

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 5月30日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21510224

研究課題名（和文） N末端ドメイン欠失型コンドロモジュリン-1の構造決定と血管新生抑制活性

研究課題名（英文） The structural determination and anti-angiogenic activity of a Chondromodulin-I subtype that lacks the N-terminal domain.

研究代表者

開 祐司（HIRAKI YUJI）

京都大学・再生医科学研究所・教授

研究者番号：40144498

研究成果の概要（和文）：本研究では、軟骨組織抽出物に同定した 14-kDa ChM-I 分子種を免疫沈降により分離し、これが成熟型 25-kDa ChM-I の N-末端 37 残基を欠いた分子種であると同定した。組換え 14-kDa ChM-I がほとんど血管新生抑制活性を示さなかった。また、軟骨性骨原基の肥大・石灰化軟骨層では 14-kDa ChM-I のみが検出されることが判明し、内軟骨性骨形成の過程で ChM-I は N-末端 37 残基の切断によって不活性化されることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：In this study, we extracted and purified the 14-kDa species of ChM-I from rat rib cartilage. Amino acid sequencing revealed a 14-kDa ChM-I lacks the N-terminal 37 residues of mature 25-kDa ChM-I. As demonstrated in vitro, 14-kDa ChM-I exhibited little anti-angiogenic activity. There is no 25-kDa ChM-I species present in the hypertrophic/calcified cartilage zone of cartilaginous bone precursors. Instead only the 14-kDa ChM-I species was detected. Taken together, our data suggest that ChM-I is inactivated by its N-terminal deletion of 37 residues during endochondral bone formation.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
21年度	1,100,000	330,000	1,430,000
22年度	1,400,000	420,000	1,820,000
23年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：生物分子科学・生物分子科学

キーワード：血管新生抑制因子、コンドロモジュリン-1、抗腫瘍血管新生因子、軟骨細胞外マトリックス、プロテオリシス、活性発現の分子機構

1. 研究開始当初の背景

全身に張り巡らされた血管網は体内諸器官・臓器を栄養することにより、その成長・機能維持に不可欠な役割を演じている。しかし、血管網の形成が組織機能を破壊する場合があります。毛細血管の侵入を排除して無血管に保たれる組織がある。上皮組織では細胞同士が密に結合して機能が営まれるので、通常、

毛細血管がその間に入り込むことはない。上皮を支持する間葉には一般に豊富な血管網が存在するが、上皮-間葉を仕切る基底膜を越えて血管が侵入することもない。そこで、基底膜に何らかの血管侵入抵抗性を付与する機構が想定され、米国 Harvard 大のグループは基底膜成分の分解産物に Endostatin などの血管新生抑制因子を同定した。その一方

で、血管に富む間葉にあっても、無血管に保たれると共に強い血管侵入抵抗性を示す特異な組織が知られてきた。軟骨がその典型で、グアニジン塩酸で抽出される特異な血管新生抑制因子が血管侵入抵抗性の基盤を担っているとされてきた。これらの血管新生抑制因子は、がんをはじめとする種々の血管新生病態への応用が期待されてきた。

