

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31日現在

機関番号：15301  
 研究種目：基盤研究（S）  
 研究期間：2007～2011  
 課題番号：19109008  
 研究課題名（和文） CCNファミリーの新規シグナルコンダクターとしての包括的分子基盤の解明とその応用  
 研究課題名（英文） Comprehensive study on molecular basis of actions of CCN family proteins as novel signal conductors and its translational application  
 研究代表者  
 滝川 正春（TAKIGAWA MASAHARU）  
 岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・教授  
 研究者番号：20112063

研究成果の概要（和文）：CCNファミリータンパク質が、オーケストラの指揮者（コンダクター）が様々な楽器を駆使してシンフォニーを奏でるが如く、「細胞外シグナルをハーモナイズさせるコンダクター」というべき新概念のタンパク質群であることを証明し、従来の細胞外シグナルネットワーク研究の刷新に繋がる成果を挙げた。また、同タンパク質の「調和ある組織再生」への応用と「異常発現で誘発される疾患の治療」へ向けての基礎データの集積という医学的応用に結びつく成果を挙げた。

研究成果の概要（英文）：We have established a novel concept that CCN family proteins should be considered a newly classified signaling molecules that comprehensively regulate extracellular signals, and thus should be entitled “Signal Conductors.” Moreover, we have accumulated basic data for application of CCN proteins toward harmonized regenerative medicine and for therapeutics of diseases with their abnormal upregulation, leading to their medical applications.

交付決定額

（金額単位：円）

|        | 直接経費       | 間接経費       | 合計          |
|--------|------------|------------|-------------|
| 2007年度 | 26,100,000 | 7,830,000  | 33,930,000  |
| 2008年度 | 17,000,000 | 5,100,000  | 22,100,000  |
| 2009年度 | 17,000,000 | 5,100,000  | 22,100,000  |
| 2010年度 | 15,400,000 | 4,620,000  | 20,020,000  |
| 2011年度 | 9,500,000  | 2,850,000  | 12,350,000  |
| 総計     | 85,000,000 | 25,500,000 | 110,500,000 |

研究分野：CCNタンパク質・遺伝子ファミリー、硬組織分子細胞生物学

科研費の分科・細目：歯学・機能系基礎歯科学

キーワード：CCNファミリー、シグナルコンダクター、結合分子、遺伝子発現

1. 研究開始当初の背景

CCNファミリーは、Cystein-rich 61 (Cyr61:CCN1), Connective tissue growth factor (CTGF:CCN2), Nephroblastoma Overexpressed (Nov:CCN3)の3つの頭文字をとって命名された現在6種からなる、特徴的な4つのモジュール構造を有するタンパク質ファミリーである。その“調和ある再生作用”や“組

織をチューニングする作用”は各モジュールに成長因子、細胞外マトリックス並びにマトリックス分解酵素が結合することによるものと推察されていたが、その分子基盤の解明が待たれていた。

2. 研究の目的

CCNファミリータンパク質が細胞外で交

錯する種々のシグナルのオン・オフや強弱を制御することにより、その生物学的作用を發揮するシグナルコンダクターという新概念の分子であることを CCN2 を中心にファミリー全体を包括的に捉えて証明する。ついで、その成果を、再生医療へ向けての応用と、CCN タンパク質発現異常による疾患の治療薬開発のための基礎を築くべく展開する。

### 3. 研究の方法

CCN タンパク質結合分子を、タンパク質アレイ、Phage display system, Yeast two-hybrid system により、網羅的解析した後、表面プラズモン共鳴法によりカイネティクス解析した。CCN タンパク質とその関連分子の発現と機能を、遺伝子レベル、タンパク質レベル、細胞レベル、さらに個体レベルで調べた。

