

令和 2 年 5 月 28 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K11641

研究課題名(和文) 肥満による変形性関節症の発症機構の解明とCCN2によるその制御効果の検討

研究課題名(英文) Mechanism of onset of osteoarthritis caused by obesity and regulatory effects of CCN2

研究代表者

西田 崇(Nishida, Takashi)

岡山大学・医歯薬学総合研究科・准教授

研究者番号：30322233

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：Angiotensin II (ANG II)は軟骨細胞の増殖・分化を抑制すると同時にCCN2の産生量を濃度依存的に増加させた。その作用はANG II受容体であるAT1Rを阻害するロサルタン処置やゲノム編集によるAT1Rノックアウト軟骨細胞を用いた解析結果からAT1Rを介していることが明らかとなった。また、CCN2欠損ではANG IIの合成促進が示唆され、CCN2欠損マウスによる変形性関節症の発症にはANG IIの産生量の増加が関与していると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今回の研究成果は、ホルモン作用を持つAngiotensin II (ANG II)が、局所の軟骨細胞に対して軟骨細胞の変性だけでなくCCN2の産生も亢進することを示している。この事はCCN2のANG II合成に対するnegative feedback loopの存在を示唆しており、ANG IIの局所組織での新たな役割を明らかにした点で、学術的な意義がある。また、今回の結果は肥満を伴う変形性関節症の発症の病態解明の一助にもなると考えられ、その社会的な意義も大きい。

研究成果の概要(英文)：In this study, we showed that angiotensin II (ANG II) suppresses chondrocyte proliferation and differentiation as well as increased CCN2 production in dose-dependent manner. Based on our results using chondrocytes treated with losartan, which is a specific inhibitor of AT1R and those using AT1R-deficient chondrocytes, we clarified that the effects of ANG II are through AT1R. Furthermore, our data indicates that ANG II production is increased by CCN2 deficiency, suggesting that onset of osteoarthritis in Ccn2 deficient mice is involved with increased ANG II.

研究分野：口腔生化学分野

キーワード：angiotensin II CCN2 osteoarthritis 肥満 AT1R AT2R 局所性RAS

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

肥満は変形性膝関節症(Osteoarthritis; OA)のリスク因子である。これは肥満による体重増加が膝関節に過度な負荷をかけるため、膝関節の関節軟骨細胞が変性しやすくなると考えられているからである。しかし、膝関節には肥満や加齢によって増加する膝蓋下脂肪体が存在し、その脂肪組織から炎症性サイトカインや様々なアディポカインが分泌されていることはよく知られている。このような観点から、脂肪組織は新たな内分泌器官として考えられており、従来のように肥満に伴う体重増加にだけ注目しては肥満や加齢によって発症する OA の本当の病態は明らかにすることはできない。脂肪組織から産生される様々なアディポカインの中には軟骨細胞の増殖、分化あるいは変性に関わっているものもあると考えられる。その中で、我々は軟骨細胞にその受容体が発現していることから、Angiotensin II (ANG II)に着目した。ANG II は本来、血圧及び電解質の調節を担うペプチドホルモンであり、その前駆体であるアンジオテンシノーゲンは肝臓で合成され、そして腎臓にあるレニンによって ANG I に変換される。次いで、肺や血管内皮細胞並びに血漿中に存在するアンジオテンシン変換酵素 1 (ACE1)によって ANG I から ANG II に変換される。このように ANG II の合成には全身の臓器が関わっており、これを全身性の Renin-Angiotensin System (RAS)と呼んでいる。産生された ANG II は細動脈の収縮を引き起こすと同時に腎臓においてアルドステロン産生を促進し、 Na^+ の再吸収と体液量の増大によって強力に血圧を上昇させることが知られている。一方で、先に示した様に血管や神経のない軟骨組織を構成する軟骨細胞に ANG II の受容体である AT_1 及び AT_2 受容体が発現していることは、ANG II が血圧上昇という全身性の作用の他に軟骨細胞局所で何らかの新たな役割を担っている可能性を示唆している。また、我々は本研究課題を開始する以前に、軟骨細胞の anabolic 因子である Cellular communication network factor 2 (CCN2) を培養軟骨細胞でノックダウンさせた時に、 AT_1 及び AT_2 受容体の遺伝子発現レベルが上昇することを予備実験で明らかにしている(図 1)。これらのことから、ANG II が AT_1 及び AT_2 受容体を介して軟骨細胞の増殖、分化あるいは変性に影響を与えているのではないかと、また、その作用は CCN2 によって制御されているのではないかと仮説を立て、本研究を開始した。

2. 研究の目的

我々は、これまで CCN2 を始めとした CCN ファミリータンパク質に注目して研究を行ってきた。CCN ファミリータンパク質は 6 つのメンバーからなり、一部例外はあるものの、4 つのモジュール構造を持つという点で基本的な構造は同じである。その中で、CCN2 は最も研究が進行しており、我々は硬組織の細胞である軟骨細胞、骨芽細胞、破骨細胞そして骨細胞に対して CCN2 が非常にユニークな作用を持つことを明らかにしてきた。特に軟骨細胞における機能解析は研究が先行しており、CCN2 が OA 治療の重要な鍵分子になり得ることを明らかにしている。また、今回、CCN2 が AT_1 及び AT_2 受容体の発現を抑制するという予備実験の結果は、ANG II の局所組織における新たな制御機構の解明に繋がると期待できる。そこで、本研究課題の目的は、膝蓋下脂肪体あるいは軟骨組織局所の RAS によって生成された ANG II が軟骨細胞に対してどのような作用を有しているのか、そして、その作用を anabolic 因子である CCN2 がどのように制御しているのかを検討し、OA との関連性を明らかにすることである。

3. 研究の方法

(1) **細胞培養:** ヒト軟骨細胞様細胞株 HCS-2/8 及びラット軟骨細胞様細胞株 RCS は 10% ウシ胎児血清(FBS)を含むダルベッコ変法イーグル培地(DMEM) で 37 °C、5% CO_2 気相下にて培養した。Ccn2 欠損軟骨細胞は胎生 18.5 日胚の Ccn2 欠損マウスの肋軟骨部からコラゲナーゼ処置によって単離し、 α 変法イーグル培地(α MEM) で 37 °C、5% CO_2 気相下にて培養した。

(2) **定量 RT-PCR 解析:** Total RNA の抽出は ISOGEN (日本ジーン)を用いて行った。逆転写反応は Takara 社製 RNA RT-PCR キットを用いて行い、定量 RT-PCR は SYBER Green Master Mix (TOYOBO 社)を用いて行った。

(3) **Western blot 解析:** Lysis buffer を用いて培養軟骨細胞から細胞抽出液を調整した。Pierce 社製のタンパク質定量キットを用いて細胞抽出液のタンパク質濃度を決定し、その後、SDS ポリアクリルアミドゲル電気泳動を行った。PVDF 膜に転写後、一次抗体を 4°C で一晩反応させた。洗浄後に HRP 標識された二次抗体と反応させ、ルミノ・イメージアナライザー(Fujifilm)でシグナルを検出した。

(4) **siRNA を用いた CCN2 のノックダウン:** HCS-2/8 細胞をコンフルエントに達するまで培養後、トリプシンにて細胞を回収した。100 nM の CCN2 を標的とする siRNA あるいはコントロール siRNA を electroporation 法で HCS-2/8 細胞に導入し、2 日後に total RNA を回収した。その後、定量 RT-PCR 法により CCN2 のノックダウン効率を確認した。

(5) **CRISPR-Cas9 法による AT_1R ノックアウト RCS 細胞の作製:** RCS 細胞をコンフルエントに達するまで培養後、トリプシンにて細胞を回収した。2 種類のガイド RNA と Cas9 タンパク質を electroporation 法で導入し、 AT_1R のゲノム DNA が編集されているクローンを genomic PCR 法にて選別した。

(6) タモキシフェン(Tx)誘導性 *Ccn2* 欠損マウスの膝関節の組織標本の作製: CAG プロモーター下でエストロゲン受容体(ERT2)が発現するトランスジェニックマウス(CAG·ERT2Cre)と *Ccn2* floxed マウスを交配し、Tx 誘導性 *Ccn2* 欠損マウスを作製した。生後 1 週で Tx を投与し、6 ヶ月後に当該マウスを安楽死させた。膝関節を採取し、4 %パラホルムアルデヒドで固定後、10 % EDTA による脱灰処置を行った。その後、パラフィンに包埋し、組織切片を作製した。トルイジンブルー染色にて関節軟骨組織を観察した。

4. 研究成果

(1) ANG II の軟骨細胞分化に与える影響

コンフルエントに達した RCS 細胞に ANG II を添加すると、II 型コラーゲン及びアグリカンの遺伝子発現レベルは低下した。一方、AT₁R 及び AT₂R の遺伝子発現レベルは逆に増加した。HCS-2/8 細胞に ANG II を添加すると、濃度依存的に CCN2 の産生量は増加したが、MMP9 の産生量は 150 nM の ANG II まで産生量が増加したが、200 nM を超える濃度では逆に減少した(図 2)。

(2) CCN2 及び MMP9 産生における AT₁R 阻害薬ロサルタンの効果

ロサルタンで前処理していない対照群の RCS 細胞では、250 nM の ANG II の添加で、CCN2 の産生量は増加し MMP9 の産生量は逆に減少した。これに対し、ロサルタンで前処理した RCS 細胞に ANG II を添加しても、CCN2 の産生量の増加及び MMP9 の産生量の減少は見られなかった。これらの結果から ANG II による CCN2 及び MMP9 の産生量の制御機構は AT₁R を介していることが示唆される。

