

第50回

日本結合組織学会学術大会

プログラム・抄録集

平成30年
福岡

第50回

日本結合組織学会 学術大会

The 50th Annual Meeting
of the Japanese Society for
Matrix Biology and Medicine

プログラム・抄録集

会期 平成30年
6月29日(金) ▶ 30日(土)

会場: 福岡大学病院メディカルホール
〒814-0180 福岡県福岡市城南区七隈7-45-1
電話 092-801-1011(代表)
URL <http://jsmbm2018.umin.jp/>

大会長: 鍋島 一樹 (福岡大学医学部病理学講座)

事務局: 福岡大学医学部病理学講座

〒814-0180 福岡県福岡市城南区七隈7-45-1
TEL:(092) 801-1011(代表) FAX:(092) 863-8383
E-mail: pathology@fukuoka-u.ac.jp
URL <http://jsmbm2018.umin.jp/>

The 50th Annual Meeting of the Japanese Society for Matrix Biology and Medicine

第50回 日本結合組織学会学術大会

プログラム・抄録集

会 期：平成 **30**年**6**月**29**日(金)・**30**日(土)

会 場：福岡大学病院メディカルホール

〒814-0180 福岡県福岡市城南区七隈 7-45-1

電話 092-801-1011(代表)

URL <http://jsmbm2018.umin.jp/>

大会長：鍋島 一樹(福岡大学医学部病理学講座)

ご挨拶



第50回日本結合組織学会（JSMBM）学術大会

大会長 鍋島 一樹

（福岡大学医学部病理学講座・病理部/病理診断科）

この度、日本結合組織学会（JSMBM）の第50回学術大会を、2018年6月29日（金）・30日（土）に福岡大学病院メディカルホールにて開催させていただくこととなりました。丁度半世紀となりますこの伝統ある学会の節目の時に、学術大会を主催させていただくことは大変名誉なことと存じ、皆様に感謝しつつ、鋭意準備に取り組んで参りました。結合組織・細胞外マトリックスを広く捉えて、垣根なく、様々な分野の基礎研究者と臨床家が闊達に議論し合えるのが本学会の特徴です。研究範囲も、発生から再生、腫瘍まで広範です。その特徴を十分に活かせる運営を心掛けたいと考えています。

病理学が専門分野ですので、目で見えること、関係（interaction）、基礎と臨床の橋渡しとなることを特に意識して企画にあたって参りました。招待講演、特別講演として、2光子/多光子顕微鏡を駆使して生体内での cell-cell あるいは cell-extracellular matrix interaction を目に見える形で呈示して頂けるエキスパートのお2人、Radboudumc（Radboud University Nijmegen Medical Centre）/MD Anderson Cancer Center の Peter Friedl 先生と生理学研究所（岡崎）の鍋倉淳一先生をお招きしています。Friedl 先生にはがん細胞の浸潤に関して、鍋倉先生には脳組織における神経細胞とグリア細胞の関係についてお話しいただきます。マイスターレクチャーでは、cell-cell interaction に着目したヒアルロン酸および emmprin 研究を長年リードされて来られた Medical University of South Carolina の Bryan P. Toole 先生に、研究の話と共に若い方々へのメッセージをいただく予定です。シンポジウムも3つ、ワークショップを1つ企画いたしました。シンポジウムは“基礎と臨床の融合”“がんにおける微小環境と相互作用”、“KSMB and JSMBM Joint Symposium”です。第1番目のものは、1つの疾患を基礎と臨床の両面からペアで議論いただくもので、内容も公募として、会員の皆様にご参加いただきました。Young Investigator Award（YIA）にも多くの学生諸氏および若い先生方に応募いただきました。熱のこもった発表、討論で盛り上げていただければと念じております。

この学術大会が基礎と臨床のよき関係の場となりますように、また若い方々が伸び伸びと議論、発表できる場を提供できるように皆で努めてまいりたいと思います。学会の内外より多数のご参加をお待ちいたしております。

平成30年6月

Welcome message

It is my pleasure to announce that the Japanese Society for Matrix Biology and Medicine (JSMBM) will hold its 50th Annual Meeting at the Medical Hall of Fukuoka University Hospital, Fukuoka, from Friday to Saturday, 29-30 June 2018. It is our honor to arrange this memorable meeting that will be held half a century after the founding of the JSMBM, then the Japanese Society for Connective Tissue Research. This milestone meeting has received our best efforts in preparation. The JSMBM has unique characteristics, in that many basic researchers and clinicians from a wide range of fields/disciplines get together and freely discuss matrix structures and biology. The fields are quite broad, and range from embryology to regenerative medicine and oncology. Our aim is for this meeting to benefit from and promote these positive characteristics.

Because we are pathologists, the programs have special reference to seeing with our eyes, as well as interactions and cooperation/bridging between basic and clinical researchers. We have invited two experts in the field of two/multi-photon excitation microscopy, who will show us cell-cell or cell-extracellular matrix interactions *in vivo*: Prof. Peter Friedl, Radboud University Nijmegen Medical Centre/MD Anderson Cancer Center; and Prof. Junichi Nabekura, National Institute for Physiological Sciences. Prof. Friedl will focus on invading cancer cells and Prof. Nabekura on interactions between neurons and glial cells in the brain. We also invited Prof. Bryan P. Toole, who has led research on hyaluronic acid and emmprin based on cell-cell interactions for a long time, as a Meister lecturer-he will talk about his research and deliver a message to young researchers. We will also have three symposiums : “Integration of Basic and Clinical Researches,” “Cancer Microenvironments and Cellular Interactions” and “KSMB and JSMBM Joint Symposium.” A great number of students and young doctors and researchers have applied for a Young Investigator Award (YIA). We expect they will have fruitful discussions at the meeting.

We aim to make this meeting a good occasion for basic and clinical researchers to easily communicate and for young people to discuss freely. We look forward to welcoming many participants among members and non-members of the JSMBM.

With best wishes,

Kazuki Nabeshima
President, the 50th Annual Meeting of the Japanese
Society for Matrix Biology and Medicine
Department of Pathology
Fukuoka University School of Medicine

大会組織委員

学術大会長 鍋島 一樹 (福岡大学医学部病理学講座)

組織委員 (福岡大学)

井上 亨 (福岡大学病院長・脳神経外科学)

白澤 専二 (福岡大学先端分子医学研究所長・細胞生物学)

渡辺憲太郎 (総合医学研究センター)

岩崎 昭憲 (呼吸器・乳腺・小児外科学)

高松 泰 (腫瘍・血液・感染症内科学)

藤田 昌樹 (呼吸器内科学)

今福 信一 (皮膚科学)

山本 卓明 (整形外科学)

後援：福岡大学先端分子医学研究所

プログラム委員 (福岡大学)

渡辺憲太郎 (総合医学研究センター)

藤田 昌樹 (呼吸器内科学)

今福 信一 (皮膚科学)

西尾 淳 (整形外科学)

濱崎 慎 (病理学)

第50回学術大会事務局 濱崎 慎 (事務局長・学術)

横山 和子 (庶務・会計)

福岡大学医学部病理学講座

〒814-0180 福岡県福岡市城南区七隈7-45-1

電話：092-801-1011 (代表)

FAX：092-863-8383

E-mail：pathology@fukuoka-u.ac.jp

URL <http://jsmbm2018.umin.jp/>

各種委員会・関連行事

1. 学術大会

平成30年6月29日(金)、30日(土)

福岡大学病院メディカルホール (〒814-0180 福岡県福岡市城南区七隈7-45-1)

2. 情報交換会

平成30年6月29日(金) 19:00～

ホテルニューオータニ博多 3F 芙蓉の間

(福岡市中央区渡辺通1-1-2、地下鉄「渡辺通」駅より徒歩1分 Tel: 092-714-1111)

3. 理事会

平成30年6月28日(木) 16:00～18:00

ホテルニューオータニ博多 3F ジャスミン

4. 評議委員会

平成30年6月30日(土) 12:00～12:50

福岡大学病院 腫瘍センターミーティング室

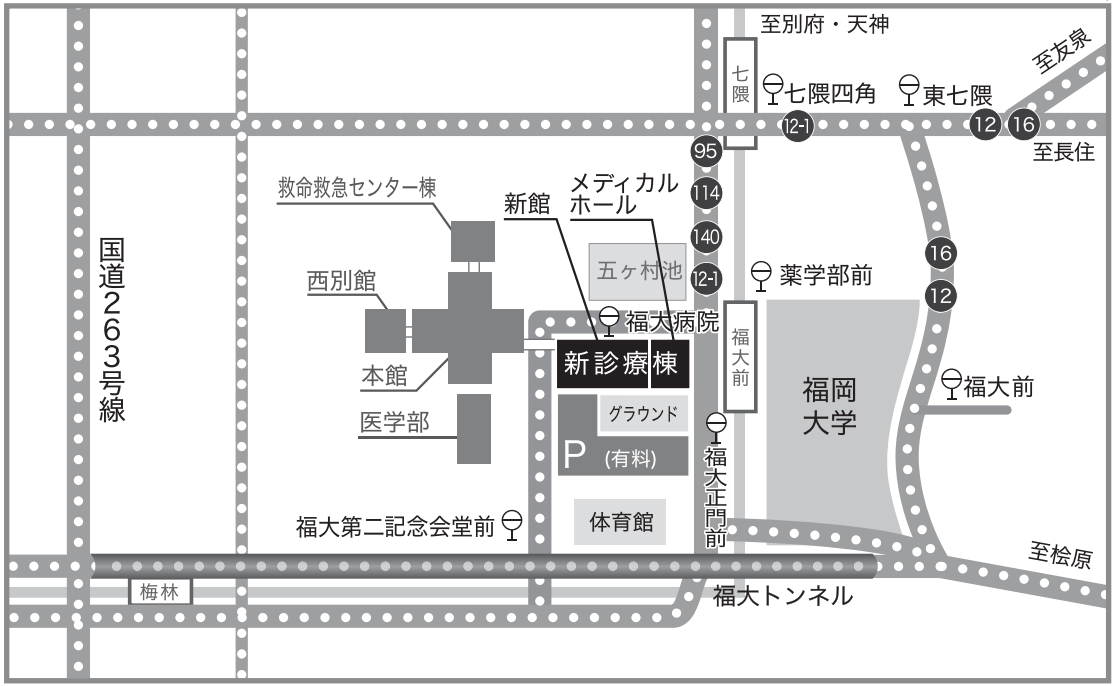
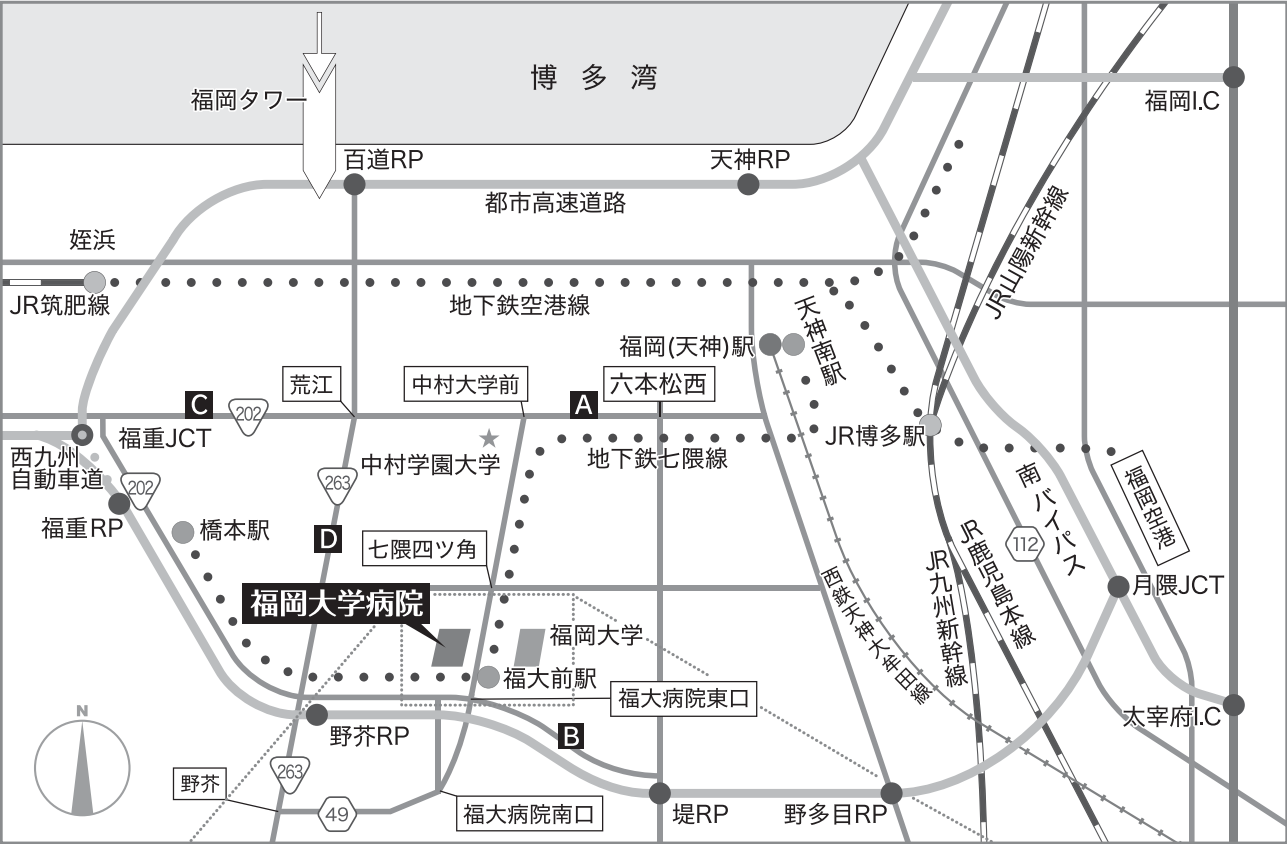
5. 総会

平成30年6月30日(土) 15:00～16:00

福岡大学病院メディカルホール

交通・会場案内

会場：福岡大学病院メディカルホール

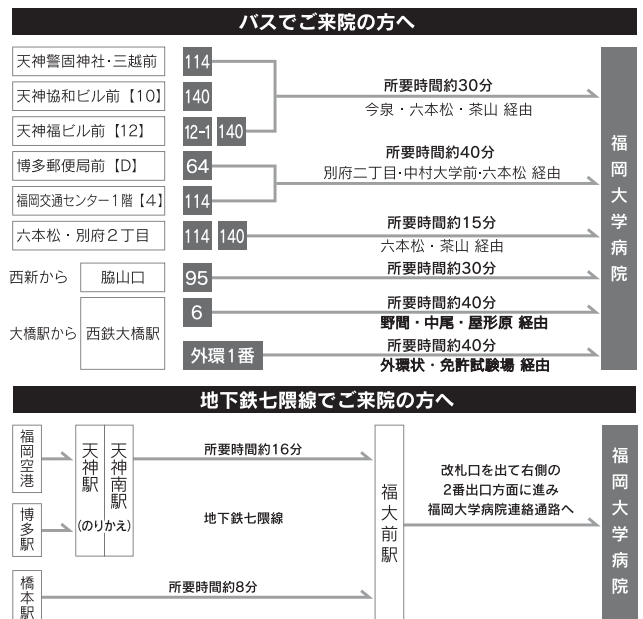


バス停
 バス路線
 ● は行先番号

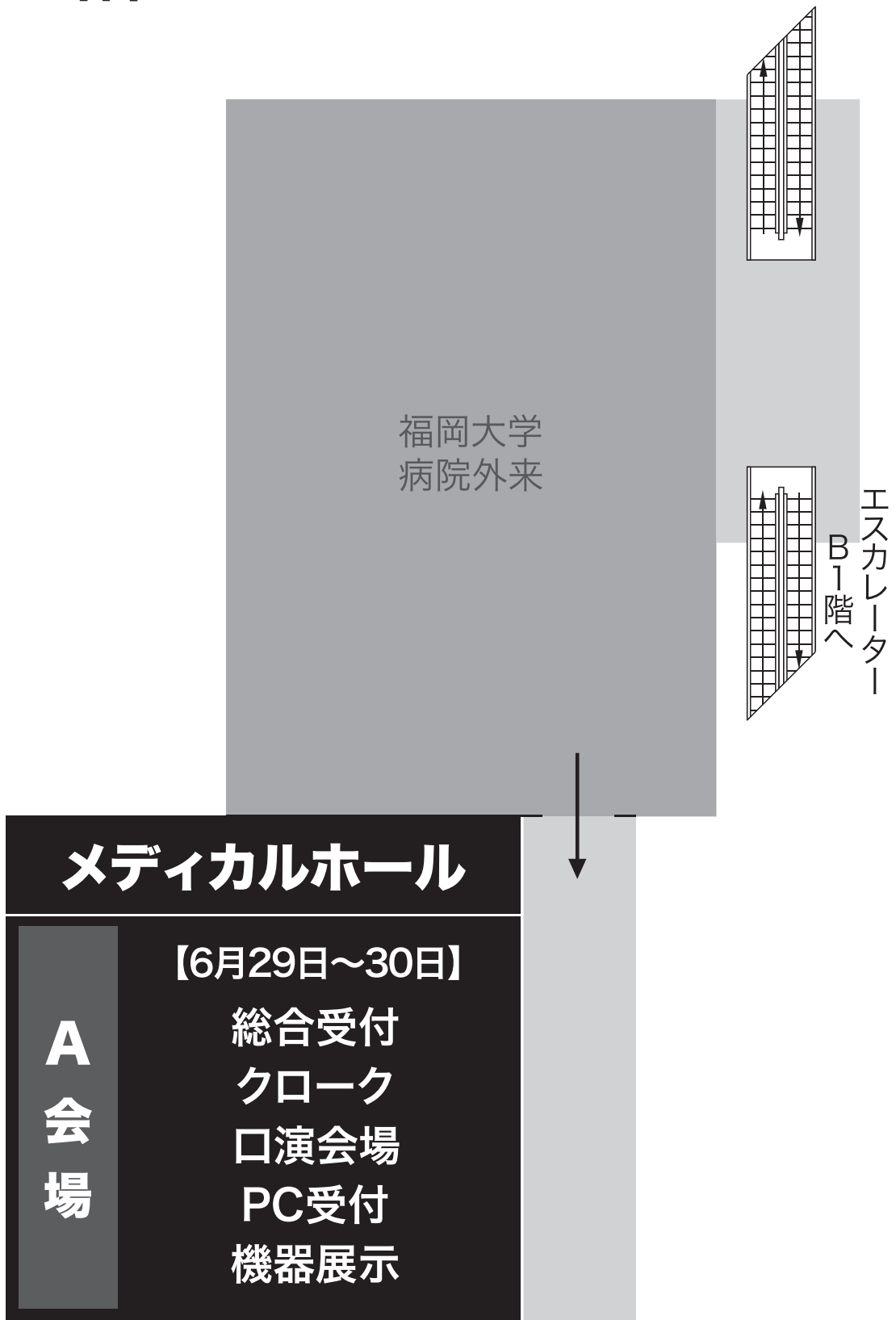
 地下鉄七隈線



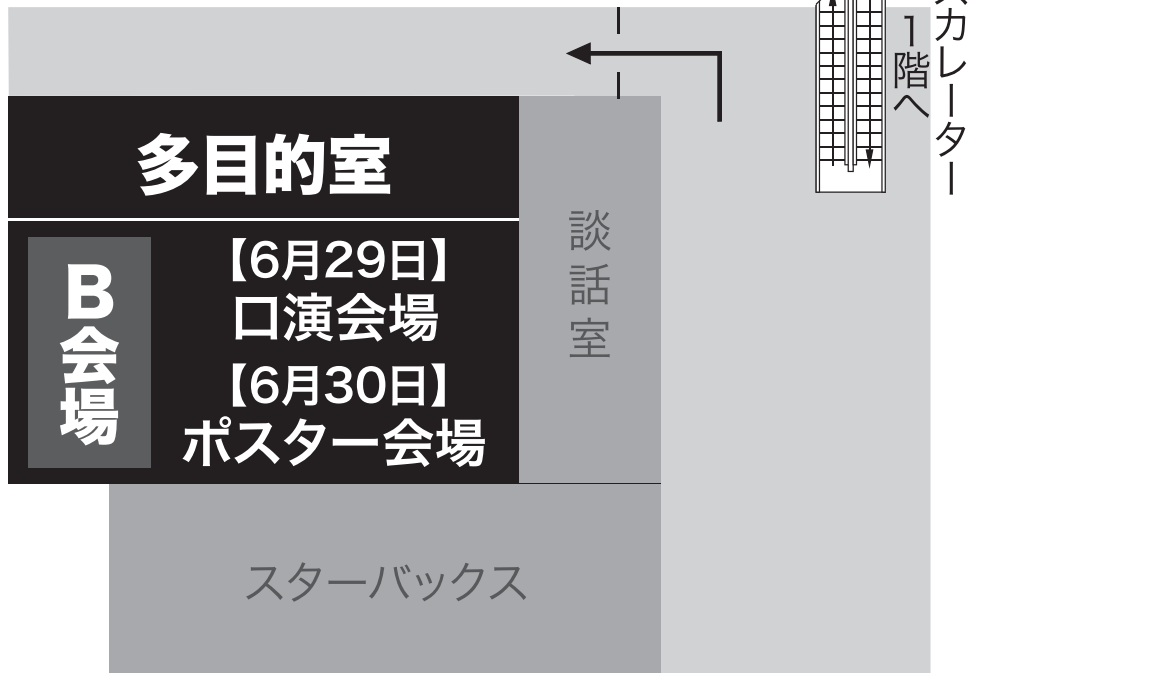
● 自家用車・バス・地下鉄七隈線



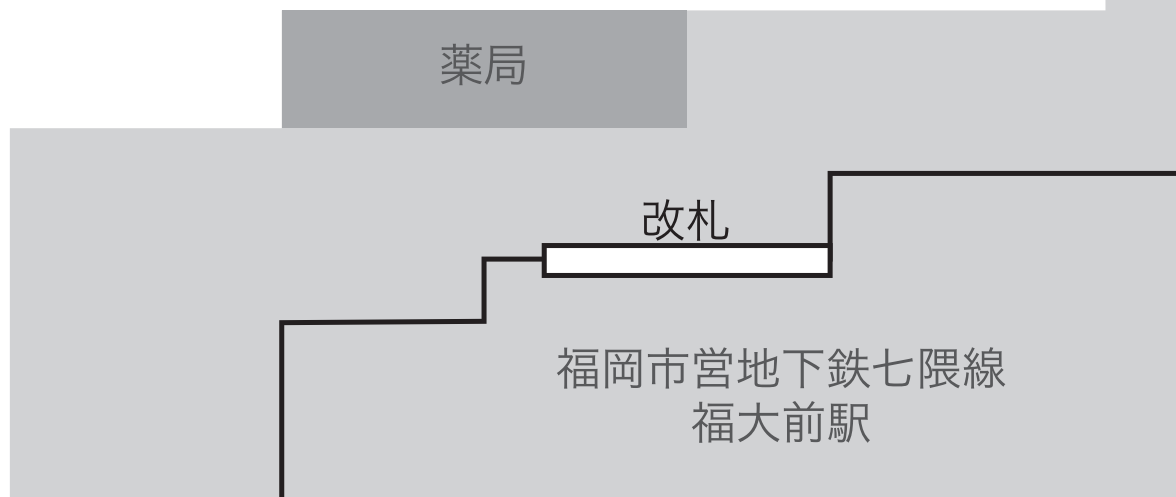
1階



B1階



B2階



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（メディカルホール内ロビーの総合受付）

6月29日（金）8：00～18：00

6月30日（土）8：00～14：30

※口演会場B（ポスター会場）に受付はございません。

2) 参加費

参加証は氏名・所属をご記入の上、学会場および情報交換会でご着用ください。

- 一般会員：11,000円
- 学生会員：7,000円（身分を証明するものをご持参ください）
- 非会員：20,000円
- 学生非会員：10,000円（身分を証明するものをご持参ください）

※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。

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

A会場1Fロビーの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： 6月29日（金）8：00～18：30

6月30日（土）8：00～16：30

3. Young Investigator Award (YIA)

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。

（口演会場が2会場のため審査はポスターを基本にします。）

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（平成30年6月30日（土）15：00～16：00）で行います。

4. 情報交換会のご案内

6月29日（金）19：00から、ホテルニューオータニ博多 3F「芙蓉の間」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（福岡大学病院メディカルホール）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 1F受付前に設置しております。

6. 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。

座長・発表者の方へ

お願い

- ◎ 本大会の口演スライド、ポスター発表は原則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。
- 座長席上には計時装置を設置しております。発表終了1分前に黄色、終了時に赤色の警告ランプが点灯します。進行は時間厳守でお願いいたします。

2. 指定演題発表者の皆様へ

- 発表セッション開始の30分前までに、PC受付（A会場 1Fロビー）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。
- PC本体持ち込みの場合にも、データの確認をいたしますので、必ずPC受付にお立ち寄りください。
- 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発表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7分・質疑3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。
- 演題上に時計装置を設置しております。発表終了1分前に黄色、終了時に赤色のランプが点灯します。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 1Fロビー）にUSBメモリをお持ちください。
- 受付時間：6月29日（金）8：00～18：00 / 6月30日（土）8：00～11：30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PC（パソコン）プレゼンテーションのみで、一面映写です。
- USBメモリによるデータをご持参ください。DVD、FD、MOは受付できませんのでご注意ください。
- 会場、及びPC受付にはWindows 7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Windows版 PowerPoint 2003/2007/2010/2013/2016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。
- Macintoshでの発表を希望される場合は、ご自身のPCをお持ち込みください。
- 受付されたデータはサーバへ登録させていただき、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 福大太郎.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XGA（1024×768）に統一してありますので、ご使用のPCの解像度をXGAに合わせてからレイアウトの確認をしてください。

※ご自分のPCをご使用になる皆様へ

- PC本体持込の場合にも、データの確認をいたしますので、必ずPC受付にお立ち寄りください。
- PCセンターの試写用モニターにてケーブルの接続を確認して、ノートPCから外部モニターに正しく映像が出力されるか確認してください。
- PCセンターではD-sub15ピン（ミニ）のケーブルをご用意いたします。
- 一部のノートPCでは本体付属（別売り）のコネクターが必要な場合がありますので、必ずお持ちください。
- スムーズな進行のため、発表者ツールのご使用はお控えください。

※ 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 wmv 形式のみ受け付けます。その他の形式は再生できません。
- ご自身のPCで念のために Windows Media Player で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ォルダと一緒に保存してください。
- 動画を含む発表データを USB メモリにて持ち込む場合には、バックアップ用としてご自身のPCもご持参ください。

6. 発表時のPC操作

演台上に液晶モニター、キーボード、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

ポスターの作成は原則英語でお願いします。

YIA に応募される方は、口頭発表があるかたも必ずポスター展示をお願いします。

1) ポスター展示・撤去について

掲示日程：6月30日(土) 8:30～10:00

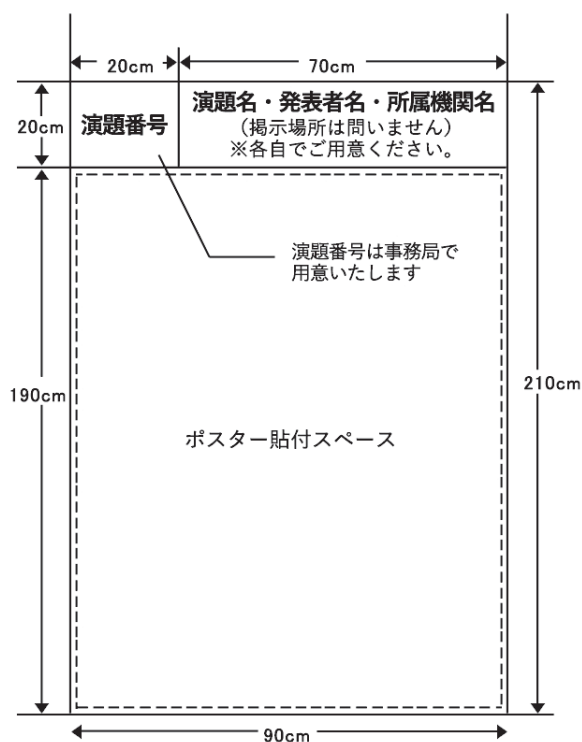
撤去日程：6月30日(土) 16:00～16:30

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、6月30日(土)の13:00～14:00に行います。

3) 展示方法：

- ポスター本文の貼付面は縦190cm×横90cmです。(図参照)
- パネル上部(縦20cm×横70cm)に演題名、発表者名、所属機関名を貼付してください。
- 左上の演題番号(縦20cm×横20cm)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。



日 程 表

第1日目 6月29日(金)

A会場 (口演会場)		B会場 (口演会場)	
福岡大学病院 メディカルホール		福岡大学病院 多目的室	
8:40 - 8:50 開会挨拶			
9:00 A1 8:50 - 9:30	一般演題【組織リモデリング】 A1-1 ~ A1-4 ＜座長＞ 村垣 泰光・渡辺 研	9:00 - 9:40 B1	一般演題【基底膜・ラミニン】 B1-1 ~ B1-4 ＜座長＞ 吉川 大和・松本 健一
10:00 A2 9:40 - 10:40	一般演題 【コラーゲン/炎症・線維化】 A2-1 ~ A2-6 ＜座長＞ 住吉 秀明・古松 毅之	9:50 - 10:40 B2	一般演題【プロテオグリカン・ヒアルロン酸I (分子細胞)】 B2-1 ~ B2-5 ＜座長＞ 中村 敏也・吉田 浩之
11:00 WS 10:50 - 11:50	ワークショップ 【マトリックスと細胞機能】 WS-1 ~ WS-6 ＜座長＞ 松本 嘉寛・柳沢 裕美	10:50 - 11:50 B3	一般演題【創傷治癒・再生】 B3-1 ~ B3-6 ＜座長＞ 雑賀 司珠也・高原 照美
12:00 LS1 12:00 - 12:50	ランチョンセミナー LS1-1 ~ LS1-2 ＜座長＞ 鍋島 一樹 ＜演者＞ 渡辺 秀人・亀井 敏昭 ＜共催＞ 独立行政法人 環境再生保全機構	12:00 - 12:50 LS2	ランチョンセミナー LS2 ＜座長＞ 藤田 昌樹 ＜演者＞ 玉田 耕治 ＜共催＞ MSD株式会社
13:00 A3 13:00 - 13:50	一般演題【プロテオグリカン・ヒアルロン酸II】 A3-1 ~ A3-5 ＜座長＞ 大橋 俊孝・西田 佳弘	13:00 - 13:40 B4	一般演題【コラーゲン】 B4-1 ~ B4-4 ＜座長＞ 今村 保忠・小出 隆規
14:00 IL 14:00 - 14:50	海外招待講演 IL ＜座長＞ 佐藤 隆 ＜演者＞ Peter Friedl		
15:00 SY1 15:00 - 16:00	シンポジウム 【がんにおける微小環境と相互作用】 SY1-1 ~ SY1-3 ＜座長＞ 廣畑 聡・望月 早月 ＜演者＞ 上野 秀樹・越川 直彦 Sopit Wongkham		
16:00			
17:00 SY2 16:10 - 17:55	シンポジウム 【基礎と臨床の融合】 SY2-1 ~ SY2-3 ＜座長＞ 稲垣 豊・吉田 利通 (1) 弾性線維と疾患 臨床 渡辺 憲太郎・ 基礎 中邨 智之 (2) 骨格筋代謝と糖尿病 臨床 野見山 崇・ 基礎 Sang Geon Kim (3) 心臓における線維化 臨床 芦田 昇・ 基礎 仲矢 道雄		
18:00			
19:00	19:00 情報交換会 (ホテルニューオータニ博多 3F「芙蓉の間」)		

第2日目 6月30日(土)

日 程 表

A会場 (口演会場)		B会場 (ポスター会場)	評議委員会会場
福岡大学病院 メディカルホール		福岡大学病院 多目的室	福岡大学病院 腫瘍センター ミーティング室
9:00	A4 8:30 - 9:30 一般演題【がん】 A4-1 ~ A4-6 <座長> 加藤 靖正・下田 将之	8:30 - 10:00 ポスター貼付	
10:00	KS 9:30 - 10:00 KSMB-JSMBMシンポジウム KS-1 ~ KS-2 <座長> 野水 基義 <演者> Jin Ho Chung・Seung-Hyo Lee		
11:00	SL 10:10 - 11:00 特別講演 SL <座長> 平澤 恵理 <演者> 鍋倉 淳一	10:00 - 13:00 ポスター展示 P-01 ~ P-32	
12:00	ML 11:00 - 11:50 マイスターレクチャー ML <座長> 渡辺 秀人 <演者> Bryan P. Toole		
12:00	LS3 12:00 - 12:50 ランチョンセミナー LS3-1 ~ LS3-2 <座長> 関口 清俊 <演者> 谿口 征雅・藤田 和将 <共催> 株式会社ニッピ		12:00 - 12:50 評議委員会
13:00		13:00 - 14:00 ポスター討論	
14:00	AS 14:00 - 14:50 アフタヌーンセミナー AS <座長> 磯貝 善蔵 <演者> 岡田 保典 <共催> 中外製薬株式会社		
15:00	OP 15:00 15:15 大高賞授賞式および受賞講演 OP <座長> 磯貝 善蔵 <演者> 佐藤(西内) 涼子 総会 (YIA表彰式を含む)		
16:00	16:00 - 16:10 閉会挨拶	16:00 - 16:30 ポスター撤去	

プログラム

演題番号の後ろの*印は Young Investigator Award への応募演題です。
シンポジウムは、演題の後ろに総発表時間が書かれています。
一般演題は、発表 7 分・質疑 3 分・計 10 分です。

第 1 日目 6 月 29 日(金)

[A 会場] 福岡大学病院 メディカルホール

開会挨拶 ◆ 大会長 鍋島 一樹 8:40 – 8:50

A1 一般演題 8:50 – 9:30

【組織リモデリング】(Tissue Remodeling)

座長：村垣 泰光 (和歌山県立医科大学 病理学)

渡辺 研 (国立長寿医療研究センター 運動器疾患研究部)

A1-1* LIPUSが半月板に与える効果

Effect of LIPUS on meniscus cells and tissues

釜付祐輔^{1,2}、青山絵理子²、古松毅之¹、前原亜美¹、山中信康³、西田崇⁴、久保田聡^{2,4}、尾崎敏文¹、滝川正春²

¹岡山大学 大学院医歯薬学総合研究科 整形外科、

²岡山大学 歯学部 先端領域研究センター、³伊藤超短波株式会社、

⁴岡山大学 大学院医歯薬学総合研究科 口腔生化学分野

A1-2 変性軟骨組織におけるTransthyretin性アミロイド沈着の病態意義の検討

Transthyretin and Amyloid deposition in articular cartilage:
a novel mechanism in the pathogenesis of osteoarthritis

赤崎幸穂、松本嘉寛、後藤徳雄、居石卓也、倉員市郎、遠矢正和、中島康晴
九州大学整形外科

A1-3 Thrombospondin-1を介した大動脈瘤血管壁の機械刺激応答

Thrombospondin-1 promotes abnormal mechanosensing underlying
ascending aneurysm formation

山城義人¹、Shin Seung Jae¹、Bui Quoc Thang²、Caroline Antunes Lino³、柳沢裕美¹

¹筑波大学 生存ダイナミクス研究センター、²筑波大学 心臓血管外科、

³サンパウロ大学 解剖学教室

A1-4 細胞による骨石灰化形成機構の解明

Mechanism of mineralization formation by rat mesenchymal stem cells

木原隆典、桑田裕太、内山大輝

北九州市立大学国際環境工学部

【コラーゲン/炎症・線維化】(Collagen/Fibrosis)

座長：住吉 秀明 (東海大学 医学部 再生医療科学、大学院マトリックス医学生物学センター)
古松 毅之 (岡山大学大学院 医歯薬学総合研究科 生体機能再生・再建学講座 整形外科)

A2-1* 電気刺激誘発性筋収縮運動の収縮様式の違いが骨格筋の線維化におよぼす影響
Effects of difference in muscle contractile exercise with electrical stimulation on immobilization-induced muscle fibrosis

本田祐一郎^{1,2}、田中なつみ^{1,2}、梶原康宏³、片岡英樹²、坂本淳哉³、中野治郎³、沖田実²

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分野

³長崎大学大学院医歯薬学総合研究科理学療法学分野

A2-2* 不動に伴う骨格筋の線維化に対するHIF-1 α 阻害薬の効果
Effect of HIF-1 α inhibitor on immobilization-induced muscle fibrosis

梶原康宏¹、片岡英樹^{2,3}、本田祐一郎^{2,4}、田中なつみ^{2,4}、坂本淳哉¹、中野治郎¹、沖田実²

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分野

³社会医療法人長崎記念病院リハビリテーション部

⁴長崎大学病院リハビリテーション部

A2-3* 不動化した骨格筋における線維化の発生メカニズム—マクロファージ集積機序の探索
Mechanisms of immobilization-induced muscle fibrosis : investigation of the macrophage accumulation pathway

田中なつみ^{1,2}、本田祐一郎^{1,2}、片岡英樹^{2,3}、坂本淳哉⁴、中野治郎⁴、沖田実²

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分野

³社会医療法人長崎記念病院リハビリテーション部

⁴長崎大学大学院医歯薬学総合研究科理学療法学分野

A2-4* マクロファージ浸潤が線維芽細胞におけるコラーゲン産生を促進させて黄色靭帯肥厚を引き起こす

Macrophage Infiltration Is a Causative Factor for Ligamentum Flavum Hypertrophy through the Activation of Collagen Production in Fibroblasts

齋藤武恭¹、幸博和¹、松本嘉寛¹、稲垣豊²、中島康晴¹、岡田誠司¹

¹九州大学整形外科、²東海大学再生医療科学

A2-5* Ly6C^{low} マクロファージが分泌するMMP-12は心筋梗塞後の心不全の進展を抑制し、生存率を上昇させる

Matrix metalloproteinase-12 secreted by Ly6C^{low} macrophages improves survival and heart failure after myocardial infarction

久保田暁彦¹、須藤明²、鈴木浩太郎²、小林欣夫¹、中島裕史²

¹千葉大学大学院医学研究院循環器内科学、

²千葉大学大学院医学研究院アレルギー臨床免疫学

A2-6* 腰部脊柱管狭窄症における黄色靭帯肥厚メカニズムの解明
ー筋線維芽細胞に着目してー

Elucidation of the mechanism of ligamentum flavum hypertrophy in lumbar spinal canal stenosis - Focusing on myofibroblast -

林二三男¹、東野恒作²、森本雅俊¹、合田有一郎³、酒井紀典¹、佐藤紀⁴、手束文威¹、高田洋一郎¹、西良浩一¹

¹徳島大学運動機能外科、²四国こどもとおとなの医療センター整形外科、

³国立病院機構高知病院整形外科、⁴徳島大学病院リハビリテーション部

WS ワークショップ：Workshop

10:50 - 11:50

【マトリックスと細胞機能】 (Matrix and Cell Function)

座長：松本 嘉寛 (九州大学 医学部 整形外科)

柳沢 裕美 (筑波大学 生存ダイナミクス研究センター)

WS-1 Fibulin-7は腎尿細管石灰化に關与するヘパリン結合性マトリセルラータンパク質である
Fibulin-7 is a heparin binding matricellular protein that promotes renal tubular calcification in mice

常住淳¹、杉浦秀和²、Thang Bui Quoc³、黒尾誠⁴、柳沢裕美³

¹テキサス大学サウスウエスタン医学センター腎臓内科、

²東京女子医科大学第四内科、³筑波大学TARAセンター、

⁴自治医科大学分子病態治療研究センター

WS-2 細胞外マトリックス蛋白質polydomとリンパ管新生因子アンジオポエチン-2
との相互作用メカニズムの解析

The molecular mechanisms underlying the interaction between extracellular matrix protein “polydom” and lymphangiogenic factor “angiopoietin-2”

佐藤 (西内) 涼子、下野知性、諸岡七美、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

WS-3* 新規再生促進因子Opioid growth factor receptor-like 1 に着目した
エクソソーム医療の基盤構築

Opioid growth factor receptor-like 1; an exosomal protein as a novel biomarker and the therapeutic means of fibrotic liver regeneration.

柳川享世¹、住吉秀明¹、中尾祥絵¹、笠原大瑚¹、近田裕美¹、紙谷聡英¹、横森昭弘²、稲垣豊¹

¹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、

²北里大学メディカルセンター 内科

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。

PLEKHM1-DEF8-RAB7 complex regulates lysosome positioning and bone homeostasis

藤原稔史¹、Shiqiao Ye²、松本嘉寛¹、中島康晴¹、Haibo Zhao²

¹九州大学整形外科、

²University of Arkansas for Medical Sciences

- WS-5** **I型コラーゲンの分泌およびプロセッシング過程の線維芽細胞におけるライブイメージング解析**
 Analysis for secretion and processing of type I collagen with live-imaging in fibroblast cells
 田中利明¹、常長誠²、柳川享世³、茂呂忠^{3,4}、内山太郎²、上田修²、田川陽一¹、稲垣豊³、生駒俊之⁵
¹東京工業大学生命理工学院、²資生堂グローバルイノベーションセンター、³東海大学医学部、⁴(株)ミノファーゲン製薬、⁵東京工業大学物質理工学院
- WS-6** **人工コラーゲン基材を用いたコラーゲン受容体のプロファイリング**
 Collagen receptor profiling for cell attachment by using artificial collagen
 市瀬慎一郎、酒泉翔、鈴木遼太、小出隆規
 早稲田大学先進理工学部化学・生命化学科

LS1 **ランチョンセミナー：Luncheon Seminar** 12:00 – 12:50

座長：鍋島 一樹（福岡大学 医学部病理学講座）

共催▶独立行政法人 環境再生保全機構

- LS1-1** **ヒアルロン酸の合成と分解：最近の話題**
 Synthesis and degradation of hyaluronan: update of hyaluronan research
 渡辺秀人
 愛知医科大学分子医科学研究所
- LS1-2** **中皮腫診断における体腔液細胞診の意義と今後の問題点**
 Effusion Cytology in Diagnosis of Mesothelioma: Clinical Significance and Perspectives
 亀井敏昭
 PCL福岡 病理・細胞診センター所長

A3 **一般演題** 13:00 – 13:50

【プロテオグリカン・ヒアルロン酸Ⅱ】（Proteoglycan/Hyaluronic Acid）

座長：大橋 俊孝（岡山大学大学院 医歯薬学総合研究科 分子医化学）
 西田 佳弘（名古屋大学 医学部附属病院 整形外科）

- A3-1** **コノフィリンは、TGFβ 媒介経路を介して線維芽細胞におけるヒアルロナン生合成を阻害する**
 Conophylline inhibits hyaluronan biosynthesis in fibroblasts via TGFβ-mediated pathway
 手塚剛彦^{1,5}、太田明伸²、S Karnan²、横尾和久³、幡野その子¹、梅澤一夫⁴、渡辺秀人¹
¹愛知医科大学分子医科学研究所、²愛知医科大学医学部生理学講座、³愛知医科大学医学部形成外科、⁴愛知医科大学医学部分子標的医薬寄附講座、⁵愛知医科大学病院薬剤部

A3-2* PTH2受容体シグナルは線維芽細胞のECM産生を亢進し創傷治癒を促進する
PTH2 Receptor Signal Enhances ECM Production from Fibroblasts and Promotes Wound Repair

佐藤絵美¹、Ling-juan Zhang²、Christopher A. Adase²、廣松賢治¹、今福信一³、
Richard L. Gallo²

¹福岡大学医学部微生物・免疫学講座、

²カリフォルニア大学サンディエゴ校皮膚科学講座、

³福岡大学医学部皮膚科学講座

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

Perlecan regulates pericyte dynamics in the maintenance and repair process of the blood-brain barrier in ischemic stroke

中村晋之^{1,2}、吾郷哲朗²、平澤恵理³、向山洋介⁴、山田吉彦¹

¹米国立歯科・頭蓋顔面研究所、²九州大学大学院医学研究院病態機能内科学、

³順天堂大学老人性疾患病態・治療研究センター、⁴米国立心肺血液研究所

A3-4 胎盤由来プロスタグランディンEはFibulin-1を介した動脈管リモデリングを促進する
Prostaglandin E promotes vascular remodeling of the ductus arteriosus via fibulin-1

横山詩子、伊藤智子、石川義弘

横浜市立大学医学部循環制御医学

A3-5 アグリカン欠損マウスの成長板は、軟骨マトリックスの硬化および軟骨細胞の
形態異常を呈する

Aggrecan deficiency results in a stiff cartilage matrix and impairs skeletal growth by affecting chondrocyte shape and columnar elongation in the growth plate.

大橋俊孝¹、Paolo Alberton²、野坂浩一¹、栗原伸之介¹、枝松緑¹、大野充昭¹、

Attila Aszodi²

¹岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 分子医化学、²ミュンヘン大学病院 外傷・再建外科

IL

海外招待講演：Invited Lecture

14:00 – 14:50

座長：佐藤 隆（東京薬科大学 薬学部 生化学）

IL

Plasticity of cancer cell invasion in vivo

Peter Friedl

Radboud University Nijmegen Medical Centre, Nijmegen, The Netherlands and
The University of Texas, MD Anderson Cancer Center, Houston, TX, USA

【がんにおける微小環境と相互作用】(Cancer Microenvironment and Cellular Interactions)

座長：廣畑 聡 (岡山大学 大学院 保健学研究科 検査技術科学分野)
望月 早月 (防衛医科大学校 外科学講座)

SY1-1 大腸癌におけるdesmoplastic reaction (DR) の組織学的分類 ◀ 20分

Histological categorization of desmoplastic reaction (DR) in colorectal cancer (CRC)

上野秀樹¹、神藤英二¹、梶原由規¹、望月早月¹、末山貴浩¹、阿尾理一¹、島崎英幸²、
橋口陽二郎³、石黒めぐみ⁴、金光幸秀⁵、関根茂樹⁶、杉原健一⁷

¹防衛医科大学校 外科学講座、²防衛医科大学校 臨床検査医学、³帝京大学 外科学講座、
⁴東京医科歯科大学大学院 応用腫瘍学講座、⁵国立がん研究センター中央病院 大腸外科、
⁶国立がん研究センター研究所 分子病理分野、⁷東京医科歯科大学

SY1-2 MT1-MMPによるEphA2の限定分解(プロセッシング)を介した
がん悪性化進展制御の分子機序の解明 ◀ 20分

Proteolytic processing of EphA2 by MT1-MMP converts it from a tumor suppressor to an oncoprotein

越川直彦

神奈川県立がんセンター臨床研究所 がん生物学部

SY1-3 CD147 promotes progression of cholangiocarcinoma cells via regulating
expressions of monocarboxylate transporters 1/4 in through
AKT/FOXO3/NF-kB pathway ◀ 20分

P. Dana^{1,2,3}, K. Vaeteewoottacharn^{1,2}, R. Kariya³, S. Okada³, S. Wongkham^{1,2}

¹Department of Biochemistry,

²Cholangiocarcinoma Research Institute, Faculty of Medicine,
Khon Kaen University, Khon Kaen, Thailand,

³Division of Hematopoiesis, Center for AIDS Research, Kumamoto University,
Kumamoto, Japan

【基礎と臨床の融合】(Integration of Basic and Clinical Studies)

座長：稲垣 豊 (東海大学 医学部 再生医療科学)
吉田 利通 (三重大学 大学院 医学系研究科 修復再生病理学)

SY2-1 【弾性線維と疾患】(Elastic fiber and disease)

SY2-1 上葉優位型肺線維症(Pleuroparenchymal fibro-elastosis, PPFE)：

臨床 その特異な組織像と生理学的特徴 ◀ 20分

Pleuroparenchymal fibroelastosis: Its unique histology and physiology

渡辺憲太郎¹、木下義晃^{2,3}、石井寛²、鍋島一樹³

¹福岡大学医学部総合医学研究センター、²福岡大学病院呼吸器内科、

³福岡大学医学部病理学講座

SY2-1 弾性線維形成の分子機構 ◀ 20分

基礎 Molecular mechanism of elastic fiber assembly

中邨智之

関西医科大学薬理学講座

SY2-2 【骨格筋代謝と糖尿病】 (Skeletal muscle metabolism and DM)

SY2-2 運動は血糖コントロールのためのみならず ◀ 20分

臨床 Exercise is not only for glycemic control but also for ...

野見山崇、柳瀬敏彦

福岡大学医学部内分泌・糖尿病内科

SY2-2 Phenotypic change of skeletal muscle fiber after modulation of G α 13 ◀ 20分

基礎 Sang Geon Kim and Ja Hyun Koo

College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul, Korea

SY2-3 【心臓における線維化】 (Cardiac fibrosis)

SY2-3 心臓における筋線維芽細胞の本質

臨床 —どこから来て、どこへ行くのか— ◀ 20分

The true colors of myofibroblast in heart —where it comes, and where it goes—

芦田昇、木村剛

京都大学大学院医学研究科 循環器内科

SY2-3 心筋梗塞時の筋線維芽細胞による死細胞貪食 ◀ 20分

基礎 Phagocytosis of dead cells by myofibroblasts during myocardial infarction

仲矢道雄^{1,2}、黒瀬等¹

¹九州大学薬学研究院薬効安全性学分野、²AMED-PRIME

【基底膜・ラミニン】 (Basement Membrane/Laminin)

座長：吉川 大和 (東京薬科大学 薬学部 病態生化学教室)

松本 健一 (島根大学 総合科学研究支援センター 生体情報・RI実験部門)

B1-1* **XVII型コラーゲンの三量体形成能はヘミデスモソームを介したラミニン沈着において重要な意味をもつ**

Trimeric nature of type XVII collagen has a significant implication for hemidesmosome and matrix assembly

平木辰弥、平子善章

名古屋大学大学院 理学研究科 生命理学専攻

B1-2* **$\alpha 6 \beta 1$ インテグリンによるラミニン-511の認識機構**

Mechanistic basis for the recognition of laminin-511 by $\alpha 6 \beta 1$ integrin

瀧沢士¹、有森貴夫²、谿口征雅¹、北郷悠²、山下英里華¹、高木淳一²、関口清俊¹

¹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、

²大阪大学蛋白質研究所分子創製学研究室

B1-3 **基底膜タンパク質の細胞外局在及びフォールディングマーカーとして有用性**

Basement membrane proteins as markers for the extracellular localization and folding status of secreted proteins

伊原伸治、松尾佳苗

有明工業高等専門学校物質工学科

B1-4 ***Col4a3* ノックアウトマウスにおける網膜の表現型解析**

Ultrastructural analysis of retina in *Col4a3* knockout mouse

米澤朋子¹、松前洋²、神崎勇希²、Lou Chuyuan¹、前場崇宏¹、森實祐基²、美名口順³、Jeffrey Miner⁴、大橋俊孝¹

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眼科、

³酪農学園大学、⁴ワシントン大学

【プロテオグリカン・ヒアルロン酸 I (分子・細胞)】(Proteoglycan/Hyaluronic Acid (Molecule/Cell))

座長：中村 敏也 (弘前大学大学院 保健学研究科 生体検査科学領域)
吉田 浩之 (花王株式会社 生物科学研究所)

B2-1* McEDS-CHST14患者におけるデコリン糖鎖変異の I 型コラーゲン細線維形成に及ぼす影響

Effect of decorin on type I collagen fibril formation in McEDS-CHST14 patients

橋本綾菜¹、野村義宏¹、広瀬拓哉²、竹花一成²、美名口順²、水本秀二³、山田修平³、古庄知己⁴、笠原優子⁵、岡田尚巳⁵

¹東京農工大学 農学部 硬蛋白質利用研究施設、²酪農学園大学獣医組織解剖学ユニット、³名城大学薬学部病態生化学、⁴信州大学医学部付属病院遺伝子医療研究センター、⁵日本医科大学 生化学・分子生物学

B2-2* 自閉症モデルマウス大脳皮質体性感覚野におけるコンドロイチン硫酸構造の欠損とオリゴデンドロサイト分化パターンの関連

Impaired chondroitin sulfate structure on immature oligodendrocyte in somatosensory cortex of a autism mouse model

加藤可那、ケレベール オレリアン、鈴木佑治、平澤恵理
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

B2-3* 中枢神経系のヒアルロン酸代謝における Hyaluronan Binding Protein Involved in Hyaluronan Depolymerization (HYBID, KIAA1199) の役割の検討

The role of Hyaluronan Binding Protein Involved in Hyaluronan Depolymerization (HYBID, KIAA1199) in mouse central nerve system.

吉野雄太¹、嶋澤雅光¹、吉田浩之²、井上紳太郎³、下田将之⁴、岡田保典^{4,5}、原英彰¹

¹岐阜薬科大学薬効解析学、²花王株式会社生物科学研究所、³岐阜薬科大学化粧品健康学、⁴慶應義塾大学医学部病理学、⁵順天堂大学医学研究科運動器・腫瘍性疾患病態学

B2-4* ヒト皮膚線維芽細胞のヒアルロン酸分解過程における候補因子HYBIDおよびTMEM2の役割

Roles of HYBID and TMEM2 in hyaluronan depolymerization in human skin fibroblasts.

後藤優和¹、吉野雄太²、原英彰²、井上紳太郎¹

¹岐阜薬科大学化粧品健康学講座、²岐阜薬科大学薬効解析学

B2-5 変形性関節症関連microRNAの検索並びに解析

Isolation and characterization of Osteoarthritis concerning microRNA

大月孝志¹、オメル・ファルク・ハティポール¹、品岡玲²、メフメット・ゼイネル・チレッキ^{1,5}、西村拓人¹、浅野恵一³、稲垣純子⁴、大橋俊孝³、西田圭一郎²、岡田保典⁵、廣畑聡¹

¹岡山大学大学院 保健学研究科 検査技術科学、²医歯薬学総合研究科 人体構成学、

³分子医化学、⁴細胞化、⁵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

【創傷治癒・再生】(Wound Healing/Regeneration)

座長：雑賀 司珠也 (和歌山県立医科大学 眼科学講座)
 高原 照美 (富山大学 医学部 第三内科)

- B3-1** プラスミノゲンによる角膜実質細胞のコラーゲン分解能に黄色ブドウ球菌培養上清とスタフィロキナーゼが与える影響
 Plasminogen dependent Collagenolytic Properties of *Staphylococcus Aureus* in Human Corneal Fibroblasts Cultured in Collagen Gel
 杉岡孝二¹、佐藤朋子²、高橋彩¹、三島弘¹、西田輝夫³、下村嘉一²
¹近畿大学医学部奈良病院眼科、²近畿大学医学部眼科学教室、³山口大学医学部眼科学教室
- B3-2** プラスミノゲンが角膜実質細胞の貪食能に与える影響
 Plasminogen promotes phagocytic activity of cultured human corneal fibroblasts
 佐藤朋子¹、杉岡孝二²、青松圭一¹、高橋彩¹、三島弘²、西田輝夫³、下村嘉一¹
¹近畿大学医学部眼科学教室、²近畿大学医学部奈良病院眼科、³山口大学医学部眼科学教室
- B3-3** Pro-Hyp投与によるメカニカルストレス負荷下での創傷治癒の有効性
 Beneficial effects of Pro-Hyp, a collagen peptide on wound healing under mechanical stresses in mice
 木村公彦¹、自見至郎²、井上直樹³、清水麻衣子³、佐藤健司⁴、大慈弥裕之⁵
¹福岡大学薬学部医薬品情報学、²福岡大学医学部病態構造系総研、³新田ゼラチン株式会社、⁴京都大学大学院農学研究科応用生物科学専攻海洋生物機能学分野、⁵福岡大学医学部形成外科学
- B3-4** 活性化星細胞・成熟肝細胞間のJag1/Notch2シグナルによる肝前駆細胞の動員と線維肝再生への寄与
 Contribution of Jag1/Notch2 Signal to Fibrotic Liver Regeneration through Possible Dedifferentiation of Mature Hepatocytes
 中野泰博^{1,2}、中尾祥絵^{1,2}、住吉秀明^{1,2}、三上健一郎²、丹野友里²、末岡美那子²、笠原大瑚^{1,5}、茂呂忠^{1,6}、紙谷英^{1,3}、穂積勝人^{1,4}、稲垣豊^{1,2}
¹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、²東海大学・医学部・再生医療科学、³同 分子生命科学、⁴同 生体防御学、⁵サンケイエンジニアリング、⁶ミノファーゲン製薬研究所
- B3-5*** 穿刺性マウス大脳皮質損傷時におけるビトロネクチンのアストロサイト活性制御
 Vitronectin regulates the astrocyte activation in the stab-wounded mouse cerebral cortex
 橋本恵^{1,2}、田邊昌子¹、池田夏実³、中島麻里^{1,3}、池島(片岡) 宏子^{4,5}、宮本泰則^{1,3}
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日本学術振興会特別研究員PD、³お茶の水女子大学大学院人間文化創成科学研究科、⁴早稲田大学理工学術院、⁵慶應義塾大学医学部薬理学教室

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
Optimization of 3D *in vitro* neurogenesis model by using decellularized brain tissue

大野竜暉、吉村祐輔、辻裕介、オレリアン・ケレベール、平澤(有川)恵理
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

LS2 ランチョンセミナー：Luncheon Seminar 12:00 – 12:50

座長：藤田 昌樹（福岡大学 医学部 呼吸器内科）

共催 ▶ MSD株式会社

LS2 新しいがん免疫療法の潮流：個別化と複合化の時代へ
Trends of novel cancer immunotherapy toward personalized and combination therapies

玉田耕治
山口大学大学院医学系研究科 免疫学

B4 一般演題 13:00 – 13:40

【コラーゲン】(Collagen)

座長：今村 保忠（工学院大学 先進工学部 生命化学科）
小出 隆規（早稲田大学 先進理工学部 化学・生命化学科 生物分子化学研究室）

B4-1 ミズクラゲコラーゲンによる再上皮化促進作用の機序解明
The elucidation of the mechanisms in re-epithelialization enhancement by jellyfish collagen

住吉秀明^{1,2}、遠藤整³、柳川享世^{1,2}、中野泰博^{1,2}、岡村陽介⁴、川口章¹、稲垣豊^{1,2}
¹東海大学・大学院マトリックス医学生物学センター、²同・医学部再生医療科学、
³同・医学部衛生学公衆衛生学、⁴同・工学部応用化学

B4-2* ブタ各種臓器由来線維芽細胞の単離および *in vitro* 産生コラーゲンの性状解析
Isolation of porcine organ-derived fibroblasts and characterization of fibroblast-produced collagens

八木志乃海¹、田中啓友¹、多賀祐喜¹、遠山周吾²、小林英司²、服部俊治¹
¹株式会社ニッピ バイオマトリックス研究所、
²慶応義塾大学 医学部 臓器再生医学寄附講座

B4-3 I型コラーゲンコート上で培養したマウス3T3-L1細胞が示す一次繊毛の伸長および細胞遊走の上昇は細胞核内のYAP発現量の上昇を介する
Type I collagen-induced YAP nuclear expression promotes primary cilia growth and contributes to cell migration in confluent mouse embryo fibroblast 3T3-L1 cells

徐茜¹、劉曉玲¹、劉偉偉¹、林利彦¹、大和雅之²、藤崎ひとみ³、服部俊治³、田代真一⁴、小野寺敏⁵、池島喬¹
¹中国瀋陽薬科大学中日医薬研究所、²東京女子医大先端生命研、
³ニッピバイオマトリクス研、⁴京都府立医大、⁵昭和薬大

B4-4 卵殻膜による腸内細菌のバランス化とIII型コラーゲン

Eggshell membrane oral intake improves diversity of gut microbiota and type III collagen expression

跡見順子¹、清水美穂¹、柴山夏実¹、藤田恵理¹、畠山望¹、長谷部由紀夫²

¹東京農工大学工学府材料健康科学、²株式会社アルマード

※ □演終了後にB会場は閉鎖します。

クロークの荷物を受け取り、A会場に移動してください。

情報交換会

19:00

A4 一般演題

8:30 ~ 9:30

【がん】(Cancer)

座長：加藤 靖正 (奥羽大学 歯学部 口腔機能分子生物学講座 口腔生化学分野)
下田 将之 (慶應義塾大学 医学部病理学教室)

A4-1* インテグリン $\alpha v \beta 3$ は強力なEMT促進因子である
Integrin $\alpha v \beta 3$ is a potent EMT inducer

大山翠、苅谷慶喜、橋本康弘
福島県立医科大学医学部・生化学講座

A4-2* 大腸癌間質の形態学的特徴別にみたADAM-9, -10, -17発現に関する検討
Expression of ADAM-9, -10, and-17 by histological categorization
of desmoplastic reaction (DR) in colorectal cancer (CRC)

阿尾理一¹、望月早月¹、梶原由規¹、米村圭介¹、神藤英二¹、渡邊智記¹、山寺勝人¹、
白石壮宏¹、関澤明德¹、下田将之²、山本順司¹、長谷和生¹、上野秀樹¹
¹防衛医科大学校外科学講座、
²慶應義塾大学医学部病理学教室

A4-3 Syndecan-2 extracellular domain mediates activation of MMP-7
in colon cancer cells

B. Jang¹, S. Choi¹, J. Yun², W. Lee², J. Park³, D. Shin³, E. Oh¹
¹Department of Life Science, Ewha Womans University;
²Department of Biochemistry, Yonsei University;
³College of Pharmacy, Ewha Womans University

A4-4* Tenascin-Cは乳腺由来線維芽細胞を高収縮性の筋線維芽細胞へ形質転換させる
Tenascin-C induces phenotypic change of fibroblasts to myofibroblasts
with high contractility

加藤大祐、白木裕太、今中(吉田)恭子、吉田利通
三重大学医学部修復再生病理学講座

A4-5 ELISAを用いた尿中3-Hydroxyproline含有ペプチド測定法の開発と大腸癌
マーカーとしての有用性の検討

ELISA method measuring urinary 3-Hydroxyproline containing peptide level
and its application as a new screening test for colon cancer

鈴木達也¹、佐藤来未¹、加藤-茂谷智実¹、森谷俊介²、平松恭子²、川喜田正夫²、高橋慶一³、
川村眞智子^{2,3,4}、辛英哲¹、今村保忠¹

¹工学院大学工学部・先進工学部、²東京都医学総合研究所、

³がん・感染症センター東京都立駒込病院、⁴埼玉県立がんセンター

- 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
 Development of a collagen-detecting peptide and its application *in vivo*.
 瀧田講¹、藤井一徳¹、木村寛之²、小出隆規¹
¹早稲田大学先進理工学研究科化学・生命化学専攻、²京都薬科大学代謝分析学分野

KS **KSMB-JSMBMシンポジウム：KSMB-JSMBM Joint Symposium** 9:30 – 10:00

座長：野水 基義（東京薬科大学 薬学部 病態生化学教室）

KS-1 **Proteoglycans and Glycosaminoglycans in Aged and Photoaged Human Skin**

Jin Ho Chung, M.D., Ph.D.

Department of Dermatology, Seoul National University College of Medicine, Seoul, Korea

KS-2 **Role of CD25 on lymph node-fibroblastic reticular cells (LN-FRCs) in CD4 T cell differentiation**

S-H. Lee, DE Kim, TW Kim, HJ Lee, M Kim

Graduate School of Medical Science and Engineering, Korea Advanced Institute of Science and Technology (KAIST), Daejeon, Korea

SL **特別講演：Special Lecture** 10:10 – 11:00

座長：平澤 恵理（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）

SL **2光子励起顕微鏡を用いた神経回路長期再編の生体内観察とグリア細胞による制御**
 In vivo Imaging of Long Term Plasticity of Neuronal Circuits :
 Neuron-Glia Interaction.