### 4. 研究成果

以下に研究目的の各サブテーマ毎に記載する。

#### 1) CCN ファミリータンパク質のシグナルコンダクターとしての作用とその分子基盤

① CCN2 による細胞外のシグナル伝達調節関連分子情報の総合解析とその検証

・タンパク質アレイ、Phage display system、Yeast two-hybrid system による、網羅的解析結果からは多数 CCN2 と相互作用するタンパク質候補が得られた。そこでまずは骨・軟骨組織において CCN2 が指揮するシグナルネットワークの解明を目指し、候補タンパク質を絞り込んで、それらを分子ネットワークの中に位置づける作業に入った。具体的にはまずアグリカン、マトリリン-3、BMP-2、FGF リガンドの一種が CCN2 に強く結合することを固相結合法にて確認した。また、BMP-2 ならびに FGF リガンドについては、すでに表面プラズモン共鳴法によるカイネティクス解析を実施し、解離定数などのパラメータを決定した。さらに、タンパク質アレイで結合が示された EphA4、FGF 受容体 2 および 3、Phage display で結合の可能性が認められた RANK、MHC II 型などを、表面プラズモン共鳴法 (SPR) によって定量的かつ動的に解析した結果、RANK、FGFR2 および FGFR3 と CCN2 の強い直接結合が確認され、解離定数が弾き出せた。

・また、RANK と CCN2 の結合を osteoprotegerin (OPG) が阻害すること、CCN2 は RANK よりも OPG とより強い結合を示すことを見いだした。

・さらに、上記手法を Nov/CCN3 にまで拡大適用し解析を進めたところ、意外にも CCN2 との結合を示すデータが得られた。

② 上記の如く、ヒト軟骨様細胞株 HCS-2/8 由来 cDNA ライブラリーを用いた Yeast Two-Hybrid アッセイにより CCN2/CTGF 結合因子を単離したところ、軟骨特異的細胞外マトリックス、マトリリン 3 およびアグリカンを同定した。なお、アグリカンについては Yeast two-hybrid スクリーニングで、CCN2 の N-末

IGFBP と VWC モジュールがアグリカンの G3 ドメインに結合することを解明した。また、リコンビナント IGFBP-VWC ペプチドがリコンビナント TSP-CT ペプチドに比べ強力に培養軟骨細胞によるアグリカンの産生を促進することを見いだした。これらの結果は軟骨組織において CCN2 はアグリカンに結合して蓄積され、その CCN2 がさらにアグリカンの合成を促進して、軟骨の機能維持に働いていることを示している (文献 22)。

③ また、同様の手法で、CCN2 がその C 末と VWC モジュールを介して BMP-2 と結合することを見いだした。そこで、BMP-2 と CCN2 を混合して軟骨細胞に作用させると、両者の増殖促進効果は抑制され、プロテオグリカン合成など分化促進効果は逆に相加的に増加した。即ち、内軟骨性骨化における軟骨細胞の分化過程で、CCN2 は BMP-2 と結合してその作用を修飾していることが明らかとなった (文献 20)。

④ In situ hybridization および免疫組織学的手法を用いて、CCN2 が二次骨化中心の形成にも重要な役割を果たしていることを明らかにした (文献 41)。

⑤ CCN2 遺伝子ノックアウトマウスを用いて、CCN2 が骨芽細胞分化と膜性骨化にも重要な働きをしていることを明らかにした (文献 27)。

⑥ CCN4/WISP1 のスプライシングバリエーションが成長板軟骨細胞分化の最終分化段階で高発現していることを見だし、石灰化に関与することを示唆した (文献 35)。

⑦ CCN2 が低酸素下で軟骨細胞において *Hif-1α* を介して VEGF の発現を制御していることを明らかにした (文献 18)。

⑧ CCN2 が破骨細胞前駆細胞の dendritic cell-specific transmembrane protein (DC-STAMP) の発現を促進し、自身が産生促進した DC-STAMP に相互作用することによって、破骨細胞分化を促進することを明らかにした (文献 3)。

⑨ II 型コラーゲンプロモーターを用いて軟骨組織特異的に CCN2 を過剰発現するトランスジェニックマウスを作成した。同マウスは内軟骨性骨化の亢進の結果、長管骨が伸長し、体長も伸長したが、特に異常は見られず、調和ある伸長であった。(13 World Congress on Advances in Oncology and 11<sup>th</sup> International Symposium on Molecular Medicine, Crete, 2008 招待講演にて発表。第 50 回歯科基礎医学会、2008 にて発表し、優秀ポスター賞受賞)。

⑩ 上記、トランスジェニックマウスを老齢化するまで飼育して、その関節軟骨を観察すると、正常マウスでは老齢化により約半数に発症する変形性関節症の症状が全く

見られなかった (IBMS & ANZBMS 2009, Sydney, 2009) にて発表。日本骨代謝学会 IBMS トラベルアワード受賞。第 27 回日本骨代謝学会、2009 にて発表し、優秀ポスター賞受賞。

⑪ 分化しつつある Megakaryocytes から分泌される未知の液性因子により、軟骨細胞からの CCN2 の分泌が促進され、その CCN2 が血小板に取り込まれることを見いだした (文献 12)。

⑫ 関節軟骨細胞と成長板軟骨細胞の両方に分化可能な幼弱骨端軟骨細胞を用い、CCN3 が関節軟骨細胞への分化の振り分けに重要であることを明らかにした (文献 6, 10)

⑬ CCN2 の c-末端モジュールが FGF2 に結合することにより、FGF2 により誘導される軟骨細胞の増殖と同細胞による MMP9 および 13 の産生が阻害されることを見いだした (文献 11)

⑭ CCN2 が LRP-1 により軟骨内をトランスサイトシスされることを見いだした (文献 1)

## 2) 全 CCN ファミリーメンバーの発現と作用について

① 内軟骨性骨化における軟骨細胞の増殖・分化過程での全 CCN ファミリーメンバーの局在を免疫染色で調べると CCN1,2,3 および 6 は増殖層から前肥大層に、CCN4 と 5 は肥大層全域に分布していた。また、マウス軟骨芽細胞初代培養を用いた増殖・分化系で mRNA レベルの変動を調べると、*ccn3* がメンバー中最も早く、アグリカン mRNA と同時期にピークに達した。次いで、*ccn1,2,6* mRNA がピークに達し、*ccn4,5* は培養を続け、細胞が肥大化しても上昇を続けた。軟骨細胞培養系に各々の CCN タンパク質を添加したところ、その増殖は CCN1,2,6 で亢進し、特にその作用は CCN2 が強かった。一方、CCN3 は逆に増殖を阻害した。CCN4,5 は効果を示さなかった。軟骨細胞の成熟、石灰化は CCN1,2,5 で促進され、その効果は CCN2 が最も強かった、一方、CCN3 では成熟、石灰化は強力に抑制された。さらに、CCN2 遺伝子ノックアウト (KO) マウスにおける他の CCN ファミリーメンバーの動態を組織学的ならびに細胞生物学的に解析したところ、特に CCN3 が軟骨組織で upregulate していた。この結果と CCN2 と CCN3 が強力かつ逆の作用があることから、両者の関係を調べると、お互いがお互いを抑制することにより、軟骨細胞分化を制御していることが明らかになった (文献 28)。

② 骨組織における全 CCN ファミリーメンバーの局在を調べたところ、CCN1 および 2 は骨芽細胞と浅層の骨細胞 (young osteocytes) にみられ、CCN3 は骨芽細胞に認められるが骨細胞にはみられなかった。CCN4 および 5 は骨芽細胞から深層の骨細胞に分布していた。骨芽細胞の分化培養系でも、初期には CCN3 遺伝子が発現し、それに引き続いて CCN1 および 2 が発現し、さらに石灰化期に CCN4 および 5 の発現が上昇した。CCN6 の発現は極めて低く、また、培養の時期によって変化はなかった。また、各

CCN タンパク質の骨芽細胞の増殖に対する影響を調べると CCN1,2 および 4 は増殖促進効果を示し、CCN3 は増殖阻害効果を示した。さらに、骨芽細胞の成熟 (ALP 活性、I 型コラーゲン mRNA 発現) に対する CCN ファミリーメンバーの影響を調べると、CCN1,2,3 および 4 で促進され、CCN3 で遅延し CCN6 は影響を示さなかった。また、オステオカルシンの発現に関しては、CCN2 および 4 で促進効果がみられ、他のメンバーでは著変がなく、石灰化に関しては、CCN2 および 4 で促進効果がみられ、CCN1,4 および 6 では影響がなく、CCN3 で阻害された。これらの結果は、すでに報告した通り、CCN2 はオートクリン/パラクリン的に骨芽細胞を増殖から young osteocytes にまで分化させる作用を、CCN4 も同様な作用を有すること、CCN1 は骨芽細胞の増殖と成熟までを促進すること、CCN3 は骨芽細胞の増殖、分化をその初期の段階で抑制することを示している。(文献 9)

なお、上記の如く、CCN3 が CCN2 と相反する作用を有することは軟骨細胞でもみられ、この点に関して一方で 1) -①で記載したように CCN2 と CCN3 が結合することを見いだしており、興味深い。

## 3) 遺伝子発現制御機構に関する研究

① CCN2 の遺伝子発現を制御する転写因子を遺伝子クローニングしたところ、マトリックスメタロプロテアーゼ (MMP) -3 であるという意外な事実を見いだした (文献 24)。

② CCN2 の mRNA の 3'-UTR の poly A tail 近くに転写後制御に重要な働きをする cis-element が存在し、この element に結合して mRNA を不安定化させる 40-KDa のタンパクが、軟骨細胞の肥大化期には減少することを示してきたが、このタンパクを精製し、構造決定したところヌクレオホスミンであることが明らかになった (文献 32)。

③ グリセロアルデヒド 3-リン酸が CCN2 の mRNA の 3'-UTR の cis-acting element of structure-anchored repression に結合し、CCN2 の発現を抑制することを明らかにした (文献 2)。

④ マイクロ RNA18a が軟骨細胞の CCN2 mRNA レベルを低下させることにより、軟骨分化マーカーの発現を低下させることを見いだした (文献 21)。

⑤ CCN2 同様に、CCN1 の mRNA の 3'-UTR に CCN1 mRNA の不安定化配列があることが判明した。また、CCN4 の mRNA の 3'-UTR にも mRNA の不安定化配列があることも明らかになりつつあり、この mRNA の 3'-非翻訳領域 (3'-UTR) を介する新たな遺伝子発現レベル調節機構はこのファミ

リーに共通のものと考えられる。

#### 4) “調和ある再生”医療への応用へ向けての基礎並びにトランスレーショナル研究

① CCN2 が耳介軟骨の特徴を維持したまま同軟骨の“調和ある再生”に重要な働きをすることを明らかにした (文献 26)。

② CCN2 をゼラチンハイドロゲルとともに実験的骨欠損動物モデルに投与すると骨の再生が認められた (文献 31)。

③ CCN2 はヒト骨髄間葉系幹細胞および歯髄間葉系未分化細胞のヒドロキシアパタイトへの接着を強力に促進し、そのことにより骨再生を促進することを見いだした (文献 23, 36)。

④ 適度なメカニカルストレスが軟骨細胞および前十時靭帯由来細胞において CCN2 の発現を誘導することを見いだし、軟骨および靭帯の再生におけるメカニカルストレスの重要性を示唆した (文献 7, 29)。

#### 5) CCN ファミリータンパクの異常発現(ミスコンダクト)と線維症等病態との関連

① brain natriuretic peptide に対する CTGF/CCN2 の比の増加が心筋線維症の指標となることを明らかにした (文献 37)。また、CCN2 が心不全の新しいバイオマーカーになることを見いだした (文献 25)。

② CCN2 が筋ジストロフィーの際に発現亢進することを見いだした (文献 30)。

③ ニコチンが歯肉線維芽細胞および歯根膜細胞の CTGF/CCN2 と I 型コラーゲンの産生を促進することを見いだし、喫煙による歯周線維症の発症に CTGF/CCN2 を介するコラーゲン合成の亢進が関与していることを示唆した (文献 13)。

④ p53 の発現増加が肝細胞による CCN2/CTGF の合成を促進し、肝線維化を惹起することを明らかにした (文献 8)

#### 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 46 件)

#### すべて査読有り

① Kawata, K., Kubota, S., (中 4 名), Nishida, T. and Takigawa, M. Role of low-density lipoprotein receptor related protein 1 (LRP1) in CCN2/connective tissue growth factor (CTGF) protein transport in chondrocytes. *J Cell Sci.*, 2012, in press.

② Kondo, S., Kubota, S., Mukudai, Y., Nishida, T. (中 3 名), Takigawa, M. Binding of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase to the cis-acting element of structure-anchored repression in *Ccn2* mRNA. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 405, 382-387, 2011.

③ Nishida, T., Emura, K., Kubota, S., Lyons, K. M., Takigawa, M. CCN family 2/ connective tissue growth factor (CCN2/CTGF) promotes osteoclastogenesis *via* induction of and interaction with dendritic cell-specific transmembrane protein (DC-STAMP). *J. Bone Miner. Res.* 26, 351-363,

2011.

④ Kubota, S. and Takigawa, M. The role of CCN2 in cartilage and bone development. *J. Cell Commun. Signal.*, 5, 209-217, 2011

⑤ Ohgawara, T., Kubota, S., (中 8 名), Takigawa, M. Association of the metastatic phenotype with CCN family members among breast and oral cancer cell. *J. Cell Commun. Signal.*, 5, 291-299, 2011.

