

2006

グルコサミン研究 2

Glucosamine Research

さらなる可能性を求めて

編集

グルコサミン研究会

長岡 功
中村 洋
野村 義宏
南 三郎

Glucosamine

Glucosamine

Glucosamine

Glucosamine

グルコサミン研究会

グルコサミン塩酸塩およびグルコサミン類似糖が軟骨細胞株 ATDC 5 に及ぼす影響

中谷祥恵¹⁾, 真野 博¹⁾, 清水 純¹⁾, 和田政裕¹⁾

要 旨

高齢社会を迎え、QOL低下の一因となる一次性変形性関節症が問題となっている。現在、変形性関節症の疼痛緩和を目的に、グルコサミン含有の健康食品を利用する人が増えている。しかし、グルコサミンの関節軟骨への作用メカニズムは不明な点が多い。そこでわれわれは、グルコサミンとグルコサミン含有健康食品の原材料であるキチンおよびキチン・キトサン誘導體類を含むグルコサミン類似糖が、軟骨細胞株 ATDC 5 に与える影響を検討し、これらの作用メカニズムについて解明することを目的に研究を実施した。

ATDC 5 をグルコサミン塩酸塩あるいは、グルコサミン類似糖存在下で培養し、これらの物質の軟骨細胞の増殖・分化に与える影響を調べた。増殖は MTT 活性、分化はアルカリフォスファターゼ活性を指標に検討した。その結果、グルコース、N-アセチルグルコサミン、キトビオース、キトサンダイマー、ラクトース、ラクトサミン、N-アセチルラクトサミンは、ATDC 5 の増殖や分化に影響を与えなかった。一方、グルコサミン塩酸塩は ATDC 5 の増殖に影響を与えなかったが、ATDC 5 の分化を抑制した。

次に、グルコサミン塩酸塩が ATDC 5 の基質産生および石灰化に影響を与えるかどうかを、アルシアンブルー (pH 2.5 および pH 1.0) 染色およびアリザリンレッド染色の手法を用いて検討した。その結果、グルコサミン塩酸塩を添加した ATDC 5 の石灰化は、顕著に抑制されていた。さらに、グルコサミン塩酸塩は硫酸基をもつグリコサミノグリカンの産生を誘導した。また、グルコサミン塩酸塩添加による ATDC 5 の遺伝子発現パターンを、RT-PCR 法を用いて解析した。その結果、グルコサミン塩酸塩は、転写因子である Smad 2, Smad 4 および軟骨特異的基質蛋白質の matrix Gla protein (MGP) の mRNA 発現を抑制した。

以上の結果より、グルコサミン塩酸塩は軟骨組織の石灰化を抑制し、コンドロイチン硫酸の産生を促進する可能性が考えられた。グルコサミン塩酸塩の石灰化抑制メカニズムは、転写因子である Smad 2, Smad 4 の mRNA 発現を調節することにより、MGP などの軟骨基質遺伝子の発現を介して石灰化を抑制している可能性が考えられた。

グルコサミン研究 2 : 8-14, 2006

keywords

グルコサミン, ATDC 5, 軟骨, グリコサミノグリカン, Smad

はじめに

軟骨組織の弾力性および圧縮抵抗性は、軟骨細胞および軟骨細胞間基質により維持されている。加齢、食

生活の乱れ、疾病および薬物の影響、メカニカルストレスなど、さまざまな要因で変形性関節症を発症した軟骨組織は、軟骨細胞間基質が減少し、軟骨の異所石灰化を起こしている¹⁻³⁾。近年、変形性関節症 (OA)

の疼痛緩和を目的として、ヒアルロン酸やコンドロイチン硫酸などの構成糖であるグルコサミンが経口摂取されている⁴⁾。ヒアルロン酸は、N-アセチルグルコサミンとグルクロン酸が交互に結合してできた直鎖状の高分子多糖である⁵⁾。コンドロイチン硫酸は、ガラクトサミンとグルクロン酸を構成糖とし、アグリカンの側鎖として軟骨組織に存在している⁶⁾。グルコサミン摂取による変形性関節症の症状改善効果は臨床レベルでは報告されているが、詳しい作用メカニズムは現状では不明である^{7,8)}。また、グルコサミン含有健康食品は、キチン加水分解物が利用されているが、N-アセチルグルコサミンを含むグルコサミン類似糖の有効性は検討されていない。