我々はウシ胎仔軟骨のグアニジン塩酸抽出物から血管新生抑制因子コンドロモジュリン-I (Chondromodulin-I, ChM-I)を精製・同定した。ChM-I 遺伝子は軟骨や心臓弁など無血管組織に特異的に発現することを明らかにした。ほ乳動物の ChM-I は 120 アミノ酸残基 (ウシ ChM-I は 121 残基) よりなる糖タンパク質で SDS-PAGE 上で 20-30 kDa の分子サイズを示す(25-kDa ChM-I)。産生細胞から細胞外に分泌された ChM-I は、それぞれの組織に特徴的な細胞外マトリックス(ECM)に局在することで血管侵入抵抗性障壁として機能していると推察されている。事実、ChM-I KO マウスでは、ChM-I が欠失しているために本来無血管に保たれているべき心臓弁に ChM-I と置き換わるようにして VEGF-A が発現して新生血管の侵入や肥厚・石灰化がみられ大動脈弁狭窄の症状がみられることを明らかにした(Nat. Med. 12: 1151-1159, 2006)。これに対して胎生期の軟骨性骨原基に対する血管侵入とそれに続く骨組織への置換の過程において、骨原基中央部で軟骨細胞が肥大化・石灰化すると ChM-I 遺伝子の発現は消失し、代わって石灰化軟骨に VEGF-A が発現誘導される。その結果、骨原基中央部に血管侵入が起こって(1次骨化中心が形成されて)骨形成が進行する。心臓弁の病理的な血管新生バランスのスイッチングと同様に、生理的な骨形成の場面でも ChM-I vs. VEGF-A の血管新生シグナルのスイッチングが起こる。しかし、ChM-I KO マウスの解析では、軟骨性骨原基への血管侵入位置や時期に見かけ上、異常はなかった。最近、軟骨性骨原基を包む軟骨周囲組織が強靭な血管侵入抵抗性をもつことを見いだした(Dev. Biol. 332: 196-211, 2009)。今後の分子基盤の解明を期待させるが、この新たな血管侵入障壁がまず血管網の侵入時期と位置を規定してしまうので、ChM-I KO マウスの観察から骨形成時の軟骨 ECM における血管侵入抵抗性の変化と ChM-I の役割を、直接に解析できないことも示唆した。既に、組換え ChM-I の投与や ChM-I cDNA の強制発現が腫瘍血管新生や関節リウマチなどの血管新生病態に有効に作用することが示されている (FEBS Lett. 458: 436-440, 1999; Arthritis Rheumatism 50: 828-839, 2004; BMC Cancer 9: 166, 2009)ものの、ChM-I 作用の分子機構については不明の点も多い。

2. 研究の目的

チロシンキナーゼ型細胞膜受容体を介する血管新生促進因子と比較して、血管新生抑制因子の作用機序は不明の点が多い。ChM-I は 334 残基よりなる II 型膜貫通型前駆タンパク質の C-末端 120 残基として生合成され、糖鎖修飾の後に 25-kDa ChM-I として細胞外に分泌される。ChM-I には、糖鎖修飾を受ける比較的親水性の高いドメイン 1(N-末端を含む 49 アミノ酸残基)と 4 個の disulfide 結合をもつ疎水性ドメイン 2 (N-末端から 50 番目から C-末端に至る 71 アミノ酸残基)から構成されている(図 1)。先行研究によりドメイン 2 が ChM-I の血管新生抑制活性を直接に担っている事が判明しているため、種々の変異を導入した組換え ChM-I などを用いて生物活性に必須の配列要素を明らかにする。また、組換えヒト ChM-I に対するポリクローン抗体やモノクローン抗体を用いた解析から、軟骨組織には成熟型 25 kDa ChM-I とは別に SDS-PAGE 上で約 14-kDa バンドとして検出される新たな ChM-I 分子種が多量に存在することが示唆された。そこで、本研究では、ラット肋軟骨から 14 kDa ChM-I の精製と構造決定を行なうと共に、その生物活性ならびに組織局在を詳細に解析して、内軟骨性骨形成における軟骨組織の血管侵入抵抗性がどのように制御されているか明らかにする。特に ChM-I の分子サイズの変化を活性構造の変化として関連付けることにより軟骨組織の血管侵入抵抗性バランスのスイッチング機構の解明に繋げることを目的とする。

ドメイン 1 (糖鎖修飾ドメイン)

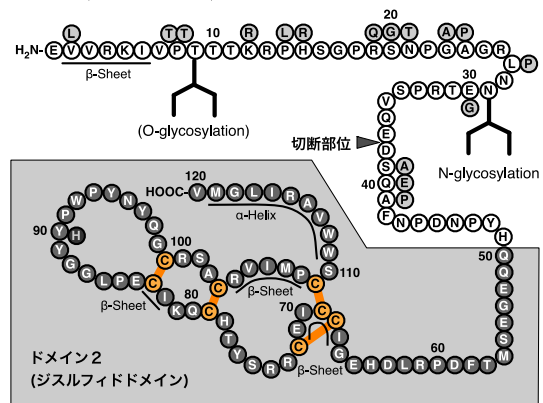


図1. 成熟型25-kDa ChM-Iのアミノ酸配列と構造ドメイン

3. 研究の方法

(1) ChM-I 変異体の発現とペプチド合成：組換えヒト ChM-I 変異体はヒト ChM-I の N 末端側に preprotrypsin リーダー配列と FLAG タグを付加し、分泌タンパク質として 293-F 細胞の無血清振盪培養系に発現させた。発現タンパク質は FLAG タグによるアフィニティー精製をして用いた。生物活性を検定する際の基準物質として、ウシ胎仔軟骨の 1 M グアニ

ジン塩酸抽出にて得た天然型ウシ ChM-I (bChM-I) をアフィニティー精製して用いた。アフィニティーカラム担体にはヒト組換え ChM-I に対するモノクローン抗体 hCHM-5 を結合させたセファロース 4B を用いた。逆相 HPLC 後の標品は SDS-PAGE 上で単一バンドを示した (純度 96%)。ChM-I の部分配列をもつ種々の ChM-I ペプチドは Fmoc 固相ペプチド合成により合成した。得られたペプチドは逆相 HPLC に続く質量分析により配列を確認した。分子内にジスルフィド結合の形成は PBS に溶解させた合成ペプチドを 30-60 分間インキュベーションすることにより行い、質量分析により確認した。

(2) 血管新生抑制活性の *in vitro* アッセイ：組換えヒト ChM-I 変異体や ChM-I ペプチドの生物活性は、HUVEC (ヒト臍帯静脈内皮細胞) の細胞遊走アッセイにより定量的に評価した。遊走アッセイは Boyden-chamber 法を用いることとし、VEGF (vascular endothelial growth factor)-A 刺激に対する細胞の遊走応答を測定した。

(3) 腫瘍血管新生の *in vivo* アッセイ：培養したヒト軟骨肉腫 OUMS-27 細胞 (5×10^6 個) をヌードマウス背部皮下に接種・生着して腫瘍サイズが 45 mm^3 に達した後、サイクリック ChM-I ペプチド ($20 \mu\text{g}/\text{day}$) を 5 日間皮下投与した。腫瘍体積の変化をヒト組換え ChM-I ($5 \mu\text{g}/\text{day}$) の効果と比較した。細胞接種 21 日後に摘出しホルマリン固定後、凍結切片を作成して免疫組織学的に腫瘍血管の侵入状態を可視化・定量した。

(4) 抗体作成と Immunoblot による ChM-I の検出：ラット ChM-I のドメイン 1 の配列 (P8-P33) に基づいて合成したペプチドを抗原としてポリクローン抗体を作成した (ラット・マウスのドメイン 1 を認識した; N-ChM-I Ab)。CHO 細胞に発現させたヒト組換え ChM-I を抗原としてモノクローン抗体 (ChM-I MoAb) hCHM-5 を作成した。また、ヒト ChM-I のドメイン 2 配列に基づいた 4 種類のペプチド (即ち Q50-L62, C83-N95, G88-N95, C109-V120) に対する抗ペプチドポリクローン抗体を作成した。ラットやマウス肋軟骨を採取して 8 M 尿素にて抽出を行った。これを等量の $2 \times \text{SDS}$ サンプルバッファーと混和し 5 分間煮沸後、SDS-PAGE により分離しニトロセルロース膜に転写して種々の ChM-I 抗体と 4°C でインキュベーションした。免疫交差したタンパク質バンドは二次抗体を用いる酵素抗体法により検出した。

(5) 免疫沈降法による 14-kDa ChM-I の調製と構造決定：ラット肋軟骨を採取した後、迅速に液体窒素凍結し、クライオプレスにより破碎した。これを 8 M 尿素 (8 M Urea, 50 mM Tris-HCl, pH8.0, 1 mM DTT, 1 mM EDTA) 中でインキュベーションし、得られた軟骨抽出

タンパク質 300 mg に対して 50 mg のモノクローン抗体 hCHM-5 を 4°C で 2 時間インキュベーションして免疫沈降を行った。さらにプロテイン G セファロースビーズとインキュベーションして免疫沈降物を吸収し、回収したセファロースビーズを PBS で洗浄後、 $1 \times \text{SDS}$ サンプルバッファーにてビーズに吸着したタンパク質を溶出した。溶出タンパク質をアセトン沈殿として濃縮後、SDS-PAGE にて分離し Immobilon-P に転写した。最後に、14-kDa バンドを切りだして、N-末端アミノ酸配列を決定した。