(3) ロサルタン前処理による ANG II の細胞内シグナル伝達経路

ロサルタン処理していない対照群の RCS 細胞では、ANG II 刺激によって ERK1/2 及び p38 のリン酸化が亢進した。一方、ロサルタンで前処理された RCS 細胞では、ERK1/2 のリン酸化の亢進は影響を受けなかったが、p38 のリン酸化の亢進は減弱した。これらの結果は AT₁R を介した ANG II の細胞内シグナル伝達経路に p38 が関わっていることを示唆している。

(4) AT₁R ノックアウト RCS 細胞の細胞増殖及び分化に与える影響

AT₁R ノックアウト RCS 細胞の細胞増殖は野生型の RCS 細胞の細胞増殖と比較して有意に低下した。また、トルイジンブルーの染色性は AT₁R ノックアウト RCS 細胞の方が野生型の RCS 細胞よりも低下した。これらの結果は AT₁R ノックアウト RCS 細胞において細胞増殖及び分化が共に抑制されていることを示している。

(5) ANG II 刺激による AT₁R ノックアウト RCS 細胞の CCN2 及び MMP9 の産生量の変動

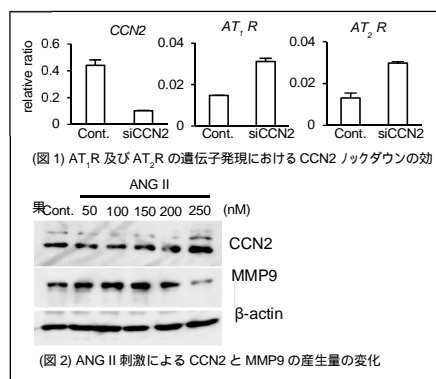
野生型の RCS 細胞に ANG II を添加すると、CCN2 の産生量は増加するのに対し、AT₁R ノックアウト RCS 細胞に ANG II を添加しても CCN2 の産生量は増加しなかった。また、同様に AT₁R ノックアウト RCS 細胞に ANG II を添加しても MMP9 の産生量は変動しなかった。これらの結果は ANG II による CCN2 及び MMP9 の産生制御が AT₁R を介していることを示唆しており、ロサルタン添加時に得られた結果と一致した。

(6) CCN2 欠損軟骨細胞における RAS 構成分子の発現変動

CCN2 欠損軟骨細胞において、RAS 関連分子であるプロレニン受容体及び ACE1 の遺伝子発現レベルは有意に上昇したが、AT₁R 及び AT₂R の遺伝子発現レベルは影響が見られなかった。

(7) Tx 誘導性 *Ccn2* 欠損マウスの膝関節の組織標本

生後 1 週齢の Tx 誘導性の *Ccn2* 欠損マウスに Tx を投与し、その 6 ヶ月後に膝関節の組織標本作製した。CCN2 欠損によって、トルイジンブルーの染色性の低下とアグリカン neoepitope 陽性の関節軟骨細胞数の増加が見られた。さらに、CCN2 欠損によって、AT₁R の陽性細胞数も増加が見られた。これらの結果は CCN2 の欠損によって引き起こされた膝関節部の OA 様の変化が AT₁R を発現する関節軟骨細胞数の増加に関連している可能性を示唆している。以上の結果から、ANG II は軟骨細胞の増殖及び分化を阻害すると同時に AT₁R 及び AT₂R の発現レベルを上昇させ、軟骨細胞の変性を増悪すると考えられる。この時、CCN2 はプロレニン受容体や ACE1 の発現を抑制することで、局所での ANG II の合成を負に制御すると考えられ、CCN2 が ANG II による軟骨変性に歯止めをかけることで、OA の進展を防いでいる可能性が考えられる。



(図 1) AT₁R 及び AT₂R の遺伝子発現における CCN2 ノックダウンの効果

(図 2) ANG II 刺激による CCN2 と MMP9 の産生量の変化

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計13件（うち査読付論文 12件 / うち国際共著 3件 / うちオープンアクセス 12件）

1. 著者名 Nishida T, Kubota S, Yokoi H, Mukoyama M, Takigawa M	4. 巻 9
2. 論文標題 Roles of matricellular CCN2 deposited by osteocytes in osteoclastogenesis and osteoblast differentiation.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Sci Rep	6. 最初と最後の頁 10913
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-47285-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Nishida T, Nagao Y, Hashitani S, Yamanaka N, Takigawa M, Kubota S	4. 巻 17
2. 論文標題 Suppression of adipocyte differentiation by low-intensity pulsed ultrasound via inhibition of insulin signaling and promotion of CCN family protein 2.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J. Cell. Biochem.	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jcb.29680.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Hoshijima M, Hattori T, Aoyama E, Nishida T, Kubota S, Takigawa M:	4. 巻 21
2. 論文標題 Roles of interaction between CCN2 and Rab14 in aggrecan production by chondrocytes.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Int. J. Mol. Sci.	6. 最初と最後の頁 E2769
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms21082769.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Akashi S, Nishida T, El-Seoudi A, Takigawa M, Iida S, Kubota S.	4. 巻 12
2. 論文標題 Metabolic regulation of the CCN family genes by glycolysis in chondrocytes.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J. Cell Commun. Signal.	6. 最初と最後の頁 245-252
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.1007/s12079-017-0420-8.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ishikawa T, Nishida T, Ono M, Takarada T, Ha N, Kurihara S, Furumatsu T, Murase Y, Takigawa M, Oohashi T, Kamioka H, Kubota S.	4. 巻 233
2. 論文標題 Physiological role of urothelial cancer-associated 1 long noncoding RNA in human skeletogenic cell differentiation.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J. Cell. Physiol.	6. 最初と最後の頁 4825-4840
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jcp.26285.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kamatsuki, Y, Aoyama, E., Furimatsu, T., Miyazawa, S., Maehara, A., Yamanaka, N., Nishida, T., Kubota, S., Ozaki, T., Takigawa, M	4. 巻 13
2. 論文標題 Possible reparative effect of low-intensity pulsed ultrasound (LIPUS) on injured meniscus.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J. Cell Commun. Signal.	6. 最初と最後の頁 193-207
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12079-018-0496-9.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Fu S, Kuwahara M, Uchida Y, Koudo S, Hayashi D, Shimomura Y, Takagaki A, Nishida T, Maruyama Y, Ikegame M, Hattori A, Kubota S, Hattori T.	4. 巻 -
2. 論文標題 Circadian production of melatonin in cartilage modifies rhythmic gene expression.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J. Endocrinol.	6. 最初と最後の頁 JOE-19-0022.R2
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1530/JOE-19-0022.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Janune, D., Abd El Kader, T., Aoyama, E., Nishida, T., Tabata, Y., Kubota, S., Takigawa, M.	4. 巻 35
2. 論文標題 Novel role of CCN3 that maintains the differentiated phenotype of articular cartilage.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 J. Bone Miner. Metab.,	6. 最初と最後の頁 582-597
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00774-016-0793-4.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Nishida, T., Kubota, S., Aoyama, E., Yamanaka, N., Lyons, K. M., Takigawa, M.	4. 巻 25
2. 論文標題 Low-intensity pulsed ultrasound (LIPUS) treatment of cultured chondrocytes stimulates production of CCN family protein 2 (CCN2), a protein involved in the regeneration of articular cartilage: mechanism underlying this stimulation.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Osteoarthritis Cartilage	6. 最初と最後の頁 759-769
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.joca.2016.10.003.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 9.Kawata K, Kubota S, Eguchi T, Aoyama E, Moritani NH, Oka M, Kawaki H, Takigawa M	4. 巻 118
2. 論文標題 A tumor suppressor gene product, platelet-derived growth factor receptor-like protein controls chondrocyte proliferation and differentiation.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 J. Cell. Biochem.	6. 最初と最後の頁 4033-4044
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jcb.26059.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 El-Seoudi, A., Abd El Kader, T., Nishida, T., Eguchi, T., Aoyama, E., Takigawa, M., Kubota, S.	4. 巻 11
2. 論文標題 Catabolic effects of FGF-1 on chondrocytes and its possible role in osteoarthritis.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 J. Cell Commun. Signal.	6. 最初と最後の頁 255-263
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12079-017-0384-8.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Hori A, Nishida T, Takashiba S, Kubota S, Takigawa M.	4. 巻 12
2. 論文標題 Regulatory mechanism of CCN2 production by serotonin (5-HT) via 5-HT2A and 5-HT2B receptors in chondrocytes.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 PLoS One	6. 最初と最後の頁 e0188014
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0188014. eCollection 2017.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 西田 崇、久保田聡、滝川正春	4. 巻 27
2. 論文標題 骨リモデリングにおける骨細胞の役割	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Clin. Calcium	6. 最初と最後の頁 1697-1703
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) ClCa171216971703.	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

[学会発表] 計64件(うち招待講演 0件/うち国際学会 8件)