内軟骨性骨化は、軟骨細胞が間葉系幹細胞から分化し、軟骨細胞の増殖・成熟・肥大化の過程を経て、骨に置換される骨の形成過程である⁹⁾。その際、関節軟骨や肋軟骨など、一部の組織は骨に置換せず軟骨のまま維持される。軟骨維持の詳しいメカニズムは不明な点が多いが、さまざまな転写因子によって軟骨および骨の形成過程は調節を受けており、これらを介して、細胞間基質などの産生が調節され軟骨の分化・増殖が制御されている^{10,11)}。軟骨が石灰化する前段階で、アルカリフォスファターゼ (ALP) 活性が上昇することが必須であると考えられており、成熟した軟骨細胞は、ヒアルロン酸やコンドロイチン硫酸などのグリコサミノグリカンを生産し、軟骨細胞の性質を維持する役割を担っている^{12,13)}。

軟骨細胞間基質としてよく知られているII型コラーゲン (Col2) は、軟骨特異的のコラーゲンで、軟骨形成過程の増殖軟骨細胞期および肥大化軟骨細胞期の細胞間基質に存在し、石灰化軟骨細胞期および骨形成の過程では消失することが報告されている¹⁴⁾。matrix Gla protein (MGP) は、軟骨細胞間基質蛋白質の一つで、血管内皮細胞の動脈硬化部においても観察されていることから、石灰化に深く関与する蛋白質の一つであると考えられている^{15,16)}。bone Gla protein (BGP) は骨特異的基質蛋白質で、軟骨形成および骨形成過程の進行に伴い増加し、骨基質を維持するために重要な蛋白質であると考えられている¹⁷⁾。

軟骨細胞の増殖・分化を制御する増殖因子は、bone morphogenetic protein (BMP) 群や、transforming growth factor β (TGF- β) がよく知られている¹⁸⁾。これらは、細胞膜に存在するレセプターに結合後、転写因子の Smad 群をリン酸化し、軟骨特異的遺伝子の発現を調節する¹⁹⁾。Smad 2 は、骨形成因子の一つであ

る TGF- β の下流に存在し、軟骨の分化を促進する転写因子の一つと考えられている^{19,20)}。また、Smad 2 は Sox 9 や Runx 2 などとヘテロ二量体を形成することにより、Sox 9 や Runx 2 の下流に存在する軟骨特異的遺伝子の発現を調節すると考えられている¹⁹⁾。Smad 4 はリン酸化された Smad 2 や Smad 3 とヘテロ二量体を形成し、さまざまな転写因子と相互作用することによって、軟骨の分化を制御していると考えられている^{19,21)}。Sox 9 は Sox family に属する転写因子の一つで、間葉系幹細胞から軟骨細胞への分化の誘導と、肥大化軟骨細胞への分化の抑制を調節する軟骨特異的転写因子と考えられている^{19,22,23)}。Runx 1 は肥大化軟骨に発現し、内軟骨性骨化に必要な転写因子の一つと考えられている^{19,24)}。一方、Runx 2 は成熟軟骨に発現し、骨細胞への置換に必要な骨特異的転写因子の一つと考えられている^{19,25,26)}。

今回われわれは、培養軟骨細胞株 ATDC 5 を用いて、グルコサミン塩酸塩およびグルコサミン類似糖が、軟骨細胞の増殖・分化に与える影響を比較し、グルコサミン塩酸塩およびグルコサミン類似糖が、軟骨細胞外基質の構成糖としてのみではなく、軟骨細胞の増殖および分化に影響を与える可能性を検討した。さらに、グルコサミンが軟骨組織維持に及ぼすメカニズム解明のため、軟骨細胞外基質蛋白質および転写因子の mRNA 発現について検討した。

I. 実験方法

1 細胞培養

培養軟骨細胞株は、mouse teratocarcinoma cell AT 805 由来の垂株である ATDC 5 細胞を用いた (RIKEN Cell Bank No.RCB 0565)²⁷⁾。ATDC 5 の培地は、Dulbecco's modified Eagle's 培地 と Ham's F 12 培地の 1:1 混合培地 (Invitrogen) に、5% ウシ胎児血清 (FBS, Invitrogen), 100 μ l/ml ペニシリン, 50 μ l/ml ストレプトマイシンを添加し用いた。ATDC 5 は 37°C, 5% CO₂ の条件で培養した。継代は 0.25% トリプシン 0.02% EDTA 溶液 (Sigma Aldrich) を用い、2~3 日ごとに行った。

グルコサミン塩酸塩およびグルコサミン類似糖が軟骨細胞の分化に与える影響を調べるために、通常培地 (N), グルコース (Glc), グルコサミン塩酸塩 (GlcN), N-アセチルグルコサミン (GlcNAc), キトサンダイマー (GlcN)₂, キトピオース (GlcNAc)₂,

ラクトース (Gal-Glc), ラクトサミン (Gal-GlcN), N-アセチルラクトサミン (Gal-GlcNAc) をそれぞれ最終濃度で $1 \mu\text{g/ml}$ になるように培地中に添加した。

2 | アルカリフォスファターゼ染色法

アルカリフォスファターゼ (ALP) 染色液は $0.05 \text{ M AMP Buffer (pH 9.8)}$, $10 \text{ mM Naphthol AS-BI Phosphate (Sigma)}$, $1 \text{ mM Fast Red Violet LB Salt (Sigma)}$ を使用した。細胞は、96穴細胞培養用マイクロテストプレートを用い、約 5×10^3 個ずつ播種し、GlcN およびグルコサミン類似糖を添加後、5日間培養した。培養後、細胞を20%ホルマリンで固定し、ALP染色液を用いて 37°C インキュベータ内で15分反応させ、水洗した。染色結果は、画像解析ソフト NIH-image を用いて数値化した。

3 | アルシアンブルー染色法

Alcian Blue 8 GX (Fluka) を $0.5 \text{ M 酢酸 (pH 2.5)}$ あるいは $0.1 \text{ M 塩酸 (pH 1.0)}$ に溶解し、1% アルシアンブルー溶液 (AB pH 2.5) ならびに (AB pH 1.0) を作製した。各アルシアンブルー溶液は用時濾過し、使用した。細胞は24穴細胞培養用マイクロテストプレートを用い、約 2.5×10^4 個ずつ播種し、GlcN およ

びグルコサミン類似糖を添加後、35日間培養した。培養期間中、3日ごとに培地交換を行った。35日間培養後、20%ホルマリンで固定した。固定した細胞は、アルシアンブルー染色液を室温で一晩反応させ、水洗した。染色結果は、画像解析ソフト NIH-image を用いて数値化した。

4 | アリザリンレッド染色法

アリザリンレッド染色は、Alizarin Red S-Certified (Sigma) と28%アンモニア水を用いて1%アリザリンレッド溶液 (pH 6.38) を調製し、染色に用いた。細胞は24穴細胞培養用マイクロテストプレートを用い、約 2.5×10^4 個ずつ播種し、GlcN およびグルコサミン類似糖を添加後、35日間培養した。培養期間中、3日ごとに培地交換を行った。35日間培養後、20%ホルマリンで固定した。染色は、2回水洗後、アリザリンレッド染色液と室温で10分間反応させ、水洗し、石灰化を評価した。染色結果は、画像解析ソフト NIH-image を用いて数値化した。

5 | RT-PCR 法

ATDC 5 を 6 cm シャーレを用いて、約 5×10^5 個ずつ播種し、GlcN およびグルコサミン類似糖を添加

表1 PCR条件

遺伝子	シーケンス	アニーリング温度	サイクル数
Smad 2	5' -CCCACTCCATTCCAGAAAAC-3' 3' -AACACCAGAATGCAGGTTCC-5'	58	25
Smad 4	5' -CGTGCTTACCCACTGAAGGA-3' 3' -GCTGGCTGAGCAGTAAATCC-5'	58	25
Sox 9	5' -TGCAGCACAAGAAAGACCAC-3' 3' -CCCTCTCGCTTCAGATCAAC-5'	58	30
Runx 1	5' -ACTTCCTCTGCTCCGTGCTA-3' 3' -GGTCGTTGAATCTCGCTACC-5'	58	25
Runx 2	5' -ATGGTGGAGATCATCGCGGACCACCCGGCC-3' 3' -ACACCTACTCTCATACTGGGATGAGGAATG-5'	58	28
Col 2	5' -GTCGAGCAGCAAGAGCAAGGA-3' 3' -CTTGCCCCACTTACCAAGTGC-5'	58	28
MGP	5' -ATGAAGAGCCTGCTCCCTCT-3' 3' -CTAATATTTGGCTCCTCGGC-5'	58	22
BGP	5' -GCAGCTTGGTGCACACCTAGCAGACACCAT-3' 3' -GGAGCTGCTGTGACATCCATACTTGCAGGG-5'	58	22

後、3日間培養した。RNAはTrizol Reagent (Invitrogen)を用い抽出した。抽出したRNAはDPC処理水に溶解後、分光光度計を用い定量した。cDNAは、常法に従い1 μ gのRNAから、逆転写酵素反応法で合成した。PCRは常法に従い表1のプライマーを用いて行った。