(6) 免疫組織染色による ChM-I 分子種の詳細局在：E16.5 マウス下肢を 4% パラホルムアルデヒドにより固定後、18% sucrose/PBS に置換して O.C.T. compound にて包埋した。液体チッソ中で凍結後 $8 \mu\text{m}$ 切片を作成した。次いで切片をブロッッキング剤で前処置後、一次抗体とインキュベーションした。一次抗体には hCHM-5 (希釈倍率 1:500)、N-ChM-I Ab (希釈倍率 1:1000)、anti-CD31 (希釈倍率 1:2000) を用いた。さらに Alexa fluor 488 または Alexa fluor 594 でラベルした二次抗体とインキュベーションした。ProLong Antifade 試薬にマウントして Leica DMRXA と Leica DC500 で蛍光顕微鏡像を取得した。

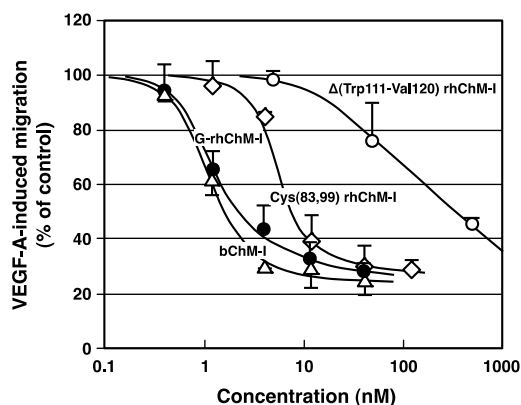
4. 研究成果

CHO 細胞に発現させて得た糖鎖付加された組換えヒト ChM-I (G-rhChM-I) に対して大腸菌に発現させて得た糖鎖付加のない組換え体 (NG-rhChM-I) は、軟骨培養細胞系 (増殖促進活性) に対しても血管内皮細胞培養系 (増殖阻害活性) に対しても、比活性は弱いものの生物活性を示した。NG-rhChM-I には天然型に等しい配置でジスルフィド結合が形成されていることが確かめられているものの、円二重性スペクトルは G-rhChM-I にみられた α -helix 構造が NG-rhChM-I では消失していることが明らかとなった。また、NG-rhChM-I を V8 プロテアーゼで部分分解して得られる N-末端 37 残基を欠失した $\Delta\text{N-rhChM-I}$ を調製したところ、(その疎水性のために細胞培養条件下に十分な添加濃度を達成できないものの) 生物活性を検出することができた。これらの結果からドメイン 2 が ChM-I の生物活性に必須の構造ドメインであり、ドメイン 1 は糖鎖修飾を介して生理機能を果たすための溶解性や二次構造保持のための役割を持っていることが明らかとなった (JBMM 29:23-30, 2011)。

そこで、ChM-I の生物活性に役割を果たすドメイン 2 の構造要素について、種々の組換え ChM-I 変異体を作成して詳細に検討した。ChM-I は DTT のような還元剤を処置すると失活する事がわかっている。ドメイン 2 に存在する 4 個のジスルフィド結合 (Cys68-Cys72; Cys69-Cys109; Cys79-Cys103; Cys83-Cys99)

