

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 20 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25462886

研究課題名(和文)CCN2・CCN3のダイアーキーによる組織形成統合制御機構の解明と応用

研究課題名(英文)Investigation on the biological diarchy by CCN2 and CCN3 for integrated tissue development

研究代表者

久保田 聡 (Kubota, Satoshi)

岡山大学・医歯(薬)学総合研究科・教授

研究者番号：90221936

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：ダイアーキーの相互作用を想定しCCN3を強制発現したところ細胞の線維化形質は抑制され、CCN2,4産生が抑制されていた。またCCN3を軟骨細胞に強発現するマウスを作成し解析した結果、内軟骨性骨形成の最終段階に遅延が認められた。なおCCN2協同分子として新たに数種の分子を見出した。続いて変形性関節症(OA)をラットに誘発させたところ組織のCCN3が著しく減少し、OA病巣へのCCN3タンパク質局所適用は改善効果を発揮した。次に組織再生CCNカクテルのモデルとして血小板を分析し、そこにCCN1,2,3,5が含まれることを明らかにした。これに倣い調製したCCNカクテルはCCN2以上の効果を発揮した。

研究成果の概要(英文)：Suspecting a biological diarchy by CCN2 and CCN3, CCN3 was overexpressed in fibrogenic cells. Consequently, the gene expression of profibrotic CCN2 and CCN4 were repressed. Also, overexpression of CCN3 disharmonizing the CCN2/CCN3 balance resulted in obvious delay in the final stage of endochondral ossification. New CCN2 molecular counterparts were identified as well. Subsequently, in a rat osteoarthritis (OA) rat model, CCN3 that was present in normal articular cartilage was drastically decreased, contrarily to CCN2. Ameliorating effects of CCN3 locally applied to the OA lesion was observed. Finally, by analyzing the components of platelets as a model of tissue regenerating tools, inclusion of CCN1, CCN3 and CCN5, as well as CCN2, was clarified therein. A CCN cocktail mimicking platelets showed even greater regeneration potential than CCN2 alone, suggesting its clinical utility.

研究分野：分子細胞生物学

キーワード：CCN family CCN2 CCN3 fibrosis cartilage osteoarthritis

1. 研究開始当初の背景

CCN ファミリーは哺乳類では 6 つのメンバーからなる特異なタンパク質の集団であり、メンバー間で相同性の高い 4 つのモジュールが連結された構造をとっている。これらモジュールを介して、CCN ファミリーメンバーは様々な生体分子と手をつなぎ、微細環境の分子動態に大きな影響を与える。本研究者は CCN2 をはじめとする個々の CCN ファミリーメンバーのこういった役割、それを支える分子機構を解明してきた。しかし近年その根本概念に懸念を感じるようになった。その際啓示となったのは、同じファミリーに属する CCN3 の存在である。本研究による研究成果の一部に軟骨組織における CCN ファミリーメンバーの時間的空間的分布と、軟骨細胞に対する作用の解析結果がある。それによると CCN ファミリーメンバーは重なり合って分布しており、CCN2 と CCN3 の共存も確認された。また注目すべきは、他メンバーの中で CCN3 のみが、はっきりと CCN2 と逆に見える作用を発揮した点である。つまり CCN2 を論ずる際には CCN3 の存在を忘れてはならず、逆もまた然りなのである。以上の事実から浮かび上がってくるのは、CCN2 と CCN3 が互いに牽制、拮抗そして時に協力しつつ、生体内小宇宙の調和を保つ姿である。本研究の核心をなすダイアーキー(二頭制)の意味するところはまさにここにある。

2. 研究の目的

(1)まず本研究では CCN2 で得られた研究成果を基盤として、細胞外シグナルネットワーク制御の要に CCN2 および CCN3 の緊密な連携を透視し、両者の「ダイアーキー」の下に組織発生、特に歯科領域で重要な骨・軟骨組織の発生成長が調和を保ちつつ行われる機構を分析・解明する。ここでは両者が相互作用を持つ新たな分子の発見とそれを含めた CCN2 と CCN3 の分子動態の解析が重要な部分を占める。
(2)以上に並行してこれら分子の動態、両者のバランスの生理的病理的意義を検証するとともに、それを遺伝子レベル、タンパク質レベルで制御するための基礎研究を展開し、組織再生医療に新たな方法論を提示する。これには遺伝子発現制御機構の解析も含まれる。
(3)さらにこれら分子が深く関わる歯科、医科領域の難治性疾患に対しても同じパラダイムのもと研究を展開し、全身医療へ広がる貢献を目指す。具体的には両者の関与が疑われる線維化疾患、変形性関節症(OA)などが最初の研究対象となる。

3. 研究の方法

(1)CCN2 と CCN3 に結合する協同分子の探索は、プロテインアレイおよび酵母 two hybrid system による一次スクリーニングから開始した。続いて分子間相互作用の詳細な解析は、免疫共沈降法、surface plasmon resonance (SPR) 分析法、ELISA plate を用いた固相結合法により行なった。

(2)線維芽細胞に TGF- β を作用させた線維化組織 in vitro モデルでは CCN2 の発現が増強されている。これにレトロウイルスベクターで CCN3 を過剰発現することにより、ダイアーキーが瓦解した病理的状況に対する CCN3 の影響力を免疫生化学的、分子生物学的に検証した。

(3)軟骨組織でのダイアーキーの生理的意義を探るために、CCN3 を軟骨組織特異的に過剰発現して CCN2/CCN3 バランスを崩したマウスを作製し、その表現型の変化を組織学的、分子生物学的に解析した。

(4)ラット膝関節のモノヨード酢酸 (MIA) を投与することにより OA モデルを作製し、そこにおける CCN2/CCN3 ダイアーキーの瓦解状況を免疫組織学的に解析した。続いて外部からの CCN タンパク質投与によりダイアーキーの是正を試み、その効果を組織学的に検証した。

(5)CCN2 単独でも軟骨組織再生能力を発揮するが、これを超える効果を発揮する「CCN カクテル」を開発するナチュラルモデルとして、血小板に含まれる CCN ファミリーメンバーを Western blot 法、ならびに蛍光免疫染色法により包括的に解析した。

4. 研究成果

(1)CCN2 ならびに CCN3 に結合する新たな協同分子の発見と詳細分析

まず関連解析に使用する CCN2 および CCN3 高品質リコンビナントタンパク質を得るために、トランスポゾンを用いた真核細胞からのタンパク質産生システムを開発した。また酵母 two hybrid system およびプロテインアレイ等によるスクリーニングの結果、CCN2 に関して新たに FGF-1、PDGF-BB、GDF-5、PDGFRL、CD302 が協同因子候補として見出された。さらにこれら協同因子候補と CCN2 との直接的相互作用を SPR 法で分析したところ(図 1) FGF-1 と GDF-5 が CCN2 に特異的に結合することが確認された。また FGF-1 と CCN2 の結合は固相結合法によっても確認できた。

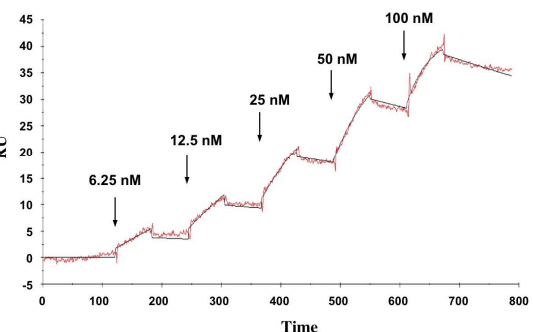


図 1 : SPR 法により確認された FGF-1 と CCN2 の直接的結合。Sensor chip に CCN2 を固相化しアナライトとして標記濃度の FGF-1 を適用、共鳴単位 RU を測定した。

さらに PDGFRL については CCN3 と結合す

ることが免疫共沈降法によって確認され、新たな CCN2/CCN3 共通の協同分子がまた一つここで見つかった。こうして CCN ファミリーを取り巻く分子ネットワークの未知の部分が見え明らかとなった。

こういった分子のうち機能面で現在最も注目している分子は CD302 である。この分子は前破骨細胞膜上に存在し、その成熟・機能発揮に必要であることを現在明らかにしつつある。CCN3 も破骨細胞形成に影響力を持つ事が知られているため、今後 CCN3 も含めダイアーキーの視点から研究を展開する予定である。

(2)線維化組織に対する CCN2/CCN3 バランス制御による表現型矯正の試み

多くの臓器・組織の線維化病変においては、CCN2 の発現が誘導されており、CCN2/CCN3 バランスが強く CCN2 側に傾いていると考えられる。そこで本研究では CCN3 過剰発現用レトロウイルスベクターを構築し、その発現をマウス線維芽細胞で確認するとともに細胞生物学的影響を検討した。TGF- β でマウス線維芽細胞を刺激して CCN2 と線維化形質を誘導した状態で CCN3 を強制発現したところ、期待通り線維化形質は抑制された。

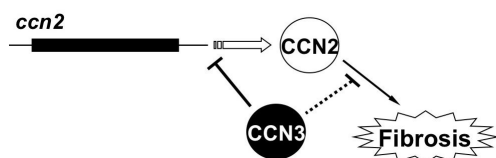


図 2 : CCN2/CCN3 バランス回復による線維化の矯正。強制発現された CCN3 は、線維化に働く CCN2 とタンパク質レベル及び遺伝子発現レベルでの相互作用を演じ、線維化を抑制する。

その際 CCN2 を含めて全 CCN ファミリーメンバーの遺伝子発現変動を評価したところ、CCN2 に加えて CCN4 までもが発現を抑制されていた。これは線維化病変形成における CCN2 と CCN3 のダイアーキーを裏付ける結果であると同時に(図 2)、CCN4 など他のメンバーも考慮して研究を進めねばならないことを示す重要な実験事実である。

(3)内軟骨性骨形成における CCN2/CCN3 バランスの生理的意義の解析

CCN2、CCN3 両者に共通な協同分子の代表格である BMP-2 は、内軟骨性骨化で重要な役割を演ずることが知られている。そこで、すでに樹立した軟骨細胞特異的 CCN2 トランスジェニックマウスに加えて、CCN3 を軟骨細胞特異的に強発現する変異マウスを作成し、CCN2/CCN3 バランスの変調が軟骨・骨形成に与える影響を解析した。その結果、CCN3 過剰発現によって、BMP-2 の発現が見られる内軟骨性骨形成の最終段階に明瞭な遅延がみられた。また軟骨の骨への置換が行われる境界部分では、血管侵入度の低下が認められた。以上の所見は適切な CCN2/CCN3 バランスが正常な内軟骨性骨形成にとって重要であることを明瞭に示している。また CCN2 ノックアウトマウスとは表現型に類

似点はあるものの異なっていることから、CCN2 と CCN3 は単に拮抗し合い作用するのではなく、BMP-2 を代表とする協同分子との複雑なネットワークの下に機能していることが裏付けられた。

(4)CCN2/CCN3 バランスを考慮した骨・軟骨再生誘導プロトコルの試作と検証

従前の CCN2 単独適用に代わる骨・軟骨組織に最適な「組織再生 CCN カクテル」のレシピを設計するにあたり、すでに組織再生医療で応用されている多血小板血漿をそのナチュラルモデルとして分析した。そして今回、血小板に CCN2 が大量に含まれることを確認するとともに、CCN1、CCN3、CCN5 も含まれることを明らかにした。そこで CCN1、2、3、5 カクテルを調整し軟骨細胞様 HCS-2/8 細胞に添加したところ、CCN2 単独に勝るとも劣らぬ効果を発揮した。本所見は(2)の結果同様ダイアーキーのアイデアを支持するとともに、全 CCN ファミリーメンバーを視野に入れて研究を展開する必要性を明瞭に示すものと言える。

(5)CCN2 関連病変におけるダイアーキー瓦解の実態調査

OA において関節軟骨細胞から CCN2 が産生されること、また CCN2 の強制発現が OA の発病を阻止することは我々の過去の研究により明らかである。そこで本研究ではダイアーキーの視点から、CCN3 の OA 発症における役割、さらに CCN3 局所適用の OA への効果を解析した。まずラット膝関節に OA 様病変を誘導したところ、正常なラット関節軟骨細胞には一定量存在する CCN3 が、OA 誘導によって激減し検知限界未満となった。この変化は CCN2 と完全に逆であるが、関節軟骨の維持における CCN3 の役割を示唆する所見でもある。よって *in vitro* の実験系で CCN3 の過剰発現が関節軟骨細胞の形質を増強することを確認の後、ラット OA モデルに対して CCN3 タンパク質を局所適用しその効果を検証した。その結果、CCN3 は OA に対し改善効果を発揮することが組織学的解析によって明らかになった。

なおこういった CCN2/CCN3 によるダイアーキー制御メカニズムを明らかにするためには、それぞれの遺伝子発現調節システムの比較解析が必要である。このため本研究では転写調節システムの比較解析のため、既存の CCN2 プロモーターレポータープラスミドに倣い、CCN3 についても同様のプラスミドの作成を完了した。現在これを用いた CCN2、CCN3 の転写制御システムの比較解析を進めており、将来的には CCN2/CCN3 バランスを外部から制御できるような小分子の開発とその医学的応用を目指したい。

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20件)英文全て査読あり

1. Hara, C., **S. Kubota**, **T. Nishida**, M. Hiasa, **T. Hattori**, **E. Aoyama**, Y. Moriyama, H. Kamioka and **M. Takigawa**. 2016. Involvement of multiple CCN family members in platelets that support regeneration of joint tissues. *Mod. Rheumatol.* in press.
2. Perbal B, L. Lau, K. Lyons, **S. Kubota**, and H. Yeger, G. Fisher. 2016. Report on the 8th international workshop on the CCN family of genes - Nice November 3-8, 2015. *J Cell Commun. Signal.* 10:77-86. doi: 10.1007/s12079-016-0317-y.
3. Murase, Y., **T. Hattori**, **E. Aoyama**, **T. Nishida**, A. Maeda-Uematsu, H. Kawaki, K.M. Lyons, A. Sasaki, **M. Takigawa** and **S. Kubota**. 2016. Role of CCN2 in amino acid metabolism of chondrocytes. *J. Cell. Biochem.* 117:927-937. doi: 10.1002/jcb.25377.
4. **Kubota, S.**, A. Maeda-Uematsu, **T. Nishida**, and **M. Takigawa**. 2015. New functional aspects of CCN2 revealed by trans-omic approaches. *J. Oral Biosc.* 57: 37-43. doi:10.1016/j.job.2014.09.002
5. **Kubota, S.**, and **M. Takigawa**. 2015. Cellular and molecular actions of CCN2/CTGF and its role under physiological and pathological conditions. *Clinical Science* 128: 181-196. doi: 10.1042/CS20140264.
6. Khattab, H.M., **E. Aoyama**, **S. Kubota**, and **M. Takigawa**. 2015. Physical interaction of CCN2 with diverse growth factors involved in chondrocyte differentiation during endochondral ossification. *J. Cell Commun. Signal.* 9:247-254. doi: 10.1007/s12079-015-0290-x.
7. Hara, E.S., O. Mitsuaki, P.T. Hai, W. Sonoyama, **S. Kubota**, **M. Takigawa**, T. Matsumoto, M.F. Young, B. R. Olsen and T. Kuboki. 2015. Fluocinolone acetonide is a potent synergistic factor of TGF- β 3-associated chondrogenesis of bone marrow-derived mesenchymal stem cells for articular surface regeneration. *J. Bone Miner. Res.* 30:1585-1596. doi: 10.1002/jbmr.2502.
8. **Aoyama, E.**, **S. Kubota**, H.M. Khattab, **T. Nishida** and **M. Takigawa**. 2015. CCN2 enhances RANKL-induced osteoclast differentiation via direct binding to RANK and OPG. *Bone* 73:242-248. doi: 10.1016/j.bone.2014.12.058.
9. **Nishida, T.**, **S. Kubota**, **E. Aoyama**, D. Janune, K.M. Lyons and **M. Takigawa**. 2015. CCN family protein 2 (CCN2) promotes the early differentiation, but inhibits the terminal differentiation of skeletal myoblasts. *J Biochem.* 157:91-100. doi: 10.1093/jb/mvu056.
10. Abd El Kader, T., **S. Kubota**, K. Anno, S. Tanaka, **T. Nishida**, T. Furumatsu, **E. Aoyama**, T. Kuboki and **M. Takigawa**. 2014. Direct interaction between CCN family protein 2 and fibroblast growth factor 1. *J Cell Commun Signal.* 8:157-163. doi: 10.1007/s12079-014-0232-z.
11. Maeda-Uematsu, A., **S. Kubota**, H. Kawaki, K. Kawata, Y. Miyake, **T. Hattori**, **T. Nishida**, N. Moritani, K.M. Lyons, S. Iida and **M. Takigawa**. 2014. CCN2 as a novel molecule supporting energy metabolism of chondrocytes. *J. Cell. Biochem.* 115:854-865. doi: 10.1002/jcb.24728.
12. Abd El Kader, T., **S. Kubota**, **T. Nishida**, **T. Hattori**, **E. Aoyama**, D. Janune, E.S. Hara, M. Ono, Y. Tabata, T. Kuboki and **M. Takigawa**. 2014. The regenerative effects of CCN2 independent modules on chondrocytes in vitro and osteoarthritis models in vivo. *Bone* 59:180-188. doi: 10.1016/j.bone.2013.11.010.
13. 河田かずみ, **久保田 聡**, 滝川正春. 2013. CCN2/CTGF のシグナル/トランスサイトosis受容体としてのLRP1 生体の科学 64: 480-481. doi: http://dx.doi.org/10.11477/mf.2425101525.
14. 青山絵理子, **久保田 聡**, 滝川正春. CCN2/CTGF による FGF2-FGFR2 結合の修飾. 2013. 生体の科学 64 : 478-479. doi: http://dx.doi.org/10.11477/mf.2425101524
15. **Kubota, S.**, and **M. Takigawa**. 2013. The CCN family acting throughout the body: recent research developments. *BioMol. Concepts* 4: 477-494. doi: 10.1515/bmc-2013-0018.
16. Nakagawa, Y., M. Minato, K. Sumiyoshi, A. Maeda, C. Hara, Y. Murase, **T. Nishida**, **S. Kubota** and **M. Takigawa**. 2013. Regulation of CCN1 via the 3'-untranslated region. *J. Cell Commun. Signal.* 7:207-217. doi: 10.1007/s12079-013-0202-x.
17. Sumiyoshi, K., **S. Kubota**, T. Ohgawara, K. Kawata, T. Abd El Kader, **T. Nishida**, N. Ikeda, T. Shimo, T. Yamashiro and **M. Takigawa**. 2013. Novel role of miR-181a in cartilage metabolism. *J. Cell. Biochem.* 114:2094-2100. doi: 10.1002/jcb.24556.
18. **Nishida, T.**, **S. Kubota**, **E. Aoyama** and **M. Takigawa**. 2013. Impaired glycolytic metabolism causes chondrocyte hypertrophy-like changes via promotion of phospho-Smad1/5/8 translocation into nucleus. *Osteoarthritis Cartilage* 21:700-709. doi: 10.1016/j.joca.2013.01.013.

〔図書〕(計14件)

1. **Kubota, S.**, H. Kawaki and **M. Takigawa**. ELISA of CCN Family proteins in body fluids including serum and plasma. in *Methods in Molecular Biology: CCN Proteins: Methods and Protocols*, Takigawa, M. (ed), Springer, 2016, in press.
2. **Kubota, S.** and **M. Takigawa**. Preparation of module-specific antibodies against CCN family members. in *Methods in Molecular Biology: CCN Proteins: Methods and Protocols*, Takigawa, M. (ed), Springer, 2016, in press.
3. **Kubota, S.**, H. Kawaki and **M. Takigawa**. *Protocols for screening peptide motifs binding*

- to CCN family proteins. in *Methods in Molecular Biology: CCN Proteins: Methods and Protocols*, Takigawa, M. (ed), Springer, 2016, in press.
4. Kawaki, H., **S. Kubota** and **M. Takigawa**. Real-time PCR analyses of CCN family gene expressions. in *Methods in Molecular Biology: CCN Proteins: Methods and Protocols*, Takigawa, M. (ed), Springer, 2016, in press.
 5. Kawaki, H., **S. Kubota** and **M. Takigawa**. Western blotting analyses of CCN proteins. in *Methods in Molecular Biology: CCN Proteins: Methods and Protocols*, Takigawa, M. (ed), Springer, 2016, in press.
 6. Kawaki, H., **S. Kubota** and **M. Takigawa**. Analysis of signaling pathways activated by CCN proteins. in *Methods in Molecular Biology: CCN Proteins: Methods and Protocols*, Takigawa, M. (ed), Springer, 2016, in press.
 7. Kawaki, H., **S. Kubota** and **M. Takigawa**. Immunohistochemical analyses of CCN proteins. in *Methods in Molecular Biology: CCN Proteins: Methods and Protocols*, Takigawa, M. (ed), Springer, 2016, in press.
 8. Kawata, K., **S. Kubota** and **M. Takigawa**. Analysis of transcytosis of CCN2 by chondrocytes. in *Methods in Molecular Biology: CCN Proteins: Methods and Protocols*, Takigawa, M. (ed), Springer, 2016, in press.
 9. **Nishida, T.**, **S. Kubota** and **M. Takigawa**. Production of recombinant CCN2 protein by mammalian cells. in *Methods in Molecular Biology: CCN Proteins: Methods and Protocols*, Takigawa, M. (ed), Springer, 2016, in press.
 10. **Nishida, T.**, **S. Kubota** and **M. Takigawa**. Cell biological assays for measuring chondrogenic activities of CCN2 protein. in *Methods in Molecular Biology: CCN Proteins: Methods and Protocols*, Takigawa, M. (ed), Springer, 2016, in press.
 11. **Nishida, T.**, **S. Kubota** and **M. Takigawa**. In vivo evaluation of cartilage regenerative effects of CCN2 protein. in *Methods in Molecular Biology: CCN Proteins: Methods and Protocols*, Takigawa, M. (ed), Springer, 2016, in press.
 12. **Aoyama E.**, **T. Hattori**, **S. Kubota** and **M. Takigawa**. Production of recombinant CCN family 2 protein in *Escherichia coli*. in *Methods in Molecular Biology: CCN Proteins: Methods and Protocols*, Takigawa, M. (ed), Springer, 2016, in press.
 13. Kondo, S., **S. Kubota**, and **M. Takigawa**. Analysis of post-transcriptional regulation of CCN genes. in *Methods in Molecular Biology: CCN Proteins: Methods and Protocols*, Takigawa, M. (ed), Springer, 2016, in press.
 14. Eguchi, T., **S. Kubota**, and **M. Takigawa**. Promoter analyses of CCN genes. in *Methods in Molecular Biology: CCN Proteins: Methods and Protocols*, Takigawa, M. (ed), Springer, 2016, in press.
- [学会発表](計84件)
(特別講演、シンポジウム、国際学会に限る)
1. **Kubota, S.** Metabolic impacts of CCN2 in chondrocytes. Eighth International Workshop on the CCN Family of Genes, 2015, 11, 3-8, Nice (France)
 2. **Nishida, T.** Induction of CCN2 by low-intensity pulsed ultrasound (LIPUS) in cultured chondrocytes and its biological significance. Eighth International Workshop on the CCN Family of Genes, 2015, 11, 3-8, Nice (France)
 3. Hoshijima, M. Role of interaction between CCN2 and Rab14 in vesicle trafficking in chondrocytes novel intracellular function of CCN2. Eighth International Workshop on the CCN Family of Genes, 2015, 11, 3-8, Nice (France)
 4. **Takigawa, M.** Regenerative effects of CCN2 independent modules and CCN3 on articular chondrocytes/cartilage. Eighth International Workshop on the CCN Family of Genes, 2015, 11, 3-8, Nice (France)
 5. **滝川正春**: CCN ファミリー研究の歴史と最前線 Meet the Experts 第33回日本骨代謝学会、2015, 7, 23-25, 京王プラザホテル(東京)
 6. **滝川正春**: 超高齢化社会における歯科基礎医学の役割: 機能的観点から~CCN ファミリーメンバー2 のアンチエイジング作用~ 日本学術会議シンポジウム 第56回歯科基礎医学会学術大会 2014, 9, 25-27, 福岡国際会議場(福岡、福岡)
 7. **久保田聡**: トランスオーミックアプローチによる CCN2 の代謝支持機能の解明。第6回 CCN ファミリー研究会シンポジウム「CCN ファミリー研究のフロンティア」, 2014. 8. 30、岡山大学(岡山、岡山)
 8. **Nishida, T.** LIPUS promotes CCN2-mediated cartilage matrix gene expression via MAPK pathways. 92nd IADR, 2014, 6, 25-28, Cape Town (South Africa)
 9. **Aoyama, E.** CCN2 induces osteoclastogenesis by regulating RANK/RANKL/OPG system. ECTS Congress, 2014, 5, 17-20, Prague (Czech Republic)
 10. **久保田聡**. miR-181a in chondrocyte differentiation. 第27回日本軟骨代謝学会スポンサーシンポジウム1 軟骨分化の最先端 2014, 2, 28-3, 1、京都府医師会館(京都、京都)
 11. **Kubota, S.** New functional aspects of known molecules as CCN2 partners. Seventh International Workshop on the CCN Family of Genes, 2013, 10, 16-19, Nice (France)
 12. **Takigawa, M.** Roles of CCN2 and CCN3 in skeletogenesis. Seventh International Workshop on the CCN Family of Genes, 2013, 10, 16-19, Nice (France)

13. Hattori, T. Cartilage-specific overexpression of CCN3 modulates endochondral bone formation. Seventh International Workshop on the CCN Family of Genes, 2013, 10, 16-19, Nice (France)
 14. Aoyama, E. The novel role of CCN2 as a regeatory factor in RANK/RANKL/OPG system. Seventh International Workshop on the CCN Family of Genes, 2013, 10, 16-19, Nice (France)
 15. Ono, M. CCN4/Wisp-1 enhances cell migration during skin wound healing. Seventh International Workshop on the CCN Family of Genes, 2013, 10, 16-19, Nice (France)
 16. Kubota, S. Role of LRP1 in transport of CCN2 protein in chondrocytes. Okayama Univ – Harvard Univ.-Helsinki Univ.-NUS- Calcified Tissue Joint Seminar (50th Molecular Biology of Calcified Tissue Seminar), 2013, 9, 24, Okayama University (Okayama, Okayama)
 17. Hattori, T. Effect of overexpression of CCN2 in mouse cartilage. Okayama Univ – Harvard Univ.-Helsinki Univ.-NUS- Calcified Tissue Joint Seminar (50 th Molecular Biology of Calcified Tissue Seminar), 2013, 9, 24, Okayama University (Okayama, Okayama)
 18. Nishida, T. CCN2 inhibits BMP2-induced heterotopic ossification. Okayama Univ – Harvard Univ.-Helsinki Univ.-NUS- Calcified Tissue Joint Seminar (50 th Molecular Biology of Calcified Tissue Seminar), 2013, 9, 24, Okayama University (Okayama, Okayama)
 19. Aoyama, E. Molecular mechanism of CCN2-induced osteoclastogenesis. Okayama Univ – Harvard Univ.-Helsinki Univ.-NUS- Calcified Tissue Joint Seminar (50 th Molecular Biology of Calcified Tissue Seminar), 2013, 9, 24, Okayama University (Okayama, Okayama)
 20. Abd El Kader, T. Anti-fibrotic role of CCN3 through regulation of CCN family genes. The third international symposium of medical-dental-pharmaceutical education and research in Okayama, 2013. 9. 22-23、岡山大学 (岡山、岡山)
 21. Aoyama, E. Molecular mechanism of CCN2-induced osteoclastogenesis. The third international symposium of medical-dental-pharmaceutical education and research in Okayama, 2013, 9, 22-23、岡山大学 (岡山、岡山)
 22. 久保田聡、メタロプロテイナーