

血管内皮細胞のプロテオグリカン代謝の制御を介した外来性糖鎖の活性

佐藤友子,^a 山本千夏,^{a,b} 藤原泰之,^{a,c} 鍛冶利幸^{*,a,b}**Biological Activities of Exogenous Polysaccharides via Controlling Endogenous Proteoglycan Metabolism in Vascular Endothelial Cells**Tomoko SATO,^a Chika YAMAMOTO,^{a,b} Yasuyuki FUJIWARA,^{a,c} and Toshiyuki KAJI^{*,a,b}^aFaculty of Pharmaceutical Sciences, Hokuriku University, ^bOrganization of Frontier Research, Hokuriku University, Ho-3 Kanagawa-machi, Kanazawa City 920-1181, Japan, and^cSchool of Pharmacy, Aichi Gakuin University, 1-100 Kusumoto-cho, Chikusa-ku, Nagoya 464-8650, Japan

(Received December 12, 2007)

Proteoglycan contains glycosaminoglycans, which are endogenous sulfated polysaccharides, in the molecule. The metabolism of proteoglycans regulates cell behavior and cellular events. It is possible that exogenous polysaccharide-related molecules exhibit their biological activities by two mechanisms. One is the interaction with cells and the other is the interaction with growth factors/cytokines that regulate proteoglycans. In this review, we describe sodium spirulan, a sulfated polysaccharide obtained from a hot-water extract of the blue-green alga *Spirulina platensis*, as an exogenous polysaccharide that stimulates the release of proteoglycans from vascular endothelial cells. Factors that regulate endothelial proteoglycan metabolism are also being described as possible target molecules of exogenous polysaccharides. Further research is required to obtain exogenous polysaccharide-related molecules that exhibit useful biological activities through controlling endothelial proteoglycan metabolism for protection against vascular lesions such as atherosclerosis.

Key words—proteoglycan; spirulan; vascular; polysaccharide; atherosclerosis

1. はじめに

近年、メタボリックシンドロームが大きな社会的関心をもたれるようになり、その表現形である動脈硬化は注目を集める病変の1つとなっている。動脈硬化の形態学的特徴は、血管壁、特に内膜における脂質コアと呼ばれる脂質の沈着、それを取り囲む線維性被膜と呼ばれる血管平滑筋細胞とそれに由来する細胞外マトリックスの層の形成、及びマクロファージやTリンパ球などの細胞成分の集積である。^{1,2} 動脈硬化病変においては、血管内皮細胞の抗血栓的機能が低下しているとされる。³ 一方、血管平滑筋細胞は正常な状態では収縮型として中膜を構築しており、増殖は静止した状態にある。しかしながら、動脈硬化血管壁（内膜）ではフェノタイプを

合成型に変え、増殖と細胞外マトリックスの合成・分泌を活発化させている⁴。また、血管平滑筋細胞及びマクロファージは、脂質、特に低密度リポタンパク（LDL）を活発に取り込んで泡沫化し、血小板由来増殖因子（PDGF）などの細胞増殖因子/サイトカインを分泌し、血管平滑筋細胞の中膜から内膜への遊走と増殖・増生を加速し、内膜の肥厚を促す。⁵ このような形態学的変化は長期間に渡ってゆっくりと進行するため容易に顕在化せず、通常、虚血性心疾患など具体的な病変として認識されたときには既に元に戻ることはない状態になっている。すなわち、動脈硬化は長期に渡って進行した血管の不可逆的変化であるといえる。

動脈硬化の予防には、その基盤となっているメタボリックシンドロームの予防が重要であるが、血管細胞の機能を動脈硬化の進展に対して防御的に高める有用物質の探索とその作用様式の解明は動脈硬化進展抑制に有効であると思われる。動脈硬化の進展過程において、内皮細胞では細胞層の傷害、抗血栓

^a北陸大学薬学部, ^b北陸大学学術フロンティア研究組織 (〒920-1181 金沢市金川町ホ-3), ^c愛知学院大学薬学部 (〒464-8650 名古屋市千種区楠本町 1-1000)

*e-mail: t-kaji@hokuriku-u.ac.jp

本総説は、日本薬学会第127年会シンポジウムSD2で発表したものを中心に記述したものである。

特性の低下, 及び線溶活性の低下が特に問題であり, 血管平滑筋細胞では遊走・増殖の活性化や細胞外マトリックス産生 (特にプロテオグリカンの合成・分泌) の亢進が問題である。したがって, 血管細胞において, 血管内皮細胞の遊走・増殖の促進, 内皮細胞の抗血栓性物質, 例えばヘパラン硫酸糖鎖の合成・分泌の促進, 内皮細胞の線溶活性の上昇, 血管平滑筋細胞増殖の阻害, 血管平滑筋細胞の細胞外マトリックス合成の阻害, などの作用を示す物質が動脈硬化抑制に効果的であると考えられる。

プロテオグリカンはコアタンパク質と呼ばれるタンパク質骨格にグリコサミノグリカン糖鎖を共有結合した構造を有する複合糖質の総称である。⁶⁾ プロテオグリカンは結合しているグリコサミノグリカン糖鎖の種類によって, ヘパラン硫酸プロテオグリカン (HSPGs), コンドロイチン硫酸 PGs (CSPGs), デルマトン硫酸 PGs (DSPGs) などに分類される。血管内皮細胞は血管内腔を単層で被っている細胞であるが, HSPGs の大型分子種パールカン及び DSPGs の小型分子種ビグリカンを中心として産生している。⁷⁾ パールカンのヘパラン硫酸糖鎖はヘパリン様活性を示し, 血管内腔局所の抗血栓性に寄与している。⁸⁾ また, パールカンは塩基性線維芽細胞増殖因子 (FGF-2) のレセプターへの結合を加速する。⁹⁾ 内皮細胞の遊走と増殖は内因性の FGF-2 に強く依存するので, パールカンは傷害内皮の修復にも寄与することが示唆される。ビグリカンのデルマトン硫酸糖鎖はヘパリンコファクター II を活性化し, 抗トロンビン活性を示す。¹⁰⁾ また, そのコアタンパク質はトランスフォーミング増殖因子 β (TGF- β) と結合してその活性を消失させる。^{11,12)} TGF- β は内皮細胞の増殖を阻害するサイトカインである。¹³⁾ このようにビグリカンも内皮細胞表層の抗血栓性と内皮修復に寄与し, 血管病変の発症・進展に防御的に機能し得るプロテオグリカンである。

筆者らは外来性の糖鎖の中に内皮細胞のプロテオグリカン代謝の制御を通じて有用な活性を示すものがあると考え研究を進めてきた。このような外来性糖鎖は 1) 内皮細胞との相互作用及び 2) 内皮細胞の機能を調節する因子との相互作用, の 2 つの作用様式によってプロテオグリカン代謝を制御する可能性がある。したがって, 有用な外来性糖鎖の探索はこの両方の観点から行われなければならない。ま

た, 特に後者については, プロテオグリカン代謝の調節因子そのものを明らかにする必要がある。しかしながら, 現在までこのような視点に立った研究はほとんど存在せず, 実際に *in vivo* で動脈硬化進展抑制に効果のある機能的外来性糖鎖の発見には至っていない。現状は, そのような機能性糖鎖の探索が開始されたところである。以下にそのような探索研究を筆者らの結果を基に概説する。

2. 血管内皮及び平滑筋細胞に対するナトリウムスピラン (Na-SP) の作用

Na-SP は, 富山大学の林らによって藍藻スピリナの熱水抽出物から抗ウイルス活性を示す物質として単離された M_r -220000 の硫酸化多糖である。¹⁴⁾ その構造は極めて特異なものである。すなわち, Na-SP は, 1,4-結合ヘキサロン酸 (グルクロン酸又はガラクトン酸) と 1,3-結合ラムノースの繰り返し構造 ($[\rightarrow 4\text{-HexA}-(1\rightarrow 3)\text{-Rha}-(1\rightarrow n)]$) を糖鎖骨格とし, このヘキサロン酸残基の 3 位に側鎖として主にラムノース残基の 4 位が硫酸化された 1,3-結合硫酸化ラムノースと 1,2-結合 3-O-メチルラムノースの繰り返し構造 ($[\rightarrow 3\text{-Rha}-(\rightarrow 2)\text{-3-O-methyl-Rha}-(1\rightarrow m)]$) が結合する, 2 種類の糖鎖が結合した構造を含むグラフト型多糖である。¹⁵⁾ この構造はプロテオグリカンに相似している。すなわち, Na-SP 分子のヘキサロン酸-ラムノースの糖鎖骨格がプロテオグリカン分子のコアタンパク質に相当し, 硫酸化ラムノース-3-O-メチルラムノースからなる側鎖がグリコサミノグリカン糖鎖に相当しているとみることが可能である。このことは, Na-SP が疑似プロテオグリカンとして細胞機能の調節に影響を及ぼす可能性を示唆している。実際, Na-SP はヘパリンコファクター II の活性化を通じて抗トロンビン活性を示す。¹⁶⁾

筆者らは血管内皮及び平滑筋細胞に対する Na-SP の作用を調べてきた。その結果, この硫酸化糖鎖が細胞傷害性を示すことなく内皮細胞機能を制御し得ることを知った。例えば, Na-SP は傷害内皮細胞の修復を阻害するが, これは内皮細胞の増殖が抑制されることに起因する。¹⁷⁾ Na-SP のこの作用は Na-SP 分子中のナトリウムイオンをカルシウムイオンに置換しても維持されるが, ナトリウムイオンを除去すると消失する。¹⁸⁾ また, Na-SP を低分子化してみたところ, M_r -21000 では内皮細胞増殖阻害

作用は認められるが、 M_r -14700 では消失することも分かった。¹⁸⁾ このことは、Na-SP の内皮細胞増殖阻害作用には一定の分子量とナトリウムイオンによって維持される立体構造が重要であることを示唆している。一方、Na-SP は血管平滑筋細胞の増殖を強力に阻害する。¹⁹⁾ この阻害活性もまたナトリウムイオンの除去や脱硫酸化によって消失するが、内皮細胞増殖に対する阻害活性と異なり、 M_r -14700 まで低分子化しても活性は消失しない。これらの結果は、低分子化が血管平滑筋細胞に対して選択的にその増殖を阻害する Na-SP を調製する有力な化学修飾であることを示唆している。

線溶活性は内皮細胞の極めて重要な機能であり、内皮細胞から分泌される組織型及びウロキナーゼ型プラスミノゲンアクチベーター (t-PA 及び u-PA) が血液中のプラスミノゲンをプラスミンに変換することによって発現される。²⁰⁾ 内皮細胞は t-PA 及び u-PA の共通の阻害因子プラスミノゲンアクチベーターインヒビター 1 型 (PAI-1) も合成・分泌している。²¹⁾ PAI-1 は液相に出ると速やかに潜在型となり活性を失うが、一部は活性型として t-PA 及び u-PA を阻害する。したがって、線溶活性は t-PA/u-PA と活性型 PAI-1 とのバランスに依存することになる。Na-SP は内皮細胞の u-PA の分泌を増加させ、PAI-1 の分泌を減少させる。²²⁾ その結果、t-PA 及び u-PA の活性はともに上昇する (Fig. 1)。内皮細胞線溶に対する Na-SP の作用の構造活性相

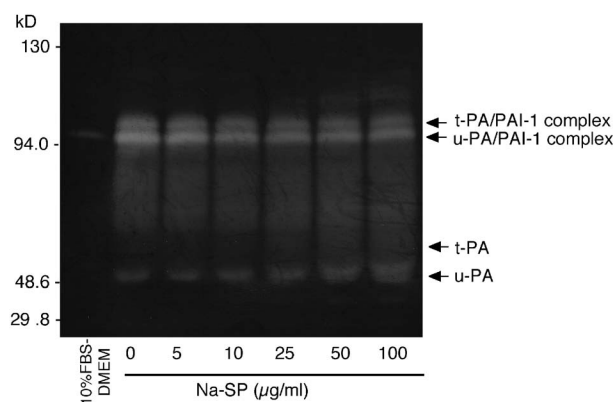


Fig. 1. Electrophoretic Enzymography (Fibrin Zymography) of the Conditioned Medium of Cultured Vascular Endothelial Cells after Treatment with Na-SP

Confluent cultures of human coronary endothelial cells were incubated at 37°C for 24 h in the presence of Na-SP (5, 0 10, 25, 50, or 100 µg/ml). “10 % FBS-DMEM” indicates the culture medium before cultivation.

関はこれからの検討課題であるが、Na-SP を化学修飾することによって動脈硬化抑止に有用な活性を有する糖鎖を創成することが可能であることが示唆される。

3. 血管内皮細胞層からの PGs の放出に対する Na-SP の作用

以上のように、Na-SP が血管細胞に対して多様な活性を有することが示されたので、次に血管内皮細胞の PG 代謝に対する Na-SP の作用を検討した。その結果、Na-SP は PG の合成系よりもその放出系に作用し、²³⁾ 内皮細胞層からの PGs の放出を加速することが分かった²⁴⁾ (Fig. 2)。この加速は、37°C では認められるが 4°C では観察されないため、Na-SP が細胞外マトリックスの PGs に作用したというよりも内皮細胞に作用して PGs の放出が促進されるものと思われる。ヘパリン、デキストラン硫酸及びヒアルロン酸にも PG 放出促進活性が認められたが、これらの糖鎖が特に HSPGs の放出を促進するのに対し、Na-SP は HSPGs と CS/DSPGs の両方の放出を強力に促進した (Fig. 3)。²⁵⁾ プルラン、デキストラン、ヘパリン硫酸、コンドロイチン硫酸、デルマタン硫酸などの糖鎖には PG 放出促進活性は認められなかった (Fig. 4)。Na-SP の活性は、ナトリウムイオンを除去あるいは脱硫酸化すると消失するが、カルシウムイオンに置換しても維持された。²⁴⁾ PG コアタンパク質を同定した結果、Na-SP は HSPGs の大型分子種パルカン及び DSPGs の小型分子種ビグリカンの両方の放出を促進することが分かった (Fig. 5)。²⁵⁾

これらの結果は、Na-SP の抗トロンビン活性がヘパリンコファクター II の活性化だけでなく、内皮細胞層からのパルカン及びビグリカンの放出促進によるものを含むことを示唆するものである (Fig. 6)。同時に、外来性糖鎖が内因性糖鎖関連分子である PGs の代謝に影響を及ぼすことによって血管内皮細胞における生物活性を発現することを示唆している。

4. 血管内皮細胞における PG 代謝の調節

血管内皮細胞における PG 代謝の調節には不明な点が多いが、細胞増殖因子/サイトカインが合成調節を行うことが知られている。例えば、TGF-β は細胞密度依存的に内皮細胞の PG 合成を調節する。²⁶⁾ 細胞密度が高い内皮細胞が TGF-β に曝露す

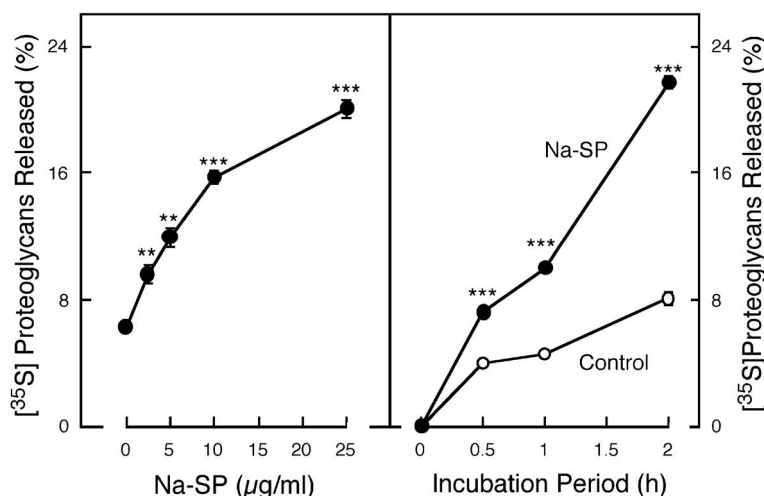


Fig. 2. Release of [³⁵S] Sulfate-labeled PGs from Vascular Endothelial Cell Layers after Treatment with Na-SP

Confluent cultures of bovine aortic endothelial cells labeled with [³⁵S] sulfate were incubated at 37°C for 1 h in the presence or absence of Na-SP at 2.5, 5, 10 or 25 µg/ml (left panel) or for 0.5, 1 or 2 h in the presence or absence of Na-SP at 10 µg/ml (right panel). Values are means ± S.E. of four samples. Significantly different from the corresponding control, ***p*<0.01, ****p*<0.001.

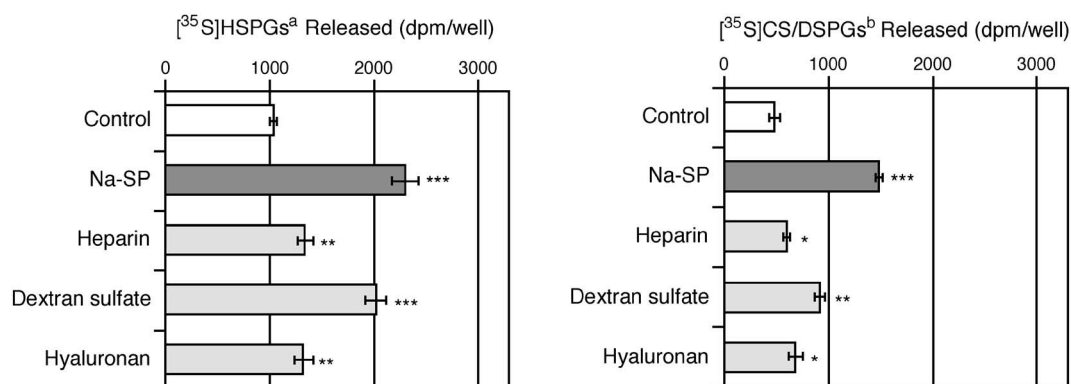


Fig. 3. Release of [³⁵S] Sulfate-labeled HSPGs and CS/DSPGs from Vascular Endothelial Cell Layers after Treatment with Na-SP, Heparin, Dextran Sulfate or Hyaluronan

Confluent cultures of bovine aortic endothelial cells labeled with [³⁵S] sulfate were incubated at 37°C for 1 h in the presence of Na-SP, heparin, dextran sulfate or hyaluronan (10 µg/ml each). Values are means ± S.E. of four samples. Significantly different from the corresponding control, **p*<0.05, ***p*<0.01, ****p*<0.001. a: [³⁵S] Proteoglycans sensitive to nitrous acid, b: [³⁵S] Proteoglycans resistant to nitrous acid.

ると、パールカン及びビグリカンの合成がともに誘導され、ビグリカンではデルマタン硫酸糖鎖の伸長が起こる。ところが細胞密度が低い場合ではビグリカンの合成誘導しか起こらず、しかもデルマタン硫酸糖鎖の伸長は起きない。

TGF-βによる細胞機能調節はその下流にある結合組織増殖因子 (CTGF) によって二次的に担われているとされるが、CTGFは細胞密度が高いときにはPG合成を調節せず、細胞密度が低いときにビグリカン合成を抑制し、新たにデコリン (デルマタン硫酸 PGsの小型分子種で、そのコアタンパク質はビグリカンと高い相同性を有するが別の遺伝子産

物である) 合成を誘導する。²⁷⁾ すなわち、TGF-βとCTGFはそれぞれの様式で内皮細胞のPG合成を調節していることになる。

内皮細胞の増殖はTGF-βによって抑制的に、FGF-2及び血管内皮増殖因子 (VEGF) によって促進的に調節される。FGF-2及びVEGFも内皮細胞のPG合成を調節する因子であるが、その調節様式は異なる。すなわち、FGF-2がビグリカンの合成を誘導する²⁸⁾のに対し、VEGFは受容体VEGFR-2を介してパールカンの合成を誘導する。²⁹⁾

以上のようなPGの代謝調節は、血液凝固系の調節、細胞増殖因子/サイトカインの活性制御とそれ

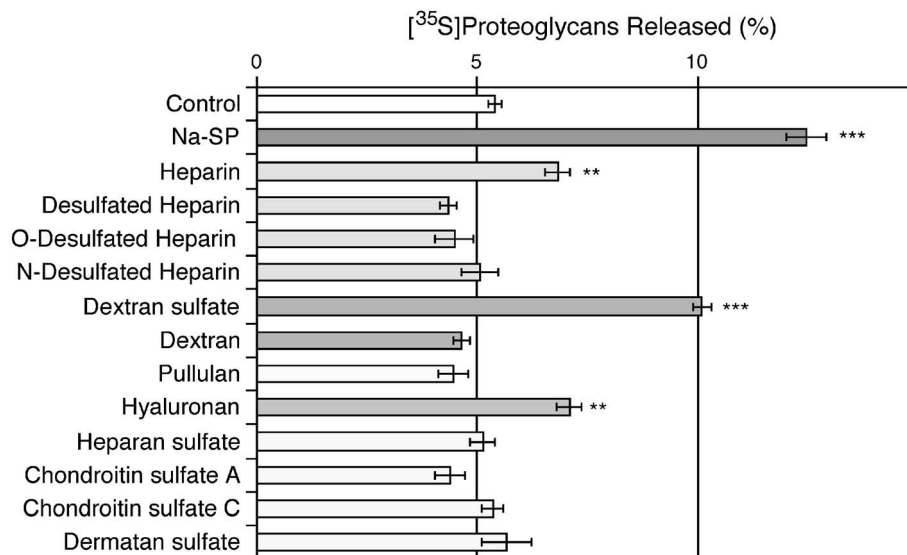


Fig. 4. Release of [³⁵S] Sulfate-labeled PGs from Vascular Endothelial Cell Layers after Treatment with Polysaccharides
 Confluent cultures of bovine aortic endothelial cells labeled with [³⁵S] sulfate were incubated at 37°C for 1 h in the presence of Na-SP, heparin, desulfated heparin, O-desulfated heparin, N-desulfated heparin, dextran sulfate, dextran, pullulan, hyaluronan, heparan sulfate, chondroitin sulfate A, chondroitin sulfate C or dermatan sulfate (10 μg/ml each). Values are means ± S.E. of four samples. Significantly different from the control, ***p*<0.01; ****p*<0.001.

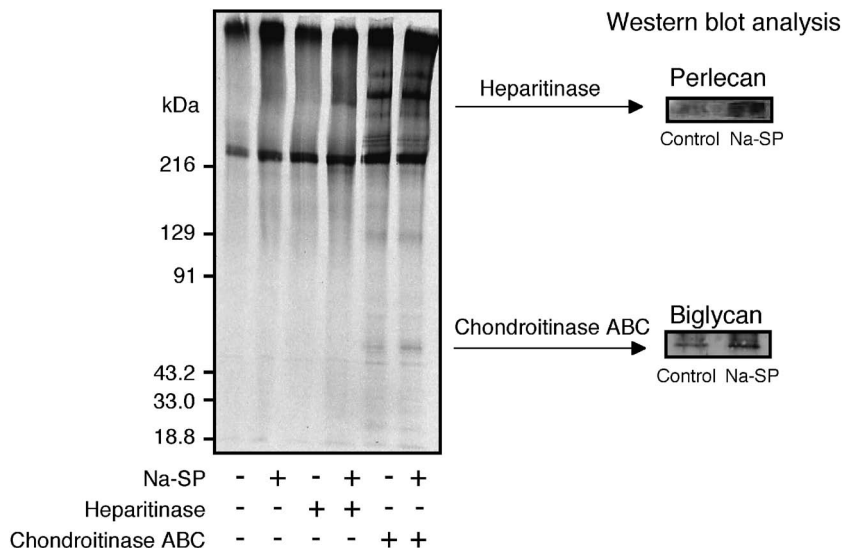


Fig. 5. SDS-polyacrylamide Gel Electrophoresis and Western Blot Analysis of ³⁵S-Labeled Amino Acids-labeled PG Core Proteins Released into the Medium from Vascular Endothelial Cell Layers after Treatment with Na-SP

Confluent cultures of bovine aortic endothelial cells were labeled with ³⁵S-labeled amino acids and then incubated at 37°C for 2 h with Na-SP (10 μg/ml) in the absence of ³⁵S-labeled amino acids. The PGs were extracted and digested with or without heparitinase II/III or chondroitin ABC lyase and run on a 4–12% gradient slab gel. Separately, heparitinase II/III- and chondroitin ABC lyase-generated core proteins with molecular mass of approximately 400 kDa and 50 kDa, respectively, were probed with an antibody specific for perlecan and biglycan.

に基づく細胞の機能調節, 及び血管壁への LDL の蓄積などの観点からその意義が推察されている。また, 血管内皮細胞だけでなく, 血管平滑筋細胞についても細胞増殖因子/サイトカイン等による PG 合成調節が知られており, ³⁰⁻³² 血管平滑筋細胞の遊走・増殖や LDL の蓄積を通じて動脈硬化病変の進

展に重要な意義を持つものと考えられている。それらを *in vivo* で確認することは極めて困難であり, 詳細には解明すべき点が多いが, 血管内皮及び平滑筋細胞の PG 代謝を調節する因子 (細胞増殖因子/サイトカイン) の活性を制御して人の健康増進や疾病予防, さらには疾病治療に有用に役立てるとい

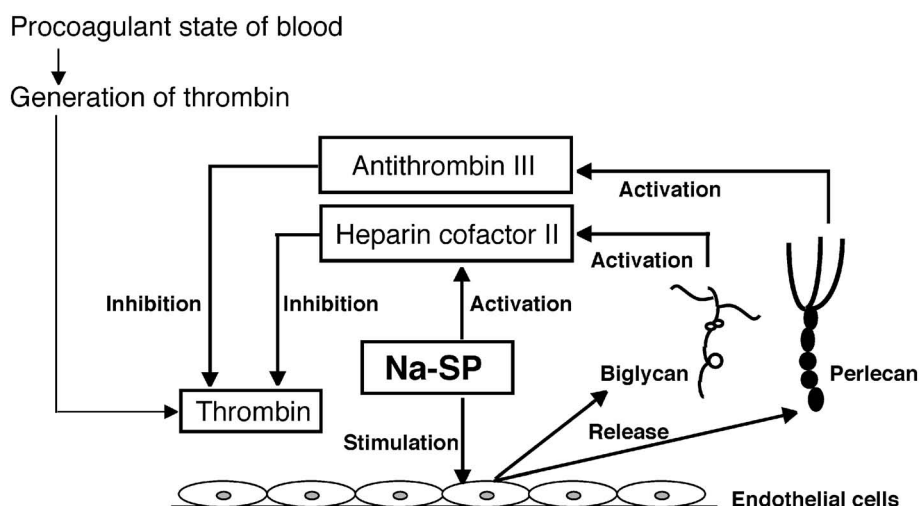


Fig. 6. A Possible Mechanism of Antithrombotic Properties of Na-SP

Na-SP stimulates the release of a HSPG perlecan and a DSPG biglycan, which activates antithrombin III and heparin cofactor II, respectively, from vascular endothelial cell layer, in addition to the direct activation of heparin cofactor II.

観点は重要である。

5. おわりに

PGs は内因性の糖鎖関連分子として多様な活性を示すことから、血管内皮細胞においても極めて重要な役割を果たしていると考えられている。例えば、アンチトロンビンⅢ富山は47番目のアルギニンがシステインに変異しているためにヘパリン/ヘパラン硫酸糖鎖との結合能を欠損したアンチトロンビンⅢ異常症であり、³³⁾ 内皮細胞層のヘパラン硫酸糖鎖との結合能も非常に低い。³⁴⁾ そのため内皮細胞表層における抗血栓性が低下するものと推察され、実際に患者では血栓症が起こる。³⁵⁾ すなわち、血栓症抑止にはアンチトロンビンⅢ-内皮細胞表層ヘパラン硫酸糖鎖複合体による抗トロンビン活性が重要である。そして、内皮細胞におけるPGs代謝の重要性は、それを制御することの重要性を意味している。

外来性の糖鎖関連分子は内皮細胞に直接作用してそのPG代謝を制御し得るだけでなく、内皮細胞PG代謝を調節する因子への作用を通じて二次的に内皮細胞PG代謝を制御し得ると思われる。実際、ヘパラン硫酸糖鎖はFGF-2^{9,36)} やVEGF³⁷⁾ の活性に影響を及ぼすことが知られている。外来性糖鎖関連分子のライブラリーの構築とそれを活用した有用な糖鎖の探索研究の発展が期待される。

REFERENCES

- 1) Wight T. N., *Arteriosclerosis*, **9**, 1-20 (1989).
- 2) Small D. M., *Arteriosclerosis*, **8**, 103-129 (1988).
- 3) Tanaka K., Sueishi K., *Lab. Invest.*, **69**, 5-18 (1993).
- 4) Mayne R., *Arteriosclerosis*, **6**, 585-593 (1986).
- 5) Ross R., *Science*, **248**, 1009-1012 (1990).
- 6) Ruoslahti E., *Annu. Rev. Cell Biol.*, **4**, 229-255 (1988).
- 7) Yamamoto C., Xingyun D., Fujiwara Y., Kaji T., *J. Health Sci.*, **51**, 576-583 (2005).
- 8) Mertens G., Cassiman J.J., Van den Berghe H., Vermynen J., David G., *J. Biol. Chem.*, **267**, 20435-20443 (1992).
- 9) Aviezer D., Hecht D., Safran M., Eisinger M., David G., Yayon A., *Cell*, **79**, 1005-1013 (1994).
- 10) Whinna H. C., Choi H. U., Rosenberg L. C., Church F. C., *J. Biol. Chem.*, **268**, 3920-3924 (1993).
- 11) Hildebrand A., Romaris M., Rasmussen L. M., Heinegard D., Twardzik D. R., Border W. A., Ruoslahti E., *Biochem. J.*, **302**, 527-534 (1994).
- 12) Yamaguchi Y., Ruoslahti E., *Nature*, **336**, 244-246 (1988).
- 13) Fräter-Schröder M., Müller G., Birchmeier W., Böhlen P., *Biochem. Biophys. Res. Com-*

- mun.*, **137**, 295–302 (1986).
- 14) Hayashi T., Hayashi K., Maeda M., Kojima I., *J. Nat. Prod.*, **59**, 83–87 (1996).
 - 15) Lee J. B., Hayashi T., Hayashi K., Sankawa U., *J. Nat. Prod.*, **63**, 136–138 (2000).
 - 16) Hayakawa Y., Hayashi T., Hayashi K., Hayashi T., Ozawa T., Niiya K., Sakuragawa N., *Blood Coagul. Fibrinolysis*, **7**, 554–560 (1996).
 - 17) Kaji T., Fujiwara Y., Inimata Y., Hamada C., Yamamoto C., Shimada S., Lee J.B., Hayashi T., *Life Sci.*, **70**, 1841–1848 (2002).
 - 18) Kaji T., Fujiwara Y., Hamada C., Yamamoto C., Shimada S., Lee J. B., Hayashi T., *Planta Med.*, **68**, 505–509 (2002).
 - 19) Kaji T., Okabe M., Shimada S., Yamamoto C., Fujiwara Y., Lee J.B., Hayashi T., *Life Sci.*, **74**, 2431–2439 (2004).
 - 20) Levin E. G., Loskutoff D. J., *J. Cell Biol.*, **94**, 631–636 (1982).
 - 21) Erickson L. A., Schleef R. R., Ny T., Loskutoff D. J., *Clin. Haematol.*, **14**, 513–530 (1985).
 - 22) Yamamoto C., Nakamura A., Shimada S., Kaji T., Lee J. B., Hayashi T., *J. Health Sci.*, **49**, 405–409 (2003).
 - 23) Kaji T., Shimada S., Yamamoto C., Fujiwara Y., Lee J. B., Hayashi T., *J. Health Sci.*, **48**, 250–255 (2002).
 - 24) Kaji T., Shimada S., Yamamoto C., Fujiwara Y., Lee J. B., Hayashi T., *J. Health Sci.*, **50**, 654–659 (2004).
 - 25) Yamamoto C., Shimada S., Fujiwara Y., Lee J. B., Hayashi T., Kaji T., *Biol. Pharm. Bull.*, **28**, 32–36 (2005).
 - 26) Kaji T., Yamada A., Miyajima S., Yamamoto C., Fujiwara Y., Wight T. N., Kinsella M. G., *J. Biol. Chem.*, **275**, 1463–1470 (2000).
 - 27) Kaji T., Yamamoto C., Oh-i M., Nishida T., Takigawa M., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **322**, 22–28 (2004).
 - 28) Kinsella M. G., Tsoi C. K., Jarvelainen H. T., Wight T. N., *J. Biol. Chem.*, **272**, 318–325 (1997).
 - 29) Kaji T., Yamamoto C., Oh-i M., Fujiwara Y., Yamazaki Y., Morita T., Plaas A. H., Wight T. N., *Biochim. Biophys. Acta*, **1760**, 1465–1474 (2006).
 - 30) Shönherr E., Järveläinen H. T., Sandell L. J., Wight T. N., *J. Biol. Chem.*, **266**, 17640–17647 (1991).
 - 31) Shönherr E., Järveläinen H. T., Kinsella M. G., Wight T. N., *Atheroscler. Thromb.*, **13**, 1026–1036 (1993).
 - 32) Yamamoto C., Wakata T., Fujiwara Y., Kaji T., *Biochim. Biophys. Acta*, **1722**, 92–102 (2005).
 - 33) Koide T., Odani S., Takahashi K., Ono T., Sakuragawa N., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **81**, 289–293 (1984).
 - 34) Saito S., Takahashi K., Sakuragawa N., *Thromb. Res.*, **50**, 19–25 (1988).
 - 35) Sakuragawa N., Takahashi K., Kondo S., Koide T., *Thromb. Res.*, **31**, 305–317 (1983).
 - 36) Aviezer D., Levy E., Safran M., Svahn C., Buddecke E., Schmidt A., David G., Vlodyavsky I., Yayon A., *J. Biol. Chem.*, **269**, 114–121 (1994).
 - 37) Cohen T., Gitay-Goren H., Sharon R., Shibuya M., Halaban R., Levi B. Z., Neufeld G., *J. Biol. Chem.*, **270**, 11322–11326 (1995).