鍋倉淳一

自然科学研究機構・生理学研究所・基盤神経科学研究領域

ML **マイスターレクチャー：Meister Lecture** 11:00 – 11:50

座長：渡辺 秀人（愛知医科大学 分子医科学研究所）

ML **The Emmprin-Hyaluronan Axis in Cancer**

Bryan P. Toole

Department of Regenerative Medicine and Cell Biology, Medical University of South Carolina, Charleston, USA

LS3 ランチョンセミナー：Luncheon Seminar

12:00 – 12:50

座長：関口 清俊（大阪大学 蛋白質研究所）

共催 ▶ 株式会社ニッピ

LS3-1 ラミニン-インテグリン間相互作用の分子メカニズム

The molecular mechanism of the laminin-integrin interaction

谿口征雅

大阪大学蛋白質研究所/株式会社 マトリクソーム

LS3-2 幹細胞培養用基材の開発と製造

Development and production of culture substrates for pluripotent stem cells

藤田和将

大阪大学蛋白質研究所、株式会社ニッピ バイオマトリックス研究所

AS アフタヌーンセミナー：Afternoon Seminar

14:00 – 14:50

座長：磯貝 善蔵（国立長寿医療研究センター 皮膚科）

共催 ▶ 中外製薬株式会社

AS ヒアルロン酸（HA）の作用と各種疾患におけるHA分解酵素HYBID（Hyaluronan binding protein involved in hyaluronan depolymerization, KIAA1199）の役割
Function of hyaluronan (HA) and roles of HYBID (Hyaluronan binding protein involved in hyaluronan depolymerization, KIAA1199) in various diseases

岡田保典

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

OP 大高賞授賞式および受賞講演：Otaka Prize

15:00 – 15:15

座長：磯貝 善蔵（国立長寿医療研究センター 皮膚科）

OP 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

Recombinant laminin fragments endowed with collagen-binding activity：

A tool for conferring laminin-like cell-adhesive activity to collagen matrices

佐藤（西内）涼子¹、李紹良¹、戎富美^{1,2}、関口清俊^{1,2}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**総会（YIA表彰式を含む）**

15:15 – 16:00

閉会挨拶 ◆ 大会長 鍋島 一樹

16:00 – 16:10

[B 会場] 福岡大学病院 多目的室

※8:30 に開場します。ポスターは各自で所定の場所に掲示をお願いします。

※ Young Investigator Award に応募の方は、ポスターでの発表も必ずお願いします。

演題

A1-1, A2-1, A2-2, A2-3, A2-4, A2-5, A2-6, A3-2, A3-3,
A4-1, A4-2, A4-4, A4-6, B1-1, B1-2, B2-1, B2-2, B2-3,
B2-4, B3-5, B3-6, B4-2, WS-3, WS-4

ポスター展示 10:00 – 13:00

ポスター討論 13:00 – 14:00

※16:30 までにポスターを撤去してください。

[評議委員会会場] 福岡大学病院 腫瘍センターミーティング室

評議委員会 12:00 – 12:50

会 場 : 福岡大学病院 多目的室
 ポスター貼付時間 : 6月30日(土) 午前8時30分から貼付できます。
 ポスター撤去時間 : 6月30日(土) 午後4時30分までに撤去してください。
 討 論 時 間 : 6月30日(土) 13:00 ~ 14:00

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

- P-01*** 外耳道扁平上皮癌における腫瘍細胞のエンプリンと間質のCD73の高発現は予後不良因子である
 Highly expressed of tumor emmprin and stromal CD73 predict as poor prognosis for external auditory canal carcinoma
 宮崎健^{1,2}、青木光希子¹、大門康子^{1,2}、古賀佳織¹、濱崎慎¹、中川尚志³、坂田俊文²、鍋島一樹¹
¹福岡大学医学部病理学講座、²福岡大学医学部耳鼻咽喉科、
³九州大学大学院医学研究院耳鼻咽喉科学教室
- P-02*** 口腔癌細胞において癌抑制性ケモカインCXCL14の発現は幹細胞因子の発現を制御する
 CXCL14, a multistep tumor suppressing chemokine, regulates expression of stem cell factors
 陽暁艶^{1,2}、小澤重幸^{1,2}、生駒丈晴^{1,2}、金森慶亮^{1,2}、鈴木健司²、居作和人^{1,3}、前畑洋次郎^{1,3}、清野透⁴、畑隆一郎^{1,2}
 神奈川歯科大学大学院、¹口腔難治疾患研究センター、²顎顔面病態診断治療学講座、
³口腔科学講座、⁴国立がん研究センター・発がん・予防
- P-03*** 非アルコール性脂肪肝炎による肝臓の線維化と炎症に対するビトロネクチンの機能
 Roles of vitronectin on hepatic fibrosis and inflammation in non-alcoholic steatohepatitis
 林田桃香^{1,2}、橋本恵^{2,3}、石川朋子²、宮本泰則^{1,2}
¹お茶大院・人間文化・ライフ
²お茶大・HLI研
³日本学術振興会 特別研究員 PD
- P-04*** 関節構造を残した脱細胞化マウス骨格筋標本の作製
 Engineering of decellularized skeletal muscle with joints
 須藤壘¹、厚澤雄二¹、下野知性^{1,2}、服部俊治^{1,2}、水野一乗^{1,2}、中田智史³、平澤恵理⁴
¹ニッピBC事業部R&D、²ニッピバイオマトリックス研究所、
³順天堂大学大学院スポーツ健康科学研究科、
⁴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

- P-05*** 細胞外マトリックスを模倣した表面カルボキシ化ナノセルロース基板上での線維芽細胞の培養
 Fibroblast cell culture on ECM-mimetic substrates prepared using surface-carboxylated nanocellulose
 畠山真由美、一瀬博文、北岡卓也
 九州大学大学院農学研究院環境農学部門
- P-06*** 変異型CCL2のコーティングは摩耗粉誘導性骨量減少を軽減する
 –ポリエチレン摩耗粉持続注入マウスモデルを用いた検討–
 Mutant CCL2 Protein Coating Mitigates Wear Particle-Induced Bone Loss in a Murine Continuous Polyethylene Infusion Model
 鍋島央^{1,2}, Jukka Pajarinen², Tzu-hua Lin², Xinyi Jiang², Emmanuel Gibon², Zhenyu Yao², 中島康晴¹, Stuart B Goodman²
¹九州大学整形外科、
²スタンフォード大学整形外科
- 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
 Label-free Raman imaging of elastic fibers in diseased and healthy mouse aortic tissue
 杉山夏緒里^{1,2,3}, Julia Marzi³, Eva Brauchle^{3,4}, 山城義人¹, Katja Schenke-Layland^{3,4,5}, 柳沢裕美¹
¹筑波大学生命領域学際センター、
²筑波大学グローバル教育院ヒューマンバイオロジー学位プログラム、
³Department of Women's Health, Research Institute for Women's Health, Eberhard Karls University, Tuebingen, Germany;
⁴NMI Natural and Medical Sciences Institute at the University of Tubingen, Reutlingen, Germany;
⁵Department of Medicine/Cardiology, Cardiovascular Research Laboratories, University of California, Los Angeles, CA, USA
- P-08*** パルス電気刺激が皮膚線維芽細胞の増殖と細胞成長因子及び細胞外マトリックス遺伝子発現に及ぼす影響
 Effects of pulsed electric stimulation on human skin fibroblast proliferation and growth factor and extracellular matrix gene expression
 占部博也¹、秋本龍二¹、神谷章平¹、市川秀之¹、西山敏夫^{1,2}
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
- P-09** 卵巣癌における酸性細胞外pHの影響の検討
 Effect of acidic extracellular pH on human ovarian cancer
 加藤靖正、前田豊信、鈴木厚子
 奥羽大学歯学部口腔機能分子生物学講座

- P-10** マトリックスメタロプロテナーゼを介したヒト頭頸部扁平上皮癌の微小環境におけるPD-L1の調節機構
Regulation of PD-L1 in the human HNSCC through MMP-mediated proteolytic cleavage
中村博幸、宮澤真優子、川尻秀一
金沢大学大学院医薬保健学総合研究科医学系顎顔面口腔外科学分野
- P-11** 乳癌細胞において内在化するラミニン α 5鎖受容体CD239に対する抗体-薬物結合体の作製
Internalization of CD239, a laminin receptor, in human breast cancer: a novel antigen for antibody-drug conjugates
吉川大和¹、大川(榎元)友里恵⁴、藤山愛子⁴、福原武志²、原島望¹、菅原由美香¹、碓和樹¹、根岸洋一³、片桐文彦¹、保住建太郎¹、野水基義¹、伊東祐二⁴
¹東京薬科大学 薬学部 病態生化学、²生命科学部 腫瘍医科学、³薬学部 薬物送達、⁴鹿児島大学大学院 理工学研究科
- P-12** I型コラーゲンゲル上で培養したヒト肺ガン細胞株、A549にはカドヘリンスイッチが誘導されるが、遊走は阻害され細胞塊が形成される
Human lung cancer line cells, A549, cultured on type I collagen gels show cadherin switching, but keep cell-cell contact and form cell aggregates without cell migration
藤崎ひとみ¹、二木杉子²、山田雅司³、関口清俊³、林利彦⁴、服部俊治¹
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
- P-13** 硬化性付属器腫瘍の鑑別におけるLaminin- γ 2鎖発現の有用性
Laminin- γ 2 expression is useful for differential diagnosis of sclerosing adnexal neoplasms
古賀佳織¹、阿南隆²、木村鉄宣²、鍋島一樹^{1,3}
¹福岡大学医学部病理学講座、²札幌皮膚病理診断科、³福岡大学病院病理部
- P-14** CD73はEmmprinと複合体を形成し間質線維芽細胞からのMMP-2産生を調整に関わる
CD73 complexes with Emmprin to regulate MMP-2 production from stromal fibroblasts
青木光希子¹、古賀佳織¹、宮崎健¹、濱崎慎¹、越川直彦²、尾山大明³、秦裕子³、鍋島一樹¹
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
- P-15** 悪性度の異なる腫瘍細胞により形成した細胞外マトリックス上での抗がん剤耐性発現機構の解析
Analysis of chemoresistance acquisition mechanism on extracellular matrices formed by tumor cells with different malignant levels
干場隆志^{1,2,3}
¹山形大学有機材料システム研究推進本部、
²山形大学フロンティア有機材料フレックス大学院、³物質・材料研究機構

- P-16** 全身性強皮症の線維化病態に対してplatelet-derived growth factor receptor (PDGFR) 阻害剤が与える影響の検討
Effects of platelet-derived growth factor receptor (PDGFR) inhibitor for the fibrosis of systemic sclerosis
牧野雄成¹、Maria Trojanowska²、尹浩信¹
¹熊本大学大学院皮膚病態治療再建学分野、²ボストン大学リウマチセンター (米国)
- P-17** 線維芽細胞における放射線による長鎖非コードRNAの発現解析
Expression analysis of long non-coding RNA by ionizing radiation in fibroblasts
矢野博之¹、濱中良志^{3,4}、甲斐浩一¹、太田三紀³、張娟娟²、松尾哲孝²、吉岡秀克^{2,5}
¹大分大学 全学研究推進機構、²大分大学 医学部 マトリックス医学講座、
³大分大学 医学部 細胞生物学講座、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
- P-18** エストラジオールが閉経後特発性手根管症候群患者の subsynovial connective tissueに与える影響
Effect of estradiol on subsynovial connective tissue from postmenopausal idiopathic carpal Tunnel Syndrome Patients
山中芳亮、目貫邦隆、田島貴文、岡田祥明、小杉健二、善家雄吉、酒井昭典
産業医科大学 整形外科
- P-19** 培養ヒト角膜上皮細胞におけるエピガロカテキンガレートによる上皮間葉転換抑制効果の検討
Investigation of the effects of epigallocatechin gallate on epithelial mesenchymal transition in human corneal epithelial cells
濱野将大¹、坂田喜美¹、吉田浩二²
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、
²近畿大学生物理工学部医用工学科
- P-20** 培養尿細管上皮細胞におけるエピガロカテキンガレートによる上皮間葉転換抑制効果の検討
Investigation of the effects of epigallocatechin gallate on transforming growth factor- β -induced epithelial mesenchymal transition in renal tubular epithelial cells.
坂田喜美¹、濱野将大¹、吉田浩二²
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、
²近畿大学生物理工学部医用工学科
- P-21** Unique expression of syndecan-2 in proximal colon during acute inflammation
Heejeong Hong¹, Hyun-kuk Song¹, Seung-Eun Kim², Eok-Soo Oh¹
¹Department of Life Sciences, the Research Center for Cellular Homeostasis, Ewha Womans University;
²Department of Internal Medicine, School of Medicine, Ewha Womans University.

- P-22** **microRNA142-3pによる肝線維化抑制機構の解明**
Clarification of the mechanism of liver fibrosis inhibition by microRNA142-3p
松本俊彦¹、高見太郎²、坂井田功²
¹山口大学大学院医学系研究科 臨床検査・腫瘍学、
²山口大学大学院医学系研究科 消化器内科学
- P-23** **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**
Silencing of Important Molecules in Pathogenesis of Idiopathic Pulmonary Fibrosis via RNA interference
ハティポール・オメル・ファルク^{1,4}、エユブ・ウチュテペ⁴、グンデウズ・エスラ^{3,4}、
グンデウズ・メーメット^{3,4}、大月孝志¹、稲垣純子²、廣畑聡¹
¹岡山大学大学院保健学研究科、²岡山大学大学院医歯薬学総合研究科、
³和歌山県立医科大学耳鼻咽喉科、⁴Turgut Özal 大学医学遺伝学科 (トルコ)
- P-24** **ナノ液体クロマトグラフィータンデム質量分析法を用いたエーラス・ダンロス症候群の診断法の開発**
Development of diagnostic method of Ehlers-Danlos syndrome using nano-LC/MS/M
山田和夫^{1,2}、渡辺淳³、古庄知己⁴、水本秀二⁵、山田修平⁵、竹下治男¹、松本健一²
¹島根大・医・法医学、²島根大・総科支セ・生体情報・RI、
³日本医大・附属病院・遺伝診療科、⁴信州大・医・附属病院・遺伝子医療研究セ、
⁵名城大・薬・病態生化学
- P-25** **ブタ大動脈エラスチンのエラスターゼ処理水解物からの新規のアンジオテンシン I 変換酵素阻害ペプチド**
Novel angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides from an elastase-treated hydrolysate of porcine aortic elastin Oligopeptides Derived Elastin
畠中登志也^{1,3}、吉水優貴²、加藤珠樹³、岡元孝二¹
¹(株) バイタルリソース応用研究所、²(株) 福岡フーズ、
³九州工業大学大学院生命体工学研究科
- P-26** **前十字靭帯再建術用移植腱を作製する際に生じるハムストリングス腱の組織学的変性**
Histological alterations to the hamstring tendon caused by cleaning during autograft preparation
岡崎良紀、古松毅之、前原亜美、釜付祐輔、尾崎敏文
岡山大学大学院医歯薬総合研究科 生体機能再生・再建学講座 整形外科
- P-27** **Effects of unripe peach extract on gene expression and histological localization in UVB irradiated 3D skin model**
Tomoko Yonezawa¹、Ryusuke Momota²、Hideki Iwano³、Steven Zhao⁴、
Tomohiro Hakozaki⁴、Chieko Soh⁵、Shigetoyo Sawaki³、Kazumi Toyama⁵、
Toshitaka Oohashi¹
¹Molecular Biology & Biochemistry, ²Human Morphology, Okayama University;
³Technoble Co., Ltd.; ⁴The Procter & Gamble Company; ⁵P&G Innovation GK

- P-28** マトリゲル3次元培養法を用いた新規HCV感染阻害抗体の開発
EphA2 processing by MT1-MMP in cutaneous squamous cell carcinoma
富川直樹¹、齋藤明¹、保住建太郎²、野水基義²、千葉英樹¹
¹福島県立医科大学医学部基礎病理学講座、²東京薬科大学薬学部病態生化学講座
- P-29** D-tyrosine negatively regulates melanin synthesis by competitively inhibiting tyrosinase activity
Jisu Park¹, Hyejung Jung², Kyuri Kim³, Kyung-Min Lim³ and Eok-Soo Oh^{1,2}
¹Department of Life Sciences, the Research Center for Cellular Homeostasis, Ewha Womans University;
²Skin QC Institute of Dermatological Sciences;
³College of Pharmacy, 507 Ewha Womans University
- P-30** ヒアルロニダーゼ1および4の基質認識に関与するアミノ酸残基の解析
Investigation of the amino acid residues in hyaluronidases-1 and -4 responsible for their substrate recognition.
稲葉史恵、白水仁子、小林智恵里、安部優貴子、水本秀二、山田修平
名城大学・薬学部・病態生化学
- P-31** マウス膵臓β細胞由来細胞株MIN6におけるコアタンパク質選択的なヘパラン硫酸合成
Biosynthesis of heparan sulfate on a specific core protein in a pancreatic β-cell line, MIN6
持永磨奈美¹、加藤丈子¹、伊藤ゆき乃¹、高橋巖²、那谷耕司²、山田修平¹
¹名城大学・薬学部・病態生化学、²岩手医科大学・薬学部・臨床医化学
- P-32** 生後の骨・軟骨におけるアグリカンの役割の解明
Role of aggrecan in post-natal development of bone and cartilage
鳥原秀美^{1,2}、大野充昭¹、栗原伸之介¹、枝松緑¹、宝田剛志³、上岡寛²、大橋俊孝¹
¹岡山大学大学院医歯薬学総合研究科分子医化学分野、
²岡山大学大学院医歯薬学総合研究科歯科矯正学分野、
³岡山大学大学院医歯薬学総合研究科組織機能修復学分野

第1日目 6月29日(金)

14:00 ~ 14:50

海外招待講演 (Invited Lecture) _____ IL

座長 佐藤 隆 (東京薬科大学 薬学部 生化学)

IL Plasticity of cancer cell invasion *in vivo*

Peter Friedl

Radboud University Nijmegen Medical Centre, Nijmegen, The Netherlands and
The University of Texas, MD Anderson Cancer Center, Houston, TX, USA

第2日目 6月30日(土)

10:10 ~ 11:00

特別講演 (Special Lecture) _____ SL

座長 平澤 恵理 (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)

SL 2 光子励起顕微鏡を用いた神経回路長期再編の生体内観察とグリア細胞による制御
In vivo Imaging of Long Term Plasticity of Neuronal Circuits :
Neuron-Glia Interaction.

鍋倉淳一

自然科学研究機構・生理学研究所・基盤神経科学研究領域

11:00 ~ 11:50

マイスターレクチャー (Meister Lecture) _____ ML

座長 渡辺 秀人 (愛知医科大学 分子医科学研究所)

ML The Emmprin-Hyaluronan Axis in Cancer

Bryan P. Toole

Department of Regenerative Medicine and Cell Biology, Medical University
of South Carolina, Charleston, USA

15:00 ~ 15:15

大高賞授賞式および受賞講演 (Otaka Prize) _____ OP

座長 磯貝 善蔵 (国立長寿医療研究センター 皮膚科)

OP 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

Recombinant laminin fragments endowed with collagen-binding activity :

A tool for conferring laminin-like cell-adhesive activity to collagen matrices

佐藤(西内) 涼子¹、李紹良¹、戎富美^{1,2}、関口清俊^{1,2}

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

座長：佐藤 隆



Plasticity of cancer cell invasion *in vivo*

Peter Friedl

Radboud University Nijmegen Medical Centre, Nijmegen,
The Netherlands and
The University of Texas, MD Anderson Cancer Center,
Houston, TX, USA

Single-cell or collective invasion results from coordination of cell shape, deformability and actin dynamics relative to the tissue environment. When monitored *in vivo*, using intravital multiphoton second and third harmonic generation and fluorescence microscopy, tissue microniches provide invasion-promoting tracks that enable collective migration along tracks of least resistance. As main routes, non-destructive contact-guidance is mediated by preformed multi-interface perimuscular, vascular and -neural tracks of 1D, 2D and 3D topography. 3D ultrastructural analysis reveals predefined tissue conduits (“highways”) of defined geometry, nanotopography and molecular composition as predominant routes of invasion by contact guidance combined with a cell “jamming” mechanism. Consistently, spheroids of mesenchymal melanoma or sarcoma tumor cells switched from single-cell to collective invasion modes when confronted with 3D collagen matrices of increasing density, including gain of cell-to-cell junctions, supracellular polarization, suggesting cell jamming imposed by tissue confinement. Targeting of beta1/beta3 integrins induces unexpected plasticity of invasion, including collective and amoeboid single-cell dissemination, followed by enhanced systemic dissemination and micrometastasis, implicating a role of integrins in cell-cell cooperation and integrin-independent dissemination as effective route to metastasis. In conclusion, cancer invasion is maintained by physicochemical programs that balance cell-intrinsic adhesion and mechanocoupling with encountered physical space and molecular cues.

Short CV

Dr. Friedl was born and raised in Germany, received his M.D. degree from the University of Bochum in 1992 and the Ph.D. degree from the McGill University, Montreal in 1996. Since 2007 he is directing the Microscopical Imaging Centre of the Radboud University Nijmegen Medical Centre, Nijmegen, Netherlands and since 2011 holds a joint-faculty position at the University of Texas MD Anderson Cancer Center, Houston, TX for preclinical intravital imaging of cancer lesions and their response to molecular targeted and immunotherapy.

His research interest is the mechanisms and plasticity of cell migration in immune regulation and cancer metastasis, with emphasis on cell-matrix adhesion, pericellular proteolysis and cell-cell communication during migration. His laboratory identified pathways determining diversity and plasticity of cell migration, collective cancer cell invasion, and the contribution of migration pathways to immune defense and cancer resistance. His discoveries

have provided a nomenclature for the different types of cell migration and their roles in building and (re) shaping tissue, with emphasis on inflammation, regeneration and cancer. His therapeutic preclinical studies focus on the intravital visualization of niches and mechanisms and strategies to overcome therapy resistance.

【Memo】

座長：平澤 恵理



In vivo Imaging of Long Term Plasticity of Neuronal Circuits: Neuron-Glia Interaction.

2光子励起顕微鏡を用いた神経回路長期再編の生体内観察とグリア細胞による制御

鍋倉 淳一 Nabekura, Junichi

自然科学研究機構・生理学研究所・基盤神経科学研究領域
Department of Basic Neuroscience, National Institute for Physiological Sciences,
National Institute of Natural Sciences

Recent advance in imaging techniques, e.g. MRI and PET, allows us to visualize the alteration of brain activity in various pathological conditions, such as Alzheimer disease, brain stroke and chronic pain. However, due to their spatial/temporal limitation, it is difficult to elucidate their underlying mechanisms at neuronal circuits' level in vivo. Here, we introduce two evidences of dynamics of neuronal structures in pathologic brains and the contribution of glia to their synapse remodeling with taking an advantage of two photon excitation of fluorescent probes.

1) Real time imaging with 2 photon microscopy revealed that resting microglia, the primary immune cells in the brain, dynamically and directly monitors the local synaptic states. In intact mature brain, resting microglial processes make a brief (~5 min) and direct contact with neuronal synapses. At the penumbra of the ischemic brain, microglia-synapse contact duration were prolonged (~1 hour), frequently followed by the disappearance of presynaptic boutons. In addition, the neuronal hyperactivity often induced axonal swelling and a sporadic pathological membrane depolarization. Microglial process approached to and wrapped the swollen axon by detecting ATP released through a volume-activated chloride channel of swollen axon. As a result, microglial contact repolarized the membrane potential to rescue the neurons from excitotoxicity.

2) Repeated observation of the same neuronal structures of the mouse cortex over several months reveals the dynamics of dendritic spines of somatosensory cortex in neuropathic pain. An increase of spine turnover in the S1 corresponding to the injured paw was limited during an early developing phase of neuropathic pain, in which preexisting stable spines preferentially eliminated. In this early phase, the activity of astrocyte in the S1 selectively enhanced. Activation of astrocyte could induce a release of thrombospondin, resulting in accelerating the spine turnover, which could be the underlying mechanism of exaggerating the neuronal response in the somatosensory cortex to peripheral stimulation.

Key words: 2 photon laser microscope, in vivo imaging

非侵襲的生体イメージング法としては、核磁気共鳴法や近赤外線分光法、ポジトロン断層法などがある。しかしこれらは時間・空間分解能の限界のため、細胞やその微細構造や活動を描出することは現在のところ困難である。この問題点を克服する手法として、近年、多光子励起顕微鏡の生体応用が急速に拡大している。2光子励起顕微鏡は近赤外線を用いることができるため、従来の共焦点顕微鏡などと比較し、細胞障害が少なく、また組織深部まで観察できる。今回、2光子励起顕微鏡を用いた生体観察の紹介と我々が取り組んでいる脳内神経細胞の観察について、リアルタイムイメージングと同一個体における長期観察について紹介する。同一マウスにおいて特定の大脳皮質神経細胞を長期間繰り返し観察することによって、これまで安定的な構造と考えられてきた神経回路において、正常でも5-10%のシナプスが数日間で入れ替わっていることなど、正常や各種病態における神経回路のダイナミックな変化が明らかになりつつある。神経回路再編に係わるシナプス新生と除去のメカニズムとして、グリアと神経細胞の相互作用をマウスの大脳皮質で観察を行っている。1) 脳内免疫細胞であるミクログリア細胞は正常脳においてはシナプスに約1時間毎に5分間接触・監視している。脳梗塞周囲領域では、接触時間の大幅な延長がみられ、しばしば接触後にはシナプス構造の消失が観察される。ミクログリアは、正常時においてシナプスを定期的に監視し、障害回路においてはシナプスの除去など神経回路の可塑的変化に重要な役割を果たしていることが明らかとなってきた。2) 病態例として、慢性疼痛の発症時にはアストロサイト活動の亢進が見られる。アストロサイトの活性化によりシナプス新生が亢進し、神経回路の再編の結果、触覚などの軽度の末梢刺激によっても大脳皮質感覚野神経細胞が過剰に反応するようになり、痛覚過敏の一因であることが判明した。このように、多光子励起顕微鏡の生体応用により、個体行動、活動などの細胞機能や微細構造を同じ動物で検証できるようになり、分子-細胞-個体の階層を超えた理解が大きく進みつつある。

キーワード： 2光子励起顕微鏡、生体イメージング

所属、職種： 自然科学研究機構 生理学研究所 副所長
基盤神経科学研究領域 生体恒常性発達研究部門 教授
〒444-8585 岡崎市明大寺字西郷中38
(0564) 55-7871

略歴：

昭和50年 3月	ラサール学園高等学校卒業（鍋島一樹先生と同じ）
昭和56年（1981）3月27日	九州大学医学部卒業
昭和58年（1983）4月1日	九州大学大学院医学研究科入学（生理学第一講座配属）
昭和62年（1987）3月27日	同上 卒業
昭和56年（1981）6月1日	九州大学医学部附属病院研修医（産婦人科）
昭和57年（1982）4月1日	新小倉病院医院
昭和62年（1987）4月1日	九州大学医学部附属病院医員
昭和62年（1987）5月1日	福岡済生会病院 医長（産婦人科）
昭和62年（1987）9月16日	ワシントン大学医学部研究員（米国セントルイス、解剖神経生物学）
平成3年（1991）5月1日	東北大学医学部助手（病態生体情報学講座）
平成5年（1993）4月1日	秋田大学医学部助教授（生理学第一講座）
平成7年（1995）12月1日	九州大学医学部助教授（生理学第二講座）
平成15年（2003）11月1日	岡崎国立共同研究機構 生理学研究所 発達生理学研究室 生体恒常機能発達機構研究部門 教授
（平成16年（2004）4月1日	自然科学研究機構 生理学研究所発達生理学研究室 生体恒常機能発達機構 研究部門 教授に組織変更）

平成21年(2009)4月－平成23年(2011)3月

自然科学研究機構 生理学研究所 主幹(共同利用担当)
脳機能計測センター長(併任)

平成25年(2013)4月－現在 生理学研究所 副所長(併任)

(平成28年(2016)4月1日 自然科学研究機構 生理学研究所 基盤神経科学研究領域 生体恒常性発達研究部門 に部門名変更)

(兼任)

平成15年(2003)6月1日－平成17年(2005)7月31日

文部科学省研究振興局学術調査官

平成25年(2013)4月1日－平成28年(2016)3月31日

日本学術振興会 学術システムセンター 主任研究員

(その他の兼任)

平成16年(2004)10月－平成22年(2010)3月

科学技術振興機構 戦略的創造基礎研究事業(CREST)
「脳発達と学習」領域 研究代表

平成23年(2011)10月－平成28年(2017)3月

日本医療開発法人革新的先端研究支援事業(AMED-CREST)
「脳神経回路の形成・動作原理の解明と制御技術の創出」領域 研究代表

専門委員等:(抜粋)

平成16年(2004)1月－平成16年(2004)12月

独立行政法人日本学術振興会 科学研究費委員会専門委員

平成17年(2005)4月－平成18年(2006)3月

文部科学省 科学技術・学術審議会特定領域研究専門委員会 主査

平成19年(2007)4月－平成20年(2008)3月

文部科学省 科学技術・学術審議会専門委員(生物系委員会、脳領域評価委員会、特定領域専門委員会(主査))

平成19年(2007)8月－平成20年(2008)3月

文部科学省 脳領域評価委員

平成20年(2008)－平成21年(2009)、平成23年度(2011)－24年度(2012)

日本学術振興会 審査・評価第一部会 生物系小委員会専門委員
(特別推進研究審査委員会)

平成21年(2009)2月－平成25年(2013)1月

文部科学省科学技術・学術審議会 専門委員(科学研究費審査部会)

平成23年(2011)－現在

日本学術会議連携会員

平成25年(2013)2月－現在

文部科学省科学技術・学術審議会 臨時委員
(学術分科会、研究費部会、研究費審査部会)

所属学会等:日本生理学会(理事)

日本神経科学会(理事)

日本赤ちゃん学会(理事)

NPO法人 脳の世紀(正会員 平成18年(2006)－)

日本神経化学会(平成18年(2006)－評議員)

北米神経科学会



The Emmprin-Hyaluronan Axis in Cancer

Bryan P. Toole

Department of Regenerative Medicine and Cell Biology,
Medical University of South Carolina, Charleston, USA

Major determinants that influence negative outcome in cancer patients include the abilities of cancer cells to resist current therapies and to invade surrounding host tissue, consequently leading to local and metastatic dissemination. Both emmprin and hyaluronan have been strongly implicated in chemoresistance and invasiveness. Emmprin, initially characterized as an inducer of matrix metalloproteinase production, was shown to be identical to the Ig superfamily glycoprotein, basigin, and several other proteins that have been characterized by immunological, genetic and functional methods. These proteins are now commonly termed CD147. CD147 participates in formation of numerous multiprotein complexes, most notably with the monocarboxylate transporter (MCT) family members, MCT1 and MCT4. Hyaluronan (HA), a prominent constituent of the tumor microenvironment, provides structural support in tissues but also interacts with cell surface receptors that influence cooperative signaling pathways leading to chemoresistance and invasiveness in cancer cells. CD147 both regulates HA synthesis and associates with the HA receptors, CD44 or LYVE-1, in these cancer cells. CD147 and the HA receptors are assembled within specialized lipid raft domains, along with members of the MCT, receptor tyrosine kinase, ABC drug transporter and membrane-type matrix metalloproteinase families. Stabilization of these lipid raft complexes, as well as downstream signaling pathways, transporter activities and invadopodia activity, appears to be dependent on CD147 and multivalent HA-receptor interactions. In conclusion, cooperativity between HA, HA receptors, and CD147 may be a major driver of the interconnected pathways leading to invasiveness and chemoresistance widely critical to malignancy.

Key words: CD147, hyaluronan, CD44, LYVE-1

Short CV

Bryan P. Toole (born 1940 in Victoria, Australia) is Professor Emeritus in the Department of Regenerative Medicine & Cell Biology at the Medical University of South Carolina in Charleston, USA. He received his B.Sc. degree (1962) at University of Melbourne, and M.Sc. (1965) and Ph.D. (1968) degrees in Biochemistry at Monash University, Melbourne, Australia. He spent 12 years at the Massachusetts General Hospital and Harvard

Medical School in Boston, USA, first as a postdoctoral fellow (1968-70), then as Instructor in Medicine (1970-72), Assistant Professor of Biochemistry and Medicine (1972-75) and Associate Professor of Anatomy and Medicine (1975-80). He then moved to Tufts University, also in Boston, where he was Professor of Anatomy and Cellular Biology for 23 years. He was Chair of the Department for 8 years, and Director of the Graduate Program in Cell, Molecular and Developmental Biology for 10 years at Tufts. In 2003 he moved to the Medical University of South Carolina as Professor of Cell Biology and Member of the Hollings Cancer Center, and Adjunct Professor of Bioengineering (Clemson University). He was Interim Chair of Biochemistry & Molecular Biology there in 2012. He has received several awards, among them Established Investigator of the American Heart Association (1973-78), Distinguished Faculty Award (2001) and George Bates Professor of Histology (1987-2003) at Tufts University, and Fellow of the American Association for Advancement of Science (since 1991). He has served on numerous editorial boards and scientific review groups and has been Chair of the Medical Research Committee, Progeria Research Foundation, since 2004. He is a founding member of the International Society of Hyaluronan Sciences (ISHAS).

【Memo】

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

佐藤(西内)涼子¹、李紹良¹、戎富美^{1,2}、
関口清俊^{1,2}

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

ラミニンは、様々な幹細胞を維持している基底膜の主要な構成成分である。15種類のリミニンアイソフォームの中でも、ラミニン-511とそのE8断片(LM511E8)は、ヒト多能性幹細胞を効率よく接着・増殖させることが報告されている。本研究で我々は、ラミニン-511の細胞接着活性をコラーゲン基質へ付加することで、成分構成が明らかな、幹細胞培養のためのコラーゲン基質の作製を目的とした。

LM511E8にコラーゲン結合活性を付加するため、我々はフィブロネクチンのコラーゲン結合ドメイン(CBD)を利用した。各ラミニン鎖(α 5E8, β 1E8, γ 1E8)のN末端にCBDを付加し、CBDの数が1, 2, 3個のLM511E8を作製した。LM511E8はコラーゲンには結合しないが、CBD付加LM511E8(CBD-LM511E8)は、付加したCBDの数に応じて顕著なコラーゲン結合活性を示した。CBD-LM511E8をあらかじめ結合させたコラーゲン基質上でヒトiPS細胞の培養を行ったところ、iPS細胞はコラーゲン上には接着せず増殖もしないが、CBD-LM511E8を結合させたコラーゲン基質上では効率よく増殖し、LM511E8をコートしたプレートのように多くのコロニーを形成した。さらに重要なことに、CBD-LM511E8をあらかじめ混合したコラーゲングル上においてもiPS細胞は増殖し、球状のコロニーを形成した。

これらの結果から、CBD付加ラミニンE8フラグメントは、ラミニン様の細胞接着活性を持つコラーゲン基質の作製に有用なツールとして、幹細胞培養や再生医療への応用が期待される。

Recombinant laminin fragments endowed with collagen-binding activity: A tool for conferring laminin-like cell-adhesive activity to collagen matrices

Ryoko Sato-Nishiuchi¹, Shaoliang Li¹, Fumi Ebisu^{1,2}, and Kiyotoshi Sekiguchi^{1,2}

¹ Division of Matrixome Research and Application, Institute for Protein Research, Osaka University

² Matixome Inc.

Laminins are major components of basement membranes that sustain a wide variety of stem cells. Among 15 laminin isoforms, laminin-511 and its E8 fragment (LM511E8) have been shown to strongly promote the adhesion and proliferation of human pluripotent stem cells. The aim of this study was to endow the cell-adhesive activity of laminin-511 on collagen matrices, thereby fabricating collagen-based scaffolds for stem cells with defined composition.

To achieve this goal, we utilized the collagen-binding domain (CBD) of fibronectin to immobilize LM511E8 on collagen matrices. CBD was attached to the N-termini of individual laminin chains (α 5E8, β 1E8, and γ 1E8), producing LM511E8s having one, two, or three CBDs. While LM511E8 did not bind to collagen, CBD-attached LM511E8s (CBD-LM511E8s) exhibited significant collagen-binding activity, dependent on the number of attached CBDs. Human iPS cells were cultured on collagen-coated plates preloaded with CBD-LM511E8s. Although iPS cells did not attach or grow on collagen, they robustly proliferated on CBD-LM511E8-loaded collagen matrices, similar to the case with LM511E8-coated plates. Importantly, iPS cells proliferated and yielded round-shaped colonies even on collagen gels preloaded with CBD-LM511E8s.

These results demonstrated that CBD-attached laminin E8 fragments are promising tools for fabrication of collagen-based matrices having the cell-adhesive activity of laminins.

第1日目 6月29日(金)

12:00 ~ 12:50

ランチョンセミナー (Luncheon Seminar) ----- LS1

座長 鍋島 一樹 (福岡大学 医学部病理学講座)

共催 ▶ 独立行政法人 環境再生保全機構

LS1-1 ヒアルロン酸の合成と分解:最近の話題

Synthesis and degradation of hyaluronan: update of hyaluronan research

渡辺秀人

愛知医科大学分子医科学研究所

LS1-2 中皮腫診断における体腔液細胞診の意義と今後の問題点

Effusion Cytology in Diagnosis of Mesothelioma: Clinical Significance and Perspectives

亀井敏昭

PCL福岡 病理・細胞診センター所長

12:00 ~ 12:50

ランチョンセミナー (Luncheon Seminar) ----- LS2

座長 藤田 昌樹 (福岡大学 医学部 呼吸器内科)

共催 ▶ MSD 株式会社

LS2 新しいがん免疫療法の潮流:個別化と複合化の時代へ

Trends of novel cancer immunotherapy toward personalized and combination therapies

玉田耕治

山口大学大学院医学系研究科 免疫学

第2日目 6月30日(土)

12:00 ~ 12:50

ランチョンセミナー (Luncheon Seminar) ----- LS3

座長 関口 清俊 (大阪大学 蛋白質研究所)

共催 ▶ 株式会社ニッピ

LS3-1 ラミニン-インテグリン間相互作用の分子メカニズム

The molecular mechanism of the laminin-integrin interaction

谿口征雅

大阪大学蛋白質研究所/株式会社 マトリクソーム

LS3-2 幹細胞培養用基材の開発と製造

Development and production of culture substrates for pluripotent stem cells

藤田和将

大阪大学蛋白質研究所、株式会社ニッピ バイオマトリックス研究所

14:00 ~ 14:50

アフタヌーンセミナー (Afternoon Seminar) ----- AS

座長 磯貝 善蔵 (国立長寿医療研究センター 皮膚科)

共催 ▶ 中外製薬株式会社

AS ヒアルロン酸 (HA) の作用と各種疾患におけるHA分解酵素HYBID (Hyaluronan binding protein involved in hyaluronan depolymerization, KIAA1199) の役割
Function of hyaluronan (HA) and roles of HYBID (Hyaluronan binding protein involved in hyaluronan depolymerization, KIAA1199) in various diseases

岡田保典

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

渡辺秀人H Watanabe

愛知医科大学分子医科学研究所

Institute for Molecular Science of Medicine, Aichi Medical University

ヒアルロン酸 (Hyaluronan, HA) は、グルクロン酸と *N*-アセチルグルコサミンの二糖の繰り返し構造より成るグリコサミノグリカンで、分子量は 100 万以上にも達する。生体内に幅広く分布しているが、特に豊富なのは皮膚で、真皮においては細胞外マトリックスに約 0.5 mg/g 湿重量、表皮では表皮細胞間隙に推定 2-4 mg/ml の高濃度で存在する。HA には顕著な保水作用と粘弾性があり、この物理的性状が関節機能の維持を始め様々な生体の恒常性に役立っている。HA はヒアルロン酸合成酵素 (Hyaluronan Synthase, HAS) によって合成される。脊椎動物では HAS1、HAS2、HAS3 の 3 種類があり、いずれも 7 つの膜貫通ドメインを有する細胞膜蛋白質で、細胞質内の UDP-グルクロン酸および UDP-*N*-アセチルグルコサミンをドナー基質とし、糖を還元末端に交互に付加していく。遺伝子欠損マウス等の研究から 3 種類のうち HAS2 が HA 合成の主役を担っているとの概念が成立しつつあるが、合成される HA の分子量が各々の HAS によって異なること、細胞や組織によって HA 合成を担う HAS が異なることを示す報告も多い。HA は細胞表面にて合成されると考えられているが、細胞障害時には核周囲で合成されケーブル状に伸長し、炎症細胞をリクルートすることがわかっている。HA の分解に関しては細胞膜上の HYAL2 が CD44 との協調作用により高分子 HA を短い糖鎖にまで切断し、取り込まれた短鎖 HA がエンドゾームで HYAL1 により完全に分解されると考えられてきた。近年、KIAA1199 とそのホモログ Transmembrane Protein 2 (TMEM2) がヒアルロン酸を分解することが明らかとなった。本セミナーでは、さらに悪性中皮腫やその他の腫瘍における HA の意義についても論じる。

Hyaluronan, (HA) is a glycosaminoglycan consisting of the repeating disaccharide structure of glucuronate and *N*-acetylglucosamine and has molecular weight of more than 1,000,000. It is widely distributed in vivo, and most abundant in the skin; in the dermis at about 0.5 mg/g wet weight in the extracellular matrix and in the epidermis in a high concentration of 2-4 mg/ml in the intercellular gaps. HA absorbs a large volume of water and exhibits viscoelasticity, and therefore is indispensable for maintaining the joint function and for the homeostasis of various tissues. HA is synthesized by hyaluronan synthases (HASs). Vertebrates have three HASs; HAS1, HAS2 and HAS3, containing seven trans-membrane domains. Whereas the concept of HAS 2 playing a major role in HA synthesis is being established from various studies including analysis of knockout mice, many reports show that HAS responsible for synthesis is different among cell and tissue types. Although HA is synthesized on the cell surface, it is synthesized around the nucleus, elongated in a cable form, and recruit inflammatory cells, under cytotoxic conditions. Regarding HA degradation, it has been accepted that HYAL2, with help of CD44 on the cell membrane, cleaves the high molecular weight hyaluronan into short chains, and the incorporated smaller HA is completely degraded by HYAL1 in the endosome. Recently, both KIAA 1199 and its homologue Transmembrane Protein 2 (TMEM2) have been reported as hyaluronidases. In this seminar, I will also discuss the significance of HA in malignant mesothelioma and other tumors.

キーワード：ヒアルロン酸、合成、分解

Key words: hyaluronan, synthesis, metabolism

中皮腫診断における体腔液細胞診の意義と今後の問題点

亀井敏昭

PCL 福岡 病理・細胞診センター所長

体腔液細胞診の最大の目的は悪性細胞の検出である。現在でも癌性腔水症は癌の末期を意味し、極めて予後が不良な病態と考えられている。しかし、近年の分子標的治療薬の開発や個別化治療の発達により、癌性腔水症であっても予後の改善が期待される症例も出現している。従って、体腔液細胞診においては良悪性の鑑別、原発巣の推定、腫瘍細胞が発現するタンパク質の同定など、要求される内容が更に高度になっている。一方、高度成長期に大量に消費されたアスベストによる健康被害として悪性中皮腫が近年急速に増加する時代を迎え、中皮腫診断における体腔液細胞診ガイドラインなど国際基準も明らかにされ、患者救済を目的とした公的認定においても体腔液細胞診は重要な役割を果たしている。

体腔液細胞診の時代的推移をみると、従来から塗抹標本にパパニコロウ染色、ギムザ染色、粘液染色などを施して個々の細胞異型や細胞質内粘液の有無を観察することが主体であった。その後、電子顕微鏡による細胞質内小器官や表面構造の観察、あるいは細胞の大きさ・核の数などを測定する形態計測による研究も実施された。これらの研究成果に伴い、特に悪性中皮腫と、腺癌を主体とした悪性細胞との鑑別点として、細胞質の染色性、細胞相互の結合性、多核細胞の割合など、様々な形態学的知見が明らかになった。一方、現在では免疫染色による様々なマーカーの検索や FISH 法などによる遺伝子解析なども加わり、診断精度も飛躍的に向上した。ことに、中皮腫診断においては、p16 遺伝子のホモ接合性欠失、BAP1 遺伝子産物の消失などが重要視されている。

中皮腫診断の現状と今後の問題点や展望についても言及する。また、体腔液細胞診の精度向上を目指して中皮腫細胞診研究会が取り組んできた内容についても紹介したい。

Effusion Cytology in Diagnosis of Mesothelioma: Clinical Significance and Perspectives

Toshiaki Kamei

Pathology and Cytology Center, BML group PCL Japan, Inc., Fukuoka, Japan

The most important clinical application of effusion cytology is in detecting malignant cells, such as those occurring in pleuritis carcinomatosa. This disorder typically signifies end stage cancer; however, even for patients with this advanced-stage disease, prognoses have improved, due to the development of molecularly-targeted treatments and individualized therapies. As a consequence, applications associated with effusion cytology continue to evolve and expand. This technique is not only used to differentiate between benign and malignant cells, but also to determine primary tumor sites, and to identify proteins expressed by tumor cells.

The number of mesothelioma patients has rapidly increased in recent years, as a consequence of high levels of asbestos exposure occurring during periods of rapid economic expansion. More than 80% of pleural mesothelioma patients have pleural effusions. International guidelines for diagnosis of mesothelioma using effusion cytology have been established. Moreover, diagnosis of mesothelioma not only by tissue biopsy but also by effusion cytology can be applied in order for patients to receive government financial support for care and treatment of the disease.

Effusion cytology has its origins in staining of effusion smears with Papanicolaou, Giemsa or mucin stains, approaches that were used to detect atypical cellular structures or cytoplasmic mucin. The development of electron microscopy allowed the morphology of cytoplasmic organelle and cell surface structures to be examined at high resolution. These techniques were further refined through cytomorphometric analyses of the size, shape, or number of cells or nuclei. These advances led to studies showing that morphological features, such as cytological staining, cell-cell adhesion, or multiple cell nuclei, could help in distinguishing mesothelioma cells from other carcinoma cells. More recent studies have shown the utility of immunohistochemistry (IHC) in detecting marker proteins and fluorescence in situ hybridization (FISH) in cytogenetic analysis, leading to improvements in diagnostic accuracy. For example, homozygous deletion of the p16 gene (detected by FISH) and loss of BAP1 protein expression (detected by IHC) are especially useful in diagnosis of mesothelioma.

In this talk, I will summarize current uses of effusion cytology in diagnosis of mesothelioma, including new trends and ongoing challenges associated with this approach. I will also introduce efforts made by the Society for Mesothelioma Cytology to improve accuracy in diagnosis using smear cytology.

新しいがん免疫療法の潮流：個別化と複合化の時代へ Trends of novel cancer immunotherapy toward personalized and combination therapies

玉田耕治

K. Tamada

山口大学大学院医学系研究科 免疫学

Department of Immunology,
Yamaguchi University Graduate School of Medicine

がん免疫療法は、外科療法、化学療法、放射線療法に続く第4のがん治療法として様々な手法が検討され、多くの研究開発が実施されてきた。特に近年では、抗PD-1抗体を始めとする免疫チェックポイント阻害薬が開発され、これまでの標準療法を凌駕する治療効果が認められるとがん免疫療法の重要性が一気に注目されるようになった。さらに最近では、キメラ抗原受容体 (chimeric antigen receptor: CAR) を利用した遺伝子改変型 T 細胞療法など、高い治療効果を示す最新のがん免疫療法が開発されつつある。さらに重要なことに、ある一定の割合で有効性を示すがん免疫療法が確立されたことから、有効症例と無効症例を比較した臨床研究が可能となり、がん免疫療法の効果発現メカニズムの解析やバイオマーカー研究が大きく進展しつつある。本講演では、がん免疫療法の基礎的概念から免疫チェックポイント阻害薬の基礎と臨床、遺伝子改変 T 細胞療法、バイオマーカー研究、複合がん免疫療法や precision medicine など、現在特に注目されている視点について紹介し、がん治療新時代の中心的担い手となるべきがん免疫療法の現状と将来像について概説する。

Besides standard therapies including surgery, chemotherapy, and irradiation, various approaches in immunotherapy have been developed as the fourth modality for the treatments of cancer. In particular, immune checkpoint blockade drugs have demonstrated tremendous clinical effects superior to the current standard therapies, inducing much attention on importance of cancer immunotherapy. Moreover, additional cutting-edge strategies including chimeric antigen receptor (CAR)-expressing gene-modified T cells have been actively explored, and demonstrating potent clinical effects. It should be noted that recent advances in cancer immunotherapy have enabled to compare effective and ineffective cases in clinic, so as to investigate therapeutic mechanisms and to seek for biomarkers correlating with clinical efficacy. In this lecture, important topics including fundamental concept of cancer immunotherapy, basic and clinical research of immune checkpoint blockade, gene-modified T cell therapies, biomarker research, combination immunotherapies, and precision medicine, will be introduced. In addition, current status and future perspectives of cancer immunotherapy will be discussed.

キーワード：免疫チェックポイント阻害薬、遺伝子改変 T 細胞療法、キメラ抗原受容体、バイオマーカー

Key words: Immune checkpoint blockade, Gene-modified T cell therapy, Chimeric antigen receptor (CAR), Biomarker

谿口 征雅

Yukimasa TANIGUCHI

大阪大学蛋白質研究所/株式会社 マトリクソーム

Institute for Protein Research, Osaka University /
MATRIXOME, Inc.

我々の体を構成する上皮細胞、筋細胞、神経細胞などは基底膜に接着し、基底膜の情報を読み取ることでその機能を発揮する。基底膜は細胞の生存を促すと同時にその挙動（遊走や極性化など）や運命決定（分化）の制御に深く関与している。このような基底膜の機能の中核を担っている分子がラミニンである。ラミニンによる細胞制御シグナル伝達の起点は細胞膜受容体インテグリンによるラミニンへの結合であるが、このラミニンとインテグリンの相互作用に関する分子メカニズムは不明な点が多く残されている。ラミニンは α 鎖/ β 鎖/ γ 鎖からなるヘテロ3量体分子であり、先行研究から α 鎖C末端側に存在する球状(G)ドメインがインテグリン結合部位の有力候補として挙げられている。しかし、Gドメインだけではインテグリン結合活性を発揮することができない。この点に注目し、我々は γ 鎖C末端から3番目に位置するGlu残基がラミニンのインテグリン結合活性に強く関与することを見出した。現在、『 α 鎖Gドメインと γ 鎖Glu残基がインテグリン結合部位を形成する』という仮説を立て、その検証を進めている。本発表では、構造的・生化学的手法で明らかとしたラミニン-インテグリン間相互作用に関する我々の研究成果を紹介したい。

Laminin family proteins, a member of basement membrane components, are heterotrimeric molecules composed of α , β , and γ chains. Laminins show strong cell adhesive activities. Cells attach to laminins via cell surface receptors, integrins. The laminin-integrin interaction elicits signals that promote cell survival, polarization, and so on. Despite the physiological importance of the laminin-integrin interaction, the molecular mechanism of the interaction remains unsolved. Several lines of evidence show that the C-terminal globular (G) domain of α chain is a prime candidate for the integrin-binding site. However, the G domain *per se* is not sufficient for recapitulating the binding activity to integrin. Previously, we found that a Glu residue at the third position from the C-terminus of γ chain was required for the integrin recognition by laminins. The Glu residue is highly conserved across species (from nematode to mammals), suggesting the importance of the Glu residue in the integrin binding by laminins. Given the accumulating evidence, we hypothesized that the G domain of α chain and the C-terminal Glu residue of γ chain form a composite binding interface for integrins. In this seminar, we will present our current findings and discuss our recent model on the laminin-integrin interaction.

藤田 和将

Kazumasa Fujita

大阪大学蛋白質研究所、
株式会社ニッピ バイオマトリックス研究所

Institute for Protein Research, Osaka University
Nippi Research Institute of Biomatrix

再生医療における活用が期待されている多能性幹細胞であるが、医療応用を実現するためには安全性を確保した培養基材が求められる。従来、多能性幹細胞の維持や拡大、分化誘導にはマウスに由来するフィーダー細胞やマトリゲルが使用されてきた。しかしながら、これらの培養基材は異種動物由来成分の混入を避けることができず、医療応用には不適である。そこで、京都大学と大阪大学のグループはラミニン 511E8 断片を用いることで、異種動物由来成分を含まないフィーダーフリー条件での多能性幹細胞の培養法を開発した (Miyazaki et al., 2012; Nakagawa et al., 2014)。ラミニン 511E8 断片は(株)ニッピが iMatrix-511 として製品化した。(株)ニッピでは生物由来原料基準に適合した安全性の高い製造体制を整備した。具体的には、バイオ医薬品製造に広く使われている CHO (Chinese hamster ovary) 細胞を用いて、ウイルスやマイコプラズマの汚染がないラミニン E8 断片の安定発現株を樹立した。そして、ウイルスなどの万が一の混入を防ぐための精製工程を確立した。本発表では、これらの安全性を確保した製造における取り組みを紹介する。加えて、最近明らかにされつつある多能性幹細胞の分化誘導系での各種ラミニン E8 断片の有用性についても報告する。

Although pluripotent stem cells are expected to be valuable in regenerative medicine, culture substrates for clinical use are necessary to realize medical treatment using these cells. Traditionally, mouse fibroblast cells and Matrigel derived from Engelbreth-Holm-Swarm tumor are used as culture substrates for expansion and differentiation of pluripotent stem cells. However, these animal-based culture substrates are not suitable for clinical use due to its inherent contamination by its animal components. Research groups at Kyoto University and Osaka University have developed a culture method of pluripotent stem cells under feeder-free and xeno-free conditions by using the laminin 511 E8 fragment (Miyazaki et al., 2012; Nakagawa et al., 2014). The laminin 511 E8 fragment has been commercialized by Nippi, Incorporated as iMatrix-511 which is compatible with Japanese standards for biological ingredients. We established a stable Chinese hamster ovary (CHO) cell line for manufacturing the laminin 511 E8 fragment that is not contaminated by various viruses and mycoplasma. In addition, we established a purification procedure to reduce possibility of contaminations. In this luncheon seminar, we will show you the approach for manufacturing with consideration for safety and the effectiveness of the E8 fragments of laminin isoforms as culture substrates for differentiation of pluripotent stem cells.

キーワード： 多能性幹細胞、培養基質、ラミニン

Key words:

ヒアルロン酸 (HA) の作用と各種疾患における HA 分解酵素 HYBID (Hyaluronan binding protein involved in hyaluronan depolymerization, KIAA1199) の役割

岡田保典

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

生体内には約 275 種類の細胞外マトリックス (ECM) 分子が存在し、コラーゲン、エラスチン、プロテオグリカン、細胞接着性糖タンパク質の各群に大別されている。ヒアルロン酸 (HA) はグルクロン酸と N-アセチルグルコサミンの二糖繰り返し構造からなるグリコシアミノグリカンで、ECM 中でも最も単純な構造を示し、プロテオグリカン群に属する。全身のほぼ全ての組織に含まれ、特に関節液、関節軟骨、皮膚、硝子体では主要成分をなしている。正常組織では分子量 100 -1000 万の高分子 HA として存在し、保水作用による粘弾性維持、ショックアブソーバー作用、抗炎症・抗血管新生、細胞内シグナル伝達など生体内の恒常性維持に重要な役割を果たしており、炎症、悪性腫瘍、変性疾患などでは分解により低分子化することで、上記とは逆の作用を示す。したがって、高分子 HA 分解制御は組織破壊性疾患の予防や治療の観点から重要である。我々は、花王株式会社との共同研究で、HA 分解活性を有する HYBID を同定し、皮膚や滑膜線維芽細胞で HA 分解に中心的な役割を果たすことを実証してきた。また、ノックアウトマウスや変形性関節症 (OA) での解析から、軟骨組織や滑膜組織における HA 分解を通して、HYBID が OA 関節軟骨破壊や関節液中 HA 低分子化に関わることを明らかにした。さらに、光老化皮膚症状 (シワやたるみ) にも HA 低分子化と HYBID 発現亢進が関与することを認めており、高齢者に発症する後部硝子体剥離への関与も想像される。高分子 HA は関節内注入による OA 治療、皮膚シワ治療、内視鏡的手術時粘膜隆起剤、癒着防止フィルム、化粧品などで広く臨床応用されている。本講演では、我々のデータを中心に、HA の作用や分解および臨床応用の現状について概説する。

キーワード： ヒアルロン酸、分解、疾患、治療

Function of hyaluronan (HA) and roles of HYBID (Hyaluronan binding protein involved in hyaluronan depolymerization, KIAA1199) in various diseases

Y. Okada

Department of Pathophysiology for Locomotive and Neoplastic Diseases, Juntendo University Graduate School of Medicine

Extracellular matrix (ECM) is classified to collagens, elastin, proteoglycans and cell adhesive glycoproteins and composed of about 275 molecules in our body. Hyaluronan (HA) is a glycosaminoglycan consisted of the repeating disaccharide structure of glucuronate and N-acetylglucosamine, one of the simplest ECM molecules. HA is widely distributed in almost all organs, showing the major component in synovial fluid, articular cartilage, skin and vitreous body. In normal tissues, HA is present as high-molecular-weight species of 1,000 – 10,000 kDa and plays a key role in maintaining tissue integrity, exhibiting viscoelasticity, shock absorber, anti-inflammatory and anti-angiogenic activity and cell signaling. Under pathological conditions such as inflammation and cancers, it is degraded into lower-molecular-weight species, which show adverse effects. Thus, regulation of HA depolymerization is important for prevention of tissue destruction and treatment of patients. By collaboration with Kao corporation, we have identified HYBID as HA degrading molecule and it is indispensable for HA degradation in skin and synovial fibroblasts. Our studies on HYBID knockout mice and osteoarthritic cartilage and synovium showed that HYBID is implicated in cartilage destruction and HA depolymerization in osteoarthritis. HA degradation and HYBID expression were also involved in photoaged skin symptoms. HA has been used for patients with osteoarthritis, subjects with skin wrinkling and sagging, endoscopic mucosal resection and as a cosmetic material. In my talk, I will outline recent progress of studies on HA and its degradation and also mention on clinical application of HA.

Key words: hyaluronan, degradation, diseases, treatment

第1日目 6月29日(金)

15:00 ~ 16:00

シンポジウム【がんにおける微小環境と相互作用】

(Symposium: Cancer Microenvironment and Cellular Interactions) ——— SY 1

座長 廣畑 聡 (岡山大学 大学院 保健学研究科 検査技術科学分野)

望月 早月 (防衛医科大学校 外科学講座)

SY1-1 大腸癌におけるdesmoplastic reaction (DR) の組織学的分類 20分

Histological categorization of desmoplastic reaction (DR) in colorectal cancer (CRC)

上野秀樹¹、神藤英二¹、梶原由規¹、望月早月¹、末山貴浩¹、阿尾理一¹、島崎英幸²、
橋口陽二郎³、石黒めぐみ⁴、金光幸秀⁵、関根茂樹⁶、杉原健一⁷

¹防衛医科大学校 外科学講座、²防衛医科大学校 臨床検査医学、³帝京大学 外科学講座、

⁴東京医科歯科大学大学院 応用腫瘍学講座、⁵国立がん研究センター中央病院 大腸外科、

⁶国立がん研究センター研究所 分子病理分野、⁷東京医科歯科大学

SY1-2 MT1-MMPによるEphA2の限定分解(プロセッシング)を介した がん悪性化進展制御の分子機序の解明 20分

Proteolytic processing of EphA2 by MT1-MMP converts it from a tumor suppressor to an oncoprotein

越川直彦

神奈川県立がんセンター臨床研究所 がん生物学部

SY1-3 CD147 promotes progression of cholangiocarcinoma cells via regulating expressions of monocarboxylate transporters 1/4 in through AKT/FOXO3/NF-kB pathway 20分

P. Dana^{1,2,3}, K. Vaeteewoottacharn^{1,2}, R. Kariya³, S. Okada³, S. Wongkham^{1,2}

¹Department of Biochemistry,

²Cholangiocarcinoma Research Institute, Faculty of Medicine,
Khon Kaen University, Khon Kaen, Thailand,

³Division of Hematopoiesis, Center for AIDS Research, Kumamoto University,
Kumamoto, Japan

大腸癌における desmoplastic reaction (DR) の組織学的分類

上野秀樹¹、神藤英二¹、梶原由規¹、望月早月¹、末山貴浩¹、阿尾理一¹、島崎英幸²、橋口陽二郎³、石黒めぐみ⁴、金光幸秀⁵、関根茂樹⁶、杉原健一⁷

¹ 防衛医科大学校 外科学講座

² 防衛医科大学校 臨床検査医学

³ 帝京大学 外科学講座

⁴ 東京医科歯科大学大学院 応用腫瘍学講座

⁵ 国立がん研究センター中央病院 大腸外科

⁶ 国立がん研究センター研究所 分子病理分学

⁷ 東京医科歯科大学

様々な癌腫の基礎研究において、癌微小環境の生物学的悪性度への関与の重要性を示すエビデンスが示されている。DR は癌の浸潤に伴う線維増生の病理学的所見であるが、HE 病理標本上において DR 先進部に特異的に出現するヒアリン化した collagen 束と myxoid 間質の出現を基準に mature、intermediate、immature に分類することができる (Ueno H, *et al.* Gut 2004)。

この DR 分類は大腸癌の良好な予後指標となり、TNM 分類をはじめとする腫瘍因子よりも強い予後分別能を示すことが多施設前向き臨床試験 (SACURA trial) を含む複数の臨床研究において示されている。これまでの基礎研究により、最も予後不良な臨床転帰に関連する immature な癌間質の特徴は、新生血管や浸潤する免疫担当細胞が乏しく、fibronectin、tenascin、periostin といった pro-tumor に働く蛋白が発現し、分離培養された線維芽細胞では ADAM9, -10, and -17 mRNA の発現が高いことが明らかとなっている。更に preliminary な検討結果ではあるが、術前化学放射線治療に対する治療抵抗性に関与する可能性も示されている。

線維性癌間質にはその多寡や腫瘍/間質比を基準とした既存の分類があるが、臨床的有用性に乏しい。癌先進部における癌関連線維芽細胞 (CAF) の機能を反映すると想定される本 DR 分類には、新たな予後指標としての役割が期待されるのみならず、基礎研究で明らかになりつつある CAF の癌生物学への関与を外科学病理学体系に翻訳する手段となり得る点で期待され、分子生物学的背景の解明を意図した今後の研究成果が望まれる。

キーワード：線維性間質反応 (DR)、癌関連線維芽細胞 (CAF)、大腸癌

Histological categorization of desmoplastic reaction (DR) in colorectal cancer (CRC)

H Ueno,¹ E Shinto,¹ Y Kajiwara,¹ S Mochizuki,¹ T Sueyama,¹ T Ao,¹ H Shimazaki,² Y Hashiguchi,³ M Ishiguro,⁴ Y Kanemitsu,⁵ S Sekine,⁶ K Sugihara.⁴

Departments of Surgery¹ and Laboratory Investigation², National Defense Medical College; Department of Surgery, Teikyo University School of Medicine;³ Department of Translational Oncology, Tokyo Medical and Dental University;⁴ Colorectal Surgery Division⁵ and Molecular Pathology Division⁶, National Cancer Center Research Institute; Tokyo Medical and Dental School⁷

Growing evidences have suggested the great impact of microscopic cancer environment in determining the biological behavior of various malignant tumors. DR refers to the formation of excessive fibrosis surrounding invasive tumor cells. Based on the distinctive products of activated fibroblasts, i.e., hyalinized collagen bundles and myxoid stroma, both appear exclusively at the desmoplastic front, DR is categorized as mature, intermediate, or immature on HE-stained glass slides of CRC (Ueno H, *et al.* Gut 2004).

This system has been demonstrated to have a greater prognostic power than that of tumor factors, including TNM stage, in some clinical settings (SACURA trial), including a prospective multicenter study. To date, we understand that immature stroma, a DR category associated with adverse prognostic outcome, is characterized by hypovascular and restricted distribution of immune cells, abundant tumor-favor ECM components including periostin, and highly expressed ADAM9, -10, and -17 mRNA in fibroblasts. In addition, our previous study suggested that immature DR was associated with poor pathological response after chemoradiotherapy.

Our histological DR categorization may pave the way in not only improving prognostic prediction but in understanding stromal contribution to cancer biology through activated function of cancer-associated fibroblasts (CAF) in pathological practice. Further investigations to disclose its molecular background will better determine the value of characterizing desmoplasia at the tumor front.

Key words: desmoplastic reaction (DR); cancer-associated fibroblasts (CAF); colorectal cancer (CRC)

MT1-MMPによるEphA2の限定分解(プロセッシング)を介したがん悪性化進展制御の分子機序の解明

越川直彦

神奈川県立がんセンター臨床研究所 がん生物学部

Matrix metalloproteinases (MMPs) は、がん増殖、生存、浸潤・転移などのがん悪性形質の獲得に重要な役割を担う細胞外プロテアーゼである。Membrane type-1 MMP (MT1-MMP) は I 型の膜型 MMP のプロトタイプである。MT1-MMP は正常上皮では殆ど発現せず、がんの悪性化に伴いその発現を亢進するため、がん悪性化の動力源と考えられている。しかし、その詳細な分子機序の解明には至っていない。そこで、我々は MT1-MMP が膜上で形成する微小環境に着目し、MT1-MMP が様々な膜蛋白質と複合体を形成すること、また、膜蛋白質の限定分解(プロセッシング)でそれらの機能を制御し、悪性形質の獲得に寄与することを見いだした。

本発表では、我々が見出した、MT1-MMP による膜型チロシンキナーゼの EphA2 のプロセッシングが、1) EphA2 のリガンド依存的な Tyr⁵⁹⁴ のリン酸化を介したがん抑制シグナルを遮断すること、また、2) N 末端のリガンド結合部位を欠損した EphA2 は EGF 受容体下流の AKT や RSK による Ser⁸⁹³ のリン酸化を受け、低分子 GTPase を活性化させることで、細胞運動、薬剤耐性、細胞死回避等の悪性形質を獲得するための新たな分子機序を見いだしたので報告する。

さらに、MT1-MMP の EphA2 プロセッシングはその N 末端断片を細胞外に産生・遊離する。そこで、この遊離断片に対する特異抗体を作製し、種々のがん患者血清中の本遊離断片を ELISA で検出した。その結果、本遊離断片は健常人血清と比較し、膵がんや胃がんの血清で高頻度に検出された。

以上、本研究では、1) EphA2 を標的としたがん治療において、真の標的はリガンドに結合する野生型 EphA2 ではなく、MT1-MMP のプロセッシングで生じるリガンド結合能を欠損した C 末端 EphA2 断片であること、さらに、2) MT1-MMP によるプロセッシングで遊離する N 末端 EphA2 断片はがん診断の新たなバイオマーカーになる可能性を明らかとした。これら知見はシグナル分子ではない MT1-MMP によるがん悪性化進展制御の一端を明らかとし、また、EphA2 を標的としたがん治療法、診断法、分子標的薬の開発に重要な手がかりとなる。

Proteolytic processing of EphA2 by MT1-MMP converts it from a tumor suppressor to an oncoprotein

N. KOSHIKAWA

Division of Cancer Cell Research, Kanagawa Cancer Center Research Institute

Eph receptor tyrosine kinases are considered candidate therapeutic targets in cancer but they can exert opposing effects on cell growth. In the presence of its ligands, the Eph receptor EphA2 suppresses signaling by other growth factor receptors, including ErbB, whereas ligand-independent activation of EphA2 augments ErbB signaling. To deploy EphA2 targeting drugs effectively in tumors, the anti-oncogenic ligand-dependent activation state of EphA2 must be discriminated from its oncogenic ligand-independent state. Since the molecular basis for the latter is little understood, we embarked on a study of how the activation state of EphA2 can be switched in tumor tissue. We found that the ligand-binding domain of EphA2 is cleaved frequently by the membrane metalloproteinase MT1-MMP, a powerful modulator of the pericellular environment in tumor cells. EphA2 immunostaining revealed a significant loss of the N-terminal portion of EphA2 in areas of tumor tissue that expressed MT1-MMP. Moreover, EphA2 phosphorylation patterns that signify ligand-independent activation were observed specifically in these areas of tumor tissue. Mechanistic experiments revealed that processing of EphA2 by MT1-MMP promoted ErbB signaling, anchorage-independent growth and cell migration. Conversely, expression of a proteolysis-resistant mutant of EphA2 prevented tumorigenesis and metastasis of human tumor xenografts in mice.

Furthermore, a preliminary study using clinical specimens showed EphA2 fragment that is released by the proteolysis was frequently detected in sera obtained from pancreatic carcinomas but not in that of healthy volunteers. Overall, our results showed how the proteolytic state of EphA2 in tumors determines their effector function and may serve as a biomarker for targeted therapy.

SY1 - 3

CD147 promotes progression of cholangiocarcinoma cells via regulating expressions of monocarboxylate transporters 1/4 in through AKT/FOXO3/NF- κ B pathway

P. Dana^{1,2,3}, K. Vaeteewoottacharn^{1,2}, R. Kariya³, S. Okada³, S. Wongkham^{1,2}

¹Department of Biochemistry, ²Cholangiocarcinoma Research Institute, Faculty of Medicine, Khon Kaen University, Khon Kaen, Thailand,

³Division of Hematopoiesis, Center for AIDS Research, Kumamoto University, Kumamoto, Japan

[Objective] Cancer cells have high glycolytic rate and high lactic acid production, which is exported via monocarboxylate transporters (MCT-1/MCT-4). CD147 or extracellular matrix metalloproteinase inducer (EMMPRIN) serves as the chaperone for fully function of MCTs. This study is aimed to reveal the molecular mechanism by which CD147 promotes cell progression via regulating expressions of MCTs 1/4. [Methods] The expressions levels of CD147, MCTs 1/4 in human CCA tissues were determined using immunohistochemistry. CRISPR cas-9 system was used to establish two CD147 knockout clones (CD147 KO) in a CCA cell line. Cell migration and invasion were determined using Boyden chamber assay. Expressions of target proteins were determined using western blotting. [Results] CD147, MCTs 1/4 were overexpressed in CCA tissues compared with the normal bile duct cells. Depleted CD147 expression significantly decreased migration and invasion abilities together with reduction of pAkt and MCTs 1/4 expressions in KO cells. The mechanism by which CD147 modulating the progression of CCA cells was shown to be via FOXO3 and NF- κ B. Knockdown of FOXO3 expression using siFOXO3 could reverse the migration/invasion abilities of the CD147-KO cells by increasing the expressions of MCT-1/MCT-4 and pp65. [Conclusion] CD147 enhances progression of CCA cells by activating Akt, which sequentially decreased FOXO3 activity that conversely increased NF- κ B and MCT-1/MCT-4 expressions.

Key words: CD147, MCTs, FOXO3

第1日目 6月29日(金)

16:10 ~ 17:55

シンポジウム【基礎と臨床の融合】

(Symposium: Integration of Basic and Clinical Studies) ————— SY2

座長 稲垣 豊 (東海大学 医学部 再生医療科学)

吉田 利通 (三重大学 大学院 医学系研究科 修復再生病理学)

SY2-1 【弾性線維と疾患】 (Elastic fiber and disease)

SY2-1 上葉優位型肺線維症 (Pleuroparenchymal fibro-elastosis, PPF) :

臨床 その特異な組織像と生理学的特徴 ◀ 20分

Pleuroparenchymal fibroelastosis : Its unique histology and physiology

渡辺憲太郎¹、木下義晃^{2,3}、石井寛²、鍋島一樹³

¹福岡大学医学部総合医学研究センター、²福岡大学病院呼吸器内科、

³福岡大学医学部病理学講座

SY2-1 弾性線維形成の分子機構 ◀ 20分

基礎 Molecular mechanism of elastic fiber assembly

中邨智之

関西医科大学薬理学講座

SY2-2 【骨格筋代謝と糖尿病】 (Skeletal muscle metabolism and DM)

SY2-2 運動は血糖コントロールのためのみならず ◀ 20分

臨床 Exercise is not only for glycemic control but also for ...

野見山崇、柳瀬敏彦

福岡大学医学部内分泌・糖尿病内科

SY2-2 Phenotypic change of skeletal muscle fiber after modulation of G α 13 ◀ 20分

基礎 Sang Geon Kim and Ja Hyun Koo

College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul, Korea

SY2-3 【心臓における線維化】 (Cardiac fibrosis)

SY2-3 心臓における筋線維芽細胞の本質

臨床 —どこから来て、どこへ行くのか— ◀ 20分

The true colors of myofibroblast in heart —where it comes, and where it goes—

芦田昇、木村剛

京都大学大学院医学研究科 循環器内科

SY2-3 心筋梗塞時の筋線維芽細胞による死細胞貪食 ◀ 20分

基礎 Phagocytosis of dead cells by myofibroblasts during myocardial infarction

仲矢道雄^{1,2}、黒瀬等¹

¹九州大学薬学研究院薬効安全性学分野、²AMED-PRIME

SY2-1 臨床

上葉優位型肺線維症 (Pleuroparenchymal fibro-elastosis, PPFE) : その特異な組織像と生理学的特徴

渡辺憲太朗¹、木下義晃^{2,3}、石井寛²、鍋島一樹³

¹福岡大学医学部総合医学研究センター、²福岡大学病院呼吸器内科、³福岡大学医学部病理学講座

2013年、特発性間質性肺炎(IIPs)の国際分類改定において特発性PPFEがIIPsの仲間入りをして以来、PPFEの認知度が高まった。PPFEは特発性肺線維症(IPF/UIP)と同じように、乾性咳や労作時呼吸困難が緩徐に出現し、拘束性換気障害を呈するので、これまでIPFと診断されていた症例も多いはずである。しかし、PPFEにおける線維化はUIPと大いに異なる。以下にPPFEの組織学的・生理学的特徴を列記する。

- 1) 線維化は両側上肺野の胸膜下に優勢である。
- 2) 膠原線維が肺胞内に充満している。急性肺傷害における肺胞内の滲出物の吸収が遷延し、膠原線維に置換された状態、いわば陳旧化した器質化肺炎とでもいふべき所見がある。
- 3) 膠原線維が充満した肺胞の壁を太い弾性線維がとり囲む。
- 4) 胸膜に向かうにつれて上記の肺胞構造がつぶれ、胸膜直下では肺胞構造が同定できず弾性線維の集簇だけが目立つようになる。
- 5) 扁平胸郭(胸郭の前後径/横径比が小さくなる状態)はPPFEにみられる特徴的な身体所見である。吸気の際の肺の伸展を妨げ、肺を押しつぶすことにより、PPFEの拘束性換気障害を一層著明にする。
- 6) 肺線維症としての肺の線維化に加えて、扁平胸郭にともなう肺の可動制限は、全肺気量の減少よりも努力肺活量の減少がより著明になり、残気率の上昇をきたす。
- 7) これらの病態は、胸郭の変形をきたし呼吸不全に陥る側弯症に類似する特徴である。

Pleuroparenchymal fibroelastosis: Its unique histology and physiology

K. Watanabe¹, Y. Kinoshita^{2,3}, H. Ishii², K. Nabeshima³

¹General Medical Research Center, ²Department of Respiratory Medicine, ³Department of Pathology, Fukuoka University School of Medicine

Since idiopathic PPFE became a member of idiopathic interstitial pneumonias (IIPs) of the revised international classification of IIPs in 2013, PPFE has been well known among pulmonologists. Since dry cough or exertional dyspnea occurs insidiously with restrictive ventilatory impairment in patients with PPFE as does in those with IPF/UIP, many patients with idiopathic PPFE were wrongly diagnosed as having IPF. However, fibrotic lesion in PPFE is different histologically from that in UIP. Histological and physiological characteristics in PPFE are as follows:

- 1) Fibrosis is dominant in subpleural areas of upper lobes.
- 2) Intra-alveolar collagenosis, which seems to be the result of unresolved resolution of organizing pneumonia.
- 3) Alveolar septal elastosis.
- 4) Toward the pleural surface, collagen-filled alveoli were gradually replaced by densely packed elastic fibers resulting from the collapse of the alveoli.
- 5) Flat chest (decreased ratio of anteroposterior diameter to transverse diameter of the bony chest cage), which is observed in patients with PPFE, impairs to expand lungs fully in inspiratory phase, resulting in compression of the alveoli and more remarkable restrictive impairment.
- 6) Flat chest-induced restricted movement of the lungs leads to severer decrease in forced vital capacity(FVC) than in total lung capacity(TLC) in addition to the increased residual volume(RV)/TLC.
- 7) These pathophysiologic characteristics in PPFE imitates those in patients with scoliosis showing chest wall deformity with respiratory insufficiency.

キーワード：上葉優位型肺線維症、弾性線維、膠原線維

Key words: pleuroparenchymal fibroelastosis(PPFE), elastic fibers, collagen fibers

SY2-1 基礎

弾性線維形成の分子機構

中邨智之

関西医科大学薬理学講座

弾性線維は肺、動脈、皮膚など伸縮性に富んだ組織に多くあり、その伸縮性を担う細胞外マトリックスである。弾性線維は加齢とともに劣化し、また炎症細胞の分泌するプロテアーゼによる分解もうけるが、ターンオーバーが極めて遅く、特に加齢組織では再生が困難である。弾性線維の劣化・分解によって肺気腫、動脈中膜硬化、皮膚のたるみなど老化に伴うさまざまな問題が引き起こされる。弾性線維形成の分子機構を理解し、加齢組織で弾性線維再生がおこらない原因を突き止めれば、多くの老化関連疾患の新たな治療法となる可能性がある。

弾性線維の形成には、ミクロフィブリル線維束の形成、エラスチンの凝集（コアセルベーション）、エラスチンのミクロフィブリルへの沈着、エラスチンどうしの架橋、というプロセスがある。ミクロフィブリルを形作るFibrillin、エラスチン、そして架橋酵素であるリシルオキシダーゼ、が重要なのはもちろんであるが、これら構成分子だけで勝手に弾性線維ができるわけではない。構成分子を弾性線維に組み立てるためにはFibulin-4, 5, LTBP-4などの分泌タンパクが必須であることが遺伝子改変マウス、細胞培養、生化学的実験を用いて明らかとなってきた。弾性線維がどのようにして組み立てられるのかについて、最新の知見を交えてオーバービューする。

Molecular mechanism of elastic fiber assembly

Tomoyuki Nakamura

Department of Pharmacology, Kansai Medical University

Elastic fiber is an extracellular matrix that confers resilience on elastic tissues, such as lungs, arteries, and skin. Elastic fibers deteriorates in the course of aging, and are also degraded by proteases secreted by immune cells. However, its turnover rate is extremely slow and it is difficult to regenerate elastic fibers especially in aged tissues. Deterioration or degradation of elastic fibers is a direct cause of emphysema, arteriosclerosis, or skin looseness. Understanding the molecular mechanism of elastic fiber assembly and identifying the reason why elastogenesis does not occur in aged tissues would lead to new therapeutic strategy to many aging-related diseases.

Elastic fiber assembly processes include microfibril bundle formation, self-aggregation (coacervation) of elastin, deposition of elasin onto microfibrils, and crosslinking of elastin. However, major components of elastic fibers such as elastin and fibrillin, or crosslinking enzyme, lysyl oxidase, are not sufficient to construct elastic fibers. Recent studies have revealed that several secreted proteins, such as fibulin-4, 5, and LTBP-4, are required for organizing the assembly of elastic fiber components. I will overview the recent progress in the roles of such organizing molecules in elastic fiber assembly.

キーワード：弾性線維、ミクロフィブリル、Fibulin

Key words: elastic fiber, microfibril, fibulin

SY2-2 臨床

運動は血糖コントロールのためのみならず

野見山崇、柳瀬敏彦

福岡大学医学部内分泌・糖尿病内科

糖尿病はわが国の国民病となった。全国で約一千万人を超える糖尿病患者がいることが推測され、成人の約6人に1人が糖尿病かその予備軍と言われている。糖尿病患者が爆発的に増加している要因として、過食や食生活の欧米化が注目されているが、自動車の普及などに伴う運動不足や身体活動量の低下も重要な課題である。わが国の糖尿病患者の平均 HbA1c が低下の一途をたどる一方で、肥満の指標である BMI (Body Mass Index) は上昇しており、肥満させないで血糖コントロールするために食事運動療法の徹底が重要といえる。運動療法による血糖コントロール改善作用には、インスリン抵抗性を改善しインスリン応答性の糖取り込みを改善する作用と、インスリン作用に依存せずに直接筋肉の糖取り込みを促進させる作用が知られているが、インスリン注射やインスリン分泌促進薬が体重を増やしながら血糖を下げるのに対し、運動は体重を低下させ、体組成を改善しながら血糖値を下げられることが最大の魅力である。なぜなら肥満糖尿病はがん発症の重大なリスク因子であり、近年のわが国の糖尿病患者の死因第一位はがんである。運動療法によって痩せながら血糖コントロールすることは、がんの発症進展を抑制しながら血糖コントロールをすることに繋がる。また、GLP-1 (glucagon-like peptide-1) をはじめとしたインクレチン作用が糖尿病治療薬として臨床応用されているが、運動療法は血中の IL-6 (Interlukin-6) を上昇させ、膵 α 細胞からのグルカゴン分泌を GLP-1 分泌へと変換し、血糖コントロールを改善している可能性が報告されている。さらに、GLP-1 受容体作動薬ががん細胞増殖を直接抑制していることを見出し報告してきた。以上のことから運動療法は血糖コントロールや肥満改善のみならず、がんの発症進展をも予防する可能性を秘めた生活習慣病のミラクルドラッグともいえる。

キーワード：糖尿病、運動療法、がん

Exercise is not only for glycemic control but also for

...

T. Nomiya, T. Tanase

Department of Endocrinology and Diabetes Mellitus, Fukuoka University, School of Medicine

Recently, diabetes mellitus has become national health problem and it is expected that we have more than 10 million patients with diabetes in Japan. As the reason why patients with diabetes is growing, much attention is focusing on overeating and western style diet. However, lack of exercise and physical activity is also critical risk factor contributing diabetes. Although average HbA1c is going down constantly, BMI of patients with diabetes is increasing. To achieve glycemic control without weight gain, we should thorough diet and exercise education in patients with diabetes. The mechanisms by which exercise reduces blood glucose level are improving insulin sensitivity following upregulation of insulin-induced glucose uptake and activation of direct glucose uptake into muscle. However, the most important effects of exercise could be reduction of body weight and improvement of body composition, while insulin and insulin secretagogues reduce blood glucose with weight gain. Current leading cause of death in Japanese patients with diabetes is cancer, and obesity and its' related pathophysiology, such as inflammation and hyperinsulinemia, are very critical risk factor of cancer. Accordingly, reducing both blood glucose and bodyweight by exercise will inhibit not only hyperglycemia but also cancer progression. In addition, it was reported that exercise changes glucagon secretion to GLP-1 secretion from pancreatic α cells through increasing serum IL-6 level to improve glycemic control. GLP-1 receptor agonist is popular anti-diabetic agent. Further, we have reported that GLP-1 receptor agonist attenuates cancer growth using prostate and breast cancer models. In conclusion, exercise might be a miracle drug of diabetes not only for glycemic control but also for cancer inhibition.

Key words: Diabetes Mellitus, Exercise, Cancer

SY2 - 2 基礎

Phenotypic change of skeletal muscle fiber after modulation of Gα13

Sang Geon Kim and Ja Hyun Koo

College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul, Korea

[Objective] Skeletal muscle is a key organ in energy homeostasis due to its large requirement for nutrients. Heterotrimeric G proteins serve as switches to potentiate or blunt adaptive responses to environmental change. In the present study, we show that Gα13 expression is coupled with metabolic status in muscle.

[Results] Muscle-specific Gα13 gene ablation drove oxidative conversion of myofibers accompanied by increases in mitochondrial biogenesis and cellular respiration. Mechanistically, Gα13 and its downstream effector RhoA greatly suppressed nuclear factor of activated T-cells 1 (NFATc1), a chief regulator of myofiber conversion, by Rho-associated kinase 2 (Rock2)-mediated phosphorylation on its Ser243 residue. Moreover, Ser243 phosphorylation of NFATc1 was markedly increased after exercise and decreased in diabetic patients or obese animal models. During high-fat feeding, Gα13 gene knockout significantly enhanced whole-body metabolism and energy expenditure, resisted against obesity and hepatic steatosis, and established insulin sensitivity not only in muscle but also in liver.

[Conclusion] Our results define a crucial role for Gα13 in systemic energy homeostasis and suggest that Gα13 modulation could lead to a new approach for the treatment of metabolic diseases.

Key words: Gα13; Rock2; NFATc1; muscle fiber type mitochondrial biogenesis.

SY2-3 臨床

心臓における筋線維芽細胞の本質 - どこから来て、どこへ行くのか -

芦田 昇、木村 剛

京都大学大学院医学研究科 循環器内科

筋線維芽細胞は大量の膠原線維を産生することにより線維化形成における中心的な役割を果たす細胞として周知されているが、実は筋線維芽細胞の定義はそれほど明確ではなく、またその由来も諸説が唱えられている。心臓研究の分野においては最近特に線維芽細胞がトピックとなっており lineage tracing などを用いた詳細な知見が蓄積しつつあるが、そこで改めて浮かび上がるのは筋線維芽細胞の立ち位置の不安定さである。そのような筋線維芽細胞の本質を探求することは線維化の形成される意味を再考することとなり、ひいては臨床的に極めて重要である線維化制御に繋がることが期待される。

本講演においては心臓における筋線維芽細胞について自験例も含めて最近の知見を review し、それがどこから来てどこに行くのか、そもそも筋線維芽細胞とはどのような細胞であるのかを再考するきっかけとしたい。

The true colors of myofibroblast in heart - where it comes, and where it goes -

Noboru Ashida, Takeshi Kimura

Kyoto University Graduate School of Medicine,
Department of Cardiovascular Medicine

It is widely accepted that myofibroblast plays a central role in fibrosis, but its character has not been fully unveiled, and even its definition is not fixed. In the recent cardiovascular research, fibroblast in the heart attracts more and more interest and detailed knowledge has been accumulated, however, the true colors of myofibroblast is more and more vague. It would be quite essential to investigate the real character and function of myofibroblast for regulating fibrosis.

I would like to review recent progress in the cardiac myofibroblast research including our data, and discuss where it comes from, and where it goes to.

SY2-3 基礎

心筋梗塞時の筋線維芽細胞による死細胞貪食

仲矢道雄^{1, 2}、黒瀬等¹

¹九州大学薬学研究院薬効安全性学分野、²AMED-PRIME、

心筋梗塞には、梗塞した血管に支配されていた心筋細胞が壊死する。これら壊死細胞は、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。この速やかな貪食は、死細胞からの内容物流出による炎症反応を抑制する等、心筋梗塞時の病態形成に極めて重要な役割を果たしている。しかしながら、心筋梗塞時における死細胞貪食の分子メカニズムは、これまでほとんどわかっていなかった。

そこで我々は、心筋梗塞モデル処置により、心臓において発現が増加する貪食関連分子を調べた。その結果、Milk fat globule EGF factor-8 (MFG-E8) という分子の発現量が、処置後に顕著に上昇する事を見出した。MFG-E8 とは、死細胞表面上に露出される phosphatidylserine と貪食細胞表面上の integrin $\alpha v \beta 3$ との橋渡しをして、貪食を促進する分子である。

次に、心筋梗塞時の心臓における MFG-E8 発現細胞を調べた所、MFG-E8 を発現するのは、組織の線維化を実行する、筋線維芽細胞であった。そこで我々は、MFG-E8 およびその産生細胞である、筋線維芽細胞が、心筋梗塞時の死細胞の貪食、さらには心筋梗塞後の心臓病態にどのように関与するのかについて研究を行った。

本発表ではそれらの成果および、死細胞の貪食と心疾患に関して我々が得つつある、新しい結果についても紹介したい。

Phagocytosis of dead cells by myofibroblasts during myocardial infarction

M. Nakaya^{1, 2}, H. Kurose¹

¹ Department of Pharmacology and Toxicology, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Kyushu University ; ² AMED-PRIME

In myocardial infarction, myocardial cells dominated by infarcted blood vessels undergo necrosis. These necrotic cells are promptly phagocytosed by phagocytic cells such as macrophages. Rapid phagocytosis plays an important role in the pathogenesis of myocardial infarction and suppresses inflammatory reactions caused by leakages from dead cells. However, the molecular mechanisms governing the phagocytosis of dead cells during myocardial infarction remain unclear.

We investigated molecules related to phagocytosis that showed increased expression levels in the heart after a myocardial infarction model treatment. We found that the expression levels of Milk Fat Globule EGF factor-8 (MFG-E8) markedly increased after treatment. MFG-E8 promotes phagocytosis by bridging the phosphatidylserine exposed on the surface of dead cells and integrin $\alpha v \beta 3$ on the surface of phagocytic cells.

We then determined the cell population that expressed MFG-E8 in infarcted hearts and found that myofibroblasts executing fibrosis expressed MFG-E8. We assessed how MFG-E8 and cells producing it (myofibroblasts) are involved in phagocytosis of dead cells during myocardial infarction and in cardiac conditions following myocardial infarction.

I will present our results on phagocytosis of dead cells in heart diseases.

キーワード：筋線維芽細胞、貪食、MFG-E8

Key words: Myofibroblasts, phagocytosis, MFG-E8

第2日目 6月30日(土)

9:30 ~ 10:00

KSMB-JSMBMシンポジウム (KSMB-JSMBM Joint Symposium) ————— KS

座長 野水 基義 (東京薬科大学 薬学部 病態生化学教室)

KS-1 Proteoglycans and Glycosaminoglycans in Aged and Photoaged Human Skin

Jin Ho Chung, M.D., Ph.D.

Department of Dermatology, Seoul National University College of Medicine, Seoul, Korea

KS-2 Role of CD25 on lymph node-fibroblastic reticular cells (LN-FRCs) in CD4 T cell differentiation

S-H. Lee, DE Kim, TW Kim, HJ Lee, M Kim

Graduate School of Medical Science and Engineering, Korea Advanced Institute of Science and Technology (KAIST), Daejeon, Korea

Jin Ho Chung, M.D., Ph.D.

Department of Dermatology, Seoul National University College of Medicine, Seoul, Korea

Collagen and elastic fibers are the most important structural components in the skin, and their changes during photoaging and intrinsic skin aging have been studied for long time. However, recovering the skin aging-related phenotypes seems still unpromising. Therefore, studying other components like glycosaminoglycans (GAGs) and proteoglycans (PGs) is necessary for better understanding of skin aging. To find important GAGs and PGs in skin aging process, changes of various GAGs and PGs in intrinsically aged and photoaged skin were investigated. In intrinsically aged skin, dermal content of total sulfated GAGs (tsGAGs) was reduced, compared with young adult, but dermal hyaluronic acid (HA) did not change. In contrast, tsGAG and HA contents were increased in photoaged skin, compared with intrinsically aged skin. For further analysis of sulfated GAGs, we developed a method for measuring each GAG content using GAG-degrading enzymes and tsGAG measuring kit, which can estimate contents of dermatan sulfate (DS), chondroitin sulfate (CS), keratan sulfate, and sum of heparin and heparan sulfate. In intrinsically aged skin, dermal DS and CS contents were significantly reduced, while in photoaged skin, all sulfated GAGs except DS showed increasing tendency compared with intrinsically aged skin. Among skin-abundant PGs, immunostaining revealed that decorin and biglycan were reduced in aged skin, but versican was accumulated. GAG chain lengths on decorin and biglycan were also reduced in intrinsically aged skin, while increased in photoaged skin. CS/DS synthesizing enzymes also showed similar patterns. Taken together, reduction of DS in intrinsically aged skin is due to the reduction of decorin and biglycan amounts and their GAG chain synthesis, and the increase of CS in photoaged skin seems to be related to the accumulation of versican. Therefore, these changes of GAGs and PGs in aged skin may participate in the development of aging-related phenotypes in intrinsically aged and photoaged skin.

Role of CD25 on lymph node-fibroblastic reticular cells (LN-FRCs) in CD4 T cell differentiation

S-H. Lee, DE Kim, TW Kim, HJ Lee, M Kim

Graduate School of Medical Science and Engineering, Korea Advanced Institute of Science and Technology (KAIST), Daejeon, Korea

Lymph node-fibroblastic reticular cells (LN-FRCs) not only provide functional structure to LNs, but also play an important role in the interaction between T cells and antigen-presenting cells. However, their roles in the differentiation of naive CD4 T cells remain unclear. Here, we report that FRCs in T cell zones of LNs express IL-2 receptor α chain (IL-2R α), CD25 only among hetero-trimer of IL-2R. LN-FRCs provide naive CD4 T cells with IL-2 in a *trans*-presentation manner through CD25, thereby facilitating early IL-2-mediated signaling. As LN-FRCs *trans*-presented IL-2 by CD25 to neighboring CD4 T cells, CD25-deficient LN-FRCs attenuated STAT5 phosphorylation of naive CD4 T cells. Furthermore, CD25-deficient LN-FRCs promoted T helper 17 (Th17) cell differentiation and induced expression of genes involved in Th17-mediated immune responses. Hence, Th17 cell-mediated inflammatory disease was markedly enhanced in mice lacking CD25 on LN-FRCs. Therefore, our results suggest that CD25 expression on LN-FRCs regulates CD4 T cell differentiation by modulating early IL-2-mediated signaling of neighboring naive CD4 T cells, and thus influences the overall property of the immune responses.

Key words: LN-FRCs, CD25, Th17 differentiation

第1日目 6月29日(金)

10:50 ~ 11:50

ワークショップ【マトリックスと細胞機能】(Workshop: Matrix and Cell Function) —— WS

座長 松本 嘉寛 (九州大学 医学部 整形外科)
柳沢 裕美 (筑波大学 生存ダイナミクス研究センター)

WS-1 Fibulin-7は腎尿細管石灰化に関与するヘパリン結合性マトリセルラータンパク質である
Fibulin-7 is a heparin binding matricellular protein that promotes renal tubular calcification in mice

常住淳¹、杉浦秀和²、Thang Bui Quoc³、黒尾誠⁴、柳沢裕美³

¹テキサス大学サウスウエスタン医学センター腎臓内科、

²東京女子医科大学第四内科、³筑波大学TARAセンター、

⁴自治医科大学分子病態治療研究センター

WS-2 細胞外マトリックス蛋白質polydomとリンパ管新生因子アンジオポエチン-2との相互作用メカニズムの解析

The molecular mechanisms underlying the interaction between extracellular matrix protein “polydom” and lymphangiogenic factor “angiopoietin-2”

佐藤(西内) 涼子、下野知性、諸岡七美、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

WS-3* 新規再生促進因子Opioid growth factor receptor-like 1 に着目したエクソソーム医療の基盤構築

Opioid growth factor receptor-like 1; an exosomal protein as a novel biomarker and the therapeutic means of fibrotic liver regeneration.

柳川享世¹、住吉秀明¹、中尾祥絵¹、笠原大瑚¹、近田裕美¹、紙谷聡英¹、横森昭弘²、稲垣豊¹

¹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、

²北里大学メディカルセンター 内科

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。

PLEKHM1-DEF8-RAB7 complex regulates lysosome positioning and bone homeostasis

藤原稔史¹、Shiqiao Ye²、松本嘉寛¹、中島康晴¹、Haibo Zhao²

¹九州大学整形外科、

²University of Arkansas for Medical Sciences

WS-5 I型コラーゲンの分泌およびプロセッシング過程の線維芽細胞におけるライブイメージング解析

Analysis for secretion and processing of type I collagen with live-imaging in fibroblast cells

田中利明¹、常長誠²、柳川享世³、茂呂忠^{3,4}、内山太郎²、上田修²、田川陽一¹、稲垣豊³、生駒俊之⁵

¹東京工業大学生命理工学院、²資生堂グローバルイノベーションセンター、

³東海大学医学部、⁴(株)ミノファーゲン製薬、⁵東京工業大学物質理工学院

WS-6 人工コラーゲン基材を用いたコラーゲン受容体のプロファイリング

Collagen receptor profiling for cell attachment by using artificial collagen

市瀬慎一郎、酒泉翔、鈴木遼太、小出隆規

早稲田大学先進理工学部化学・生命化学科

Fibulin-7 は腎尿細管石灰化に関与するヘパリン結合性マトリセルラータンパク質である

常住淳¹、杉浦秀和²、Thang Bui Quoc³、黒尾誠⁴、柳沢裕美³

¹テキサス大学サウスウエスタン医学センター腎臓内科、²東京女子医科大学第四内科、³筑波大学 TARA センター、⁴自治医科大学分子病態治療研究センター

【目的】異所性石灰化は慢性腎臓病に伴って発症し、予後の悪化と相関することが知られている。しかし詳細な発症機序と予防方法は未だ確立していない。Fibulin-7は弾性線維形成能を有する短鎖 Fibulin ファミリーに属するマトリセルラータンパク質で、歯芽組織の間葉系細胞やヘパリンと結合することが報告されている。また、先天性心不全症候群との関連も報告されているが、生体内における機能は明らかにされていない。我々は *in vitro* のドメイン解析と、ノックアウトマウスを用いた *in vivo* 解析により、Fibulin-7 の新たな機能を見出したので、報告する。【方法】Fibulin-7 のドメイン欠損株を強発現した CHO 細胞や 293T 細胞を用いて、ヘパリン結合ドメインを同定した。qPCR および *In situ* ハイブリダイゼーション法により、Fibulin-7 の組織分布を検討した。さらに Fibulin-7 欠損マウスを作製し、心血管や腎臓の組織学的観察、心エコー法による心機能の評価、高リン食による腎石灰化の影響を評価した。最後に人工的に作成したリン酸カルシウムの微小粒子 (artificial calcium phosphate particle :aCPP) と Fibulin-7 強発現細胞、ノックアウト細胞との結合実験を行なった。【結果】Fibulin-7 は腎尿細管に高発現し、アミノ基末端側の Coiled-coil ドメインを介してヘパリンに結合した。Fibulin-7 は細胞膜に主に分布し、ヘパリンにより培養液中に放出された。Fibulin-7 欠損マウスは弾性線維の異常や心機能低下は認められなかった。野生型と比べて、リン負荷による腎尿細管石灰化と間質線維化が軽度であった。Fibulin-7 発現量に比例して aCPP は細胞に結合した。【考察】Fibulin-7 は aCPP と結合し、腎尿細管石灰化を惹起する。ヘパリンは、腎尿細管細胞から Fibulin-7 を放出し腎石灰化を予防する新たな治療薬となる可能性がある。

キーワード：腎石灰化、ヘパリン、エラスチン

Fibulin-7 is a heparin binding matricellular protein that promotes renal tubular calcification in mice

Jun Tsunozumi¹, Hidekazu Sugiura², Thang Bui Quoc³, Makoto Kuro-O⁴, Hiromi Yanagisawa³

¹Division of Nephrology, UT Southwestern, ²Department of Medicine IV, Tokyo Women's Medical University, ³TARA Center, University of Tsukuba, ⁴Center for Molecular Medicine Jichi Medical University

Ectopic calcification occurs during development of chronic kidney disease and has a negative impact on long-term prognosis. The precise molecular mechanism and prevention strategies, however, are not established. Fibulin-7 (Fbln7) is a matricellular protein structurally similar to elastogenic short fibulins, shown to bind dental mesenchymal cells and heparin. Here, we report that Fbln7 is highly expressed in renal tubular epithelium in the adult kidney and mediates renal calcification in mice. *In vitro* analysis revealed that Fbln7 bound heparin at the N-terminal coiled-coil domain. In *Fbln7*-expressing CHO-K1 cells, exogenous heparin increased the release of Fbln7 into conditioned media in a dose-dependent manner. This heparin-induced Fbln7 release was abrogated in CHO-745 cells lacking heparan sulfate proteoglycan or in CHO-K1 cells expressing the *Fbln7* mutant lacking the N-terminal coiled-coil domain, suggesting that Fbln7 was tethered to pericellular matrix via this domain. Interestingly, *Fbln7* knockout (*Fbln7*^{-/-}) mice were protected from renal tubular calcification induced by high phosphate diet. Mechanistically, Fbln7 bound artificial calcium phosphate particles (aCPP) implicated in calcification and renal inflammation. Binding was decreased significantly in *Fbln7*^{-/-} primary kidney cells relative to wild-type cells. Further, overexpression of Fbln7 increased binding to aCPP. Addition of heparin reduced binding between aCPP and wild-type cells to levels of *Fbln7*^{-/-} cells. Taken together, our study suggests that Fbln7 is a local mediator of calcium deposition and that releasing Fbln7 from the cell surface by heparin/heparin derivatives or Fbln7 inhibitory antibodies may provide a novel strategy to prevent ectopic calcification *in vivo*.

Key words: Heparin, calcification, elastin

細胞外マトリックス蛋白質 polydom とリンパ管新生因子アンジオポエチン-2 との相互作用メカニズムの解析

佐藤 (西内) 涼子、下野知性、諸岡七美、
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

Polydom (別名 SVEP1) は 3500 アミノ酸以上の巨大な細胞外マトリックス(ECM)蛋白質である。当研究室で作製した polydom ノックアウト(KO) マウスは、重篤なリンパ浮腫を生じて出生直後に呼吸不全で死亡したことから、polydom はリンパ管の発生に重要な ECM であることを明らかにした(Circulation Res., 120, 1276-88, 2017)。KO マウスを解析する過程で我々は、polydom がリンパ管新生因子であるアンジオポエチン-2 (Ang2) と特異的に結合することを発見した。そこで polydom 上の Ang2 の結合部位の同定を試みた。

マウス polydom を N 末端側から削った欠損変異体をいくつか用いた解析により、21 番目の CCP ドメイン(CCP21)が Ang2 との結合に重要であることが明らかとなった。以前、ヒト polydom の CCP21 上では高血圧と関連する一塩基多型 (SNP) が報告されていた(N. Engl. J. Med., 374, 1134-44, 2016)。Ang2 は高血圧との関連も報告されており、SNP が報告されている箇所が Ang2 との結合に影響している可能性を我々は考えた。そこでマウスの CCP21 ドメインを単独で発現させた組換え体と、2699 番目の Asp (ヒトで SNP が報告されている 2702 番目の Asp に相当する)残基を置換した変異体を作製し、Ang2 との結合を解析した。ところが、Asp2699 変異は Ang2 との結合に影響はなかった。一方、CCP21 上の別のアミノ酸を置換した変異体をいくつか作製して解析したところ、CCP21 の N 末端側に存在する 2617 番目の His と 2619 番目の Asp を置換すると、Ang2 との結合がほぼ消失することがわかった。

以上から、ヒトの高血圧と関連する polydom CCP21 上の SNP は Ang2 との結合には関係ないこと、そして CCP21 上の His2617 と Asp2619 が Ang2 との結合に重要であることが明らかとなった。

The molecular mechanisms underlying the interaction between extracellular matrix protein “polydom” and lymphangiogenic factor “angiopoietin-2”

Ryoko Sato-Nishiuchi, Chisei Shimono,
Nanami Morooka, Kiyotoshi Sekiguchi

Division of Matrixome Research and Application, Institute
for Protein Research, Osaka University

Polydom (also named SVEP1) is a large extracellular matrix (ECM) protein having more than 3500 amino acids. Previously, we reported that polydom knockout (KO) mice showed severe lymph edema, and died immediately after birth due to the respiratory failure; thus polydom is an ECM essential for the development of lymphatic vessels (Circulation Res., 120, 1276-88, 2017). In this report, we found that polydom binds to the lymphangiogenic factor “angiopoietin-2 (Ang2)”. In this study, we tried to identify the Ang2 binding site on polydom.

Using a series of recombinant mouse polydom proteins with N-terminal deletions, we mapped the Ang2 binding site to the 21st CCP domain (CCP21). Previously, single nucleotide polymorphism (SNP) on CCP21 of human polydom has been shown to be associated with hypertension (N. Engl. J. Med., 374, 1134-44, 2016). Ang2 also has been shown to be associated with hypertension, thus, we predicted that the SNP may affect the Ang2 binding activity. Using recombinant mouse CCP21 protein and its mutants substituted of Asp2699 (corresponding to human SNP Asp2702), we investigated the effect of Asp2699 substitution on the Ang2 binding. Contrary to our prediction, the substitution of Asp2699 did not affect the Ang2 binding activity of CCP21. We also produced other substitution mutants, and demonstrated that substitution of His2617 and Asp2619 on the N-terminal region of CCP21 almost completely abrogated the Ang2 binding activity.

These results indicate that the SNP on polydom CCP21 is irrelevant to the Ang2 binding while His2617 and Asp2619 are critically involved in the Ang2 binding to CCP21.

キーワード： Polydom、アンジオポエチン-2

Key words: Polydom, Angiopoietin-2

新規再生促進因子 Opioid growth factor receptor-like 1 に着目したエクソソーム医療の基盤構築

柳川享世¹、住吉秀明¹、中尾祥絵¹、笠原大瑚¹、
近田裕美¹、紙谷聡英¹、横森昭弘²、稲垣豊¹

¹ 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、
² 北里大学メディカルセンター 内科

肝硬変症は、慢性炎症により進展した肝線維症の終末像であり、肝臓が本来持つ高い再生能力が失われる。一方、近年の研究により、肝炎ウイルスの制御など慢性炎症の原因を除去できれば肝線維症は可逆的な病態であることが明らかとなり、線維化進展を抑制しつつ傷害肝の再生を促進する新たな治療が望まれている。演者らは線維化改善・肝再生機序について一貫した研究を行う中で、骨髄細胞に由来する線維肝再生促進因子として **Opioid growth factor receptor like-1 (OGFRL1)** を新たに同定した。

四塩化炭素の反復投与により作製した肝線維症マウスに **OGFRL1** 発現細胞を投与すると、部分肝切除後の肝細胞への BrdU の取り込みが顕著に亢進した。この肝組織では α -fetoprotein や細胞周期関連因子の遺伝子発現が増加したことから、**OGFRL1** による肝前駆細胞の動員と細胞増殖の亢進が示唆された。また、マウスに四塩化炭素を単回投与すると、24 時間後の血清中エクソソーム分画に **OGFRL1** が一過性に検出された。この時期の肝組織では、壊死に陥った zone 3 を取り囲む zone 2 の肝細胞の細胞質内に **OGFRL1** が観察され、免疫電顕では肝細胞内の小胞に取り込まれたエクソソーム中に局在していた。次いで 48 時間後には、分裂中の肝細胞の染色体上に **OGFRL1** の局在が観察された。更に、この血清中エクソソームを精製して初代培養肝細胞へ添加すると、BrdU の取り込みが亢進した。

これらの結果から **OGFRL1** は、急性肝傷害時にエクソソームに内包されて一過性に末梢血中に分泌され、修復・再生マーカーとしての有用性と、**OGFRL1** 搭載エクソソームによる新規治療法の可能性が示唆された。

Opioid growth factor receptor-like 1; an exosomal protein as a novel biomarker and the therapeutic means of fibrotic liver regeneration.

Takayo Yanagawa¹, Hideaki Sumiyoshi¹, Sachie Nakao¹,
Daigo Kasahara¹, Hiromi Chikada¹, Akihide Kamiya¹,
Akihiro Yokomori², Yutaka Inagaki¹

¹ Center for Matrix Biology and Medicine,
Graduate School of Medicine, Tokai University
² Department of Internal Medicine,
Kitasato University Medical Center

Liver cirrhosis represents a consequence of chronic inflammation and fibrosis and its regeneration is severely impaired. Although liver cirrhosis was previously considered irreversible, recent studies have revealed that it can be reverted if the causes are removed. We have been studying the contribution of bone marrow (BM)-derived cells to the repair of fibrotic liver. We have previously identified opioid growth factor receptor like-1 (OGFRL1) as a novel bone marrow cells-derived accelerator of fibrotic liver regeneration.

Intrasplenic administration of OGFRL1-expressing cells into CCl₄-treated mice enhanced a BrdU incorporation in hepatocyte and induced hepatic gene expression of α -fetoprotein and cell cycle-related factors such as cyclins after partial hepatectomy, suggesting accelerated mobilization and proliferation of hepatic progenitor cells (HPCs). Twenty-four hours after a single CCl₄ injection, OGFRL1 protein was observed as characteristic dots in the cytoplasm of zone 2 hepatocytes that surrounded the damaged hepatocytes in zone 3. At this time point, OGFRL1 was detected transiently in the circulating blood as an exosomal protein. Forty-eight hours after a single CCl₄ administration, some of the immunoreactive OGFRL1 protein was located on chromosomes in the dividing hepatocytes. In addition, purified exosomes from a single CCl₄ treated mice sera enhanced an uptake of BrdU in primary hepatocytes.

OGFRL1 is suggested to be a novel biomarker and the therapeutic means of fibrotic liver regeneration.

キーワード：肝線維化、肝再生、エクソソーム

Key words: Liver fibrosis, Liver regeneration, Exosome

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。

藤原稔史¹、Shiqiao Ye²、松本嘉寛¹、中島康晴¹、
Haibo Zhao²

¹九州大学整形外科、

²University of Arkansas for Medical Sciences

【目的】骨格を主に構成する骨マトリックスは、末梢血の単球から分化した破骨細胞によって吸収されて、骨の恒常性が維持されている。破骨細胞の骨吸収能を調べるために、ライソゾームのアダプタータンパクの PLEKHM1 に着目した。 *Plekhm1* 遺伝子の変異はヒトとラットで破骨細胞のライソゾーム輸送と波状縁形成を阻害することで大理石病を有する。【方法】破骨細胞のライソゾーム分泌機構を調べるために、我々は C57BL/6J マウスで、*Plekhm1* 遺伝子を全細胞と破骨細胞選択的に欠損する遺伝子改変マウスをそれぞれ開発した。これらのマウスの骨構造をマイクロ CT と組織学的に *in vivo* で評価し、*in vitro* でこれらのマウスより培養し分化させた破骨細胞の機能を解析した。【結果】 *Plekhm1* 遺伝子改変マウスの骨成長は正常であった。全細胞と破骨細胞選択的 *Plekhm1* 欠損マウスはそれぞれ骨量が増加していた。 *In vitro* で、破骨細胞とアクチンリング、微小管形成は *Plekhm1* 欠損細胞でも正常であったが、骨吸収能は著しく低下していた。ライブセルイメージングを使用して、破骨細胞内のライソゾーム輸送を観察すると、ライソゾームの細胞内の拡散が低下し、分泌障害を認めた。免疫沈降とプロテオミクスにより、破骨細胞における PLEKHM1 と結合する新たなタンパクとして DEF8 と FAM98A、NDEL1 を同定した。さらに、DEF8 が PLEKHM1 とライソゾームを制御する低分子量 G タンパク RAB7 との結合を増強していることがわかった。FAM98A と NDEL1 は微小管に結合し、ライソゾームの輸送に関与していることが分かった。最後にこれらの遺伝子を shRNA でノックダウンするとライソゾームの分泌と骨吸収障害を認めた。 PLEKHM1 はこれらのタンパクと複合体を形成し、ライソゾームを波状縁に輸送し、骨吸収と骨代謝を制御していることが分かった。

キーワード：破骨細胞、骨吸収、骨マトリックス

PLEKHM1-DEF8-RAB7 complex regulates lysosome positioning and bone homeostasis

Toshifumi Fujiwara^{1,2}, Shiqiao Ye², Yoshihiro Matsumoto¹,
Yasuharu Nakashima¹, Haibo Zhao²

¹Department of Orthopaedic surgery, Kyushu University,

²University of Arkansas for Medical Sciences

[Objectives] To maintain bone homeostasis, bone matrix, which is mainly consisted of skeleton, is resorbed by osteoclast (OC) differentiated from peripheral monocyte. To investigate the resorption function of OC, we focused on a lysosome adaptor protein, PLEKHM1 (PLK1), whose mutation causes osteopetrosis, due to diminished lysosome trafficking and ruffled border formation in OC. [Methods] To elucidate the mechanism(s) by which PLK1 regulates lysosomal secretion in OC, we generated germline and Cathepsin K (CTSK)-Cre conditional PLK1 deficient C57BL/6J mice. We analyzed the bone structure by micro CT and histology (*in vivo*) and these OC function by *in vitro* culture isolated from these mice. [Results] All mice grew normally. Both PLK1 deficient mice increased bone mass. *In vitro*, OC, actin-ring, and microtubule formation were normal in PLK1 null OC. But, the resorptive capacity of PLK1 null OC was markedly reduced. Specifically, a series of morphological, functional, and live cell imaging studies revealed that loss of PLK1 abrogates the peripheral distribution of lysosomes and bone resorption. Using immunoprecipitation and mass spectrometry, we identified several novel PLK1 interacting proteins in OC, including DEF8, FAM98A, and NDEL1. Further, we determined DEF8 binding site of PLK1 and promoting the interaction with a lysosome-associated small GTPase RAB7. FAM98A and NDEL1 with PLK1 connects lysosomes to microtubules. Moreover, suppression of these genes in OCs by shRNAs dramatically inhibited lysosome secretion and bone resorption. [Conclusion] PLK1 comprising a molecular complex is indispensable for bone homeostasis in mice as is the case in rats and humans.

Key words: osteoclast, bone resorption, bone matrix

I 型コラーゲンの分泌およびプロセッシング過程の線維芽細胞におけるライブイメージング解析

田中利明¹、常長誠²、柳川享世³、茂呂忠^{3,4}、
内山太郎²、上田修²、田川陽一¹、稲垣豊³、生駒俊之⁵
¹東京工業大学生命理工学院、²資生堂グローバルイノベーションセンター、³東海大学医学部、⁴(株)ミノファゲン製薬、⁵東京工業大学物質理工学院

【目的】コラーゲンは、真皮、骨、靭帯、軟骨といった全身組織に存在し、全タンパク質の約 30% もの高い割合を占めるが、生合成過程に関する分子レベルでの情報が未だ乏しい。膠原病、関節リウマチ、肝硬変など組織線維症といった疾患ではコラーゲンの量的・質的な異常が報告されているものの、このことが発症機構解明を難しくしている原因の 1 つと考えられる。我々は、コラーゲンの分泌およびプロセッシングといった生合成過程の解明を目的として、コラーゲン・ライブイメージングシステムを開発した。今回は I 型コラーゲンでの結果を報告する。【方法】Preprocollagen $\alpha 1$ 鎖において EGFP および mCherry タグを付加できる部位を検討し、樹立細胞株 NIH3T3 細胞およびヒト線維芽細胞で発現させた。この蛍光コラーゲンを用いて、生化学的および顕微鏡によるイメージング解析などを行った。【結果・考察】Blue Native PAGE 解析により細胞内で蛍光コラーゲンを含む 3 重鎖以上が形成されていることを、また、電子顕微鏡観察により蛍光コラーゲンを含む細胞の外にコラーゲン線維が形成されていることを確認した。ライブイメージング解析では、trans-Goldi Network について、これまでに報告された cis-Goldi network と同サイズ程の大きさの分泌顆粒により細胞外へ運ばれる様子が観察された。プロセッシング過程については、既存の情報と異なり、プロコラーゲンの N 末端および C 末端のプロペプチドが、それぞれ異なる様式で切断され、異なる運命をたどることが明らかとなった。加えて、共焦点顕微鏡による光学的断層像の解析により、コラーゲンのプロセッシングおよび輸送過程において、鉛直軸に沿った細胞内の位置で機能分担が存在することを見出した。本コラーゲン・ライブイメージングシステムにより、これまで未解明であったコラーゲンの生合成メカニズムに関して分子レベルでの理解が大きく進むと期待される。

キーワード：コラーゲン、ライブイメージング
EphA2、MT1-MMP

Analysis for secretion and processing of type I collagen with live-imaging in fibroblast cells

T. Tanaka¹, M. Tsunenaga², T. Yanagawa³, T. Moro^{3,4}, T. Uchiyama², O. Ueda², Y. Tagawa¹, Y. Inagaki³, T. Ikoma⁵
¹Sch. of Life Sci & Tech., Tokyo Tech.; ²Shiseido Global Innovation Center; ³Faculty of Med. Tokai Univ.; ⁴Minophagen Pharm. Co.; ⁵Sch. of Materials & Chemical Tech., Tokyo Tech.

[Objective] Collagen is included in tissues such as dermis, bone, ligament and cartilage, constituting about 30% of protein content of a whole body. However, the process of its biosynthesis is not sufficiently understood at the molecular level, leading to the difficulty of dissolving pathogenic mechanisms of disorders such as collagenosis, rheumatoid arthritis and fibrosis including hepatic cirrhosis. We constructed a collagen live-imaging system to dissolve the process of its biosynthesis. Here, we investigated type I collagen with the system in fibroblast cells. [Methods] We searched some points, at which EGFP and mCherry tags can be added, in human preprocollagen type I alpha 1, and expressed the tagged protein in NIH3T3 cells and human fibroblast cells. These cells were subjected to biochemical analyses and live cell imaging analyses. [Results] Blue native PAGE analysis showed that the tagged collagen assembles into multimer more than trimer, and analyses with TEM and AFM showed that extracellular collagen fibers are formed by cells with the tagged collagen. Live cell imaging analyses showed that the tagged collagen is transported in trans-Golgi network (TGN) with large particles, which are nearly equal to those in cis-Golgi network (CGN) previously reported. C-propeptide of type I collagen was processed differently from N-propeptide in a cell. Also, live cell imaging analysis with a confocal microscope indicated that type I procollagen is processed in novel functional regions along with the vertical axis in a cell. With our collagen live-imaging system, the process of its biosynthesis is expected to be dissolved at the molecular level.

Key words: collagen, live cell imaging, protein processing

人工コラーゲン基材を用いたコラーゲン受容体のプロファイリング**Collagen receptor profiling for cell attachment by using artificial collagen**

市瀬慎一郎、酒泉翔、鈴木遼太、小出隆規

S. F. Ichise, S. Sakaizumi, R. Suzuki, T. 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

我々はこれまでに、化学合成ペプチドを重合することでゲル化する人工コラーゲンを開発し、天然コラーゲンのアミノ酸配列に存在するインテグリン結合配列 Gly-Phe-Hyp-Gly-Glu-Arg (Hyp: 4-hydroxyproline) を導入することによって人工コラーゲンを機能化できることを示した。

本大会ではインテグリンの他に知られるコラーゲン受容体であるディスコイジンドメイン受容体 (DDR)、シンデカンについても、これらがそれぞれ結合する天然コラーゲン上のアミノ酸配列を組み込むことで受容体特異的な細胞接着活性を付与することができることを示す。そして、この各受容体に結合する人工コラーゲンに対する細胞接着活性から、その細胞がコラーゲンを認識する際の各受容体の寄与の程度を調べることができる。本発表では種々のヒト細胞株を用いて調べた、コラーゲン受容体の使い分けパターンを紹介する。

加えて、これら人工コラーゲンが天然コラーゲンの機能解析に有用であることを確かめるため、我々は天然コラーゲンに見られる神経軸索再生活性がどのコラーゲン受容体の活性化によるものなのかを調べた。そこで、神経モデル細胞である PC12 細胞をインテグリン、DDR、シンデカンをそれぞれ活性化する人工コラーゲンの上で神経成長因子 (NGF) 存在条件で培養し、神経への分化と軸索伸長がどのように異なるのかを観察した。さらに、天然コラーゲンのように複数の受容体結合配列が共存していると、単独の場合とどのように異なるのかについても述べる。

Recently, we developed a synthetic peptide-based artificial collagen, and demonstrated its functionalization by incorporating a native collagen-derived integrin-binding sequence Gly-Phe-Hyp-Gly-Glu-Arg (Hyp: 4-hydroxy-proline).

In this symposium, we introduced other functional sequences that bind to other types of collagen receptor, such as discoidin domain receptors (DDRs) and syndecans, into the artificial collagen. By using such receptor-specific artificial collagen, we analyzed profiles of collagen-receptor usage that could differ according to cell types. In this presentation, we will show results of the profiling for various human cell lines.

We further investigated collagen-mediated signaling responsible for promoting differentiation and neurite outgrowth of PC12 cells, using the artificial collagen substrate. As a result, differentiation and neurite outgrowth were observed on an artificial collagen containing only integrin-binding sequence. This indicates that integrin activation is sufficient and activation of DDRs or syndecans is not essential for differentiation and neurite outgrowth. Possible crosstalks among collagen-receptors will be also discussed.

キーワード： コラーゲン、ペプチド、インテグリン

Key words: Collagen, Peptide, Integrin

一般演題（口演）

第1日目 6月29日(金)

- A1** 8:50～9:30 _____ A1-1*・A1-2・A1-3・A1-4
【組織リモデリング】 (Tissue Remodeling)
座長 村垣 泰光 (和歌山県立医科大学 病理学)
渡辺 研 (国立長寿医療研究センター 運動器疾患研究部)
- A2** 9:40～10:40 _____ A2-1*・A2-2*・A2-3*・A2-4*・A2-5*・A2-6*
【コラーゲン/炎症・線維化】 (Collagen/Fibrosis)
座長 住吉 秀明 (東海大学 医学部 再生医療科学、大学院マトリックス医学生物学センター)
座長 古松 毅之 (岡山大学大学院 医歯薬学総合研究科 生体機能再生・再建学講座 整形外科)
- A3** 13:00～13:50 _____ A3-1・A3-2*・A3-3*・A3-4・A3-5
【プロテオグリカン・ヒアルロン酸Ⅱ】 (Proteoglycan/Hyaluronic Acid)
座長 大橋 俊孝 (岡山大学大学院 医歯薬学総合研究科 分子医化学)
西田 佳弘 (名古屋大学 医学部附属病院 整形外科)

第2日目 6月30日(土)

- A4** 8:30～9:30 _____ A4-1*・A4-2*・A4-3・A4-4*・A4-5・A4-6*
【がん】 (Cancer)
座長 加藤 靖正 (奥羽大学 歯学部 口腔機能分子生物学講座 口腔生化学分野)
下田 将之 (慶應義塾大学 医学部病理学教室)

第1日目 6月29日(金)

- B1** 9:00～9:40 _____ B1-1*・B1-2*・B1-3・B1-4
【基底膜・ラミニン】 (Basement Membrane/Laminin)
座長 吉川 大和 (東京薬科大学 薬学部 病態生化学教室)
松本 健一 (島根大学 総合科学研究支援センター 生体情報・RI実験部門)
- B2** 9:50～10:40 _____ B2-1*・B2-2*・B2-3*・B2-4*・B2-5
【プロテオグリカン・ヒアルロン酸Ⅰ(分子・細胞)】 (Proteoglycan/Hyaluronic Acid (Molecule/Cell))
座長 中村 敏也 (弘前大学大学院 保健学研究科 生体検査科学領域)
吉田 浩之 (花王株式会社 生物科学研究所)
- B3** 10:50～11:50 _____ B3-1・B3-2・B3-3・B3-4・B3-5*・B3-6*
【創傷治癒・再生】 (Wound Healing/Regeneration)
座長 雑賀 司珠也 (和歌山県立医科大学 眼科学講座)
高原 照美 (富山大学 医学部 第三内科)
- B4** 13:00～13:40 _____ B4-1・B4-2*・B4-3・B4-4
【コラーゲン】 (Collagen)
座長 今村 保忠 (工学院大学 先進工学部 生命化学科)
小出 隆規 (早稲田大学 先進理工学部 化学・生命化学科 生物分子化学研究室)

釜付祐輔^{1, 2}、青山絵理子²、古松毅之¹、前原亜美¹、
山中信康³、西田崇⁴、久保田聡^{2, 4}、尾崎敏文¹、
滝川正春²

¹岡山大学 大学院医歯薬学総合研究科 整形外科、

²岡山大学 歯学部 先端領域研究センター、

³伊藤超短波株式会社、

⁴岡山大学 大学院医歯薬学総合研究科 口腔生化学分野

半月板は線維軟骨であり、辺縁 1/3 は血液の流入を認めるが、inner 領域は無血行野で関節軟骨様の特徴を示す。一方我々は、CCN2/CTGF の軟骨細胞増殖・分化促進効果や軟骨修復作用、低出力パルス超音波 (LIPUS) 刺激による軟骨細胞での CCN2 発現・産生誘導、アグリカンや II 型コラーゲンの発現亢進を見出してきた。そこで、LIPUS により CCN2 などの軟骨修復因子が誘導されることで半月板修復が促進されると仮説をたて、LIPUS が半月板に及ぼす影響について検証した。その結果、昨年の本学会では、ヒト半月板培養細胞に対する LIPUS 刺激により、inner 細胞では CCN2 の発現・産生および SOX9 の発現が上昇し、outer 細胞では CCN2 の発現・産生上昇すること、また *in vivo* 実験においても 6-9 週齢 SD ラット膝に対する LIPUS 刺激により、*Ccn2* は有意に発現上昇し、*Ccn3*, *Acan*, *Sox9*, *Col1a2*, *Col2a1*, *Vegf* も発現上昇傾向を示すことを報告した。そこで今回は、まず、LIPUS による細胞増殖・遊走に対する影響を評価した。その結果、ヒト半月板細胞に対する細胞増殖促進効果は認められなかったが、outer 細胞において遊走促進効果が認められた。次いで、7 週齢 SD ラットで両膝外側半月板 (LM) 断裂モデルを作成し、術後 7 日目から 1 および 4 週間毎日 LIPUS 刺激を与え治癒状況の評価したところ、断裂部での連続性は LIPUS 刺激膝でより良好であった。以上の結果から、LIPUS は半月板 inner 領域においては CCN2 などの軟骨修復因子を誘導することで細胞外基質産生を亢進し、outer 領域では細胞遊走を促進することで半月板修復効果を示す可能性が示唆された。

Yusuke Kamatsuki^{1, 2}, Eriko Aoyama², Takayuki Furumatsu¹,
Ami Maehara¹, Nobuyasu Yamanaka³, Takashi Nishida⁴,
Satoshi Kubota^{2, 4}, Toshifumi Ozaki¹, Masaharu Takigawa²

¹Okayama Univ. Grad. Sch. Dept of Orthopaedic Surgery

²Okayama Univ. Dental Sch. Adv. Res. Center for Oral and Craniofacial Sci.

³ITO Co. Ltd.

⁴Okayama Univ. Grad. Sch. Biochem. and Mol. Dentistry

In meniscus tissue which is fibrous cartilage, inner region is an avascular tissue and hence inferior in healing. We have demonstrated that CCN2/CTGF promotes proliferation and differentiation of chondrocytes, and repairs articular cartilage in osteoarthritis model; also our recent report showed LIPUS induces CCN2 expression and production in chondrocytes. From these findings, we hypothesized that LIPUS treatment promotes meniscus repair by inducing cartilage-repairing factors such as CCN2 and investigated the effect of LIPUS on meniscus cells and tissues. In cultured inner meniscus cells, *CCN2* and *SOX9* expression significantly increased after LIPUS treatment. In cultured outer cells, only *CCN2* expression increased. In *in vivo* experiments, LIPUS treatment significantly increased *Ccn2* expression in meniscus, also increased *Ccn3*, *Acan*, *Sox9*, *Col1a2*, *Col2a1* and *Vegf* expression slightly. In this presentation, we report that LIPUS promoted migration of human meniscus outer cells, but it had no significant effect on proliferation of human meniscus cells. In addition, we found that rat lateral meniscus radial tears which underwent LIPUS treatment for 1 or 4 weeks tended to heal better than those with no treatment. These findings suggest that LIPUS treatment would promote meniscus healing by inducing cartilage-repairing factors such as CCN2, formation of cartilage matrices such as aggrecan and collagen type II in inner cells, and migration of outer meniscus cells.

変性軟骨組織における Transthyretin 性アミロイド沈着の病態意義の検討

赤崎幸穂、松本嘉寛、後藤徳雄、居石卓也、倉員市郎、遠矢正和、中島康晴

九州大学整形外科

【目的】近年、加齢に伴う疾患群において、アミロイド生成蛋白の組織沈着の病的意義が注目され、その治療薬の開発が進んでいる。約 30 あるアミロイド生成性蛋白のうち、Transthyretin (TTR) が重要な生理活性を呈して、細胞機能異常や組織変性に深く関与することが報告されている。一方、変形性関節症 (OA) の軟骨組織においても、古くよりアミロイド沈着の報告はされているが、その病的意義についての詳細な検討は行われていない。本研究の目的は、年齢・変性程度で分類したヒト軟骨組織を解析し、軟骨変性過程でのアミロイド沈着の病態意義について解明することである。【方法】ヒト新鮮死体膝より採取した大腿骨顆部を若年正常軟骨、高齢正常軟骨、OA 軟骨の 3 群に分けた。軟骨組織と関節液中の TTR とアミロイドについて、免疫・組織学的に比較検討した。また、2 種類の recombinant TTR を使用して、ヒト軟骨細胞に対する TTR の生理活性作用を分子生物学的に解析した。【結果】Congo red 染色にて、OA 軟骨では、アミロイドの沈着を広範囲に認めた。また、OA 軟骨は、若年正常軟骨と高齢正常軟骨よりも有意に高率、広範囲に TTR の沈着を認めた。一方、関節液中の TTR 濃度は血清濃度と同程度であり、年齢や OA 程度で差を認めなかった。培養軟骨細胞においては、アミロイド原性 TTR により、アポトーシス誘導と IL6 や ADAMTS4 などの遺伝子発現の亢進を認めた。また、これら TTR の作用は、TLR4 や RAGE、p38MAPK を介することが示唆された。【考察】軟骨変性過程におけるアミロイドおよび TTR の沈着が OA 病態進行に深く関与することが示唆された。また、TTR が軟骨細胞の異化作用を刺激する生理活性を有することを明らかにした。

キーワード：変性軟骨、アミロイド

Transthyretin and Amyloid deposition in articular cartilage: a novel mechanism in the pathogenesis of osteoarthritis

Y Akasaki, Y Matsumoto, N Goto, T Sueishi, I Kurakazu, M Touya, Y Nakashima

Department of Orthopaedic Surgery, Kyushu University

[Objective] Amyloid deposits are prevalent in osteoarthritis (OA)-affected joints. The goals of this study were to define the dominant precursor and determine if the deposits had pathologic effects on cell and tissue function. [Methods] Amyloid deposition in normal and OA human knee cartilage was determined by Congo red staining. Transthyretin (TTR) in cartilage and synovial fluid was analyzed by immunohistochemistry and western blotting. The effects of recombinant amyloidogenic and non-amyloidogenic TTR variants were tested in human chondrocyte cultures. [Results] Normal cartilage from young donors did not contain detectable amyloid deposits but 58% (7/12) of aged normal cartilage and 100% (12/12) of OA cartilage samples showed Congo red staining with green birefringence under polarized light. TTR, located predominantly at the cartilage surfaces, was detected in all OA and a majority of aged, but not young normal cartilage. Chondrocytes did not contain significant amounts of TTR mRNA. Synovial fluid TTR levels were similar in normal and OA affected knees. In cultured chondrocytes, only an amyloidogenic TTR variant induced cell death and the expression of proinflammatory cytokines, and extracellular matrix degrading enzymes. The effects of amyloidogenic TTR on gene expression were mediated by Toll-like receptor-4 and p38 MAP kinase. TTR-induced cytotoxicity was inhibited by resveratrol, a plant polyphenol that stabilizes the native tetrameric structure of TTR. [Conclusion] The findings are the first to suggest that TTR amyloid deposition contributes to cell and extracellular matrix damage in articular cartilage in human OA.

Key words: osteoarthritis, amyloid

Thrombospondin-1を介した大動脈瘤血管壁の機械刺激応答

山城義人¹、Shin Seung Jae¹、Bui Quoc Thang²、
Caroline Antunes Lino³、柳沢裕美¹

¹筑波大学 生存ダイナミクス研究センター

²筑波大学 心臓血管外科

³サンパウロ大学 解剖学教室

血管壁は絶えずメカニカルストレス（血圧、シェアストレスなど）に晒されており、その制御機構の破綻が大動脈瘤などの血管病態を引き起こす事が提唱され始めている。我々は、上行大動脈瘤マウスモデルを用いて、コフィリンを介した細胞骨格のリモデリングが瘤形成に重要である知見を報告してきた（Yamashiro, *Sci. Signal.*, 2015）。また、横行大動脈縮窄術（TAC）による圧負荷の増大に伴って、細胞-基質間の相互作用を触媒する細胞外マトリクスThrombospondin-1 (TSP1) が上行大動脈で発現亢進する事、大動脈瘤病変でTSP1が過剰に亢進している事を見出したが、圧負荷応答におけるTSP1の役割と大動脈瘤形成へどのように関与するかの詳細は未だ不明である。そこで、生後30日目の大動脈瘤血管壁をTSP1抗体で免疫染色し、その局在を精査した。野生型の大動脈ではTSP1の発現はほとんど認められないのに対し、大動脈瘤では内皮細胞と内皮細胞近傍の平滑筋細胞に高発現していた。また、TSP1を遺伝的に欠損させると、コフィリンの不活性化を伴って大動脈瘤の形成が抑止された。血管平滑筋細胞を周期的伸展刺激下で培養するとTSP1が細胞接着斑と共局在することから、TSP1が細胞接着斑の形成あるいは分解に関与している可能性が考えられた。これらの結果から、TSP1が血管壁のメカニカルストレス応答に重要な役割を担い、大動脈瘤形成に関与している可能性が示唆された。今後、TSP1を標的とした新しい治療薬の開発が期待される。

Thrombospondin-1 promotes abnormal mechanosensing underling ascending aneurysm formation

Yoshito Yamashiro¹, Shin Seung Jae¹, Bui Quoc Thang², Caroline Antunes Lino³, Hiromi Yanagisawa¹

¹Life Science Center for Survival Dynamics, Tsukuba Advanced Research Alliance (TARA), University of Tsukuba

²Department of Cardiovascular Surgery, University of Tsukuba

³Department of Anatomy, University of Sao Paulo, Institute of Biomedical Sciences

The vessel wall is constantly responding to mechanical stress such as blood pressure and shear stress. Altered responses to mechanical stress are known to result in vascular diseases. We previously showed that smooth muscle cell (SMC)-specific deletion of fibulin-4 *in vivo* (SMKO) led to ascending aortic aneurysms with abnormal mechanosensing of SMCs and increased activity of cofilin and its phosphatase slingshot-1 (SSH1). However, the detailed mechanism of mechanosensing in the aortic wall and molecules involved in this process are not completely understood. To investigate the mechanism of mechanosensing in the aneurysmal wall, we examined the expression of Thrombospondin-1 (TSP1) known to be involved in cell-cell and cell-matrix interactions and also respond to mechanical stress in the aorta. Immunostaining for TSP1 using cross sections of the ascending aortas at postnatal day 30 showed that TSP1 was expressed in endothelial cells (ECs) and SMCs underneath ECs in SMKO, whereas the expression was almost undetectable in control aortas. In addition, SMKO mice on a TSP1-null background showed attenuated aneurysm phenotype and decreased activity of SSH1 and cofilin compared to SMKO alone. Furthermore, we found that cyclic stretch induced TSP1 secretion *in vitro* and co-localized with focal adhesion complex. These results suggest that TSP1 is upstream of SSH1-cofilin pathway and is involved in abnormal mechanosensing of the aneurysmal wall. Inhibition of TSP1 may offer a novel therapeutic strategy for treatment of ascending aortic aneurysms.

キーワード： 大動脈瘤、メカニカルストレス、

Key words: Aneurysm, Mechanical-stress, TSP1

A1-4

細胞による骨石灰化形成機構の解明

木原隆典、桑田裕太、内山大輝

北九州市立大学国際環境工学部

【目的】生物によるバイオミネラリゼーションは、単純なカルシウム塩の沈着と異なり、有機物質を利用して構造や形態を制御した高度な無機構造体形成過程である。我々は、生体外環境下で細胞によって形成される石灰化を通して、その形成制御機構を明らかにすることを目指している。本研究では、ラット間葉系幹細胞を骨分化条件下で培養した際に形成される骨石灰化組織の形成機構の解明を目指し研究を行った。

【方法】ラット間葉系幹細胞はラット大腿骨骨髓から採取した。骨分化はデキサメタゾン・アスコルビン酸・βグリセロリン酸を加えることで行った。石灰化はカルシウムイオン結合能を持つカルセインによって蛍光標識し観察した。

【結果と考察】ラット間葉系幹細胞を骨分化条件下で培養することで、生体内の骨組織と類似した三次元的な骨石灰化構造体が形成される。そこで、まずこの骨石灰化構造体の詳細をSEMによって観察した。培養基質底面では直接アパタイト層と思われる石灰化層が形成され、その上にはコラーゲン繊維が豊富に存在し、コラーゲン繊維にからまる形で球状の石灰化物である石灰化球が多数見られた。次にこれらの骨石灰化が培養のどの時期から形成されるのか、培養上清中に無機リン酸を添加し、石灰化形成を観察した。その結果、骨芽細胞分化4-7日程度で骨石灰化の形成起点が細胞層中に形成されると考えられた。この時、細胞のリン酸トランスポーターを阻害すると細胞による骨石灰化が完全に阻害された。このことより、骨石灰化形成起点は骨芽細胞初期に形成され、またそこでの石灰化形成はリン酸トランスポーターが必要であることがわかった。そのため、この領域では骨芽細胞分化初期の細胞膜性成分が石灰化の起点となり、そこでの石灰化形成が重要な第一段階であると考えられる。

Mechanism of mineralization formation by rat mesenchymal stem cells

T. Kihara, Y. Kuwada, T. Uchiyama

Dept. Life and Env. Engi., Faculty Env. Engi., University of Kitakyushu

[Objective] Biomineralization is a formation process of inorganic substance in organisms. This process is different from a simple calcium precipitation. The formation and structure of the mineralized tissues, such as bone and teeth, are highly regulated by cells. In this study, we aimed to clarify the regulatory mechanisms of the mineralization by osteogenic differentiated rat mesenchymal stem cells (MSCs).

[Methods] We obtained rat MSCs from rat femoral bone marrow. Rat MSCs were cultured with dexamethasone, ascorbic acid, and beta-glycerophosphate to differentiate into osteoblasts. The mineralization was fluorescence labeled with calcein.

[Results and discussion] Rat MSCs form mineralized tissue with three-dimensional orientation when they were cultured in osteogenic differentiation medium. Then, we firstly observed the mineralized tissue by SEM. On the dish surface, uniformed hydroxyapatite layer was constructed. Above the layer, there are many collagenous filaments with calcified nodules. Thus, the mineralized tissue consists of mainly 2 calcified layers. Then we examined when rat MSCs formed the mineralized nuclear on the dish surface. We added Pi into the osteogenic differentiation medium instead of beta-glycerophosphate. Rat MSCs formed mineralized nuclear tissue between 4-7 days of differentiated culture period. Next, we examined whether Pi transporter, Pit-1 involved the formation of mineralized tissue. When Pit-1 was inhibited, the mineralization of rat MSCs was disappeared. Thus, we assumed that membrane components would be a mineralized nuclear at the early process of the mineralized tissue formation of rat MSCs.

キーワード：石灰化、ラット間葉系幹細胞

Key words: Mineralization, rat MSC

電気刺激誘発性筋収縮運動の収縮様式の違いが骨格筋の線維化におよぼす影響

本田祐一郎^{1,2}、田中なつみ^{1,2}、梶原康宏³、片岡英樹²、坂本淳哉³、中野治郎³、沖田実²

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分野、

³ 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科理学療法学分野

これまでわれわれは、低酸素状態の惹起が不動に伴う骨格筋の線維化の発生メカニズムに関与することを明らかにしてきた。また、その治療戦略には血流促進作用のある電気刺激誘発性筋収縮運動が有効であることを報告してきた。一方、電気刺激誘発性筋収縮運動は刺激周波数によって単収縮と強縮といった異なる収縮様式が誘発できるが、骨格筋の線維化におよぼす影響については明らかになっていない。そこで、本研究ではラットの実験モデルを用い、この点について検討した。具体的にはラットを1) 対照群、2) 両側足関節を最大底屈位で4週間不動化する不動群、3) 不動の過程でヒラメ筋に単収縮を誘発する単収縮群、4) 同様に強縮を誘発する強縮群に振り分けた。そして、実験期間終了後は足関節背屈可動域を測定し、採取したヒラメ筋を用いて線維化関連分子の mRNA 発現量を検索した。結果、足関節背屈可動域は不動群、単収縮群、強縮群とも対照群より有意に低値であったが、この3群間では単収縮群、強縮群、不動群の順に高値を示した。また、線維化関連分子の HIF-1 α や TGF- β 1, α -SMA, タイプ I コラーゲンの mRNA 発現量は不動群、強縮群ともに対照群より有意に高値であったが、単収縮群と対照群の間には有意差を認めなかった。一方、タイプ III コラーゲン mRNA 発現量は対照群、単収縮群、強縮群に有意差を認めず、不動群はこれら3群より有意に高値を示した。以上の結果から、不動の過程で骨格筋に単収縮を誘発すると低酸素状態が緩和されるとともに、TGF- β 1 の発現抑制や筋線維芽細胞への分化ならびにコラーゲンの過剰産生が軽減できると考えられ、強縮よりも単収縮の収縮様式が不動に伴う骨格筋の線維化の治療戦略として有用であることが示唆された。

キーワード： 不動，線維化，筋収縮運動

Effects of difference in muscle contractile exercise with electrical stimulation on immobilization-induced muscle fibrosis

Yuichiro Honda^{1,2}, Natsumi Tanaka^{1,2}, Yasuhiro Kajiwara³, Hideki Kataoka², Junya Sakamoto³, Jiro Nakano³, Minoru Okita²

¹ Department of Rehabilitation, Nagasaki University Hospital

² Department of Locomotive Rehabilitation Science, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences

³ Department of Physical Therapy Science, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences

Our previous study indicated that hypoxia is related to the mechanism of immobilization-induced muscle fibrosis, and we showed that an electrical stimulation-induced muscle contractile exercise with promotion of blood flow was effective as a therapeutic strategy in suppressing hypoxia. However, twitch and tetanus were main muscle contractile modes, and the effects of difference in muscle contractile exercise on immobilization-induced muscle fibrosis were unknown. Therefore, we investigated this issue using an immobilized rat model. The detailed experimental procedure was as follows, rats were divided into 1) the control group, 2) immobilization group (with fixation of both ankle joints for 4 weeks), 3) twitch group (with twitch induced in the soleus muscle in the immobilization period), and 4) tetanus group (with tetanus induced in the soleus muscle in the immobilization period). Additionally, range of motion on ankle joint dorsiflexion was measured after the experimental period, and bilateral soleus muscles were used in the molecular biological analyses of fibrosis-related factor. The range of motion on dorsiflexion in the immobilization, twitch, and tetanus groups was significantly lower than that in the control group, and this parameter was higher in the twitch group than in the immobilization and tetanus groups. HIF-1 α , TGF- β 1, α -SMA, and type I collagen mRNA expressions were significantly higher in the immobilization and tetanus groups than in the control group; all parameters in the control and twitch groups showed no significant difference. Moreover, type III collagen mRNA expression was significantly higher in the immobilization group than in the control, twitch, and tetanus groups. In summary, twitch stimulation led to suppression of hypoxia, TGF- β 1 and collagen overexpression, and myofibroblast differentiation. In other words, muscle contractile exercise with twitch may be more beneficial than that with tetanus as a therapeutic strategy for immobilization-induced muscle fibrosis.