1. 発表者名 Nishida, T., Kubota, S., Yokoi, H., Mukoyama, M., Takigawa, M.
2. 発表標題 Role of CCN2 produced by osteocytes in bone remodeling.
3. 学会等名 The 10th International Workshop of CCN Family of Genes (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kubota, S., Ishikawa, T., Mizukawa, T., Kondo, S., El-Seoudi, A., Nishida, T., Hattori, T., Kawata, K., Furumatsu, T., Takarada, T., Ono, M., Takigawa, M.
2. 発表標題 Long noncoding RNAs that regulate CCN2.
3. 学会等名 The 10th International Workshop of CCN Family of Genes (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kamatsuki, Y., Aoyama, E., Furumatsu, T., Miyazawa, S., Maehara, A., Nishida, T., Kubota, S., Takigawa, M., Ozaki, T
2. 発表標題 Regenerative repairing effect of low-intensity pulsed ultrasound (LIPUS) on meniscus.
3. 学会等名 ORS Annual meeting, (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 明石 翔、西田 崇、El-Seoudi A、滝川正春、飯田征二、久保田聡
2. 発表標題 軟骨細胞におけるCCNファミリー遺伝子のエネルギー代謝による制御。
3. 学会等名 第32回日本軟骨代謝学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 西田 崇、明石 翔、滝川正春、久保田聡
2. 発表標題 軟骨細胞におけるAngiotensin IIの産生調節とその作用。
3. 学会等名 第32回日本軟骨代謝学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 西田 崇、長尾有里香、橋谷智子、山中信康、滝川正春、久保田聡
2. 発表標題 低出力性パルス超音波(LIPUS)による脂肪細胞分化の抑制機構の解明。
3. 学会等名 第11回日本CCNファミリー研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 近藤 星、桑原実穂、Fu Shanqi、武内聡子、池田健司、石川崇典、大野充昭、西田 崇、久保田聡、服部高子
2. 発表標題 長鎖(約6kb) lssODNおよびCRISPER/Cas9を用いたヒト科霊長類特異的lncRNAのマウス受精卵へのエレクトロポレーションによるノックインの試み。
3. 学会等名 Brainstorming- 2019 at Carillon House
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 近藤 星、桑原実穂、Fu Shanqi, 池田健司、石川崇典、大野充昭、西田 崇、久保田聡、服部高子
2. 発表標題 長鎖(約6kb) lssODNおよびCRISPER/Cas9を用いたヒト科霊長類特異的lncRNAのマウス受精卵へのエレクトロポレーションによるノックインの試み
3. 学会等名 第92回日本生化学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 西田 崇、長尾有里香、橋谷智子、山中信康、滝川正春、久保田聡
2. 発表標題 低出力性パルス超音波(LIPUS)による脂肪細胞分化の多面的抑制機構。
3. 学会等名 第92回日本生化学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 橋谷智子、西田 崇、長尾有里香、滝川正春、久保田聡
2. 発表標題 脂肪細胞分化に対する低出力パルス超音波(LIPUS)の抑制メカニズムの解明。
3. 学会等名 第61回歯科基礎医学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 西田 崇、滝川正春、久保田聡
2. 発表標題 Angiotensin IIIによる軟骨変性作用とそのCCN2による制御機構。
3. 学会等名 第37回日本骨代謝学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名	Fu, S., Kuwahara, M., Uchida, Y., Kondo, S., Nishida, T., Ikegame, M., Kubota, S., Hattori, T.
2. 発表標題	Circadian production of melatonin in cartilage influences chondrocyte rhythmic gene expression.
3. 学会等名	第37回日本骨代謝学会学術集会
4. 発表年	2019年

1. 発表者名	水川朋美、西田 崇、明石 翔、堀 彩花、高柴正悟、上岡 寛、滝川正春、久保田聡
2. 発表標題	フッ素イオンによるCCNファミリー遺伝子の制御。
3. 学会等名	第40回岡山歯学会
4. 発表年	2019年

1. 発表者名	水川朋美、西田 崇、明石 翔、上岡 寛、滝川正春、久保田聡
2. 発表標題	軟骨細胞における解糖系によるCCN3遺伝子発現制御メカニズム。
3. 学会等名	第33回日本軟骨代謝学会
4. 発表年	2020年

1. 発表者名	El-Seoudi, A., Abd El Kader, T., Nishida, T., Aoyama, E., Eguchi, T., Takigawa, M., Kubota, S.
2. 発表標題	Fibroblast growth factor 1 (FGF-1) impinges on chondrocyte degradation in OA through matrix metalloproteinase 13 (MMP-13) and connective tissue growth factor (CCN2).
3. 学会等名	ASBMR annual meeting, (国際学会)
4. 発表年	2018年

