

基底膜ツールキットとしてのXV/XVIII型コラーゲン遺伝子の機能

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

キーワード：基底膜，ツールキット，XV/XVIII型コラーゲン，プロテオグリカン，ミトコンドリア

Role of COLXV/XVIII gene, Multiplexin, as a basement membrane toolkit

Toshitaka Oohashi

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

はじめに

細胞外マトリックス (ECM) タンパクは複数のタンパク質モジュールやドメイン構造を持つ特徴を持つ。これは、限られたエクソンしか持っていなかった遺伝子がエクソンシャッフリングを繰り返し、様々なタンパク質のドメイン構造を生み出し進化してきた結果と考えられている¹⁾。

近年のゲノム解析の進歩に伴い、様々な生物のゲノム情報が入手できるようになり、進化的考察ができるようになった。その結果、多くのECMタンパク質遺伝子が後生動物初期に生じ、左右相称動物では共通したECMタンパク質群を保有することがわかってきた。それはまた、これらの生物が共通したECM構造を保有する事実とも相関している。基底膜もその例の1つである。

基底膜は通常40~120nmの薄さで、マトリックス分子

で構成された頑丈かつしなやかな性質をもつシートである。基底膜はほとんどの後生動物において、すべての上皮の土台となり、上皮細胞の極性を決定する重要な役目を果たしている。さらに、脊椎動物などでは筋細胞、脂肪細胞、シュワン細胞などを覆っている。基底膜はこうした細胞を周囲の結合組織から分離し、それらの間を機械的に結合する。すべての基底膜においてみられる基本コンポーネント分子として、IV型コラーゲン、ラミニン、パーレカン、ナイドジェンが挙げられる。IV型コラーゲンはC末端の2量体化、N末端の4量体化により網目状のネットワークを形成し、基底膜シートのスキヤフォールドを形成する。一方、ラミニンは α , β , γ の3量体分子であり、独自に会合体を形成し、その網目状ネットワークはナイドジェンを介してIV型コラーゲンのネットワークとリンクし、構造的機能を果たすと同時に、 γ 鎖のC末端LGモジュールは細胞膜レセプター結合を果たしている。レセプターとしては、インテグリン、ジストログリカン、硫酸化糖脂質などが存在する。ラミニン以外の基底膜成分はそれぞれ単独で細胞膜レセプターに結合する能力もあるが、基底膜がラミニンを介して細胞表面に結合

平成27年4月受理

〒700-8558 岡山市北区鹿田町2丁目5-1

電話：086-235-7127 FAX：086-222-7768

E-mail：oohashi@cc.okayama-u.ac.jp

◆プロフィール◆



昭和62年3月
平成4年3月
平成4年4月
平成8年3月
~平成9年9月
平成10年4月
平成13年4月
平成17年4月
平成19年4月
平成26年7月

京都大学薬学部卒業
岡山大学大学院自然科学研究科修了，博士（薬学）
岡山大学医学部 分子医化学教室 助手
JSPSフェローおよびMax-Planckフェロー（ドイツMax-Planck生化学研究所）
岡山大学医学部 分子医化学教室 講師
岡山大学医歯薬学総合研究科 分子医化学分野 講師
岡山大学医歯薬学総合研究科 分子医化学分野 助教授
岡山大学医歯薬学総合研究科 分子医化学分野 准教授
岡山大学医歯薬学総合研究科 分子医化学分野 教授
現在に至る

専門：分子医化学，細胞外マトリックス生物学，神経糖鎖生物学
細胞外マトリックス (ECM) は，細胞がつくる細胞外環境の中心的な存在です。ECMはレセプター等を介し細胞の機能を調整し，常に細胞へ作用しています。Extracellular Matrix supports living bodyを合言葉に私たちは分子生物学・形態学・発生学などを駆使し，生命原理の追求から臨床への橋渡し研究を行って参ります。

して初めて、他成分はかなりの量で蓄積可能となる。巨大なコアプロテインをもつヘパラン硫酸プロテオグリカンであるパーレカンもその例外でなく、基底膜スキャフォールドに蓄積していく。このように形成された基底膜はその後、ラミニンが特異的切断を受けてレセプターとの結合に変化を生じたり、MMPや他の酵素によるターンオーバーを受けるなどの変化がみられる²⁾。

興味深いことに、脊椎動物で長らく定義されてきた分子は近年モデル生物として有用とされる *C.elegans* や *Drosophila* のゲノムにも発見されてきた^{3,4)}。その結果、さらに微量コラーゲン分子として XV/XVIII 型コラーゲンもこれら生物に発見されるに至った⁵⁻⁷⁾。その後、約10の遺伝子は他のいずれもの左右相称動物のゲノム解析によっても発見されることとなり、「基底膜ツールキット」遺伝子と呼ばれるようになった⁸⁾。ツールキットとは文字どおりに訳せば工具セットとなるが、通常発生過程において形態形成に基本的な役割を果たす遺伝子群を示す。ここでは、進化的に保存された基底膜形成遺伝子群を示す。

XV/XVIII型コラーゲンの構造と発現

XV/XVIII型コラーゲンは、ほぼ同時期に我々を含む

独立した3研究グループによりマウス・ヒト遺伝子がクローニングされた⁹⁻¹²⁾。その cDNA から推定される構造的な特徴として、三重らせん構造が多数回中断された形をもつコラーゲン様ドメインがあり、さらにN末端には大きな球状ドメイン、C末端には非コラーゲン様ドメインをもつ(図1)¹³⁾。この特徴的三重らせん分断構造から、XV/XVIII型コラーゲンは Multiplexin (multiple triple helix domains and interruptions) 遺伝子ファミリーと名付けられた¹²⁾。

XVIII型コラーゲンにおいては、選択的プロモーターの使用と選択的スプライシングの作用により、N末端の異なる3つのバリエーション(S, M, L)が存在する。いずれの型にもN末端にTSP-1モジュールが含まれ、L型にはさらに Frizzled repeat が含まれる。また、バリエーションには組織特異的発現が示された^{14,15)}。一方、XV型コラーゲンについてはこのようなN末端のバリエーションは報告されていない。

XVIII型コラーゲンにみられるもう一つのユニークな特徴はヘパラン硫酸プロテオグリカン(HSPG)であることである。非コラーゲン様配列部分に3か所 Ser-Gly 配列があり、このSer残基にグリコサミノグリカン鎖が結合する可能性が示唆されていた。コラー

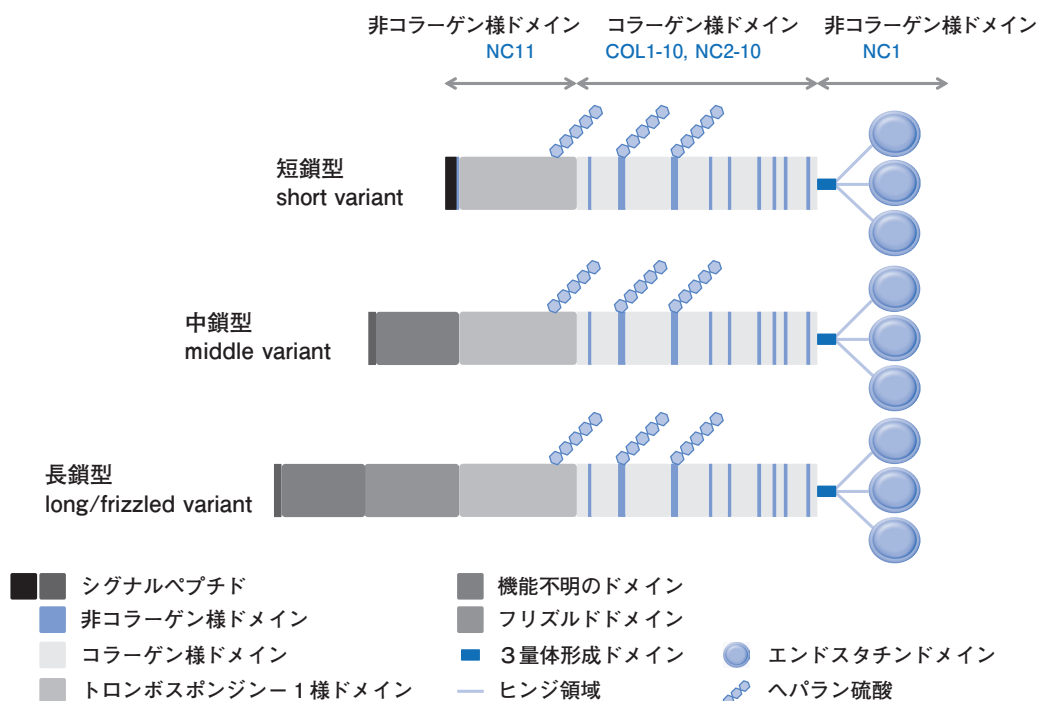


図1 XVIII型コラーゲン分子構造

N末端構造が異なる3つのアイソフォームが存在する。非コラーゲン様ドメインの3か所にヘパラン硫酸鎖が結合している。

ゲン分子の中では、IX型とXII型コラーゲンがパートタイムプロテオグリカンとして知られたが、どちらにもコンドロイチン硫酸鎖が結合している¹⁶⁾。したがって、XVIII型コラーゲンはコラーゲンとして初めてのHSPGである¹⁷⁾。基底膜HSPGとしてはパーレカン、アグリンに続く3番目のものである。一方、XV型コラーゲンにはコンドロイチン硫酸鎖の結合が確かめられた¹⁸⁾。

XVIII型コラーゲンは、ヒト・マウスでは血管や上皮基底膜に広く分布して発現しており、その一部にXV型も重複した発現がみられる。XV型は特に、筋組織基底膜での発現が顕著である¹³⁾。XVIII型には、組織特異的アイソフォームの発現も確認される¹⁹⁾。例えばL、M型は肝臓に顕著に発現しており²⁰⁾、S型は血管や上皮基底膜に多く存在する²¹⁾。一方で、眼のすべての基底膜構造にXVIII型が発現しているのは注目に値する^{22,23)}。

XVIIIコラーゲン・エンドスタチンの血管新生阻害活性

1997年にXVIII型コラーゲンのC末端NC1ドメイン由来の断片が血管内皮腫より見つかり、抗血管新生活性が示され、この断片はエンドスタチンと命名された²⁴⁾。NC1ドメインにはまず三量体化領域があり、ヒンジ領域、22kDaのエンドスタチンとからなる。エンドスタチンリコンビナントタンパク質の結晶構造解析により、11個のArg残基が集まっている表面領域があることが明らかとなり²⁵⁾、さらにその領域によるヘパリン/ヘパラン硫酸鎖への高い親和性が確認された²⁶⁾。以上より、エンドスタチンはFGF2のヘパラン硫酸鎖結合を介した血管新生促進作用に対して阻害効果を示す可能性が示唆され、実験的にそれが証明された²⁶⁾。さらに、エンドスタチンは $\alpha 5\beta 1$ 、 $\alpha v\beta 3$ 、 $\alpha v\beta 5$ 等のインテグリンやVEGFR2等のレセプターにも結合するとされる²⁷⁾。

近年、基底膜の他のコンポーネントにも血管新生阻害活性を示すものが見つかってきた²⁸⁾。パーレカンのC末端由来のエンドレペリンもその例の1つである²⁹⁾。特に興味深いのは、それら阻害活性分子の活性化に、しばしばタンパク分解による断片の遊離が必要とされている点である。エンドスタチンにおいては、ヒンジ領域に様々なプロテアーゼに感受性があることが確かめられ、血清や様々な組織中にエンドスタチン断片が検出された³⁰⁾。エンドスタチン断片自体も基底膜コンポーネントのラミニン、パーレカンなどと結合を示す。

以上のようにして、エンドスタチンは他の内在性の抗血管新生因子と共に血管新生因子とのバランスをとっていることが考えられる²⁸⁾。

XVIII型コラーゲン関連疾患あるいは遺伝子欠損マウス解析

Knobloch症候群は常染色体劣性遺伝疾患で、近視、網膜剥離を伴う硝子体網膜異常など、様々な眼の異常を呈する。Knobloch症候群家系の遺伝子連鎖解析により、染色体21q22.3に原因遺伝子の存在を示し、最終的にCOL18A1遺伝子が原因遺伝子として発見された^{31,32)}。さらに、Col18a1遺伝子欠損マウスが作製され、表現型が解析された。このマウスでも眼の様々な異常が検出された。眼の発生において、通常硝子体血管の退行が見られるが、Col18a1型遺伝子欠損マウスではこの退行の有意な遅延が観察された。また、網膜では網膜血管の伸長の遅延と異常が示された^{33,34)}。野生型マウスでのXVIII型コラーゲンの免疫電子顕微鏡観察により、眼の様々な基底膜いずれにおいても基底膜とその下のマトリックスの境界部にシグナルが認められ、基底膜とマトリックスを繋留し、基底膜のintegrityに寄与する役目が示唆された。

以上のように、XVIII型コラーゲン欠損マウスは生理的条件下で、眼を中心とした組織に表現型が報告された。しかしながら、さらに病的負荷がかかるような条件では、他の臓器でのXVIII型コラーゲンの重要性が示される結果も報告されている。動脈硬化での血管新生や血管透過性の亢進がみられた³⁵⁾。また、組織特異的機能に加え、XVIII型コラーゲンにはN末端のバリエーションやヘパラン硫酸鎖やエンドスタチンドメインが存在するので、個々のドメイン固有の機能の追求が今後求められる。腎臓におけるXVIII型コラーゲンアイソフォームの局在の詳細な検討とCol18a1欠損マウスでの表現型の検討が行われた³⁶⁾。この中で、アイソフォームの違いに関わらずC末端のエンドスタチン部分は基底膜中心部に、N末端部分は周囲のマトリックスとの境界部に局在し、XVIII型コラーゲン分子の基底膜局在には極性があることが示された。Col18a1のプロモーター1(P1)はS型のmRNA転写、プロモーター2(P2)はL型、M型のmRNA転写を行う。したがって、P1ノックアウトとP2ノックアウトによりアイソフォーム特異的機能を追求できる。糸球体における足細胞の展退はL型M型依存の表現型であり、尿管管基

底膜肥厚はS型依存の表現型であることが証明された。*Col18a1/Col15a1*欠損マウスを用いた腎臓虚血再還流モデル実験により、XVⅢ型コラーゲンのグリコサミノグリカン鎖が炎症細胞浸潤に関与することを示した³⁷⁾。

一方、XV型コラーゲンについては、ヒト疾患においての遺伝子変異は報告されていない。しかしながら、*Col15a1*欠損マウスでは、筋組織や血管の異常が観察され、それら組織の構造的成分として組織の整合性に重要と考えられる³⁸⁾。

他モデル生物 XVⅢ型コラーゲンの機能

C. elegans の XV/XVⅢ型コラーゲン相同遺伝子 *cle-1* も発見された⁵⁾。興味深いことに、マウス・ヒト XVⅢ型コラーゲンでみられたものと同様の3種類のアイソフォームが存在した。CLE-1タンパク質は基底膜での発現量が少なかったのに比べ、もっぱら神経系で高い発現を示した。*cle-1* 遺伝子の NC1ドメイン部分の欠損により、神経細胞移動や軸索誘導に異常が見られた。その表現型は、3量体を形成した NC1ドメインの発現によりレスキューすることができたが、単量体のエンドスタチン部分の発現ではレスキューできなかった。さらに、*cle-1* 遺伝子は神経筋接合部に濃縮された形で発現していた³⁹⁾。*cle-1* 遺伝子変異体の表現型は、基底膜の別のコンポーネントの遺伝子 *nid-1* 変異体表現型と厳密にみると異なっているが、共通して神経筋接合部形成異常をみとめた。これらの結果は、基底膜成分が協同して *C. elegans* の神経筋接合部形成と維持に関与することを初めて示したものである。

Drosophila の XV/XVⅢ型コラーゲン相同遺伝子 *mp* も発見された⁶⁾。*Drosophila* においても、上記の生物と同様の3つのアイソフォームが保存されていることは、これらアイソフォームの生物を通じての共通の機能が存在する可能性を示唆するものである。Mp タンパク質の構造や *mp* 遺伝子の発現パターンを解析すると、Mp は哺乳類 XV/XVⅢ型コラーゲンの両方の特徴を示す。さらに、*mp* 遺伝子 NC1ドメイン欠損変異体は運動神経の軸索誘導異常を示した。この表現型のレスキュー実験における NC1モノマーと3量体との結果は *C. elegans* での結果と反対であったが、この点は使われた生物のシステムの違いを含めてさらに議論されるべきものである。幼虫での *mp* 遺伝子の発現は神経系以外に、心臓、大動脈などにも検出された。

我々のグループは独自にトランスクリプトトラップ

法による *mp* 遺伝子低発現変異体を解析した⁷⁾。まず、*Drosophila* Mp タンパク質はコンドロイチン硫酸プロテオグリカンであることを示した。同変異体において、軸索誘導の異常は検出されなかった。しかしながら、特徴的な翅の血管パターン形成異常、背板の形態異常などが見られた。さらに、Mp の発現の詳細な解析などから、Mp は分泌因子である Wingless/Wnt の蓄積に影響を与えると考え、実際に一部の Wingless タンパク質の発現パターンの変化を証明した。これらは、Mp の Wingless/Wnt を介した形態形成の役割を示唆するものである。一方で、*Col15a1* 遺伝子欠損マウスにおいて、骨格筋の異常な変性³⁸⁾、心筋の構造異常、組織化されていないコラーゲンマトリックスの形成などが報告されていることから⁴⁰⁾、*mp* 遺伝子低発現変異体 ショウジョウバエの筋組織を詳細に解析すると、心筋細胞で筋フィラメントの低下、ミトコンドリアの断片化が観察された。骨格筋でも、ミトコンドリア形態異常、ATP 量の低下、活性酸素種の増加に加え、インテグリンの集積、リン酸化 FAK の消失が検出された。さらに、ミトコンドリア異常を軽減させる目的で、ミトコンドリア透過性転移細孔 (mPTP) 開口剤シクロスポリン A の投与、ミトコンドリア活性酸素種低減効果が知られているロサルタンを投与させたところ、有意にミトコンドリア形態の改善を伴う運動機能の回復が示された⁴¹⁾。以上の事実は、基底膜ツールキットである Mp がミトコンドリアの恒常性維持に関与することを示す新しいものである (図2)。

おわりに

新しく基底膜ツールキット遺伝子として見つかった XV/XVⅢ型コラーゲン遺伝子は、コラーゲンとしての構造的機能に加え、その多様なアイソフォーム、プロテオグリカンとしての性質、さらにエンドスタチン部分などによる多様な機能を有することが明らかになりつつある。中でも、新たにミトコンドリア機能を細胞外からコントロールすることが注目に値する。それらのメカニズム解明、疾患との関連についての研究の発展が今後期待される。

謝 辞

作図にご協力いただきました米澤朋子、百田龍輔両博士に深謝申し上げます。

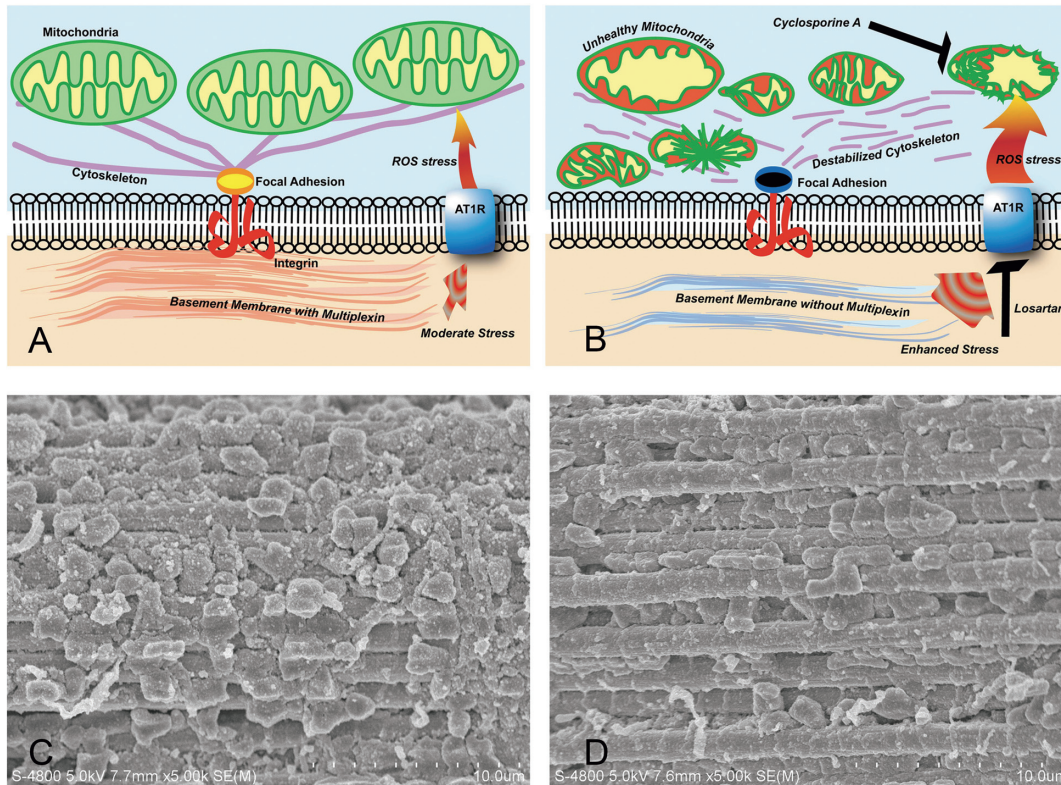


図2 ショウジョウバエ *mp* 遺伝子低発現変異体におけるミトコンドリア異常 (文献41より改変し転載)
 A, B: 基底膜-細胞間干渉モデル, C, D: 骨格筋筋原線維とミトコンドリアの走査電顕像. 基底膜には細胞外からのメカニカルストレスを軽減する作用があるが (A), *mp* 遺伝子の発現低下で, その保護的作用が低下し, ミトコンドリア異常を示す (B, C). しかしながら, シクロスポリンAやロスアルタンによる治療効果がみられ, ミトコンドリア異常も改善される (B, D).

文 献

- 1) Hynes RO: The evolution of metazoan extracellular matrix. *J Cell Biol* (2012) 196, 671-679.
- 2) Yurchenco PD: Basement membranes: cell scaffoldings and signaling platforms. *Cold Spring Harb Perspect Biol* (2011) 3, pii: a004911.
- 3) Hutter H, Vogel BE, Plenefisch JD, Norris CR, Proenca RB, Spieth J, Guo C, Mastwal S, Zhu X, Scheel J, Hedgecock EM: Conservation and novelty in the evolution of cell adhesion and extracellular matrix genes. *Science* (2000) 287, 989-994.
- 4) Hynes RO, Zhao Q: The evolution of cell adhesion. *J Cell Biol* (2000) 150, F89-96.
- 5) Ackley BD, Crew JR, Elamaa H, Pihlajaniemi T, Kuo CJ, Kramer JM: The NCI/endostatin domain of *Caenorhabditis elegans* type XVIII collagen affects cell migration and axon guidance. *J Cell Biol* (2001) 152, 1219-1232.
- 6) Meyer and Moussian: *Drosophila* multiplexin (Dmp) modulates motor axon pathfinding accuracy. *Dev Growth Differ* (2009) 51, 483-498.
- 7) Momota R, Naito I, Ninomiya Y, Ohtsuka A: *Drosophila* type XV/XVIII collagen, Mp, is involved in Wingless distribution. *Matrix Biol* (2011) 30, 258-266.
- 8) Whittaker CA, Bergeron KF, Whittle J, Brandhorst BP, Burke RD, Hynes RO: The echinoderm adhesome. *Dev Biol* (2006) 300, 252-266.
- 9) Abe N, Muragaki Y, Yoshioka H, Inoue H, Ninomiya Y: Identification of a novel collagen chain represented by extensive interruptions in the triple-helical region. *Biochem Biophys Res Commun* (1993) 196, 576-582.
- 10) Oh SP, Kamagata Y, Muragaki Y, Timmons S, Ooshima A, Olsen BR: Isolation and sequencing of cDNAs for proteins with multiple domains of Gly-Xaa-Yaa repeats identify a distinct family of collagenous proteins. *Proc Natl Acad Sci U S A* (1994) 91, 4229-4233.
- 11) Muragaki Y, Abe N, Ninomiya Y, Olsen BR, Ooshima A: The human alpha 1 (XV) collagen chain contains a large amino-terminal non-triple helical domain with a tandem repeat structure and homology to alpha 1 (XVIII) collagen. *J Biol Chem* (1994) 269, 4042-4046.
- 12) Rehn M, Pihlajaniemi T: Alpha 1 (XVIII), a collagen chain with frequent interruptions in the collagenous sequence, a distinct tissue distribution, and homology with type XV collagen. *Proc Natl Acad Sci U S A* (1994) 91, 4234-4238.
- 13) Tomono Y, Naito I, Ando K, Yonezawa T, Sado Y,

- Hirakawa S, Arata J, Okigaki T, Ninomiya Y : Epitope-defined monoclonal antibodies against multiplexin collagens demonstrate that type XV and XVIII collagens are expressed in specialized basement membranes. *Cell Struct Funct* (2002) 27, 9–20.
- 14) Muragaki Y, Timmons S, Griffith CM, Oh SP, Fadel B, Quertermous T, Olsen BR : Mouse Col18a1 is expressed in a tissue-specific manner as three alternative variants and is localized in basement membrane zones. *Proc Natl Acad Sci U S A* (1995) 92, 8763–8767.
 - 15) Rehn M, Pihlajaniemi T : Identification of three N-terminal ends of type XVIII collagen chains and tissue-specific differences in the expression of the corresponding transcripts. The longest form contains a novel motif homologous to rat and *Drosophila* frizzled proteins. *J Biol Chem* (1995) 270, 4705–4711.
 - 16) Fukai N, Eklund L, Marneros AG, Oh SP, Keene DR, Tamarkin L, Niemelä M, Ilves M, Li E, Pihlajaniemi T, Olsen BR : Lack of collagen XVIII/endostatin results in eye abnormalities. *EMBO J* (2002) 21, 1535–1544.
 - 17) Halfter W, Dong S, Schurer B, Cole GJ : Collagen XVIII is a basement membrane heparan sulfate proteoglycan. *J Biol Chem* (1998) 273, 25404–25412.
 - 18) Li D, Clark CC, Myers JC : Basement membrane zone type XV collagen is a disulfide-bonded chondroitin sulfate proteoglycan in human tissues and cultured cells. *J Biol Chem* (2000) 275, 22339–22347.
 - 19) Seppinen L, Pihlajaniemi T : The multiple functions of collagen XVIII in development and disease. *Matrix Biol* (2011) 30, 83–92.
 - 20) Liétard J, Thérêt N, Rehn M, Musso O, Dargère D, Pihlajaniemi T, Clément B : The promoter of the long variant of collagen XVIII, the precursor of endostatin, contains liver-specific regulatory elements. *Hepatology* (2000) 32, 1377–1385.
 - 21) Saarela J, Rehn M, Oikarinen A, Autio-Harmainen H, Pihlajaniemi T : The short and long forms of type XVIII collagen show clear tissue specificities in their expression and location in basement membrane zones in humans. *Am J Pathol* (1998) 153, 611–626.
 - 22) Ylikärppä R, Eklund L, Sormunen R, Kontiola AI, Utriainen A, Määttä M, Fukai N, Olsen BR, Pihlajaniemi T : Lack of type XVIII collagen results in anterior ocular defects. *FASEB J* (2003) 17, 2257–2259.
 - 23) Määttä M, Heljasvaara R, Pihlajaniemi T, Uusitalo M : Collagen XVIII/endostatin shows a ubiquitous distribution in human ocular tissues and endostatin-containing fragments accumulate in ocular fluid samples. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* (2007) 245, 74–81.
 - 24) O'Reilly MS, Boehm T, Shing Y, Fukai N, Vasios G, Lane WS, Flynn E, Birkhead JR, Olsen BR, Folkman J : Endostatin : an endogenous inhibitor of angiogenesis and tumor growth. *Cell* (1997) 88, 277–285.
 - 25) Hohenester E, Sasaki T, Olsen BR, Timpl R : Crystal structure of the angiogenesis inhibitor endostatin at 1.5 Å resolution. *EMBO J* (1998) 17, 1656–1664.
 - 26) Sasaki T, Larsson H, Kreuger J, Salmivirta M, Claesson-Welsh L, Lindahl U, Hohenester E, Timpl R : Structural basis and potential role of heparin/heparan sulfate binding to the angiogenesis inhibitor endostatin. *EMBO J* (1999) 18, 6240–6248.
 - 27) Iozzo RV, Schaefer L : Proteoglycan form and function : A comprehends nomenclature of proteoglycans. *Matrix Biol* (2015) in press.
 - 28) Marneros AG, Olsen BR : Physiological role of collagen XVIII and endostatin. *FASEB J* (2005) 19, 716–728.
 - 29) Mongiat M, Sweeney SM, San Antonio JD, Fu J, Iozzo RV : Endorepellin, a novel inhibitor of angiogenesis derived from the C terminus of perlecan. *J Biol Chem* (2003) 278, 4238–4249.
 - 30) Sasaki T, Fukai N, Mann K, Göhring W, Olsen BR, Timpl R : Structure, function and tissue forms of the C-terminal globular domain of collagen XVIII containing the angiogenesis inhibitor endostatin. *EMBO J* (1998) 17, 4249–4256.
 - 31) Sertié AL, Sossi V, Camargo AA, Zatz M, Brahe C, Passos-Bueno MR : Collagen XVIII, containing an endogenous inhibitor of angiogenesis and tumor growth, plays a critical role in the maintenance of retinal structure and in neural tube closure (Knobloch syndrome). *Hum Mol Genet* (2000) 9, 2051–2058.
 - 32) Suzuki OT, Sertié AL, Der Kaloustian VM, Kok F, Carpenter M, Murray J, Czeizel AE, Kliemann SE, Rosemberg S, Monteiro M, Olsen BR, Passos-Bueno MR : Molecular analysis of collagen XVIII reveals novel mutations, presence of a third isoform, and possible genetic heterogeneity in Knobloch syndrome. *Am J Hum Genet* (2002) 71, 1320–1329.
 - 33) Fukai N, Eklund L, Marneros AG, Oh SP, Keene DR, Tamarkin L, Niemelä M, Ilves M, Li E, Pihlajaniemi T, Olsen BR : Lack of collagen XVIII/endostatin results in eye abnormalities. *EMBO J* (2002) 21, 1535–1544.
 - 34) Ylikärppä R, Eklund L, Sormunen R, Kontiola AI, Utriainen A, Määttä M, Fukai N, Olsen BR, Pihlajaniemi T : Lack of type XVIII collagen results in anterior ocular defects. *FASEB J* (2003) 17, 2257–2259.
 - 35) Moulton KS, Olsen BR, Sonn S, Fukai N, Zurakowski D, Zeng X : Loss of collagen XVIII enhances neovascularization and vascular permeability in atherosclerosis. *Circulation* (2004) 110, 1330–1336.
 - 36) Kinnunen AI, Sormunen R, Elamaa H, Seppinen L, Miller RT, Ninomiya Y, Janmey PA, Pihlajaniemi T : Lack of collagen XVIII long isoforms affects kidney podocytes, whereas the short form is needed in the proximal tubular

- basement membrane. *J Biol Chem* (2011) 286, 7755–7764.
- 37) Zaferani A, Talsma DT, Yazdani S, Celie JW, Aikio M, Heljasvaara R, Navis GJ, Pihlajaniemi T, van den Born J : Basement membrane zone collagens XV and XVIII/ proteoglycans mediate leukocyte influx in renal ischemia/ reperfusion. *PLoS One* (2014) 9, e106732.
- 38) Eklund L, Piihola J, Komulainen J, Sormunen R, Ongvarrasopone C, Fässler R, Muona A, Ilves M, Ruskoaho H, Takala TE, Pihlajaniemi T : Lack of type XV collagen causes a skeletal myopathy and cardiovascular defects in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* (2001) 98, 1194–1199.
- 39) Ackley BD, Kang SH, Crew JR, Suh C, Jin Y, Kramer JM : The basement membrane components nidogen and type XVIII collagen regulate organization of neuromuscular junctions in *Caenorhabditis elegans*. *J Neurosci* (2003) 23, 3577–3587.
- 40) Rasi K, Piihola J, Czabanka M, Sormunen R, Ilves M, Leskinen H, Rysä J, Kerkelä R, Janmey P, Heljasvaara R, Peuhkurinen K, Vuolteenaho O, et al. : Collagen XV is necessary for modeling of the extracellular matrix and its deficiency predisposes to cardiomyopathy. *Circ Res* (2010) 107, 1241–1252.
- 41) Momota R, Narasaki M, Komiyama T, Naito I, Ninomiya Y, Ohtsuka A : *Drosophila* type XV/XVIII collagen mutants manifest integrin mediated mitochondrial dysfunction, which is improved by cyclosporin A and losartan. *Int J Biochem Cell Biol* (2013) 45, 1003–1011.