に用いられる Cys 残基を系統的に Ser に置換して、その血管新生抑制活性を HUVEC の VEGF-A 刺激による細胞遊走を指標にした *in vitro* アッセイにより検定した (Exp. Cell Res. 316: 775-788, 2010)。その結果、生物活性には Cys83-Cys99 が不可欠であることが判明した。Cys83-Cys99 以外のジスルフィド結合の位置にある Cys が全て Ser に置換された変異体 (Cys (83, 99) rhChM-I) でも、高い活性を示した (図 2)。即ち、組織から精製された bChM-I や G-rhChM-I ($ID_{50}=1-2$ nM) と平行な用量依存曲線を描き、 ID_{50} は約 6 nM であった。逆に、Cys83-Cys99 部分の配列を欠失させると ChM-I は失活した。一方、C-末端にある疎水性の高い 10 残基を欠失させる [Δ (Trp111-Val120) rhChM-I] と、生物活性は残るものの ID_{50} は 100 nM 以上を示したのみならず、生物活性の用量依存性は明らかに低下した (図 2)。この疎水性の高い部分は、タンパク質の二次構造予測によれば ChM-I の配列の中で唯一 α -helix が形成されると予測された配列に一致していた (図 1)。これらの結果は Cys83-Cys99 にかかるジスルフィド結合によって作られる環状構造が生物活性の発現に第一義的に重要であり、C-末端の疎水性テール (Trp111-Val120) は ChM-I が受容体と選択的な結合を補助するアンカー的な役割を果たしているものと推察された。事実、1 個のジスルフィド結合により環状構造を作る合成ペプチド (Ile82-Arg100) は生物活性を示すし、C-末端を含む合成ペプチド (Lys81-Val120) は *in vitro* アッセイのみならずヒト軟骨肉腫 OUMS-27 の腫瘍増生や腫瘍血管新生に対する *in vivo* アッセイにおいても著明な抑制活性を示した (Cancer Sci. 印刷中, 2012)。

図2. ChM-Iとその組換え変異体の生物活性 (用量依存曲線)



また Cys83-Cys99 のジスルフィド結合で作られた環状構造と C-末端疎水テール (Trp111-Val120) に挟まれた Ala102-Ser110 部分を欠失させたり、ポリエチレングリコール (NH-CH₂CH₂O-CH₂CH₂O-CH₂CO)₃ に置換すると、不溶性の凝集体を形成して生物活性が検出できなくなった。Ala102-Ser110 の部分は、

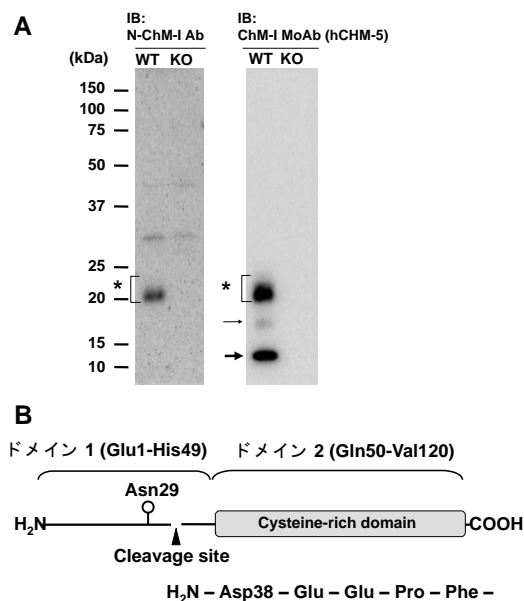
N-末端側の環状部分と C-末端の疎水部分が直接に疎水相互作用をしないように分離する役目を果たしているのではないかと推察された。ChM-I に含まれる 3 つのジスルフィド結合 (Cys68-Cys72; Cys69-Cys109; Cys79-Cys103) はいずれも、Ala102-Ser110 部分での二つの機能構造の安定的分離に構造的な寄与しているようにみえる。

これまで ChM-I の解析には主に、比較的親水性の高いドメイン 1 のアミノ酸配列 Pro8-Pro33 をもつ合成オリゴペプチドに対する抗体 (N-ChM-I Ab) が用いられてきた。これを用いて軟骨組織抽出物を immunoblot すると、糖タンパク質に特有の幅広い (種によって 20-25 kDa、ないし 20-30 kDa) のシングルバンドが検出される。免疫組織染色では、ChM-I mRNA の発現領域にほぼ一致する軟骨性骨原基の静止層から増殖層にかけての軟骨 ECM に特異的な染色を認めた。この局在パターンは軟骨組織の血管侵入抵抗性領域の分布とよく一致していた。生物活性を保持したヒト組換え ChM-I (G-rhChM-I) が得られるとともに、G-rhChM-I や Δ N-rhChM-I に対するポリクローン抗体が得られるようになった。これらのポリクローン抗体は ChM-I を特異的に認識するが種特異性は低く、種間で配列がよく保存されたドメイン 2 をエピトープにしているものと推定された。さらに、G-rhChM-I に対するモノクローン抗体も得られた。この中にはヒト ChM-I のドメイン 1 の種特異的な配列を認識する抗体 (hCHM-2) や、種特異性が低いドメイン 2 を認識するもの (hCHM-5) も含まれていた。