⑥ Janune, D., Kubota, S., (中 3 名), Takigawa, M. CCN3-mediated promotion of sulfated proteoglycan synthesis in rat chondrocytes from developing joint heads. *J. Cell Commun. Signal.*, 5, 167-171, 2011.

⑦ Miyake, Y., (中 1 名), Kubota, S., (中 2 名), Takigawa, M. Mechanical stretch increases CCN2/CTGF expression in anterior cruciate ligament-derived cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 409, 247-252, 2011.

⑧ Kodama, T., (中 12 名), Kubota, S., Takigawa, M., 他 6 名. Increases in p53 expression induce CTGF synthesis by mouse and human hepatocytes and result in liver fibrosis in mice. *J. Clin. Invest.*, 121, 3343-3356, 2011.

⑨ Kawaki, H., Kubota, S., (中 10 名), Takigawa, M. Differential roles of CCN family proteins during osteoblast differentiation: involvement of Smad and MAPK signaling pathways. *Bone*, 49, 975-989, 2011.

⑩ Janune, D., Kubota, S., Nishida, T., (中 3 名), Takigawa, M. Novel effects of CCN3 that may direct the differentiation of chondrocytes. *FEBS Lett.* 585, 3033-3040, 2011.

⑪ Nishida, T., Kubota, S., (中 3 名), Takigawa, M. Effect of CCN2 on FGF2-induced proliferation and MMP9 and MMP13 productions by chondrocytes. *Endocrinology*. 152, 4232-4241, 2011.

⑫ Sumiyoshi, K., Kubota, S., (中 7 名), Takigawa, M. Thrombopoietin-mesenchymal interaction that may facilitate both endochondral ossification and platelet maturation *via* CCN2. *J. Cell Commun. Signal.*, 4, 5-14, 2010.

⑬ Takeuchi, H., Kubota, S., (中 4 名), Takigawa, M., Numabe, Y. Nicotine-induced CCN2: from smoking to periodontal fibrosis. *J. Dent. Res.* 89, 34-39, 2010.

⑭ Kawaki, H., Kubota, S., (中 5 名), Takigawa, M. Design and utility of CCN2 anchor peptide aptamers. *Biochimie*, 92, 1010-1015, 2010.

⑮ Sumiyoshi K, Kubota, S. (中 2 名), Nishida, T. (中 2 名), Takigawa, M. Identification of miR-1 as a micro RNA that supports late stage differentiation of growth cartilage cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 402, 286-290, 2010.

⑯ Mukudai, Y., Kubota, S., (中 5 名), Takigawa, M. A coading RNA segment that enhances the ribosomal recruitment of chicken *Ccn1* mRNA. *J. Cell Biochem.*, 111,

1607-1618, 2010.

17. Takeuchi, H., Kubota, S., (中3名), Takigawa, M., Numabe, Y. Effect of TGF- $\beta$ 1 on CCN2/CTGF in normal human gingival fibroblasts and periodontal ligament cells. *J. periodontal. Res.*, 44: 161-169, 2009.

18. Nishida, T. (中2名), Kubota, S., Lyons, K. M., Takigawa, M. CCN family 2/Connective tissue growth factor (CCN2/CTGF) regulates the expression of *Vegf* through *Hif-1 $\alpha$*  expression in a chondrocytic cell line, HCS-2/8, under hypoxic condition. *Bone* 44 (1): 24-31, 2009.

19. Sakai Y, (中4名), Takigawa, M., Takano-Yamamoto T. CTGF and apoptosis in mouse osteocytes induced by tooth movement. *J Dent Res.* 2009 Apr;88(4):345-50.

20. Maeda, A., Nishida, T., Aoyama, E., Kubota, S., Lyons, K. M., Kuboki, T., Takigawa, M. CCN family 2/connective tissue growth factor modulates BMP signaling as a signal conductor, which action regulates the proliferation and differentiation of chondrocytes. *J. Biochem.* 145(2): 207-216, 2009.

21. Ohgawara, T., Kubota, S., (中6名), Takigawa, M. Regulation of chondrocytic phenotype by micro RNA 18a: Involvement of *Ccn2/Ctgf* as a major target gene. *FEBS Lett.* 583: 1006-1010, 2009.

22. Aoyama, E., Hattori, T., Hoshijima, M., Araki, D., Nishida, T., Kubota, S., Takigawa, M. N-terminal domains of CCN protein 2/connective tissue growth factor bind to aggrecan. *Biochem. J.*, 420: 413-420, 2009.

23. Ono M., Kubota, S., (中5名), Nishida, T., Yoshida Y., Suzuki K., Takigawa, M., Kuboki T. Promotion of hydroxyapatite-associated, stem cell-based bone regeneration by CCN2. *Cell Transplantation*, 17(1-2), 231-240, 2008.

24. Eguchi T, Kubota, S. (中7名), Takigawa, M. Novel transcription factor-like function of human MMP3 regulating CTGF/CCN2 gene. *Mol. Cell. Biol.*, 28, 2391-2413, 2008.

25. Koitabashi N., (中11名), Nishida, T., Kubota, S., Takigawa, M., Kurabayashi M. Plasma connective tissue growth factor is a novel potential biomarker of cardiac dysfunction in patients with chronic heart failure. *Eur. J. Heart Failure*, 10(4): 373-379, 2008.

26. Fujisawa T., (中3名), Kubota, S., Kuboki T., Takigawa, M. CCN family 2/Connective tissue growth factor (CCN2/CTGF) stimulates proliferation and differentiation of auricular chondrocytes. *Osteoarthritis and Cartilage*, 16(7), 787-795, 2008.

27. Kawaki H., Kubota, S., (中7名), Takigawa, M. Functional requirement of CCN2 for intramembranous bone formation in embryonic mice. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 366(2):450-456, 2008

28. Kawaki H., Kubota, S., (中8名), Takigawa, M. Cooperative regulation of chondrocyte differentiation by CCN2 and CCN3 shown by a comprehensive analysis of the CCN family proteins in cartilage. *J. Bone Miner. Res.* 23(11): 1751-1764, 2008.

29. Nishida, T., Maeda A., Kubota, S., Takigawa, M.

Role of mechanical-stress inducible protein Hcs24/CTGF/CCN2 in cartilage growth and regeneration: -Mechanical stress induces expression of Hcs24/CTGF/CCN2 in human chondrocytic cell line, HCS-2/8, rabbit hyaline costal chondrocytes and meniscus cells-*Biorheology*, 45(3-4), 289-299, 2008.

30. Sun G., (中6名), Takigawa, M., Iinuma K., Tsuchiya S. Connective tissue growth factor is overexpressed in muscles of human muscular dystrophy. *J Neurol. Sci.* 267(1-2), 48-56, 2008.

31. Kikuchi T., Kubota, S., Asaumi K., Kawaki H., Nishida, T., (中4名), Takigawa, M. Promotion of bone regeneration by CCN2 incorporated into gelatin hydrogel. *Tissue Engineering Part A* 14(6), 1089-1098, 2008.

32. Mukudai, Y., Kubota, S., (中6名), Takigawa, M. Post-transcriptional regulation of chicken *ccn2* gene expression by nucleophosmin/B23 during chondrocyte differentiation. *Mol. Cell Biol.* 28(19): 6134-6147, 2008.

33. Shimo, T. Kubota, S., (中3名), Nishida, T., Ng, P. S., Endo, K., Takigawa, M., Sasaki, A. Clinical significance and pathogenic function of connective tissue growth factor (CTGF/CCN2) in osteolytic mandibular squamous cell carcinoma. *Anticancer Res.* 28 (4C): 2343-2348, 2008.

34. Kubota, S., and Takigawa, M. CCN family proteins and angiogenesis: from embryo to adulthood, *Angiogenesis* (invited review), 10 1-11 2007.

35. Yanagita T., Kubota, S., (中5名), Takigawa, M. Expression and physiological role of CCN4/Wnt-induced secreted protein 1 mRNA splicing variants in chondrocytes. *FEBS J.* 274(7): 1655-1665, 2007.

36. Ono M., Kubota, S., (中5名), Nishida, T., Yoshida Y., Suzuki K., Takigawa, M., Kuboki T. Promotion of attachment of human bone marrow stromal cells by CCN2. *Biochem Biophys Res Commun.* 357(1): 20-25, 2007.

37. Koitabashi N., (中6名), Nishida, T., Kubota, S., Takigawa, M., Kurabayashi M. Increased connective tissue growth factor relative to brain natriuretic peptide as a determinant of myocardial fibrosis. *Hypertension.* 49(5): 1120-1127, 2007.

38. Eguchi T., Kubota, S., (中6名), Takigawa, M. Different transcriptional strategies for *ccn2/ctgf* gene induction between human chondrocytic and breast cancer cell lines. *Biochimie.* 89(3): 278-288, 2007

39. Nishida, T., (中3名), Takigawa, M., Lyons K.M. CCN2 (Connective tissue growth factor) is essential for extracellular matrix production and integrin signaling in chondrocytes. *J. Cell Commun. Signal.*, 1, 45-58, 2007.

40. Miyamoto Y., (中10名), Takigawa, M., (他4名). A functional polymorphism in the 5' UTR of GDF5 is associated with

susceptibility to osteoarthritis. Nat. Genet. 39, 529-533, 2007.

41. Oka M., Kubota S., (中 5 名), Takigawa M. Gene expression and distribution of connective tissue growth factor (CCN2/CTGF) during secondary ossification center formation. J. Histochem. Cytochem., 55: 1245-1255, 2007.

[学会発表] (計 212 件)

① 滝川正春: 軟骨の生化学—CCN/CTGFの役割。第52回日本生化学会中国・四国支部例会、ランチョンセミナー招待講演、2011.5.13、広島

② 滝川正春: CCNファミリータンパク質: 新規シグナルコンダクター。先端歯学スクール2010 (教育講演)、2010.9.6-7、三浦、神奈川県

③ Takigawa M. The roles of CCN family 2/c connective tissue growth factor (CCN2/CTGF) in skeletal development. -Generation and

analysis of transgenic mice overexpressing CCN2/CTGF in cartilage- 13 World Congress on

Advances in Oncology and 11<sup>th</sup> International Symposium on Molecular Medicine, Hersonissos, Crete, Greece, October 9-11, 2008. (invitation)

④ Takigawa M. CTGF/CCN2 in bone metastasis and tumor angiogenesis. Gordon Research Conference on SIBLING, University of New England, August 5-10, 2007 (invitation)

⑤ Takigawa M. Role of mechanical-stress inducible protein Hcs24/CTGF/CCN2 in cartilage growth and regeneration. 5th International Symposium on mechanobiology of cartilage and chondrocyte. Athens, Greece, May 11-12, 2007 (invitation)

[図書] (計 5 件)

① Perbal A, Takigawa M., Perbal B. (編著) Springer (Dordrecht): CCN Proteins in Health and Disease. 2010, pp.1-338.

② Kubota S. and Takigawa M. Role of CCN2/CTGF/Hcs24 in Bone Growth. In; International Review of Cytology (Jeon. K. W. ed), 257, pp. 1-41, Elsevier Inc., San Diego, 2007

[産業財産権]

○出願状況 (計 3 件)

①名称: 癌の治療又は予防剤  
発明者: 滝川正春、服部高子他  
権利者: 岡山大学

種類: 特許

番号: 特願 2012-9665

出願年月日: 2012/1/20

国内外の別: 国内

②名称: 癌の治療又は予防剤  
発明者: 滝川正春、服部高子他  
権利者: 岡山大学

種類: 特許

番号: 特願 2012-9665

出願年月日: 2012/1/20

国内外の別: 国内

③名称: 軟骨再生促進剤

発明者: 窪木拓男、滝川正春他

権利者: 岡山大学

種類: 特許

番号: 特願 2011-037932

出願年月日: 2010/2/24

[その他]

<http://atlasgeneticsoncology.org//Genes/CTGFID40192ch6q23.html>

ホームページ等

[http://www.dent.okayama-u.ac.jp/seika/index\\_sc\\_j.html](http://www.dent.okayama-u.ac.jp/seika/index_sc_j.html)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

滝川 正春 (TAKIGAWA MASAHARU)

岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・教授

研究者番号: 20112063

(2) 研究分担者

久保田 聡 (KUBOTA SATOSHI)

岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・准教授

研究者番号: 90221936

服部 高子 (HATTORI TAKAKO)

岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・助教

研究者番号: 00228488

西田 崇 (NISHIDA TAKASHI)

岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・助教

研究者番号: 30322233

青山 絵理子 (AOYAMA ERIKO)

岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・助教

研究者番号: 10432650

(H20~H23)

(3) 連携研究者