1. 発表者名 Kamatsuki, Y., Aoyama, E., Furumatsu, T., Miyazawa, S., Maehara, A., Nishida, T., Kubota, S., Takikgawa, M., Ozaki, T.
2. 発表標題 Regenerative repairing effect of low-intensity pulsed ultrasound (LIPUS) on meniscus.
3. 学会等名 ORS Annual meeting (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 石川崇典、西田 崇、大野充昭、古松毅之、村瀬友里香、大橋俊孝、滝川正春、久保田聡
2. 発表標題 ヒト軟骨細胞分化におけるUCA1長鎖非コードRNAの役割。
3. 学会等名 第31回日本軟骨代謝学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 釜付祐輔、青山絵理子、古松毅之、前原亜美、山中信康、西田 崇、久保田聡、尾崎敏文、滝川正春
2. 発表標題 半月板に対する低出力パルス超音波 (LIPUS) の効果。
3. 学会等名 第31回日本軟骨代謝学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 西田 崇、滝川正春、久保田聡
2. 発表標題 培養軟骨細胞におけるCCN2及びMMP9の産生に対するアンジオテンシンIIの作用。
3. 学会等名 第31回日本軟骨代謝学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 明石 翔、西田 崇、El-Seoudi A、滝川正春、飯田征二、久保田聡
2. 発表標題 軟骨細胞におけるCCN3遺伝子の糖代謝を介した制御。
3. 学会等名 第31回日本軟骨代謝学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 El-Seoudi, A., Abd El Kader, T., Nishida T., Aoyama, E., Eguch, T., Takigawa, M., Kubota, S.
2. 発表標題 FGF-1 affects the expression of MMP-13 and CCN2 in chondrocytes: possible role in osteoarthritis.
3. 学会等名 第31回日本軟骨代謝学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 釜付祐輔、青山絵理子、古松毅之、前原亜美、山中信康、西田 崇、久保田聡、尾崎敏文、滝川正春
2. 発表標題 LIPUSが半月板に与える効果。
3. 学会等名 第50回日本結合組織学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 釜付祐輔、青山絵理子、古松毅之、前原亜美、山中信康、西田 崇、久保田聡、尾崎敏文、滝川正春
2. 発表標題 低出力パルス超音波（LIPUS）が半月板に与える影響。
3. 学会等名 第36回日本骨代謝学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 石川崇典、西田 崇、大野充昭、上岡 寛、滝川正春、久保田聡
2. 発表標題 軟骨細胞、骨芽細胞分化にUCA1長鎖ノンコーディングRNAが与える影響。
3. 学会等名 第36回日本骨代謝学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 明石 翔、西田 崇、El-Seoudi A、滝川正春、飯田征二、久保田聡
2. 発表標題 軟骨細胞におけるCCN3遺伝子の糖代謝を介した制御。
3. 学会等名 第36回日本骨代謝学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 西田 崇、堀 綾花、滝川正春、久保田聡
2. 発表標題 局所性Renin-Angiotensin System を介したAngiotensin IIが軟骨基質産生に与える影響。
3. 学会等名 第36回日本骨代謝学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 明石 翔、西田 崇、Abdellatif El-Seoudi、滝川正春、飯田征二、久保田聡
2. 発表標題 軟骨細胞におけるCCN3遺伝子の糖代謝を介した制御。
3. 学会等名 第10回日本CCNファミリー研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 釜付祐輔、青山絵理子、古松毅之、前原亜美、山中信康、西田 崇、久保田聡、尾崎敏文、滝川正春
2. 発表標題 LIPUSによる半月板修復効果の検討。
3. 学会等名 第10回日本CCNファミリー研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 西田 崇、堀 彩花、滝川正春、久保田聡
2. 発表標題 軟骨細胞によるCCN2とMMP9産生に対するアンジオテンシンIIの作用。
3. 学会等名 第10回日本CCNファミリー研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 西田 崇、堀 彩花、滝川正春、久保田聡
2. 発表標題 培養軟骨細胞においてアンジオテンシン II は CCN2 と MMP9 の産生を制御する。
3. 学会等名 第60回歯科基礎医学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 長尾有里香、西田 崇、滝川正春、久保田聡
2. 発表標題 低出力性パルス超音波(LIPUS)による脂肪細胞分化抑制機構の解明。
3. 学会等名 第60回歯科基礎医学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 星島光博、服部高子、青山絵理子、西田 崇、久保田聡、上岡 寛、滝川 正春
2. 発表標題 CCN2 と Rab14 の相互作用が骨・軟骨細胞の小胞輸送に及ぼす役割 ~軟骨分化促進因子 CCN2 の新たな細胞内機能~
3. 学会等名 第60回歯科基礎医学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 明石 翔、西田 崇、Abdellatif El-Seoudi、滝川正春、飯田征二、久保田聡
2. 発表標題 軟骨細胞におけるCCN3遺伝子の糖代謝を介した制御。
3. 学会等名 第91回日本生化学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 近藤 星、桑原実穂、Fu Shanqi、池田健司、石川崇典、大野充昭、西田 崇、久保田聡、服部高子
2. 発表標題 ヒト科霊長類特異的lncRNAのエレクトロポレーションによる マウス受精卵への効率的なノックインの試み
3. 学会等名 ブレインストーミング2018
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Shanqi Fu、桑原実穂、内田瑤子、林 大智、下村侑司、高垣安紗美、西田 崇、丸山雄介、池亀美華、服部淳彦、服部高子、久保田聡
2. 発表標題 Circadian production of melatonin and its receptors in cartilage influences chondrocyte rhythmic gene expression.
3. 学会等名 第91回日本生化学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 釜付祐輔、青山絵理子、古松毅之、前原亜美、山中信康、西田 崇、久保田聡、滝川正春、尾崎敏文
2. 発表標題 LIPUSが半月板修復に与える影響。
3. 学会等名 第33回日本整形外科学会基礎学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 El-Seoudi, A., Abd El Kader, T., Nishida T., Aoyama, E., Eguch, T., Takigawa, M., Kubota, S.
2. 発表標題 El-Seoudi, A., Abd El Kader, T., Nishida T., Aoyama, E., Eguch, T., Takigawa, M., Kubota, S.: Effect of Fibroblast growth factor 1 (FGF-1) on connective tissue growth factor (CCN2/CTGF) gene expression in chondrocytic cells and its possible role in osteoarthritis.
3. 学会等名 第39回岡山歯学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 近藤 星、桑原実穂、Shanqi, F., 池田健司、石川崇典、大野充昭、西田 崇、久保田聡、服部高子
2. 発表標題 長鎖(約6kb)ssODNおよびCRISPER/Cas9を用いたヒト科霊長類特異的lncRNAのマウス受精卵へのエレクトロポレーションによる高効率ノックインの試み。
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 El-Seoudi, A., Abd El Kader, T., Nishida T., Eguch, T., Aoyama, E., Takigawa, M., Kubota, S.
2. 発表標題 Effect of fibroblast growth factor (FGF-1) on CCN2 gene expression in chondrocytic cells.
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 明石 翔、西田 崇、El-Seoudi A、滝川正春、飯田征二、久保田聡
2. 発表標題 軟骨細胞におけるCCNファミリー遺伝子のエネルギー代謝による制御。
3. 学会等名 第32回日本軟骨代謝学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 西田 崇、明石 翔、滝川正春、久保田聡
2. 発表標題 軟骨細胞におけるAngiotensin IIの産生調節とその作用。
3. 学会等名 第32回日本軟骨代謝学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 西田 崇、久保田聡、青山絵理子、山中信康、Karen M. Lyons、滝川正春
2. 発表標題 培養軟骨細胞のCCN2産生における低出力性パルス超音波(LIPUS)処置の作用メカニズムの解明。
3. 学会等名 第9回日本CCNファミリー研究会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Kubota, S., Hara, E. S., Akashi, S., Ono, M., Nishida, T., Hattori, T., Kuboki, T., Takigawa M
2. 発表標題 Small compounds that turn on CCN family genes.
3. 学会等名 Ninth International Workishop on the CCN Family of Genes (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Takigawa, M., Hara, C., Kamatsuki, Y., Aoyama, E., Janune, D., Furumatsu, T., Nishida, T., Hattori, T., Yamanaka, N., Kamioka, H., Ozaki, T., Kubota, S.
2. 発表標題 CCN proteins as targets for skeletal regulation therapy
3. 学会等名 Ninth International Workishop on the CCN Family of Genes (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 El-Seoudi, A., Abd El Kader, T., Nishida T., Aoyama, E., Eguch, T., Takigawa, M., Kubota, S.
2. 発表標題 Catabolic effects of FGF-1 on chondrocytes with reduced CCN2 production and its possible role in osteoarthritis.
3. 学会等名 Ninth International Workishop on the CCN Family of Genes (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 石川崇典、村瀬友里香、西田 崇、服部高子、大野充昭、古松毅之、滝川正春、久保田聡
2. 発表標題 軟骨細胞分化に関わる長鎖ノンコーディングRNAの解析。
3. 学会等名 第30回日本軟骨代謝学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 堀 綾花、西田 崇、高柴正悟、久保田聡、滝川正春
2. 発表標題 軟骨細胞のCCN2産生に対するセロトニン(5-HT)の制御機構の解明。
3. 学会等名 第30回日本軟骨代謝学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 El-Seoudi, A., Abd El Kader, T., Nishida T., Aoyama, E., Eguch, T., Takigawa, M., Kubota, S.
2. 発表標題 Mechanism of the catabolic effects of Fibroblast Growth Factor (FGF-1) on chondrocytes and its possible role in Osteoarthritis.
3. 学会等名 第30回日本軟骨代謝学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 明石 翔、西田 崇、El-Seoudi A、滝川正春、飯田征二、久保田聡
2. 発表標題 細胞外情報を統合するCCNファミリー遺伝子の糖代謝を介した制御。
3. 学会等名 第58回日本生化学会中国・四国支部例会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 釜村祐輔、青山絵理子、古松毅之、前原亜美、山中信康、西田 崇、久保田聡、滝川正春、尾崎敏文
2. 発表標題 半月板におけるCCN2, CCN3に与える低出力パルス超音波(LIPUS)の効果。
3. 学会等名 第49回日本結合組織学会学術大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 西田 崇、久保田聡、横井秀基、向山政志、滝川正春
2. 発表標題 老齢マウスにおいて骨細胞由来CCN2は骨髄細胞由来CCN2よりも破骨細胞形成と骨リモデリングに重要である。
3. 学会等名 第35回日本骨代謝学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 石川崇典、村瀬友里香、西田 崇、服部高子、大野充昭、上岡 寛、滝川正春、久保田聡
2. 発表標題 軟骨細胞分化に関わる長鎖非コードRNAの骨形成における役割。
3. 学会等名 第35回日本骨代謝学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 堀 綾花、西田 崇、高柴正悟、久保田聡、滝川正春
2. 発表標題 関節・成長板軟骨細胞におけるセロトニン (5-HT) によるCCN2産生の差別的制御メカニズム。
3. 学会等名 第35回日本骨代謝学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 El-Seoudi, A., Abd El Kader, T., Nishida T., Aoyama, E., Eguch, T., Takigawa, M., Kubota, S.
2. 発表標題 Catabolic effects of FGF-1 on chondrocytes with reduced CCN2 production that promotes cartilage regeneration: Possible role in osteoarthritis.
3. 学会等名 第35回日本骨代謝学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 明石 翔、西田 崇、El-Seoudi A、滝川正春、飯田征二、久保田聡
2. 発表標題 細胞外情報を統合するCCNファミリー遺伝子の糖代謝を介した制御
3. 学会等名 第9回日本CCNファミリー研究会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 堀 綾花、西田 崇、高柴正悟、久保田聡、滝川正春
2. 発表標題 軟骨細胞におけるセロトニンによるCCN2の産生制御機構の解明。
3. 学会等名 第9回日本CCNファミリー研究会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 El-Seoudi, A., Abd El Kader, T., Nishida T., Aoyama, E., Eguch, T., Takigawa, M., Kubota, S.
2. 発表標題 Catabolic effects of FGF-1 on chondrocytes with reduced CCN2 production and its possible role in osteoarthritis.
3. 学会等名 第9回日本CCNファミリー研究会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 釜村祐輔、青山絵理子、古松毅之、前原亜美、山中信康、西田 崇、久保田聡、滝川正春、尾崎敏文
2. 発表標題 LIPUSにより半月板でのCCN2の発現・産生は増加する。
3. 学会等名 第36回日本運動器移植・再生医学研究会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 明石 翔、西田 崇、El-Seoudi A、滝川正春、飯田征二、久保田聡
2. 発表標題 軟骨細胞におけるCCN3遺伝子の糖代謝を介した制御。
3. 学会等名 第38回岡山歯学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 西田 崇、久保田聡、滝川正春
2. 発表標題 老齡期の破骨細胞形成における骨細胞由来のCCN2の役割。
3. 学会等名 第59回歯科基礎医学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 釜付祐輔、青山絵理子、古松毅之、前原亜美、山中信康、西田 崇、久保田聡、滝川正春、尾崎敏文
2. 発表標題 低出力パルス超音波（LIPUS）によりCCN2の発現・産生は増加する。
3. 学会等名 2017年度生命科学系学会合同年次大会 第40回日本分子生物学会 第90回日本生化学会大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 明石 翔、西田 崇、El-Seoudi A、滝川正春、飯田征二、久保田聡
2. 発表標題 細胞外情報を統合するCCNファミリー遺伝子の糖代謝を介した制御。
3. 学会等名 2017年度生命科学系学会合同年次大会 第40回日本分子生物学会 第90回日本生化学会大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 星島光博、服部高子、青山絵理子、西田 崇、田中智代、久保田聡、上岡 寛、滝川正春
2. 発表標題 CCN2とRab14の相互作用が骨・軟骨細胞の小胞輸送に及ぼす役割。
3. 学会等名 2017年度生命科学系学会合同年次大会 第40回日本分子生物学会 第90回日本生化学会大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 服部高子、Shanqi Fu、桑原実穂、内田瑤子、近藤 星、林 大智、下村 侑司、高垣安紗美、西田 崇、丸山 雄介、池亀 美華、服部 淳彦、久保田聡
2. 発表標題 軟骨組織におけるメラトニン合成とその受容体発現は概日リズムを持ち、軟骨細胞の代謝に影響を及ぼす。
3. 学会等名 2017年度生命科学系学会合同年次大会 第40回日本分子生物学会 第90回日本生化学会大会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計3件

1. 著者名 Nishida, T., Kubota, S., Takigawa, M.	4. 発行年 2017年
2. 出版社 Springer	5. 総ページ数 95-105
3. 書名 CCN Proteins: Methods and Protocols,	

1. 著者名 Nishida, T., Kubota, S., Takigawa, M.	4. 発行年 2017年
2. 出版社 Springer	5. 総ページ数 219-237
3. 書名 CCN Proteins: Methods and Protocols,	

1. 著者名 Nishida, T., Kubota, S., Takigawa, M.	4. 発行年 2017年
2. 出版社 Springer	5. 総ページ数 273-282
3. 書名 CCN Proteins: Methods and Protocols,	

〔産業財産権〕

〔その他〕

岡山大学歯学部口腔生化学
www.okayama-u.ac.jp/user/seika/index.html

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	久保田 聡 (Kubota Satoshi) (90221936)	岡山大学・医歯薬学総合研究科・教授 (15301)	
研究分担者	滝川 正春 (Takigawa Masaharu) (20112063)	岡山大学・医歯薬学総合研究科・教授 (15301)	
研究分担者	服部 高子 (Hattori Takako) (00228488)	岡山大学・医歯薬学総合研究科・助教 (15301)	
研究分担者	青山 絵理子 (Aoyama Eriko) (10432650)	岡山大学・医歯薬学総合研究科・助教 (15301)	
研究分担者	高江洲 かずみ(河田かずみ) (Takasue-Kawata Kazumi) (10457228)	岡山大学・医歯薬学総合研究科・助教 (15301)	