Key words: Immobilization, fibrosis, muscle contractile exercise

不動に伴う骨格筋の線維化に対する HIF-1 α 阻害薬の効果

梶原康宏¹、片岡英樹^{2,3}、本田祐一郎^{2,4}、
田中なつみ^{2,4}、坂本淳哉¹、中野治郎¹、沖田実²

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分野、

³ 社会医療法人長崎記念病院リハビリテーション部、

⁴ 長崎大学病院リハビリテーション部

これまでわれわれは、骨格筋の不動によって発生する線維化のメカニズムの一端に低酸素誘導因子：hypoxia inducible factor (HIF) -1 α の発現亢進が関与することを報告してきた。一方、HIF-1 α は内臓器の線維化のメカニズムに関わる標的分子と想定されており、その発現亢進を抑止することで線維化の進行抑制効果を認めることも明らかになっている。つまり、骨格筋においても不動の過程で HIF-1 α の発現亢進を抑止できれば、線維化の進行抑制につながるのではないかと仮説できる。そこで、本研究ではラット不動化モデルに HIF-1 α 阻害薬を投与し、骨格筋の線維化の進行におよぼす影響を検討した。ラット両側足関節を4週間不動化する実験群と対照群を設け、実験群は不動処置のみを施す不動群と不動の過程で HIF-1 α 阻害薬 (YC-1 ; 2 mg/mL) を投与する YC-1 群に振り分けた。そして、4週間の実験期間中は毎週、足関節背屈可動域を測定し、実験終了後は採取したヒラメ筋を生化学的検索に供し、コラーゲン含有量と HIF-1 α 発現量を検索した。結果、不動群、YC-1 群の足関節背屈可動域は各不動期間とも対照群より有意に低値を示したが、不動3、4週は YC-1 群が不動群より有意に高値を示した。また、不動群、YC-1 群のコラーゲン含有量と HIF-1 α 発現量は対照群より有意に高値を示したが、YC-1 群は不動群より有意に低値を示した。以上の結果から、不動の過程で骨格筋内の HIF-1 α の発現亢進を抑止することで線維化の進行を抑制できることが示唆された。そして、HIF-1 α は不動に伴う骨格筋の線維化のメカニズムに関わる標的分子の可能性が高いといえよう。

Effect of HIF-1 α inhibitor on immobilization-induced muscle fibrosis

Yasuhiro Kajiwara¹, Hideki Kataoka^{2,3}, Yuichiro Honda^{2,4},
Natsumi Tanaka^{2,4}, Junya Sakamoto¹, Jiro Nakano¹,
Minoru Okita²

¹ Department of Physical Therapy Science, Nagasaki
University Graduate School of Biomedical Sciences

² Department of Locomotive Rehabilitation Science, Nagasaki
University Graduate School of Biomedical Sciences

³ Department of Rehabilitation, Nagasaki Memorial Hospital

⁴ Department of Rehabilitation, Nagasaki University Hospital

We have reported that overexpression of hypoxia-inducible factor (HIF)-1 α leads to immobilization (IM)-induced muscle fibrosis, and previous studies revealed that HIF-1 α inhibition suppressed the progress of fibrosis in the viscera. We hypothesized that inhibition of HIF-1 α overexpression in an immobilized skeletal muscle suppressed IM-induced muscle fibrosis. This study investigated the effect of an HIF-1 α inhibitor on IM-induced muscle fibrosis. The rats were divided into the control and experimental groups; both ankle joints were fixed in full-plantar flexion for 4 weeks. In the experimental group, the rats were categorized into the IM group or YC-1 group, treated with an HIF-1 α inhibitor (YC-1; 2 mg/mL/day). In addition, range of motion (ROM) on ankle joint dorsiflexion was assessed each week, and the soleus muscles after the experimental period were used in the biochemical analyses of collagen contents and HIF-1 α protein expression. ROM on dorsiflexion in the experimental groups was significantly less than that in the control group at each time point, and this parameter was significantly higher in the YC-1 group than in the IM group after 3 weeks. Moreover, the collagen contents and HIF-1 α protein expression were significantly higher in the experimental groups than in the control group at 4 weeks, and both parameters in the YC-1 group were significantly less than in the IM group at 4 weeks. In summary, the HIF-1 α inhibitor prevented development of fibrotic lesion in immobilized muscles, and HIF-1 α may be a new therapeutic target in IM-induced muscle fibrosis.

キーワード： HIF-1 α 、不動、筋線維化

Key words: HIF-1 α , immobilization, muscle fibrosis

不動化した骨格筋における線維化の発生メカニズム—マクロファージ集積機序の探索

田中なつみ^{1,2}、本田祐一郎^{1,2}、片岡英樹^{2,3}、坂本淳哉⁴、中野治郎⁴、沖田実²

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分野、

³社会医療法人長崎記念病院リハビリテーション部、

⁴長崎大学大学院医歯薬学総合研究科理学療法学分野

骨格筋が不動に曝されると線維化が惹起され、その発生にはマクロファージの集積が重要な役割を果たすことが明らかになっている。しかし、その機序はこれまで明らかにされていない。そこで、本研究ではこの点を検討するために以下の実験を行った。具体的には、弛緩位で1、2週間不動化したラットヒラメ筋を検索材料に、マクロファージ（CD11b 陽性細胞）とその遊走因子である MCP-1、筋核、筋線維横断面積、筋核ドメイン（一つの筋核が制御する細胞質領域）、筋核のアポトーシス（TUNEL 陽性細胞）の動態について検索した。その結果、不動群の CD11b 陽性細胞数と MCP-1 mRNA 発現量、TUNEL 陽性細胞数は各不動期間とも対照群より有意に高値を示したが、不動期間の違いによる有意差は認められなかった。また、不動群の筋核数ならびに筋線維横断面積は各不動期間とも対照群より有意に低値を示し、筋線維横断面積においては不動2週が不動1週より有意に低値を示した。さらに、不動群の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週で対照群より有意に低値を示した。以上の結果から、1週という短期の不動によって筋核のアポトーシスが生じ、この変化が筋核数の減少と筋線維萎縮の発生に影響をおよぼしていると考えられる。加えて、不動化した骨格筋においては、筋核のアポトーシスを契機にマクロファージが集積する可能性が高いことが示唆され、これを発端として骨格筋の線維化が発生するのではないかと推察される。

Mechanisms of immobilization-induced muscle fibrosis: investigation of the macrophage accumulation pathway

Natsumi Tanaka^{1,2}, Yuichiro Honda^{1,2}, Hideki Kataoka^{2,3}, Junya Sakamoto⁴, Jiro Nakano⁴, Minoru Okita²

¹Department of Rehabilitation, Nagasaki University Hospital

²Department of Locomotive Rehabilitation Science, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences

³Department of rehabilitation, Nagasaki Memorial hospital

⁴Department of Physical Therapy Science, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences

Macrophage accumulation plays a key role in immobilization-induced muscle fibrosis. However, the mechanisms underlying macrophage accumulation in an immobilized skeletal muscle are unclear. Therefore, rat soleus muscles after 1- and 2-week immobilization were used to investigate the following parameters: CD11b-positive cells as macrophage markers, monocyte chemoattractant protein (MCP)-1, myonuclei, cross-sectional area (CSA), myonuclear domain size as dominant area per myonucleus, and TUNEL-positive cells as apoptotic markers. In the results, CD11b-positive cells, MCP-1 mRNA expression, and TUNEL-positive cells in the immobilization group were significantly higher than those in the control group for each time point, and there was no significant difference in these parameters within the immobilization group. Moreover, the number of myonuclei and CSA were significantly lower in the immobilization group than those in the control group at both time points; the CSA at 2 weeks was significantly lower than that at 1 week in the immobilization group. Additionally, the myonuclear domain size was significantly lower in the immobilization group than that in the control group at 2 weeks after immobilization. In summary, myonuclear apoptosis in the soleus muscles after 1-week immobilization may affect muscle atrophy with decreased myonuclei. Furthermore, we surmised that the macrophage accumulation triggered by myonuclear apoptosis induced immobilization-induced muscle fibrosis.

キーワード： 不動，筋線維化，マクロファージ

Key words: Immobilization, Muscle fibrosis, Macrophages

マクロファージ浸潤が線維芽細胞におけるコラーゲン産生を促進させて黄色靭帯肥厚を引き起こす

齋藤武恭¹、幸博和¹、松本嘉寛¹、稲垣豊²、
中島康晴¹、岡田誠司¹

¹九州大学整形外科、²東海大学再生医療科学

脊柱管内に位置する靭帯である黄色靭帯の肥厚によって神経根および馬尾神経が直接的に圧迫されることが、高齢者に好発する腰部脊柱管狭窄症の主な要因である。これまでに黄色靭帯肥厚に関する研究は散見されるけれども、この肥厚のメカニズムはいまだ明らかにはなっていない。そこで我々はマウスモデルを用いてマクロファージが黄色靭帯肥厚に与える影響の解明を試みた。マウス黄色靭帯に微細な損傷（microinjury）を与えてマクロファージ浸潤を促した結果、組織学的に重度のヒト肥厚黄色靭帯と同様のコラーゲン線維の異常蓄積を特徴とするマウス肥厚黄色靭帯が認められた。一方、リポソーム化クロドロンートを投与してマクロファージを枯渇させた状態で microinjury を与えた結果、マウス肥厚黄色靭帯は認められなかった。I型コラーゲン GFP レポーターマウスを用いて黄色靭帯における線維芽細胞を標識し、レーザーマイクロダイセクションを用いてこの線維芽細胞を選択的に回収して定量的 RT-PCR を行ったところ、マクロファージ浸潤部位から回収した線維芽細胞では、正常部位の線維芽細胞と比較して有意にコラーゲン遺伝子の発現が増加していた。これらの結果は、マクロファージ浸潤が線維芽細胞におけるコラーゲン産生を促進して黄色靭帯肥厚を引き起こしていることを示唆しており、黄色靭帯肥厚の病態を解明する上で重要な知見である。

キーワード：黄色靭帯肥厚、浸潤マクロファージ、線維芽細胞

Macrophage Infiltration Is a Causative Factor for Ligamentum Flavum Hypertrophy through the Activation of Collagen Production in Fibroblasts

T. Saito¹, H. Saiwai¹, Y. Matsumoto¹, Y. Inagaki²,
Y. Nakashima¹, S. Okada¹

¹Department of Orthopaedic Surgery, Graduate School of Medical Sciences, Kyushu University; ²Department of Regenerative Medicine, School of Medicine, Tokai University

The ligamentum flavum (LF) is a spinal ligament located in the interior of the vertebral canal. Hypertrophy of the LF causes the direct compression of the nerve roots or cauda equine, and is a major cause of lumbar spinal canal stenosis which is one of the most common spinal disorders in elderly people. Although previous studies have been performed on LF hypertrophy, its pathomechanisms have not been fully elucidated. In this study, we established a LF hypertrophy mouse model and examined the influence of macrophages on LF hypertrophy. Induction of macrophages into the mouse LF by applying a microinjury resulted in LF hypertrophy along with abnormal collagen accumulation at the injured site, which were very similar to the characteristics observed in the severely hypertrophied LF of human. However, macrophage depletion by injecting clodronate-containing liposomes counteracted LF hypertrophy even with microinjury. For identification of fibroblasts in the LF, we used collagen type I α_2 linked to green fluorescent protein transgenic mice. A quantitative RT-PCR of selectively isolated GFP-positive fibroblasts with laser microdissection revealed that the gene expression of collagen markedly increased in the fibroblasts at the injured site with infiltrating macrophages compared with the uninjured location. These results suggested that macrophage infiltration was crucial for LF hypertrophy by stimulating collagen production in fibroblasts, providing better understanding of the pathophysiology of LF hypertrophy.

Key words: ligamentum flavum hypertrophy, infiltrating macrophages, fibroblasts

Ly6C^{low} マクロファージが分泌する MMP-12 は心筋梗塞後の心不全の進展を抑制し、生存率を上昇させる

久保田暁彦¹、須藤明²、鈴木浩太郎²、
小林欣夫¹、中島裕史²

¹千葉大学大学院医学研究院循環器内科学

²千葉大学大学院医学研究院アレルギー臨床免疫学

背景: Ly6C^{high} マクロファージと Ly6C^{low} マクロファージとの間の不均衡が生じると、急性心筋梗塞後の心臓組織修復が阻害され、心不全が進展する。しかしながら Ly6C^{low} マクロファージによる心臓組織修復の分子メカニズムは明らかにされていない。

方法・結果: Ly6C^{low} マクロファージが分泌し、創傷治癒を促進させる分子を明らかにするために、急性心筋梗塞後の心臓組織から回収した Ly6C^{high} マクロファージと Ly6C^{low} マクロファージを用いて、トランスクリプトーム解析を行った。その結果、Ly6C^{high} マクロファージに比べ、Ly6C^{low} マクロファージでは MMP-12 の遺伝子発現が上昇していた。そこで、野生型マウスと MMP-12 欠損マウスに心筋梗塞を作成したところ、野生型マウスに比べ、MMP-12 欠損マウスでは生存率、心機能が有意に低下した。梗塞範囲については両群間に有意な差は認められなかったが、野生型マウスに比べ、MMP-12 欠損マウスでは心筋梗塞領域における線維化の程度、 α -SMA 陽性筋繊維芽細胞数が有意に減少し、MMP-9 の活性が有意に増加していた。さらに、野生型マウスに比べ、MMP-12 欠損マウスでは、心筋梗塞後の心臓組織において、MMP-9 の主産生細胞である好中球の数が有意に増加していた。また、心筋梗塞 5 日後の心臓組織において、野生型マウスに比べ、MMP-12 欠損マウスでは、好中球を遊走させる CXCL1、CXCL2、CXCL5 の遺伝子発現が増加していた。抗 CXCR2 抗体を投与したところ、MMP-12 欠損マウスで認めた好中球数の増加は減弱し、心機能の低下が抑えられた。

結論: Ly6C^{low} マクロファージが分泌する MMP-12 は梗塞部位への好中球浸潤を抑制することにより、心筋梗塞後の心不全の進展を抑制し、生存率を上昇させる。

Matrix metalloproteinase-12 secreted by Ly6C^{low} macrophages improves survival and heart failure after myocardial infarction

Akihiko Kubota¹, Akira Suto², Kotaro Suzuki²,
Yoshio Kobayashi¹, Hiroshi Nakajima²

¹Department of Cardiovascular Medicine, Graduate School of Medicine, Chiba University, ²Department of Allergy and Clinical Immunology, Graduate School of Medicine, Chiba University

Background: An imbalance between Ly6C^{high} macrophages and Ly6C^{low} macrophages inhibits tissue repair process after myocardial infarction (MI) and promotes left ventricular remodeling. However, the molecular mechanisms how Ly6C^{low} macrophages regulate the wound healing after MI are largely unknown.

Methods and Results: To identify the mediators secreted by Ly6C^{low} macrophages that contribute its restorative properties, we comprehensively analyzed the transcriptome of Ly6C^{high} macrophages and Ly6C^{low} macrophages harvested from infarcted heart, and found that *Mmp-12* was highly expressed in Ly6C^{low} macrophages. Importantly, the survival rate and cardiac function after MI were significantly lower in MMP-12-deficient (*mmp12^{-/-}*) mice than in WT mice. Whereas the infarct size was comparable between WT mice and *mmp12^{-/-}* mice, the extent of myocardial fibrosis as well as the number of α -SMA positive myofibroblasts in the infarct area was significantly decreased, and MMP-9 activity was significantly increased in *mmp12^{-/-}* mice as compared with those in WT mice. The major cellular source of MMP-9 in infarcted heart was neutrophils and the infiltration of neutrophils in infarcted heart was enhanced in *mmp12^{-/-}* mice. At 5 days after MI, mRNA expression of CXCL1, CXCL2, and CXCL5, chemoattractants for neutrophils, was significantly higher in *mmp12^{-/-}* mice than that in WT mice. Finally, anti-CXCR2 antibody treatment attenuated neutrophil infiltration in the infarcted heart and improved cardiac function following MI in *mmp12^{-/-}* mice.

Conclusions: MMP-12 secreted by Ly6C^{low} macrophages improves the survival and heart failure after MI possibly through the promotion of wound healing by reducing neutrophil infiltration.

キーワード: 心筋梗塞、創傷治癒、MMP-12

Key words: myocardial infarction, wound healing, MMP-12

腰部脊柱管狭窄症における黄色靭帯肥厚メカニズムの 解明 -筋線維芽細胞に着目して-

林二三男¹、東野恒作²、森本雅俊¹、合田有一郎³、
酒井紀典¹、佐藤紀⁴、手束文威¹、高田洋一郎¹、
西良浩一¹

¹徳島大学運動機能外科、²四国こどもとおとなの医療
センター整形外科、³国立病院機構高知病院整形外科、
⁴徳島大学病院リハビリテーション部

【目的】高齢者に多い腰部脊柱管狭窄症(LSS)の主な病
因の一つに黄色靭帯の肥厚がある。これまで我々はLSS
患者の肥厚黄色靭帯において、主に黄色靭帯背側に線維
化が生じることを報告(Sairyo, SPINE)したが、なぜ
背側で線維化が起こるかは解明されていなかった。今回
我々は、線維化の原因は創傷治癒にあると考え、組織修
復時に中心的に働く筋線維芽細胞に着目し、LSSの黄色
靭帯を背側と腹側に分け関連遺伝子の発現の評価及び
組織学的検討を行った。【方法】12名のLSS患者(71.8
±5.6歳)の黄色靭帯を背側・腹側に分割し、RT-qPCR
で線維化に関わる各遺伝子(COL1A-1、COL3A-1、
COL5A-1、FN)の発現を評価した。Masson-Trichrome
染色(MT)、各種コラーゲン(COL1、COL3、COL5)及
び筋線維芽細胞のマーカーである α -SMAの免疫染色
を行い、組織学的に線維化の評価を行った。更に、マイ
クロアレイで網羅的な遺伝子解析を行い、どのような
signal pathwayが背側で活性化しているかを解析した。

【結果】黄色靭帯背側はMTで淡青色に染色され、線維
化がみられた。RT-qPCRにおいて、COL1A-1、COL3A-
1、COL5A-1、FNの発現は背側で増加しており、免疫
染色においてもCOL1、COL3、COL5、FNが陽性であ
った。 α -SMA陽性の筋線維芽細胞は黄色靭帯腹側と比
較し、背側で有意に多かった(背側14.4±2.7%、腹側
5.9±1.4%、 $p<0.05$)。マイクロアレイでは、炎症や低酸
素などの線維化に関わるsignal pathwayが背側で有意
に活性化していた。【考察】黄色靭帯の肥厚は低酸素や
炎症などにより損傷を受け、創傷治癒に関連する筋線維
芽細胞が背側に発現し、線維化につながるためと考えら
れた。

キーワード：黄色靭帯、筋線維芽細胞、線維化

Elucidation of the mechanism of ligamentum flavum hypertrophy in lumbar spinal canal stenosis - Focusing on myofibroblast -

F. Hayashi¹, K. Higashino², M. Morimoto¹, Y. Goda³,
T. Sakai¹, N. Sato⁴, F. Tezuka¹, Y. Takata¹, K. Sairyo¹

¹Department of Orthopedics, Tokushima University Graduate School;
²Department of Orthopedics, Shikoku Medical Center for Children and
Adults; ³Department of Orthopedics, National Hospital Organization
Kochi National Hospital; ⁴Department of Rehabilitation Medicine,
Tokushima University Hospital

[Objective] In the lumbar spinal canal stenosis (LSS) which
is the common lumbar disorder in the elderly, hypertrophy
of ligamentum flavum (LF) is one of the main factors of the
LSS. While we previously reported that the fibrosis mainly
occurred on the dorsal side of the LF of LSS patients, why
fibrosis occurs on the dorsal side of LF has yet to be
clarified. In this study, we considered that the cause of
fibrosis is due to wound healing, therefore we focused on
myofibroblasts which play a central role in tissue repair. We
divided the ligament of LSS into the dorsal side and the
ventral side, evaluated the expression on relevant genes and
performed histological examination. [Methods] The LF
obtained from 12 LSS patients were divided into dorsal and
ventral side. Gene expression (COL1A-1, COL3A-1,
COL5A-1, FN) in fibrosis was evaluated using RT-qPCR.
Masson-Trichrome staining (MT) to evaluate fibrosis, and
immunostaining of various collagen (COL1, COL3, COL5,
FN) and α SMA were performed. Comprehensive gene
analysis was performed on the microarray. We analyzed
which signal pathway was activated on the dorsal side.
[Results] Dorsal side of the LF was stained clear blue on
MT, and it showed that there was fibrosis. Expression of
COL1A-1, COL3A-1, COL5A-1, FN was also increased on
the dorsal side in RT-qPCR. In immunohistochemistry,
COL1, COL3, COL5 was stained. Furthermore, α SMA-
positive myofibroblasts were significantly more numerous
in dorsal side than in ventral side (dorsal side 14.4 ± 2.7%,
ventral side 5.9 ± 1.4%, $p < 0.05$). In the microarray, the
signal pathway related to fibrosis such as inflammation and
hypoxia was significantly activated on the dorsal side.
[Discussion] It is thought that thickening of the ligamentum
flavum is damaged by hypoxia or inflammation and
myofibroblasts related to wound healing are expressed on
the dorsal side, leading to fibrosis.

Key words: ligamentum flavum, myofibroblast, fibrosis

コノフィリンは、TGFβ 媒介経路を介して線維芽細胞におけるヒアルロン酸合成を阻害する

手塚剛彦^{1,5}、太田明伸²、S Karnan²、横尾和久³、
幡野その子¹、梅澤一夫⁴、渡辺秀人¹

¹愛知医科大学分子医科学研究所、²愛知医科大学医学部生理学講座、³愛知医科大学医学部形成外科、⁴愛知医科大学医学部分子標的医薬寄附講座、⁵愛知医科大学病院薬剤部

【背景と目的】コノフィリンは、熱帯植物 *Ervatamia microphylla* の葉から抽出されたビンカアルカロイドで、アクチビン A の効果を模倣することが示されている。アクチビン A が膵星細胞の線維化を促進する一方、コノフィリンはそれを阻害することがわかっており、このことは同分子の抗線維化剤としての有用性を示唆している。本研究では、ヒト線維芽細胞に対するコノフィリンの効果、特に細胞外マトリックス分子の発現への影響に焦点を当てて検討した。【方法と結果】まず、マイクロアレイ解析を行ったところ、コノフィリンによるヒアルロン酸合成酵素 2 (HAS2) とそのアンチセンス (HAS2-AS) の顕著な発現低下が観察され、この結果は qRT-PCR にて確認された。一方、コラーゲン遺伝子の発現には影響はなかった。線維芽細胞培養系にて、ELISA によるヒアルロン酸 (Hyaluronan, HA) の定量を行ったところ、HA の減少が確認された。コラーゲンの蛍光染色を行ったところ、TGFβ 処理群においてコノフィリンはコラーゲンの沈着を抑制した。コラーゲン合成実験では、TGFβ は同分子の合成を促進し、コノフィリンは TGFβ 処理群、未処理群ともに合成を抑制した。この抑制はコラーゲンに特異的なものではなく、蛋白質合成全体の抑制によるものであった。また、シグナル伝達経路を検討したところ、コノフィリンは Smad2/3 核移行、Smad2 のリン酸化には影響を与えず、ERK1/2 リン酸化を抑制した。【考察】コノフィリンはヒアルロン酸合成酵素の転写を強力に抑制することが明らかとなり、ヒアルロン酸合成阻害剤として使用できる可能性が示された。一方、同分子は蛋白質合成を抑制することで線維化抑制効果を発揮していると思われた。

Conophylline inhibits hyaluronan biosynthesis in fibroblasts via TGFβ-mediated pathway

T. Tezuka^{1,5}, A. Ota², S. Karnan², K. Yokoo³,
S. Hatano¹, K. Umezawa⁴, H. Watanabe¹

¹Institute for Molecular Science of Medicine, ²Department of Biochemistry, ³Department of Plastic and Reconstructive Surgery, ⁴Department of Molecular Target Medicine, ⁵Department of Pharmacy, Aichi Medical University

[Objective] Conophylline is a vinca alkaloid extracted from leaves of the tropical plant *Ervatamia microphylla*, which has been shown to mimic the effect of activin A. Whereas activin A facilitates fibrosis of pancreatic stellate cells, conophylline inhibits it, suggesting that the compound may serve as an anti-fibrotic drug. Here, we investigated effects of conophylline on human foreskin fibroblasts, especially focusing on the extracellular matrix molecules. [Methods and Results] Our microarray analysis revealed remarkable suppression hyaluronan synthase 2 and its antisense RNA expression, whereas the expression of collagen genes was unaffected. By immunostaining, collagen incorporation into the extracellular matrix was substantially inhibited when the cells were treated with TGFβ which facilitates collagen synthesis. An assay for protein biosynthesis exhibited a decrease in collagen biosynthesis, concomitant with a decrease in total protein biosynthesis, indicating that inhibition of fibrosis is not specific to collagen synthesis. Conophylline did not affect Smad2/3 nuclear translocation induced by TGFβ treatment, nor phosphorylation of Smad2. In contrast, conophylline substantially inhibited ERK1/2 phosphorylation, suggesting that conophylline inhibits hyaluronan synthase 2 expression via TGFβ-mediated ERK1/2 pathway. [Conclusion] Taken together, our results demonstrate that conophylline may serve as an inhibitor of hyaluronan synthesis, rather than that of fibrosis.

キーワード：コノフィリン、ヒアルロン酸、線維化

Key words: conophylline, hyaluronan, fibrosis

PTH2 受容体シグナルは線維芽細胞の ECM 産生を亢進し創傷治癒を促進する

佐藤絵美¹、Ling-juan Zhang²、Christopher A. Adase²、
廣松賢治¹、今福信一³、Richard L. Gallo²

¹ 福岡大学医学部微生物・免疫学講座、

² カリフォルニア大学サンディエゴ校皮膚科学講座、

³ 福岡大学医学部皮膚科学講座

ヒトの皮膚の弾性、しわの形成や創傷治癒には線維芽細胞が産生する細胞外マトリックス(ECM)が深く関与している。ECM は主にコラーゲンやエラスチン、グリコサミノグリカン、細胞接着因子である糖タンパクで構成され、皮膚では主に真皮に豊富に存在している。私たちは過去にヒト線維芽細胞様細胞が脂肪に分化する際に G タンパク質共役受容体 (GPCR) の一種である PTH2 受容体 (PTH2R) の発現を強く亢進することを見出し、今回この受容体シグナルが線維芽細胞や脂肪細胞にどのような役割を持つかを調査した。まずヒト線維芽細胞様細胞とそれを分化誘導させた脂肪細胞に PTH2R に対する siRNA を導入し RNA シークエンスを行い、網羅的に遺伝子解析を行った。GO 解析によって PTH2R は ECM 関連遺伝子群の発現に有意に関与することが明らかになり、特に脂肪細胞分化前の線維芽細胞様細胞でデコリンなどのプロテオグリカンや COL1A1 などのいくつかのコラーゲン関連遺伝子の発現を制御することがわかった。この詳細なメカニズムを調査したところ PTH2R シグナルは $G\alpha_s$ を介して線維芽細胞内で cAMP を誘導し CREB をリン酸化することでデコリンなどの ECM 関連遺伝子の発現を制御していることが明らかとなった。PTH2R 遺伝子欠損マウスの真皮内デコリンの遺伝子・タンパク発現の解析を行うと、その発現は野生型に比較して優位に減弱しており、電顕では真皮コラーゲン線維の縦断像が不整な形を形成していることがわかった。最後にマウスの創傷治癒モデルを作成し PTH2R の特異的作動薬である TIP39 の効果を検討したところ、TIP39 の皮下投与は創傷治癒を促進し、この遺伝子の欠損マウスでは逆に創傷治癒が遅延した。以上より PTH2R シグナルは ECM の産生を制御することで創傷治癒過程において重要な役割をもつことが明らかとなった。

キーワード： ECM, GPCR, PTH2 受容体, 創傷治癒

PTH2 Receptor Signal Enhances ECM Production from Fibroblasts and Promotes Wound Repair

E Sato¹, L Zhang², CA Adase², K Hiromatsu¹, S Imafuku³,
RL Gallo²

¹ Department of Microbiology and Immunology, Fukuoka University Faculty of Medicine; ² Department of Dermatology, University of California, San Diego; ³ Department of Dermatology, Fukuoka University Faculty of Medicine

Extracellular matrix (ECM) which is mainly produced by fibroblasts strongly relates to the skin elasticity, wrinkle formation and wound healing. ECM is abundantly present in the dermis, and its major components are collagen, elastin, glycosaminoglycan and adhesive glycoprotein. We previously found that PTH2 receptor (PTH2R), a G protein-coupled receptor (GPCR) is strongly induced by adipocyte differentiation. Based on this fact, we investigated the roles of PTH2R signal on the adipocyte differentiation process from fibroblast-like precursor cells (FLPC). At first, we transfected siRNA of PTH2R into the FLPC and differentiated-adipocytes, and then performed RNA sequence analysis using those cells. GO enrichment analysis strongly suggested that PTH2R regulates some ECM related-genes in FLPC. Especially, PTH2R strongly related to the expression of decorin, a proteoglycan and some procollagen genes such as COL1A1. We investigated the mechanism by immunofluorescence staining and nuclear immunoblotting, and then found PTH2R signal regulates ECM related-genes by phosphorylation of CREB via cAMP induction. *Pth2r*^{-/-} mice expresses lower gene and protein of decorin in the dermis compared with their littermates *Pth2r*^{+/+} mice. Transmission electron microscopy of collagen fibrils in the *Pth2r*^{-/-} reticular dermis identified irregular collagen fibrils in these mice. Finally, we investigated the effects of TIP39, a specific agonist of PTH2R on the mouse wound healing model. TIP39 accelerated wound repair compared with its control, and *Tip39*^{-/-} mice delayed wound healing compared with their littermates *Tip39*^{+/+}. These results indicate that PTH2R signal plays an important role in wound repair process by regulating the production of ECM.

Key words: ECM, GPCR, PTH2R, wound repair

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

中村晋之^{1,2}、吾郷哲朗²、平澤恵理³、向山洋介⁴、山田吉彦¹

¹米国国立歯科・頭蓋顔面研究所、²九州大学大学院医学研究院病態機能内科学、³順天堂大学老人性疾患病態・治療研究センター、⁴米国国立心肺血液研究所

【目的】脳梗塞は重度の障害を来し未だ死因や介護の原因となる主要な疾患である。血液脳関門(BBB)は脳梗塞後に破綻し、その病態増悪に関与する。近年、脳血管ペリサイトが PDGFR β を介し BBB の修復過程に関わる可能性が指摘されている。今回我々は脳血管基底膜の重要な構成成分であるヘパラン硫酸プロテオグリカン perlecan に着目し、ペリサイトに及ぼす影響とそれに伴う BBB の維持および修復過程における役割を検討した。【方法】 *Hspg2* (*Perlecan*)^{-/-}マウスは軟骨形成不全により胎生致死となる。我々は軟骨特異的に *Perlecan* を発現させたレスキューマウス (*Hspg2*^{-/-}-TG マウス) に対し、塞栓子による 60 分一過性脳虚血モデルを作成し、梗塞サイズ、BBB の破綻、ペリサイトの動態について解析した。また、特に生物活性を有すると考えられる perlecan domain V (DV) を作成し、*in vitro* でのペリサイトに及ぼす影響を検討した。【結果】 *Hspg2*^{-/-}-TG マウスでは梗塞サイズおよび BBB の破綻の程度が有意に増悪した。コントロールでは梗塞巣を中心としてペリサイトのマーカー PDGFR β が上昇したのに対し、*Hspg2*^{-/-}-TG マウスではこれが抑制されていた。培養脳血管ペリサイトは integrin $\alpha 5\beta 1$ を介して perlecan DV に接着した。Perlecan DV はペリサイトにおける PDGF-BB による PDGFR β 、SHP-2、FAK のリン酸化を増強させ、integrin $\alpha 5\beta 1$ を介して遊走能を促進させた。脳梗塞後に Perlecan DV を投与したところ、ペリサイトがさらに増加し、梗塞サイズが縮小する傾向がみられた。【考察】 Perlecan は PDGFR β および integrin $\alpha 5\beta 1$ の協調作用によって脳血管ペリサイトの遊走を促進し、脳梗塞後の BBB の修復に寄与している可能性が考えられた。DV は BBB の修復を促す新規脳梗塞治療薬として期待される。

Perlecan regulates pericyte dynamics in the maintenance and repair process of the blood-brain barrier in ischemic stroke

K. Nakamura^{1,2}, T. Ago², E. Arikawa-Hirasawa³, YS. Mukouyama⁴, Y. Yamada¹

¹Molecular Biology Section, NIDCR, NIH; ²Department of Medicine and Clinical Science, Graduate School of Medical Sciences, Kyushu University; ³Research Institute for Diseases of Old Age, Juntendo University Graduate School of Medicine; ⁴Laboratory of Stem Cell and Neuro-Vascular Biology, NHLBI, NIH

[Objective] Ischemic stroke causes blood-brain barrier (BBB) breakdown due to significant damage in the integrity of BBB components. Recent studies have highlighted the importance of pericytes in the process of repairing BBB functions triggered by the upregulation of PDGFR β . We hypothesized that perlecan, a major heparan sulfate proteoglycan of basement membranes, may play a protective role in BBB maintenance through the interaction with pericytes during the repair process of the BBB disruption. [Methods] We induced a 60-minute middle cerebral artery occlusion (MCAO) in adult conditional perlecan-deficient (*Hspg2*^{-/-}-TG) mice in a C57BL/6 background, which express the *perlecan* transgene only in cartilage to rescue the perinatal lethality of *Hspg2*^{-/-} mice. Recombinant perlecan C-terminal domain V (DV, endorepellin) was created for *in vitro* assays. [Results] We found larger infarct volumes and more BBB leakage in *Hspg2*^{-/-}-TG mice than in control mice. The control mice showed increased numbers of PDGFR β -positive pericytes around the ischemic lesion, but this upregulation was inhibited in *Hspg2*^{-/-}-TG mice. Pericytes showed attachment to perlecan DV through integrin $\alpha 5\beta 1$. Perlecan DV enhanced PDGF-BB-induced phosphorylation of PDGFR β , SHP-2, and FAK, and promoted pericyte migration through integrin $\alpha 5\beta 1$. Moreover, the administration of perlecan DV resulted in less infarction, accompanied by a significant increase in pericytes. [Conclusion] Perlecan appears to regulate pericyte recruitment through the cooperative functioning of PDGFR β and integrin $\alpha 5\beta 1$, which supports the maintenance and repair of the BBB in ischemic stroke. Perlecan DV may have a potential therapeutic effect on the BBB in ischemic stroke.

キーワード：血液脳関門、ペリサイト、パールカン

Key words: Blood-brain barrier, pericyte, perlecan

A3-4

胎盤由来プロスタグランディン E は Fibulin-1 を介した動脈管リモデリングを促進する

横山詩子、伊藤智子、石川義弘

横浜市立大学医学部循環制御医学

【目的】動脈管は、胎生期の生命維持に必要な血管であるが、胎児循環から新生児循環への適応のために、出生後には急速に閉鎖する。我々は、動脈管の閉鎖には、胎盤由来のプロスタグランディン E₂(PGE₂)-EP4 シグナルが平滑筋細胞の遊走を介して血管内膜肥厚を形成させることが重要であることを示してきた。本研究では、PGE₂ による平滑筋細胞の血管内腔への遊走のメカニズムを解明することを目的とした。【方法】胎生 21 日のラット動脈管平滑筋細胞 (DASMCs) を EP4 アゴニストで刺激し、マイクロアレイ・生化学的解析に供した。免疫染色にはラットとヒト動脈管組織を用い、細胞遊走はスクラッチアッセイで評価した。【結果】マイクロアレイ解析では、EP4 刺激により DASMCs で最も発現が増加したのは fibulin-1 であった。定量 PCR でも約 500 倍の増加を認め (n=10, $p<0.01$)、蛋白レベルでも 20 倍以上の fibulin-1 の増加を認めた。EP4 刺激による fibulin-1 の増加は、プロホスホリパーゼ C (PLC)、プロテインキナーゼ C (PKC)、NF κ B の阻害薬で抑制された。fibulin-1 はヒトとラット動脈管の内膜肥厚部位に高発現しており、同部位には fibulin-1 と結合する ADAMTS-1 と versican も高発現していた。FACS 解析により、fibulin-1 と ADAMTS1 は DASMCs より分泌され、versican は動脈管内皮細胞由来であることが示された。EP4 刺激は versican の断片化と versican 断片のヒアルロン酸への結合を促進した。さらに、EP4 刺激は DASMCs の遊走を促進し (n=6, $p<0.01$)、これらは fibulin-1 又は ADAMTS1 の siRNA により抑制された。【考察】PGE₂-EP4 刺激は PLC-PKC-NF κ B を介して fibulin-1 を著明に増加させた。Fibulin-1 が細胞外基質を統合することで、ADAMTS1 により内皮由来の versican が断片化され、Versican 断片がヒアルロン酸と結合することで、平滑筋細胞を血管内腔へと遊走させ、動脈管内膜肥厚を形成させる可能性が示唆された。

Prostaglandin E promotes vascular remodeling of the ductus arteriosus via fibulin-1

U. Yokoyama, S. Ito, Y. Ishikawa

Cardiovascular Research Institute,
Yokohama City University

[Objective] The ductus arteriosus is essential for fetal life and immediately closes after birth to promote the transition from fetal to adult circulation. We have reported that prostaglandin E₂ (PGE₂)-EP4 signaling contributed to intimal thickening (IT) of ductus arteriosus (DA) via hyaluronan-mediated smooth muscle cell (SMC) migration. We aimed to examine mechanisms of PGE₂-mediated directional SMC migration toward internal lumen. [Methods and Results] A microarray analysis revealed that fibulin-1 was the most significantly up-regulated gene by EP4 stimulation in DA SMCs. RT-PCR and western blotting showed EP4-mediated upregulation of fibulin-1 (approximately 500-fold and 20-fold, respectively, n=10), which was attenuated by phospholipase C (PLC), protein kinase C (PKC), or NF κ B inhibitors. Fibulin-1 proteins were highly expressed in the area of IT of human and rat DAs. Fibulin-1 binding proteins ADAMTS1 and versican were also expressed in DA IT. A FACS analysis demonstrated that fibulin-1 and ADAMTS1 were derived from DA SMCs and versican were secreted from DA endothelial cells. EP4 stimulation promoted versican fragmentation and binding of versican fragment to hyaluronan. DA SMC migration was increased by EP4 stimulation (n=6, $p<0.01$), which was attenuated by fibulin-1- or ADAMTS1-targeted siRNAs. [Conclusion] PGE₂-EP4-mediated fibulin-1 promotes DA SMC migration via binding of ADAMTS1-induced fragmented versican to hyaluronan.

キーワード： Fibulin1, ADAMTS1, Versican

Key words: Fibulin1, ADAMTS1, Versican

A3-5

アグリカン欠損マウスの成長板は、軟骨マトリックスの硬化および軟骨細胞の形態異常を呈する

大橋俊孝¹、Paolo Alberton²、野坂浩一¹、栗原伸之介¹、枝松緑¹、大野充昭¹、Attila Aszodi²

¹岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 分子医化学、

²ミュンヘン大学病院 外傷・再建外科

【目的】軟骨の主要構成成分の一つであるアグリカン(Acan)は、軟骨の成熟に関与し、弾性や耐衝撃性といった機能を担っていることが知られているが、未だ成長板における機能の詳細は明らかではない。本研究では、*Acan* Exon5 に挿入変異を導入した *Acan* 変異マウス (mutant マウス)の胎生期成長板を用い、アグリカンが長管骨の成長に与える影響を組織学および軟骨の弾性の観点から検討したので報告する。

【方法】組織学的手法にて、胎生期の野生型および mutant マウスの四肢を解析した。軟骨細胞の増殖をリン酸化 Histone H3 の免疫染色、アポトーシスを TUNEL 染色にて解析した。また、軟骨の高解像度観察および弾性測定を原子間力顕微鏡 (AFM)を用いて実施した。

【結果】胎生期の mutant マウスの四肢に、サフラニン O 陽性のマトリックスタンパク質および ACAN の消失が確認された。また、野生型マウスとでは、成長板の増殖層の軟骨細胞は分裂能を有した扁平な軟骨細胞が連鎖状の軟骨細胞柱を形成しているが、E14.5 および E18.5 の mutant マウスの成長板では、円形の形態を呈した軟骨細胞が観察され、カラム配列に乱れが生じていた。また、E18.5 において、増殖細胞の減少、アポトーシス細胞の増加が確認された。しかし、興味深いことに、E13 の mutant マウスの成長板の増殖軟骨細胞の形態は、野生型のものに類似していた。AFM 解析の結果、E14.5 および E18.5 の mutant マウスの成長板は、コラーゲンネットワークの高密度化による硬化が生じていることが確認された。

【考察】以上の結果より胎生期の成長板において、アグリカンは増殖軟骨細胞のカラム配列および軟骨の弾性に関与している可能性が示唆された。

Aggrecan deficiency results in a stiff cartilage matrix and impairs skeletal growth by affecting chondrocyte shape and columnar elongation in the growth plate.

T. Oohashi¹, P. Alberton², K. Nosaka¹, S. Kurihara¹, M. Edamatsu¹, M. Ono¹, and A. Aszodi²

¹Dept. of Molecular Biology and Biochemistry, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences;

²Clinic for General, Trauma and Reconstructive Surgery, LMU, Munich, Germany

[Objective] The proteoglycan aggrecan is a major component of the cartilaginous matrices which provides resistance against compressive forces. The aim of the present study was to investigate the elasticity and organization of the cartilaginous growth plate in a novel experimentally induced aggrecan mutant strain carrying an insertion in exon 5 of the *Acan* gene. [Methods] Wild type and homozygous mutant (*Acan*-E5i/E5i) mice were analyzed by histology and immunohistochemistry. Chondrocyte proliferation and survival was assessed by phosphorylated histone H3 immunostaining and TUNEL assay, respectively. High resolution imaging and stiffness measurements were performed by atomic force microscopy (AFM).

[Results] The mutant limb deposits the typical matrix proteins including collagen II, matrilin-3 and perlecan. At E18.5 and E14.5, the mutant growth plate proliferative zone consisted of rounded non-oriented chondrocytes, compared to the wild type proliferative zone with flattened, columnar cells oriented with right angle to the longitudinal axis of the growth. Interestingly, at E13 the shape and orientation of mutant chondrocytes were similar to control. AFM at E14.5 and E18.5 demonstrated a stiffer matrix with denser collagen network in the mutant compared to wild type. The mutant cartilage had increased apoptosis and reduced proliferation rate at E18.5.

[Discussion] We have shown that aggrecan deficiency impairs cartilage biomechanics and results in stiffer matrix compared to control. Interestingly, the altered matrix mechanics is dispensable for early flattening and orientation of growth plate proliferative chondrocytes.

キーワード：アグリカン、弾性、原子間力顕微鏡

Key words: Aggrecan, stiffness, atomic force microscopy

大山翠、苅谷慶喜、橋本康弘

Midori Oyama, Yoshinobu Kariya, Yasuhiro Hashimoto

福島県立医科大学医学部・生化学講座

Department of Biochemistry, Fukushima Medical University
School of Medicine

インテグリン $\alpha v \beta 3$ は、癌の悪性化における主なドライバー因子である。TGF- β が誘導する上皮間葉転換 (EMT) は、インテグリン $\alpha v \beta 3$ の発現上昇とともに癌の浸潤・転移を促進する。しかしながら、EMT におけるインテグリン $\alpha v \beta 3$ の役割は十分に解明されていない。本研究では、インテグリン $\alpha v \beta 3$ が TGF- β 非依存的に EMT を誘導するとともに、TGF- β と相乗的に EMT を増強することを報告する。

Integrin $\alpha v \beta 3$ is a major driver of cancer progression. The epithelial-to-mesenchymal transition (EMT) induced by TGF- β upregulates integrin $\alpha v \beta 3$ expression and promotes cancer invasion and metastasis; however, the role of integrin $\alpha v \beta 3$ in EMT remains elusive. In this study, we report that integrin $\alpha v \beta 3$ induces TGF- β -independent EMT and also enhances EMT synergistically with TGF- β .

インテグリン $\beta 3$ 遺伝子の導入による $\alpha v \beta 3$ の高発現は、肺癌細胞株 A549 ($\alpha v \beta 3$ -A549) に線維芽細胞様の細胞形態およびマーカー変化を誘導した。この系において、miR-200 の過剰発現や TGF- β 受容体 I の阻害剤 SB431542 による TGF- β シグナルの阻害は、上記変化に影響を与えなかった。一方で、リガンドと結合できない変異型 $\beta 3$ や細胞内ドメイン欠損型 $\beta 3$ を発現させた A549 細胞では、そうした転換は起こらなかった。

Overexpression of integrin $\alpha v \beta 3$ by introduction of integrin $\beta 3$ gene in lung adenocarcinoma cell line A549 induced fibroblast-like morphology and upregulated expression of mesenchymal makers. Inhibition of TGF- β signal by overexpression of miR-200 or treatment of TGF- β receptor I inhibitor, SB431542 did not affect such integrin $\alpha v \beta 3$ -induced changes. Meanwhile, the EMT did not occur in A549 cells expressing ligand binding-defective or intracellular domain-lacking integrin $\beta 3$ mutant.

$\alpha v \beta 3$ により誘導された EMT は、A549 細胞の運動、接着、増殖能を有意に上昇させた。また、その運動は、インテグリン $\alpha v \beta 3$ の阻害抗体により抑制された。

$\alpha v \beta 3$ -induced EMT significantly increased the cell migration, adhesion, and proliferation of A549 cells. Furthermore, the cell motility was suppressed by a functional blocking antibody against integrin $\alpha v \beta 3$.

TGF- β 誘導型 EMT と $\alpha v \beta 3$ 誘導型 EMT の関係性を調べるため、 $\alpha v \beta 3$ -A549 に TGF- $\beta 1$ を添加した際の形態およびマーカー変化を調べた。TGF- $\beta 1$ の添加は、 $\alpha v \beta 3$ -A549 の細胞形態をさらに繊維芽様に細長く変化させるとともに、間葉系マーカーである N-cadherin と vimentin の発現増加、上皮系マーカーの E-cadherin の発現減少を引き起こした。

To investigate the relationship between TGF- β -induced EMT and $\alpha v \beta 3$ -induced EMT, we examined the morphology and EMT makers of $\alpha v \beta 3$ -A549 cells in the presence of TGF- $\beta 1$. Addition of TGF- $\beta 1$ to $\alpha v \beta 3$ -A549 cells led to more elongated mesenchymal cell morphology, and increased and decreased expression of mesenchymal markers N-cadherin and vimentin, and epithelial marker E-cadherin, respectively.

以上の結果は、インテグリン $\alpha v \beta 3$ が TGF- β とは異なるメカニズムにより EMT を誘導し、癌の悪性化を促進する可能性を示唆している。

These results suggest that integrin $\alpha v \beta 3$ induces EMT by different mechanisms from TGF- β signal and promotes cancer progression.

キーワード： インテグリン $\alpha v \beta 3$ 、EMT

Key words: integrin $\alpha v \beta 3$, EMT

大腸癌間質の形態学的特徴別にみた ADAM-9, -10, -17 発現に関する検討

阿尾理一¹、望月早月¹、梶原由規¹、米村圭介¹、神藤英二¹、渡邊智記¹、山寺勝人¹、白石壮宏¹、関澤明德¹、下田将之²、山本順司¹、長谷和生¹、上野秀樹¹

¹防衛医科大学校外科学講座、

²慶應義塾大学医学部病理学教室

【背景】我々は、これまでに大腸癌腫瘍浸潤先進部での線維性癌間質反応 (Desmoplastic reaction: DR) が組織学的予後予測因子として有望であることを見出しており (Ann. Surg. Oncol 22:1504-12, 2015; Am. J. Surg. Pathol 41, 1506-12, 2017). DR を形態学的に immature、intermediate、mature に分類し、immature > intermediate > mature の順で予後不良となることを示している (Gut 53:581-6, 2004)。このような癌間質の特異的な間質形成には、細胞外マトリックス ECM (Extracellular matrix) の産生と分解が深く関与しており、がん関連線維芽細胞 (Cancer-associated fibroblasts: CAFs) から産生される ADAM (a disintegrin and metalloproteinase) 分子などの蛋白質分解酵素の関与が推定される。そこで本研究では、癌間質の形態学的特徴と ADAM 分子との関連を明らかにすることを目的とした。

【方法】大腸癌手術切除検体から正常組織および癌組織をそれぞれ採取し、正常線維芽細胞ならびに CAFs を培養した。DR は癌先進部に特異的に出現するヒアリン化した collagen 束と myxoid な間質を基準に HE 標本上で mature、intermediate、immature に分類した。CAFs で発現する ADAM 分子について RT-PCR 法、real-time PCR 法、イムノプロット法を用いて DR 分類別に比較検討した。また、マニュアルダイセクションを用いて癌浸潤先進部組織を DR の分類別 (immature、intermediate、mature) に採取し、候補となった ADAM 分子について real-time PCR 法で定量し、DR で発現亢進した ADAM 分子について免疫組織化学染色法で局在を調べた。

【結果】ヒト大腸癌組織から培養した CAFs は、CAFs マーカーである α SMA、Fibroblast-specific protein-1、Fibroblast activation protein 陽性であり、大腸癌細胞マーカー Cytokeratin 20 は陰性であることを確認した。RT-PCR 法により、主な ADAM (ADAM-9, -10, -12, -17, -28) 分子のうち CAFs では ADAM9, -10, -17 が発現陽性であった。また、real-time PCR 法とイムノプロット法により、ADAM9, -10, and -17 の発現は mature な症例に比べて immature な症例において有意に高発現していた。大腸癌組織の免疫組織化学染色により、ADAM9 と ADAM17 は大腸癌間質でも発現が認められた。

【結語】ADAM-9, -10, -17 の発現は、DR の形態学的変化に関連しており、癌悪性度に影響を及ぼしている可能性が示唆された。現在、それら ADAM 分子の DR 形態変化における役割について検討を行っている。

キーワード：線維性癌間質反応 (DR)、がん関連線維芽細胞 (CAF)、大腸癌

Expression of ADAM-9, -10, and -17 by histological categorization of desmoplastic reaction (DR) in colorectal cancer (CRC)

T Ao¹, S Mochizuki¹, Y Kajiwar¹, K Yonemura¹, E Shinto¹, T Watanabe¹, M Yamadera¹, T Shiraishi¹, A Sekizawa¹, M Shimoda², J Yamamoto¹, K Hase¹, H Ueno¹

¹Department of Surgery, National Defense Medical College

²Department of Pathology, Keio University School of Medicine

BACKGROUND: We have reported that DR at the invasive front in CRC is a promising prognosticator (Ann. Surg. Oncol 22: 1504-12, 2015; Am. J. Surg. Pathol 41, 1506-12, 2017). DR is morphologically classified into mature, intermediate, immature types. Prognosis becomes poor in order of immature>intermediate>mature (Gut 53: 581-6, 2004). Production and decomposition of the extracellular matrix (ECM) are strongly involved in the formation of DR, and proteolytic enzymes such as ADAM (a disintegrin and metalloproteinase) molecules secreted from the cancer-associated fibroblasts (CAFs) are presumed to be involved in this process. We therefore aimed to clarify the relationship between morphological DR categorization and ADAM expressions.

METHODS: Normal subserosal tissues and cancer tissues were collected from CRC resected specimens, from which normal fibroblasts and CAFs were cultured, respectively. DR was classified into mature, intermediate, and immature types based on hyalinized collagen bundles and myxoid stroma which appeared specifically at the invasive front in CRC. We compared the ADAM molecules expression by DR classification using RT-PCR, real-time PCR, and immunoblotting. In addition, using a manual dissection, the tissues at the invasive front were collected by DR categorization, ADAM molecules were quantitated by real-time PCR. Localization of ADAM molecules was examined by immunohistochemical staining method.

RESULTS: It was confirmed that CAFs were positive for CAFs marker such as α SMA, fibroblast-specific protein-1, fibroblast activation protein, and negative for CRC marker such as cytokeratin 20. By RT-PCR, ADAM 9, -10, and -17 were positive in CAFs. Expression of ADAM 9, -10, and -17 were significantly higher in CAFs from immature-type stroma than in those from mature-type stroma by real-time PCR and immunoblotting. In addition, it was confirmed that ADAM 9 and ADAM 17 were expressed in cancer stroma by immunohistochemical staining of CRC tissues.

CONCLUSION: The expressions of ADAM-9, -10, and -17 are related to the morphological categorization of DR, suggesting the possibility of affecting the malignant potential of CRC. Now, we are investigating the role of these ADAM molecules on morphological heterogeneity of DR.

Key words: desmoplastic reaction (DR); cancer-associated fibroblasts (CAFs); colorectal cancer (CRC)

Syndecan-2 extracellular domain mediates activation of MMP-7 in colon cancer cells

B. Jang¹, S. Choi¹, J. Yun², W. Lee², J. Park³, D. Shin³, E. Oh¹

¹Department of Life Science, Ewha Womans University; ²Department of Biochemistry, Yonsei University; ³College of Pharmacy, Ewha Womans University

[Objective] During colon cancer development, syndecan-2 is upregulated to regulate colon cancer behavior. Syndecan-2 may modulate tumorigenic activity through regulation of adhesion to the ECM which transduces tumor-related signals to the cytosol. Besides, syndecan-2 may regulate the activity of matrix metalloproteinases (MMPs), important regulators of cancer cell invasion. We previously reported that syndecan-2 regulates the secretion of MMP-7 and directly interacts with pro-MMP-7 at the cell surface to promote enzyme activation, implying the involvement of syndecan-2 in MMP-7-mediated colon cancer activity regulation. We therefore examined detail regulatory mechanism of syndecan-2-mediated MMP-7 activation. [Methods] Interaction sites were mapped using deletion mutants of syndecan-2 ectodomain and pro-domain of MMP-7. Expression levels of mutants were immunostaining and Western blotting. MMP activity was determined by colorimetric assay with a fluorogenic substrate linked to a quencher molecule. [Results] Deletion mutants showed their interaction was mediated through syndecan-2 extracellular domain (residues 41 to 60) with $\alpha 2$ helix-loop- $\alpha 3$ helix at MMP-7 pro-domain. NMR and HEX docking structure modeling showed that the binding pocket was occupied by side chain of tyrosine residues from syndecan-2. Syndecan-2 mutant replacing Tyr⁵¹ into Ala diminished their interaction, reduced processing of pro-MMP-7, syndecan-2-mediated anchorage-independent growth of HT-29 colon adenocarcinoma cells, and MMP-7-mediated extracellular domain shedding of syndecan-2 and E-cadherin. [Conclusion] These lines of evidence suggest that syndecan-2 extracellular domain mediates processing of pro-MMP-7 into active enzyme, and syndecan-2 function is dependent on interaction with and activation of MMP-7 in colon cancer.

Key words: Syndecan-2, MMP-7, Colon carcinoma

A4 - 4*

Tenascin-C は乳腺由来線維芽細胞を高収縮性の筋線維芽細胞へ形質転換させる

加藤大祐、白木裕太、今中(吉田)恭子、吉田利通

三重大学医学部修復再生病理学講座

【目的】 Tenascin-C (TNC)は細胞外マトリックス糖蛋白で、発生期や病的組織で高発現しているが、癌間質の制御も担い癌進展に関わる。今回我々は TNC が線維芽細胞の形質に及ぼす影響を検討した。

【方法】 ヒト乳腺由来 Fibroblast (HMF) と皮膚由来 Fibroblast (HDF) を用い、TNC 添加に伴う形質変化を形態学・癌関連線維芽細胞マーカー発現について検討した。またヒト乳癌組織でそれらの分子局在を観察した。Collagen gel contraction assay で線維芽細胞の収縮能を評価した。

【結果】 プラスチックフラスコで培養した HMF は control 群では細長い紡錘形で一定の方向性を示したが、TNC 添加群 (10 $\mu\text{g}/\text{mL}$) では星状の細胞突起を有し無秩序に配向した。カバーガラス上では TNC 添加群は互いに凝集し、クラスターを形成した。Western blotting で癌関連線維芽細胞マーカーのタンパク発現を検討すると、TNC 添加で Calponin, α -SMA 発現が有意に増加した。HDF でも同様の所見が得られたが、その絶対量は HMF と比較し有意に低かった。HMF の蛍光免疫染色では、TNC 処理でストレスファイバーの発達と Calponin, α -SMA 陽性細胞の増加がみられた。ヒト乳癌組織を用いた免疫組織化学染色では、癌巣周囲及び TNC 陽性間質中に Calponin, α -SMA 陽性細胞が多数観察された。一方で、乳癌の皮膚浸潤部では TNC 陽性部に α -SMA 陽性細胞がみられたが Calponin の発現は見られなかった。また TNC 添加は HMF の collagen gel 収縮能を亢進させた。

【考察】 TNC は HMF を高収縮性の筋線維芽細胞へ形質転換させ、乳癌特有の癌間質形成に寄与していると考えられた。in vitro 及び in vivo において HMF と HDF の TNC 反応性は異なり、皮膚・乳腺組織間における線維芽細胞の表現形質は異なる事が示唆された。

キーワード： Tenascin-C、線維芽細胞、Calponin

Tenascin-C induces phenotypic change of fibroblasts to myofibroblasts with high contractility

D. Katoh, Y. Shiraki, K. Imanaka-Yoshida, T. Yoshida

Department of Pathology and Matrix Biology, Mie University School of Medicine

[Objective] Tenascin-C (TNC) is an extracellular matrix glycoprotein, and highly expressed in embryogenesis or pathologic conditions. TNC is recognized as a promotor of cancer progression through regulating cancer stroma. Here, we clarified the effects of TNC on the fibroblast phenotype.

[Methods] Using human mammary (HMF) gland and dermal (HDF) fibroblasts, we evaluate the cell morphology and expression of cancer-associated fibroblast (CAF) markers in the fibroblasts after TNC treatment. Expression of the CAF marker proteins is immunohistochemically analyzed in human breast cancer tissues. Collagen gel contraction assay of HMF is also examined.

[Results] While HMFs were usually spindle-shaped aligning in a certain direction on plastic substratum, they revealed stellate-shaped after TNC addition (10 $\mu\text{g}/\text{mL}$). On cover glass surfaces, aggregated cluster formation of HMFs treated with TNC was observed. The protein expression of α -SMA and calponin was significantly upregulated in HMFs after TNC treatment. While the levels were also elevated in HDFs after TNC treatment, the calponin expression was very low in HDFs compared to HMFs. Immunofluorescence revealed that α -SMA and/or calponin-positive cells with well-developed stress fibers were increased after TNC addition. Immunohistochemistry of human breast cancer tissues showed that α -SMA and/or calponin-positive cells were observed in TNC-positive cancer stroma. In skin invasion of breast cancer, α -SMA staining was co-localized with TNC, but calponin expression was barely shown. Gel contraction of HMFs was enhanced by TNC treatment.

[Conclusion] TNC could contribute cancer stroma formation characteristic of breast cancer, following induction of phenotypic change to myofibroblasts and enhanced stromal contraction. Phenotypic differences after TNC treatment may be present between HMFs and HDFs.

Key words: Tenascin-C, Fibroblast, Calponin

ELISA を用いた尿中 3-Hydroxyproline 含有ペプチド 測定法の開発と大腸癌マーカーとしての有用性の検討

鈴木達也¹、佐藤来未¹、加藤-茂谷智実¹、森谷俊介²、
平松恭子²、川喜田正夫²、高橋慶一³、川村眞智子^{2,3,4}、
辛英哲¹、今村保忠¹

¹工学院大学工学部・先進工学部、

²東京都医学総合研究所、

³がん・感染症センター東京都立駒込病院、

⁴埼玉県立がんセンター

【目的】コラーゲンタンパク質には、4-Hydroxyproline (4Hyp)残基の他に 3-Hydroxyproline (3Hyp)残基が含まれている。3Hyp はコラーゲン配列の繰り返し構造である G-X-Y のうち、G-P-P の Y 位で 4Hyp が修飾されたときのみ、X 位の Pro に hydroxyl 基が導入されて生成する。この 3Hyp が癌患者尿加水分解物中で特異的に上昇していることがアミノ酸分析により示された(1)。そのため、3Hyp 含有オリゴペプチドが新たな腫瘍マーカーとして期待できると考え、癌検査への応用を目標に、抗体を用いた ELISA 法による測定法の検討を行ってきた(2)。本研究では、尿中の 3Hyp-4Hyp-Gly トリペプチド量が、大腸癌患者と健常者で有意差が示されたので、大腸癌患者検体を用いて、大腸癌マーカーとしての特徴を解析した。【方法】測定は競合的 ELISA 法により、3Hyp-4Hyp-Gly ペプチドの類似体を固定した ELISA プレートと抗 3Hyp-4Hyp-Gly 抗体を用い、尿検体中の 3Hyp-4Hyp-Gly 濃度を定量した。尿検体の Creatinin 濃度補正值(mg/g cre.)を求め、解析に用いた。【結果と考察】大腸癌患者の尿検体を用いた解析では、健常者よりも癌患者の方が 3Hyp ペプチドの排泄量が高く、癌の Stage が上がるにつれて増加することが分かった。これはアミノ酸分析の結果(1)と同様の傾向を示しており、また 200 を超えるサンプルによる解析結果は統計学的に信頼し得ると考え、“癌の進行と尿中の 3Hyp 含有ペプチド排泄量には相関がある”ということを示す有力な結果を ELISA によっても得られたと考える。

(1) Okazaki I, et al., *J Lab Clin Med.* (1992) 120, 908

(2) Saito J, et al., *Anticancer Res.*(2010) 30,1007

ELISA method measuring urinary 3-Hydroxyproline containing peptide level and its application as a new screening test for colon cancer

Tatusya Suzuki¹, Kurumi Sato¹, Tomomi Kato-Motani¹,
Shunsuke Moriya², Kyoko Hiramatsu², Masao Kawakita²,
Keiichi Takahashi³, Machiko Kawamura^{2,3,4},
Yonchol Shin¹, Yasutada Imamura¹

¹Kogakuin Univ., Fac. Engr. & Sch Adv. Engr.

²Tokyo Metropolitan Institute of Medical Science,

³Tokyo Metropolitan Cancer and Infectious Diseases Center Komagome Hospital, ⁴Saitama Cancer Center

[Objective] Collagen contains 3-Hydroxyproline (3Hyp) residues as well as 4-Hydroxyproline (4Hyp) residues. 3Hyp is generated by hydroxylation of Pro residue at X position in G-P-P triplet of G-X-Y repeats of collagen sequence after modification of 4Hyp at Y position of the same triplet. 3Hyp level was found to be elevated in urinary hydrolysates of cancer patients (1). Since the result indicates that 3Hyp containing peptides in urine could be potential tumor markers, we have developed ELISA method available for tumor screening tests (2). In this study, we measure 3Hyp-4Hyp-Gly tripeptide level in urines from colon cancer patients and healthy subjects and evaluate the availability as colon cancer marker. **[Methods]** The level of 3Hyp-4Hyp-Gly peptide in urines were measured according to competitive ELISA method, using a polyclonal antibody against the peptide, plates immobilized with the antigen analogue and the antigen as a competitor. **[Results & Discussions]** The result showed that the urinary peptide levels of the patients significantly were higher than those of healthy subjects and increased with cancer stages. This well coincides with results with amino acid analysis (1). Since the adequate sample numbers for the analysis, more than 200, indicate statistically significant differences, we concluded that the excretion of 3Hyp containing peptide into urine correlates with cancer progression. **[Ref.]**(1) *J Lab Clin Med.* (1992) 120, 908 (2) *Anticancer Res.*(2010) 30,1007

U キーワード： 3-Hydroxyproline , コラーゲン、癌

Key words: 3-Hydroxyproline, collagen, cancer

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

瀧田 謙¹、藤井一徳¹、木村寛之²、小出隆規¹

¹早稲田大学先進理工学研究科化学・生命化学専攻、

²京都薬科大学代謝分析学分野

コラーゲンは三本のポリペプチド鎖が寄り集まった三重らせん構造を有する。がん細胞が分泌する MMP により、変性したコラーゲンが腫瘍周辺部に増加することが報告されている^[1]。そのため変性したコラーゲンに結合する化合物は同部位の診断、またはドラッグキャリアーとして応用できると考えられる。

本研究では、コラーゲンの特徴的なアミノ酸配列を模倣したコラーゲン様ペプチド (collagen-mimetic peptide: CMP) を 2 本平行に束ねた「環状 CMP」を設計し、その変性コラーゲン結合能を評価した。ELISA により環状 CMP は変性コラーゲンに結合し、結合能は既報の一本鎖 CMP^[2]の 80 倍程度高いことが分かった。また環状 CMP を用いた western blotting により、I 型から V 型のコラーゲン全てを検出することに成功し、その検出能は市販の抗コラーゲン抗体に匹敵した。さらに環状 CMP は培養線維芽細胞が分泌したコラーゲンを検出し、また透過処理を行った培養線維芽細胞では、小胞体内のコラーゲンフォールディング中間体を強く検出できた。

蛍光標識した環状 CMP を担がんマウスに尾静脈から投与したところ腫瘍周辺部への集積が認められ、その蛍光は一本鎖 CMP よりも長く病巣部に維持された。

[1] K. Kessenbrock *et al. Cell* 2010, 141, 52-67.

[2] Y. Li *et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2012, 109, 14767-14772

Development of a collagen-detecting peptide and its application *in vivo*.

K.K. Takita¹, K.K. Fujii¹, H. Kimura², T. Koide¹

¹Department of Chemistry and Biochemistry, School of Advanced Science and Engineering, Waseda University; ²Laboratory of Analytical and Bioinorganic Chemistry, Kyoto Pharmaceutical University

In the connective tissues surrounding malignant tumors that express high amount of MMPs, denatured collagen was reported to be generated and accumulated^[1]. Therefore, a detector of such denatured collagen will be a promising tool for diagnosis of malignant tumors.

We report here a novel class of collagen-detecting peptides, cyclic collagen-mimetic peptides (cCMPs), which hybridize to the denatured portions of collagen triple-helix. An ELISA type assay revealed that cCMPs efficiently bound to heat-denatured collagen. The K_D value for the cCMP against heat-denatured collagen was almost 80 times higher than that of the already reported single-stranded CMP^[2]. The cCMP detected types I-V collagen polypeptides by western blotting. Fluorescein-labeled cCMP also visualized collagen fibrils secreted from cultured fibroblasts when they were heat-denatured. In permeabilized cells, fluorescein-labeled cCMP efficiently detected folding intermediates of procollagen in the endoplasmic reticulum. We further achieved an *in vivo* fluorescent imaging of xenografted tumors in mouse, around which denatured collagen is considered to be accumulated. In addition, the cCMP retained in the target tissue for a longer time than the single-stranded CMP.

[1] K. Kessenbrock *et al. Cell* 2010, 141, 52-67.

[2] Y. Li *et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2012, 109, 14767-14772

キーワード：コラーゲン、環状ペプチド、がん

Key words: collagen, cyclic peptide, tumor

XVII 型コラーゲンの三量体形成能はヘミデスモソームを介したラミニン沈着において重要な意味をもつ

平木辰弥、平子善章

名古屋大学大学院 理学研究科 生命理学専攻

【目的】I 型ヘミデスモソーム (HD) は重層上皮に分布する細胞-基質間の接着装置である。XVII 型コラーゲンは I 型 HD にのみ含まれる II 型一回膜貫通型タンパク質で、細胞外部分には 15 個に分断されたコラーゲンドメインが存在する。XVII 型コラーゲンは、HD のもう一つの接着受容体であるインテグリン $\alpha 6 \beta 4$ と共に、ラミニン 332 をリガンドとしており、その相互作用領域は C 末端部分に存在する。当研究室では DNA 編集により XVII 型コラーゲンを欠失した DJM-1 細胞 (扁平上皮がん由来細胞株) を作製した。HD 形成促進条件下で、この欠失細胞を培養すると、HD だけでなく、ラミニン 332 の沈着パターンも変化した。本研究では、XVII 型コラーゲンのどのような機能が失われたために、ラミニン 332 の沈着パターンが変化したのかを明らかにすることを目的とした。【方法】XVII 型コラーゲンの部分欠失変異体をコードするコンストラクトを作製し、XVII 型コラーゲン欠失 DJM-1 細胞に導入した。これらの細胞を無血清培地で長期培養し、HD を形成させた。HD とラミニン 332 の局在を蛍光抗体染色法により観察した。【結果】ラミニン 332 との相互作用領域をすべて失っているが、膜近傍のコラーゲンドメインは保持する XVII 型コラーゲン部分欠失変異体を導入した細胞では、ラミニン 332 の沈着パターンが野生型とほぼ同様に回復した。一方、コラーゲンドメインをすべて欠失した変異体の導入では沈着パターンの回復はほとんど確認できなかった。【考察】ラミニン 332 の沈着パターンの回復には、(1) XVII 型コラーゲンのラミニン 332 との相互作用領域は必須ではないこと、(2) XVII 型コラーゲンのコラーゲン配列依存的な三量体形成が重要であること、が示唆された。三量体形成能を持つ XVII 型コラーゲン変異体がインテグリン $\alpha 6 \beta 4$ を含む HD タンパク質を集積させ、インテグリン $\alpha 6 \beta 4$ のリガンドでもあるラミニン 332 の沈着パターンを回復させたものと考えられる。

キーワード: コラーゲン、ラミニン、インテグリン

Trimeric nature of type XVII collagen has a significant implication for hemidesmosome and matrix assembly

Hiraki Tatsuya, Hirako Yoshiaki

Division of Biological Science, Graduate School of Science, Nagoya University

[Objective] Type XVII collagen is a type II transmembrane membrane protein incorporated into the type I hemidesmosomes (HDs). Its extracellular portion contains discontinuous 15 collagenous domains. Along with integrin $\alpha 6 \beta 4$, another adhesion receptor of HD, type XVII collagen is thought to interact with laminin 332, a major component of epidermal basement membrane. The region responsible for this interaction is present at the C-terminal half of its extracellular portion. Recently, we produced DJM-1 cells, a human squamous cell carcinoma cell line, lacking type XVII collagen by DNA editing. The COLXVII-KO cells deposited laminin-332 matrix in more diffuse pattern compared to parental cells. In this study, we aimed to clarify the role of type XVII collagen in HD and matrix assembly. [Methods] We produced cDNA constructs encoding deletion mutants of human type XVII collagen. COLXVII-KO DJM-1 cells were transfected with these mutants. The transfected cells were promoted to form HDs and laminin 332 matrix by cultivating them in a keratinocyte growth medium. [Results] The diffuse pattern of laminin 332 matrix deposited by COLXVII-KO cells were rescued by the expression of a mutant lacking the interaction site for laminin 332 but still possessing a membrane proximal collagenous domain. On the other hand, a mutant lacking all of the collagenous domains could not rescue the matrix phenotype. [Conclusion] Our results suggest that the interaction of type XVII collagen with laminin 332 is not necessary for the recovery of the deposition pattern of laminin 332, while its ability to form collagenous trimer is important. We speculate that the mutant comprising a collagenous domain can promote accumulation of HD components, including integrin $\alpha 6 \beta 4$. The clustering of the laminin receptor may rescue the diffuse deposition of laminin 332 matrix.

Key words: collagen, laminin, integrin

α6β1 インテグリンによるラミニン-511 の認識機構

瀧沢士¹、有森貴夫²、谿口征雅¹、北郷悠²、
山下英里華¹、高木淳一²、関口清俊¹

¹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、

²大阪大学蛋白質研究所分子創製学研究室

ラミニンは α , β , γ 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 α 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 γ 鎖の C 末端領域 (γ -tail) に含まれる Glu 残基の寄与が不可欠である。しかし、 γ -tail の Glu 残基がインテグリンとの結合にどのように寄与しているのか未だ不明である。最近我々は、多能性幹細胞が足場とするラミニン-511 ($\alpha 5/\beta 1/\gamma 1$) のインテグリン結合領域 (LM511E8) の結晶構造を 1.8 Å 分解能で決定するとともに、LM511 とその受容体である $\alpha 6\beta 1$ インテグリンとの複合体の電顕像を取得し、 γ -tail がインテグリンに直接認識される可能性を見いだした。インテグリンリガンドはインテグリンとの結合に必須の酸性アミノ酸を持つことが知られており、この酸性アミノ酸側鎖がインテグリンのリガンド結合部位である metal-ion-dependent adhesion site (MIDAS) の 2 価金属イオンに配位することが、リガンドとインテグリンの結合に共通する分子基盤となっている。 γ -tail がインテグリンの MIDAS 近傍に配置されることを確かめるために、MIDAS 近傍に Cys 残基を導入した $\alpha 6\beta 1$ integrin と γ -tail に Cys 残基を導入した LM511E8 を哺乳細胞に共発現させた。その結果、ジスルフィド結合で架橋された複合体が形成された。さらに、 $\gamma 1$ 鎖の C 末端 5 残基の合成ペプチドを用いたインテグリン結合阻害実験を実施したところ、この合成ペプチドは Glu 残基依存的に LM511E8 と $\alpha 6\beta 1$ integrin との結合を阻害した。以上の結果は、 γ -tail がラミニンのインテグリン認識部位として機能し、Glu 残基を介して MIDAS の 2 価金属イオンに配位することを示している。

Mechanistic basis for the recognition of laminin-511 by $\alpha 6\beta 1$ integrin

M. Takizawa¹, T. Arimori², Y. Taniguchi¹, Y. Kitago², E. Yamashita³, J. Takagi², K. Sekiguchi¹

¹Division of Matrixome Research and Application,

²Laboratory of Protein Synthesis and Expression,
Institute for Protein Research, Osaka University,

Laminin is a basement membrane protein composed of α , β and γ chains. Laminin evokes a variety of cellular responses through interactions with cell surface receptors, particularly integrin. Accumulating evidence indicated that the integrin binding site is mapped to the three LG domains of α chain (LG1-3), whose integrin-binding activity is strictly dependent on the C-terminal 9 residues of γ chain (γ -tail), particularly the Glu residue at the third position from the C-terminus. However, it has long been an open question of how the γ -tail contributes to the integrin binding activity of laminin. Recently, we determined the crystal structure of the integrin binding region of laminin-511 (LM511E8) at 1.8 Å resolution. This structure revealed that the C-terminal five residues in the $\gamma 1$ -tail including the Glu residue are disordered. In addition, the electron microscopic observation of a laminin-integrin complex revealed that integrin is in direct contact with LG1-3 where the disordered C-terminal five residues of γ -tail are predicted to reside. It is generally accepted that recognition of physiological ligands by integrins relies on an acidic residue in the ligands, coordinating a divalent metal ion in the MIDAS (metal-ion-dependent adhesion site) of integrins, raising the possibility that the Glu residue in the γ -tail is directly engaged in the interaction of laminin with integrin. Intermolecular disulfide crosslink screening with a panel of Cys-substituted LM511E8 and $\alpha 6\beta 1$ integrins demonstrated that the $\gamma 1$ -tail is disulfide-linked to the Cys residues near the integrin's MIDAS. Finally, a synthetic peptide modeled after the disordered $\gamma 1$ -tail inhibited the binding of LM511E8 to $\alpha 6\beta 1$ integrin, in which the Glu residue is prerequisite. These findings together lead us to conclude that the γ -tail directly interacts with integrin's MIDAS, with the Glu residue coordinating the metal ion in the integrin's MIDAS.

キーワード：基底膜、ラミニン、インテグリン

Key words: basement membrane, laminin, integrin

B1 - 3

基底膜タンパク質の細胞外局在及びフォールディングマーカーとして有用性

伊原伸治、松尾佳苗

有明工業高等専門学校物質工学科

基底膜は、分泌タンパク質から構成されたシート状のタンパク質複合体で細胞の極性維持や組織間境界のバリアとして作用する。基底膜を構成するタンパク質群は、無脊椎動物から脊椎動物まで進化的に保存されている。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、分泌タンパク質の挙動を観察することが可能である。本研究では、個々の基底膜タンパク質の細胞外局在とフォールディング状態を明らかにするために、ゲノム編集技術を用いて基底膜の主要構成タンパク質である IV 型コラーゲンとナイドゲンを赤色蛍光タンパク **mCherry** と **mKate2** を用いて可視化を行った。その結果、内在性の IV 型コラーゲンとナイドゲンの局在が組織ごとに異なる局在パターンを示すことが明らかになった。さらに可視化基底膜を用いて基底膜動態に異常を示す変異体のスクリーニングを行い、IV 型コラーゲンの局在に異常を示す多数の変異体を樹立した。それらの変異体は、分泌タンパク質である IV 型コラーゲンが小胞体で凝集する変異体、IV 型コラーゲンが正常に局在しない変異体に大別できた。その一つの変異体の解析より、糖脂質 GPI アンカーの修飾に関わる PIGN が分泌タンパク質のフォールディングに必須であることを明らかにした。これらの解析結果は、基底膜を構成するタンパク質群は分泌タンパク質のフォールディングや細胞外でのタンパク質挙動を解析できる有益なマーカータンパク質である事を示唆している。

Basement membrane proteins as markers for the extracellular localization and folding status of secreted proteins

Shinji Ihara, Kanae Matsuo

Department of Chemical and Biological Engineering, Ariake National College of Technology,

Basement membranes (BMs) are dense sheets comprising complexes of secreted proteins, which provide structural support, function as a barrier, and maintain cell polarity. The structure of the BM is evolutionarily conserved from invertebrates to mammals. *Caenorhabditis elegans* is a semi-transparent soil nematode that is commonly used to visualize proteins *in vivo* by fluorescence tagging. We used the CRISPR/Cas9 technology to visualize the *in vivo* localization patterns of two major BM structural proteins, type IV collagen and nidogen, in *C. elegans*, using the fluorescence tags mCherry and mKate2, respectively. We observed that type IV collagen, but not nidogen, strongly localized to the BM at the pharynx. Interestingly, nidogen showed prominent localization at the gonadal BM. These observations suggested that each protein possesses unique extracellular localization patterns. Using these fluorescence-tagged transgenic lines, we conducted ethyl methanesulfonate mutagenesis screening to isolate mutants showing aberrant accumulation or distribution of BM components. Analysis of the isolated mutant revealed a mutation in the gene encoding PIGN, which is required for glycosylphosphatidylinositol (GPI) maturation. Interestingly, aberrant protein accumulation has not been observed in other *pig* mutants, indicating that PIGN might have a unique function in protein secretion. Optical and genetic analyses suggest that BM structural proteins can be used as markers to analyze the folding and extracellular behavior of secreted proteins.

キーワード： 基底膜、遺伝学的解析

Key words: basement membrane, genetic analysis

Col4a3 ノックアウトマウスにおける網膜の表現型解析

米澤朋子¹、松前洋²、神崎勇希²、Lou Chuyuan¹、
前場崇宏¹、森實祐基²、美名口順³、Jeffrey Miner⁴、
大橋俊孝¹

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眼科、

³酪農学園大学、⁴ワシントン大学

【目的】IV型コラーゲンは基底膜構成分子であり、COL4A1からCOL4A6の6つの遺伝子が各々コードする $\alpha 1$ (IV)から $\alpha 6$ (IV)鎖で構成され、 $\alpha 112$ (IV)、 $\alpha 345$ (IV)、 $\alpha 556$ (IV)の分子が知られる。アルポート症候群はCOL4A3、COL4A4、COL4A5のいずれかを原因遺伝子とする、進行性の腎炎を呈し、難聴、眼症状を合併する場合が多い。特異的治療法はなく、末期腎不全に至れば透析・移植が必要となる。近年、非侵襲的な眼底検査によって特徴的な網膜病変が高頻度で検出され、早期診断への有効性が示唆された。一方、網膜病変に至る機序は不明である。そこで、その機序や $\alpha 345$ (IV)コラーゲンの役割を明らかにすることを目的とし、本研究ではCol4a3ノックアウトマウスの網膜の表現型を解析した。【方法】Col4a3ノックアウトマウスと野生型マウスを用いて、眼底の観察、さらに $\alpha 1$ (IV)～ $\alpha 6$ (IV)の特異抗体を用いた免疫組織染色による α (IV)鎖の分布、透過型電子顕微鏡による超微細構造を解析した。【結果】眼底検査ではCol4a3ノックアウトマウスにはドルーゼン様の白色斑点を認めた。免疫組織染色により $\alpha 3$ (IV)～ $\alpha 5$ (IV)鎖は網膜色素上皮細胞下基底膜に分布することが明らかとなった。網膜色素上皮細胞およびその基底膜の超微細構造を解析したところ、多くの形態学的な異常がCol4a3ノックアウトマウスに認められた。【考察】 $\alpha 345$ (IV)コラーゲンは網膜色素上皮細胞下基底膜の重要な構成分子の一つであり、その消失は網膜色素上皮細胞に様々な異常な形態を導くと考えられた。また、Col4a3ノックアウトマウスはアルポート症候群のモデルマウスとして用いられているが、網膜病変に至る機序の解明においても有効であると考えられた。

Ultrastructural analysis of retina in Col4a3 knockout mouse

T. Yonezawa¹, H. Matsumae², Y. Kanzaki², L. Chuyuan¹,
T. Maeba¹, Y. Morizane², J. Minaguchi³, J. Miner⁴,
T. Oohashi¹

¹Department of Molecular Biology and Biochemistry and ²Ophthalmology, Okayama Univ Grad School of Med Dent and Pharma Sci, ³Rakuno Gakuen University, ⁴Washington University School of Medicine

[Objective] Type IV collagen is one of the major components of basement membranes. Six distinct genes, COL4A1 to COL4A6, have been identified as members of the type IV collagen gene family. They are organized into three collagen molecules, $\alpha 112$ (IV), $\alpha 345$ (IV), and $\alpha 556$ (IV). Alport syndrome is the result of mutations in any of COL4A3, COL4A4, or COL4A5 and is a progressive renal disease that is characterized by hematuria and progressive renal failure. Hearing loss and ocular abnormalities often are accompanied with the disease. Recent reports suggested that the retinal abnormalities are easily recognizable as well as that of lens and cornea, and thus helpful in diagnosis at the early-onset renal failure. Here, we examined the retinal phenotype in COL4A3 knockout mice to address our goal for revealing the pathogenesis of retina in Alport syndrome. [Methods] The fundus of Col4a3 knock out and wild-type mice were analyzed by fundus imaging, Optos. The distribution of α (IV) chains in retina examined by immunohistochemistry. The ultrastructure of retina was examined by transmission electron microscopy. [Results] Unlike wild-type mice, Col4a3 knockout mice showed many of retinal flecks on fundus examination. Immunohistochemistry showed that $\alpha 3$ (IV), $\alpha 4$ (IV) and $\alpha 5$ (IV) chains were localized at basement membrane under the retinal pigment epithelial cells (RPEs). The ultrastructure of RPE and the basement membrane of Col4a3 knock out mice showed obvious many of abnormalities. [Conclusion] $\alpha 345$ (IV) collagen is a component of RPE basement membrane and is essential for maintaining the retina. Our data suggest that Col4a3 knock out mice are useful for studying the retinal pathogenesis in Alport syndrome.

キーワード：IV型コラーゲン、アルポート症候群

Key words: Type IV collagen, Alport syndrome

McEDS-CHST14 患者におけるデコリン糖鎖変異の I 型コラーゲン細線維形成に及ぼす影響

橋本綾菜¹、野村義宏¹、広瀬拓哉²、竹花一成²、美名口順²、水本秀二³、山田修平³、古庄知己⁴、笠原優子⁵、岡田尚巳⁵

¹東京農工大学 農学部 硬蛋白質利用研究施設、

²酪農学園大学獣医組織解剖学ユニット、

³名城大学薬学部病態生化学、

⁴信州大学医学部附属病院遺伝子医療研究センター

⁵日本医科大学 生化学・分子生物学

【目的】 mcEDS-CHST14 はデルマタン 4-O-硫酸基転移酵素-1 (D4ST-1) の欠損によるエーラス・ダンロス症候群である。患者由来のデコリンは糖鎖がデルマタン硫酸 (DS) の代わりにコンドロイチン硫酸 (CS) に置き換わっていることから、コラーゲン線維構造が脆弱になり皮膚の異常が顕著になる。本研究では、D4ST-1 欠損患者由来の線維芽細胞からデコリンを調製し I 型コラーゲンの再構成に及ぼす影響について検討した。

【方法】 mcEDS-CHST14 患者由来のヒト皮膚線維芽細胞から CS デコリンを調製し、I 型コラーゲンの再構成への影響について、ゲル形成速度、ゲル強度について測定し、電子顕微鏡による観察を行った。また、患者由来の線維芽細胞を包含し、コラーゲンを再構成させ、ゲル収縮速度および電顕観察を行った。

【結果および考察】 DS を持つ正常デコリンに比べて、CS デコリンはコラーゲンのゲル化を促進するが、再構成ゲルの透明度を低下させることから、患者ではコラーゲン線維の再生異常が考えられた。患者由来の線維芽細胞を包含し、再構成コラーゲンゲルの収縮速度を測定したところ、違いは認められなかった。再構成したコラーゲン線維は、患者由来の細胞が存在することで、コラーゲン細線維の融合の減少が観察できた。以上よりデコリンの糖鎖の異常が I 型コラーゲンおよび皮膚に何らかの影響を及ぼしている可能性が示唆された。

Effect of decorin on type I collagen fibril formation in McEDS-CHST14 patients

A. Hashimoto¹, Y. Nomura¹, T. Hirose², K. Takehana², J. Minaguchi², S. Mizumoto³, S. Yamada³, T. Koshou⁴, Y. Kasahara⁵, T. Okada⁵

¹Applied Biological Chemistry, Tokyo University of

Agriculture and Technology, ²Laboratory of Microanatomy, School of Veterinary Medicine, Rakuno Gakuen University,

³Department of Pathobiochemistry, Faculty of Pharmacy,

Meijo University, ⁴Department of Medical Genetics, Shinshu

University Graduate School of Medicine, ⁵Department of

Biochemistry and Molecular Biology, Nippon Medical

[Objective] mcEDS-CHST14 is Ehlers-Danlos syndrome caused by deficiency of dermatan 4-O-sulfotransferase-1 (D4ST-1). Since the sugar chain of decorin, dermatan sulfate (DS), is replaced by chondroitin sulfate (CS), collagen fibril structure is weakened and abnormality of skin becomes remarkable. In this study, decorin was prepared from fibroblasts derived from D4ST-1 deficient patients and the effects on type I collagen reconstitution were investigated.

【Methods】 CS decorin was prepared from human skin fibroblasts derived from mcEDS-CHST14 patients, and the influence on type I collagen reconstitution was measured on gel formation rate as well as gel strength and observed by electron microscopy. After reconstitution of the collagen by inclusion of the fibroblasts from patients, analysis of gel shrinkage rate and electron microscopic observation were carried out.

【Result】 CS-decorin promoted gelation of collagen as compared with normal DS-decorin, but the transparency of the reconstituted gel decreased, indicating that the regeneration of collagen fibers was disturbed in the patients. No difference between normal and patients' cells was observed in the shrinkage rate of reconstituted collagen gel. Reduction of collagen fibril fusion could be observed due to the existence of patient cells in the reconstituted collagen fibers. These results suggest that sugar chain substitution of decorin may have some effects on type I collagen and skin.

キーワード： デコリン、エーラス・ダンロス症候群、コンドロイチン硫酸、デルマタン硫酸

Key words: decorin, Ehlers-Danlos syndrome, chondroitin sulfate, dermatan sulfate

自閉症モデルマウス大脳皮質体性感覚野におけるコンドロイチン硫酸構造の欠損とオリゴデンドロサイト分化パターンの関連

加藤可那、ケレベール オレリアン、鈴木佑治、平澤恵理

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

【背景と目的】自閉症スペクトラム障害 (ASD) の病態メカニズムには、大脳皮質体性感覚野のシナプスにおける興奮性/抑制性入力のアンバランスとの関連が示唆されている。コンドロイチン硫酸 (CS) は、臨界期の脳においてシナプスの可塑性に関与し、ASD との関連が考えられるが、その分子機構は不詳である。本研究では、大脳皮質体性感覚野に存在する CS から構成される細胞外マトリックス構造 (CS パッチ) の役割を明らかにする。

【方法】臨界期 (生後 1-5 週) の対照マウス (C57BL/6) と ASD モデルマウス (BTBR) の大脳皮質体性感覚野を CS 鎖抗体 (CS56) 及び各種グリアおよび神経細胞マーカーで免疫組織化学的に解析した。

【結果】対照マウス大脳皮質体性感覚野で確認される CS56 抗体陽性の CS パッチが、ASD モデルマウスでは欠損することを見出した。オリゴデンドロサイト (OL) 系譜に特異的な各種分化マーカー (Olig2, Olig1, APC) による解析により、CS パッチの中心には OL 系譜のうち未成熟 OL の早期分画が局在していることがわかった。更に、対照マウスと ASD モデルマウスでは OL の分化パターンが異なっていることがわかった。

【考察】ASD モデルマウスの大脳皮質体性感覚野では CS パッチを欠くこと、CS パッチの有無が OL の分化パターンと相関することから、CS パッチは OL の分化を制御するとともに、ASD の病態とも関連している可能性があることが示唆された。細胞外マトリックスとグリア細胞が脳の発達過程で果たす役割の理解を深める結果と考えられた。

Impaired chondroitin sulfate structure on immature oligodendrocyte in somatosensory cortex of a autism mouse model

Kana Kato, Aurelien Kerever, Yuji Suzuki, Eri Arikawa-Hrasawa

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

Background: The mechanism of Autism spectrum disorder (ASD) has been proposed to be related with excitation/inhibition imbalance during critical periods of development. Chondroitin sulfate (CS) chains have been reported to play a role in synaptic plasticity during the critical period. However, the role played by CS chains in the physiopathology of ASD remains unclear.

Methods: We investigated the maturation of the somatosensory cortex during the postnatal critical period of an ASD mouse model (BTBR) and used C57BL/6 as control mice using immunostaining. We focused on a specific CS structure that is revealed by CS56 antibody and on cells of oligodendrocyte lineage using the following markers Olig2, Olig1 and APC.

Results: CS56+ CS patches were not detected in the somatosensory cortex of BTBR mice contrast to C57BL/6 ones. We found that the early immature OL were localized at the center of CS56+ CS patches. Furthermore, we found significant differences in the pattern of the differentiation of oligodendrocytes in the postnatal cortex of BTBR mice.

Discussion: The absence of CS56+ CS patches in the BTBR mouse somatosensory cortex correlated with the impaired oligodendrocyte differentiation suggests that CS patches might be involved the differentiation of oligodendrocytes and might also play a role in the pathophysiology of ASD. This study may bring new insights on the role of ECM in the normal and abnormal brain development.

キーワード：コンドロイチン硫酸、オリゴデンドロサイト、自閉症スペクトラム障害

Key words: Chondroitin sulfate, Oligodendrocyte, Autism spectrum disorder

中枢神経系のヒアルロン酸代謝における Hyaluronan Binding Protein Involved in Hyaluronan Depolymerization (HYBID, KIAA1199) の役割の検討

吉野雄太¹、嶋澤雅光¹、吉田浩之²、井上紳太郎³、
下田将之⁴、岡田保典^{4,5}、原英彰¹

¹ 岐阜薬科大学薬効解析学、

² 花王株式会社生物科学研究所、

³ 岐阜薬科大学化粧品健康学、

⁴ 慶應義塾大学医学部病理学、

⁵ 順天堂大学医学研究科運動器・腫瘍性疾患病態学

【目的】HYBID はヒアルロン酸 (HA) 結合タンパク質であり、皮膚や軟骨組織の線維芽細胞の HA 分解に重要な役割を担う。我々の過去の検討で、*Hybid* mRNA が野生型マウスの脳、特に海馬と小脳に発現することを明らかにした。*Hybid* 欠損 (KO) マウスを用いた、新奇物質探索試験および Morris 水迷路試験による行動学的解析の結果、記憶学習能力の低下が認められた (Yoshino et al., (2017), *Neuroscience*, 347, 1-10)。本検討では、中枢神経系の HA 代謝と *Hybid* 遺伝子発現との関わりを調べた。

【方法】マウス海馬 HA の定量は、HA 結合タンパク質を利用したサンドイッチアッセイ法を用いた。脳由来 HA の分子量分布はゲルろ過クロマトグラフィーにより求めた。HA 結合タンパク質を用いた HA 染色により脳組織の HA 分布を可視化した。

【結果】*Hybid* KO マウス海馬の HA 量は野生型マウスの約 2.5 倍多かった。さらに、*Hybid* KO マウス海馬の HA 分子量サイズは野生型に比べて約 500 kDa から 2000 kDa に増加した。また、*Hybid* KO マウス脳における HA 染色により、野生型マウスでは *Hybid* mRNA が多く発現する海馬歯状回付近で顕著に HA が蓄積していた。

【結語】これらのデータから、*Hybid* KO マウスの海馬では高分子量 HA が蓄積することが示され、HYBID を介した HA 分子量分布の制御が記憶や学習を含む高次脳機能において重要であることが示唆された。

The role of Hyaluronan Binding Protein Involved in Hyaluronan Depolymerization (HYBID, KIAA1199) in mouse central nerve system.

Y. Yoshino¹, M. Shimazawa¹, H. Yoshida², S. Inoue³,
M. Shimoda⁴, Y. Okada^{4,5}, H. Hara¹

¹ Molecular Pharmacology, Gifu Pharmaceutical University.

² Biological Science Research, Kao Corporation. ³ Cosmetic Health

Science, Gifu Pharmaceutical University. ⁴ Department of Pathology,

Keio University. ⁵ Department of Pathophysiology for Locomotive and Neoplastic Diseases, Juntendo University.

[Objective] HYBID (Hyaluronan Binding Protein Involved in Hyaluronan Depolymerization, KIAA1199) is a hyaluronan (HA) binding protein, which plays a crucial role in skin and synovial HA depolymerization. In our previous study, we have demonstrated that *Hybid* mRNA expressed in the brain, especially hippocampus and cerebellum in wild-type mice. *Hybid* knockout (KO) mice showed decreased memory abilities in a novel object recognition test and Morris water maze test (Yoshino et al., (2017), *Neuroscience*, 347, 1-10). In this study, we examined whether HYBID expression is involved in HA metabolism in the central nervous system. [Methods] To investigate the amount of HA in hippocampus, the sandwich assay using HA binding protein was performed. The size distribution of HA in the brain tissue was determined by size-exclusion column chromatography. HA staining using HA binding protein was carried out to visualize the HA distribution in the brain tissue. [Results] The amount of HA in hippocampus of *Hybid* KO mice was significantly higher by 2.5-fold than that of wild-type mice. In addition, the size of HA molecular weight (2000 kDa) in hippocampus of the *Hybid* KO mice was larger than that (500 kDa) of the wild-type mice. HA staining showed a significant accumulation of HA in dentate gyrus of hippocampus of the *Hybid* KO mice, where *Hybid* mRNA is expressed abundantly in wild-type mice. [Conclusion] These data indicate that high molecular weight HA is accumulated in the hippocampus of the *Hybid* KO mice, suggesting that regulation of HA size distribution mediated by HYBID may be crucial for brain function such as memory and learning.

キーワード：海馬、記憶、ヒアルロン酸

Key words: hippocampus, memory, hyaluronan

ヒト皮膚線維芽細胞のヒアルロン酸分解過程における候補因子 HYBID および TMEM2 の役割

後藤優和¹、吉野雄太²、原英彰²、井上紳太郎¹

¹ 岐阜薬科大学化粧品健康学講座、

² 岐阜薬科大学薬効解析学

【目的】 身体のヒアルロン酸 (HA) の 50%以上を占める皮膚 HA は、約 2 日の半減期で素早く代謝回転され、分子量 10^6 以上の高分子 HA は 10^5 オーダーの中分子量 HA に分解された後、リンパ・血流に移行する。しかし、HA 分解の最初期過程である細胞外高分子量 HA の分解を担う因子は長らく不明であった。これまで、我々は皮膚や軟骨組織の HA 分解に関与する HA Binding Protein Involved in HA Depolymerization (HYBID, KIAA1199) を同定した (Yoshida et al. (2012), *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 110, 5612–7)。一方、昨年、HYBID と類似構造をもつ 2 型膜タンパク質 Transmembrane protein 2 (TMEM2) が新規 HA 分解酵素候補として報告された (Yamamoto et al. (2017), *J. Biol. Chem.* 292, 7304–13)。しかし、HYBID と TMEM2 が皮膚でどのような役割を担うかの詳細は依然不明確である。今回、HA 分解に寄与する候補因子 HYBID と TMEM2 の皮膚線維芽細胞における HA 代謝における役割をそれぞれ比較検討した。

【方法】 ヒト皮膚線維芽細胞 Detroit551 株を用いた。FITC 標識 HA を培地に添加・培養後の培養上清を回収し、サイズ排除ゲルクロマトグラフィーにより HA 分子量分布を測定した。HYBID および TMEM2 のノックダウンにはそれぞれの特異的 siRNA を用いた。両因子の mRNA 発現量は RT-PCR 法、タンパク質発現量は Western blotting 法により調べた。

【結果】 HYBID 発現量は、HA 分解活性亢進作用をもつヒスタミンの添加により増加し、逆に HA 分解を抑制する TGFβ1 の添加により減少した。一方、TMEM2 発現量は TGFβ1 添加で著しく増加し、ヒスタミンの影響は受けなかった。興味深いことに、HYBID のノックダウンにより HA 分解活性が減弱したのに対し、TMEM2 のノックダウンでは HA 分解活性は逆に亢進した。

【考察】 HA 分解酵素として報告された TMEM2 は、皮膚線維芽細胞では HA 分解というよりは、むしろ HA 分解に阻害的にはたらく因子であることが示唆された。

Roles of HYBID and TMEM2 in hyaluronan depolymerization in human skin fibroblasts.

M. Goto¹, Y. Yoshino², H. Hara², S. Inoue¹

¹ Cosmetic Health Science, Gifu Pharmaceutical University.

² Molecular Pharmacology, Gifu Pharmaceutical University.

[Objective] Skin contains over 50% of the total hyaluronan (HA), which are dynamically synthesized and degraded with a turnover rate of 2 days or less. At first, high molecular weight HA ($>10^6$) is depolymerized to intermediate size ($\sim 10^5$) in peripheral tissues, followed by draining fragments into systemic circulation for further degradation. However, a key player involved in the earliest stage of HA depolymerization in the extracellular space remains unclear. In previous reports, we determined HYBID (HA Binding Protein Involved in HA Depolymerization, KIAA1199) as a novel factor which plays a crucial role in skin and synovial HA depolymerization. On the other hand, transmembrane protein 2 (TMEM2) was reported as a novel hyaluronidase in the last year. However, detail roles of HYBID and TMEM2 in the skin HA turnover remain obscure. In this study, the activity and its regulation of HYBID and TMEM2 were investigated in cultured human skin fibroblasts.

[Methods] Human dermal fibroblast, Detroit 551 was used. The size distribution of HA was determined by gel filtration chromatography. For knockdown of HYBID and TMEM2, corresponding specific siRNAs were used. Protein and mRNA expression were analyzed by western blotting and RT-PCR, respectively.

[Results] The expression levels of HYBID were increased by histamine which stimulated HA depolymerization but decreased by TGFβ1 which inhibited HA depolymerization. On the contrary, the expression levels of TMEM2 were increased by TGFβ1, and not affected by histamine. Furthermore, knockdown of HYBID suppressed HA depolymerization, however interestingly knockdown of TMEM2 enhanced HA depolymerization on the contrary.

[Discussions] These data suggest that TMEM2 functions as an inhibitory factor against HA depolymerization in the skin fibroblasts.

変形性関節症関連 microRNA の検索並びに解析

大月孝志¹、オメル・ファルク・ハティポール¹、品岡玲²、
メフメット・ゼイネル・チレッキ^{1,5}、西村拓人¹、
浅野恵一³、稲垣純子⁴、大橋俊孝³、西田圭一郎²、
岡田保典⁵、廣畑聡¹

¹岡山大学大学院 保健学研究科 検査技術科学、²医歯
薬学総合研究科 人体構成学、³分子医化学、⁴細胞化
⁵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

【目的】初期変形性関節症 (OA) では炎症性サイトカイン産生が行進し細胞外マトリックス分解酵素の産生誘導、細胞外マトリックス成分の産生抑制・分解が生じていると考えられている。我々はこれまでの検討でヒアルロン酸 (HA) 前処理、メカニカルストレス (Cyclic Tensile Strain (CTS)) が炎症性サイトカインの誘導する ADAMTSs、MMPs mRNA 発現を抑制し、アグリカン、2型コラーゲンの発現抑制を軽減・回復することを報告している。microRNA は標的 mRNA に結合・不安定化するとともに翻訳抑制を行いタンパク産生を抑制しました。今回、我々は OA の発症・進展に関与する microRNA の検出・解析を行うことにした。

【方法】(I); ヒト軟骨様細胞株 (OUMS-27) に対し (a) (無刺激)、(b) IL-1 β 、TNF α (各 10ng/mL) 6h 単独刺激、(c) IL-1 β 、TNF α (各 10ng/mL)、メカニカルストレス (CTS) (5%, 0.5Hz) 同時刺激 6h を行い細胞から microRNA を回収した。(II); OUMS-27 に対し (I) (無刺激)、(II) IL-1 β 、TNF α (各 10ng/mL) 6h 単独刺激、(III) HA (MW 2700ka) (I) (無刺激)、1mg/mL、5h) で前処理を行い IL-1 β 、TNF α 6h 刺激し microRNA を回収した。I、II の試験系で回収した microRNA を microRNA array 解析に供した。各試験系内での変動パターン、複数の mRNA 結合アルゴリズムから候補を選択した。更に選択した miR-xxx mimic を OUMS-27 に導入した。

【結果】選択 microRNA を細胞で発現したところヒアルロン酸分解に関与する HYBID (KIAA1199) タンパク発現が抑制された。

【考察および結論】今回見いだされた microRNA は炎症性サイトカインで誘導されるヒアルロン酸分解活性に関与する HYBID を抑制したことから、本 miRNA について検討・解析することで新たな OA の治療方法につながる可能性が示唆された。

Isolation and characterization of Osteoarthritis concerning microRNA

Takashi Ohtsuki¹, Omer Faruk Hatipoglu¹, Akira Shinaoka²,
Mehmet Zeynel Cilek^{1,5}, Takuto Nishimura¹, Keiichi Asano³,
Junko Inagaki⁴, Toshitaka Oohashi³, Keiichiro Nishida²,
Yasunori Okada⁵, Satoshi Hirohata¹

¹Department of Medical Technology, Okayama University
Graduate School of Health Sciences,

²Department of Human Morphology,

³Department of Molecular Biology and Biochemistry,

⁴Department of Cell Chemistry, Graduate School of Medicine,
Dentistry and Pharmaceutical Sciences, Okayama university,

⁵Department of Pathology for Locomotive and Neoplastic
Diseases, Juntendo University, Graduate School of Medicine

【Objective】

In osteoarthritis (OA) patients knee cavity, inflammatory cytokines production were up-regulated and they induced matrix degradative enzymes expression on the other hand down-regulated cartilage matrix expression. We previously reported hyaluronan (HA) pretreatment and CTS attenuated cytokine induced ADAMTSs and MMPs, furthermore attenuated down-regulated aggrecan and type 2 collagen. We screened and analyzed microRNA concerning OA.

【Methods】

We stimulated chondrocyte-like cell line OUMS-27 cells with IL-1 β and TNF α (each 10ng/mL). We analyzed two sets of treatment groups. Group I were treated as follows; (a) nontreatment, (b) IL-1 β /TNF α , 6h (c) IL-1 β /TNF α with cyclic tensile strain (CTS). Group II were treated as follows; (a) nontreatment, (b) IL-1 β /TNF α , 6h (c) IL-1 β /TNF α with HA pretreatment (1mg/mL, 5h). After treatment, microRNA was purified from cells and used microRNA array analysis. By changing pattern among treatment subgroups, we selected microRNA from group I and II. Furthermore, we narrow down microRNA by their target mRNA. Selected microRNA was cloned expression vector and transfected into OUMS-27 cell. MicroRNA transfected cells were treated with IL-1 β /TNF α for 6h.

【Results】

MiR-xxx mimic transfected OUMS-27 cells showed reduction of HYBID (HYaluronan-Binding protein Involved in hyaluronan Depolymerization) protein expression induced by IL-1 β /TNF α .

【Discussion and conclusion】

The microRNA we found dramatically attenuated inflammatory cytokine induced HA depolymerizing protein expression.

Our findings provide insight into the molecular basis for microRNA using OA therapy.

キーワード：軟骨、ADAMTS、ヒアルロン酸

Key words: cartilage, ADAMTS, hyaluronan

プラスミノゲンによる角膜実質細胞のコラーゲン分解能に黄色ブドウ球菌培養上清とスタフィロキナーゼが与える影響

杉岡孝二¹、佐藤朋子²、高橋彩¹、
三島弘¹、西田輝夫³、下村嘉一²

¹近畿大学医学部奈良病院眼科、²近畿大学医学部眼科学教室、³山口大学医学部眼科学教室

【目的】細菌性角膜潰瘍は角膜実質のコラーゲンの分解がその病態の中心である。細菌性角膜潰瘍の原因菌として黄色ブドウ球菌はよく知られているが、黄色ブドウ球菌による角膜実質のコラーゲン分解のメカニズムについての詳細は不明である。我々は過去に線溶系因子の一つである plasminogen (plg) が角膜実質細胞によるコラーゲン分解の促進に重要な役割を果たしていることを報告している。今回我々は、黄色ブドウ球菌が角膜実質細胞 (HCK) のコラーゲン分解に与える影響について、plg の存在下で黄色ブドウ球菌の培養上清と黄色ブドウ球菌より分泌される化学物質であり、不活性型の Plasminogen (plg) を plasmin に変換し fibrin を分解する作用を持つスタフィロキナーゼ (SAK) を用いて比較検討した。【方法】HCK を1型コラーゲンゲル内に3次元培養し、黄色ブドウ球菌の培養上清 (culture broth:CB) , SAK を plg の存在下と非存在下で培養上清に加え、上清中に蓄積されるヒドロキシプロリン (Hyp) 量を測定した。HCK の MMP-1 の発現は real time PCR と western blot により検討した。【結果】CB, SAK とも plg の非存在下ではコラーゲン分解能を認めなかった。Plg の存在下で CB はHCK の有無に関わらずコラーゲン分解能を発揮した。さらにHCK の細胞数に比例しコラーゲン分解能を促進した。一方 SAK は plg の存在下で、かつHCK の存在下でのみコラーゲン分解反応を引き起こした。しかしこの反応はHCK の細胞数には比例しなかった。HCK による MMP-1 の発現量はCB では著明に増加したが SAK では増加を認めなかった。【考察】プラスミノゲンは黄色ブドウ球菌によるコラーゲン分解作用に重要な役割を果たしていると考えられた。また CB, SAK のコラーゲン分解作用は異なる機序であると考えられた。

キーワード：角膜実質細胞 黄色ブドウ球菌

Plasminogen dependent Collagenolytic Properties of *Staphylococcus Aureus* in Human Corneal Fibroblasts Cultured in Collagen Gel

Koji Sugioka¹, Tomoko Sato², Aya Takahashi¹,
Hiroshi Mishima¹, Teruo Nishida³, Yoshikazu Shimomura²

¹Department of Ophthalmology, Kindai University Nara Hospital

²Department of Ophthalmology, Kindai University Faculty of

Medicine ³Department of Ophthalmology, Yamaguchi University

[Objective] *Staphylococcus aureus* (S. aureus) is one of the most common pathogen being to a significant cause of corneal ulcer. Staphylokinase (SAK), which produced by *Staphylococcus* is a bacterial plasminogen (plg) activator. In this study, to determine the possible role of collagen degradation by S. aureus, we compared the effect of S. aureus culture broth and SAK on collagen degradation using a culture model which human corneal fibroblasts were embedded in a collagen gel. [Methods] Human corneal fibroblasts were cultured in a three-dimensional gel of type I collagen. Media containing S. aureus culture broth and SAK were overlaid on the gels in the presence or absence of plasminogen. Collagen degradation was assessed by measurement of hydroxyproline in acid hydrolysates of culture supernatants. The production of MMP-1 was detected by immunoblot analysis and real time RT-PCR.

[Results] S. aureus culture broth and SAK exhibited its collagenolytic activity under the existence of plasminogen. In the presence of corneal fibroblasts, the amount of degraded collagen by S. aureus +plg remarkably increased in a cell number fashion. On the other hands, SAK+plg did not increase the amount of degraded collagen in cell number dependent manner. S. aureus culture broth has been shown to increase MMP-1 production in corneal fibroblasts, whereas SAK did not affect MMP-1 production in corneal fibroblasts. [Conclusion] The working mechanism of collagen degradation by S. aureus culture broth and SAK is different. The difference of corneal severity by S. aureus may influence these different collagenolytic mechanism.

Key words: corneal fibroblasts S. Aureus

プラスミノゲンが角膜実質細胞の貪食能に与える影響

佐藤朋子¹、杉岡孝二²、青松圭一¹、高橋彩¹、
三島弘²、西田輝夫³、下村嘉一¹

¹近畿大学医学部眼科学教室、²近畿大学医学部奈良病院
眼科、³山口大学医学部眼科学教室

【目的】角膜実質細胞は貪食能を有する細胞であり、創傷治癒過程において重要な役割をしていると考えられている。プラスミノゲンは炎症反応や創傷時に角膜実質内に存在し創傷治癒に関与する。そこで今回我々は角膜実質細胞の貪食能にプラスミノゲンが与える影響について検討を行った。【方法】実験にはヒト角膜実質細胞(HCK)を使用した。プラスミノゲンとHCKの結合を生体分子間相互解析装置である Iasys を用いた binding assay により評価した。HCK と FITC 標識プラスチックビーズを共培養し、プラスミノゲンの投与2時間後と24時間後に貪食能の比率をフローサイトメトリー(FACS)にて測定した。6-Aminohexanoic Acid(EACA)を使用し、プラスミノゲンのHCK表面への結合をブロックすることによる貪食能の変化を検討した。【結果】Iasys binding assay による検討では、プラスミノゲンとHCKの結合は時間および細胞数依存的に増強した。FACSによる貪食能の解析ではプラスミノゲン刺激2時間後では貪食能に差は認めなかったが、24時間後ではプラスミノゲンの存在下でHCKの貪食能は亢進した。またEACAにてプラスミノゲンのHCKへの結合をblockすると貪食能は低下した。

【結論】プラスミノゲンはHCKの貪食能を亢進し、そのメカニズムはプラスミノゲンとHCKの結合が関与していると考えられる。今回の検討からHCKのプラスミノゲンによる貪食亢進作用は、表面上のplasmin活性によるものではなく、HCKへのbindingにより引き起される可能性があると考えられた。

Plasminogen promotes phagocytic activity of cultured human corneal fibroblasts

Tomoko Sato¹, Koji Sugioka², Keiichi Aomatsu¹,
Aya Takahashi¹, Hiroshi Mishima², Teruo ishida³,
Yoshikazu Shimomura¹

¹Kindai University Department of Ophthalmology,²Kindai University
Nara Hospital Department of Ophthalmology,³Yamaguchi University
Department of Ophthalmology

[Purpose]The phagocytic function of corneal fibroblasts (CF) plays an important role in corneal stromal wound healing. CF have a high phagocytic activity. In this study we examined the effect of plasminogen on phagocytosis by CF. [Methods]The ability of plasminogen to bind CF was measured with a real-time cell-molecular interaction assay system, IAsys resonant mirror biosensor. To investigate the phagocytic activity, plastic beads labeled with FITC were used in this study. Plastic beads and CF were incubated in media containing plasminogen for 2 hours or 24 hours. The effects of plasminogen on phagocytic activity of CF was measured by flow cytometry. To clarify the mechanism of phagocytic activity by plasminogen, we used 6-Aminohexanoic Acid (EACA) which block plasminogen binds to CF. [Results]The binding response of Plasminogen to CF was increased in a time-dependent or cell number dependent mechanism at the IAsys binding assay. For flow cytometry analysis, Plasminogen did not promote phagocytic activity at 2 hours after incubation. However, significantly promotes phagocytic activity at 24 hours after incubation. EACA completely inhibited the phagocytic activity stimulated by plasminogen.[Conclusions]These data demonstrate that Plasminogen promotes phagocytic activity of CF. The phagocytic activity by plasminogen depended on the duration of the incubation period. Plasminogen binds to CF is critical to exerts phagocytic activity of CF.

キーワード： wound healing、 fibroblast

Key words: wound healing, fibroblast

Pro-Hyp 投与によるメカニカルストレス負荷下での創傷治癒の有効性

木村公彦¹、自見至郎²、井上直樹³、清水麻衣子³、佐藤健司⁴、大慈弥裕之⁵

¹福岡大学薬学部医薬品情報学、²福岡大学医学部病態構造系総研、³新田ゼラチン株式会社、⁴京都大学大学院農学研究科応用生物科学専攻海洋生物機能学分野、⁵福岡大学医学部形成外科学

【目的】肥厚性癭痕やケロイド発生の病因にメカニカルストレスがある。メカニカルストレスが負荷される動物の腹壁に切開創を作製し、コラーゲンペプチド投与による創傷治癒効果を病理組織学的に検討した。

【方法】C57BL/6N マウスの腹直筋に切開創/欠損創を作製した。創作製後、コラーゲンペプチドである Pro-Hyp (PH) を 500 nmol/0.2mL (PH 群) または 0.2mL 生理食塩液 (対照群) を 7 日間腹腔内投与し、経時的に生理学的、血液学的検索を行った。実験終了後 (実験 5、7 および 10 日目)、創組織を採取し、HE、MT 染色および α -SMA、TGF- β 1、p-Smad3 等を用いた免疫染色、PSR 染色による肉芽内コラーゲン線維量の形態計測を行った。

【結果】腹直筋欠損創は、筋張力により楕円形の創として治癒した。本モデルによる白血球数の増加は認めず、両群間に差はなかった。腹直筋間に形成される肉芽内には、炎症細胞浸潤、TGF- β 1 発現細胞は少なかったが、p-Smad3 発現細胞が多数出現し、両群間に差はなかった。PH 投与は、肉眼的に癭痕の少ない、良好な治癒を促進させ、組織学的には、創収縮および肉芽内コラーゲン線維密度を増加させた。In vitro 実験により、PH は線維芽細胞包含コラーゲンゲルを濃度依存性に収縮させた。

【考察】メカニカルストレスは創傷治癒に伴う肉芽形成に影響を与え、その形成異常は肥厚性癭痕やケロイドを発生させる。PH 投与は、創傷後に形成される肉芽内のマトリックスの成熟過程に作用し、収縮を促進し、張力の掛かる場所での創傷治癒において癭痕の少ない“きれいな”治癒を促進できたことから、手術後の創部治療に有効かもしれない。

Beneficial effects of Pro-Hyp, a collagen peptide on wound healing under mechanical stresses in mice

M. Kimura¹, S. Jimi², N. Inoue³, M. Shimizu³, K. Sato⁴, H. Ohjimi⁵

¹Department of Medicinal Informatics, Faculty of Pharmaceutical sciences, Fukuoka University; ²Cetral Lab for Pathology and Morphology, Fukuoka University; ³R&D Center Nitta Gelatin Inc.; ⁴Division of applied biosciences, Graduate school of agriculture, Kyoto University; ⁵Department of Plastic Surgery, School of Medicine, Fukuoka University

Objective: Mechanical stress is a factor for the pathogenesis of hypertrophic scars/keloids. The effects of the collagen peptides on wound healing under physiological mechanical stresses were studied. Methods: Abdominal wall resection/incision in C57BL/6N mice were performed. After wounding, Pro-Hyp (PH), a collagen peptide, or vehicle alone were given by ip for 7 days. Tissue samples were stained with HE, MT and IHS for α -SMA, TGF- β 1, p-Smad3. Stained collagen fibers in granulation were morphometrically analyzed. Results: Round resection wounds on the abdominal rectus muscle changed to an oval shape by tensile forces during healing. In granulation tissue developed, inflammatory cells and TGF- β 1 expressing cells were quite low in number; however many p-Smad3 expressing cells were found, and no difference was noted between the groups. PH administration accelerated wound healing in good shape, and wound contraction and collagen density in granulation were augmented. PH stimulated collagen gel contraction in the presence of 3T3 cells. Conclusion: Mechanical stress affects the development of granulation tissue after wounding, and its abnormalities give rise to hypertrophic scar/keloid. PH administration primarily exaggerated extracellular matrix maturation in the granulation developed after wounding. PH therefore accelerated scar less wound healing under physiological mechanical stresses. PH may be beneficial for wound healing after abdominal operation.

活性化星細胞・成熟肝細胞間の Jag1/Notch2 シグナルによる肝前駆細胞の動員と線維肝再生への寄与

中野泰博^{1,2}、中尾祥絵^{1,2}、住吉秀明^{1,2}、三上健一郎²、丹野友里²、末岡美那子²、笠原大瑚^{1,5}、茂呂忠^{1,6}、紙谷英^{1,3}、穂積勝人^{1,4}、稲垣豊^{1,2}

¹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、²東海大学・医学部・再生医療科学、³同分子生命科学、⁴同 生体防御学、⁵サンケイエンジニアリング、⁶ミノファーゲン製薬研究所

【目的】肝硬変においては、肝細胞の機能低下に伴う再生不全が臨床で大きな問題となる。一般に、線維肝の再生には肝前駆細胞の関与が示唆されているが、その詳細な制御機構は不明である。α-fetoprotein (AFP)は、肝発生における肝前駆細胞のマーカー分子として広く知られている。そこで本研究では、肝発生期の組織構築に機能する Jag1/Notch2 シグナルに注目し、AFP 陽性細胞の動員と線維肝の再生における役割について検討した。【方法】Jag1 遺伝子を後天的に欠損させた Jag1 cKO マウスおよび対照マウスに対して、四塩化炭素を反復投与することで線維肝モデルマウスを作製し、免疫染色などにより検討した。また、70%部分肝切除を行い、線維肝の再生を評価した。さらに、成熟肝細胞と活性化星細胞との共培養を行うことで、AFP 陽性細胞の起源を検討した。【結果】野生型マウスの線維肝組織では、活性化した星細胞が筋線維芽細胞様へと変化し、線維束を形成していた。この活性化星細胞には Jag1 の高発現が認められ、それに隣接して AFP 陽性細胞が出現し、その核には Notch シグナルの下流因子 Hes1 の発現が認められた。Jag1 cKO マウスでは、線維肝の部分切除後 7 日目における生存率は 14%と、対照マウスの 71%に比して有意に低下していた。切除 2 日目の肝組織を解析したところ、対照マウスでは AFP 陽性細胞が活発に増殖していたのに対して、Jag1 cKO マウスでは AFP 陽性細胞が極めて少ないことに起因した細胞増殖の低下が認められた。成熟肝細胞と活性化星細胞との共培養では、静止期星細胞との共培養と比較し、成熟肝細胞の *Afp* 遺伝子および AFP タンパクの発現誘導が認められ、この誘導は活性化星細胞の Jag1 欠損または成熟肝細胞の Notch2 欠損により阻止された。【結語】以上から、肝線維化に伴って動員される AFP 陽性細胞は、活性化星細胞の Jag1 をリガンドとした成熟肝細胞の Notch2 シグナルの活性化により誘導され、その顕著な細胞増殖能により線維肝の再生に寄与することが示された。

キーワード：肝線維化・肝再生・Notch シグナル

Contribution of Jag1/Notch2 Signal to Fibrotic Liver Regeneration through Possible Dedifferentiation of Mature Hepatocytes

Yasuhiro Nakano^{1,2}, Sachie Nakao^{1,2}, Hideaki Sumiyoshi^{1,2}, Kenichiro Mikami², Yuri Tanno², Minako Sueoka², Daigo Kasahara^{1,5}, Tadashi Moro^{1,6}, Akihide Kamiya^{1,3}, Katsuto Hozumi^{1,4}, and Yutaka Inagaki^{1,2}

¹Cent. for Matrix Biol. & Med. Grad. Sch. of Med., Tokai Univ.; ²Dep. of Regen. Med., ³Dep. of Mol. Life Sci., and ⁴Dep. of Immunol., Tokai Univ. Sch. of Med.; ⁵Sankei Eng., Co. Ltd., and ⁶Res. Lab., Minophagen Pharm. Co., Ltd.

Background & Aims: The liver is well known to possess high regenerative capacity in response to partial resection or tissue injury. However, liver regeneration is often impaired in the case of advanced liver fibrosis/cirrhosis when mature hepatocytes can hardly self-proliferate. Although hepatic progenitor cells have been implicated as a source of hepatocytes in fibrotic liver regeneration, the origin and underlying mechanisms of such progenitor cell mobilization are the matters of controversy. Here, we studied contribution of Jag1/Notch2 signaling to regeneration of fibrotic liver.

Methods: Experimental liver fibrosis was induced in control and Jag1 conditional knockout mice by repeated carbon tetrachloride (CCl₄) injections. Wild-type and *Notch2*-null hepatocytes were subjected to co-culture with either quiescent or activated hepatic stellate cells (HSC) isolated from control and Jag1 knockout mice. **Results:** A significant number of α-fetoprotein (AFP)-positive cells with high proliferative ability were observed along the fibrous septa after CCl₄ injections. A combination of immuno-histochemical staining of liver tissues and co-culture experiments indicated that increased Jag1 expression in activated HSC stimulated Notch2 signaling and up-regulated AFP expression in adjacent hepatocytes. Studies with Jag1 knockout mice demonstrated that Jag1 deletion suppressed the mobilization and proliferation of AFP-positive cells in fibrotic liver tissue and decreased the survival rate of CCl₄-treated fibrotic mice after partial hepatectomy. **Conclusions:** These results indicate that the Jag1/Notch2 signaling contributes, at least in part, to regeneration of fibrotic liver by inducing dedifferentiation of mature hepatocytes, which provides insight into a novel important role of Jag1/Notch2 signaling in liver pathophysiology.

Key words: Liver fibrosis, Liver regeneration, Notch signal

穿刺性マウス大脳皮質損傷時におけるビトロネクチンのアストロサイト活性制御

橋本恵^{1,2}、田邊昌子¹、池田夏実³、中島麻里^{1,3}、池島(片岡)宏子^{4,5}、宮本泰則^{1,3}

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日本学術振興会特別研究員 PD、³お茶の水女子大学大学院人間文化創成科学研究科、⁴早稲田大学理工学術院、⁵慶應義塾大学医学部薬理学教室

ビトロネクチン(VN, vitronectin)は、血液凝固・線溶系や細胞挙動を制御する細胞接着分子である。VN ノックアウト(KO)マウス大脳皮質に穿刺性脳損傷を与えると、血液漏出が長引くことが報告されており、これは血液凝固の遅れに起因することが示唆されている。中枢神経系損傷後は、アストロサイトが活性化しグリア瘢痕を形成することから、VNKO マウスで観察される血液漏出の延長は、血液凝固・線溶系に起因するだけでなく、VN 欠損によるアストロサイト活性制御の崩壊が要因である可能性もある。そこで、本研究では、脳損傷時に、VN がアストロサイト活性を制御するかどうかを検討した。

VN 欠損マウス大脳皮質に穿刺性損傷を与え、その後の損傷部周辺でのアストロサイトマーカー・GFAP タンパク質の発現レベルを酵素抗体染色により観察すると、VN 欠損により GFAP タンパク質発色レベルが増加しており、アストロサイト活性が上昇していることが示唆された。また、野生型では損傷3日後に *Gfap* mRNA 発現レベルがピークになるのに対し、VNKO マウスではピークが損傷後5日目まで続いていた。さらに、損傷後の炎症性サイトカイン mRNA レベルを解析したところ、VN 欠損マウスでは *IL-6* mRNA 発現上昇が野生型よりも長く続いていた。

本研究により、中枢神経系損傷後、VN はアストロサイト活性を制御することが示された。VN はアストロサイト活性を制御することで、脳損傷後の炎症拡大を防ぐ役割をもつと考えられる。

Vitronectin regulates the astrocyte activation in the stab-wounded mouse cerebral cortex

Kei Hashimoto^{1,2}, Masako Tanabe¹, Natsumi Ikeda³, Mari Nakashima^{1,3}, Hiroko Ikeshima-Kataoka^{4,5}, Yasunori Miyamoto^{1,3}

¹Institute for Human Life Innovation, Ochanomizu University, ²Research Fellow of Japan Society for the Promotion of Science, ³Graduate School of Humanities and Sciences, Ochanomizu University, ⁴Faculty of Science and Engineering, Waseda University, and ⁵Department of Pharmacology and Neuroscience, Keio University School of Medicine.

Vitronectin (VN), one of the adhesion proteins, is known to be involved in the regulation of blood coagulation, fibrinolysis, and cell behavior. In the previous study, it is reported that blood coagulation delays in the stab-wounded cerebral cortex of VN-knockout (KO) mouse, compared with that in wild-type mouse because of over-fibrinolysis. After the injury of central nervous system, activated astrocytes form glial scar, therefore it is possible that the prolongation of hemorrhage in VN-KO mouse is caused by not only the over-fibrinolysis, but also the regulation of astrocyte activity. Here, we examined the effects of VN on the activation of astrocytes in the stab-wounded cerebral cortex using VN-KO mice.

First, we analyzed the expression level of GFAP, the marker of astrocyte, in stab-wounded VN-KO mice. The immunostaining level of GFAP around the lesion was increased in VN-KO mice, it was suggested that VN regulates the activation of astrocytes in the wounded cerebral cortex. Moreover, we analyzed the effect of VN loss on the mRNA expression level of pro-inflammatory cytokines in the lesion, and it is cleared that the up-regulation of *IL-6* mRNA expression level by the stab wound were prolonged by the loss of VN.

These results demonstrate that VN regulates the inflammation after the brain injury. It is suggested that VN plays a role to hold the inflammation damage to a low level by the regulation of astrocyte activity.

キーワード：VN、脳損傷、アストロサイト

Key words: Vitronectin, Brain injury, Astrocyte

大野竜暉、吉村祐輔、辻裕介
オレリアン・ケレベール、平澤(有川)恵理

Tatsuki Ono, Yusuke Yoshimura, Yusuke Tsuji,
Aurelien Kerever, Eri Arikawa-Hirasawa

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

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

成体神経新生領域においては、細胞外マトリックス (ECM) 構造が線維芽細胞増殖因子-2 (fibroblast growth factor-2, FGF-2) を始めとする種々のヘパリン結合成長因子シグナルと連携し、神経幹細胞 (neural stem cells, NSCs) の運命を制御している。我々は NSC の増殖分化制御における ECM の寄与を解明するため、ECM 構造を保持したまま脳組織の細胞を除去するプロトコルを確立し、3次元神経新生モデルの完成を目指している。胎児マウスの脳から取得した neurosphere (NS) を 12 週齢マウスの脱細胞脳組織上で培養し、NS 由来の神経幹細胞の脱細胞組織への定着を核染色 DAPI にて、分化能を Tuj1、S100 β 等の分化マーカーを用いた免疫染色により検討した。第 49 回学術大会において、我々は NS が脱細胞組織に定着し、神経細胞・グリア細胞のいずれにも分化可能であるが、神経細胞への分化が著しく阻害されていることを示した。今回、chondroitinase 処理によるコンドロイチン硫酸の除去が神経分化を促進する結果を示した。chondroitinase 処理をした脱細胞組織上には、未処理脱細胞組織上よりも有意に多くの細胞が定着した ($p=0.0013$)。そのうち、神経細胞へと分化した細胞の数は chondroitinase 処理脱細胞組織上において有意に多かった ($p=0.0069$)。グリア細胞では有意な差は見られなかった ($p=0.6716$)。脱細胞組織の ECM におけるコンドロイチン硫酸鎖が、移植した NS の神経細胞への分化を阻害している可能性が示唆され、脱細胞脳組織を用いた 3 次元脳組織モデルの最適化に糖鎖修飾が有用であると思われた。

In adult neurogenic niches, extracellular matrix (ECM) can control the fate of neural stem cells (NSCs) through the regulation of growth factor signaling. In order to elucidate the contribution of ECM in the regulation of NSCs growth and differentiation, we established a novel protocol to decellularize the brain tissue while preserving its ECM structures. We are aiming at establishing 3D neurogenesis model by using this system. We proceeded to culture neurosphere derived NSCs from embryonic mouse brain onto young (12 weeks) decellularized brain tissue. We performed immunostaining for DAPI to confirm that the NSs integrated into the decellularized tissue. And we performed immunostaining for Tuj1 and S100 β to assess the differentiation of NSCs into neurons and glial cells respectively. In the previous meeting, we showed that NS integrated into the decellularized tissue and it differentiated into both neurons and glial cells, however the differentiation to neural cells was remarkably inhibited. In this study, we found that the removal of chondroitin sulfate (CS) chains was beneficial to the growth of neurons on the decellularized tissue. We found that significantly more cells integrated into the decellularized tissue after removal of CS chains by chondroitinase ABC ($p=0.0013$). Furthermore, differentiation into neurons was significantly increased in the absence of CS chains ($p=0.0069$) while differentiation into glia remained unchanged ($p=0.6716$). Altogether, the result in this study suggest that CS chains in ECM inhibit the differentiation from NS to neural cells.

B4 - 1

ミズクラゲコラーゲンによる再上皮化促進作用の機序解明

住吉秀明^{1,2}、遠藤整³、柳川享世^{1,2}、中野泰博^{1,2}、岡村陽介⁴、川口章¹、稲垣豊^{1,2}

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

我々はミズクラゲに由来するコラーゲンが人工真皮を用いた治療実験を通じて、再上皮化を含めた皮膚再生を支援できる事を報告してきた。しかし、ミズクラゲコラーゲンの、この促進効果に対する生物学的背景は明らかではない。今回の研究はミズクラゲコラーゲンのより効率的な利用につながる、その再上皮化の機序の解明を試みた。ミズクラゲコラーゲンによって促進される再上皮化の先端部は薄い epidermal tongue を特徴とし、ケラチン 1 などの角化マーカーに乏しいが、ケラチン 5 に富む表皮角化細胞は存在し、下側の層中を遊走していることが、免疫組織染色によって示された。続いて、細胞の形態特性に関わる遺伝子発現の変化を評価するため、初代培養ケラチノサイトを用いてミズクラゲコラーゲン存在下・非存在下におけるリアルタイム PCR 解析を行なった。そのデータではミズクラゲコラーゲンによって角化マーカー遺伝子の発現は変動しなかったが密着結合蛋白質である occludin の増加を見出す事が出来た。密着結合は細胞接着だけでなく、上皮性細胞の極性を形成することにより細胞遊走を促す報告がある。加えて我々はコラーゲンフィルムに対する足場接着アッセイを行なった。このデータはミズクラゲコラーゲンを含むコラーゲンフィルムは含まないものよりも効果的な足場接着性を持つことを示した。これらのことからミズクラゲコラーゲンは細胞の足場接着と細胞間の接着に役割を果たし、ケラチノサイトの形態と遊走に関与することが考えられた。

The elucidation of the mechanisms in re-epithelialization enhancement by jellyfish collagen

Hideaki Sumiyoshi^{1,2}, Hitoshi Endo³, Takayo Yanagawa^{1,2}, Yasuhiro Nakano^{1,2}, Yousuke Okamura⁴, Akira Kawaguchi¹, Yutaka Inagaki^{1,2}

¹ Graduate School of Medicine Center for Matrix Biology and Medicine, ² Department of Regenerative Medicine ³ Department of Preventive Medicine, ⁴ Department of Engineering Applied Biochemistry, Tokai University.

We have reported that Jellyfish collagen derived from *Aurelia aurita* could support the skin regeneration including re-epithelialization through artificial dermis treatment. However little was understood about biological backgrounds of these effects. In this study aimed to elucidate the mechanism of re-epithelialization enhancement by jellyfish collagen leading to effective utilization. The epidermal tongue in wound edge was characteristic of thin shapes with accelerating re-epithelialization by jellyfish collagen. This thinner epidermal tongue indicated low level of keratinization maker protein like keratin 1, and keratin 5 rich keratinocytes existed and migrated in lower layer by immunostaining. Subsequently real time PCR was used to assess the alteration of gene expression for cell morphologic statuses in cultured keratinocytes with and without jellyfish collagen. Data shown that keratinization maker gene expressions were unaffected with jellyfish collagen but could find an increase in tight junction protein occludin. Tight junction were reported the functions not only cell-cell connection but also enhanced cell migration by forming epithelial cell polarity. Additionally we carried out cell adhesion assays against collagen films. This data shown jellyfish collagen contained films were efficacious in adhesion than without jellyfish collagen films. These data shown that jellyfish collagen was thought to play a role of adhesion to scaffolds and cell-cell contacts involving in keratinocytes morphology and enhanced of migration.

キーワード：ミズクラゲコラーゲン、再上皮化

Key words: jellyfish collagen, Re-epithelialization

ブタ各種臓器由来線維芽細胞の単離および *in vitro* 産生コラーゲンの性状解析

八木志乃海¹、田中啓友¹、多賀祐喜¹、遠山周吾²、
小林英司²、服部俊治¹

¹ 株式会社ニッピ バイオマトリックス研究所、

² 慶応義塾大学 医学部 臓器再生医学寄附講座

【背景・目的】我々はコラーゲンの臓器特異性に着目し、臓器コラーゲンの性状解析を実施してきた。昨年の本学会では種々な臓器（心臓、脾臓、腎臓、肝臓、肺、皮膚）でコラーゲン型の組成が異なるだけでなく、I型コラーゲン自体の性質（熱安定性、翻訳後修飾や線維形成能）も臓器間で異なることを報告した。これは臓器ごとにコラーゲンの性質がカスタマイズされることを示す。しかし、このような特異性が何により規定されるのかは明らかでない。そこで本研究では、コラーゲンを産生する線維芽細胞自体に臓器間で性質の違いがあり *in vitro* での培養で合成分泌されたコラーゲンに違いがあるかを検討した。【方法】ブタ新生仔の臓器（心臓、脾臓、肝臓、肺、皮膚）から線維芽細胞を単離し、37°C、L-アスコルビン酸 2 リン酸-10% FBS 含有 DMEM 培地にて培養し、コラーゲンを産生させた。コラーゲンの組成を電気泳動、熱安定性を円偏光二色性分析、翻訳後修飾をアミノ酸分析や LC-MS 解析、線維形成を吸光測定や AFM 観察により解析した。【結果】細胞産生コラーゲンでは生体臓器でみられたコラーゲン型の組成に特異性がみられなかった。また I 型コラーゲンに精製し、種々の解析を実施したが、熱安定性、3-hydroxyproline (Hyp), 4-Hyp, galactosyl hydroxylysine (GHL) 量、線維形成プロファイルに臓器間差は認められなかった。しかし興味深いことに hydroxylysine (Hyl)、glucosyl-galactosyl

hydroxylysine (GGHL) 量は皮膚と比べて内臓で多く、線維芽細胞の臓器間差が認められた。【考察】Hyl と GGHL 量は細胞自体の性質で修飾が制御されている可能性が示唆されたが、多くの I 型コラーゲンの臓器特異性は他の条件で規定される可能性がある。この条件としては、細胞が存在する外部環境、例えば臓器の物理的性質（温度環境や硬さなど）、液性因子や他の細胞からの影響が考えられる。

Isolation of porcine organ-derived fibroblasts and characterization of fibroblast-produced collagens

Shinomi Yagi¹, Keisuke Tanaka¹, Yuki Taga¹,
Shugo Tohyama², Eiji Kobayashi², Shunji Hattori¹

¹ Nippi Research Institute of Biomatrix

² Department of Organ Fabrication, Keio University School of Medicine

We have previously reported that pepsin-solubilized collagens derived from heart, spleen, liver, lung and skin have not only different composition but also the different profiles of posttranslational modifications (PTMs) such as 4-hydroxyproline (Hyp), hydroxylysine (Hyl), galactosyl Hyl (GHL) and glucosyl galactosyl Hyl (GGHL) of type I collagen. Our results indicated that the properties of collagen (composition, PTMs, etc.) are customized to each organ. However, the cause of organ specificity of type I collagen remains to be clarified. We hypothesized that fibroblasts of each organ may have different properties.

Fibroblasts were isolated from newborn porcine organs; heart, spleen, liver, lung and skin. All fibroblasts were cultured within DMEM with 10% FBS containing ascorbic acid at 37 °C for 3 weeks. Collagens were prepared from the media by pepsin treatment. Collagens from each organ-derived fibroblast showed no significant differences in the compositions of types I, III and V. Type I collagens from each organ specific fibroblast were compared by mobility on SDS-PAGE, thermal stability by circular dichroism, posttranslational modification by both amino acid analysis and LC-MS analysis, fibril formation by turbidity, and fibril structure by AFM. Thermal stability, the ratio of 3-Hyp, 4-Hyp and profiles of fibril formation/structure were not significantly different among type I collagens from each organ specific fibroblast. Interestingly, the amount of Hyl and GGHL were higher in collagen synthesized by internal organ fibroblasts than those by skin fibroblasts.

Our results suggest that production of Hyl and GGHL may depend on the source of fibroblasts. On the other hand, other organ specificity may be due to the physiological environment of fibroblasts such as physical properties of organ (temperature, stiffness, etc.), soluble factors and other cells communicating with fibroblasts. Fibroblasts could produce unique collagens by the effects of other factors above mentioned.

キーワード：コラーゲン、線維芽細胞、臓器特異性

Key words: collagen, fibroblast, organ specificity

B4 - 3

I 型コラーゲンコート上で培養したマウス 3T3-L1 細胞が示す一次繊毛の伸長および細胞遊走の上昇は細胞核内の YAP 発現量の上昇を介する

徐茜¹、劉曉玲¹、劉偉偉¹、林利彦¹、大和雅之²、藤崎ひとみ³、服部俊治³、田代真一⁴、小野寺敏⁵、池島喬¹

¹ 中国瀋陽薬科大学中日医薬研究所、² 東京女子医大先端生命研、³ ニッピバイオマトリクス研、⁴ 京都府立医大、⁵ 昭和薬大

[目的] マウス 3T3-L1 細胞を I 型コラーゲンコートした培養皿で培養したとき生じる一次繊毛の伸長および遊走促進において Hippo/YAP 経路が関与しているかを解明。[方法] I 型コラーゲンをコートした培養皿上でマウス 3T3-L1 細胞を培養する。細胞遊走能は 1) コンフルエント細胞を掻き取り、一定時間後に覆う細胞占有面積から、また、2) トランスウェル細胞数で測定。一次繊毛の解析はアセチル化チューブリン抗体で染め、共焦点蛍光顕微鏡での観察から。タンパク質因子の発現量は細胞核と細胞質画分のウエスタンブロットで行った。[結果] 徐茜らの先行研究で、コラーゲンコート上での 3T3-L1 細胞は一次繊毛が伸長し、細胞遊走能が促進されることを見出している。Hippo/YAP 経路は細胞外の状況を認識し、組織の構造機能の発生、維持に関与する。一方、YAP は細胞に及ぼす張力などに応じて細胞核に移動して転写を調節する。コラーゲンコート上の培養で、3T3-L1 細胞は YAP の核内局在を劇的に上げる。YAP の阻害剤 verteporfin を加えると一次繊毛の伸長は抑制され、繊毛形成に関わるタンパク質 IFT88 の発現も抑えられる。YAP あるいは IFT88 をノックダウンするとコラーゲンコートにより促進された細胞遊走が抑えられた。[考察] コラーゲンコートした培養皿上でコンフルエントに達した 3T3-L1 細胞では YAP の活性化が起き、一次繊毛の伸長、細胞遊走に関わるタンパク質発現が高まっていることと、結びついていると考えられる。コラーゲンコート上の 3T3-L1 細胞のコンフルエント状態は YAP を活性化し、この結果、一次繊毛の伸長が生じ、それに伴って、細胞遊走能が上昇していると解釈できる。

Type I collagen-induced YAP nuclear expression promotes primary cilia growth and contributes to cell migration in confluent mouse embryo fibroblast 3T3-L1 cells

Qian Xu¹, Xiaoling Liu¹, Weiwei Liu¹, Toshihiko Hayashi¹, Masayuki Yamato², Hitomi Fujisaki³, Shunji Hattori³, Shin-ichi Tashiro⁴, Satoshi Onodera⁵, Takashi Ikejima¹

¹ China-Japan Res Inst, Shenyang Pharm Univ, Shenyang, China ² Inst Adv Biomed Eng Sci, Tokyo Wom Med Univ, Tokyo, ³ Nippi Biomatrix, Toride, ⁴ Kyoto Pref Univ of Med, Kyoto ⁵ Showa Pharm Univ

[Objective] Examination on the involvement of Hippo/YAP pathway in primary cilia growth as well as in the enhanced migration of 3T3-L1 cells cultured on type I collagen (Col I)-coated plate. [Methods] 3T3-L1 cells cultured on Col I-coated plate were used. Cell scratch and transwell assays were for cell migration. The apparent ciliary length was determined from the images by confocal fluorescent micrography after staining with anti-acetylated tubulin antibody. Protein levels of factors were determined by western blotting in nuclear fractions or cytoplasmic fractions. [Results] Our previous results showed that Col I increased the length of primary cilia and the expression of primary cilia-associated proteins in 3T3-L1 cells particularly after cell confluence. The Hippo/YAP pathway, serving as a major integrator of cell surface-mediated signals and regulating key processes for the development and maintenance of tissue functions, was examined. YAP localization in the nucleus dramatically increased when the cells were cultured on Col I-coated plate, accompanied by cilia growth. YAP inhibitor verteporfin repressed the growth of primary cilia as well as the expressions of ciliogenesis-associated proteins including IFT88, in confluent 3T3-L1 cells cultured on Col I-coated plate. Knockdown of either YAP or IFT88, one of the ciliogenesis-associated proteins, reversed the migration of confluent 3T3-L1 cells promoted by the culture on Col I-coated plate. [Conclusion] Activation of YAP pathway by the cells cultured on Col I-coated plate for confluent 3T3-L1 cells is positively associated with the primary cilia growth that is in turn associated with the promoted migration.

キーワード：一次繊毛、コラーゲン、YAP、細胞遊走

Key words: primary cilia, collagen, YAP, cell migration

卵殻膜による腸内細菌のバランス化と III 型コラーゲン

跡見順子¹、清水美穂¹、柴山夏実¹、藤田恵理¹、
島山望¹、長谷部由紀夫²

¹東京農工大学工学府材料健康科学、

²株式会社アルマード

【目的】近年、腸内細菌叢が生活習慣病、癌、免疫疾患、感染症、精神疾患、美容にいたる身心の健康と深く関わっていることが報告されている。成人における腸内細菌叢は、本人の日常的努力である食事や運動によって変化しうるため、健康科学的に重要である。本研究では ECM を主成分とする鶏卵殻膜健康サプリメント摂取による腸内細菌叢改善についてヒトでの検証と、マウスでの大腸 ECM 環境改善効果について検討した。【方法】20代から60代までの疾病に罹患していない男女31名を被験者とし、二重盲検法により6ヵ月間のサプリメント摂取実験を実施した。被験者は卵殻膜サプリメント摂取群、卵殻膜以外の美容成分のみの摂取群、有効成分を含まないプラセボ錠剤摂取群の3群に分け、腸内細菌叢分析を含む30種類以上の評価項目について定期的にデータを追跡した。プレ、1、2、4、8、12週間、6ヵ月後に糞便を採取し、16S rRNA 遺伝子多型を検出する T-RFLP 法の改良法である Nagashima 法により腸内細菌叢の存在比を求めたのち α 多様性を解析した。また、ヘアレスマウスに2週間、サプリメントとして経口摂取させる実験も行い（各群 $n=5$ ）、大腸における ECM タンパク質発現を組織切片の免疫蛍光染色により調べた。【結果】ヒト卵殻膜摂取群において、プラセボ群と比較して8週間後に腸内細菌叢の α 多様性が有意に ($p=0.03$) 上昇した。卵殻膜を摂取したマウス大腸の粘膜筋板および粘膜下層での III 型コラーゲンタンパク質が上昇する傾向がみられた。

【考察】古くから創傷治癒素材と知られている卵殻膜が腸内細菌叢のバランスを良くして健康に寄与することが示唆された。III 型コラーゲンノックアウトマウスでは粘膜下層においてコラーゲン原線維が欠損または高位に減少していることが報告されていることから、メカニズムの一つとして、大腸の ECM 環境の改善が期待された。

キーワード：卵殻膜、III 型コラーゲン、腸内細菌叢

Eggshell membrane oral intake improves diversity of gut microbiota and type III collagen expression

Y. Atomi¹, M. Shimizu¹, N. Shibayama¹, E. Fujita¹,
N. Hatakeyama¹, Y. Hasebe²

¹Material Health Sci., Tokyo Univ. Agric. & Tech.,

²Almado Inc.

[Objective] In recent years, it has been reported that intestinal micro biota is deeply involved in lifestyle diseases, cancer, immune diseases, infectious diseases, mental disorders, and beauty. Micro biota in adults is important for health science because it can be changed by everyday efforts of meals and exercise. In this study, we examined intestinal micro biota improvement by ingestion of chicken eggshell membrane health supplement containing ECM as the main ingredient, and investigated human effectiveness and effect of improving colon ECM environment in mice. [Methods] 31 healthy subjects of men and women of the 20s to 60s were participated in supplement intake experiment of 6 months was carried out by a double blind method. Subjects were divided into three groups of eggshell membrane supplement intake group, cosmetic ingredient except for eggshell membrane only, and placebo tablet intake group not containing active ingredient. Regarding 30 or more evaluation items including intestinal micro biota analysis. The abundance ratio of intestinal bacterial flora was determined by Nagashima method which is an improved method of T-RFLP method which collects feces at pre, 1, 2, 4, 8, 12 weeks and 6 months and detects 16S rRNA gene polymorphism. After that, α diversity was analyzed. In addition, an experiment in which hairless mice were orally ingested as supplements for 2 weeks ($n = 5$ in each groups) was also performed, and ECM protein expression in colon was examined by immunofluorescent staining of tissue sections. [Results] It is suggested that the eggshell membrane, which is known as a wound - healing material, has well - balanced intestinal flora and contributes to health. It has been reported that collagen fibrils are defective or decreased to a high level in the submucosal layer in type III collagen knockout mice, and as a mechanism, improvement of the colonic ECM environment was expected.

Key words: Eggshell membrane, Type III collagen, Gut microbiota

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。

第2日目 6月30日(土)

[B会場] 福岡大学病院 多目的室 P-1～P-32

外耳道扁平上皮癌における腫瘍細胞のエンプリンと間質のCD73の高発現は予後不良因子である

宮崎健^{1,2}、青木光希子¹、大門康子^{1,2}、古賀佳織¹、濱崎慎¹、中川尚志³、坂田俊文²、鍋島一樹¹

¹福岡大学医学部病理学講座、²福岡大学医学部耳鼻咽喉科、³九州大学大学院医学研究院耳鼻咽喉科学教室

【目的】外耳道扁平上皮癌は稀で予後不良である。病理組織学的に tumor budding (TB) と Poorly differentiated clusters (PDCs) の high-grade は外耳道扁平上皮癌において予後不良因子であった。腫瘍細胞における emmprin の発現は間質の線維芽細胞の matrix metalloproteinase (MMP)-2 の産生を刺激し腫瘍の浸潤を促進する。最近、我々は *in vitro* で emmprin が CD73 と複合体を形成し線維芽細胞による MMP-2 の産生を調整することを報告した。この研究では、外耳道扁平上皮癌において emmprin や CD73 の発現と TB や PDCs の関連および予後の関係について解析した。【方法】外耳道扁平上皮癌の生検標本をホルマリン固定パラフィン包埋し、ヘマトキシリンエオジン染色と免疫組織化学的にサイトケラチン染色で TB と PDCs を評価した。免疫組織化学的に腫瘍細胞の emmprin と間質の CD73 の発現を解析した。【結果】腫瘍細胞における emmprin の高発現は TB の high-grade と関係し、間質の CD73 の高発現は PDCs と関連があった。さらに、腫瘍細胞の emmprin と間質の CD73 の発現が高い群は有意に予後不良で独立した予後不良因子であった。我々は外耳道扁平上皮癌において腫瘍細胞の emmprin と間質の CD73 が共に高発現の群は予後不良であることを初めて報告する。【考察】我々は *in vivo* においても emmprin と CD73 の発現には関連性があり、間質の CD73 の発現が予後に影響することを外耳道扁平上皮癌で証明した。

Highly expressed of tumor emmprin and stromal CD73 predict as poor prognosis for external auditory canal carcinoma

M. Miyazaki^{1,2}, M. Aoki¹, Y. Okado^{1,2}, K. Koga¹, M. Hamasaki¹, T. Nakagawa³, T. Sakata², K. Nabeshima¹

¹Department of Pathology, Fukuoka University Hospital and School of Medicine; ²Department of Otorhinolaryngology, Fukuoka University Hospital and School of Medicine; ³Department of Otorhinolaryngology, Kyushu University Hospital and School of Medicine

[Objective] Squamous cell carcinoma of the external auditory canal (SCC-EAC) is rare and has a poor prognosis. Histopathologically, high-grade tumor budding (TB) or poorly differentiated clusters (PDCs) are associated with shorter survival in SCC-EAC. Emmprin, expressed in tumor cells, stimulates the production of matrix metalloproteinase (MMP)-2 by stromal fibroblasts to facilitate tumor invasion. Recently, we reported that emmprin forms a complex with CD73 to regulate MMP-2 production by fibroblasts *in vitro*. Here, we examined the association of emmprin and CD73 expression in SCC-EAC with TB or PDCs as well as with survival in SCC-EAC patients. [Methods] SCC-EAC biopsy specimens were fixed in formalin and processed into paraffin blocks. TB and PDCs were counted using both H&E stained and CK immunostained sections. Expression of tumor cell emmprin and stromal CD73 were immunohistochemically analyzed. [Results] Highly expressed emmprin in tumor cells was associated with high-grade TB, while high CD73 expression in tumor stroma was associated with high-grade PDCs. Furthermore, high expression of tumor cell emmprin and stromal CD73 was significantly associated with shorter survival and was determined to be an independent indicator of poor prognosis (multivariate analysis). [Conclusion] Expression of stromal CD73 may affect prognosis of SCC-EAC on emmprin and CD73 *in vivo*.

口腔癌細胞において癌抑制性ケモカイン CXCL14 の発現は幹細胞因子の発現を制御する

陽曉艶^{1,2}、小澤重幸^{1,2}、生駒丈晴^{1,2}、金森慶亮^{1,2}、鈴木健司²、居作和人^{1,3}、前畑洋次郎^{1,3}、清野透⁴、畑隆一郎^{1,2}

神奈川県立歯科大学大学院、¹口腔難治疾患研究センター、²顎顔面病態診断治療学講座、³口腔科学講座、⁴国立がん研究センター・発がん・予防

【目的】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)。さらにヒト口腔癌細胞を用いた移植実験により、セツキシマブ (EGF 受容体に対するモノクローナル抗体) の腫瘍抑制作用は、癌細胞による CXCL14 の発現によることを明らかにした (Yang, *et al. Oncogenesis*, 2016)。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、或いは欠損が幹細胞因子の発現に及ぼす影響を検討した。

【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、腫瘍の増殖と幹細胞因子の発現を検討した。

【結果】HSC-3-CXCL14 細胞において幹細胞遺伝子 NANOG の発現レベルは HSC-3 細胞と 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於ける移植実験では 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 と KLF4 の発現量も高かった。

【考察】HSC-3 細胞において CXCL14 は幹細胞因子の発現、あるいは癌幹細胞の生成を制御している可能性が示された。

CXCL14, a multistep tumor suppressing chemokine, regulates expression of stem cell factors

Xiaoyan Yang^{1,2}, Shigeyuki Ozawa^{1,2}, Takeharu Ikoma^{1,2}, Keisuke Kanamori^{1,2}, Kenji Suzuki^{1,2}, Kazuhito Izukuri^{1,3}, Yojiro Machata^{1,3}, Tohru Kiyono⁴, Ryu-Ichiro Hata^{1,2}

¹Oral Health Sci. Res. Center, ²Dept. Dentomaxillofacial Diag. Treat., ³Dept. Oral Science, Kanagawa Dent. Univ., ⁴Div. Carcinogen. and Canc. Prevent., Natl. Cancer Ctr. Res. Inst.

[Objective] 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). We also found that expression of the chemokine CXCL14 was a marker for cetuximab-dependent tumor suppression in head and neck squamous cell carcinoma (Yang, *et al. Oncogenesis*, 2016). In order to investigate molecular mechanisms of tumor suppression by CXCL14, we investigated effects of CXCL14 expression on stem cell factors. **[Methods]** Tongue carcinoma derived HSC-3 cells, CXCL14 gene overexpressed (HSC-3-CXCL14) cells, CXCL14 gene knockout (HSC-3-1A) cells were cultured and gene expression levels of stem cell factors were determined by RT-PCR after purification of RNAs. In some experiments, cells were inoculated subcutaneously into both sides of the back skin of female nude mice and size of tumors formed and expression levels of stem cell factors were determined. **[Results]** Expression level of NANOG was higher in HSC-3-1A cells and HSC-3 cells compared with that of 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 and KLF4 stem cell markers in HSC-1A cells were significantly higher than those of HSC-3 cells.

[Conclusion] These lines of evidence indicated the possibility that CXCL14 regulates gene expression of stem cell markers such as KLF4 and/or NANOG in HSC-3 cells, or percentage of cancer stem cells in cancer cells.

キーワード： 口腔癌細胞、幹細胞因子、NANOG

Key words: Oral cancer, Stem cell factors, NANOG

非アルコール性脂肪肝炎による肝臓の線維化と炎症に対するビトロネクチンの機能

林田桃香^{1,2}、橋本恵^{2,3}、石川朋子²、宮本泰則^{1,2}

¹ お茶大院・人間文化・ライフ

² お茶大・HLI 研

³ 日本学術振興会 特別研究員 PD

非アルコール性脂肪肝炎(NASH)は、生活習慣に起因する病の1つである。肝臓の脂肪蓄積だけでなく炎症や線維化を伴い、重篤化すると肝硬変や肝臓に進行することが知られている。しかし、その線維化や炎症の進行のメカニズムは未だ十分に分かっていない。ビトロネクチン(VN)は細胞外マトリックスタンパク質の1つであり、肝線維化検出マーカーとして知られている。このことからVNがNASHの進行に関与すると考えられるが、その作用機構は明らかにされていない。

そこで、NASHでの肝臓の炎症と線維化に対するVNの機能を把握するために、NASHモデルを作成するコリン欠乏メチオニン減量高脂肪食(CDAHFD)を6週齢VNノックアウト(KO)マウスに6または、10週間摂取させ、VNKOマウスにおける炎症と線維化のレベルを野生型と比較した。野生型マウスでは、CDAHFD摂取により肝臓において*Vn* mRNAレベルの上昇が見られ、NASHの進行とVN発現レベルが正に相関があることがわかった。また、VNKOマウスでは、炎症性サイトカイン mRNAレベルが減少し、HE染色により観察したところ炎症細胞の浸潤が軽減されていた。さらに肝星細胞活性化マーカーα平滑筋アクチンのタンパク質レベルとシリウスレッドによるコラーゲン陽性面積が減少した。これらのことからVN欠損は、CDAHFD摂取による肝臓での炎症や線維化を軽減することが示された。

以上のことから、VNはNASHにおける線維化と炎症の進行に寄与すると考えられる。

Roles of vitronectin on hepatic fibrosis and inflammation in non-alcoholic steatohepatitis

Momoka. Hayashida^{1,2}, Kei. Hashimoto^{2,3}, Tomoko. Ishikawa², Yasunori. Miyamoto^{1,2}

¹Div. of Life Sci., Grad. Sch. of Humani. Sci., and ²Inst. for Human Life Innovation, Ochanomizu Univ ³Research Fellow of Japan Society for the Promotion of Science

Non-alcoholic steatohepatitis (NASH) is characterized by not only fat accumulation but also fibrosis and inflammation caused by lifestyle. NASH can proceed to cirrhosis and hepatoma. Vitronectin (VN) is one of extracellular matrix molecules and is clinically used as an immunomarker of mature fibrosis. Therefore, it hypothesizes VN is involved in the progression of NASH, but the effect of VN expression on hepatic inflammation and fibrosis in NASH remains to be seen.

In this study, to know the functions of VN in the progression of hepatic inflammation and fibrosis in NASH, we analyzed inflammation and fibrosis levels in VN knockout (VNKO) mice at 6 weeks old which were fed a choline-deficient, L-amino acid-defined, high-fat diet (CDAHFD) for 6 and 10 weeks as a NASH model compared with wild type (WT) mice. CDAHFD administration up-regulated *Vn* mRNA level in WT mice, indicating the positive correlation of VN expression level with the progression of NASH. In addition, VN deficiency attenuated mRNA levels of inflammatory cytokines and inflammatory infiltrates. In respect of fibrosis, VN deficiency reduced the protein levels of the stellate cell activation marker α-smooth muscle actin and area of picrosirius red-stained collagen. Given these results, it is clear that VN deficiency attenuates CDAHFD-induced inflammation and fibrosis in liver.

These results suggest that VN promotes the progression of inflammation and fibrosis in NASH

関節構造を残した脱細胞化マウス骨格筋標本の作製

須藤 壘¹、厚澤雄二¹、下野知性^{1,2}、服部俊治^{1,2}、
水野一乗^{1,2}、中田智史³、平澤恵理⁴

¹ニッピ BC 事業部 R&D、²ニッピバイオマトリックス研究所、³順天堂大学大学院スポーツ健康科学研究科、⁴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

【背景・目的】疾患特異的 iPS 細胞の樹立や分化誘導技術の進歩により難病の病態解明や治療薬の開発が行われるようになってきている。筋疾患治療薬の開発においては、メカニカルストレス負荷条件における筋細胞の薬物動態を見る必要があるため、通常の 2 次元培養系を使った解析では不十分である。我々は、より生体に近い応答を示す骨格筋細胞の培養系を構築するため、三次元培養基材として骨格筋の脱細胞化組織を開発している。疾患特異的な iPS 細胞から分化誘導した骨格筋細胞を生着させて屈伸操作及び筋張力の測定を可能とするべく、マウスの膝関節及び足関節を含む下腿骨格筋の脱細胞化を行い、その性状解析を行った。【方法】膝関節及び足関節を残したマウスの腓腹筋、前脛骨筋及び下腿全体を 1%SDS で脱細胞化後、0.01M NaOH で浸漬し、50%エタノールで洗浄して脱細胞化組織を作製した。脱細胞化組織の細胞外マトリックス成分の解析を行うために、Elastica van Gieson 染色、PAM 染色、sulfated Glycosaminoglycan 定量 Assay を行った。作製した脱細胞化組織に線維芽細胞 NHDF を播種して培養を行い、細胞の生着の様子を観察した。【結果・考察】脱細胞化組織の各染色の結果、筋線維の配向性を保ったまま細胞成分が除去され、コラーゲン線維と基底膜成分が保持されていることが確認された。また、sulfated Glycosaminoglycan 定量 Assay により脱細胞化前と比較して約 60%の sGAG の残存が確認され、プロテオグリカン成分も多く保持されていることが分かった。培養実験では、線維芽細胞 NHDF の生着が確認され、もとの筋線維の配向に沿って細胞が接着している様子が見られた。この脱細胞化組織は細胞毒性が無く、筋組織を再構築する骨格筋細胞の足場材として応用が期待される。

キーワード：脱細胞、骨格筋、細胞外マトリックス

Engineering of decellularized skeletal muscle with joints

Rui Sudo¹, Yuji Atsuzawa¹, Chisei Shimono^{1,2},
Shunji Hattori^{1,2}, Kazunori Mizuno^{1,2}, Satoshi Nakada³,
Eri Arikawa-Hirasawa⁴

¹R&D Section, Biological and Chemical Products Div., Nippi, ²Nippi Research Institute of Biomatrix, ³Graduate School of Health and Sports Science, Juntendo University, ⁴Juntendo Univ., Research Institute for Diseases of Old Age [Background and Objective] Recently, disease-specific iPSCs have been established for analyses of pathological states and also for drug discovery. With respect to skeletal muscle diseases, it is essential to prove the effect of drugs under mechanical stress. However, current conventional two-dimensional cell culture system on the dish is not appropriate to analyze the effect on the stress loaded to skeletal muscle. To develop the *in vivo*-like 3D skeletal muscle culture systems, we engineer the decellularized skeletal muscle.

[Methods] Mouse lower leg muscles (gastrocnemius and tibialis anterior) retaining bone and joint were excised. Cellular components were removed by 1% SDS solution treatment. After the immersion with 0.01 M NaOH, the muscle-joint system was washed with ethanol/water. To analyze the extracellular matrices of decellularized skeletal muscle, Elastica van Gieson staining, PAM staining, and sulfated glycosaminoglycan assay were performed. Normal human adult fibroblast (NHDF) was cultured with the decellularized skeletal muscle.

[Results and Discussion] We have found that collagen fibers and basement membrane components remained with the orientation along the skeletal muscle fibers and that the decellularized skeletal muscle kept 60% of sulfated glycosaminoglycans, meaning that proteoglycans were kept. NHDF was adhered to the decellularized skeletal muscle and survival with the orientation along the skeletal muscle fibers. We hope this decellularized skeletal muscle culture system will be able to recellularize the cells in muscle.

Key words: decellularization, skeletal muscle, ECM

細胞外マトリックスを模倣した表面カルボキシ化ナノセルロース基板上での線維芽細胞の培養

島山真由美、一瀬博文、北岡卓也

九州大学大学院農学研究環境農学部門

【目的】細胞外マトリックス (ECM) は、細胞の分化や増殖に直接影響する重要な生理機能を持つ。そのため、細胞の生体外組織培養への応用に向けて、ECM を模倣した細胞培養基材の開発が盛んに行われている。本研究では、これまで検討されていない生体高分子として、樹木由来の多糖であるセルロースナノファイバー (CN) に着目した。CN は、木質細胞壁を構成するナノファイバーで、極細・高弾性率の点で ECM の主要成分であるコラーゲンに類似している。さらに、CN の結晶表面を 2,2,6,6-tetramethylpiperidine 1-oxyl (TEMPO) の触媒酸化によりカルボキシ基を規則的に導入することで、ヒアルロン酸様のウロン酸型繰り返し構造を模倣できる。物理的・化学的に ECM を模倣した TEMPO 酸化 CN (TOCN) を用いて細胞培養基材を調製し、線維芽細胞 (NIH/3T3) の培養を行った。【方法】CN の TEMPO 酸化では、NaClO の添加量によりカルボキシ基の導入量を制御した。各 TOCN 水懸濁液 (0.4 wt%) を 200 μ L ずつカバーガラスに塗布し、室温で乾燥させたものを基材とした。滅菌した基材を 24-well プレートに設置し、NIH/3T3 細胞を 50,000 cells/well となるように播種し、所定時間培養することで細胞接着挙動を検討した。【結果】含有カルボキシ基量が異なる TOCN 基板上で NIH/3T3 細胞を 72 h 培養した結果、カルボキシ基を持たない CN 基板およびカルボキシ基量が少ない 0.39 mmol/g の TOCN 基板では、細胞がスフェロイドを形成し、基板上に弱く接着した。カルボキシ基量が 0.59–1.21 mmol/g の TOCN 基板では、細胞接着に不利な親水性表面であるにも関わらず、細胞が基板に接着・伸展し、良好な細胞増殖がみられた。しかし、カルボキシ基量が過剰の 1.60 mmol/g の基板では細胞が十分に伸展せず、再びスフェロイド形成が見られた。【考察】本結果から、セルロースナノファイバー界面に導入した親水性のカルボキシ基が、線維芽細胞の接着挙動に直接的な影響を与える可能性と、最適なカルボキシ基量の存在が示唆された。

キーワード：細胞外マトリックス、ナノセルロース

Fibroblast cell culture on ECM-mimetic substrates prepared using surface-carboxylated nanocellulose

M. Hatakeyama, H. Ichinose, T. Kitaoka

Department of Agro-Environmental Sciences, Faculty of Agriculture, Kyushu University

[Objective] Extracellular matrix (ECM) plays an important role in cell proliferation and differentiation; therefore, the development of ECM-mimetic cell culture substrates is rapidly growing in current regenerative medicine. In this work, wood cellulose nanofibers (CNs) were used to mimic collagen in the aspect of rigid nanofibers, which is a major component of ECMs. Besides, the crystalline surface of CNs were selectively oxidized by 2,2,6,6-tetramethylpiperidine 1-oxyl (TEMPO) to introduce carboxy groups in a regular manner. The repeating carboxy units are analogous to uronic acid such as hyaluronic acid, which is also one of ECMs. Our strategy proposes that TEMPO-oxidized CNs (TOCNs) could imitate the ECM structure physically and chemically. Herein, fibroblast cell (NIH/3T3) was applied to the TOCN substrates. [Methods] The density of carboxy groups in TOCNs was controlled by NaClO loadings. Cover glasses were coated using 200 μ L of each TOCN suspension (0.4 wt%), followed by drying at room temperature. Then, sterilized substrates were placed at 24-well plates, and NIH/3T3 cells were seeded at a density of 50,000 cells/well. [Results] NIH/3T3 cells cultured on the TOCN substrates with various carboxy contents for 72 h showed different cell attachment behavior. Cells attached to and formed spheroids on carboxylate-free CN substrate and TOCN substrate with 0.39 mmol/g of carboxylate. The TOCN substrates with 0.59–1.21 mmol/g of carboxylate exhibited good adhesion, extension and proliferation. However, cells formed spheroids again on the TOCN substrate with 1.60 mmol/g of carboxylate density. [Conclusion] Hydrophilic carboxy groups on CN surfaces may directly influence cell adhesion and proliferation, even though such acidic groups sometimes have negative impact on the cell attachment. The optimum density of carboxy groups on the substrates must provide a new insight into the development of biomimetic ECMs.

Key words: extracellular matrix, nanocellulose

変異型 CCL2 のコーティングは摩耗粉誘導性骨量減少を軽減する -ポリエチレン摩耗粉持続注入マウスモデルを用いた検討-

鍋島央^{1,2}, Jukka Pajarinen², Tzu-hua Lin², Xinyi Jiang², Emmanuel Gibon², Zhenyu Yao², 中島康晴¹, Stuart B Goodman²

¹九州大学整形外科、

²スタンフォード大学整形外科

人工関節周囲 Osteolysis の発生によるインプラントのゆるみは人工関節置換術の長期予後を決定する合併症の一つである。単球/マクロファージ系細胞が Osteolysis 発生の中心的な役割を担っており、C-C motif chemokine 2(以下 CCL2)は摩耗粉誘導性炎症における単球/マクロファージ系細胞の遊走に最も重要なケモカインである。7ND 組み換えタンパク質(以下 7ND)は CCL2 の変異型タンパク質で CCL2 シグナル伝達を阻害する働きがあり、我々は近年 7ND の活性を保ったままインプラント表面より放出可能な layer-by-layer(以下 LBL)コーティング法を確立した。7ND をコーティングしたチタンロッドを局所投与デバイスとして使用し、ポリエチレン摩耗粉持続注入マウスにおける 7ND タンパクの摩耗粉誘導性 Osteolysis に対する効果を検討した。マウスの大腿骨遠位に骨孔を作成しチタンロッド(±7ND コーティング)を挿入、ロッドにポリエチレン磨耗粉を入れた浸透圧ポンプをチューブで接続し皮下に埋没、持続的に磨耗粉を注入した。術後 4 週をエンドポイントし、1. μ CT で骨量計測、2. 免疫染色で組織学的評価(マクロファージ、骨芽細胞、破骨細胞)、3. ルシフェラーゼを導入した RAW264.7 細胞を尾静脈注射し大腿骨へのホーミングを IVIS で評価した。7ND 群では摩耗粉誘導性骨量減少を有意に抑制していた。組織学的にはマクロファージおよび破骨細胞数が 7ND 群で有意に減少しており、大腿骨遠位へのマクロファージの遊走を有意に阻害していた。本研究では 7ND の LBL コーティングによる CCL2 阻害剤の局所投与により摩耗粉誘導性骨量減少を軽減させることを示した。7ND をコーティングした新規人工関節の開発は Osteolysis 軽減の可能性があると考えられた。

Mutant CCL2 Protein Coating Mitigates Wear Particle-Induced Bone Loss in a Murine Continuous Polyethylene Infusion Model

Akira Nabeshima^{1,2}, Jukka Pajarinen², Tzu-hua Lin², Xinyi Jiang², Emmanuel Gibon², Zhenyu Yao², Yasuharu Nakashima¹, Stuart B Goodman²

¹Department of Orthopaedic Surgery, Kyushu University

²Department of Orthopaedic Surgery, Stanford University

Wear particle-induced osteolysis limits the long-term survivorship of total joint replacement (TJR). Monocyte/macrophages are the key cells of this adverse reaction. Monocyte Chemoattractant Protein-1 (MCP-1/CCL2) is the most important chemokine regulating trafficking of monocyte/macrophages in particle-induced inflammation. 7ND recombinant protein is a mutant of CCL2 that inhibits CCL2 signaling. We have recently developed a layer-by-layer (LBL) coating platform on implant surfaces that can release biologically active 7ND. In this study, we investigated the effect of 7ND on wear particle-induced bone loss using the murine continuous polyethylene (PE) particle infusion model with 7ND coating of a titanium rod as a local drug delivery device.

PE particles were infused into hollow titanium rods with or without 7ND coating implanted in the distal femur for 4 weeks. Specific groups were also injected with RAW 264.7 as the reporter macrophages. Wear particle-induced bone loss and the effects of 7ND were evaluated by microCT, immunohistochemical staining, and bioluminescence imaging. Local delivery of 7ND using the LBL coating decreased systemic macrophage recruitment, the number of osteoclasts and wear particle-induced bone loss. The development of a novel orthopaedic implant coating with anti-CCL2 protein may be a promising strategy to mitigate peri-prosthetic osteolysis.

キーワード：人工関節のゆるみ,マクロファージ,CCL2 Key words: Osteolysis, macrophage, CCL2

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

杉山夏緒里^{1,2,3}、Julia Marzi³、Eva Brauchle^{3,4}、山城義人¹、Katja Schenke-Layland^{3,4,5}、柳沢裕美¹

¹筑波大学生命領域学際センター、²筑波大学グローバル教育院ヒューマンバイオロジー学位プログラム、³Department of Women's Health, Research Institute for Women's Health, Eberhard Karls University, Tuebingen, Germany; ⁴NMI Natural and Medical Sciences Institute at the University of Tübingen, Reutlingen, Germany; ⁵Department of Medicine/Cardiology, Cardiovascular Research Laboratories, University of California, Los Angeles, CA, USA

[緒言]弾性線維は細胞外マトリックス(ECM)の主要成分であり、エラスチン、Fibrillin-1、Fibulin ファミリータンパク質などから構成される。Fibulin-4 と Fibulin-5 は、エラスチンと結合し、弾性線維形成に必須である。Fibulin-5 欠損マウス(F5KO)は、伸長・蛇行大動脈を生じることが知られており、血管平滑筋細胞特異的 Fibulin-4 欠損マウス (SMKO)は、上行大動脈瘤のモデルである。[方法]我々は、野生型、F5KO、SMKO から胸部大動脈を採取し、上行部と下行部に分けラマン顕微鏡を用いてイメージングを行った。それぞれのサンプルにおいて、532 nm の励起光を用いた広範囲および高解像ラマンイメージングを行った。イメージングデータは、主成分分析を中心に解析した。[結果]ラマンイメージングにより、組織における4つの生体成分(1)細胞/核酸、(2)膠原線維、(3)弾性線維、(4)脂質を同定した。広範囲イメージングでは、弾性線維ネットワークの概要が得られた。一方、高解像イメージングでは、それぞれの成分の詳細が得られた。また、野生型と遺伝子改変マウス血管で異なる成分を見出した。[考察]ラマンスペクトルを用いて、正常および疾患大動脈における弾性線維ネットワークの違いを同定することができた。高解像ラマンイメージングは、病変組織におけるECM構築の詳細を解明できる可能性がある。これは、将来、心血管疾患におけるLabel-free診断へと繋がらう。

キーワード：心疾患、ECM、Raman イメージング

Label-free Raman imaging of elastic fibers in diseased and healthy mouse aortic tissue

Kaori Sugiyama^{1,2,3}、Julia Marzi³、Eva Brauchle^{3,4}、Yoshito Yamashiro¹、Katja Schenke-Layland^{3,4,5}、Hiromi Yanagisawa¹

¹Life Science Center of Tsukuba Advanced Research Alliance, University of Tsukuba; ²Ph.D.Program in Human Biology, School of Investigate and Global Majors, University of Tsukuba; ³Department of Women's Health, Research Institute for Women's Health, Eberhard Karls University, Tuebingen, Germany; ⁴NMI Natural and Medical Sciences Institute at the University of Tübingen, Reutlingen, Germany; ⁵Department of Medicine/Cardiology, Cardiovascular Research Laboratories, University of California, Los Angeles, CA, USA

[Introduction] Elastic fibers represent major components of the extracellular matrix (ECM). They are composed of elastin, fibrillin-1, and fibulin family proteins. Fibulin-4 and fibulin-5 bind to elastin and are essential for elastogenesis in vivo. Fibulin-5 knockout mouse (F5KO) shows elongation and tortuosity of the aorta. By deleting fibulin-4 specifically in vascular smooth muscle cells (SMKO), a disease model of ascending aortic aneurysm has been generated. [Methods] In this study, we imaged aortic tissues from F5KO, SMKO and wild-type (WT) mice by using Raman microscopy. The thoracic aortas were separated between ascending and descending segments. For each section, a large-area Raman image and high-resolution Raman image were generated by using a 532 nm laser excitation. Principle component analysis (PCA) and true component analysis (TCA) were utilized to analyze the image data. [Results] Raman imaging illuminated four biochemical components in the tissues: (1) cells/nucleic acids, (2) collagen fibers, (3) elastic fibers, and (4) lipids. Large-area imaging data showed an overview of the elastic fiber network. On the other hand, high-resolution data illustrated location of each component in detail. Single Raman spectra were specifically generated from elastic fibers within the tissues. We identified differences between WT and mutant mouse aortic tissues. [Discussion] Raman spectra were able to detect differences between healthy and diseased elastic fiber networks within tissues. It might be a future technology for the label-free diagnosis of cardiovascular disease. High-resolution Raman imaging can shed light on the details of ECM architecture in diseased tissues.

Key words: Cardiovascular disease, ECM, Raman imaging

パルス電気刺激が皮膚線維芽細胞の増殖と細胞成長因子及び細胞外マトリックス遺伝子発現に及ぼす影響

占部博也¹、秋本龍二¹、神谷章平¹、
市川秀之¹、西山敏夫^{1,2}

¹ 株式会社ホームアイオン研究所、

² 東京農工大学農学部附属硬蛋白質利用研究施設

【目的】電気刺激 (ES) が表皮ケラチノサイトの遊走および分化を誘導し、さらに創傷治癒を促進することが報告されている。創傷治癒過程において、真皮線維芽細胞の増殖および細胞外マトリックス産生は重要な役割を果たすと考えられている。皮膚線維芽細胞に対する ES の効果を解析することは、ES によって促進される創傷治癒のメカニズムを解明するために重要である。本研究では、皮膚線維芽細胞にパルス ES を与えた時の、1) 細胞増殖、および 2) 細胞増殖因子、細胞外マトリックス遺伝子発現に対する作用を検討した。

【方法】正常成人ヒト皮膚線維芽細胞を用いて通電の影響を検討した。細胞を 24 well plate に播種し、通電条件はパルス周波数 4800Hz、電圧 1V、3V と 5V で検討し (コントロールは 0V)、通電時間は 15、30、60 分とした。通電 2 日後に細胞を回収し、細胞増殖率を測定した。同細胞から RNA を回収し、リアルタイム定量 PCR による細胞成長因子、細胞外マトリックス成分の遺伝子発現解析を実施した。

【結果と考察】パルス ES は、電圧および通電時間に依存して線維芽細胞の増殖を促進した。この増殖刺激された線維芽細胞で、線維芽細胞増殖因子-2 (FGF-2) の遺伝子発現 (*FGF2*) の有意な上昇が確認できた。さらに、細胞外マトリックス遺伝子のうち I 型コラーゲン $\alpha 1$ 鎖 (*COL1A1*) と III 型コラーゲン $\alpha 1$ 鎖 (*COL3A1*) の発現が有意に促進されていた。この結果から、パルス ES が線維芽細胞の *FGF-2* 発現を促進し、細胞増殖ならびに *COL1A1*、*COL3A1* 発現を増強したと推察される。以上から、パルス電気刺激は線維芽細胞増殖および線維性コラーゲン産生を促進し、真皮組織形成を加速する可能性が考えられる。

Effects of pulsed electric stimulation on human skin fibroblast proliferation and growth factor and extracellular matrix gene expression

Hiroya Urabe¹, Ryuji Akimoto¹, Shohei Kamiya¹,
Hideyuki Ichikawa¹, Toshio Nishiyama^{1,2}

¹ Homerion Laboratory Inc., Shibuya, Tokyo, Japan

² Scleroprotein Res. Inst., Fac. of Agric., Tokyo Univ. of Agric. and Technol., Fuchu, Tokyo, Japan

【Objectives】It has been reported that electric stimulation (ES) induced migration and differentiation of epidermal keratinocytes and furthermore promoted wound healing. Proliferation and extracellular matrix production of dermal fibroblasts are considered to play an important role in the process of wound healing. Investigation related to effects of ES on dermal fibroblasts would be particularly meaningful to elucidate the mechanism of wound healing promoted by ES. In this study, we examined effects of pulsed ES on 1) proliferation and 2) growth factor and extracellular matrix gene expression.

【Methods】Normal adult human dermal fibroblasts (NHDFs) were used to investigate effects of pulsed ES. NHDFs were cultured in 24-well plate and exposed to the electric field of 1V, 3V or 5V (control: 0V) at a frequency 4,800 Hz for 15, 30 or 60 minutes. After two days from electric stimulation, cell proliferation rate was determined. NHDFs were harvested and extracted mRNA to quantify gene expression of growth factor and extracellular matrix by quantitative real-time PCR.

【Results & Discussion】Pulsed ES promoted cell proliferation depending on voltage and exposure time. Expression of mRNA encoding *FGF2* was significantly enhanced in the growth-stimulated cells. In addition, expressions of mRNA encoding *COL1A1* and *COL3A1* in extracellular matrix genes were significantly increased. From the data, it is considered that pulsed ES promoted *FGF2* mRNA expression of fibroblasts and enhanced proliferation and fibrillar collagen gene expression. These results suggest that pulsed electrical stimulation may promote dermal tissue formation.

キーワード：パルス電気刺激、線維芽細胞、コラーゲン

Key words: pulsed electric stimulation, fibroblast, collagen

加藤靖正、前田豊信、鈴木厚子

奥羽大学歯学部口腔機能分子生物学講座

【目的】癌細胞は好氣的な条件下でも、乳酸を最終産物とする解糖系に依存している。これは Warburg 効果として広く知られている。これまでに私達は、酸性細胞外 pH (pH_e) で培養することにより、ゼラチナーゼ B (MMP9)発現が促進されるとともに、上皮間葉系移行が誘導され、酸性 pH_e のシグナルの遮断により、肺転移が抑制されることを見出している。一方、卵巣癌は、腹膜播種により効率に大網へ転移することが知られているが、そのメカニズムについては不明な点が多い。私達は、大網に卵巣癌が定着するメカニズムとして、酸性 pH_e による卵巣癌細胞の脂肪細胞様形質獲得が関係しているとの仮説について検討を行った。【方法】ヒト卵巣癌細胞株 SKVCR 細胞を用い、10% FBS を添加した DME/F12 培地にて 5% CO_2 下で培養した。酸性 pH 刺激は、無血清下で DME/F12 培地 (pH 7.4) をコントロールとして DME/F12 培地 (pH 6.8) にて 24 時間行った。遺伝子発現は RT-qPCR にて定量した。脂肪滴の染色は、Oil Red O により行った。また、酸性 pH_e に対する長期暴露の影響として、 pH_e 6.2 であっても旺盛な増殖性を示す酸性 pH_e 馴化細胞 (SKVCR-A) を作成し、比較した。【結果】一過性の酸性 pH_e 刺激によりアディポネクチン遺伝子発現が促進された。PPAR γ 遺伝子発現には変化なかったが、その標的分子である OLR1 遺伝子発現は有意に誘導された。一方、SKVCR-A 細胞においては、C/EBP β 発現と Oil Red O 陽性率が、中性 pH_e の環境下であっても恒常的に高いことが示された。【考察】原発巣内では癌細胞は、それ自身が作り出す酸性 pH_e への暴露により、脂肪細胞化の性質を獲得し、その誘導が大網転移に関与することが示唆された。

キーワード：酸性細胞外 pH, 脂肪細胞化

Y. Kato, T. Maeda, A. Suzuki

Department of Oral Function & Molecular Biology,
Ohu University School of Dentistry

Tumor cells favor to metabolite lactate by glycolysis even under normoxia. This has been known as Warburg effect. We have reported that acidic extracellular pH (pH_e) induces gelatinase B (MMP9) production and epithelial mesenchymal transition and that inhibition of acidic pH_e signaling inhibits lung metastasis in mouse model. On the other hand, ovarian cancer is well known to metastasize to omentum, but those mechanisms are not completely understood. Here, we determine a hypothesis that acidic pH_e transits tumor cells to adipocyte-like and contributes mechanism of omentum metastasis of ovarian cancer. [Methods] Human ovarian cancer SKVCR cells were used in this study. They were cultured with DME/F12 supplemented with 10% FBS under 5% CO_2 . Treatment of cells with acidic pH_e were done for 24h using serum-free DME/F12 (pH 6.8), whose control was obtained from serum-free DME/F12 (pH 7.4). Gene expression was detected by RT-qPCR. Lipid was done by Oil Red staining. We also used acidic pH_e -adapted SKVCR cells (SKVCR-A cells) which are able to grow even at pH 6.2. [Results] Transient acidic pH_e treatment induced adiponectin gene expression. Although the acidic pH_e treatment did not affect PPAR γ gene expression, it induced expression of OLR1 (a target molecule of PPAR γ). On the other hand, in SKVCR-A cells, it was shown that C/EBP β expression and Oil Red O positivity rate are constitutively high even under the neutral pH_e condition. [Conclusion] In primary tumor tissue, acidic pH_e , which caused by cancer cells themselves, induces acquisition of an adipogenic phenotype, whose induction is suggested to be involved in omentum metastasis of ovarian cancer cells.

Key words: Acidic extracellular pH, adipogenic phenotype

**マトリックスメタロプロテナーゼを介したヒト頭頸部
扁平上皮癌の微小環境における PD-L1 の調節機構**

中村博幸、宮澤真優子、川尻秀一

金沢大学大学院医薬保健学総合研究科医学系顎顔面口
腔外科学分野

再発性高転移性頭頸部癌は予後不良であり治療法も限定される。近年、癌免疫療法が注目され、抗 PD-1 抗体が種々の癌で効果が長期間継続することが示されている。しかし有効である患者は一部に限定され、効果の予測や併用薬剤の適正選択が課題とされる。本研究では、頭頸部扁平上皮癌細胞株（低浸潤性 OSC20、OSC19 細胞および高浸潤性 HOC313 細胞）を用いて、種々の条件下で PD-L1 の発現量を検討した。PD-L1 mRNA は OSC20 で他の頭頸部癌細胞よりも高発現していたにも関わらず、OSC-20 の膜表面の PD-L1 タンパク量は他の癌細胞のそれより減少していた。そこで、他の細胞と比較し OSC20 で発現が亢進している MMP を調べたところ、MMP-7 と MMP-13 の発現が上昇していた。さらに、MMP-7 と MMP-13 は本研究で精製した PD-L1 を分解していた。また、OSC20 細胞膜上での PD-L1 の分解は MMP-13 特異的阻害剤でのみ抑制され、MMP-7 阻害剤では抑制されなかった。さらに、微小管阻害剤のうちパクリタキセルのみが HOC313 細胞で MMP-13 の発現を上昇させていた。本研究結果より、PD-L1 は癌細胞膜上で MMP-13 の分解により発現量が調節されている可能性が示唆された。高浸潤高転移性頭頸部癌の治療において、抗 PD-1 療法と併用する薬剤の候補としてパクリタキセルが考えられた。さらに MMP-13 を高発現している癌細胞は抗 PD-1 抗体の効果が低い可能性が考えられ、治療効果を予測するマーカーとしても有用である可能性が示された。

**Regulation of PD-L1 in the human HNSCC through
MMP-mediated proteolytic cleavage**

H. Nakamura, M. Miyazawa, S. Kawashiri

Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Division of
Cancer Medicine, Kanazawa University Graduate School of
Medical Science

Recurrent and/or metastatic head and neck squamous cell carcinoma (R/M HNSCC) is a devastating malignancy with a poor prognosis. According to recent clinical studies, tumour growth can be effectively reduced and survival can be improved by blocking the PD-1/PD-L1 pathway. PD-L1 expression has been proposed as a potential causative mechanism, as HNSCC is highly immunosuppressive. However, anti-PD-1 treatment is beneficial only for certain patients. Therefore, the mechanisms controlling PD-L1 expression warrant further investigation in order to provide a better understanding of the predicting efficacy of and optimising anti-PD-1 therapy, alone or in combination. In this study, PD-L1 protein extracted from the cell membrane was found to be downregulated in OSC-20 cells compared with OSC-19 cells, despite a higher PD-L1 expression in the total cell lysate of the OSC-20 compared with the OSC-19 cells. Several MMPs were found to be upregulated in HNSCC; in particular, MMP-7 and -13 were upregulated in the OSC-20 compared with the OSC-19 cells. Purified PD-L1 was degraded by recombinant MMP-13 and -7. The expression of PD-L1 was significantly restored by a specific inhibitor of MMP-13 (CL82198), which suggested the involvement of MMP-13 in the shedding of PD-L1 in the OSC-20 cells. Among the anti-cancer drugs conventionally used in the treatment of patients with HNSCC, paclitaxel increased MMP-13 expression in R/M HNSCC cells (HOC313 cells) co-cultured without/with dendritic cells. These results suggest that the shedding/cleavage of PD-L1 by MMP-13 is one of the mechanisms behind the protective effect against invasion and metastasis. Thus, MMP-13 has potential value as a marker predictive of the decreased efficacy of anti-PD-1 therapy.

キーワード : MMP, HNSCC, PD-L1

Key words: MMP, HNSCC, PD-L1

乳癌細胞において内在化するラミニン $\alpha 5$ 鎖受容体 CD239 に対する抗体-薬物結合体の作製

吉川大和¹、大川(榎元)友里恵⁴、藤山愛子⁴、
福原武志²、原島望¹、菅原由美香¹、碓和樹¹、
根岸洋一³、片桐文彦¹、保住建太郎¹、野水基義¹、
伊東祐二⁴

¹東京薬科大学 薬学部 病態生化学、²生命科学部 腫瘍医学、³薬学部 薬物送達、⁴鹿児島大学大学院 理工学研究科

抗体-薬物結合体は薬物を癌細胞へ直接送達できるため、癌の治療において非常に有効である。しかしながら、使用される抗体が細胞表面の抗原に対するものに限られること、そして抗癌剤の多くは細胞内で傷害作用を示すため、細胞内に内在化される癌特異的な抗原が求められている。CD239 は、Lutheran (Lu、ルテラン) および Basal adhesion molecule (B-CAM) と呼ばれ、免疫グロブリンスーパーファミリーに属する細胞表面分子であり、成体基底膜の主要な構成成分であるラミニン-511 (LM-511) の $\alpha 5$ 鎖に特異的な受容体である。乳癌では、CD239 が悪性の指標である Her2 とともに、または単独で、乳癌組織に強く発現している癌抗原であることを明らかにした。さらに、CD239 に対するマウスのモノクローナル抗体とジフテリア毒素の受容体結合部分を除いた断片 (fDT) による結合体を用いることにより、CD239 が悪性の乳癌細胞において内在化されることを見出した。治療を目的とする抗体-薬物結合体の抗体には、ヒト型であることが求められる。以前の研究により、CD239 に対するファージ抗体をヒト肝細胞癌患者のライブラリーから単離した。この抗原結合部位 (scFv, C7) とヒト免疫グロブリン IgG₁ Fc ドメインを組合せた C7-Fc を作製した。C7-Fc は、単独では乳癌細胞株 SKBR3 の増殖に影響しなかったが、fDT を結合させることにより細胞傷害活性を加えることができた。この効果は、CD239 の発現の高い悪性の乳癌細胞株で見られ、*in vitro* だけでなく、*in vivo* でも見られた。

以上のように、CD239 は乳癌における抗体-薬物結合体の新たな標的分子であることが示された。

Internalization of CD239, a laminin receptor, in human breast cancer: a novel antigen for antibody-drug conjugates

Y. Kikkawa¹, Y. Enomoto-Okawa⁴, A. Fujiyama⁴,
T. Fukuhara², N. Harashima¹, Y. Sugawara¹, K. Ikari¹,
Y. Negishi³, F. Katagiri¹, K. Hozumi¹, M. Nomizu¹,
Y. Ito⁴

¹Dep of Clin Biochem and ²Lab of Oncol, ³Dep of Drug Deliv and Mol Biopharm, Tokyo Univ of Pharm and Life Sci., ⁴ Grad Sch of Sci and Eng, Kagoshima Univ

Antibody-drug conjugates (ADCs) are attractive in cancer therapy because they can directly bind to cancer cells and provide anticancer activity. To kill cancer cells with ADCs, the target antigens are required not only to be highly and/or selectively expressed on cancer cells but also to be internalized by the cells. CD239, also known as the Lutheran blood group glycoprotein (Lu) or basal cell adhesion molecule (B-CAM), is a specific receptor for laminin $\alpha 5$, a major component of basement membranes. Here we show that CD239 is strongly expressed in a subset of breast cancer cells and internalized into the cells. We also produced a human single chain variable fragment (scFv) specific to CD239 fused with human IgG₁ Fc, called C7-Fc. The binding affinity of C7-Fc antibody is similar to those of the mouse monoclonal antibodies. Although C7-Fc antibody alone does not influence cellular functions, the antibody conjugated with a fragment of diphtheria toxin lacking the receptor-binding domain (fDT) can selectively kill breast cancer cells. Interestingly, fDT-bound C7-Fc shows anticancer activity in CD239-highly positive SKBR3 cells but not in weakly positive cells. Furthermore DT-bound C7-Fc promoted regression of CD239-highly positive cell xenografts in nude mice. Our results show that CD239 is a promising antigen for ADC-based breast cancer therapy.

キーワード: ラミニン受容体, CD239, 抗体-薬物結合体 Key words: laminin receptor, CD239, ADC

I型コラーゲンゲル上で培養したヒト肺ガン細胞株、A549にはカドヘリンスイッチが誘導されるが、遊走は阻害され細胞塊が形成される

藤崎ひとみ¹、二木杉子²、山田雅司³、関口清俊³、
林利彦⁴、服部俊治¹

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

【目的】I型コラーゲンは低濃度で培養容器に塗布すると(分子状)、ガン細胞を含む多くの細胞の接着や増殖を促進する作用を持つことが知られている。またI型コラーゲンは、ゲル状の再構成会合体(以下ゲル)を形成し、分子状で用いるより生体に近い培養条件を提供すると考えられている。ゲル上培養で細胞に誘導される現象や作用機序には不明な点が多く残っている。以前より我々は、ヒト肺ガン細胞株A549細胞をゲル上で培養した場合、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ている。しかしその性質は一般的にEMT誘導といわれる変化とは異なることも多い。本年は昨年に引き続き、ゲル上培養で惹起される細胞の性質変化をTGF- β 1処理で誘導される変化とより詳細に比較した。【方法】ゲル上で2日間培養したA549細胞と、TGF- β 1を添加して2日間培養した細胞を免疫染色、ウェスタンブロットティング法などを用いて比較した。

【結果】EMTの指標であるE-、N-カドヘリン発現を調べた。ゲル上で培養した細胞は、TGF- β 1処理細胞と同様E-カドヘリン量が減少し、N-カドヘリン量は増加した。しかし細胞形態は、TGF- β 1処理した細胞は単独でよく伸展するのに対し、ゲル上培養では細胞塊が形成された。この細胞間接着はN-cadherinを介していると考えられるが、通常培養皿上で培養した場合に、上皮細胞に形成される細胞間接着とは異なることが示唆された。

【考察】一般的にEMT誘導細胞は単独細胞での遊走性が高くなる。一方ゲル上でA549細胞を培養すると、細胞塊を形成し単独遊走が阻害された。この現象はI型コラーゲンが上皮ガン細胞の浸潤に阻害的な役割をしているという新しい可能性を示唆していると考えている。

Human lung cancer line cells, A549, cultured on type I collagen gels show cadherin switching, but keep cell-cell contact and form cell aggregates without cell migration

H. Fujisaki¹, S. Futaki², M. Yamada³, K. Sekiguchi³,
T. Hayashi⁴, S. Hattori¹

¹Nippi Res. Inst. Biomatrix, ²Dept. Anat. Cell Biol. Osaka Med. College, ³Inst. Protein Res. Osaka Univ., ⁴China-Japan Res Inst of Med & Pharm Sci, Shenyang Pharm Univ.

[Objective] Type I collagen influences cell fates for many kinds of cells including cancer. Type I collagen molecules are reassembled into fibrils and forms gels with 3-D structure *in vitro*. Some cell behaviors are different on type I collagen gels from on molecules. Some cancer cells induce Epithelial- mesenchymal transition (EMT) on type I collagen molecules. EMT is a fundamental biological process whereby epithelial cells lose their polarity and undergo a transition to a mesenchymal phenotype. It has been said that cancer cells invade adjacent tissues, though a mechanism akin to EMT. However, there are few studies that mentioned the different cell behaviors via different collagen forms. Following the last year's study, now we report about cadherin switching induced by cell culture on type I collagen gels. [Methods] A549 cells cultured on type I collagen gels for 2 days were compared with TGF- β 1-treated A549 cells by using immuno-histochemical analysis and western blot methods. [Results] A549 cells cultured on gels and treated with TGF- β 1, both showed cadherin switching. E-cadherin expression decreased and N-cadherin expression rose. But cell shapes and migration activity were different. Treatment with TGF- β 1induced weakened cell-cell interaction, resulting in cell scatter and cell shape changed to be elongated. On the other hand, culture on type I collagen gels, cells formed colonies and cell shapes were rather round. [Conclusion] The results show that A549 cells on type I collagen gels show EMT-like cadherin switching as the cells treated with TGF- β 1, but the effect on cell migration is repressive. Indicating that type I collagen gels regulate cancer cell invasion complicatedly.

キーワード：ガン、コラーゲンオンゲル培養、EMT

Key words: cancer, collagen on gel culture, EMT

硬化性付属器腫瘍の鑑別における Laminin- γ 2 鎖発現の有効性

Laminin- γ 2 expression is useful for differential diagnosis of sclerosing adnexal neoplasms

古賀佳織¹、阿南隆²、木村鉄宣²、鍋島一樹^{1,3}

K. Koga¹, T. Anan², T. Kimura², K. Nabeshima^{1,3}

¹福岡大学医学部病理学講座、²札幌皮膚病理診断科、
³福岡大学病院病理部

¹Department of Pathology, Fukuoka University School of Medicine; ²Sapporo Dermatopathology institute;
³Department of Pathology, Fukuoka University Hospital

Laminin-332 は基底膜の主要構成成分で、 α 3/ β 3/ γ 2 の三鎖からなる糖蛋白である。 γ 2 鎖(Ln- γ 2)には細胞遊走の亢進作用があることが知られており、悪性細胞の浸潤マーカーと考えられている。我々は Ln- γ 2 発現が皮膚悪性腫瘍の基底細胞癌(BCC)と良性の毛芽腫の病理学的鑑別に有用であることを報告してきた。BCC の一亜型である infiltrative BCC は、腫瘍胞巣周囲に硬化性間質を伴う硬化性毛包上皮腫 (DTE)、微小嚢胞性付属器癌 (MAC)とあわせ硬化性付属器腫瘍と呼ばれ、鑑別に苦慮することが多い。今回、硬化性皮膚付属器腫瘍 (Infiltrative BCC 28 例、DTE 26 例、MAC 6 例)における Ln- γ 2 の発現を免疫組織化学的に検討した。Ln- γ 2 は、infiltrative BCC 27 例(96%)、DTE 0 例(0%)、MAC 5 例(83%)で陽性であり、infiltrative BCC および MAC で高頻度に発現していた。Infiltrative BCC では細胞質に、MAC では細胞質に加えて腫瘍胞巣周囲に線状に発現し、異なった染色パターンを示した。Ln- γ 2 の免疫染色は硬化性付属器腫瘍の鑑別に有用であると考えられる。

Laminin-332, a heterotrimer composed of α 3, β 3 and γ 2 chains, is a major component of the basement membrane of skin and various epithelial tissues. One of the chains, Ln5- γ 2, is a marker of invasive tumors and is frequently expressed as a monomer in malignant tumors. Recent studies from our laboratories detected higher levels of Ln5- γ 2 expression in basal cell carcinoma (BCC) than in trichoblastoma. Furthermore, Ln5- γ 2 overexpression tended to correlate with aggressiveness in BCC. One type of BCC (infiltrative BCC), desmoplastic trichoepithelioma (DTE) and microcystic adnexal carcinoma (MAC) are sclerosing adnexal neoplasms with overlapping histopathological features. In this study, we compared the expression of Ln5- γ 2 in infiltrative BCC (n = 28), DTE (n = 26), and MAC (n = 6). Immunohistochemically, the proportion of BCC (27 cases, 96%) and MAC (5 cases, 83%) strongly positive for Ln- γ 2 expression was higher than that of DTE (0 cases, 0%). Ln- γ 2 expression pattern in infiltrative BCC was different from that in MAC. Ln- γ 2 expression was found in the cytoplasm of tumor cells in infiltrative BCC and MAC and also, linearly along tumor nests in MAC. Ln- γ 2 is a helpful adjunct in the differential diagnosis of sclerosing adnexal neoplasms.

キーワード : laminin-332, γ 2 鎖, 硬化性皮膚付属器腫瘍

Key words: laminin-332, γ 2 chain, sclerosing adnexal tumor

CD73 は Emmprin と複合体を形成し間質線維芽細胞からの MMP-2 産生を調整に関わる

青木光希子¹、古賀佳織¹、宮崎健¹、濱崎慎¹、
越川直彦²、尾山大明³、秦裕子³、鍋島一樹¹

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

[目的] 癌細胞の浸潤・増殖においては、癌と線維芽細胞の extracellular matrix metalloproteinase inducer (emmprin) を介した相互作用が重要である。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。質量分析による emmprin 複合体解析を行い、癌細胞と線維芽細胞を共培養した際に検出された分子の中から CD99 および CD73 を選出し、線維芽細胞からの MMP-2 の産生調整に関わるかについて検討を行った。

[方法・結果] 類上皮肉腫の細胞株 ST257 と、不死化した線維芽細胞細胞株 ST353i を用いて実験を行った。免疫沈降により、CD73 または CD99 と emmprin との複合体形成を確認した。癌細胞と線維芽細胞の共培養下で siRNA を用いて CD99 を抑制しても MMP-2 の産生は抑制されなかったが、CD73 を抑制したところ MMP-2 の産生は有意に減少した。CD73 特異的酵素活性阻害剤 (APCP) では MMP-2 の産生抑制は見られなかったが、CD73 の中和抗体による阻害では MMP-2 の産生は減少した。また、epithelioid sarcoma 組織における免疫染色では、emmprin は主に腫瘍細胞に発現し、CD73 は線維芽細胞と腫瘍細胞の両者に発現していた。siRNA を用いて線維芽細胞上の CD73 のみを抑制した後に、CD73 発現の保たれている腫瘍細胞と共培養を行っても、線維芽細胞からの MMP-2 発現は抑制された。

[結語] CD73 は腫瘍細胞と線維芽細胞の共培養下で emmprin と複合体を形成し、非酵素活性作用として線維芽細胞からの MMP-2 産生促進に関与している。さらに、線維芽細胞上の CD73 自体が線維芽細胞からの MMP-2 産生に必要な分子であることを示した。

CD73 complexes with Emmprin to regulate MMP-2 production from stromal fibroblasts

M. Aoki¹, K. Koga¹, M. Miyazaki¹, M. Hamasaki¹,
N. Koshikawa², M. Oyama³, H. Kozuka-Hata³,
K. Nabeshima¹

¹Department of Pathology, Fukuoka University Hospital and School of Medicine; ²Division of Cancer Cell Research Kanagawa Cancer Center Research Institute; ³Medical Proteomics Laboratory, Institute of Medical Science, University of Tokyo

[Objective] During the process of cancer cell invasion and proliferation, cancer cell need interactions with fibroblasts via extracellular matrix metalloproteinase inducer (emmprin). Previous works with emmprin inhibitory peptides suggested that cell surface proteins form complexes with emmprin. By using mass spectrometry we searched for the molecules that form a complexes with emmprin that regulate matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) in tumor cell co-culture with fibroblasts. CD99 and CD73 were identified, and we investigated their role in MMP-2 production in co-cultures.

[Methods and results] Epithelioid sarcoma (ST257) and immortalized fibroblast (ST353i) cell lines were used. Emmprin complex formation with CD99 or CD73 was confirmed by immunoprecipitation. In tumor cell co-culture with fibroblasts, CD73 specific siRNA suppressed MMP-2 production, but CD99 specific siRNA did not. CD73 specific enzymatic activity inhibitor (APCP) did not suppress MMP-2 expression, while CD73 neutralizing antibody reduced MMP-2 production from fibroblasts. In human epithelioid sarcoma tissue samples, emmprin was immunohistochemically detected to be mainly expressed in the tumor cells, and CD73 was expressed in the fibroblasts and tumor cells. siRNA knockdown of CD73 in fibroblasts resulted in suppression of MMP-2 production from the fibroblasts, even when co-cultured with tumor cells with preserved CD73 expression. [Conclulsion] Our study provides novel insight into the role of CD73 in cancer infiltration and metastasis.

キーワード： Emmprin, MMP-2, 癌浸潤

Key words: EMMPRIN, MMP-2, carcinoma invasion

悪性度の異なる腫瘍細胞により形成した細胞外マトリックス上での抗がん剤耐性発現機構の解析

干場隆志^{1,2,3}

¹山形大学有機材料システム研究推進本部、
²山形大学フロンティア有機材料フレックス大学院、
³物質・材料研究機構

【目的】がんはその悪性化とともに抗がん剤耐性を獲得していくことが知られている。一方で、がん細胞周囲の細胞外マトリックス(ECM)も、悪性化に伴いリモデリングを受ける。しかし、悪性化に伴うECMのリモデリングが抗がん剤耐性の獲得にどのように寄与しているかはよくわかっていない。本研究では、転移性の異なる大腸がん細胞株を培養することで、細胞直下にECM成分を沈着させた後に、細胞のみを除去することにより得たECMタンパク質を、がんの悪性化によってリモデリングを受けたECMのモデルとして用い、5-フルオロウラシル(5-FU)耐性の発現機構を検討した。以前、悪性度の高いがん細胞が形成したECM上での*ABCB1*の発現亢進を報告した。今回は*ABCB1*の発現亢進における上皮間葉転換(EMT)の寄与について検討した。

【方法】大腸がん細胞株であるHT-29(転移性)、SW480(非転移性)および正常細胞株であるCCD-841-CoNを2週間培養後、界面活性剤および核酸分解酵素で処理することによりECMモデルを得た。その後、HT-29細胞を用いて各種の検討を行った。

【結果と考察】5-FUをHT-29細胞に添加するとEMTを生じるとともに*ABCB1*の発現も上昇した。この発現上昇はTGF- β 受容体の阻害剤であるSB431542により抑制された。さらにHT-29細胞由来のECM上で培養すると*ABCB1*が他の細胞由来のECMと比較して高値を示したが、SB431542により違いは観察されなくなった。さらにTGF- β を結合するコンドロイチン硫酸(CS)鎖がHT-29細胞由来のECMで多く検出された。悪性度の高いがんのECMではCS鎖によりTGF- β が結合し、より効率よく細胞に提示されることによりEMTを促進し、抗がん剤耐性を上昇することが示唆された。

キーワード：抗がん剤耐性、上皮間葉転換

Analysis of chemoresistance acquisition mechanism on extracellular matrices formed by tumor cells with different malignant levels

Takashi Hoshiba^{1,2,3}

¹Frontier Center for Organic Materials, Yamagata University
²iFront, Yamagata University
³National Institute for Materials Science

[Objective] Tumors acquire the chemoresistance according to their progression. Also, extracellular matrix (ECM) is remodeled according to tumor progression. However, it remains unclear how ECM remodeling contributes to chemoresistance acquisition. Cultured cells can deposit ECM components beneath the cells. And these deposited ECM components can be used as new substrates after cell removal. In this study, I prepared deposited ECM components as *in vitro* ECM models that mimic native ECM in tumor at different malignant levels. And I examined the 5-fluorouracil (5-FU) acquisition mechanisms of colorectal tumor cells on the ECM. Particularly, epithelial-mesenchymal transition (EMT) was focused to understand the upregulation mechanisms of *ABCB1*.

[Methods] Colorectal tumor cells, invasive HT-29 cells and non-invasive SW480 cells, and colorectal normal cells, CCD-841-CoN cells, were cultured for 2 weeks. After the culture, the cells were removed by the treatment with detergent and nucleases to obtain the ECM models. Obtained ECM models were used for further experiments.

[Results and discussion] EMT genes and *ABCB1* expression were up-regulated by 5-FU. And their up-regulation was inhibited by SB431542, a TGF- β receptor inhibitor. *ABCB1* expression exhibited at higher levels on HT-29 cell-derived ECM than on other ECM. However, the expression decreased to the basal levels by SB431542. Finally, chondroitin sulfate (CS) chains that can bind TGF- β were the greatest on HT-29 cell-derived ECM. Thus, it is suggested that high malignant ECM bind TGF- β via CS chains to promote EMT and chemoresistance

Key words: Chemoresistance, EMT

全身性強皮症の線維化病態に対して platelet-derived growth factor receptor (PDGFR) 阻害剤が与える影響の検討

牧野雄成¹、Maria Trojanowska²、尹浩信¹

¹熊本大学大学院皮膚病態治療再建学分野、

²ボストン大学リウマチセンター(米国)

【目的】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自己免疫疾患であり、その線維化には活性化した線維芽細胞から産生されるコラーゲンが重要とされる。本研究では、PDGF 受容体阻害剤である crenolanib に注目し、培養皮膚線維芽細胞やアンジオテンシン II 誘導マウス皮膚/心臓線維化モデルにおける crenolanib の役割について検討した。【方法】強皮症患者と健常人由来の培養皮膚線維芽細胞に crenolanib を添加し、TGF-βや PDGF リガンド、CTGF で刺激した。強皮症患者 33 例、健常人 15 例の皮膚から採取した mRNA からアレイ解析を行った。細胞増殖の測定には Incucyte[®]を使用した。アンジオテンシン II を皮下に留置した浸透圧ポンプによりマウスに持続投与した。

【結果】Crenolanib は健常人、強皮症いずれの皮膚線維芽細胞の増殖も抑制し、さらに TGF-β刺激時や定常状態における CTGF や periostin の発現を抑制した。強皮症の皮膚線維芽細胞では PDGFAA 刺激単独で細胞増殖が増加したが、健常人では PDGFAA と CTGF の共刺激により細胞増殖が増加した。強皮症皮膚組織からの mRNA アレイ解析において、PDGFRαは CTGF や他の線維化マーカーと相関がみられた。アンジオテンシン II 誘導皮膚/心臓硬化マウスモデルの線維化部位では PDGFRα陽性細胞が増加し、これらの細胞は PDGFRβ、procollagen、periostin も発現していた。Crenolanib をマウス腹腔内投与することで、アンジオテンシン II により誘導される皮膚/心臓の硬化は抑制された。【考察】PDGF シグナルを抑制することは、強皮症の治療につながる可能性があると考えられた。

Effects of platelet-derived growth factor receptor (PDGFR) inhibitor for the fibrosis of systemic sclerosis

K. Makino¹, M Trojanowska², H Ihn¹

¹Department of dermatology and Plastic Surgery, Kumamoto University, Japan; ²Arthritis Center, Boston University School of Medicine, USA

[Objective] Systemic sclerosis (SSc) is an acquired autoimmune disorder that typically results in fibrosis of the skin and internal organs. Activated fibroblasts are the key effector cells in SSc responsible for the production of collagen and the development of fibrosis. In this study, we examined the role of crenolanib, an inhibitor of PDGFR signaling, in cultured skin fibroblasts and evaluated its antifibrotic effect in the angiotensin II (Ang II)-induced mice skin and heart fibrosis. [Methods] Healthy control (HC) and SSc dermal fibroblasts were cultured in the presence of crenolanib, TGF-β, PDGF ligands and CTGF. Cell proliferation was measured using the Incucyte[®] system. Skin biopsy samples collected from 15 healthy controls and 33 dcSSc were included in the microarray analysis. Ang II was administered by subcutaneous osmotic pumps. [Results] Crenolanib effectively inhibited proliferation of SSc and HC fibroblasts, and attenuated basal and TGF-β-induced expression of CTGF and periostin. In contrast to HC fibroblasts, SSc fibroblasts proliferated in response to PDGFAA, while a combination of PDGFAA and CTGF was required to produce a similar response in HC fibroblasts. PDGFRα mRNA correlated with CTGF and other fibrotic markers in the skin of SSc. In mice challenged with Ang II, PDGFRα-positive cells were increased in the skin and heart. These PDGFRα-positive cells co-localized with PDGFRβ, procollagen and periostin. Treatment with crenolanib by daily intraperitoneal injections attenuated the skin and heart fibrosis in the Ang II model. [Conclusion] Our data indicate that inhibition of PDGF signaling presents a new attractive therapeutic approach in SSc.

キーワード：全身性強皮症、PDGFR

Key words: Systemic sclerosis, PDGFR

線維芽細胞における放射線による長鎖非コード RNA の発現解析

矢野博之¹、濱中良志^{3,4}、甲斐浩一¹、
太田三紀³、張娟娟²、松尾哲孝²、
吉岡秀克^{2,5}

¹大分大学 全学研究推進機構、

²大分大学 医学部 マトリックス医学講座、

³大分大学 医学部 細胞生物学講座、

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

【目的】 昨今のハイスループットシーケンス技術により、タンパク質をコードする領域は全ゲノムの 2%ほどに過ぎず、残りの領域はノンコーディング領域であることが明らかになった。その転写物である非コード RNA (ncRNA) については、特別な生理活性をもたないと考えられていた。しかし、最近、ncRNA が遺伝子転写制御などの重要な機能を持つことが報告され、その生物学的意義に注目が集まっている。ncRNA は、数十塩基長ほどの短鎖 ncRNA と数百から数万塩基長の長鎖 ncRNA (lncRNA) に大別される。我々は短鎖 ncRNA の一つである miRNA について、放射線による線維化(Radiation induced fibrosis ; RIF)に関連する miRNA を同定し、過去の本会にて報告した。今回、もう一方の lncRNA について、RIF プロセスにおける役割を調べるために、培養細胞を用いて lncRNA 発現解析を行った。

【方法】 10Gy 放射線を照射したマウス線維芽細胞株 NIH3T3 細胞について、lncRNA array 解析、及び real-time PCR を行い、放射線により変動する lncRNA についてスクリーニングを行った。

【結果および考察】 lncRNA array 解析により、放射線により発現が 2 倍以上亢進した lncRNA、および 0.5 倍以下に低下した lncRNA を選んだ。その結果、13 種の発現増加した lncRNA、及び 47 種の発現低下した lncRNA を抽出した。肝線維化との関連が報告されている H19 について、放射線による発現減少がみられた。また、スプライシングを調節することが報告されている Gomafu も放射線により発現が減少していた。一方、p53 との関連性が報告されている lincRNA-p21 や m HOTAIR は、放射線により発現が増加した。

Expression analysis of long non-coding RNA by ionizing radiation in fibroblasts

Hiroyuki Yano¹, Ryoji Hamanaka^{3,4}, Koichi Kai¹,
Miki Nakamura³, Juan Juan Zhang², Noritaka Matsuo²,
Hidekatsu Yoshioka^{2,5}

¹ Research Promotion Institute, Oita University

² Department of Matrix Medicine, Faculty of Medicine, Oita University

³ Department of Cell Biology, Faculty of Medicine, Oita University

⁴ Department of Human Sciences, Oita University of Nursing and Human Sciences

⁵ Department of Clinical Examination, Shinbeppu Hospital

[Objective] High throughput sequencing technologies has revealed that the protein coding region is only about 2% of the whole genome and the remainder is constituted of noncoding regions. Non-coding RNA (ncRNA) as its transcript had thought to have no physiological activity. However, it has been reported that ncRNA has important functions such as gene transcriptional regulation, and its biological significance has attracted attention. The ncRNA is roughly divided into a short ncRNA of several tens of bases long and a long ncRNA (lncRNA) of several hundreds to tens of thousands of bases in length. We identified miRNAs related to radiation induced fibrosis (RIF) for miRNAs, one of short-chain ncRNAs. To investigate the role of the other lncRNA in the RIF process, the analysis of lncRNA expression was performed using cultured fibroblastic cells.

[Methods] NIH-3T3 cells were irradiated with gamma rays (10Gy). To assess the effect of lncRNA related with the RIF process, we evaluated the lncRNA expression levels on ionizing radiation by lncRNA array and real-time PCR.

[Results] The lncRNA whose expression were increased more than two-fold by ionizing radiation or the lncRNA whose expression were decreased less than half by ionizing radiation were selected. The lncRNA which demonstrate an increased expression and a decreased expression were 13 and 47, respectively. The expression of H19, which is reported to be associated with liver fibrosis, was decreased by ionizing radiation. In addition, the expression of Gomafu which is reported to regulate splicing was also reduced by ionizing radiation. On the other hand, the expression of lincRNA-p21 and m HOTAIR, which are reported to be associated with p53, was increased by ionizing radiation.

キーワード： 放射線誘起線維化,lncRNA

Key words: Radiation induced fibrosis, lncRNA

エストラジオールが閉経後特発性手根管症候群患者の subsynovial connective tissue に与える影響

山中芳亮、目貫邦隆、田島貴文、岡田祥明、小杉健二、善家雄吉、酒井昭典
産業医科大学 整形外科

【はじめに】特発性手根管症候群の特徴的な所見として、手根管内の subsynovial connective tissue (SSCT) の非炎症性線維化が挙げられる。また、エストロゲンの血中濃度が大きく低下する閉経後女性に好発することも特徴の一つであるが、エストロゲンと SSCT の線維化の関連については過去に報告はなく不明である。本研究では、エストロゲンが SSCT 内線維芽細胞に与える影響について線維化関連遺伝子を中心に検討した。【対象と方法】閉経後特発性手根管症候群患者 10 名（平均年齢 76 歳）を対象とした。患者同意下に SSCT を採取し、線維芽細胞の抽出を行った。線維芽細胞にエストラジオールを添加後、qRT-PCR を用いて、Col1A1、Col3A1、CTGF、VEGF の発現を非添加群と比較した。また、ER α および ER β の発現量とエストラジオール添加による Col1A1 および Col3A1 の発現低下率の相関についても検討を行った。エストラジオール添加が Col1 および Col3 タンパクの発現に与える影響を蛍光免疫染色で検討した。【結果】Col3A1 の発現はエストラジオール添加群 (10^{-4} , 10^{-12} M) でコントロールと比較して有意に低下していた ($P < 0.01$, $P < 0.05$)。エストラジオール添加 (10^{-4} M) による Col1A1 の発現低下率は ER α の発現と正の相関を認めた ($r = 0.903$, $P < 0.01$)。Col3A1 の発現低下率も同様に ER α の発現と正の相関を認める傾向にあった ($r = 0.624$, $P = 0.54$)。蛍光免疫染色ではエストラジオール添加 (10^{-4} M) により Col1、Col3 のタンパク発現は有意に低下した ($P < 0.05$)。【考察】特発性手根管症候群患者の SSCT 内線維芽細胞において、エストラジオール添加は Col1 および 3 のタンパク発現を低下させ、Col1A1 および Col3A1 の発現低下率は ER α の発現レベルと相関することが明らかとなった。本研究結果より、エストラジオール補充療法による SSCT の線維化抑制、また患者個々の ER α の発現量を把握することでエストラジオール補充療法の効果が予測できる可能性が示唆された。

Effect of estradiol on subsynovial connective tissue from postmenopausal idiopathic carpal Tunnel Syndrome Patients

Y. Yamanaka, K. Menuki, T. Tajima, Y. Okada, K. Kosugi, Y. Zenke, A. Sakai

Department of Orthopaedic Surgery, School of Medicine, University of Occupational and Environmental Health

[Objective] Fibrosis of the subsynovial connective tissue (SSCT) is a characteristic finding in patients with idiopathic carpal tunnel syndrome (CTS). Idiopathic CTS frequently occurs in postmenopausal women; therefore, female steroid hormones, especially estrogens, may be involved in its development. In this study, we evaluated the effect of the estradiol on the expression of genes and proteins related to fibrosis of SSCT fibroblasts from patients with idiopathic CTS. [Methods] This study included 10 postmenopausal women (mean age 76 years). Fibroblasts derived from SSCT were treated with estradiol (10^{-4} to 10^{-12} M), and the expression levels of TGF- β -responsive genes were evaluated. The relationships between the expression of untreated estrogen receptor α (ER α) and ER β and changes in gene expression due to estradiol treatment were examined by quantitative real-time polymerase chain reaction. The effects of 10^{-4} M estradiol on collagen type I (Col1) and collagen type III (Col3) protein expression levels were also evaluated by fluorescent staining. [Results] Col3A1 expression was down-regulated in cells treated with 10^{-4} and 10^{-12} M estradiol than that in untreated control cells ($P < 0.01$ and $P < 0.05$, respectively). The reduction in Col1A1 expression due to 10^{-4} M estradiol treatment was positively correlated with the expression of ER α ($r = 0.903$, $P < 0.01$). The reduction in Col3A1 expression due to 10^{-4} M estradiol treatment tended to be positively correlated with the expression of ER α . However, this correlation was not significant ($r = 0.624$, $P = 0.54$). At the protein level, expression of Col1 and Col3 were down-regulated. [Conclusion] The accurate evaluation of ER α expression level in the SSCT of individual patients with idiopathic CTS might guide the effective use of new estrogen replacement therapy.

キーワード：手根管症候群、エストラジオール、線維化

Key words: CTS, Estradiol, Fibrosis

培養ヒト角膜上皮細胞におけるエピガロカテキンガレートによる上皮間葉転換抑制効果の検討

濱野将大¹、坂田喜美¹、吉田浩二²

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、

²近畿大学生物理工学部医用工学科

【目的】臓器線維症はコラーゲンをはじめとする細胞外マトリックスが過剰に増加し、臓器が機能不全に陥る疾患で、その有効な治療法は未だ確立されていない。臓器線維化を惹起するサイトカインとして TGF- β があり、緑茶に含まれるエピガロカテキンガレート (epigallocatechin gallate: EGCG) は TGF- β の作用を抑制することが知られている。しかし、上皮間葉転換 (epithelial mesenchymal transition: EMT) における TGF- β と EGCG の関係には不明な点が多い。そこで本研究では培養ヒト角膜上皮細胞 (human corneal epithelial cells: HCECs) を用いて TGF- β の EMT 誘導作用、EGCG の EMT 抑制効果、EMT の可逆性について検討し、EGCG による臓器線維症治療の可能性を探る。

【方法】常法に従って HCECs を無血清培地で培養した。対照群、TGF- β 処理群、TGF- β +EGCG 処理群、TGF- β 処理後 EGCG 処理群、EGCG 処理群において lysate を調製後 fibronectin (FN)、E-cadherin (E-cad)、 α -smooth muscle actin (α -SMA)、Smad2、phosphorylated Smad2 (p-Smad2) の発現を Western blot にて確認した。細胞形態は位相差顕微鏡で観察した。

【結果】TGF- β 処理後の細胞形態は TGF- β 濃度依存的に円形化し、肥大化した。また、TGF- β 濃度依存的に FN の発現は増加し、 α -SMA の発現は減少したが、E-cad の発現には著明な変化はなかった。一方、TGF- β 、EGCG 同時処理後の細胞形態には未処理の場合と比べて大きな変化が見られなかった。また、TGF- β 濃度一定の状態では、EGCG 濃度依存的に α -SMA の発現が増加し、FN と E-cad の発現が減少した。TGF- β 処理後に培地交換し、EGCG 処理をした場合の細胞形態は TGF- β 処理をした場合とほぼ一致したが、EGCG 濃度依存的に FN、 α -SMA、E-cad の発現が減少した。

【結語】TGF- β は HCECs に対して EMT を誘導したと考えられるが、典型的な EMT 様変化は呈さなかった。EGCG は EMT を抑制するが、高濃度では細胞毒性をもつ可能性がある。

Investigation of the effects of epigallocatechin gallate on epithelial mesenchymal transition in human corneal epithelial cells

Shota Hamano¹, Kimi Sakata¹, Koji Yoshida²

¹Department of Biological System Engineering, Graduate

School of BOST, Kindai University; ²Department of

Biomedical Engineering, Faculty of BOST, Kindai University

[Objective] Organ fibrosis is a clinical condition caused by an excessive deposition of extracellular matrix, which exhibits organ dysfunction. However, effective treatment for it has not been established yet. TGF- β is a multifunctional cytokine that plays a pivotal role in induction of fibrosis. The anti-TGF- β effect of epigallocatechin gallate (EGCG) in green tea has been reported, but the relationship between TGF- β and EGCG in epithelial mesenchymal transition (EMT) is not well understood. Therefore, we investigated the EMT induction by TGF- β , the inhibitory effect of EGCG on TGF- β -induced EMT and the reversibility of EMT in human corneal epithelial cells (HCECs). In this study, we asked whether EGCG could be applied to the treatment for organ fibrosis.

[Methods] HCECs were used to examine the effects of TGF- β and EGCG. Cell lysates were prepared from HCECs treated with the following experimental conditions: TGF- β alone, TGF- β plus EGCG, EGCG addition after TGF- β treatment, EGCG alone and vehicle. The expression of fibronectin (FN), E-cadherin (E-cad), α -smooth muscle actin (α -SMA), Smad2 and phosphorylated Smad2 (p-Smad2) were analyzed by western blot. The cell shape changes were observed by a phase contrast microscope.

[Results] Cell treated by TGF- β alone were observed to be large and round in shape. The up-regulation of FN expression and down-regulation of α -SMA expression were found in a concentration dependent manner of TGF- β , whereas little changes were detected in the expression of E-cad. However, TGF- β plus EGCG mix treatment little changed the cell shape in comparison with vehicle. In the case of TGF- β plus EGCG mix treatment, the expression of α -SMA was increased, whereas the expression of FN and E-cad were decreased in a dose dependent manner of EGCG. When EGCG was added to the media after TGF- β treatment, the cell shape was similar to that of TGF- β alone treatment, while the down-regulation of FN, α -SMA and E-cad were observed in a concentration dependent manner of EGCG.

[Conclusions] These data indicate that TGF- β would induce EMT in HCECs, whereas the manners of EMT in this study were not consistent with those of typical EMT. EGCG should have the inhibitory effect on TGF- β -induced EMT. EGCG also may have cytotoxic effect in HCECs at high concentration.

キーワード：線維症、上皮間葉転換、TGF- β 、EGCG

Key words: Fibrosis, EMT, TGF- β , EGCG

培養尿細管上皮細胞におけるエピガロカテキンガレートによる上皮間葉転換抑制効果の検討

坂田喜美¹、濱野将大¹、吉田浩二²

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、

²近畿大学生物理工学部医用工学科

【目的】尿細管上皮細胞の上皮間葉転換(Epithelial Mesenchymal Transition : EMT)は、腎線維化の一因であると考えられている。EMTを誘導する因子の1つとしてとして、transforming growth factor (TGF)- β が知られている。カテキンの一種であるエピガロカテキンガレート(EGCG : epigallocatechin gallate)は、様々な生理作用活性をもつが、EGCGの抗線維化作用についてはよくわかっていない。NRK-52E(ラット由来尿細管上皮細胞)を用いて、TGF- β によるEMTの誘導、また、EGCGによるEMTの抑制効果について検討し、EGCGの腎線維化治療への応用を模索する。

【方法】常法に従って、NRK-52Eを培養し、対照群、TGF- β 群、TGF- β +EGCG処理群のlysateを調製し、ウェスタンブロット法により、fibronectin (FN)、E-cadherin (E-cad)、 α -SMA、GAPDH、Smad2、phosphorylated Smad2 (p-Smad2)の発現を解析した。

【結果および考察】培地にTGF- β のみを添加した場合、FN、 α -SMAの発現が増加した。また、EMT誘導の程度はTGF- β 濃度に依存的であった。E-cadの発現は、変化しなかった。これらの結果より、TGF- β は、NRK-52Eに対しEMTを誘導したと考えられる。TGF- β とEGCGを同時に添加した場合、FN、E-cadの発現解析結果よりEGCGはTGF- β の作用を抑制したと考えられる。また、EGCGは α -SMAの発現にはほとんど影響しなかった。このことはEGCGがTGF- β のシグナル伝達経路のすべてを抑制するわけではないことを示唆する。以上の結果から、EGCGは腎線維化の治療薬候補になりうると思われる。

Investigation of the effects of epigallocatechin gallate on transforming growth factor- β -induced epithelial mesenchymal transition in renal tubular epithelial cells.

Kimi Sakata¹, Shota Hamano¹, Koji Yoshida²

¹Department of Biological System Engineering, Graduation School of BOST, Kindai University; ²Department of Biomedical Engineering, Faculty of BOST, Kindai University

[Objective] Epithelial mesenchymal transition (EMT) of renal tubular epithelial cells is involved in kidney fibrosis. Transforming growth factor (TGF)- β is one of the factors that induces EMT. Epigallocatechin gallate (EGCG) is a kind of catechin and has a variety of physiological functions. However, the effect of EGCG on EMT is not clearly understood. In this study, we examined the effect of TGF- β on EMT induction in NRK-52E (a renal tubular epithelial cell line from normal rat), and analyzed the influence of EGCG on EMT.

[Methods] NRK-52E cells were cultured as usual. Cell lysates were prepared from NRK-52E treated with the following experimental conditions: no special treatment as negative controls; TGF- β treatment alone; TGF- β plus EGCG treatment. The protein expression of fibronectin (FN), E-cadherin (E-cad), alpha-smooth muscle actin (α -SMA), GAPDH, Smad2 and phosphorylated Smad2 (p-Smad2) were analyzed by western blotting.

[Results and Discussion] When TGF- β was added to the medium alone, the expression of FN and α -SMA increased. The expression of FN increased depending on the concentration of TGF- β , whereas the expression of E-cad did not significantly change. When TGF- β and EGCG were added to the medium, expression of FN and E-cad decreased, while the expression of α -SMA did not virtually change. Our results show that TGF- β may induce EMT in NRK-52E. However, the protein expression patterns of EMT makers observed in this study were somewhat from those of typical EMT. The efficacy of EGCG against EMT is considered to be restricted. In conclusion, we think that EGCG should be a potential therapeutic drug for kidney fibrosis.

キーワード： 上皮間葉転換、線維化、TGF- β

Key words: EMT, fibrosis, TGF- β

Unique expression of syndecan-2 in proximal colon during acute inflammation

Heejeong Hong¹, Hyun-kuk Song¹, Seung-Eun Kim², Eok-Soo Oh¹

¹Department of Life Sciences, the Research Center for Cellular Homeostasis, Ewha Womans University; ²Department of Internal Medicine, School of Medicine, Ewha Womans University.

[Objective] CRC has high mortality rate worldwide and patients with IBD has high risk of developing CRC. There are several disparities depending on anatomical sites in CRC such as cancer incidence, genetic alterations, and immunological differences. IBD patients also have colonic regional differences, such as miRNA yet not many reports are available. Syndecan-2, a transmembrane proteoglycan, is upregulated in chronic inflammation and carcinoma in colon, but its expression in acute inflammation and the mechanism are questionable. We studied acute DSS-induced colitis mouse model to determine how syndecan-2 expression is regulated. [Methods] We performed studies with C57BL/6J and *rag1*^{-/-} mice by administrating DSS. Colon tissues were swiss-rolled and stained with syndecan-1 and -2 antibodies. The colon was divided into 6 parts to analyze gene level of syndecan-2. Daily i.p. injection of ASA was achieved, and the tissue staining was performed. Immunostaining of F4/80 and CD3 were also delivered and we counted infiltrated CD3⁺ cells. [Result] Using DSS-induced acute colitis animal model, we found that syndecan-2 expression was upregulated at proximal colon where was an inconsistent location with tissue damage, the most at day 7. Daily ASA i.p. injection reduced inflammation and syndecan-2 expression as well. When we stained CD3, the infiltrated CD3⁺ cells were extremely increased at proximal colon when inflammation was delivered. In addition, the increased population was alleviated by ASA i.p. injection. We repeated the experiment with *rag1*^{-/-} mice and syndecan-2 expression was barely increased. [Conclusion] In acute DSS-induced colitis model, syndecan-2 expression was predominantly upregulated at proximal colon through infiltration of CD3⁺ cells.

Key words: syndecan-2, acute colitis, proximal colon

松本俊彦¹、高見太郎²、坂井田功²

T. Matsumoto¹, T. Takami², I. Sakaida²

¹ 山口大学大学院医学系研究科 臨床検査・腫瘍学、

¹ Department of Gastroenterology and Hepatology, Yamaguchi University Graduate School of Medicine

² 山口大学大学院医学系研究科 消化器内科学

² Department of Oncology and Laboratory Medicine, Yamaguchi University Graduate School of Medicine

【目的】 肝線維化と線維溶解は、マクロファージ(M ϕ)と肝星細胞の細胞間相互作用により制御されることが知られている。これまでに我々は、M ϕ における Rho family GTPase の制御が肝線維溶解に寄与する可能性を報告してきた。そこで今回、複数の Rho family GTPase を標的遺伝子とする microRNA(miR)142-3p による肝線維化抑制効果について解析した。**【方法】** *in vitro* で、顆粒球単球コロニー刺激因子(GM-CSF)を用いてヒト末梢血単球から M1 マクロファージ(M1-M ϕ)を誘導し、miR142-3p 発現の経時的変化を評価した。さらに、miR142-3p mimic を導入した M1-M ϕ における MMPs 発現(MMP1, MMP9, MMP12)を評価した。次に、ヒト肝星細胞(HHSteC)を通常培養皿または Matrigel コート培養皿で培養し、活性化肝星細胞と脱活性化肝星細胞における miR142-3p 発現を比較した。さらに miR142-3p mimic を導入した HHSteC の形態、増殖能、肝線維化関連遺伝子発現(α SMA, Collagens, MMPs, TIMP1, TGF β 1, TGF β -R 等)について検討した。**【結果】** ヒト末梢血単球から M1-M ϕ を誘導する過程で miR142-3p 発現は経時的に増加した。miR142-3p 導入 M1-M ϕ では、MMP1, MMP9 の発現に変化を認めなかったが、MMP12 発現は有意に増加した。一方、HHSteC における miR142-3p 発現は、活性化肝星細胞で有意に増加した。またこの miR142-3p 導入 HHSteC では、細胞形態は紡錘形から類円形となり増殖は有意に低下し、 α SMA, Coll1a1, Col3a1, TIMP1 の発現には変化を認めなかったものの、TGF β -R 発現低下と BMP and activin membrane-bound inhibitor (BAMBI) の発現増加を認め、さらに MMP1 と MMP2 の有意な発現増加を認めた。**【結論】** miR142-3p は肝星細胞の TGF β シグナルと増殖を抑制するだけでなく、M ϕ 由来 MMP12 や肝星細胞由来 MMP1 および MMP2 発現を増加させることにより、肝線維化を抑制させる働きがある。

Objective: Fibrogenesis and fibrolysis are known to be regulated by cell-cell interaction between macrophages (M ϕ) and hepatic stellate cells. To date, we have reported that regulation of Rho family GTPase by M ϕ may be involved in liver fibrolysis. Here, we analyzed the liver fibrosis inhibitory effects of microRNA (miR)142-3p, which targets genes for some Rho family GTPases. **Method:** M1 macrophages (M1-M ϕ) were induced *in vitro* from human peripheral blood monocytes using granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF), and the chronological changes in miR142-3p expression were evaluated. In addition, expression of MMPs (MMP1, MMP9, MMP12) was evaluated in M1-M ϕ in which miR142-3p mimic was inserted. Next, human hepatic stellate cells (HHSteC) were cultured in normal culture plates or Matrigel-coated culture plates, and miR142-3p expression was compared between activated and deactivated hepatic stellate cells. In addition, the morphology, proliferation potential, and gene expressions relating to liver fibrosis (α SMA, collagens, MMPs, TIMP1, TGF β 1, TGF β -R, etc.) were investigated in HHSteCs with inserted miR142-3p mimic. **Results:** During the process of inducing M1-M ϕ from human peripheral blood monocytes, miR142-3p expression increased over time. No changes in MMP1 or MMP9 expression were found in M1-M ϕ with inserted miR142-3p, but MMP12 expression increased significantly. At the same time, miR142-3p expression in HHSteC was significantly greater in activated hepatic stellate cells. In addition, the cell morphology of these HHSteCs with induced miR142-3p was from spindle-shaped to oval, and proliferation was significantly less. Although no changes in expression of α SMA, Coll1a1, Col3a1, or TIMP1 were found, reduced TGF β -R expression and increased BMP and activin membrane-bound inhibitor (BAMI) expression were observed. Moreover, significantly increased MMP1 and MMP2 expression were found. **Conclusion:** miR142-3p not only regulates TGF β signaling and growth in hepatic stellate cells, but also acts to inhibit liver fibrosis by causing increased expression of MMP12 from M ϕ and MMP1 and MMP2 from stellate cells.

キーワード：肝線維化、miR、Rho family GTPase

Key words: Liver fibrosis, miR, Rho family GTPase

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

ハティポール・オメル・ファルク^{1,4}、
エユブ・ウチュテペ⁴、グンデウズ・エスラ^{3,4}、
グンデウズ・メーメット^{3,4}、大月孝志¹、稲垣純子²、
廣畑聡¹

¹岡山大学大学院保健学研究科、²岡山大学大学院医歯薬学総合研究科、³和歌山県立医科大学耳鼻咽喉科、
⁴TurgutÖzal 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。

【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 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。

Silencing of Important Molecules in Pathogenesis of Idiopathic Pulmonary Fibrosis via RNA interference

OF Hatipoglu^{1,4}, E Uctepe⁴, E. Gunduz^{3,4}, M. Gunduz^{3,4},
T Otsuki¹, J Inagaki², S Hirohata¹

¹Okayama University Graduate School of Health Sciences;
²Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences;
³Wakayama Medical University Hospital Otolaryngology;
⁴Turgut 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. There are many studies suggesting the use of siRNA in lung diseases. However, thus far no studies have targeted the MoleculeX. MoleculeX 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 MoleculeX in IPF pathogenesis, with knockdown of MoleculeX 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).

[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 MoleculeX by siRNA on the EMT. In order to investigate the role of Molecule X in EMT, A549 cells were transfected with moleculeX 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

ナノ液体クロマトグラフィータンデム質量分析法を用いたエーラス・ダンロス症候群の診断法の開発

山田和夫^{1,2}、渡辺淳³、古庄知己⁴、水本秀二⁵、
山田修平⁵、竹下治男¹、松本健一²

¹島根大・医・法医学、²島根大・総科支セ・生体情報・RI、³日本医大・附属病院・遺伝診療科、⁴信州大・医・附属病院・遺伝子医療研究セ、⁵名城大・薬・病態生化学

エーラス・ダンロス症候群 (EDS) は、皮膚、関節、血管などの組織に脆弱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主に 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) が EDS の原因遺伝子の一つとして同定されている。TNXB のホモ欠損は古典型 EDS を発症し、TNX ハプロ不全は関節可動亢進型 EDS を発症することが報告されている。我々は既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 欠損型および TNX ハプロ不全関節可動亢進型 EDS の診断に有用であることを報告してきた。今回、本法を用い、過剰運動症候群(HMS)血清中の sTNX を定量し、sTNX 濃度と HMS 患者の臨床症状との関連性を検討した。その結果、数名の HMS 患者の sTNX の濃度は健常人の半分程度であることが明らかとなり、これらの患者は TNX ハプロ不全関節可動亢進型 EDS である可能性が示唆された。また、最近、デルマトタン 4-O-硫酸基転移酵素-1 (D4ST1) のホモ変異による筋拘縮型 EDS が同定された。そこで、筋拘縮型 EDS の病態生理を明らかにする目的で Nano-LC/MS/MS 法を用いた血清中の D4ST1 定量法の開発を試みた。D4ST1 定量のための候補ペプチドを探すため、D4ST1 をトランスフェクトしたセルライゼートを還元、アルキル化後、トリプシンで消化し、Nano-LC/MS/MS を用いて PinPoint ソフトウェアで解析した。その結果、いくつかの定量のための候補ペプチドが同定され、それらのペプチドのクロマトグラム上の保持時間、親イオンと娘イオンのトランジションのパターンは合成ペプチドのものと完全に一致した。次に、これらのペプチドを用いて血清中の D4ST1 の定量を試みたが、これまでのところ、いずれのペプチドも検出されなかった。この結果は、血清中に D4ST1 は存在しない可能性を示唆する。

キーワード： エーラス・ダンロス症候群、ナノ LC/MS/MS、テネイシン X

Development of diagnostic method of Ehlers-Danlos syndrome using nano-LC/MS/MS

Kazuo Yamada^{1,2}, Atsushi Watanabe³, Tomoki Kosho⁴,
Shuji Mizumoto⁵, Shuhei Yamada⁵, Haruo Takeshita¹,
Ken-ichi Matsumoto²

¹Dept. of Leg. Med., Shimane Univ., Sch. of Med., ²Dept. of Biosign. and Radioiso. Exp., Interdiscip. Cent. for Sci. Res., Org. for Res., Shimane Univ., ³Div. of Clin. Genet., Nippon Med. Sch. Hosp., ⁴Dept. of Med. Genet., Shinshu Univ., Sch. of Med., ⁵Dept. of Pathobiochem. Fac. of Pharm. Meijo Univ.

Ehlers-Danlos syndrome (EDS) is a hereditary connective-tissue disorder. EDS has been classified into 13 subtypes according to clinical features and causative genes. A matricellular protein, tenascin-X (TNX), has been identified as one of the causative gene of EDS. The clinical subtype of TNX deficiency caused by biallelic mutations in *TNXB* is named as classical-like EDS. We have developed a quantification method for serum form of TNX (sTNX) using nano-liquid chromatography tandem mass spectrometry (Nano-LC/MS/MS). This method is useful for diagnosis of EDS caused by TNX deficiency and haploinsufficiency. In this study, using this method, we measured sTNX concentration in sera from patients of hypermobility syndrome (HMS) and investigated the correlation between sTNX concentration and clinical symptoms of HMS. sTNX concentrations in sera from several HMS patients were about a half of normal subjects. These patients might be hypermobility type of EDS. Recently, Musculocontractural EDS-*CHST14* (mcEDS-*CHST14*) was identified as a subtype of EDS, caused by biallelic mutations in dermatan 4-O-sulfotransferase-1 (D4ST1). We have attempted to quantify serum D4ST1 using nano-LC/MS/MS to uncover the pathophysiology of the disorder. To search candidate peptides for quantification of D4ST1, the cell lysates transfected with D4ST1 were reduced, alkylated, and treated with trypsin. Then, peptides were analyzed with Pinpoint software using nano-LC/MS/MS. As a result, several peptides were identified as candidate peptides for quantification of D4ST1. The retention times and the intensities of several daughter ions derived from parent ions of endogenous peptides were completely consistent with those of synthetic candidate peptides. Using these peptides, we measured D4ST1 concentration in serum. So far, none of these peptides were detected. This result suggests the possibility that D4ST1 is not present in serum.

Key words: Ehlers-Danlos syndrome, Nano-LC/MS/MS, tenascin-X

ブタ大動脈エラスチンのエラストラーゼ処理水解物から新規のアンジオテンシン I 変換酵素阻害ペプチド

畠中登志也^{1,3}、吉水優貴²、加藤珠樹³、岡元孝二¹

¹ (株) バイタルリソース応用研究所、² (株) 福岡フーズ、³ 九州工業大学大学院生命体工学研究科

[目的] 高血圧は脳・心血管系疾患を引き起こす主要な危険因子の一つである。血圧上昇作用を有するアンジオテンシン II の働きが高血圧の要因の一つであることが知られている。アンジオテンシン I 変換酵素 (ACE) の触媒作用によってアンジオテンシン II はアンジオテンシン I から作られるので、その ACE の働きを阻害することが血圧上昇を防ぐためには重要である。エラスチンは動脈、靭帯、肺、皮膚などの弾性組織に広く存在し、これらの弾性組織に弾性を持続的に付与する重要な働きを有する高分子タンパク質である。最近、エラスチンが ACE 阻害活性を有するタンパク質であることが示され、ACE 阻害活性を有するペプチドがウシ項靭帯エラスチンのサーモリシン (好熱性細菌由来) 処理水解物から見つかっている。しかし、私たちはブタ大動脈エラスチン由来の新規の ACE 阻害ペプチドに興味がある。ここではブタ大動脈エラスチンのエラストラーゼ (ブタ膵臓由来) 処理水解物から新規の ACE 阻害ペプチドを単離することを検討した。[方法] ブタ大動脈エラスチンは膵臓エラストラーゼ処理され、その水解物は HPLC を用いて分離された。得られた画分の ACE 阻害活性は基質として hippuryl-L-His-L-Leu を用いての ACE 阻害試験により分析された。さらに ACE 阻害画分中のペプチドは LC/MS/MS を用いて分離・同定され、化学合成された。合成ペプチドの阻害活性は ACE 阻害試験により検討された。[結果] ブタ大動脈エラスチンの膵臓エラストラーゼ処理水解物から得られた新規の ACE 阻害ペプチドは Ala-Ala-Ala-Ala、Ala-Ala-Ala 及び Ala-Ala であった。[考察] 得られた ACE 阻害ペプチドは機能性食品の原材料として高血圧予防に有益であるかもしれない。

Novel angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides from an elastase-treated hydrolysate of porcine aortic elastin Oligopeptides Derived Elastin

T. Hatakenaka^{1,3}, M. Yoshimizu², T. Kato³, K. Okamoto¹

¹Vital Resources Applied Laboratory, Inc.; ²Fukuoka Foods Co., Ltd.; ³Graduate School of Life Science and Systems Engineering

[Objective] Hypertension is one of the main risk factors causing cerebro-and cardiovascular diseases. Angiotensin I-converting enzyme (ACE) catalyzes the production of a vasoconstrictive peptide, angiotensin II from angiotensin I. Therefore, the inhibition of ACE activity is an essential target for antihypertension. Elastin is an important macromolecular protein which exists widely in elastic tissues such as arteris, ligaments, lung, skin, etc. and exerts its elasticity to such elastic tissues. It was recently shown that elastin is the protein with ACE inhibitory activity. The peptides with ACE inhibitory activity were found in a thermolysin-treated hydrolysate of bovine ligamentum nuchae elastin. We are particularly interested in novel ACE inhibitory peptides derived from porcine aortic elastin. Here, we investigated to isolate the ACE inhibitory peptides from a pancreatic elastase-treated hydrolysate of porcine aortic elastin. [Methods] Porcine aortic elastin was treated with pancreatic elastase and the hydrolysate was separated by the use of HPLC. The ACE inhibitory activity of fractions obtained was analyzed by ACE inhibition assay using hippuryl-L-His-L-Leu as a substrate (ACE inhibition assay). The peptides in ACE inhibitory fractions were separated and their sequences were identified by means of LC/MS/MS and chemically synthesized by solid-phase method. ACE inhibitory activity of synthetic peptides was examined by ACE inhibition assay. [Results] The novel ACE inhibitory peptides derived from pancreatic elastase-treated hydrolysate of porcine aortic elastin were Ala-Ala-Ala-Ala, Ala-Ala-Ala, Ala-Ala. [Conclusion] The resulting ACE inhibitory peptides may be beneficial as ingredients of functional foods for preventing hypertension.

キーワード: ブタ大動脈エラスチン、エラストラーゼ処理水解物、ACE 阻害ペプチド

Key words: porcine aortic elastin, elastase-treated hydrolysate, ACE inhibitory peptides

前十字靭帯再建術用移植腱を作製する際に生じるハムストリングス腱の組織学的変性

岡崎良紀、古松毅之、前原亜美、釜付祐輔、尾崎敏文

岡山大学大学院医歯薬総合研究科 生体機能再生・再建学講座 整形外科

【目的】 自家ハムストリングス腱を用いて前十字靭帯 (ACL) 再建術用移植腱を作製する際、腱に付着した筋肉を除去する必要がある。一般的には、筋肉組織を除去するために、鋭匙等を用いて腱の表面を擦る作業を行う。しかし、この操作により腱がどの程度の損傷を受けるかは不明である。我々は、ハムストリングス腱を鋭匙で摩擦する際に生じる組織学的変性の程度を評価した。

【方法】 ACL 再建術時に採取した半腱様筋腱の余剰な部分を用いた (n = 6)。半腱様筋中央部を 8 mm の鋭匙で一方向に擦り、4 群 (0・5・10・15 回摩擦群) に分け解析した。組織切片を作製し、ヘマトキシリンエオジン染色と抗 I 型コラーゲン抗体を用いた免疫染色を行った。4 群の組織学的変性を Bonar score を用いて検討した。また、I 型コラーゲン染色面積割合と細胞密度を計測した。Mann-Whitney U 検定により統計解析を行った。

【結果】 Bonar score の平均値は、0・5・10・15 回摩擦群でそれぞれ 0.8・3.2・5.7・7.2 であり、摩擦回数が増えるに従い組織学的変性度が増加した。I 型コラーゲン染色面積は、0 回群が 88.4%、5 回群が 71.4%、10 回群が 50%、15 回群が 35.6% であり、全群間に有意差を認めた。細胞密度は、0・5・10・15 回群でそれぞれ 44.7・38.7・17.6・13.6/mm² であり、10 回以上の摩擦により細胞数は著明に減少した。

【考察】 移植腱を作製する際に鋭匙で筋肉を除去する操作は、ハムストリングス腱に損傷を与えることが明らかとなった。摩擦回数が多くなるほど I 型コラーゲンの染色面積が低下し、コラーゲン線維が疎になることにより移植腱の強度が低下する可能性がある。また、10 回以上の摩擦は細胞数の著明な低下を引き起こし、移植腱の成熟過程に影響を与える可能性が示唆された。

Histological alterations to the hamstring tendon caused by cleaning during autograft preparation

Yoshiki Okazaki, Takayuki Furumatsu, Ami Maehara, Yusuke Kamatsuki, Toshifumi Ozaki

Department of Orthopedic Surgery, Okayama University Graduate School

Purpose: The aim of this study was to evaluate histological alterations in the hamstring tendon caused by cleaning the muscle fibers during creation of an autograft for anterior cruciate ligament reconstruction. We hypothesized that the more times a tendon is scratched during cleaning, the greater is the histological damage.

Material and methods: We collected semitendinosus tendons from 6 patients who underwent anterior cruciate ligament reconstruction, and used a curette to scratch the tendon for cleaning. Three groups of increasing repetitions of scratching (5, 10 and 15) were compared to a control (no scratching) group. Histological alterations in the tendon were evaluated using the modified Bonar score. Immunohistochemical analysis was also performed for type I collagen, with measurement of the area stained for type I collagen and the cellular density of myofibroblasts.

Results: The mean modified Bonar score was 0.8 in the control group, compared to 3.2, 5.7 and 7.2, for the 5-, 10- and 15-repeated scratching groups, respectively. The area of type I collagen staining decreased as the number of scratches increased (p<0.05 for all groups), with a decrease of >50% in myofibroblast density between the 5- and 10-repetition groups (P=0.004).

Conclusion: Cleaning the hamstring tendons by scratching caused histological alterations and damage to type I collagen. Specifically, the myofibroblast density decreased markedly on scratching 10 times, suggesting that excessive curettage, leading to >10 scratches, might be deleterious.

キーワード：ハムストリングス腱、I 型コラーゲン

Key words: Hamstring autograft, Type I collagen

Effects of unripe peach extract on gene expression and histological localization in UVB irradiated 3D skin model

Tomoko Yonezawa¹, Ryusuke Momota², Hideki Iwano³, Steven Zhao⁴, Tomohiro Hakozaki⁴, Chieko Soh⁵, Shigetoyo Sawaki³, Kazumi Toyama⁵, Toshitaka Oohashi¹

¹Molecular Biology & Biochemistry, ²Human Morphology, Okayama University; ³Technoble Co., Ltd.; ⁴The Procter & Gamble Company; ⁵P&G Innovation GK

[Objective] Skin, the interface of our body, is always exposed to internal/external stimuli and its appearance is destined to deteriorate by accumulated damages. In this study, we compared transcriptional/histological changes of sun-exposed/protected female skin samples from different age groups. In addition, we evaluated the beneficial effect of unripe peach extract in UVB irradiated 3D skin culture models.

[Methods] Sun-exposed/protected female skin samples were compared by DNA-array or by immunohistochemistry. Human 3D skin culture model was incubated with unripe peach extract for 24 h prior to three UVB irradiation steps (30 mJ/cm² each) and harvested at day 8 for real-time PCR and immunohistochemical analysis.

[Results] Gene expression levels of dermal extracellular matrix components decline with age. Among those, *COL18A1* mRNA level declines conspicuously in sun-exposed skin samples. By immunohistochemistry, collagen type XVIII exhibited a linear dermal epidermal junction, which is weaker compared to that of young skin. UVB irradiation decreased *COL18A1* mRNA level, which was significantly improved by unripe peach extract treatment.

[Conclusion] Unripe peach extract could ameliorate UVB damages in UVB irradiated 3D skin culture model, implying that it can be a promising strategy against skin aging.

マトリゲル3次元培養法を用いた新規 HCV 感染阻害抗体の開発

富川直樹¹、齋藤明¹、保住建太郎²、野水基義²、千葉英樹¹

¹福島県立医科大学医学部基礎病理学講座、

²東京薬科大学薬学部病態生化学講座

【目的】C型肝炎ウイルス（HCV）感染は高率に慢性化し、肝硬変や肝癌に至る難治性疾患である。近年、新規HCV感染治療薬direct-acting antivirals (DAAs)が導入され、顕著な奏功率を示しているが、DAA抵抗性のHCV変異体の出現が報告されている。また、ワクチンなどのHCV感染予防法は未だ確立されていない。そこで我々は、HCV感染成立に必須である宿主因子オクルディンに着目し、新規抗ヒトオクルディン単クローン抗体を作製した。本研究では、本抗体がHCV感染阻害薬として有用かどうか、またそのメカニズムの解明を目的に研究を行った。【方法】オクルディンのヒト特異的HCV感染感受性を担う第2細胞外ドメインのうち、アミノ酸配列214-230部位を抗原とし、マウス抗ヒトオクルディン単クローン抗体を作製した。抗オクルディン抗体によるHCV感染阻害効果は、高分化型ヒト肝癌由来細胞株Huh7.5.1の単層培養系、ダブルチャンバー培養系、マトリゲル3次元培養系を用いて評価した。また、抗原配列を基にした合成ペプチドのELISAスクリーニングにより抗体のエピトープを検討した。更に、蛍光免疫染色にて抗オクルディン抗体投与による内在性オクルディンの局在変化を観察した。【結果】本抗体は、生体における肝細胞環境やHCV感染ルートを再現化したマトリゲル3次元培養系において、有意にHCV感染を阻害した。また、本抗体のエピトープは214-217部位（ALCN）であることが示唆された。更に、本抗体はオクルディンの局在を細胞膜から細胞質内に変化させることが分かった。【考察】我々が開発した新規抗オクルディン抗体は、生体を模倣したマトリゲル3次元培養にてHCV感染の阻害活性を有すること、またそのメカニズムとしてオクルディンのエンドサイトーシスを誘導することで、HCVとの相互作用を回避させ、感染成立を防ぐことが示唆された。

キーワード：HCV、オクルディン、マトリゲル

EphA2 processing by MT1-MMP in cutaneous squamous cell carcinoma

N. Tomikawa¹, A. C. Saito¹, K. Hozumi², M. Nomizu², H. Chiba¹

¹Department of Basic Pathology, Fukushima Medical University School of Medicine; ²Laboratory of Clinical Biochemistry, Tokyo University of Pharmacy and Life Science.

[Objective] Chronic infection with hepatitis C virus (HCV) is the leading to chronic hepatitis, liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma. Recently, the development of direct-acting antivirals (DAAs) drugs, which target the viral life cycle in host cells have extensively improves the efficacy of HCV treatment, but the appearance of numerous DAAs-resistant HCV variants has already been reported. In addition, no protective HCV vaccine is yet available. We focused on occludin (OCLN), which required for HCV entry to host cells, and generated an anti-human OCLN monoclonal antibody (mAb). In this study, we show that anti-OCLN mAb efficiently prevents HCV infection and clarify the mechanism. [Methods] We generated mAb against human OCLN-EC2 domain using the polypeptide (amino acid sequence 214-230). We then verified HCV infection using three different culture systems (monolayer, double-chamber and matrigel) of HCV-permissive human cell line Huh7.5.1 cells. Next, we identified the epitope of that mAb with ELISA method using the different sequence synthetic peptide based on the antigen. Moreover, by immunofluorescence method, we observed the localization change of endogenous OCLN in the presence of anti-OCLN mAb. [Results] This anti-OCLN mAb significantly prevented HCV infection in a matrigel-embedded 3D culture system. We identified that the epitope of this mAb is ALCN (214-217) in OCLN-EC2 domain. Moreover, this mAb changed the localization of endogenous OCLN from plasma membrane to cytoplasm. [Conclusion] The newly anti-OCLN mAb, which we developed, inhibits HCV infection in the matrigel 3D culture that imitated in vivo environment, and it was suggested to prevent infection establishment by inducing an endocytosis of OCLN as the mechanism.

Key words: HCV, OCLN, matrigel

D-tyrosine negatively regulates melanin synthesis by competitively inhibiting tyrosinase activity

Jisu Park¹, Hyejung Jung², Kyuri Kim³, Kyung-Min Lim³ and Eok-Soo Oh^{1,2}

¹Department of Life Sciences, the Research Center for Cellular Homeostasis, Ewha Womans University; ²Skin QC Institute of Dermatological Sciences; ³College of Pharmacy, 507 Ewha Womans University

[Objective] Although L-tyrosine is well known for its melanogenic effect, the contribution of D-tyrosine to melanin synthesis was previously unexplored. The topic of melanin synthesis is important not only to aspects of skin whitening, but also in physiological diseases. For instance, although melanoma is rare in Asian populations, certain subtypes of melanoma have high incidences in Asian countries. Therefore, there is an urgent need for researchers to develop alternative ways to regulate melanogenesis. Here, we hypothesized that D-tyrosine may negatively regulate L-tyrosine-dependent melanin synthesis. **[Methods]** Cells were solubilized and the melanin content was measured by absorbance at 405 nm. Cell lysates were reacted with L-DOPA, and tyrosinase activity was determined at 470 nm. Protein expression was measured by Western blot analysis and mRNA expression was analyzed by RT-PCR. Tissue sections of melanoderm skin models were stained using hematoxylin and eosin or immunostained with anti-tyrosinase (α -TYR) antibody. **[Results]** D-tyrosine dose-dependently reduced the melanin contents of human MNT-1 melanoma cells and primary human melanocytes, and both in vitro assays and L-DOPA staining MNT-1 cells showed that tyrosinase activity is reduced by D-tyrosine treatment. Furthermore, we found that D-tyrosine inhibited melanogenesis induced by α -MSH treatment or UV irradiation. Finally, we confirmed that D-tyrosine reduced melanin synthesis in the epidermal basal layer of a 3D human skin model. **[Conclusion]** These data suggest that D-tyrosine negatively regulates melanin synthesis by inhibiting tyrosinase activity in melanocyte-derived cells.

ヒアルロニダーゼ 1 および 4 の基質認識に関与するアミノ酸残基の解析

稲葉史恵、白水仁子、小林智恵里、安部優貴子、水本秀二、山田修平

名城大学・薬学部・病態生化学

【目的】 ヒアルロニダーゼ 4 (HYAL4) はコンドロイチン硫酸 (CS) を特異的に加水分解するが、HYAL1 はヒアルロン酸 (HA) および CS の両者に対して分解活性を示す。HYAL1 の立体構造解析から HA/CS の認識に必要なアミノ酸が 5 つ同定された (Zhang *et al.*, *J. Biol. Chem.*, 2009)。それらを HYAL4 のアミノ酸配列と比較すると、247 番目のチロシン残基のみが異なっていた。そこで、このチロシン残基に着目して、HYAL1 と HYAL4 の基質特異性の違いを検討した。

【方法】 ヒト HYAL4 (hHYAL4) の 263 番目グリシン残基をチロシン残基に置換した hHYAL4-G263Y ベクターと、マウス HYAL4 (mHyal4) の 263 番目セリン残基をチロシン残基に置換した mHyal4-S263Y ベクターを作製した。同様に、HYAL1 のチロシン残基をセリンやグリシンに置換した変異体ベクターも作製した。これらを COS-7 細胞にトランスフェクションし、発現したタンパク質を CS や HA と反応させ、蛍光標識、コンドロイチナーゼによる消化後、陰イオン交換クロマトグラフィーで分解産物の量と構造を解析した。

【結果・考察】 hHYAL4-G263Y や mHyal4-S263Y の分解活性は野生型の HYAL4 よりも顕著に高かった。逆に、HYAL1 を HYAL4 型に変換した場合、酵素活性は著しく低下した。このことより HYAL1 のチロシン残基が活性に重要であることが分かった。HYAL4 は CS-D 構造と呼ばれる高硫酸化 CS 構造を好んで切断することが知られている。hHYAL4-G263Y と mHyal4-S263Y による CS の切断部位の構造を調べたところ、野生型に比べて CS-D 構造に対する認識が弱まり、よりランダムに CS を切断していた。このことより、これらのアミノ酸残基が基質認識にも関与していることが示唆された。

キーワード: ヒアルロニダーゼ、ヒアルロン酸、コンド

Investigation of the amino acid residues in hyaluronidases-1 and -4 responsible for their substrate recognition.

Fumie Inaba, Satoko Hokusui, Chieri Kobayashi, Yukiko Abe, Shuji Mizumoto, Shuhei Yamada

Department of Pathobiochemistry, Faculty of Pharmacy, Meijo University

[Objective] Hyaluronidase-4 (HYAL4), a member of hyaluronidase (HYAL) family, has been demonstrated to be a chondroitin sulfate (CS)-specific endoglycosidase. HYAL1, other member of HYAL family, depolymerizes both hyaluronan (HA) and CS. Based on the studies of structural modeling of human HYAL1 (Zhang *et al.*, *J. Biol. Chem.*, 2009), Tyr247 residue in hHYAL1 was estimated to cause the distinct substrate specificities between HYAL1 and HYAL4.

[Methods] To evaluate the role of the Tyr residue in HYAL1, several mutants of human HYAL (hHYAL) and mouse HYAL (mHyal) including hHYAL4-G263Y, mHyal4-S263G, hHYAL1-Y247G, and mHyal1-Y275S, were generated by site-directed mutagenesis using the PCR method. The mutant constructs were transiently expressed in COS-7 cells, and the recombinant proteins were subjected to the hydrolase assay. The recombinant enzymes were incubated with CS and HA, and the newly formed reducing ends of degraded fragments were labeled with a fluorophore, and analyzed by anion-exchange HPLC.

[Results and Discussion] Compared to the wild-type HYAL, the activity of hHYAL1-Y247G and mHyal1-Y275S decreased. In contrast, the activity of hHYAL4-G263Y and mHyal4-S263G increased, indicating that Tyr247 residue in hHYAL1 is critical for the enzyme activity. HYAL4 preferentially recognizes highly sulfated CS-D structure. However, hHYAL4-G263Y and mHyal4-S263G have lost such specificity to some extent, suggesting that these amino acid residues might contribute to the substrate recognition of this enzyme.

Key words: hyaluronidase, hyaluronan, chondroitin sulfate

マウス膵臓β細胞由来細胞株 MIN6 におけるコアタンパク質選択的なヘパラン硫酸合成

持永磨奈美¹、加藤丈子¹、伊藤ゆき乃¹、高橋巖²、
那谷耕司²、山田修平¹

¹名城大学・薬学部・病態生化学、
²岩手医科大学・薬学部・臨床医化学

【目的】ヘパラン硫酸プロテオグリカン (HS-PG) は様々な生理活性物質と相互作用することで細胞の分化や増殖等を調節している。マウス膵臓ランゲルハンス島β細胞由来 MIN6 細胞株において、インスリン分泌に重要な役割を果たしている HS-PG として、シンデカン 4 (sdc4) を同定した (Takahashi *et al.* Mol. Cell Endocrinol., 2017)。今回、各種シンデカン (sdc) ファミリーメンバーのコアタンパク質を MIN6 細胞に過剰発現させ、HS 鎖の合成へ及ぼす影響を検討した。

【方法】MIN6 細胞株から単離したサブクローンに sdc1、sdc2、sdc3、sdc4 を過剰発現させた細胞を用いた。細胞をホモジェナイズした後、HS 分解酵素で消化を行い、HS 多糖を構成二糖単位にまで分解した。除タンパク質後、分解産物の還元末端を蛍光試薬で標識した。陰イオン交換 HPLC で分析し、HS の構成二糖組成および総量を決定した。

【結果・考察】sdc1、sdc2、sdc3、sdc4 を過剰発現させた細胞について、タンパク質量あたりの HS 量をもとの MIN6 細胞サブクローンと比較した。sdc4 を過剰発現させた細胞では HS 量の上昇が見られたが、sdc1、sdc2、sdc3 を過剰発現させた細胞では変化が見られなかった。しかし、リアルタイム PCR の結果、mRNA の発現量はいずれも上昇しており、sdc1、sdc2、sdc3 は HS-PG のコアタンパク質として機能していないと考えられた。つまり、マウス膵臓ランゲルハンス島β細胞由来 MIN6 細胞においては、sdc4 のみが HS-PG のコアタンパク質になりうるようである。sdc ファミリーメンバー間で、どのようなメカニズムで sdc4 のみがコアタンパク質として利用されているのかを解明する必要がある。

Biosynthesis of heparan sulfate on a specific core protein in a pancreatic β-cell line, MIN6

Manami Mochinaga¹, Hiroko Kato¹, Yukino Ito¹,
Iwao Takahashi², Koji Nata², Shuhei Yamada¹

¹Department of Pathobiochemistry, Faculty of Pharmacy, Meijo University; ²Department of Medical Biochemistry, School of Pharmacy, Iwate Medical University

[Objective] Heparan sulfate proteoglycans (HS-PGs) play important roles in cell differentiation and proliferation by interacting with various bioactive molecules. We have identified syndecan-4 (sdc4) as the major HS-PG which is involved in the insulin secretion in a mouse pancreatic beta-cell line, MIN6 (Takahashi *et al.* Mol. Cell Endocrinol., 2017). In this study, MIN6 cell lines overexpressed with sdc family members were prepared to investigate the effects of core proteins on the biosynthesis of HS chains.

[Methods] The subcloned MIN6 cells were overexpressed with sdc1, sdc2, sdc3, or sdc4. GAG fractions were prepared from the cell homogenates, and digested with HS lyases into disaccharide units. The digests were labeled with a fluorophore and the derivatives were analyzed by anion-exchange HPLC. Based on the chromatograms, disaccharide composition and the amount of HS chains isolated from those cells were determined.

[Results and Discussion] The amount of HS in the subcloned MIN6 cells overexpressed with sdc1, sdc2, sdc3, or sdc4 was compared with that in the cells without overexpression. Although the amount of HS in sdc4-overexpressing cells increased, that in sdc1-, sdc2-, or sdc3-overexpressing cells was not varied. Real time PCR analysis showed the increase of the expression level of their mRNAs, suggesting that sdc1, sdc2, and sdc3 are not used as core proteins of HS-PG. Thus, HS chains are most likely synthesized only on the sdc4 core protein in a mouse pancreatic β-cell line, MIN6. It is important to elucidate how only sdc4 can be modified with HS among the sdc family members.

キーワード: ヘパラン硫酸、シンデカン、ランゲルハ

Key words: heparan sulfate, syndecan, islets of Langerhans

生後の骨・軟骨におけるアグリカンの役割の解明

鳥原秀美^{1,2}、大野充昭¹、栗原伸之介¹、枝松緑¹、
宝田剛志³、上岡寛²、大橋俊孝¹

¹岡山大学大学院医歯薬学総合研究科分子医化学分野、
²岡山大学大学院医歯薬学総合研究科歯科矯正学分野、
³岡山大学大学院医歯薬学総合研究科組織機能修復学分野

【目的】軟骨マトリックスの主要構成成分である aggrecan は、骨格の発生において重要な役割を担っていることが知られており、これまでに、aggrecan (*Acan*) 遺伝子変異マウス (cartilage matrix deficiency: *cmd*) マウスにおいて、胎生期の四肢の発生異常が生じることが報告されてきた。しかし *cmd* マウスは出生後に致死となるため、未だ出生後の長管骨における aggrecan の機能は明らかではない。そこで、本研究では、出生後の長管骨の発生における aggrecan の役割を明らかにすることとした。

【方法】タモキシフェン誘導性時期特異的 *Acan* 全身ノックアウトマウス (*ROSA26-Cre^{ERT2}; Acan^{flx/flx}* マウス) に、生後7日目から5日間タモキシフェンを連続投与し (*Acan^{ROSA26^{-/-}}* マウス)、投与開始2週間後 (3週齢) のマウスを用いて解析を行った。対照群として *ROSA26-Cre^{ERT2}; Acan^{+/+}* マウスに同様にタモキシフェンを投与したマウスを用いた (以下 control マウス)。

【結果】control マウスと比較し、*Acan^{ROSA26^{-/-}}* マウスにおいて著しい成長抑制が生じた。全身のCT解析の結果、四肢の長管骨や椎骨の短縮が確認された。大腿骨を micro-CT を用いて解析した結果、control マウスと比較し、*Acan^{ROSA26^{-/-}}* マウスにおいて大腿骨長が短縮、および、海綿骨量の減少を認めた。また、大腿骨の成長板においてはカラム配列に乱れが生じ、円形の形態を呈した軟骨細胞が観察された。免疫組織化学染色の結果、成長板における II 型コラーゲンの発現が control マウスと比較し低下していた。

【考察】以上の結果より、胎生期のみならず、出生後の長管骨の発生においても aggrecan が重要であることが明らかとなった。

Role of aggrecan in post-natal development of bone and cartilage

H. Torihara^{1,2}, M. Ono¹, S. Kurihara¹, M. Edamatsu¹,
T. Takarada³, H. Kamioka², T. Oohashi¹

¹Department of Molecular Biology and Biochemistry, ²Department of Orthodontics, ³Department of Regenerative Science, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences

[Objective] It is well known that aggrecan, the major type of proteoglycan found in cartilage, plays an important role in the skeletal development. Cartilage matrix deficient (*cmd*) mouse, which fails to synthesize aggrecan, are characterized by disproportionate dwarfism and cleft palate. However, the function of aggrecan in post-natal development is still unclear, because *cmd* mice die soon after birth because of breathing difficulties. Therefore, the aim of this study was to clarify the role of aggrecan in post-natal development of bone and cartilage.

[Methods] We generated tamoxifen inducible *Acan* global deficient mice by crossing the Rosa26-Cre-ERT2 mice to *Acan^{flx/flx}* mice. Tamoxifen was intra-peritoneally administered for five consecutive days from P7 to P11 (*Acan^{ROSA26^{-/-}}* mice). *Acan^{ROSA26^{-/-}}* mice were analyzed two weeks after the first injection. Tamoxifen injected *ROSA26-Cre^{ERT2}; Acan^{+/+}* mice were used as control mice.

[Results] At P21, *Acan^{ROSA26^{-/-}}* mice exhibited significant reduction in body size and weight and in the length of long bones, compared with control mice. Micro-CT analysis showed that *Acan^{ROSA26^{-/-}}* mice exhibited reduced trabecular bone mass in femur. Interestingly, morphological changes in proliferative chondrocytes and disorganization of the columnar structure were observed in femoral growth plate of *Acan^{ROSA26^{-/-}}* mice. Immunohistochemical staining confirmed the reduced expression of type II collagen in femoral growth plate of *Acan^{ROSA26^{-/-}}* mice.

[Conclusion] This *in vivo* study demonstrated that aggrecan is essential for the post-natal development and growth of long bones.

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

平成30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

〒231-0023 神奈川県横浜市中区山下町194-502
学協会サポートセンター 内
TEL : (045) 671-1525, FAX : (045) 671-1935
E-mail : jsctr@gakkyokai.jp

日本結合組織学会 歴代学会長（理事長）

歴代	氏名	主たる役職	在任期間
1	大 高 裕 一	東京医科大学 教授 病理学	自 昭49年 8 月 1 日 至 平 3 年 6 月25日
2	永 井 裕	東京医科歯科大学 教授 難治疾患研究所	自 平 3 年 6 月26日 至 平 6 年 6 月16日
3	森 陽	東京薬科大学 学長 生物薬学	自 平 6 年 6 月17日 至 平 9 年 6 月 5 日
4	早 川 太 郎	愛知学院大学歯学部 教授 生化学	自 平 9 年 6 月 6 日 至 平11年 6 月10日
5	林 利 彦	東京大学大学院総合文化研究科 教授 生命環境科学系	自 平11年 6 月11日 至 平13年 6 月 7 日
6	新 海 宏	千葉大学医学部 教授 皮膚科学	自 平13年 6 月 8 日 至 平15年 6 月 6 日
7	木 全 弘 治	愛知医科大学分子医科学研究所 教授 所長	自 平15年 6 月 7 日 至 平17年 5 月26日
8	西 田 輝 夫	山口大学医学部 教授 分子感知医科学講座（眼科）	自 平17年 5 月27日 至 平19年 5 月 8 日
9	岡 田 保 典	慶応義塾大学医学部 教授 病理学	自 平19年 5 月 9 日 至 平21年 6 月 6 日
10	伊 東 晃	東京薬科大学薬学部 教授 病態生化学	自 平21年 6 月 7 日 至 平23年 6 月10日
11	鍋 島 一 樹	福岡大学医学部 教授 病理学	自 平23年 6 月11日 至 平28年 3 月31日
12	稲 垣 豊	東海大学医学部 教授 再生医療科学	自 平28年 4 月 1 日 至 平30年 3 月31日
13	渡 辺 秀 人	愛知医科大学 分子医科学研究所	自 平30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	熊本大学 教授 体質医学研究所	自 昭和34年度 至 昭和49年度
2	永井 裕	東京医科歯科大学 教授 難治疾患研究所	自 昭和50年度 至 平成5年度
3	林 利彦	東京大学 教授 大学院総合文化研究科	自 平成6年度 至 平成12年度
4	木全 弘治	愛知医科大学 教授 分子医科学研究所	自 平成13年度 至 平成15年度
5	畑 隆一郎	神奈川歯科大学 教授 口腔生化学	自 平成16年度 至 平成21年度
6	野水 基義	東京薬科大学 教授 病態生化学	自 平成22年度 至 平成24年度
7	渡辺 秀人	愛知医科大学 教授 分子医科学研究所	自 平成25年度 至 平成27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

伊 東	晃	東京薬科大学附属社会医療研究所 理事長
岩 田	久	名古屋大学 名誉教授
岩 本	幸 英	九州大学 名誉教授
宇 宿	源太郎	熊本大学 名誉教授
遠 藤	正 彦	弘前大学 名誉教授
岡 崎	勲	国際医療福祉大学 教授
岡 田	保 典	順天堂大学 客員教授
折 居	忠 夫	岐阜大学 名誉教授
木 全	弘 治	愛知医科大学 名誉教授
京 極	方 久	東北大学 名誉教授
久保木	芳 徳	北海道大学 名誉教授
小 泉	富美朝	富山医科薬科大学 元教授
佐 野	榮 春	大阪大学 名誉教授
新 海	滋	千葉大学 名誉教授
杉 村	隆	国立がんセンター 名誉総長
杉 山	尚	東北大学 元教授
鈴 木	旺	名古屋大学 元教授
鈴 木	不二男	大阪大学 名誉教授
妹 尾	春 樹	秋田大学 名誉教授
東 條	毅	国立病院機構 東京医療センター 名誉院長
永 井	裕	東京医科歯科大学 名誉教授
中 川	正	名古屋大学 名誉教授
中 西	功 夫	金沢大学 名誉教授
並 木	脩	昭和大学医学部 客員教授
西 田	輝 夫	山口大学 名誉教授
畑	隆一郎	神奈川歯科大学 口腔難治疾患研究センター長
早 川	太 郎	愛知学院大学 名誉教授
林	利 彦	東京大学 名誉教授
平 川	舜	東邦大学 名誉教授
藤 田	拓 男	神戸大学 名誉教授
藤 本	大三郎	東京農工大学 名誉教授
宮 本	昭 正	日本臨床アレルギー研究所 所長
森	陽	東京薬科大学 名誉教授
山 田	和 順	名古屋市立大学 元教授
吉 沢	善 作	東北大学 名誉教授
渡 辺	洋 望	渡辺医院

(五十音順)

マトリックス研究会 名誉会員

入 江 伸 吉	ニッピバイオマトリックス研究所
宇 宿 源太郎	熊本大学 名誉教授
大 平 敦 彦	愛知医科大学 客員教授
木 全 弘 治	愛知医科大学 名誉教授
手 塚 統 夫	自治医科大学 元教授
永 井 裕	東京医科歯科大学 名誉教授
野 田 春 彦	東京大学 名誉教授
畑 隆一郎	神奈川歯科大学 口腔難治疾患研究センター長
早 川 太 郎	愛知学院大学 名誉教授
林 利 彦	東京大学 名誉教授
藤 本 大三郎	東京農工大学 名誉教授
宮 田 暉 夫	高研バイオサイエンス研究所 元所長
森 陽	東京薬科大学 名誉教授

(五十音順)

日本結合組織学会 理事・評議員

(氏名の前の●印は新理事・監事)

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
池田 栄二	山口大学大学院 医学系研究科 病理形態学
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 香粧品健康学
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) バイタルリソース応用研究所
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
片山 一朗	大阪大学大学院医学系研究科 病態医学皮膚科学
勝田 省吾	
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
- 久保田英朗
- 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
- 坂田則行
- 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
- 佐藤浩平 白生会胃腸病院
- 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
- 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
- 高橋元 牛久愛和総合病院 形成外科
- 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
- 竹鼻眞 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
- 羽毛田 慈 之 明海大学 歯学部 形態機能成育学講座口腔解剖学
- 長谷川 正 裕 三重大学大学院医学系研究科 整形外科
- 簀 持 淳 獨協医科大学 皮膚科
- 服 部 俊 治 (株) 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
- 開 祐 司 京都大学再生医科学研究所生体分子設計学分野
- 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
- 深 井 文 雄 東京理科大学薬学部 分子病態学
- 藤 沢 隆 一 北海道大学 歯学部 口腔健康科学
- 藤 原 作 平 大分大学医学部皮膚科
- 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 尾 哲 孝 大分大学 医学部 マトリックス医学 (生化学第二) 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・RI実験分野
- 松 本 嘉 寛 九州大学医学部 整形外科
- 丸 毛 啓 史 東京慈恵会医科大学 整形外科学
- 見 明 康 雄 東京歯科大学 組織・発生学講座
- 水 野 一 乗 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
- 森 伊津子 永生病院
- 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 田 多啓男
- 山 本 千 夏 東邦大学薬学部 衛生化学教室
- 吉 岡 秀 克 大分大学医学部マトリックス医学講座
- 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	昭和44年 7 月12日
第2回	大 高 裕 一	東京医科大学 病理	東京	昭和45年 7 月17・18日
第3回	川 村 太 郎	東京大学 皮膚科	東京	昭和46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	昭和47年 7 月14・15日
第5回	福 代 良 一	金沢大学 皮膚科	金沢	昭和48年 7 月21・22日
第6回	谷 奥 喜 平	岡山大学 皮膚科	倉敷	昭和49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	昭和50年 7 月11・12日
第8回	中 川 正	名古屋大学 整形外科	名古屋	昭和51年 6 月25・26日
第9回	吉 沢 善 作	東北大学 医化学	仙台	昭和52年 7 月15・16日
第10回	梶 川 欽一郎	金沢大学 病理	金沢	昭和53年 7 月14・15日
第11回	高 久 功	長崎大学 眼科	長崎	昭和54年 7 月13・14日
第12回	大 藤 真	岡山大学 内科	岡山	昭和55年 7 月11・12日
第13回	津 山 直 一	東京大学 整形外科	東京	昭和56年 8 月 1・2 日
第14回	中 尾 亨	札幌医科大学 小児科	札幌	昭和57年 7 月22・23日
第15回	藤 田 拓 男	神戸大学 内科	神戸	昭和58年 7 月 7・8 日
第16回	鈴 木 旺	名古屋大学 化学	名古屋	昭和59年 7 月 5・6 日
第17回	濱 島 義 博	京都大学 病理	京都	昭和60年 7 月 4・5 日
第18回	本 間 光 夫	慶應大学 内科	東京	昭和61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	昭和62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	昭和63年 6 月29・30日
第21回	宮 本 昭 正	東京大学 物療内科	東京	平成元年 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	平成 2 年 7 月23・24日
第23回	三 村 康 男	徳島大学 眼科	徳島	平成 3 年 6 月25・26日
第24回	京 極 方 久	東北大学 病理学	仙台	平成 4 年 6 月19・20日
第25回	鈴 木 不二男	大阪大学 生化学	大阪	平成 5 年 6 月17・18日
第26回	折 井 忠 夫	岐阜大学 小児科	岐阜	平成 6 年 6 月16・17日
第27回	森 陽	東京薬科大学 生化学	横浜	平成 7 年 6 月22・23日
第28回	中 西 功 夫	金沢大学 病理	金沢	平成 8 年 6 月 6・7 日
第29回	遠 藤 正 彦	弘前大学 生化学	弘前	平成 9 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	平成10年6月11・12日
第31回	岩田久	名古屋大学 整形外科	名古屋	平成11年6月10・11日
第32回*	平川舜	東邦大学 産婦人科	東京	平成12年5月24・25日
第33回	岡崎勲	東海大学 地域保健学	東京	平成13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	平成14年4月4・5日
第35回	西田輝夫	山口大学 眼科学	宇部	平成15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	平成16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	平成17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	平成18年5月11・12日
第39回*	岡田保典	慶應義塾大学 病理学	東京	平成19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	平成20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	平成21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	平成22年8月19日・20日
第43回*	藤原作平	大分大学 皮膚科学	大分	平成23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	平成24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	平成25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	平成26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	平成27年5月15・16日
第48回	宇谷厚志	長崎大学 皮膚科学	長崎	平成28年6月24・25日
第49回	吉田利通	三重大学大学院 修復再生病理学	津	平成29年6月16・17日
第50回	鍋島一樹	福岡大学 病理学	福岡	平成30年6月29・30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	榊 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（ウイंक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

() 内は受賞時の所属

- 平成4年度 戸松 俊治 (岐阜大学 小児科)
ムコ多糖症 VII 型の遺伝子解析：変異の同定と臨床的異質性について
- 岡田 保典 (金沢大学 医療技術短大)
VI 型コラーゲン：関節滑膜における局在と役割
- 平成5年度 中村 司 (順天堂大学 腎臓内科)
腎炎モデルにおける細胞外基質成分および増殖因子、遺伝子発現と制御
- 平成6年度 川口 鎮司 (防衛医科大学 第一内科)
強皮症線維芽細胞における IL-1 α , IL-1 受容体発現異常と制御
- 平成7年度 篠村多摩之 (愛知医科大学 分子医科学研)
プロテオグリカン、PG-M のコア蛋白質の多様性について
- 高垣 啓一 (弘前大学 第一生化)
精巢性ヒアルロニダーゼの糖転移反応を用いたグリコサミノグリカン糖鎖の再構築
- 平成8年度 吉岡 秀克 (岡山大学分子 医科学)
ヒト XI 型コラーゲン $\alpha 1$ 鎖遺伝子プロモーターの構造と機能解析
- 藤原 作平 (大分医科大学 皮膚科)
450kDa ヒト表皮自己抗原の同定
- 平成9年度 妻木 範行 (大阪大学 整形外科)
XI 型コラーゲン $\alpha 2$ 鎖遺伝子の転写制御領域の解析
- 平成10年度 応募者なし
- 平成11年度 応募者なし
- 平成12年度 板野 直樹 (愛知医科大学分子 医科学研究所)
Three isoforms of mammalian hyaluronan synthases have distinct enzymatic properties
(ヒアルロン酸合成酵素：3種のイソフォームは異なった酵素特性を有する)
- 鍛冶 利幸 (北陸大学 薬学部)
Cell density-dependent regulation of proteoglycan synthesis by transforming growth factor-1 in cultured bovine aortic endothelial cells
(トランスフォーミング増殖因子-1による培養ウシ大動脈内皮細胞プロテオグリカン合成の細胞密度依存的な調節)
- 平成13年度 鍋島 一樹 (宮崎医科大学 病理学)
肝細胞増殖因子にて誘導される大腸癌細胞の遊走 (cohort migration) における MT1-MMP と gelatinase A の先端細胞での限局性発現
- 尹 浩信 (東京大学医学部 皮膚科学)
オリゴヌクレオチドを用いたヒト $\alpha 2$ (I) 遺伝子転写制御の解析

- 平成14年度 稲垣 豊 (東海大学医学部 地域保健学)
Interaction between GC box binding factors and Smad proteins modulates cell lineage-specific $\alpha 2$ (I) collagen gene transcription.
- 宇谷 厚志 (千葉大学医学部 皮膚科)
A unique sequence of the laminin $\alpha 3$ G domain binds to heparin and promotes cell adhesion through syndecan-2 and -4.
- 平成15年度 受賞者なし
- 平成16年度 桑名 正隆 (慶應義塾大学医学部 先端医科学研究所)
Human circulating CD14-monocytes as a source of progenitors that exhibit mesenchymal cell differentiation
- 平成17年度 小林 孝志 (千葉大学大学院医学研究院基質代謝治療学)
Leptomycin B reduces matrix metalloproteinase-9 expression and suppresses cutaneous inflammation. *J Invest Dermatol* 124: 331-337, 2005
- 平成18年度 加藤 靖正 (神奈川歯科大学 生体機能学)
Acidic extracellular pH induces matrix metalloproteinase-9 expression in mouse metastatic melanoma cells through the phospholipase D-mitogen-activated kinases signaling. *J Biol Chem* 280: 10938-10944, 2005
- 齋藤 充 (東京慈恵会医科大学 整形外科)
Reductions in degree of mineralization and enzymatic collagen cross-links and increases in glycation induced pentosine in the femoral neck cortex in cases of femoral neck fracture. *Osteoporosis Int* 17: 986-995, 2006
- 平成19年度 宿南 知佐 (京都大学再生医科学研究所 生体分子設計学分野)
Scleraxis positively regulates the expression of tenomodulin, a differentiation marker of tenocytes. *Dev Biol* 298: 234-247, 2006
- 雑賀司珠也 (和歌山県立医科大学 眼科教室)
Loss of tumor necrosis factor α potentiates transforming growth factor β -mediated pathogenic tissue response during wound healing. *Am J Pathol* 168: 1848-1860, 2006
- 平成20年度 細野 幸三 (名古屋大学医学部附属病院 整形外科)
Hyaluronan oligosaccharides inhibit tumorigenicity of osteosarcoma cell lines MG-63 and LM-8 in vitro and in vivo via perturbation of hyaluronan-rich pericellular matrix of the cells. *Am J Pathol* 171: 274-286, 2007
- 輪千 浩史 (星薬科大学薬学部 臨床化学)
Distinct steps of cross-linking, self-association, and maturation of tropoelastin are necessary for elastic fiber formation. *J Mol Biol* 369: 841-851, 2007
- 平成21年度 前畑洋次郎 (神奈川歯科大学 歯学部)
Type III collagen is essential for growth acceleration of human osteoblastic cells by ascorbic acid 2-phosphate, a long-acting vitamin C derivative. *Matrix Biology* 26: 371-381, 2007

- 平成22年度 吉川 大和 (東京薬科大学薬学部 病態生化学)
The influence of synthetic peptides derived from laminin α -1 chain on hepatocyte adhesion and gene expression.
- 荒木(室賀) 絵里 (京都大学医学部 皮膚科)
Clustering of syndecan-4 and integrin β 1 by laminin 3 chain-derived peptides promotes keratinocytes migration.
- 平成23年度 荻谷 慶喜 (福島県立医科大学 生化学講座)
Bisecting GlcNAc residues on laminin-332 down-regulate galectin-3- dependent keratinocyte motility.
- 平成24年度 古松 毅之 (岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 整形外科)
Scleraxis and E47 cooperatively regulate the sox9-dependent transcription. *Int J Biochem Cell Biol* 42: 148-156, 2010
- 平成25年度 保住建太郎 (東京薬科大学薬学部 病態生化学教室)
Identification of cell adhesive sequences in the N-terminal region of the laminin α 2 chain. *J Biol Chem* 287: 25111-25122, 2012
- 平成26年度 応募者なし
- 平成27年度 吉田 浩之 (花王株式会社 生物科学研究所)
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
- 平成28年度 多賀 祐喜 (株式会社ニッピ・バイオマトリックス研究所)
Developmental stage-dependent regulation of prolyl 3-hydroxylation in tendon type I collagen. *J Biol Chem* 291: 837-847, 2016
- 平成29年度 下田 将之 (慶應義塾大学医学部・病理学教室)
Hyaluronan-binding protein involved in hyaluronan depolymerization controls endochondral ossification through hyaluronan metabolism.
Am J Pathol 187: 1162-1176, 2017
- 平成30年度 佐藤(西内) 涼子 (大阪大学)
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

平成17年度	永井 裕 森 陽	(東京医科歯科大学 名誉教授) (東京薬科大学 名誉教授)
平成18年度	新海 法 早川 太郎 林 利彦	(千葉大学大学院医学研究院 教授) (愛知学院大学 名誉教授) (帝京平成大学薬学部 教授)
平成19年度	木全 弘治	(愛知医科大学分子医科学研究所 所長・教授)
平成20年度	受賞者なし	
平成21年度	畑 隆一郎	(神奈川歯科大学歯学部 教授)
平成22年度	遠藤 正彦 鈴木不二男 西田 輝夫	(弘前大学 学長) (大阪大学 名誉教授) (山口大学 副学長)
平成23年度	受賞者なし	
平成24年度	受賞者なし	
平成25年度	受賞者なし	
平成26年度	受賞者なし	
平成27年度	受賞者なし	
平成28年度	伊東 晃 岡田 保典 妹尾 春樹	(東京薬科大学附属社会医療研究所 理事長・主任教授) (順天堂大学 客員教授) (秋田大学 名誉教授)
平成29年度	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

平成17年度	三共株式会社 生化学工業株式会社
平成28年度	株式会社ニッピ

日本結合組織学会 論文賞受賞者

() 内は受賞時の所属

平成17年度 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. *Connective Tissue* 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 *Connective Tissue* 36 (4) : 197-205, 2004

平成18年度 受賞者なし

CTR誌への移行に伴い平成18年度で廃止

日本結合組織学会 優秀演題賞受賞者

() 内は受賞時の所属

- 平成16年度
- 岡崎 賢 (九州大学 整形外科学教室)
軟骨特異的蛋白CD-RAPの組織特異的転写調節領域の解析
 - 輪千 浩史 (星薬科大学 臨床化学教室)
新たなin vitro エラスチン繊維形成モデルの確立
 - 望月 早月 (慶應大学医学部 病理学教室)
ADAM28のMMP-7による活性化とIGFBP-3切断による乳癌細胞増殖促進作用
 - 福士 純一 (九州大学 整形外科学教室)
NG2プロテオグリカンはガレクチン3と $\alpha 3\beta 1$ インテグリンを介して血管新生を促進する
 - 竹澤 俊明 (独立行政法人 農業生物資源研究所)
I型コラーゲンの物性と繭糸の形状を改善した新しい培養担体の開発と強度のある結合組織の再構築
- 平成17年度
- 渡邊 淳 (日本医科大学医学部 第2 生化学)
血管型Ehlers-Danlos syndrome (EDSIV) に対する遺伝子治療方略の検討
 - 都甲 武史 (京都大学大学院医学研究科 形成外科)
耳介軟骨膜による耳介軟骨再生：ドナーとしての資質
 - 村井 純子 (大阪大学大学院医学系研究科 器官制御外科学)
Rxb/Col11a2 locusにおけるCTCFタンパク結合領域の同定とその機能解析
 - 松村紳一郎 (慶應義塾大学医学部 病理学)
MMP-2の遺伝子欠損と薬物的阻害はマウスの心筋梗塞後の心破裂を抑制する
 - 加藤 靖正 (神奈川歯科大学 分子生物学)
酸性細胞外 pH は PKC ζ -NF κ Bを介して matrix metalloproteinase-9 発現を誘導する
- 平成18年度
- 廣畑 聡 (岡山大学大学院医歯学総合研究科 分子医化学)
IV型コラーゲンNC1ドメインの腫瘍特異的発現は内皮細胞の管腔形成とマウスでの腫瘍発育を阻害する
- 平成19年度
- 松本 嘉寛 (九州大学医学部 整形外科)
脊髄発生時のアクソンガイダンスにおけるヘパラン硫酸の役割
 - 岡田 愛子 (慶應義塾大学医学部 病理学教室)
変形性関節症 (OA) 関節軟骨における膜型ADAM12の発現とOA軟骨細胞増殖への関与
 - 鳥越 清之 (九州大学医学部 整形外科)
軟骨特異的TGF- β 1型受容体の欠損マウスにおける軸骨格形成異常
 - 佐藤 隆 (東京薬科大学薬学部 生化学分子生物学)
分泌型EMMPRINによるガン細胞の移動活性促進作用とその活性部位の同定
 - 平川 聡史 (愛媛大学医学部 皮膚科)
VEGF-A, -Cトランスジェニックマウス皮膚発癌モデルにおけるリンパ節転移とリンパ管新生の促進機序
 - 高坂 一貴 (大阪大学大学院 歯学研究科)
ADAMTSL-4とFibrillin-1はオキシタン線維形成を介して歯根膜発生に協調的に働く

- 平成20年度
- 荒木 絵里 (京都大学医学部 皮膚科)
皮膚創傷におけるパーシカン発現：ケロイド発生病理との関連
 - 江口 真由 (東京理科大学大学院薬学研究科 分子病態学研究室)
 $\beta 1$ インテグリン活性化による悪性腫瘍細胞のアポトーシス誘導とその分子機構の解明
 - 小倉 有紀 (株式会社資生堂 ライフサイエンス研究センター)
偏光分解 SHG イメージによる真皮コラーゲンの光老化の解析
 - 佐藤かおり (東京都医学研究機構 東京都臨床医学総合研究所 蛋白質代謝研究分野)
ケモカインBRAK/CXCL14はRap1の活性化により舌癌由来細胞のコラーゲンへの接着を増強する
 - 澤田 賢志 (東京薬科大学薬学部 生化学・分子生物学教室)
関節リウマチにおける滑膜 EMMPRIN の関節破壊への関与
 - 澤地 恭昇 (インペリアル大学・ケネディーリウマチ研究所)
線維芽細胞増殖因子 (FGF) -2 の軟骨破壊における役割
 - 塩野 智康 (東京薬科大学薬学部 生化学・分子生物学教室)
EMMPRIN を介して細胞表層に局在する間質プロコラゲナーゼ/proMMP-1 の活性化とガン細胞浸潤機能の促進
 - 田中 啓友 (株式会社ニッピ バイオマトリックス研究所)
線維芽細胞株におけるUVB感受性の違い
 - 二木 杉子 (大阪大学 蛋白質研究所)
マウス胚発生初期における基底膜蛋白質の局在プロファイル
 - 東山 礼一 (東海大学医学部 肝線維化研究ユニット)
皮膚創傷治癒ならびに線維化過程における骨髄由来細胞のコラーゲン合成への関与
 - 堀口 真仁 (京都大学医学研究科 循環器内科)
弾性線維形成におけるDANCE/fibulin-5 プロセッシングの役割
- 平成21年度
- 吉川 大和 (東京薬科大学薬学部 病態生化学)
Primary culture of hepatocytes on A13 peptide derived from laminin alpha chain.
 - 橋本 圭 (東京薬科大学薬学部 生化学・分子生物学)
Suppression of EMMPRIN-mediated tumor cell migration by syndecan-1.
 - 松延 智哉 (九州大学医学部 整形外科)
Critical role of the TGF- β type I receptor ALK5 in skeletal development.
- 平成22年度
- 大橋 俊孝 (岡山大学大学院 医歯薬学総合研究科)
Bra11 の中枢神経跳躍伝導調節機構
 - 加藤 愛子 (大分大学医学部 形成外科)
真皮細胞外マトリックス蛋白質デルマトポンチンの創傷治癒における役割
 - 國井 沙織 (近畿大学大学院 生物理工学研究科)
I型コラーゲンの線維形成能を制御するトリペプチド配列
 - 司 南 (東京薬科大学薬学部 生化学・分子生物学・中国中医科学院)
地黄葉由来フェニルエタノイド配糖体Acteosideの新規薬効探索
 - 敦賀 英知 (福岡歯科大学 生体構造学講座)
LTBP-2・fibulin-5複合体によるオキシタラン線維形成の制御

- 平成23年度
- 河田かずみ (岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 口腔生化学)
低密度リポタンパク受容体関連タンパク1 (LRP1) による軟骨細胞でのCCNファミリー2/結合組織成長因子 (CCN2/CTGF) タンパク質輸送
 - 佐藤 紀 (徳島大学医学部 運動機能外科学)
不溶性細胞外マトリックスの可溶化と解析—ヒト腱・靭帯のプロテオーム解析
 - 井上 唯史 (関西医科大学 薬理学)
LTBP-2 遺伝子の眼の発生における役割
 - 鴫田 裕也 (東京理科大学薬学部 分子病態学)
反接着性ペプチドFNIII 14による乳がん細胞のアノキス誘導
 - 金澤 智子 (岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 整形外科)
半月板細胞におけるII型コラーゲンの発現制御—メカニカルストレスによるエピジェネティックな転写調節

- 平成24年度
- 佐藤 涼子 (大阪大学 蛋白質研究所)
Polydom/SVEP1はインテグリンalpha9beta1の新規高親和性リガンドである
 - 多賀 祐喜 (株式会社ニッピ バイオマトリックス研究所)
安定同位体標識コラーゲンを用いた疾患モデルコラーゲンの翻訳後修飾の分析
 - 中村 幸男 (昭和伊南総合病院 整形外科)
軟骨特異的に発現するMicroRNA140とその宿主遺伝子Wwp2の役割解明にむけて
 - 入山 俊介 (資生堂 リサーチセンター)
基底膜アンカリング複合体形成におけるヘパラン硫酸鎖の役割
 - 村澤 裕介 (国立長寿医療研究センター)
褥瘡、発生真皮組織におけるパーシカンG1-SHAP-ヒアルロン酸コンプレックス

- 平成25年度
- 吉田 浩之 (株式会社カネボウ化粧品 価値創成研究所)
KIAA1199依存的な新規ヒアルロン酸分解機構の発見
 - 住吉 秀明 (東海大学医学部 再生医療科学)
新規低分子化合物HSc025は細胞増殖と遊走を活性化して創傷治癒を促す
 - 中間 崇仁 (九州大学 眼科)
網膜血管新生におけるペリオスチンの役割
 - 鍋島 央 (九州大学大学院 整形外科)
脂肪肉腫における腫瘍関連マクロファージの役割の検討

- 平成26年度
- 芦田 昇 (京都大学医学部)
線維化・強皮症におけるNFκB
 - 江連 智暢 (資生堂リサーチセンター)
皮膚下脂肪組織による真皮組織構造の制御機構の解明
 - 今泉 貴大 (東京理科大学大学院薬学研究科 分子病態学研究室)
細胞膜上に発現したタンパク質翻訳伸長因子eEF1Aの腫瘍細胞の移動・浸潤・転移への関与
 - 小串 啓太 (東京薬科大学 生化学)
ヒト子宮頸部がん細胞SKG-IIにおけるEMMPRIN産生・分泌のホルモン調節
 - 鹿野 潤 (星薬科大学 臨床化学教室)
Latent TGF-β binding protein 1はFibulin3 Fiblin4のMicrofibrilへの沈着を促進する

平成27年度より、マトリックス研究会との発展的統合に伴い終了、日本結合組織学会 (JSMBM) Young Investigator Awardを創設

マトリックス研究会 Young Investigator Award 受賞者

() 内は受賞時の所属

- 平成17年度
- 林 洋平 (東京大学大学院 総合文化研究科)
【O-06】 マウスES細胞の分化制御におけるマトリックス成分の機能解析
 - 横山 史晴 (北海道大学大学院 地球環境科学研究科)
【O-08】 インテグリンとシンデカンに作用するBifunctional ペプチドの生物活性
 - 池田 公英 (熊本大医学部附属病院 病理部)
【O-18】 大腸癌におけるIV型コラーゲン $\alpha 5$ 、 $\alpha 6$ 鎖の喪失と異所性DNAメチル化との関連
 - 山口 健司 (大分大学医学部 生体分子構造機能制御講座)
【P-27】 マウスにおけるV型collagen $\alpha 3$ 鎖の発現とN末塩基性ペプチドの機能
 - Kadir Demircan (岡山大学大学院医歯学総合研究科 分子医科学)
【P-37】 IL-1 β and TNF α -induced expression of ADAMTS9 in chondrosarcoma cells is inhibited by MAPK inhibitors, SB203580 and PD98059
- 平成18年度
- 大橋しほ花 (北里大学大学院医療系研究科 分子形態科学研究室)
【1】 閉鎖循環式高密度培養装置によって作製された高密度コラーゲンゲル内に存在する線維芽細胞の形態変化
 - 東山 礼一 (東海大学医学部 肝線維化研究ユニット)
【4】 骨髄由来細胞の分化誘導による臓器線維症の治療戦略
 - 小澤 重幸 (神奈川歯科大学 顎顔面外科学)
【13】 ケモカインBRAK/CXCL14は頭頸部扁平上皮癌の進展を抑制する
 - 美名口 順 (岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 分子医化学)
【21】 新しい基底膜様構造fractoneの脳室周囲における分布
 - 菅原 弘二 (大阪市立大学大学院医学研究科 皮膚病態学)
【22】 ラミニン-5、-10の成長期毛包における発現様式およびそれらが持つ機能について
 - 秋山 知也 (国立環境研究所 環境健康研究領域、東京電機大学大学院理工学研究科 生命工学)
【23】 ヒト・ラミニン-10遺伝子を導入した293細胞による、in vitroでの基底膜作製の試み
 - 高橋 直哉 (東京薬科大学 薬学部)
【24】 ヒトラミニン α 鎖相同配列の細胞形態及び細胞増殖に及ぼす影響骨髄 由来細胞の分化誘導による臓器線維症の治療戦略
- 平成19年度
- 市川 直樹 (順天堂大学医学部 老人性疾患病態治療研究センター)
【A09】 laminin-1によるGM1を介した神経突起伸長の分子機構の解明
 - 山崎ちさと (新潟薬科大学)
【A10】 ペプチドの自己集合による人工コラーゲンゲルの創製
 - 茂呂 忠 (株)ミノファーゲン製薬 研究所
【A36】 Transgenic dual reporterマウスを用いたコラーゲン合成系および分解系の包括的解析
 - 石田 義人 (京都大学再生医学研究所 細胞機能調節学分野)
【P04】 HSP47ノックアウト細胞におけるコラーゲンの凝集体形成とアポトーシス誘導
 - 周尾 卓也 (北陸大学薬学部 環境健康科学教室)
【P13】 脳特異的プロテオグリカン、ニューログリカンCの細胞外領域切り出し機構の解析

- 平成20年度
- 小松美代子 (東京理科大学大学院 薬学研究科)
【A13】 悪性腫瘍細胞のインテグリン活性化によるプログラム細胞死誘導と抗がん剤感受性増強
 - 藤田 靖幸 (北海道大学大学院 医学研究科皮膚科学分野)
【A57】 骨髄移植は17型コラーゲンノックアウトマウスにおいて欠損蛋白を補充し生命予後を改善する
 - 赤澤裕見子 (株)カネボウ化粧品 基盤技術研究所
【A35】 アディポネクチンはヒト皮膚線維芽細胞のヒアルロン酸合成を促進する
 - 漆畑 俊哉 (東京薬科大学薬学部 病態生化学教室)
【A18】 ラミニン α 2鎖LG4-5モジュールの生物活性部位の解明
 - 小林 一樹 (東京薬科大学薬学部 病態生化学教室)
【A20】 シンデカンを介した細胞接着とインテグリンを介した細胞接着
- 平成21年度
- 佐々木 純 (ニッピバイオマトリックス研究所)
【2P-08】 Matrix array as a novel research tool for analysis of cell-ECM interactions
 - 干場 隆志 (物質・材料研究機構生体材料センター オルガノイドグループ)
【2P-09】 Osteogenesis-mimicking Matrices as models of remodeling extra cellular matrix in osteogenesis
 - 小森 令賀 (神奈川歯科大学 小児歯科学)
【2P-06】 Functional analysis of promoter region of human BRAK/CXCL14, a tumor progression suppressor
 - 今村奈穂子 (熊本大学 保健学部教育部)
【2P-12】 Sequential remodeling and loss of epithelial basement membrane type IV collagen α chains in the intraepithelial neoplasia (CIN) and squamous cell carcinoma of the uterine cervix
 - 上田 佳孝 (東海大学医学部基盤診療学系 臓器線維症研究ユニット)
【2P-14】 Cell-cell contacts differently regulate alpha-smooth muscle actin expression and collagen production in hepatic stellate cells.
 - 石田 義人 (京都大学再生医科学研究所 細胞機能調節学分野)
【2P-16】 Autophagy eliminates misfolded procollagen aggregates in the endoplasmic reticulum for cell survival
- 平成22年度
- 杉本 由紀 (京都大学 再生医科学研究所)
【A19】 運動器連結システムにおけるコラーゲン線維形成の役割
 - 宮本 千央 (神奈川歯科大学 生体管理医学講座薬理学分野)
【P4】 ROCK阻害剤 Fasudil はケモカインBRAK/CXCL14 の細胞外分泌を促進し抗腫瘍効果を発揮する
 - 関谷 敦志 (早稲田大学先進理工学部 化学生命化学科)
【A29】 血管新生阻害活性を示す色素上皮由来因子 (PEDF) の配列特異的なコラーゲン認識
 - 里吉 清文 (秋田大学大学院医学系研究科 腎泌尿器科学講座)
【A10】 EMMPRIN/CD147のヒト膀胱癌における関与について

- 平成23年度
- 全田 未悠 (早稲田大学先進理工学部 科学生命化学科)
【A01】 コラーゲン線維形成を阻害するプラチナ錯体の発見とその作用機構の解明
 - 多賀 祐喜 (ニッピバイオマトリックス研究所)
【A05】 骨形成不全症患者細胞由来コラーゲンでのヒドラジドケミストリーとSILACを用いたO結合型糖鎖の修飾部位同定および定量分析
 - 山田 雄二 (東京薬科大学薬学部 病態生化学)
【A14】 細胞接着ペプチドAG73を混合した機能性アガロースゲルの生物活性
 - 品岡 玲 (岡山大学大学院医歯薬総合研究科 人体構成学分野)
【A39】 微小血管内皮下弾性線維構造と血行動態との関係
- 平成24年度
- 坂本 守 (東京理科大学大学院 薬学研究科)
【A12】 $\beta 1$ インテグリンの持続的活性化による細胞老化誘導
 - 堀場 聡 (カネボウ化粧品 価値創成研究所)
【A16】 ヒト皮膚線維芽細胞の細胞外マトリックス産生に対するSPARCの作用
 - 呉 偉民 (大分大学医学部 形成外科)
【A21】 デルマトポンチンはフィブリン形成に影響し、その生物活性を修飾する
 - 菊田 彩子 (東京農工大学 農学部附属硬蛋白質利用研究施設)
【A24】 収縮フィブリンゲル内培養における皮膚線維芽細胞の細胞外マトリックス遺伝子発現
 - 白戸 彩菜 (東京理科大学大学院 分子病態学研究室)
【A34】 eEF1AとFNIII14の結合部位の解析
- 平成25年度
- 亀石 統子 (早稲田大学大学院 先進理工学研究科)
【A03-2】 創傷モデルにおける角膜上皮幹細胞ニッシュの構築とIV型コラーゲン分子組成の関係
 - Leona T.Y. Ho (Cardiff University, 同志社大学 生命医科学部)
【P15】 Ultrastructural studies of keratan sulfate sulfation patterns and collagen fibril diameters from the central to peripheral cornea
 - 熊井 準 (東京薬科大学 薬学部 病態生化学)
【A07-3】 Xaa-Gly-Yaaモチーフを含むラミニンGドメインペプチドの生物活性
 - 木村 紘爾 (岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 分子医科学)
【A08-4】 肝細胞癌における皮膚線維芽細胞のXV型コラーゲン発現とその臨床応用
 - 橋本 恵 (お茶の水女子大学大学院 人間文化創成科学研究科)
【P37】 発生中のマウス小脳皮質における細胞接着分子ビトロネクチンの機能解析
- 平成26年度
- 山下 寛 (京都大学 再生医学研究所)
【A1-4】 軟骨特異的なChondromodulin-Iの転写制御領域のゼブラフィッシュを用いたin vivoスクリーニング
 - 浅野 恵一 (岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 分子医化学)
【A2-7】 担がんモデルマウスにおけるパーシガン分解の解析
 - 増田 亮 (早稲田大学 先進理工学部)
【A4-4】 コラーゲン様三重らせん構造を持つペプチドのバイオツールとしての応用
 - 長岡 彩 (カネボウ化粧品 価値創成研究所)
【A6-6】 KIAA1199/HYBIP及びHAS発現制御を介した成長因子によるヒアルロン酸代謝調節
 - 細井 孝洋 (東京理科大学大学院 薬学研究科)
【P13】 表皮角化細胞シートによる食道粘膜再生の検討

平成27年度より、日本結合組織学会との発展的統合に伴い終了、日本結合組織学会 (JSMBM) Young Investigator Awardを創設

日本結合組織学会 (JSMBM) Young Investigator Award 受賞者

() 内は受賞時の所属

- 平成27年度
- 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- β 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
- 平成28年度
- 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
～コラーゲンゲル収縮に着目して～
 - 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
- 平成29年度
- 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

日本結合組織学会 (JSMBM) International Travel Award 受賞者

() 内は受賞時の所属

- 平成29年度
- 折本 愛 (東北大歯学部)
Gordon Research Conference, “Elastin, Elastic Fibers & Microfibrils”.
7月30日～8月4日、University of New England
 - 釜付 祐輔 (岡山大学大学院医歯薬研究科)
The 25th Annual and Anniversary Meeting of the European Orthopedic Research Society.
9月13～15日、Munich, Germany
 - 柳川 享世 (東海大学医学部)
The 68th Annual Meeting of American Society for the Study of Liver Diseases.
10月20～24日、Washington D.C.
 - 山城 義人 (筑波大学生命領域学際センター)
Gordon Research Conference, “Elastin, Elastic Fibers & Microfibrils”.
7月30日～8月4日、University of New England

理事・監事会議事録

日 時： 2017年6月15日（木）16：30－18：30
会 場： グリーンパークホテル津 6階 菖蒲の間

理事・監事 出席者 13名（50音順、敬称略）

基礎系理事： 小出隆規、中邨智之、野水基義、望月早月、吉岡秀克、吉田利通、渡辺秀人

臨床系理事： 稲垣 豊（理事長）、雑賀司珠也、平澤恵理、藤原作平

監 事： 服部俊治、開 祐司

欠席者（50音順、敬称略）

磯貝善蔵、木村友厚、佐藤 隆、鍋島一樹（いずれも委任状提出済み）

議 長： 稲垣 豊

書 記： 望月早月（確認：佐藤 隆）

議事に先立って、日本結合組織学会の発展の為に長年尽力して頂いた故 宇谷厚志理事（2016年11月12日逝去、享年59歳）に対して、全員で黙とうを行った。

初めに、第49回日本結合組織学会（JSMBM）学術大会会長の吉田理事より挨拶を頂いた。今回の大会には、98演題の応募数があり、5課題のワークショップに加えて海外からリバプール大学の酒井尚雄先生、メリーランド大学の岩本資己先生、ストラスブルグ大学のGertraud Orend先生をお迎えして会を盛り上げるとともに、学問的側面のみならず楽しい会にしたいとの挨拶があった。

<審議事項>

1. 平成28年度決算報告・監査報告：稲垣理事長より平成28年度決算報告の説明があった。収入については、会費の長期滞納者にメールで連絡した結果、滞納分の支払いがあり、会員収入が約40万円増額したと説明があった。支出に関して、学協会サポートセンターへの事務委託費が4万円減額できたこと、ホームページ管理・更新費用が約10万円増額したことについて今後どう管理・運用すべきか検討する必要があると報告があった。開・服部両監事より予算執行が正確かつ妥当なものであった監査結果の報告があり、承認された。
2. 平成29年度予算案：稲垣理事長より平成29年度予算案の説明があった。収入に関しては、コスメロジー研究振興財団より海外交流助成として50万円の収入があり、前年度に比べて増額が見込まれるが、この助成金収入は本年度だけであるとの説明があった。支出に関しては、第50回学術大会補助金（福岡）として250万円を昨年同様に計上したこと、今年度は理事選挙と理事長選出が予定されていることからこれにかかる経費、またこの後の審議でConnective Tissue誌のPDF化について承認が得られれば、その費用として約100万円を計上したいことなどが説明され、承認された。

3. 第48回日本結合組織学会学術大会 決算報告：昨年度の学術大会について宇谷大会長の代理で稲垣理事長から決算報告があった。昨年度の学術大会では、166名の有料参加者があり、会場費が長崎大学にある会場のため2日間で約26万円と安く、合計690万円の支出で開催できたと報告があった。服部監事と開監事より、収支計算書について監査した結果、適正かつ正確に記載されているとの報告があり、承認された。
4. 第51回学術大会会長の選出：稲垣理事長より第51回学術大会会長としてニッピバイオマトリックス研究所 所長の服部俊治先生が推薦され、承認された。
5. 平成30年度大高賞選考委員長の選出：稲垣理事より平成30年度大高賞選考委員長として磯貝理事を選任したいとの提案があり、承認された。
6. 理事選挙および新理事長選出にかかる選挙管理委員の選出：選挙管理委員の選出について稲垣理事長より、数人の理事が集まり安い東京近辺で開票作業をすることを考えて平澤理事（順天堂大学）、小出理事（早稲田大学）、望月理事（防衛医科大学校）を選任したいとの提案があり、承認された。また、選挙管理委員長に平澤理事が推薦され、承認された。
7. 名誉会員および学術賞の選考基準：稲垣理事長より、名誉会員の推挙にかかる新たな基準として、理事長経験者（旧 日本結合組織学会の会長およびマトリックス研究会の会長を含む）、ならびにこれらの学会・研究会における学術大会の大会長など、学会のために貢献された会員を候補者とする案が示され、この基準に合致する下記の6名の候補者（50音順、敬称略、所属は当時）の推薦があった。
伊東 晃（東京薬科大学）、岩本幸英（九州大学）、岡崎 勲（東海大学）、
岡田保典（慶應義塾大学）、妹尾春樹（秋田大学）、中西功夫（金沢大学）
これに対して、以前の事務委託先が破綻した大変な時期に本学会を支えて来られた先輩方を名誉会員に推挙して感謝し、今後につなげていくことは大事であり、その時の理事長判断で推薦し、理事会承認でよいのではないかと意見があり（野水理事）、承認された。
一方、学術賞の推薦基準と選考方法、また名誉会員との差異については、評議員推薦では賛成できない場合もあるので、理事長判断で推薦することに賛成であるという意見（渡辺理事）や、名誉会員は学会への貢献に対する賞であり、学術賞はScientificな貢献であるとの意見（開理事、中邨理事）など多くの意見が寄せられ、学術賞の選考基準については今後も野水理事を座長とするワーキングで検討を行い、稲垣理事長在任中に結論を出すことが承認された。
8. 会則・細則の改訂：会則・細則の一部改訂について稲垣理事長より説明があった。会則第3章の第6条3と細則第4条1では新たな名誉会員の推薦基準について、会則第8章第32条では新たに創設されたJSMBM International Travel Award（後の審議で承認）の加筆について承認された。また、学術賞と功労賞の推薦方法について、それぞれの運用基準の改訂案が示され、いずれも承認された。
9. 学術賞、功労賞、および若手の海外学会発表支援の英語表記：稲垣理事長より、学術賞、功労賞、若手の海外学会発表に対する助成について下記のような複数の候補名が示され、議論を経て

以下に決定された。

学術賞 Distinguished Investigator Award

功労賞 Distinguished Support Award

若手研究者の海外学会発表に対する助成 JSMBM International Travel Award

10. 文部科学大臣表彰への推薦：稲垣理事長より、文部科学大臣表彰への推薦依頼が文科省より送られてきたことが報告された。これまでに岡田保典先生、関口清俊先生・(株)ニッピなど、本学会の会員にも受賞された個人・企業は多いが、残念ながら本学会からの推薦ではなかった。岡田先生と関口先生は最近の学術賞の受賞者でもあり、もっと積極的に候補者を推薦することで、本学会の認知度や存在感も増すものと考えられ、適当な候補者がおられたら是非知らせて欲しいと述べられた。
11. 会費滞納者に対する対応：稲垣理事長より学会の退会希望者やメールが届かないもしくは連絡先不明者のリストについて説明があった。このうち年会費の滞納が長期間にわたる64名を学協会サポートセンターの管理から外して理事長預かりとしたが、今後、会費納入ないし復会の意思表示があれば、復帰処理を行うと述べられた。
12. Connective Tissue 誌のPDF化：本件に関するワーキング座長の服部監事が2社にPDF化の見積を取ったところ、いずれも100万～110万円とほぼ同じ金額でできるとの説明があった。審議の結果、Connective Tissue 誌全巻、日本結合組織学会およびマトリックス研究会の学術大会プログラム抄録集（理事会議事録を含む）、Connective Tissue Research 誌のJSCTR Page について、今年度内のPDF化とDVD作成を行う方針が承認された。
13. 事務局機能の強化とHPの運営管理：稲垣理事長より、学協会サポートセンターに学会事務管理を委託しているが、その管理能力に大きな問題があり、学会運営上さまざまな問題を生じていることが述べられた。本年度は理事選挙もあり、この事務局のもとで進めるが、今後は新たな委託先を探す意向が述べられた。また、同じく外部に委託している学会HPの運営管理も、現在の契約内容では大幅な更新や追加が経費的に難しい状況にある。新たな事務局を選定する際には学会HPをどのように運営管理するかも大きな要因となり、HPについては吉田理事（広報委員長）を中心に中堅・若手の会員も含めて今後のあり方を検討頂きたい希望が述べられた。

<報告事項>

1. メール理事会決定事項の再確認：

- (1) 国際交流事業の推進：渡辺理事（国際委員長）をワーキング座長として、今年度より上述の若手研究者の海外学会における発表に対する支援を開始した。これは、来年度以降も学会の費用負担により継続する。支援金額は1名につき5万円として、毎年原則として4名を選抜、応募資格は今年度については2017年4月1日時点で40歳未満の本学会会員で、6月に開催される学術大会での発表者（口演、ポスター）とした。支援対象となる発表は、2017年7月1日から2018年6月30日に開催される国際学会で細胞外マトリックス関連の演題を発表すること、選考は学術大会での発表内容（日本語で可）に対して、審査

員（国際WGメンバー）が評価して選考することが確認された。一方、今年度に限りシニアの国際学会への派遣を行うこととなり、吉川大和先生（ASMB 基底膜ワークショップ、ナッシュビル）と渡辺秀人先生（第10回プロテオグリカン国際会議、イタリア）の2名に決まったことが確認された。

(2) 学会賞の選考結果として、下田将之先生（慶應義塾大学医学部病理学教室）が大高賞、関口清俊先生（大阪大学蛋白質研究所 寄付研究部門）が学術賞に決定したことが確認された。

(3) 新評議員の選出として、芦田 昇先生（京都大学大学院循環器内科）、佐藤正人先生（東海大学医学部整形外科学）、古松毅之先生（岡山大学医学部整形外科学）、松本嘉寛先生（九州大学医学部整形外科学）、柳沢裕美先生（筑波大学生命領域学際研究センター）が就任したことが確認された。

2. 第48回日本結合組織学会学術大会YIA 選考結果報告：学生の部から市瀬慎一郎（早稲田大学先進理工学部）と橋本 恵（お茶の水女子大学 人間文化創成科学）の2名が、一般の部から鈴木喜晴（東京医科歯科大学 保険衛生学）、山城義人（筑波大学TARAセンター）、原島 望（東京薬科大学 病態生化学）、山下由莉（順天堂大学 老化・疾患生態制御学）の4名がYoung Investigator Awardを受賞したことが確認された。

3. 第50回日本結合組織学会学術大会 準備状況について：鍋島次期大会長代理の濱崎先生から、日程は平成30年6月29日～30日（理事会は前日28日の夕刻より予定）、場所は福岡大学のメディカルホールで開催する旨、説明があった。鍋島大会長が病理学専門であることから、臨床と基礎の橋渡的な役割が果たせればと考えていると述べられた。招待講演としてオランダNijmegenとTexas MD Anderson Cancer Centerで活躍中のProf. Peter Friedl, 特別講演として岡崎生理学研究所の鍋倉淳一先生を予定しており、それぞれ2光子顕微鏡での癌と周囲間質の関係、中枢神経系における神経細胞とグリア細胞の関係など、in vivoの状態を目で見る形（動画）で提示していただける予定である。また、マイスター・レクチャーの演者を、Medical University of South CarolinaのProf. Bryan Tooleに依頼している。シンポジウムなどはまだ企画段階であるが、50回という節目の学術大会でもあるため、是非とも盛り上げていきたいとの報告があった。

4. その他のワーキング報告：吉田理事（広報委員長）より、学会ロゴの制定について引き続き検討を行っているとの報告があった。

[メ理事H29年度-1] 新評議員の選出、海外支援事業の実施内容、名誉会員と学術賞の扱いについて
2017年4月10日

1) 審議事項 1. 新評議員の選出

評議員候補：佐藤正人 先生（東海大学医学部・整形外科）

> 17名の理事・監事中、ご返信を頂いた14名全員から承認

2) 審議事項 2. 海外支援事業の実施内容

前回のメール理事会で承認が得られたコスメトロジー研究振興財団の海外交流助成金を活用した具体的な支援内容について国際ワーキングで検討頂き、以下の答申を得た。

(1) シニアの国際学会への派遣：

いずれもWGメンバーである吉川大和先生（ASMB基底膜ワークショップ、7月、ナッシュビル）と渡辺秀人先生（第10回プロテオグリカン国際会議、9月、イタリア）を推薦。

(2) 若手研究者の国際学会への派遣：

以下の内容で、若手研究者の海外研究発表に対する支援事業を開始する

- ・ 支援金額は1名につき5万円とし、毎年原則として4名を選抜。
- ・ 応募資格：2017年4月1日時点で40歳未満の本学会会員で、6月に開催される学術大会での発表者（口演、ポスター）。
- ・ 対象となる国際学会：2017年7月1日から2018年6月30日に開催される細胞外マトリックス関連の海外の学会（アメリカ生化学・分子生物学会等の大きな学会の細胞外マトリックス関係のセッションにて発表する場合も可）
- ・ 応募方法：必要項目を記入して、2017年5月31日までに国際委員長の渡辺理事までメールで応募する
- ・ 選考方法：2017年6月16・17日（於 津市）にて開催される学術集会での発表内容に対して、審査員（国際WGメンバー）が評価して選考する（発表は日本語で構わない）

> ご返信を頂いた14名全員から承認

うち2名より、以下の付帯意見（両名とも同じ内容）が寄せられたため、渡辺WG座長（国際委員長）にその旨伝えた。

「現在の応募資格（対象学会）だと、基礎系学会に偏っている（印象を与える）。臨床系の研究者が臨床系学会の結合組織疾患ないしマトリックス関連セッションで発表する場合も対象となることを、わかりやすくアナウンスした方がよい。」

3) 審議事項 3. 名誉会員と学術賞の扱いについて

本件については、昨年の定例理事会でも理事長より問題提起を行った。主たる論点としては、(1)名誉会員の位置づけ、ならびに推挙の基準、(2)これに関連して学術賞との差異、(3)名誉会員を増やすことによる会費収入減少への懸念、が挙げられている。

野水理事（将来検討委員長）を座長とするWGで議論した上で、理事・監事からも意見・提案を求めた。

> 数名より意見・提案が寄せられたが、6月の定例理事会に向けてさらに理事・監事からの意見を広く求めたい。

[メ理事H29年度-2] 理事会議事録ならびに JSMBM ITA 受賞者・運用規則の承認について
2017年6月28日

- 1) 審議事項 1. 理事会議事録の承認
6月15日に開催された定例理事会の議事録
＞17名の理事・監事全員から承認され、学会ホームページ（会員専用ページ）に掲載した。

- 2) 審議事項 2. JSMBM International Travel Award 受賞者の承認
審査委員（国際交流WG委員）より、以下の4名の推薦があった（50音順）
折本 愛 先生（東北大学歯学部）
釜付祐輔 先生（岡山大学大学院医歯薬研究科）
柳川亨世 先生（東海大学医学部）
山城義人 先生（筑波大学生命領域学際センター）
＞17名の理事・監事全員から承認され、受賞者に連絡と賞金の授与を行った。

- 3) 審議事項 3. JSMBM International Travel Award 運用規則の承認
＞17名の理事・監事全員から承認され、学会ホームページに掲載した。

[メ理事H29年度-3] 新評議員の選出について
2017年7月15日

- 1) 審議事項 1. 新評議員の選出
評議員候補：山田修平先生（名城大学薬学部）
＞17名の理事・監事中、ご返信を頂いた15名全員から承認され、新評議員と学会事務局に連絡した。

[メ理事H29年度-4] 理事および理事長選挙の日程について
2017年9月20日

- 1) 理事・監事および理事長の選出
学会細則第2条には、理事選挙は「1月から2月に行う。投票締切は2月末日とする。」とあるが、4月に新理事長にバトンタッチするための移行期間を充分取る意味で、前回同様に今回も理事選挙を10月中の投開票、次いで新理事長の選出についても年内か年明け早々の決定をしたい。また、新理事長の選出についても、前回同様に新理事からの無記名投票として、経費節約の意味でも一同に会しての臨時理事会は行わないことを提案した。
＞17名の理事・監事全員から承認され、選挙管理委員会（平澤恵里委員長）および学会事務局に日程の連絡を行った。

[メ理事H29年度-5] 新理事・監事の承認および理事長選挙の実施について

2017年11月13日

1) 新理事・監事の承認

選挙管理委員会（平澤恵里委員長）による開票結果に基づいて、上位の臨床系9名と基礎系10名を新理事・監事とすることが理事長から提案された。いずれの候補からも、就任についての承諾を得ている。

> 17名の理事・監事全員から承認された。

2) 新理事長の選出方法

選出方法の細部について選挙管理委員会で検討した結果、以下の方法を諮った。

(1) 推薦期間（自薦・他薦）は設けずに、新理事・監事からの1名单記投票とする。

(2) 投票期間：12月1日（投票用紙発送）～12月19日（消印有効）

(3) 最多かつ過半数（10名以上）の得票を得た者を、理事長に選出する。1回目の投票で過半数に満たない場合は上位3名に対する再投票を、それでも過半数に達しない場合は上位2名による決選投票を行う（投票用紙・返信用封筒は、初めに3組送る）。

(4) 1回目の投票後に、最多得票者もしくは2回目の投票に望む候補者に対して、選挙管理委員長から理事長就任の意思確認を行う。

(5) 監事の選出は、新理事長が指名するものとする。

> 17名の理事・監事全員から承認された。

[メ理事H29年度-6] 理事長選挙の開票報告

2018年2月1日

1) 新理事長の選出について

選挙管理委員会（平澤恵里委員長）のもとで、3回にわたる投開票を行い、新理事長候補として渡辺秀人理事を選出した。

選考の経緯として、1) 1回目投票における上位3名（いずれも規定の過半数に届かず）に対して選挙管理委員長からの意思確認を行った結果、1名より辞退の申し出があったために、2回目以降は2名に対する投票になったこと、2) 2回目の有効投票数が16名だったため、いずれの候補も全選挙人（19名）の過半数に達せず、3回目の投票では有効投票数の過半数を得た者を選出する旨を予め選挙人に伝えた上で最終投票に臨んだことの2点について、説明を行った。

> 17名の理事・監事全員から承認され、これにより来年度からの新理事長に渡辺秀人理事が就任することが正式に決定した。

[メ理事H29年度-7] 大高賞の選考について

2018年3月12日

1) 大高賞授賞者の選出について

大高賞選考委員会（磯貝善蔵委員長）のもとで厳正な審査を行った結果、平成30年度大高賞には大阪大学の佐藤（西内）涼子会員が相応しいとの答申がなされた。

＞ご返信を頂いた16名の理事・監事全員より承認が得られたが、一部の理事・監事からはスコアが拮抗していた他の候補者を含めて2名授賞の可能性について付帯意見が述べられた。これについても議論を行い、原案通りに1名を選出することに決定した。



Agilent Pathology Solutions

ダコ Omnis A generation ahead in IHC & ISH.

次世代のIHC&ISH染色装置

IHC & ISH 全自動染色装置は進歩を遂げました。
フレキシブルかつ高い生産性を実現します。



■ More Time

— TATを短縮し、操作も簡易です。

■ Greater Choice

— スライド数の変動に柔軟に対応します。

■ Better Patient Care

— 正確な結果を迅速にお届けし、
よりよい患者ケアを可能にします。

詳しい情報は www.agilent.com まで。

ダコ Omnis : 自動染色装置 [特定保守管理医療機器] 医療機器届出番号 13B3X10204000004





遺伝子タイピングシステムの未来形。
前処理・増幅・検出がこの一台で。

遺伝子解析装置

i-densy IS-5320

アイデンシー IS-5320

届出番号：25B1X00001000018



仕様

測定対象	全血などの生体試料、精製核酸
測定原理	核酸増幅法+Tm解析法
外形寸法	410(幅)×450(奥行)×415(高さ)mm
重量	27kg
分類	クラスI(一般医療機器)/特定保守管理医療機器

i-densy 専用サイト <http://i-densy.arkray.co.jp/jpn/>

アークレイ株式会社


お問い合わせ先


アークレイマーケティング株式会社
東京本社
〒160-0004 東京都新宿区四谷1-20-20大雅ビル4F
TEL.050-5527-7700(代)


よく斬れて、使いやすく しかも安全。

Tissue-Tek® Polar®

凍結組織切片作製装置

 ティシュー・テック® ポーラー® DM

 ティシュー・テック® ポーラー® D

 ティシュー・テック® ポーラー® B

日本人の感性で設計したクリオスタット

- 高品質な凍結標本作製 (D&DMタイプ:標準仕様)
- 作業性に優れた操作パネルと庫内設計
- 薄切後の感染防止機能 (D&DMタイプ:標準仕様)
- 薄切中の感染対策に初めて対応 (D&DMタイプ:オプション)

販売業者
 サクラファインテックジャパン株式会社
東京都中央区日本橋本町3-1-9
<http://www.sakura-finetek.com>



ピンホールの限界を超えた次世代コンフォーカル

ZEISS LSM 880 with Airyscan



高分解能 × 低ダメージの ライブイメージングを実現

ZEISS LSM 880 with Airyscanは特別なサンプル調製や蛍光色素を使用しなくても、4-8倍のS/N比を実現し、xyz方向の分解能を各1.7倍高めます。さらに新オプションの“Fastモジュール”記号を導入すると27fpsでのイメージングも可能となり、リアルタイム・高S/N比・高分解能を同時に達成することが可能となります。



株式会社ジーンネット
Genenet co.,ltd

〒813-0034 福岡県福岡市東区多の津5-22-8
TEL: 092-626-2722 FAX: 092-626-2723
<https://www.genenet.co.jp>

カールツァイスマイクロコピー株式会社

microscopy.ja@zeiss.com

www.zeiss.co.jp/microscopy



Think Perfection

お客様にとっての“パーフェクト”をめざして、正晃は常にユーザーの視点で考えています。



ライフサイエンスをはじめとする科学技術は私たちの生活と未来を大きくリードし続けています。正晃は、医療・研究分野の総合会社として培ったノウハウをお客様にとっての“パーフェクト”を起点に多彩な分野へ柔軟な対応で貢献いたします。



正晃株式会社

www.seikonet.co.jp

本社 福岡市東区松島3丁目34番33号 / 〒813-0062
TEL: 092-621-8199(代) FAX: 092-611-4415

事業所 福岡第一・福岡第二・北九州・久留米・大分
佐賀・山口・下関・熊本・沖縄・宮崎
鹿児島・東京・長崎

事業内容

- | | | |
|-----------|-----------|------------|
| ■基礎研究用試薬 | ■理化学機器 | ■家電製品 |
| ■体外診断用医薬品 | ■医療用機器 | ■コンピュータおよび |
| ■動物用医薬品 | ■分析用機器 | 医療及び研究分野向け |
| ■化学工業薬品 | ■その他機器、器具 | ソフトウェア |
| 上記の販売 | 上記の販売・修理 | 上記の開発・販売 |

索引

IL：海外招待講演

OP：大高賞受賞講演

SY：シンポジウム

A, B：一般演題（口演）

SL：特別講演

LS：ランチョンセミナー

KS：KSMB-JSMBMシンポジウム

P：一般演題（ポスター）

ML：マイスターレクチャー

AS：アフタヌーンセミナー

WS：ワークショップ

【A】

Attila Aszodi A3-5

【B】

B. Jang A4-3

Bryan P. Tool ML

Bui Quoc Thang
A1-3

【C】

Caroline Antunes Lino
A1-3

Chieko Soh P-27

Christopher A. Adase
A3-2*

【D】

D. Shin A4-3

DE Kim KS-2

【E】

Emmanuel Gibon
P-06*

Eok-Soo Oh A4-3, P-21,
P-29

Eva Brauchle P-07*

【H】

Haibo Zhao WS-4*

Heejeong Hong
P-21

HJ Lee KS-2

Hyejung Jung P-29

Hyun-kuk Song
P-21

【J】

J. Yun A4-3

Ja Hyun Koo SY2-2

Jeffrey Miner B1-4

Jin Ho Chung KS-1

Jisu Park A4-3, P-29

Jukka Pajarinen
P-06*

Julia Marzi P-07*

【K】

K. Vaeteewoottacharn
SY1-3

Katja Schenke-Layland
P-07*

Kyung-Min Lim
P-29

Kyuri Kim P-29

【L】

Ling-juan Zhang
A3-2*

Lou Chuyuan B1-4

【M】

M Kim KS-2

Maria Trojanowska
P-16

【P】

P. Dana SY1-3

Paolo Alberton
A3-5

Peter Friedl IL

【R】

Richard L. Gallo
A3-2*

【S】

S. Choi A4-3

S Karnan A3-1

S. Wongkham SY1-3

Sang Geon Kim
SY2-2

Seung-Eun Kim
P-21

S-H. Lee KS-2

Shin Seung Jae
A1-3

Shiqiao Ye WS-4*

Steven Zhao P-27

Stuart B Goodman
P-06*

【T】

Thang Bui Quoc
WS-1

TW Kim KS-2

Tzu-hua Lin P-06*

【W】

W. Lee A4-3

【X】

Xinyi Jiang P-06*

【Z】

Zhenyu Yao P-06*

【あ】

阿尾 理一 SY1-1, A4-2*
 青木光希子 P-01*, P-14
 青松 圭一 B3-2
 青山絵理子 A1-1*
 赤崎 幸穂 A1-2
 秋本 龍二 P-08*
 吾郷 哲朗 A3-3*
 浅野 恵一 B2-5
 芦田 昇 SY2-3
 厚澤 雄二 P-04*
 跡見 順子 B4-4
 阿南 隆 P-13
 安部優貴子 P-30
 有森 貴夫 B1-2*
 【い】
 碓 和樹 P-11
 池島 喬 B4-3
 池島(片岡)宏子 B3-5*
 池田 夏実 B3-5*
 生駒 丈晴 P-02*
 生駒 俊之 WS-5
 石井 寛 SY2-1
 石川 朋子 P-03*
 石川 義弘 A3-4
 石黒めぐみ SY1-1
 居作 和人 P-02*
 磯貝 善蔵 OP, AS
 市川 秀之 P-08*
 市瀬慎一郎 WS-6
 一瀬 博文 P-05*
 伊藤 智子 A3-4
 伊東 祐二 P-11
 伊藤ゆき乃 P-31
 稲垣 純子 B2-5, P-23
 稲垣 豊 SY2, A2-4*,
 B3-4, B4-1,
 WS-3*, WS-5

稲葉 史恵 P-30
 井上紳太郎 B2-3*, B2-4*
 井上 直樹 B3-3
 伊原 伸治 B1-3
 今中(吉田)恭子 A4-4*
 今福 信一 A3-2*
 今村 保忠 B4, A4-5
 Hideki Iwano P-27
 尹 浩信 P-16
 【う】
 上田 修 WS-5
 上野 秀樹 SY1-1, A4-2*
 内山 大輝 A1-4
 内山 太郎 WS-5
 梅澤 一夫 A3-1
 占部 博也 P-08*
 【え】
 枝松 緑 A3-5, P-32
 戎 富美 OP
 エユプ・ウチュテペ
 P-23
 遠藤 整 B4-1
 【お】
 大門 康子 P-01*
 大川(榎元)友里恵
 P-11
 大慈弥裕之 B3-3
 太田 明伸 A3-1
 太田 三紀 P-17
 大月 孝志 B2-5, P-23
 大野 竜暉 B3-6*
 大野 充昭 A3-5, P-32
 大橋 俊孝 A3, A3-5,
 B1-4, B2-5,
 P-27, P-32
 大山 翠 A4-1*
 岡崎 良紀 P-26
 S. Okada SY1-3

岡田 誠司 A2-4*
 岡田 尚巳 B2-1*
 岡田 保典 AS, B2-3*,
 B2-5
 岡田 祥明 P-18
 岡村 陽介 B4-1
 岡元 孝二 P-25
 沖田 実 A2-1*, A2-2*,
 A2-3*
 尾崎 敏文 A1-1*, P-26
 小澤 重幸 P-02*
 小野寺 敏 B4-3
 尾山 大明 P-14
 【か】
 甲斐 浩一 P-17
 笠原 大瑚 B3-4, WS-3*
 笠原 優子 B2-1*
 梶原 康宏 A2-1*, A2-2*
 梶原 由規 SY1-1, A4-2*
 片岡 英樹 A2-1*, A2-2*,
 A2-3*
 片桐 文彦 P-11
 加藤 丈子 P-31
 加藤 可那 B2-2*
 加藤 大祐 A4-4*
 加藤 珠樹 P-25
 加藤 靖正 A4, P-09
 加藤(茂谷)智実 A4-5
 金森 慶亮 P-02*
 金光 幸秀 SY1-1
 釜付 祐輔 A1-1*, P-26
 上岡 寛 P-32
 紙谷 聡英 B3-4, WS-3*
 神谷 章平 P-08*
 亀井 敏昭 LS1-2
 R. Kariya SY1-3
 苅谷 慶喜 A4-1*
 川喜田正夫 A4-5

川口 章 B4-1
川尻 秀一 P-10
川村眞智子 A4-5
神崎 勇希 B1-4
【き】
北岡 卓也 P-05*
北郷 悠 B1-2*
吉川 大和 B1, P-11
木下 義晃 SY2-1
木原 隆典 A1-4
木村 剛 SY2-3
木村 寛之 A4-6*
木村 鉄宣 P-13
木村 公彦 B3-3
清野 透 P-02*
【く】
久保田暁彦 A2-5*
久保田 聡 A1-1*
倉員 市郎 A1-2
栗原伸之介 A3-5, P-32
黒尾 誠 WS-1
黒瀬 等 SY2-3
桑田 裕太 A1-4
グンデウズ・エスラ
P-23
グンデウズ・メーメット
P-23
【け】
ケレベール・オレリアン
B2-2*, B3-6*
【こ】
小出 隆規 B4, A4-6*,
WS-6
合田有一郎 A2-6*
古賀 佳織 P-01*, P-13,
P-14
越川 直彦 SY1-2, P-14
古庄 知己 B2-1*, P-24

小杉 健二 P-18
後藤 徳雄 A1-2
後藤 優和 B2-4*
小林 英司 B4-2*
小林智恵里 P-30
小林 欣夫 A2-5*
【さ】
雑賀司珠也 B3
齋藤 明 P-28
齋藤 武恭 A2-4*
西良 浩一 A2-6*
幸 博和 A2-4*
酒井 昭典 P-18
酒井 紀典 A2-6*
酒泉 翔 WS-6
坂井田 功 P-22
坂田 喜美 P-19, P-20
坂田 俊文 P-01*
坂本 淳哉 A2-1*, A2-2*,
A2-3*
佐藤 絵美 A3-2*
佐藤来 未 A4-5
佐藤 健司 B3-3
佐藤 隆 IL
佐藤 朋子 B3-1, B3-2
佐藤 紀 A2-6*
佐藤(西内)涼子 OP, WS-2
Shigetoyo Sawaki
P-27
【し】
品岡 玲 B2-5
柴山 夏実 B4-4
島崎 英幸 SY1-1
嶋澤 雅光 B2-3*
自見 至郎 B3-3
清水麻衣子 B3-3
清水 美穂 B4-4

下田 将之 A4, A4-2*,
B2-3*
下野 知性 WS-2, P-04*
下村 嘉一 B3-1, B3-2
徐 茜 B4-3
白石 壮宏 A4-2*
白木 裕太 A4-4*
辛 英哲 A4-5
神藤 英二 SY1-1, A4-2*
【す】
居石 卓也 A1-2
末岡美那子 B3-4
末山 貴浩 SY1-1
菅原由美香 P-11
杉浦 秀和 WS-1
杉岡 孝二 B3-1, B3-2
杉原 健一 SY1-1
杉山夏緒里 P-07*
鈴木 厚子 P-09
鈴木 健司 P-02*
鈴木浩太郎 A2-5*
鈴木 達也 A4-5
鈴木 佑治 B2-2*
鈴木 遼太 WS-6
須藤 明 A2-5*
須藤 塁 P-04*
住吉 秀明 A2, B3-4,
B4-1, WS-3*
【せ】
関口 清俊 LS3, OP,
B1-2*, WS-2,
P-12
関澤 明德 A4-2*
関根 茂樹 SY1-1
善家 雄吉 P-18
【た】
多賀 祐喜 B4-2*
高木 淳一 B1-2*

高田洋一郎 A2-6*
 高橋 彩 B3-1, B3-2
 高橋 巖 P-31
 高橋 慶一 A4-5
 高原 照美 B3
 高見 太郎 P-22
 宝田 剛志 P-32
 田川 陽一 WS-5
 滝川 正春 A1-1*
 瀧沢 士 B1-2*
 瀧田 講 A4-6*
 竹下 治男 P-24
 竹花 一成 B2-1*
 田島 貴文 P-18
 田代 真一 B4-3
 田中 啓友 B4-2*
 田中 利明 WS-5
 田中なつみ A2-1*, A2-2*,
 A2-3*
 田邊 昌子 B3-5*
 谿口 征雅 LS3-1, B1-2*
 玉田 耕治 LS2
 丹野 友里 B3-4
 【ち】
 近田 裕美 WS-3*
 千葉 英樹 P-28
 張 娟娟 P-17
 【つ】
 辻 裕介 B3-6*
 常住 淳 WS-1
 常長 誠 WS-5
 【て】
 手塚 剛彦 A3-1
 手束 文威 A2-6*
 【と】
 遠矢 正和 A1-2
 遠山 周吾 B4-2*
 富川 直樹 P-28

Kazumi Toyama
 P-27
 鳥原 秀美 P-32
 【な】
 中尾 祥絵 B3-4, WS-3*
 中川 尚志 P-01*
 中島 裕史 A2-5*
 中島 麻里 B3-5*
 中島 康晴 A1-2, A2-4*,
 WS-4*, P-06*
 中野 治郎 A2-1*, A2-2*,
 A2-3*
 中野 泰博 B3-4, B4-1
 中村 晋之 A3-3*
 中村 敏也 B2
 中邨 智之 SY2-1
 中村 博幸 P-10
 仲矢 道雄 SY2-3
 那谷 耕司 P-31
 鍋倉 淳一 SL
 鍋島 央 P-06*
 鍋島 一樹 LS1, SY2-1,
 P-01*, P-13,
 P-14
 【に】
 西田圭一郎 B2-5
 西田 崇 A1-1*
 西田 輝夫 B3-1, B3-2
 西田 佳弘 A3
 西村 拓人 B2-5
 西山 敏夫 P-08*
 【ね】
 根岸 洋一 P-11
 【の】
 野坂 浩一 A3-5
 野水 基義 KS, P-11,
 P-28
 野見山 崇 SY2-2

野村 義宏 B2-1*
 【は】
 白水 仁子 P-30
 Tomohiro Hakozaki
 P-27
 橋口陽二郎 SY1-1
 橋本 綾菜 B2-1*
 橋本 恵 B3-5*, P-03*
 橋本 康弘 A4-1*
 長谷 和生 A4-2*
 長谷部由紀夫 B4-4
 秦 裕子 P-14
 畑 隆一郎 P-02*
 畠中登志也 P-25
 畠山 望 B4-4
 畠山真由美 P-05*
 幡野その子 A3-1
 服部 俊治 B4-2*, B4-3
 P-04*, P-12
 ハティボール・オメル・ファルク
 B2-5, P-23
 濱崎 慎 P-01*, P-14
 濱中 良志 P-17
 濱野 将大 P-19, P-20
 林 利彦 B4-3, P-12
 林 二三男 A2-6*
 林田 桃香 P-03*
 原 英彰 B2-3*, B2-4*
 原島 望 P-11
 【ひ】
 東野 恒作 A2-6*
 平木 辰弥 B1-1*
 平子 善章 B1-1*
 平澤 恵理 SL, A3-3*,
 B2-2*, B3-6*,
 P-04*
 平松 恭子 A4-5
 広瀬 拓哉 B2-1*

廣畑 聡 SY1, B2-5,
 P-23
 廣松 賢治 A3-2*
 【ふ】
 福原 武志 P-11
 藤井 一徳 A4-6*
 藤崎ひとみ B4-3, P-12
 藤田 恵理 B4-4
 藤田 和将 LS3-2
 藤田 昌樹 LS2
 藤山 愛子 P-11
 藤原 稔史 WS-4*
 二木 杉子 P-12
 古松 毅之 A2, A1-1*,
 P-26
 【ほ】
 干場 隆志 P-15
 穂積 勝人 B3-4
 保住建太郎 P-11, P-28
 本田祐一郎 A2-1*, A2-2*,
 A2-3*
 【ま】
 前田 豊信 P-09
 前場 崇宏 B1-4
 前畑洋次郎 P-02*
 前原 亜美 A1-1*, P-26
 牧野 雄成 P-16
 松尾 佳苗 B1-3
 松尾 哲孝 P-17
 松前 洋 B1-4
 松本 健一 B1, P-24
 松本 俊彦 P-22
 松本 嘉寛 A1-2, WS,
 A2-4*, WS-4*
 【み】
 三上健一郎 B3-4
 三島 弘 B3-1, B3-2
 水野 一乗 P-04*

水本 秀二 B2-1*, P-24,
 P-30
 美名口 順 B1-4, B2-1*
 宮崎 健 P-01*, P-14
 宮澤真優子 P-10
 宮本 泰則 B3-5*, P-03*
 【む】
 向山 洋介 A3-3*
 村垣 泰光 A1
 【め】
 目貫 邦隆 P-18
 メフメット・ゼイナー・チレッキ
 B2-5
 【も】
 望月 早月 SY1, SY1-1,
 A4-2*
 持永磨奈美 P-31
 Ryusuke Momota
 P-27
 森實 祐基 B1-4
 森本 雅俊 A2-6*
 森谷 俊介 A4-5
 茂呂 忠 B3-4, WS-5
 諸岡 七美 WS-2
 【や】
 八木志乃海 B4-2*
 柳川 享世 B4-1, WS-3*,
 WS-5
 柳沢 裕美 WS, A1-3,
 WS-1, P-07*
 柳瀬 敏彦 SY2-2
 矢野 博之 P-17
 山下英里華 B1-2*
 山城 義人 A1-3, P-07*
 山田 和夫 P-24
 山田 修平 B2-1*, P-24,
 P-30, P-31
 山田 雅司 P-12

山田 吉彦 A3-3*
 山寺 勝人 A4-2*
 大和 雅之 B4-3
 山中 信康 A1-1*
 山中 芳亮 P-18
 山本 順司 A4-2*
 陽 暁艶 P-02*
 【よ】
 横尾 和久 A3-1
 横森 昭弘 WS-3*
 横山 詩子 A3-4
 吉岡 秀克 P-17
 吉田 浩二 P-19, P-20
 吉田 利通 SY2, A4-4*
 吉田 浩之 B2, B2-3*
 吉野 雄太 B2-3*, B2-4*
 吉水 優貴 P-25
 吉村 祐輔 B3-6*
 米澤 朋子 B1-4, P-27
 米村 圭介 A4-2*
 【り】
 李 紹良 OP
 劉 暁玲 B4-3
 劉 偉偉 B4-3
 渡辺 淳 P-24
 渡辺 研 A1
 渡辺憲太郎 SY2-1
 渡邊 智記 A4-2*
 渡辺 秀人 ML, LS1-1,
 A3-1

謝 辞

第50回日本結合組織学会学術大会開催に際しまして、多くの団体からの助成金・補助金、企業様からの寄付金、セミナー共催、広告掲載または、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・団体様・個人様

セミナー共催

MSD株式会社
独立行政法人 環境再生保全機構
中外製薬株式会社
株式会社ニッピ

広告掲載

アークレイマーケティング株式会社
アジレント・テクノロジー株式会社
サクラファインテックジャパン株式会社
株式会社ジーンネット
正晃株式会社

企業展示

ネッパジーン株式会社
メニコン株式会社

ご寄付

株式会社アステム
株式会社東屋医科器械
医療法人財団 華林会 村上華林堂病院
公益財団法人コスメトロジー研究振興財団
株式会社ピーシーエルジャパン
PCL福岡 病理・細胞診センター
所長 亀井 敏昭 先生
松浪硝子工業株式会社
公益財団法人水谷糖質科学振興財団
武藤化学株式会社
ヤンセン・ファーマ(株)
ライカマイクロシステムズ(株)

(五十音順)

2018年5月現在

第50回日本結合組織学会 (JSMBM) 学術大会
大会長 鍋島 一樹

第50回 日本結合組織学会学術大会
プログラム・抄録集

平成30年6月29日 発行

編集 福岡大学医学部病理学講座
発行 〒814-0180
福岡県福岡市城南区七隈7-45-1
TEL 092-801-1011(代表)
FAX 092-863-8383

印刷 陽文社印刷株式会社
<http://www.youbunsha.co.jp/>