そこで、ラット肋軟骨を採取し 8 M 尿素抽出した後、immunoblot にてこれを系統的に解析した。その結果、ラット ChM-I のドメイン 1 に対する抗体 (N-ChM-I Ab) では約 20-25 kDa の成熟型 ChM-I (25-kDa ChM-I) のみが検出されるのに対して、ドメイン 2 配列を認識する抗 G-rhChM-I ポリクローン抗体や hCHM-5 ではいずれも 14-kDa に相当するタンパク質バンドが検出された。特に、C109-V120 の配列に対するポリクローン抗体もこのタンパク質バンドに反応することから、この ChM-I 分子種 (14-kDa ChM-I) は C 末端は保持されているが N 末端を大きく欠失していることが示唆された。マウス軟骨の解析でも同様に、N-ChM-I Ab では 20-22 kDa バンド (ウシやラット・ヒトでの 25-kDa 分子種に相当) が検出された 14-kDa ChM-I が検出された。これに対して ChM-I MoAb (hCHM-I) を用いた immunoblot では 25-kDa ChM-I の他に、14-kDa ChM-I が (17-kDa 分子種も弱く) 検出された (図 3)。ChM-I ノックアウト (ChM-I KO) マウスの軟骨抽出物ではいずれのタンパク質バンドも検出されなかった (図 3)。これは、抗体に反応したいずれのバンドも ChM-I 遺伝子

産物に由来することを強く示唆していた。そこで、ラット肋軟骨から 8M 尿素抽出液を調製し、ヒト ChM-I モノクローン抗体 (hChM-5) と共にインキュベーションして免疫沈降を行った。プロテイン G セファロースビーズを用いて免疫沈降物を回収した後、SDS-PAGE にて分離し、ほぼ 14-kDa に相当するタンパク質バンドを切り出した。次いで抽出したタンパク質の N-末端アミノ酸配列を決定した。その結果、これが N-末端から 37 番目までのアミノ酸残基を欠失した ChM-I 分子種であることが判明した (図 3)。17-kDa 分子種については 14-kDa ChM-I に比べて遙かにマイナーな生成物であり、N-末端アミノ酸配列の決定は困難であった。この結果は、14-kDa ChM-I が先に ChM-I のドメイン構造とその役割を解析する過程で調製した NG-rhChM-I を V8 プロテアーゼ消化して得られた Δ N-rhChM-I に等しいことを示している。実際、NG-rhChM-I の V8 プロテアーゼ消化断片は、SDS-PAGE 上で 14-kDa の分子サイズを示す。これまでの軟骨マトリックスの remodeling に関する報告などから 14-kDa ChM-I の生成には MMP (metalloproteinase)-9 や-13 の関与するものと予想されていたので、意外な結果であった。(NG-rhChM-I を MMP-9 で処置すると His49-Gln50 間で切断されることが示されており、V8 プロテアーゼのように Glu37-Asp38 間で切断される断片は認められなかった。) 次に、NG-rhChM-I から調製した 14-kDa ChM-I (Δ N-rhChM-I) を用いて、生物活性を HUVEC の細胞遊走を指標にした *in vitro* アッセイにより検定した。その dose-response 解析の結果、 Δ N-rhChM-I が生物活性を示す高濃度まで培地中で可溶性を保つことはなく、実質的に活性を失っていると判断された。

図3. 14-kDa ChM-I の同定と配列



次いで、14-kDa ChM-I の組織局在を明らかにした。即ち、ラット ChM-I の N 末端配列に対する抗ペプチド抗体 (N-ChM-I Ab) と 25-kDa と 14-kDa の両方の分子種を認識する (抗 ChM-I モノクローン抗体 hChM-5) を用いて、ラット胎仔下肢軟骨性骨原基を免疫組織染色した。その結果、ChM-I mRNA を発現する軟骨性骨原基の静止軟骨細胞層から増殖軟骨細胞層を含む領域の ECM はいずれの抗体にも陽性だった。一方、肥大化・石灰化軟骨細胞層においては hChM-5 にのみ陽性で、N-ChM-I Ab には陰性であった。また、ラット肋軟骨から分離した軟骨細胞を初代培養に移したところ、ChM-I を発現する軟骨細胞はほぼ成熟型 25-kDa ChM-I 分子種のみを培地中に分泌する事が判明した。このことは、静止層から増殖層に至る軟骨組織では成熟型 25-kDa ChM-I が軟骨 ECM が蓄積して軟骨組織の血管侵入障壁を構成しているのに対して、肥大化・石灰化軟骨層では 14-kDa ChM-I のみが軟骨 ECM に存在している事が明らかになった。これらの結果は骨原基への血管侵入に先立って、ChM-I はマトリックス中に蓄積した ChM-I の N-末端が切断除去される事によって不活性化して肥大化・石灰化軟骨層はあらかじめ血管侵入抵抗性を消失していると推定された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 6 件)

- ① S. Miura, J. Kondo, T. Kawakami, C. Shukunami, S. Aimoto, H. Tanaka, Y. Hiraki Synthetic disulfide-bridged cyclic peptides mimic the anti-angiogenic actions of chondromodulin-I. *Cancer Sci.*, 査読有、印刷中, 2012
doi:10.1111/j.1349-7006.2012.02276.x
- ② S. Miura, C. Shukunami, K. Mitsui, J. Kondo, Y. Hiraki Localization of chondromodulin-I at the feto-maternal interface and its inhibitory actions on trophoblast invasion *in vitro*. *BMC Cell Biol.*, 査読有、12: 34, 2011
doi:10.1186/1471-2121-12-34
- ③ J. Kondo, H. Shibata, S. Miura, A. Yamakawa, K. Sato, Y. Higuchi, C. Shukunami, Y. Hiraki A functional role of the glycosylated N-terminal domain of chondromodulin-I. *J. Bone Miner. Metab.*, 査読有、29(1): 23-30, 2011
doi:10.1007/s00774-010-0193-0
- ④ R. Itoh, S. Miura, S. Kondo, H. Sano, Y. Hiraki Stimulatory actions of lysophosphatidic acid on mouse ATDC5

chondroprogenitor cells. J. Bone Miner. Metab., 査読有、**28(6)**: 659-671, 2010
doi:10.1007/s00774-010-0184-1

- ⑤ K. Yukata, Y. Matsui, C. Shukunami, A. Takimoto, N. Hirohashi, O. Ohtani, T. Kimura, Y. Hiraki, N. Yasui
Differential expression of
Tenomodulin and Chondromodulin-1 at
the insertion site of the tendon
reflects a phenotypic transition of
the resident cells. Tissue & Cell, 査
読有、**42**: 116-120, 2010
doi:10.1016/j.tice.2010.02.002
- ⑥ S. Miura, K. Mitsui, T. Heishi, C. Shukunami, K. Sekiguchi, J. Kondo, Y. Sato, Y. Hiraki Impairment of
VEGF-A-stimulated lamellipodial
extensions and motility of vascular
endothelial cells by Chondromodulin-I,
a cartilage-derived angiogenesis
inhibitor. Exp. Cell Res., 査読有、
316(5): 775-788, 2010
doi:10.1016/j.yexcr.2009.12.009

[学会発表] (計3件)

- ① 滝本晶、宿南知佐、三浦重徳、近藤淳、
佐野寛子、田中英之、開祐司 内軟骨性
骨形成におけるコンドロモジュリン-Iの
N末端領域の切断による不活性化. 第12
回運動器科学研究会、平成23年9月2日、
高知
- ② 滝本晶 内軟骨性骨形成過程においてコ
ンドロモジュリン-I は N-末端領域の切
断によって不活性化される. 第7回
Skeletal Research Meeting、平成23年
5月28日、京都
- ③ 滝本晶、開祐司、宿南知佐 間充織凝集
による軟骨形成と血管侵入抵抗性の獲得
(Establishment of anti-angiogenic
resistance during endochondral
ossification). 第42回日本結合組織学
会学術大会・第57回マトリックス研究会
大会合同学術集会、平成22年8月19日
~20日、秋田

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況 (計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

[その他]
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

開 祐司 (Yuji Hiraki)
京都大学・再生医学研究所・教授
研究者番号：40144498

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし