞者

2005	三共株式会社 生化学工業株式会社
2016	株式会社ニッピ Nippi, Inc.

## 日本結合組織学会 論文賞受賞者

( ) 内は受賞時の所属

2005	Kikuji Yamashita, Satoru Eguchi, Hiroyuki Morimoto, Takao Hanawa, Tetsuo Ichikawa, Nobuyoshi Nakajo and Seiichiro Kitamura: Extracellular matrix formed by MC3T3-E1 osteoblast-like cells cultured on titanium. <i>Connective Tissue</i> 36(1): 1-8, 2004.  久保 孝利、能勢 卓、岩本 昭英、笹栗 靖之、森 陽、伊東 晃：ウサギ関節軟骨の細胞外マトリックスおよびマトリックスメタロプロテアーゼ産生に及ぼす加齢の影響 <i>Connective Tissue</i> 36(4): 197-205, 2004
2006	受賞者なし

CTR 誌への移行に伴い 2006 年度で廃止

# 日本結合組織学会 (JSMBM) Young Investigator Award Recipients

( ) 内は受賞時の所属  
since 2015

- 2015
- 本田祐一郎 (長崎大学病院 リハビリテーション部)  
【YF06】 不動に伴う骨格筋の伸張性の変化と線維化関連分子の動態変化の関連性
  - 須藤 涼 (星薬科大学 組織再生学)  
【YF08】 Latent TGF- $\beta$  binding protein 1 が fibrillin-1 線維形成に与える影響
  - 小林慎一郎 (長崎大学 移植・消化器外科)  
【YF28】 他家表皮細胞シートを用いたブタ食道粘膜広範囲欠損における食道粘膜再生と食道狭窄の解析
  - 千々岩みゆき (慶應義塾大学医学部 病理学)  
【V-1】 CCN1 (Cyr61) はヒト変形性関節症 (OA) 関節軟骨で過剰発現し ADAMTS4(アグリカナーゼ) 活性を阻害する
  - 下田 将之 (慶應義塾大学医学部 病理学)  
【V-2】 潰瘍性大腸炎における ADAM17 (a disintegrin and metalloproteinase -17) の機能解析
  - 佐藤 涼子 (大阪大学蛋白質研究所 細胞外マトリックス研究室)  
【VII-4】 コラーゲン結合活性を付加したラミニンフラグメントの作製：コラーゲン基質にラミニン様細胞接着活性を与えるツールの開発
- 2016
- 市瀬慎一郎 (早稲田大学先進理工学研究科 化学・生命化学専攻)  
【YF02】 コラーゲンを模倣した合成ペプチドゲルの開発とその利用
  - 鈴木 喜晴 (東京医科歯科大学大学院 保健衛生学研究科)  
【A2-3】 Teneurin-4 による中枢神経系の髄鞘形成機構と筋衛星細胞の未分化維持制御
  - 橋本 恵 (お茶の水女子大学 人間文化創成科学研究科)  
【YF11】 テネイシン X 欠損による創傷治癒メカニズムの活性化 ~コラーゲングル収縮に着目して~
  - 原島 望 (東京薬科大学 病態生化学教室)  
【B2-1】 ROCK 経路を介したラミニン -511 に対する細胞接着の抑制と細胞運動の促進
  - 山下 由莉 (順天堂大学 老化・疾患生態制御学)  
【B2-6】 Perlecan がもたらす脂肪組織の代謝ダイナミクス
  - 山城 義人 (筑波大学 TARA センター)  
【A3-3】 上行大動脈瘤におけるメカニカルストレス応答因子の解析
- 2017
- 五十嵐 敦 (東海大学大学院工学研究科)  
【A11】 人工真皮への応用を指向したコラーゲンナノシートの創製と機能評価
  - 折本 愛 (東北大学歯学部 歯科保存学分野)  
【WS1-5】 ADAMTS superfamily による Marfan 症候群の解離性大動脈瘤発症機構の解析
  - 工藤 睦子 (東京理科大学薬学部分子病態学教室)  
【A04】 テネイシン C 由来インテグリン活性化ペプチドによる神経膠芽腫の悪性化進展およびそれに基づく新規治療法の提案
  - 菅原 京加 (お茶の水女子大学大学院人間文化創成科学研究科 ライフサイエンス専攻)  
【A02】 マウス神経芽腫細胞株 Neuro2a の極性決定におけるビトロネクチンの役割
  - 柳川 享世 (東海大学大学院医学研究科 マトリックス医学生物学センター)  
【WS5-5】 線維肝の修復と再生を司る分子機構
  - 吉村 祐輔 (順天堂大学大学院医学研究科老人性疾患病態・治療研究センター)  
【WS4-1】 脱細胞脳組織におけるニューロスフィア培養—細胞外マトリックスが加齢性の神経新生減弱に果たす役割の解明を目指して

- 大野 竜暉 (順天堂大学大学院医学研究科老人性疾患病態・治療研究センター)  
【B3-6】 脱細胞脳組織を用いた3次元神経新生モデルの最適化
- 杉山夏緒里 (筑波大学 TARA センター  
グローバル教育ヒューマンバイオロジー学位プログラム)  
【P-07】 ラベルフリー・ラマンイメージング法による大動脈疾患モデルマウスの弾性線維解析
- 瀧沢 士 (大阪大学蛋白質研究所マトリクソーム科学 (ニッピ) 寄付研究部門)  
【B1-2】 a6b1 インテグリンによるラミニン-511 の認識機構
- 瀧田 講 (早稲田大学大学院先進理工学研究科化学・生命科学専攻)  
【A4-6】 変性コラーゲンに結合する環状ペプチドの開発と in vivo への応用
- 中村 晋之 (米国国立歯科・頭蓋顔面研究所、  
九州大学大学院医学研究院病態機能内科学)  
【A3-3】 細胞外マトリックス蛋白 Perlecan は脳梗塞後のペリサイトの遊走を促進し、血液脳関門の修復に関与する
- 藤原 稔史 (九州大学整形外科)  
【WS-4】 破骨細胞において PLEKHM1-DEF8-RAB7 複合体はライソゾームの分泌と骨代謝を制御する。

## 2018年度 日本結合組織学会理事会議事録

出席者（敬称略）：磯貝善蔵、稲垣豊、大橋俊孝、木村友厚、小出隆規、雑賀司珠也、佐藤隆、佐藤正人、中邨智之、鍋島一樹、野水基義、服部俊治、平澤恵理、望月早月、吉田利通、渡辺秀人

欠席者（敬称略）：芦田昇、石黒直樹、尹浩信

### 【審議事項】

1. 新理事と理事会担当に関して（第1回メール理事会にて承認済案件、今回は確認のため）  
理事長より報告があり、出席者全員より確認された。  
対外折衝：石黒直樹、○大橋俊孝、雑賀司珠也、鍋島一樹  
総務広報：小出隆規、○佐藤隆、佐藤正人、平澤恵理、○吉田利通  
会員管理：芦田昇、尹浩信、木村友厚、○望月早月  
監事：稲垣豊、服部俊治  
副理事長：磯貝善蔵、中邨智之、野水基義  
理事長：渡辺秀人
2. 平成29年度決算報告  
稲垣前理事長より報告と詳細説明があり、出席者全員より承認された。
3. 2018年度予算案（平成はもうすぐ替わるため西暦で記載）  
理事長より案が提示された。学協会サポートセンター契約解除と今後の会員管理・会費徴収状況に関してなど説明と議論があったのち、出席者全員より承認された。会員減による会費減が免れない。PPCTSへの支援はどうするかなど課題も残った。
4. 学協会サポートセンター契約解除と今後の会員管理・会費徴収に関して  
会員情報管理ができていない、業務委託費が曖昧などの理由で契約継続は不適切と判断、理事メール会議で合意され、5月末で契約解除通達（3ヶ月前通達）。会員情報管理の新たな仕組みを今後望月先生を中心に検討していくことが説明された。
5. 第49回学術大会決算報告  
吉田前会長より詳細が報告された。
6. 第52回学術大会会長の選出  
磯貝善蔵先生（国立長寿医療研究センター 皮膚科）が会長として選出され、同意された。  
2020年6月26-27日 愛知県での開催が予定として説明された。

7. 第 53 回学術大会会長に関して

平澤恵理会長で順天堂大学で行うことが可能であることが提案され承認された。

8. 名誉会員の推挙

• 開 祐司 先生

第 51 回マトリックス研究会主催 (2004 年)

• 藤原作平 先生

第 52 回マトリックス研究会 (2005 年)

第 43 回日本結合組織学会学術大会 / 58 回マトリックス研究会 (2011 年)

• 吉岡秀克 先生

第 52 回マトリックス研究会 (2005 年)

3 名が本理事会で決定された (追記: 本件は評議員会及ぶ総会にて賛同を得た)。

9. 大高賞選考基準に関して

以下第 2 回メール理事会の回答 (集計結果: ① 5 ② 5 ③ 0 ④ 2 ⑤ 1 票 合計 13 票) をもとに意見交換が行われた。

① 本学会への貢献度と将来の貢献の可能性を基に選考すべきである。従って論文 1 報でなく例えばこれまでの 3~5 報の提出を求める。また会員歴 2 年では少なすぎるので 5 年にする。

② 応募者が少ないという問題があったため会員歴 2 年にして論文賞的な位置づけにした経緯がある。選考基準が曖昧なままとなる懸念は残るが、このままでよい。

③ 応募者が少ない問題は賞金金額を増額すれば解決する。①の方針にして例えば副賞金額を 10~30 万円にする。

④ 現行の「本会会員のうち結合組織研究の進歩に寄与する顕著な研究を発表し、なお将来の発展を期待しうる者」という規程のままだと評価の客観性が担保し辛い。論文賞の位置づけにして応募論文 1 報を提出して貰うのがよいと思う。

⑤ その他

基本は現行のままで、選考基準をより明確にする。毎年の委員での特色も出す。2 名にするかは応募件数による。倍率 2 倍以上確保し、基礎 1、臨床 1 とはしない方がよいなどの意見があった。どうやって応募を増やすか (募集の時期、年齢のこと)、若手のプロモーションの励みになるような位置付けにするためにはどうするかなどが共通の課題として認識、共有された。

10. 平成 31 年度 (2019 年度) 大高賞選考委員長の選出

(案) 平澤恵理先生 (順天堂大学大学院医学研究科 老人性疾患病態治療研究センター) が承認された。

11. 事務局、HP、ニュースレターその他の運営に関して

connective tissue research の公開方法について議論された。

利用できるデータベースとして活用していただくが、著作権を学会が持つことを明記する。商業利用に関しては許諾を得る方向性が共有された。

HP 管理のお願い。評議員も含め広く問いかけることが共有され、本学会開催中に声かけを行うことになった。

【報告事項】

12. 第 49 回学術大会 YIA に関して

- 五十嵐 敦 (東海大学大学院工学研究科)

【A11】人工真皮への応用を指向したコラーゲンナノシートの創製と機能評価

- 折本 愛 (東北大学歯学部 歯科保存学分野)

【WS1-5】ADAMTS superfamily による Marfan 症候群の解離性大動脈瘤発症機構の解析

- 工藤 睦子 (東京理科大学薬学部分子病態学教室)

【A04】テネイシンC由来インテグリン活性化ペプチドによる神経膠芽腫の悪性化進展およびそれに基づく新規治療法の提案

- 菅原 京加 (お茶の水女子大学大学院人間文化創成科学研究科ライフサイエンス専攻)

【A02】マウス神経芽腫細胞株 Neuro2a の極性決定におけるピトロネクチンの役割

- 柳川 享世 (東海大学大学院医学研究科 マトリックス医学生物学センター)

【WS5-5】線維肝の修復と再生を司る分子機構

- 吉村 祐輔 (順天堂大学大学院医学研究科老人性疾患病態・治療研究センター)

【WS4-1】脱細胞脳組織におけるニューロスフィア培養—細胞外マトリックスが加齢性の神経新生減弱に果たす役割の解明を目指して

13. Connective Tissue DVD に関して

14. 第 50 回学術大会開催に関して

15. 第 51 回学術大会に関して (準備状況など)

16. 新評議員に関して

17. 会員情報収集、更新等のお願い

18. JSMBM ITA に関して

19. 関連学術会議に関して：

FEBS-ECM 2018 (Advanced Lecture Course) 2018/9/27-10/2 Patras, Greece

ASMBM Biennial Meeting 2018/10/14-17 Red Rock Las Vegas, NV, U.S.A.

第 14 回 結合組織勉強会 2018/10/27 酪農学園大学

第 11 回 Ppctss 2018/11/16-20 杭州 中国

第 32 回 日本軟骨代謝学会 2019/3/1-2 千里ライフサイエンスセンター

International Society for Hyaluronan Sciences (ISHAS) conference 2019/6/9-13 Cardiff, UK

This is What's NEXT

2017  
Winner



ナチュラルプロダクツ  
EXPO 2017 (米国:アナハイム)  
にて最優秀原料賞を受賞

プロテオグリカン F (現地名 Juvecol) は  
最新の優れた機能性原料に贈られる  
NEXTY AWARDS 「Best New Ingredient」  
を受賞しました。



一般社団法人  
あおもりPG推進協議会  
認証原料

あおもり PG とは 弘前大学が開発した技術により  
抽出したプロテオグリカンです。

機能性表示食品  
への対応も  
ご相談ください

美容・健康食品素材

# プロテオグリカン F

## Proteoglycan F

プロテオグリカン含有サケ鼻軟骨抽出物

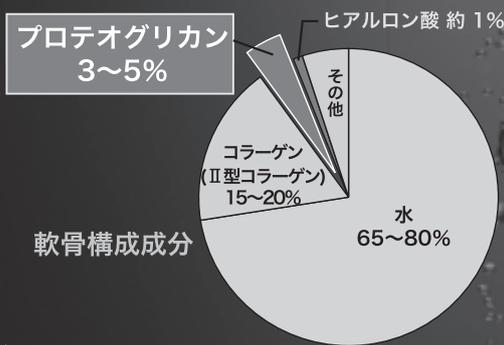


本製品は、JIHFS 健康食品原材料 GMP の認証を受けています。

### 注目の生体成分 「プロテオグリカン」

コラーゲンやヒアルロン酸に続く、注目の生体成分  
「プロテオグリカン」。

プロテオグリカンは皮膚や軟骨に多く含まれる糖タンパ  
ク質であり、保水や弾力性保持などの役割を担っています。



特許  
製法

弘前大学と株式会社角弘との共同研究により、資源を有効利用したサケ鼻軟骨から、  
これまで困難とされていた未分解プロテオグリカンの抽出技術を確立し、一丸ファルコス  
にて美容・健康食品原料「プロテオグリカンF」として製品化しました。

軟骨組織 細胞外マトリックス  
《イメージ図》



ナチュラル原料で美と健康を創造するバイオニア



一丸ファルコス株式会社

www.ichimaru.co.jp



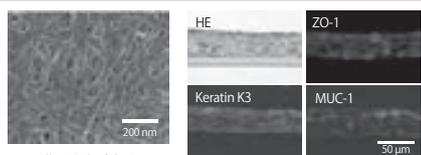
# 三次元培養に適した細胞培養用器材 ad-MED ビトリゲル® シリーズ

ad-MED ビトリゲル® シリーズは細胞培養担体として有用な  
コラーゲンビトリゲル® 膜を使用した細胞培養用インサートです



## ● 特 長 ●

高密度コラーゲン線維構造により  
生体に近い3次元培養モデルの再構築に有用



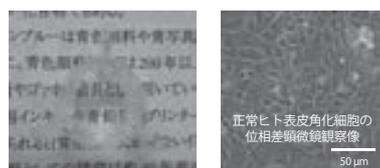
膜の強度が高く  
たわみが少ない ヒト角膜上皮組織モデルを作製した様子

メンブレンに触れずに培養液交換が  
可能な機能的なデザイン



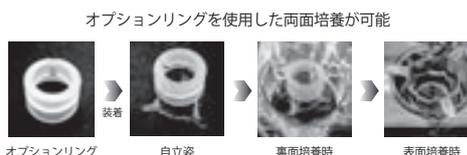
培養液交換が  
容易なデザイン

光学顕微鏡による細胞形態の  
観察に適した透明性の高い膜を使用



正常ヒト表皮角化細胞の  
位相差顕微鏡観察像

ビトリゲル® 膜を介した両面培養により  
異種細胞間の相互作用解析が可能



オプシヨニング

装着

自立姿

裏面培養時

表面培養時

## ● 製品ラインナップ ●

製品番号	製品名	容量	膜面積 (cm <sup>2</sup> )
08360-96	ad-MED ビトリゲル®	12 個	1.0
08363-96	ad-MED ビトリゲル® 2 (12ウェル)	12 個	1.0
08364-96	ad-MED ビトリゲル® 2 (24ウェル)	24 個	0.33
近日発売予定 08368-96	ad-MED ビトリゲル® 2 (96ウェル)	96 個	0.11

「ビトリゲル®」は、国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構による登録商標です。ad-MED ビトリゲル®は、農林水産省「アグリ・ヘルス実用化研究促進プロジェクト(ビトリゲル®)」の支援を受けて、国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構と共同で開発されました。



分析用試薬 生化学用試薬  
臨床検査薬 理化学機器

株式会社 十條合成化学研究所

〒114-0023 東京都北区滝野川3丁目84番2号  
営業部 TEL 03(3910)5471 FAX 03(3910)7011  
http://www.jujo.co.jp E-mail:info@jujo.co.jp



関東化学株式会社

試薬事業本部 試薬部

103-0022 東京都中央区日本橋8町2丁目2番1号 (03)4214-1090  
541-0045 大阪市中央区瓦町2丁目15番1号 (06)4231-1672  
812-0007 福岡市博多区東区2丁目22番3号 (092)414-9361  
← http://www.kanto.co.jp e-mail: info@kanto.co.jp →

# KEYENCE

## オールインワン蛍光顕微鏡 BZ-X800

1台で何役も。進化する顕微鏡。

Overlay

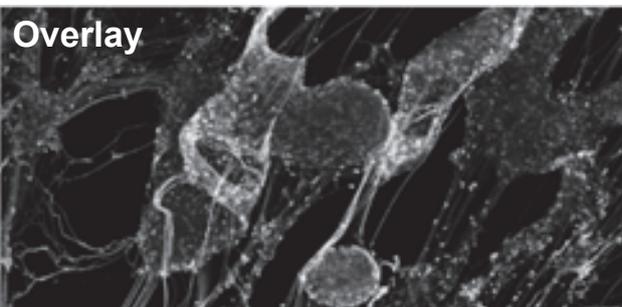
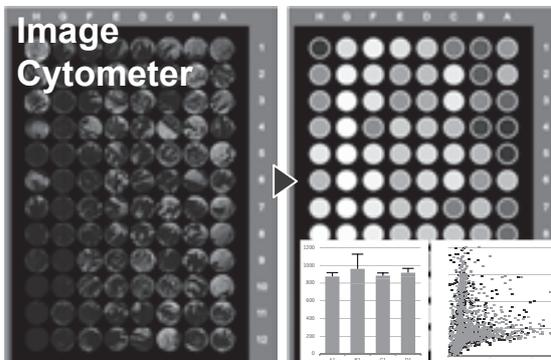


Image  
Cytometer



Optical Sectioning

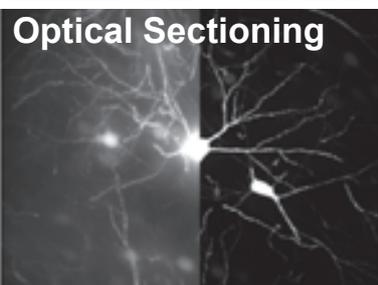
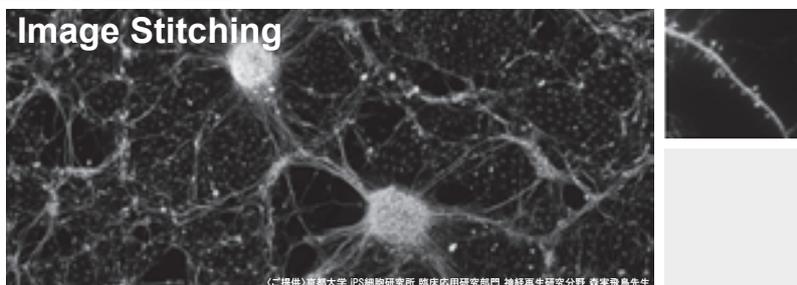


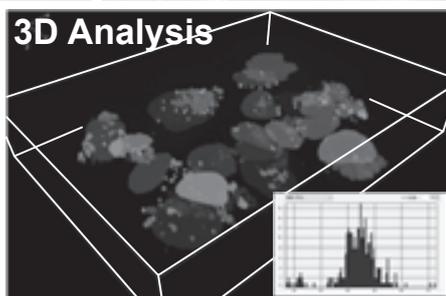
Image Stitching



Full-focus  
Image Stitching



3D Analysis



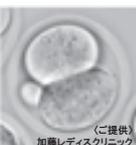
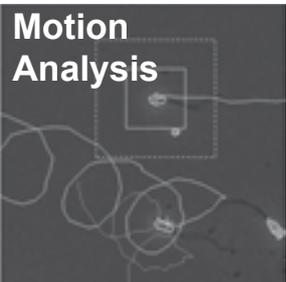
データ撮りの  
ご依頼は  
こちらまで

[www.keymsp.jp/BZ](http://www.keymsp.jp/BZ)

Cell Counting



Motion  
Analysis



(ご提供)  
加齢レディスクリューク

### 株式会社 キーエンス

本社・研究所／マイクロSCOPE事業部  
〒533-8555 大阪市東淀川区東中島1-3-14 Tel 06-6379-1141

顕微鏡  
お客様相談窓口 **0120-739-007**

Copyright© 2018 KEYENCE CORPORATION. All rights reserved.

## 図書「細胞外マトリックス研究法」全6巻／ご案内

－基礎からデータ解析まで－

### ●本シリーズの特長

1. 細胞外マトリックスの研究手法を系統的にまとめた初めての書
2. 執筆陣は本分野を代表する研究者と担当分野に精通した若手研究者
3. 内容は各テーマの研究に必要な最新知識とその具体的な研究手法
4. さらに実験結果の解釈、応用例を適宜まじえ、本書利用者の研究発展の一助とした
5. 対象読者は本分野の入門者、大学院生、創薬・医歯薬生物の研究者

### ●本シリーズの構成

- |     |     |              |    |        |                             |
|-----|-----|--------------|----|--------|-----------------------------|
| 第1巻 | I部  | 生化学的研究法      | 定価 | 6,400- | ／内容は各マトリックス成分の分離・精製・確認方法等   |
| 2   | II  | 免疫学的・酵素学的研究法 | 定価 | 5,000- | ／内容は抗体作製やコラーゲン・MMPsの測定方法    |
| 3   | III | 遺伝子解析法       | 定価 | 6,400- | ／内容は遺伝子工学の各手法と結果のコンピュータ処理   |
| 4   | IV  | 機能解析法 上      | 定価 | 6,400- | ／内容は各組織細胞の培養技術と応用研究         |
| 5   | IV  | 機能解析法 下      | 定価 | 5,400- | ／内容は細胞外マトリックスの接着機構と疾患モデルの作製 |
| 6   | V   | 細胞・超分子形態解析法  | 定価 | 5,400- | ／内容は組織染色や免疫電顕から最新の形態解析法まで   |

### ●ご執筆者一覧

(順不同敬称略)

水野 一乗・林 利彦・服部 俊治・中里 浩一・今村 保忠・新井 克彦・坪 信子  
西山 敏夫・平子 善章・尾張部 克志・蛭原 哲也・入江 伸吉・林 正男・深井 文雄  
熊谷 知乃・川口 信子・北川 泰夫・天野 聡・畑 隆一郎・木下 亜希子・菅原 一幸  
大平 敦彦・山本 清高・山本 満里・平山 直美・飯島 克昌・佐渡 義一・藤崎 ひとみ  
白井 朋子・早川 太郎・山下 京子・吉野 智亮・吉岡 秀克・藤原 作平・新井 浩司  
倉田 俊一・加藤 博明・妹尾 春樹・友野 靖子・気賀沢 一輝・鈴木 克佳・西田 輝夫  
関 祐司・玉盛 三美・小出 典男・大和 雅之・菊池 明彦・岡野 光夫・関口 清俊  
高木 淳一・岩本 資己・宮本 新吾・垣本 毅一・山根 徹・妻木 範行・木村 友厚  
渡辺 秀人・藤田 芳和・小林 邦彦・猪山 賢一・今井 克幸・染木 衣店里・山形 貞子  
山形 達也・神山 雅子・望月 理加・伊藤 宏・佐藤 充・串田 愛・前田 利長・三浦 豊  
吉澤 史昭・三浦 光隆・小嶋 直介

### ●ご購入方法

試薬販売店を通じてか、又は直接お申し込み下さい。

本書は「国会図書館、都立中央図書館」で、書評は「生化学 1999年11月号、  
蛋白質核酸酵素 1999年9月号」でご覧頂けます。

CRC



コラーゲン技術研修会

〒204-0013 東京都清瀬市上清戸1-10-1  
Tel 0424-95-1995 Fax 0424-95-1990

## 研究試薬のご案内

### 1. コラーゲン関節炎の作製に

「K41 タイプIIコラーゲン液」 「K42 末」  
コラゲナーゼ (MMPs) 活性測定に  
「K11 コラゲノキットCLN100」

- ・世界で最初の製品化より三十余年
- ・国内外の文献に多数紹介されています
- ・抗タイプIIコラーゲン抗体測定キットもあります

### 2. 腎炎モデルの作製に

「K35 NC1」

- ・腎糸球体よりタイプIVコラーゲンNC1領域を精製
- ・簡単な投与で、確実に発症し、長期に観察できます
- ・腎疾患治療薬の開発、スクリーニングに
- ・薬剤の腎機能低下者への影響予測に
- ・自己免疫の研究に

### 3. ヒト及び動物腎炎での抗体測定に

「K36 抗NC1抗体測定キット ELISA」

### 4. 障害腎の免疫組織染色に

「K35M0N0 抗NC1モノクローナル抗体」

- ・健常腎を染色せず、障害腎のみを染色します

#### ●お問い合わせ先

販売 コスモ・バイオ (株) Tel. 03-5632-9610  
Fax. 03-5632-9619

開発販売元 コラーゲン技術研修会

CRC



COLLAGEN RESEARCH CENTER

1-10-1 Kamikiyoto, Kiyose, Tokyo 204-0013, Japan  
Tel+81-424-95-1995 Fax+81-424-95-1990

<http://www.collagen.center/>

# 細胞外マトリックス研究試薬



## 抗体製品

### Anti-Keratan Sulfate Monoclonal Antibody (R-10G)

Isotype: Mouse IgG<sub>1</sub> 0.1mg/vial 50,000円 [A2968]

### Anti-Chondroitin Sulfate D Monoclonal Antibody (MO-225)

Isotype: Mouse IgM 0.1mg/vial 50,000円 [A2872]

### Anti-Chondroitin Sulfate A Monoclonal Antibody (LY111)

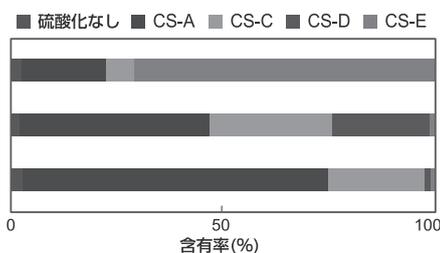
Isotype: Mouse IgM 0.1mg/vial 50,000円 [A3143]

### **New** Anti-Perlecan Monoclonal Antibody (HK-102)

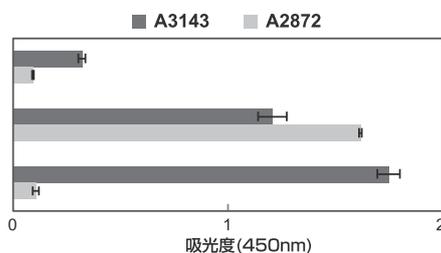
Isotype: Rat IgG 0.1mg/vial 50,000円 [A3342]

## 抗コンドロイチン硫酸抗体を用いたCS-A, CS-Dの特異的検出

### 各サンプルのコンドロイチン硫酸の含有率



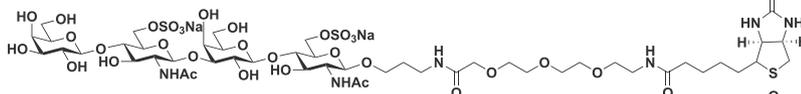
### 抗コンドロイチン硫酸抗体の特異性



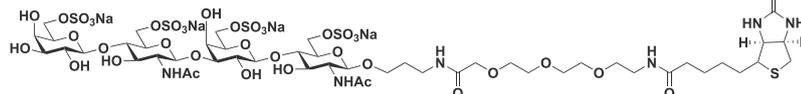
ELISA プレートにコートした由来の異なるコンドロイチン硫酸に対し、A2872、A3143を反応させて適切な二次抗体で検出

## 糖鎖製品

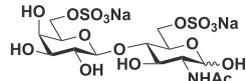
### L2-L2-β-PEG<sub>3</sub>-biotin [G0516]



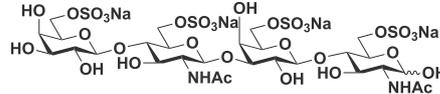
### L4-L4-β-PEG<sub>3</sub>-biotin [G0517]



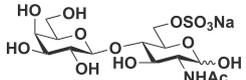
### L4 [L0325]



### L4-L4 [L0286]



### L2 [L0324]



### Hyaluronic Acid from Cockscomb

1g 19,400円 [H0595]

### Hyaluronic Acid Sodium Salt from Cockscomb

100mg 8,800円 / 1g 44,000円 [H0603]

### Hyaluronic Acid Potassium Salt from Cockscomb

1g 25,800円 [H0652]

### Hyaluronate Tetrasaccharide

1mg 8,400円 / 5mg 29,300円 [H1284]

### Hyaluronate Hexasaccharide

1mg 9,000円 / 5mg 31,500円 [H1285]

### Dermatan Sulfate Sodium Salt

20mg 10,300円 / 100mg 30,800円 [D3672]

製品の詳細はTCIのウェブサイトへ ▶▶▶



東京化成工業株式会社

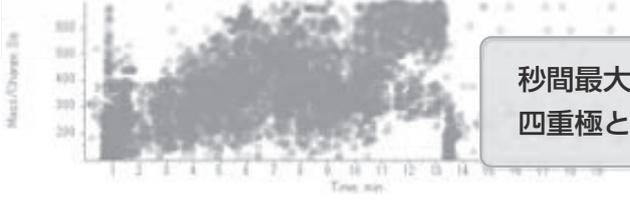
お問い合わせは 本社営業部 Tel: 03-3668-0489 Fax: 03-3668-0520  
大阪営業部 Tel: 06-6228-1155 Fax: 06-6228-1158

facebook.com/tci.jp

TCIchemicals.com/ja/jp/

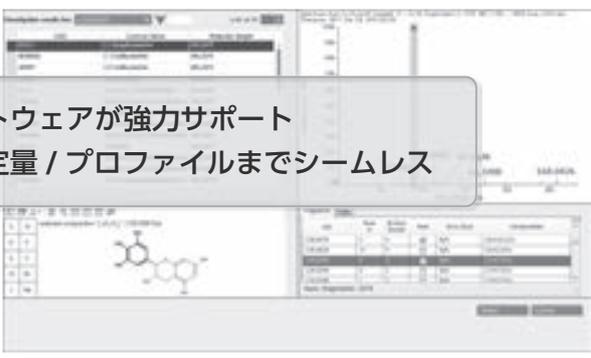
twitter.com/TCI\_J

機能性成分の同定 / 定量 / プロファイリングを一台で  
**X500 QTOF シリーズ**



秒間最大 100 化合物の構造データ (MS/MS)  
四重極と同等の操作感で、洩れなく定量 / 定性可能

構造推定をソフトウェアが強力サポート  
化合物の同定～定量 / プロファイルまでシームレス



SCIEX OS ソフトウェア

Xシリーズを含め、SCIEXの製品群や各アプリケーションの  
分析実例までをご紹介します  
On demand Webinarはこちら >>> <https://ter.li/889xwm>



株式会社エービー・サイエックス

本社: 〒140-0001 東京都品川区北品川4-7-35 御殿山トラストタワー21F  
TEL: 0120(318)551 FAX: 0120(318)040  
大阪: 〒531-0072 大阪府大阪市北区豊崎3-19-3 ピアスタワー 3F  
[www.sciex.jp](http://www.sciex.jp) Email: [jp\\_sales@sciex.com](mailto:jp_sales@sciex.com)

本製品は研究用のみ使用できます。診断目的およびその手続き上での使用はできません。  
© 2017 AB Sciex. For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures. The trademarks mentioned herein are the property of AB Sciex Pte. Ltd. or their respective owners. AB SCIEX™ is being used under license. MKT13-764A

新しい価値の創造に貢献したい

# Let's Create

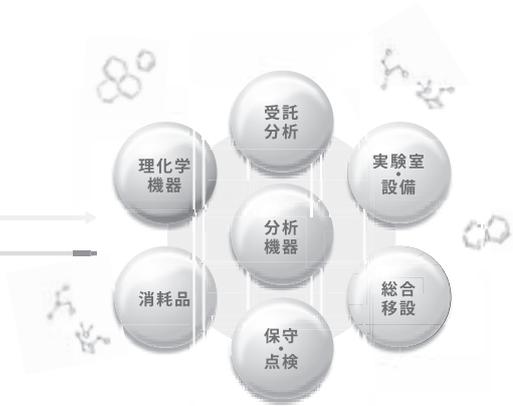
社会の発展のために  
優れた科学技術・製品をご提供する

総合理化学商社  
島津サイエンス東日本株式会社

## Total Solution



島津サイエンス東日本は、お客様のニーズや課題解決のために総合理化学商社として島津製作所グループをはじめ国内外のメーカーの製品とノウハウを組み合わせさせていただき、皆様のお仕事をサポートいたします。



## 島津サイエンス東日本 株式会社

本社(東京) 〒111-0053 東京都台東区浅草橋5-20-8 (CSタワー5F) TEL:03-6858-4740 FAX:03-6858-4741  
つくば支店 〒305-0031 茨城県つくば市吾妻3-17-1 TEL:029-852-0321 FAX:029-852-0361

島津サイエンス東日本



<http://www.sse-shimadzu.co.jp>

## 機能性表示食品対応素材！ カツオエラスチン

弾性線維豊富なカツオの  
動脈球(血管)を原料とした  
高純度海洋性エラスチンペプチド

- エラスチンは、  
皮膚や血管・靭帯に存在する  
伸縮性のあるタンパク質です
- 皮膚真皮ではコラーゲンの間に存在し、  
弾力性を保つ働きをします



### エビデンス

美バストライン維持効果を確認！

- 【美容】美肌、美バスト系サプリメント
- 【健康】アンチエイジング、血管老化防止サプリ
- 【ロコモ】膝の靭帯改善
- 【スポーツ】関節の靭帯改善

### 製品規格

デスマシン・イソデスマシン:0.1%以上  
※デスマシン・イソデスマシンはエラスチンにのみ含まれるアミノ酸です。

## 糖化ストレス対応素材 ヒシエキス

約800種類の植物より  
厳選された強力な抗糖化素材



原料:トウビシ果皮

- ヒシエキスは、  
水生植物「トウビシ」の果皮から得られた  
エキス粉末です
- トウビシ果皮は茶としての食経験があり、  
生薬原料としても知られています。

### エビデンス

- 【臨床試験】肌の弾性向上、血流改善
- 【抗糖化】終末糖化産物(AGEs)の生成抑制
- 【血糖改善】食後の血糖値上昇を穏やかに
- 【糖化物分解】ジカルボニル化合物の分解作用

### 製品規格

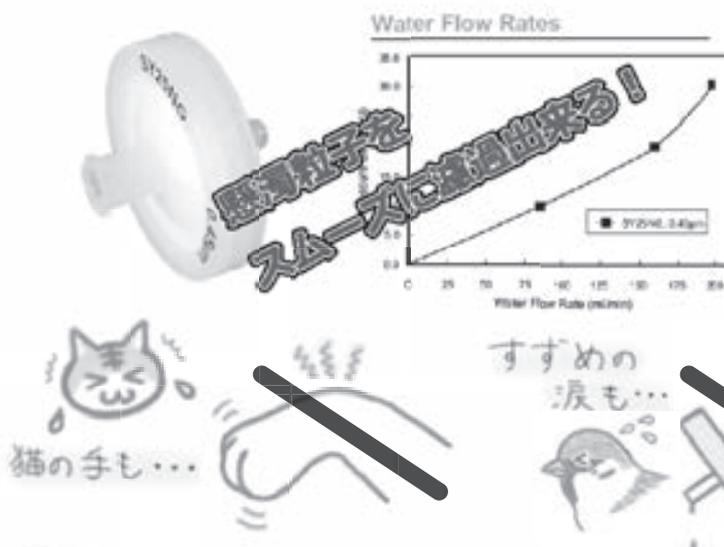
総ポリフェノール:25%以上

 **林兼産業株式会社**  
機能食品部 機能食品販売課

〒750-8608 山口県下関市大和町2-4-8  
TEL:083-266-1191 FAX:083-266-6461  
URL: <http://www.hayashikane.co.jp>

# 濾過抵抗や目詰まりでお困りの方へ!!!

●プレ濾過不要のマルチフィルター●



- ・ ガラスファイバーのマルチプレフィルター内蔵で、懸濁粒子の濾過に。
- ・ 濾過抵抗が小さく操作性に優れています。
- ・ リーズナブルな価格設定 (1個当たり¥147 ~)

 ラボラボカンパニー株式会社

TEL:042-634-9531 FAX:042-634-9536 e-mail:info@lablab.co.jp <http://www.lablab.co.jp>

# 索引

LS：ランチョンセミナー                      MQSL：Matrix Quest Special Lectures

SY：シンポジウム                              KS：KSMB-JSMBM Symposium

A, B：一般演題（口演）                      P：一般演題（ポスター）

(Ch.)：座長

演題番号の横の（P〇〇）はポスター発表における演題番号です。

<b>【A】</b>	Hatipoglu, Omer Faruk	Kuroda, Kazuki P9
Acar, Muradiye P24	P11	<b>【L】</b>
Akazawa, Chihiro	Heljasvaara, Ritva	Lanig, Harald P25
MQSL-2	P19	Laurie, Lindsay E.
Amelio, Antonio SY3-2	Holden, Paul SY3-3	P33
Avila, Hugo A2-9	Hong, Heejeoung	Lee, Eunhye P34
<b>【B】</b>	P35	Lee, Hae Won P37
Bächinger, Hans Peter	Hudson, Billy SY2-3	Lee, Hye Min P34
SY3-3	<b>【I】</b>	Lee, Seungeun P34
Bauer, Ryan SY2-3	Ichise, Shin-ichiro	Lee, Seung-Taek
Birk, David P4	P9	P37
Boudko, Seregi SY2 (Ch.),	Ishikawa, Nobuyuki	Leikin, Sergey MQSL-1
SY2-3	P9	Li, Zhe A2-9
Brisso, Becky K.	Ishikawa, Yoshihiro	Lim, Hyun Kyung
SY3-2	SY3-3	P34
<b>【C】</b>	Isogai, Zenzo P12	Liu, Chia-Yang B2-8 (P54)
Cilek, Mehmet Z.	<b>【J】</b>	Liu, Weiwei A1-3
A2-10,	Joo, Min Sung P36	Liu, Xiaoling A1-3
B1-3* (P50)	Jung, Joohee P34	Long, Xinyu A1-3
<b>【D】</b>	<b>【K】</b>	<b>【M】</b>
de Vega, Susana	Kao, Winston W.-Y.	MacKay, John Anderw
A2-10,	B2-8 (P54)	A2-9
B1-3* (P50)	Keene, Douglas R.	Mizuno, Kazunori
<b>【F】</b>	SY3-3	SY3-3
Faruk, Hatipoglu Omer	Kerever, Aurelien	Mizuno, Nobuyo
P24	A2-8* (P49)	SY3-3
<b>【G】</b>	Kim, Chungho KS2	Momota, Ryusuke
Gao, Yanfang A1-3	Kim, Eun-Sook P34	P12
Gunduz, Esra P24	Kim, Jiyeon KS2	Moon, Aree P34
Gunduz, Mehmet	Kim, Sang Geon	Myllyharju, Johanna
P24	P36	SY3-3
<b>【H】</b>	Ko, EunYi P34	<b>【N】</b>
Ham, Mina P34	Koch, Manuel P4	Nguyen, Ha Thi P6
Hara, Emilio Satoshi	Koh, Minsoo P34	Nose, Hiroshi P9
P6	Koide, Takaki P9	Nosho, Shuji P6
	Kuboki, Takuo P6	

**【O】**

Oh, Eok-Soo P35  
 Okamoto, Curtis Toshio  
 A2-9  
 Ono, Mitsuaki P6  
 Oohashi, Toshitaka  
 P6, P12

**【P】**

Park, So Yeon P34  
 Pedchenko, Vadim  
 SY2-3  
 Pihlajaniemi, Taina  
 P19  
 Pokidysheva, Elena  
 SY2-3

**【Q】**

Quantock, Andrew J.  
 P3\*

**【R】**

Rhee, Sangmyung  
 KS1

**【S】**

Saika, Shizuya P9  
 Salo, Antti SY3-3  
 Semenova, Olesya  
 SY3-3  
 Shin, Won-Sik P37  
 Song, Hyun-Kuk  
 P35  
 Sorenmo, Karin SY3-2

**【T】**

Taga, Yuki SY3-3  
 Takarada, Takeshi  
 P6  
 Tang, Shaoying  
 P10\*  
 Tosa, Ikue P6  
 Trojanowska, Maria  
 P13  
 Truong, Anh Tan  
 A2-9  
 Tufa, Saa SY3-3

**【U】**

Uctepe, Eyyup P24

**【V】**

Volk, Susan W. SY3-2  
 von der Mark, Klaus  
 P25

**【Y】**

Yonezawa, Tomoko  
 P12

**【Z】**

Zientek, Keith SY3-3

**【あ】**

青木光希子 B1-4  
 秋葉 星哉 A2-7\* (P48)  
 秋本 龍二 A2-6\* (P47)  
 浅井 智子 SY5-1  
 浅沼 克彦 SY4-1, SY4-2  
 浅野クリスナ SY5-3  
 浅原 弘嗣 B2-13\* (P59)  
 安達 保尋 P28  
 跡見 友章 B2-1  
 跡見 順子 B2-1  
 阿部 彩香 B1-2  
 阿部 純子 A2-1  
 天池 孝夫 P28  
 天野 聡 A2-2\* (P44)  
 新井 克彦 P32

**【い】**

飯島 克昌 SY3-4  
 飯嶋 克昌 P22, P38  
 飯田 知子 A2-5 (P46)  
 池嶋 健一 SY4-3  
 池島 喬 A1-3  
 池村健太郎 P11, P24  
 生駒 丈晴 B2-14  
 石川 幸 P3\*  
 石川 善弘 SY3 (Ch.)  
 石川 義弘 B2-12\* (P58)  
 石島 旨章 A2-10,  
 B1-3\* (P50),  
 P21\*  
 伊豆 弥生 P4  
 市川 秀之 A2-6\* (P47)  
 市川 寛樹 A1-7 (P43)  
 居作 和人 B2-14  
 伊藤 智子 B2-12\* (P58)

伊藤 雅俊 A2-10  
 伊藤 義晃 B2-13\* (P59)  
 稲垣 純子 P11  
 稲垣 豊 SY4 (Ch.),  
 SY1-4  
 稲川 喜一 P19  
 稲富 裕也 B2-5  
 井上 育代 SY4-4  
 井上 玄 SY1-2  
 伊原 伸治 P26  
 今中 恭子 B2-10\* (P56)  
 今村 保忠 A1-1\* (P39),  
 A1-2\* (P40),  
 B1-6\* (P51), P2  
 入山 俊介 A2-1 - A2-7 (Ch.),  
 A2-2\* (P44)  
 岩西 宏樹 P8, P14  
 尹 浩信 P13

**【う】**

鶯澤 一弘 SY3-2  
 白井 照幸 B2-9\* (P55)  
 内田 歩 P32  
 内田健太郎 SY1-2  
 占部 博也 A2-6\* (P47)

**【え】**

戎 富美 A2-1, A2-4  
 遠藤 整 SY1-4

**【お】**

大石 佑子 B1-2  
 大形 公紀 B2-7 (P53)  
 大久保 徹 P3\*  
 大藪 恵一 A1-6\* (P42)  
 大月 孝志 P11, P24  
 大戸-藤田恵理 B2-1  
 大西 映里子 A2-1  
 大野 充昭 P10\*, P19  
 大橋 俊孝 B1 (Ch.), P10\*,  
 P19  
 大幡 泰久 A1-6\* (P42)  
 岡田 清孝 A2-12  
 岡田 宗善 B2-11\* (P57)  
 岡田 保典 A2-10,  
 B1-3\* (P50)  
 岡田 由香 B2-8 (P54), P14

岡村 陽介 SY1-4  
 小川 温子 B1-1  
 沖田 実 B2-1 - B2-7(Ch.),  
 B2-5, B2-6, P31\*  
 興津 輝 P22  
 小倉 孝之 A1-3  
 小澤 重幸 B2-14  
 尾関 菜弥 P16\*  
 小野寺 敏 A1-3  
 尾山 大明 B1-4  
 【か】  
 甲斐 浩一 P5  
 笠松 慎也 B1-3\* (P50)  
 梶原 康宏 B2-5, B2-6, P31\*  
 片岡 健輔 B2-13\* (P59)  
 片岡 英樹 B2-5, B2-6, P31\*  
 片桐 奨 B1-6\* (P51)  
 片桐 文彦 P1  
 片山 友晶 A2-6\* (P47)  
 片山 朋彦 P3\*  
 加藤 可那 A2-8\* (P49)  
 加藤 大祐 B2-10\* (P56)  
 加藤真理子 B2-13\* (P59)  
 門之園哲哉 B2-3  
 金井沙也伽 B2-2\* (P52)  
 金川 基 P1  
 金森 慶亮 B2-14  
 金子 和夫 A2-10,  
 B1-3\* (P50)  
 金子奈穂子 A2-3\* (P45)  
 金子 晴香 A2-10,  
 B1-3\* (P50),  
 P21\*  
 金丸 眞一 SY1-1  
 神谷 章平 A2-6\* (P47)  
 亀谷 清和 P2  
 川口 章 SY1-4  
 川島 清隆 A1-7 (P43)  
 川野辺裕太 A1-1\* (P39)  
 【き】  
 吉川 大和 P1  
 木下 奨 SY3-4  
 木下 義晃 B2-4  
 木村 優太 P15\*

浄住 大慈 A2-3\* (P45)  
 清野 透 B2-14  
 【く】  
 日下 俊次 A2-12  
 楠畑 雅 SY5 (Ch.), P21\*,  
 P23\*, P27\*, P33,  
 P38  
 工藤 遊山 P28  
 工藤 裕司 P3\*  
 窪田 拓生 A1-6\* (P42)  
 熊井 準 P1  
 熊谷 瞳子 P16\*  
 熊澤 雄基 P17\*, P23\*  
 倉知遼太郎 B2-9\* (P55)  
 栗本 大嗣 B2-1  
 黒瀬 等 B1-5  
 黒田 真帆 B1-2  
 【こ】  
 小出 隆規 SY1 (Ch.),  
 SY1-3,  
 B2-2\* (P52),  
 B2-3  
 鴻崎香里奈 A1-4 (P41)  
 古賀 朗寛 P26  
 古賀 敦大 P28  
 古賀 佳織 B1-4  
 小久保博樹 P33  
 越川 直彦 B1-4  
 小嶋 聡一 SY4-4  
 古庄 知己 P2  
 後藤希代子 P33  
 後藤健太郎 A1-7 (P43)  
 小林 英司 P20\*  
 小林 千浩 P1  
 小林 由紀 P3\*  
 近藤 康隆 B2-5  
 近藤 洋一 A2-5 (P46)  
 【さ】  
 雑賀司珠也 B2-8 - B2-14(Ch.),  
 B2-8 (P54), P8,  
 P14  
 西條 湧紀 A1-2\* (P40)  
 齋藤 智昭 SY3-2  
 佐伯 千里 SY4-4

相賀裕美子 P33  
 酒井 尚雄 A2-8 - A2-12(Ch.),  
 A2-11  
 坂上 弘明 P16\*  
 坂田 喜美 P15\*  
 坂本 淳哉 B2-5, B2-6, P31\*  
 桜井 隆史 B2-1  
 佐々木隆子 SY2 (Ch.), P25  
 佐藤 健司 SY5-1  
 佐藤 隆 P16\*  
 佐藤 典宏 P28  
 佐藤 祐哉 A2-3\* (P45)  
 佐藤(西内)涼子 A2-4  
 佐野 将英 B2-1  
 澤田 和浩 SY5-1  
 澤本 和延 A2-3\* (P45)  
 【し】  
 椎葉 正史 SY3-2  
 塩澤 淳 A2-10,  
 B1-3\* (P50)  
 柴田 峻 A2-1 - A2-7(Ch.),  
 P3\*  
 柴田 雅朗 A2-5 (P46)  
 自見 至郎 SY5-1  
 清水 美穂 B2-1  
 下野 知性 A2-3\* (P45)  
 白木 裕太 B2-10\* (P56)  
 辛 英哲 A1-1\* (P39),  
 A1-2\* (P40),  
 B1-6\* (P51)  
 【す】  
 菅原由美香 P1  
 杉岡 孝二 A2-12  
 鈴木 映美 B2-8 (P54)  
 鈴木 健司 B2-14  
 鈴木 佑治 A2-8\* (P49)  
 鈴木 理沙 B1-1  
 須藤 塁 A2-7\* (P48)  
 住岡 孝吉 B2-8 (P54), P8,  
 P14  
 住吉 秀明 SY1-4

<b>【せ】</b>		遠山 周吾	P20*	服部 俊治	MQSL-2 (Ch.), SY3-1, SY3-2, SY3-4, A1-3, A1-5, A2-11, B2-7 (P53), B2-14, P20*, P21*, P22, P33, P38
関口 清俊	A1-5, A2-1, A2-3* (P45), A2-4, A2-5(P46), P18	榎 純子	P3*, P18	濱崎 慎	B1-4, B2-4
関根 康介	A1-2* (P40)	戸田 達史	P1	濱田 圭佑	P1
<b>【た】</b>		富永 裕貴	B2-3	濱中 良志	P5
多賀 祐喜	SY3 (Ch.), SY3-1, SY3-2, SY3-4, A1-6* (P42), P17*, P20*, P21*, P23*, P27*, P33, P38	友野 靖子	P19	濱野 将大	P15*
高相 晶士	SY1-2	<b>【な】</b>		林 利彦	SY5 (Ch.), A1-3, A1-5
高橋 和久	SY4-6	永井 竜児	SY3-4	林 竜平	SY2-1, P3*
高橋 幸資	B2-7 (P53)	中尾 祥絵	SY1-4	林田 治	P22, P38
高橋 直紀	P2	中里 浩一	A1 (Ch.), A1-4 (P41)	早瀬 文孝	B2-9* (P55)
瀧沢 士	P18	中田 智史	A2-7* (P48)	<b>【ひ】</b>	
高見 拓	B2-1	中根 明夫	SY5-3	平澤 恵理	SY4 (Ch.), A2-7* (P48), A2-8* (P49)
竹下 治男	P7	中野伊津子	A2-3* (P45)	平澤(有川)恵理	P21*
竹森久美子	SY5-2	中野 泰博	SY1-4	平田あずみ	A2-5 (P46)
武鐘 真司	A1-6* (P42)	中道 亮	B2-13* (P59)	平田 敬治	P28
田坂 有理	SY4-5	中村 敦也	A2-6* (P47)	廣瀬 昌平	SY5-3
立木 美穂	P11, P24	中村 智美	B1-3* (P50)	広瀬 拓哉	P2
伊達 公恵	B1 (Ch.), B1-1	中村まり子	SY4-4	廣畑 聡	P11, P24
田中 啓友	SY1 (Ch.), P20*, P21*, P22, P38	仲矢 道雄	B1-5	<b>【ふ】</b>	
田中 貴大	A2-8* (P49)	鍋島 一樹	B2-1 - B2-7(Ch.), B1-4, B2-4	藤崎ひとみ	A1-3, A1-5
田中 智美	P21*	縄田 厚	B2-5	藤田 京志	P7
田中なつみ	B2-5, B2-6, P31*	<b>【に】</b>		藤田 昌樹	B2-4
田中 佑治	SY2-2	西川 紗織	A2-2* (P44)	藤野 峻行	B2-9* (P55)
谿口 征雅	A2-1, P3*, P18	西田 功一	A2-12	二木 杉子	A1-5, A2-3* (P45), A2-5 (P46)
玉井 幸恵	B1-1	西田 幸二	P3*	船戸 紀子	P23*, P33
田村 優樹	A1-4 (P41)	西田 輝夫	A2-12	<b>【ほ】</b>	
丹澤 秀樹	SY3-2	西村 拓人	P11, P24	干場 隆志	P30
<b>【ち】</b>		西山 敏夫	A2-6* (P47)	保住建太郎	P1
千々岩みゆき	A2-10	<b>【ね】</b>		細井 純一	A2-2* (P44)
千葉 朋希	B2-13* (P59)	根岸 洋一	P1	本田祐一郎	B2-5, B2-6, P31*
<b>【て】</b>		<b>【の】</b>		本間 陽一	P3*
寺嶋 雅彦	SY3-2	野水 基義	P1	<b>【ま】</b>	
寺村 直子	P22, P38	<b>【は】</b>		前田 夏希	B1-6* (P51)
<b>【と】</b>		橋本 恵	B1-2	前田 幸英	P10*
十合 晋作	SY4-6	長谷川俊樹	B2-9* (P55)		
遠目塚千紗	P23*	長谷部由紀夫	B2-1		
		秦 裕子	B1-4		
		畑 隆一郎	B2-8 - B2-14(Ch.), B2-14		

前場 崇宏 P10\*, P19  
 前畑洋次郎 B2-14  
 牧野 雄成 P13  
 政木 隆弘 SY4-4  
 増田 亮 B2-3  
 松浦 知和 SY4-4  
 松尾 佳苗 P26  
 松尾 哲孝 P5  
 松下 治 SY1-2  
 松村 保広 LS  
 松本 健一 P7  
 松本 直通 P7  
**【み】**  
 水野 一乗 MQSL-1 (Ch.),  
 A1-3,  
 A1-6\* (P42),  
 A2-7\* (P48),  
 A2-11, B2-14,  
 P17\*, P21\*, P22,  
 P23\*, P27\*, P38  
 美間 健彦 SY1-2  
 三宅 紀子 P7  
 宮崎 健 B1-4  
 宮崎 泰成 SY4-5  
 宮嶋 正康 B2-8 (P54), P14  
 宮前 結花 A2-10  
 宮本 泰則 B1-2  
**【む】**  
 村上 純子 A2-12  
 村上 智亮 B2-1  
 村上 庸人 B2-9\* (P55)  
 村上 義彦 B2-1  
**【め】**  
 目崎 喜弘 SY4-4  
 米良 克美 SY3-4  
**【も】**  
 望月 早月 A2-10  
 百田 龍輔 A1 (Ch.)  
 守矢あかね A1-1\* (P39)  
**【や】**  
 八木恵美子 P3\*  
 八木志乃海 P20\*  
 安田 純平 B2-11\* (P57)  
 安田 慎吾 P14

柳川 享世 SY1-4  
 矢野 博之 P5  
 山内 三男 SY3-2  
 山澤 開 B2-1  
 山下 由莉 A2-7\* (P48)  
 山田 和夫 P7  
 山田 博之 SY4-2  
 山田 雅司 A1-5  
 山田 雄二 P1  
 大和 雅之 LS (Ch.)  
 山本 彩乃 A2-1  
 山脇 英之 B2-11\* (P57)  
 陽 暁艶 B2-14, P23\*, P27\*  
**【よ】**  
 横山 詩子 B2-12\* (P58)  
 横山 夏海 P30  
 横山 寛 SY4-4  
 吉岡 秀克 P5  
 吉川 一伸 SY5-1  
 吉田 浩二 P15\*  
 吉田 利通 B2-10\* (P56)  
 吉田 浩之 B1-3\* (P50)  
 良永 知穂 B1-3\* (P50)  
 吉村 圭司 B2-7 (P53)  
 吉村浩太郎 B2-1  
 米澤 朋子 A2-8 - A2-12 (Ch.),  
 P10\*, P19  
**【わ】**  
 渡辺 淳 P7  
 渡辺憲太郎 B2-4  
 渡邊 純子 SY4-6  
 渡辺 彰吾 P11  
 渡邊 敬文 P2  
 渡辺 秀人 KS (Ch.)  
 渡辺 寛人 B2-9\* (P55)

# 謝 辞

第51回日本結合組織学会学術大会開催に際しまして、多くの企業様からの寄付金、広告掲載、協賛品、セミナー共催、または、企業展示にてご支援を賜りました。

ここに謹んで御礼申し上げます。

## ご協賛をいただいた企業様

### セミナー共催

株式会社ニッピ

### 広告掲載

一丸ファルコス株式会社

株式会社大塚製薬工場

関東化学株式会社

株式会社キーエンス

コラーゲン技術研修会

島津サイエンス東日本株式会社

株式会社十條合成化学研究所

東京化成工業株式会社

ノーベルファーマ株式会社

林兼産業株式会社

フナコシ株式会社

ラボラボカンパニー株式会社

SCIEX

### ご寄付

アサヒグループ食品株式会社

岩井化学薬品株式会社

株式会社資生堂

株式会社ニッピ

株式会社ニッピコラーゲン化粧品

株式会社免疫生物研究所

### 企業展示

株式会社ニッピ

ネッパジーン株式会社

富士フィルム和光純薬株式会社

フナコシ株式会社

株式会社マトリクソーム

### 協賛品

パーフェクトアスタコラーゲンリフタープレミアリッチ

(50音順)

2019年4月現在

第51回日本結合組織学会学術大会

大会長 **服部 俊治**

**第 51 回日本結合組織学会学術大会  
プログラム・抄録集**

2019 年 5 月 1 日 発行

編 集 ニッピ バイオマトリックス研究所

発 行 〒 302-0017

茨城県取手市桑原 520-11

TEL : 0297-71-3040

FAX : 0297-71-3041

印 刷 株式会社コームラ

<http://www.kohmura.co.jp/>