II. 結果

1 | グルコサミン塩酸塩およびグルコサミン類似糖が軟骨細胞株 ATDC 5 の ALP 活性に与える影響

ALP活性を比較した結果、本実験で用いたGlcNは、グルコサミン類似糖であるGlc, GlcNAc, (GlcN)₂, (GlcNAc)₂, Gal-Glc, Gal-GlcN, Gal-GlcNAcと比較してALP活性を抑制した(図1A)。染色結果を、画像分析ソフトNIH-imageを用いて数値化した結果、GlcNは、ネガティブコントロールであるGlcと比較しALP活性は約1/3に減少した(図1B)。この結果から、GlcNは軟骨細胞の分化を顕著に抑制す

ると考えられた。一方、グルコサミン類似糖であるGlcNAc, (GlcN)₂, (GlcNAc)₂, Gal-Glc, Gal-GlcN, Gal-GlcNAcは、ATDC 5のALP活性に影響を与えなかった。また、結果には示さないが、グルコサミン塩酸塩およびグルコサミン類似糖の添加は、本実験条件においてMTTアッセイによるATDCの細胞増殖能に影響を与えなかった。

2 | グルコサミン塩酸塩が軟骨細胞株 ATDC 5 の石灰化に与える影響

GlcNはATDC 5のALP活性を顕著に抑制したため、GlcNがATDC 5の石灰化に与える影響を検討した。ATDC 5の石灰化は、アリザリンレッド染色を用いて比較した。その結果、GlcNは、ネガティブコントロール(Glc)と比較して、石灰化を著しく抑制した(図2)。

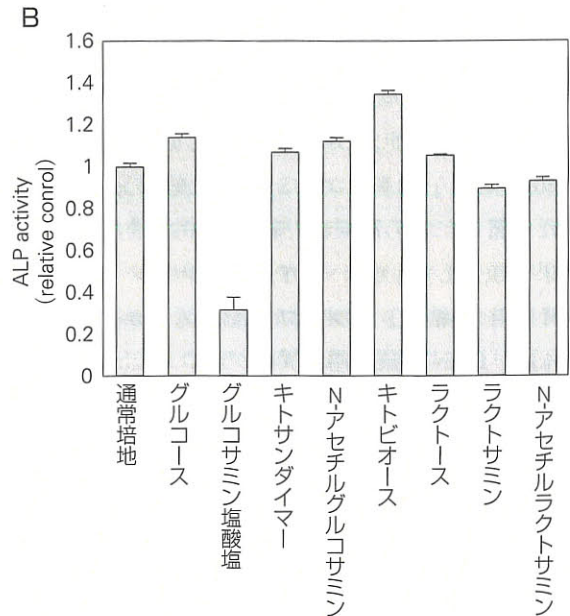
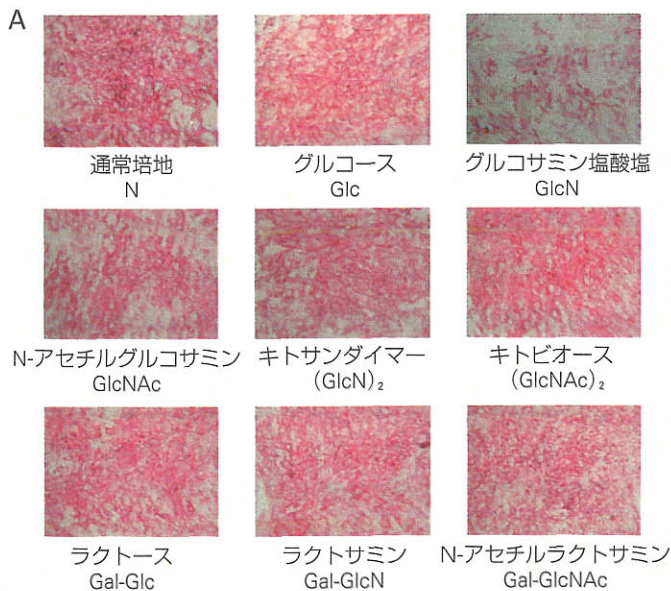


図1 グルコサミン塩酸塩およびグルコサミン類似糖が、培養軟骨細胞株 ATDC 5 の分化に与える影響

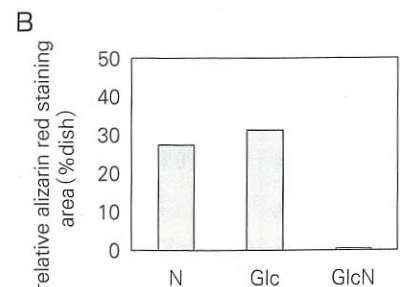
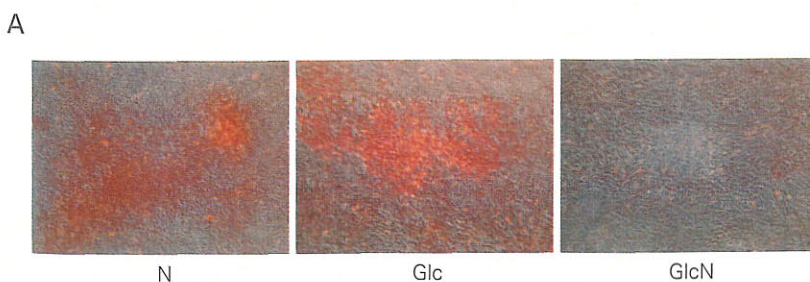


図2 グルコサミン塩酸塩が培養軟骨細胞株 ATDC 5 の石灰化に与える影響

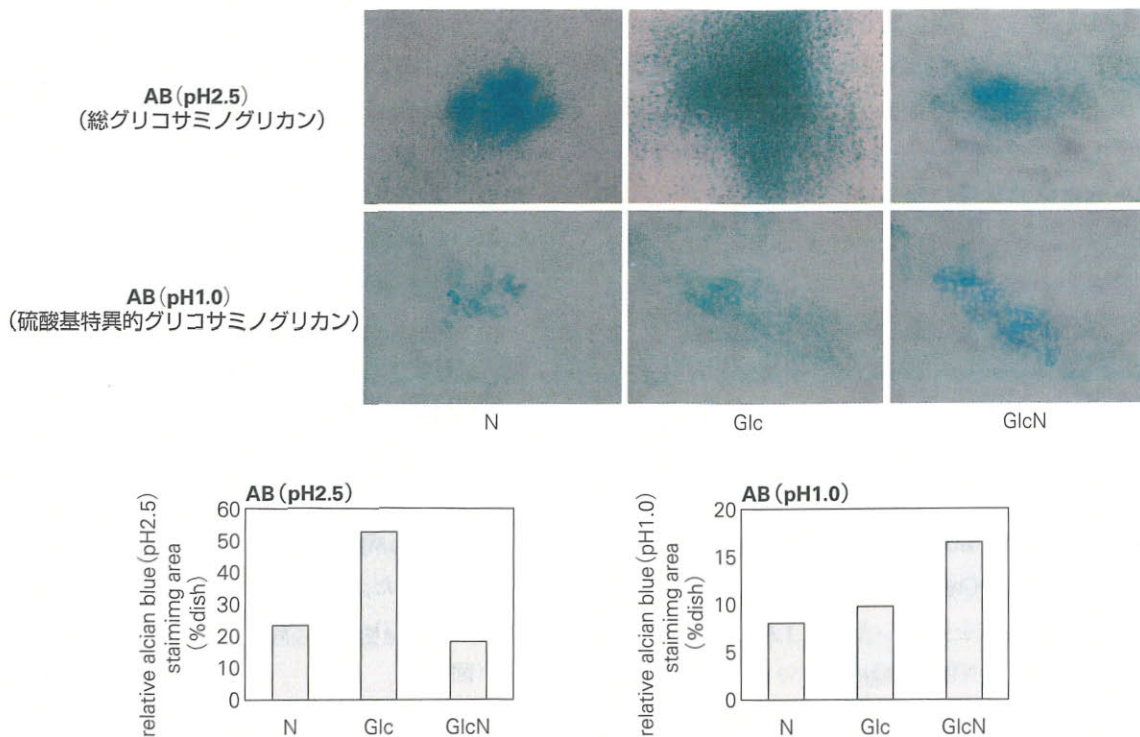


図3 グルコサミン塩酸塩が培養軟骨細胞株 ATDC 5 のグリコサミノグリカン産生に与える影響

3 | グルコサミン塩酸塩が軟骨細胞株 ATDC 5 のグリコサミノグリカン産生に与える影響

アルシアンブルー染色 (pH 2.5) を用いて、総グリコサミノグリカンの産生を検討した結果、GlcN は Glc と比較し、総グリコサミノグリカンの産生を抑制した (図 3)。この結果は、石灰化および ALP 活性の結果と類似していた。一方、アルシアンブルー染色 (pH 1.0) の結果、総グリコサミノグリカンの染色と異なり、GlcN は硫酸基特異的グリコサミノグリカンの産生を促進した (図 3)。

4 | グルコサミン塩酸塩が軟骨細胞基質遺伝子群の mRNA 発現に与える影響

RT-PCR 法を用いて、軟骨培養細胞 ATDC 5 における GlcN が軟骨細胞基質遺伝子の mRNA 発現に与えた影響を図 4 に示した。その結果、Col 2 mRNA と

BGP の発現量は、GlcN と Glc で顕著な差がなかったが、MGP mRNA 量は、GlcN によって Glc の約 2/3 量に減少した。

5 | グルコサミン塩酸塩が転写因子群の mRNA 発現に与える影響

RT-PCR 法を用いて、軟骨培養細胞 ATDC 5 において GlcN が軟骨特異的転写因子群の mRNA 発現量に与える影響を図 5 に示した。その結果、Smad 2 と Smad 4 の mRNA 量が、GlcN によって Glc の約 2/3 に減少した。それに対して、Runx 1, Runx 2, Sox 9 の mRNA は GlcN の影響を受けなかった。

III. 考察

本実験の結果、GlcN は、その他のグルコサミン類

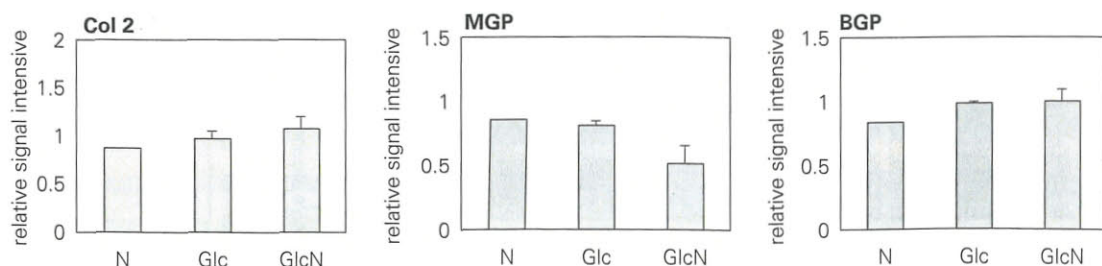


図4 グルコサミン塩酸塩が培養軟骨細胞株 ATDC 5 の軟骨基質蛋白質 mRNA 発現量に与える影響

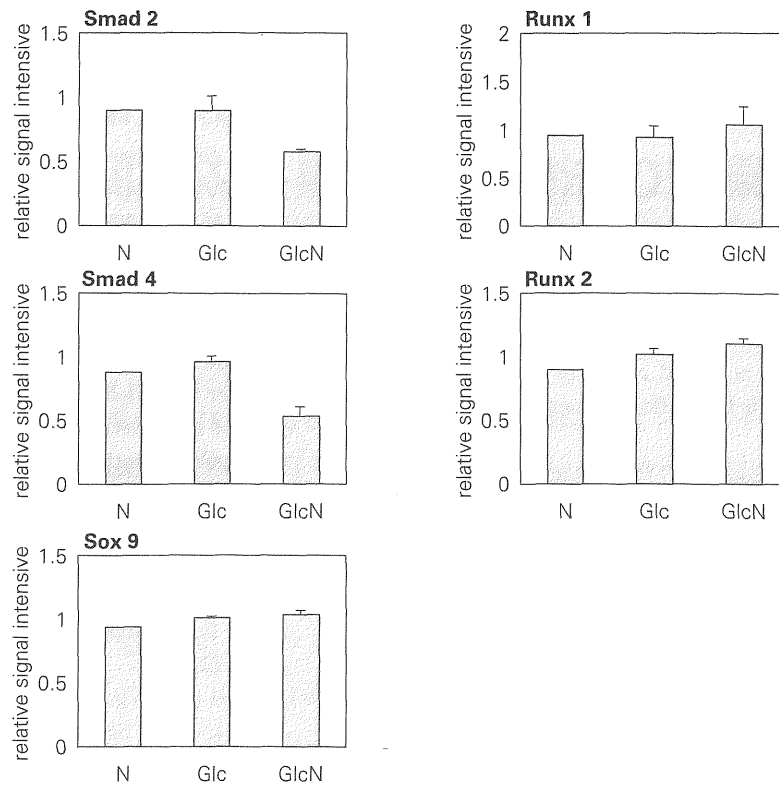


図5 グルコサミン塩酸塩が培養軟骨細胞株 ATDC 5 の軟骨特異的転写因子 mRNA 発現量に与える影響

似糖と比較して、ATDC 5 の ALP 活性を低下させることが判明した。GlcN は、ATDC 5 の ALP 活性を抑制したことから、軟骨細胞の分化調節に関与している可能性が考えられた。一方、GlcN にみられた軟骨分化調節作用は、GlcNAc およびその他グルコサミン類似二糖類では観察されなかった。

GlcN およびグルコサミン類似糖の添加は、ATDC 5 の増殖には影響を与えなかった。したがって、GlcN は、本実験で使用した濃度では、ATDC 5 に細胞毒性を与えないと考えられた。

GlcN による分化調節作用が ATDC 5 の石灰化に影響を与えているかについて検討した結果、ATDC 5 において、GlcN は、顕著に石灰化を抑制することが明らかとなった。さらに、GlcN が、総グリコサミノグリカン産生および硫酸基をもつグリコサミノグリカンの産生に影響を与えるかどうかについて検討した結果、GlcN は、硫酸基をもつグリコサミノグリカンの産生を誘導することが判明した。

軟骨の代表的なグリコサミノグリカンには、ヒアルロン酸およびアグリカンの側鎖であるコンドロイチン硫酸やケラタン硫酸がある¹²⁾。今回の結果から、GlcN はヒアルロン酸ではなく、コンドロイチン硫酸やケラタン硫酸の産生調節を介して、石灰化を抑制している可能性が考えられた。

そこで、石灰化抑制およびコンドロイチン硫酸・ケラタン硫酸産生誘導に関与する遺伝子を検討した。その結果、GlcN が MGP mRNA の発現を抑制したことから、GlcN は軟骨細胞の MGP 遺伝子発現を介して、石灰化を抑制した可能性が考えられた。さらに、コンドロイチン硫酸・ケラタン硫酸の産生を誘導した GlcN は、Smad 2 と Smad 4 mRNA の発現量を減少させた。Smad 2 は TGF- β の下流に存在する転写因子として知られている¹⁸⁾。また、Smad 2 は、Sox 9 および Runx 2 と結合し、軟骨の分化過程を調節している可能性が報告されている^{19,20)}。以上のことより、GlcN の石灰化抑制作用は、Smad 2 の発現調節を介し、Smad 2 が関与する SOX 9 および Runx 2 の遺伝子発現制御を通して、最終的にその下流の MGP や軟骨基質蛋白質の発現を制御している可能性が考えられた。

本実験の結果から、GlcN は、軟骨細胞の石灰化を抑制する可能性が示唆された。その作用機構は、転写因子である Smad 2 や Smad 4 の mRNA 発現を調節することにより、MGP およびコンドロイチン硫酸産生に関わる遺伝子など、軟骨特異的遺伝子の発現を調節している可能性が考えられた。さらに GlcN による ATDC 5 石灰化抑制作用は、GlcNAc およびグルコサミン類似二糖類では得られない可能性が考えられた。

本実験は ATDC 5 を用いた *in vitro* 石灰化アッセイ

系を用いて実験を行った。今後、*in vivo*の動物実験系やヒトでの有効性を検討することが必要であると考える。

◆参考文献

- 1) Karpouzas GA, Terkeltaub RA : New developments in the pathogenesis of articular cartilage calcification. *Curr Rheumatol Rep* 1 (2) : 121-127,1999
- 2) Bonucci E : Crystal ghosts and biological mineralization ; fancy spectres in an old castle, or neglected structures worthy of belief? *J Bone Miner Metab* 20 (5) : 249-265,2002
- 3) Peach CA, Carr AJ, Loughlin J : Recent advances in the genetic investigation of osteoarthritis. *Trends Mol Med* 11 (4) : 186-191,2005
- 4) Goggs R, et al : Nutraceutical therapies for degenerative joint diseases ; a critical review. *Crit Rev Food Sci Nutr* 45 (3) : 145-164,2005
- 5) Laurent T : The biology of hyaluronan ; introduction. *Ciba Found Symp* 143 : 1-20,1989
- 6) Blair HC, Zaidi M, Schlesinger PH : Mechanisms balancing skeletal matrix synthesis and degradation. *Biochem J* 364 (Pt 2) : 329-341,2002
- 7) Fujita T, et al : The effect of active absorbable algal calcium (AAA Ca) with collagen and other matrix components on back and joint pain and skin impedance. *J Bone Miner Metab* 20 (5) : 298-302,2002
- 8) Tannis AJ, Barban J, Conquer JA : Effect of glucosamine supplementation on fasting and non-fasting plasma glucose and serum insulin concentrations in healthy individuals. *Osteoarthritis Cartilage* 12 (6) : 506-511,2004
- 9) Cancedda R, et al : Developmental control of chondrogenesis and osteogenesis. *Int J Dev Biol* 44 (6) : 707-714,2000
- 10) Chung UI : Essential role of hypertrophic chondrocytes in endochondral bone development. *Endocr J* 51 (1) : 19-24,2004
- 11) Shum L, Nuckolls G : The life cycle of chondrocytes in the developing skeleton. *Arthritis Res* 4 (2) : 94-106,2002
- 12) Balcerzak M, et al : The roles of annexins and alkaline phosphatase in mineralization process. *Acta Biochim Pol* 50 (4) : 1019-1038,2003
- 13) Hoemann CD : Molecular and biochemical assays of cartilage components. *Methods Mol Med* 101 : 127-156,2004
- 14) Scott JE : Elasticity in extracellular matrix 'shape modules' of tendon, cartilage, etc ; a sliding proteoglycan-filament model. *J Physiol* 553 (Pt 2) : 335-343,2003
- 15) Yagami K, et al : Matrix GLA protein is a developmental regulator of chondrocyte mineralization and, when constitutively expressed, blocks endochondral and intramembranous ossification in the limb. *J Cell Biol* 147 (5) : 1097-1108,1999
- 16) Canfield AE, et al : Matrix Gla protein is differentially expressed during the deposition of a calcified matrix by vascular pericytes. *FEBS Lett* 487 (2) : 267-271,2000
- 17) Hunter GK, Holmyard DP, Pritzker KP : Calcification of chick vertebral chondrocytes grown in agarose gels ; a biochemical and ultrastructural study. *J Cell Sci* 104 (Pt 4) : 1031-1038,1993
- 18) Ganan Y, et al : Role of TGF beta s and BMPs as signals controlling the position of the digits and the areas of interdigital cell death in the developing chick limb autopod. *Development* 122 (8) : 2349-2357,1996
- 19) Wrana JL : Regulation of Smad activity. *Cell* 100 (2) : 189-192,2000
- 20) Ferguson CM, et al : Smad 2 and 3 mediate transforming growth factor-beta 1-induced inhibition of chondrocyte maturation. *Endocrinology* 141 (12) : 4728-4735,2000
- 21) Derynck R, Zhang YE : Smad-dependent and Smad-independent pathways in TGF-beta family signaling. *Nature* 425 (6958) : 577-584,2003
- 22) Huang W, et al : The chondrogenic transcription factor Sox 9 is a target of signaling by the parathyroid hormone-related peptide in the growth plate of endochondral bones. *Proc Natl Acad Sci USA* 98 (1) : 160-165,2001
- 23) Yamashiro T, et al : Possible roles of Runx 1 and Sox 9 in incipient intramembranous ossification. *J Bone Miner Res* 19 (10) : 1671-1677,2004
- 24) Wang Y, et al : Runx 1/AML 1/Cbfa 2 mediates onset of mesenchymal cell differentiation toward chondrogenesis. *J Bone Miner Res* 20 (9) : 1624-1636,2005
- 25) Enomoto H, et al : Runx 2 deficiency in chondrocytes causes adipogenic changes *in vitro*. *J Cell Sci* 117 (Pt 3) : 417-425,2004
- 26) Enomoto H, et al : Cbfa 1 is a positive regulatory factor in chondrocyte maturation. *J Biol Chem* 275 (12) : 8695-8702,2000
- 27) Atsumi T, et al : A chondrogenic cell line derived from a differentiating culture of AT 805 teratocarcinoma cells. *Cell Differ Dev* 30 (2) : 109-116,1990

グルコサミン研究 2

Glucosamine Research

2006年9月15日発行

編集・発行者 グルコサミン研究会
会 長 黒澤 尚
編集委員 長岡 功
中村 洋
野村義宏
南 三郎

事務局 〒113-8421 東京都文京区本郷2-1-1
順天堂大学医学部整形外科学教室 内
TEL 03-3813-3111 (代) FAX 03-3813-3428
URL <http://www.glucosamine.jp/>
E-mail glcn-res@med.juntendo.ac.jp

発行所 有限会社エイド出版
〒170-0003 東京都豊島区駒込1-43-9-602
TEL 03-3943-7529 FAX 03-3943-7561
E-mail info@aid-syuppan.co.jp

印刷所 亜細亜印刷株式会社
製本所 神保製本株式会社

定価 1,500円 (本体+税)
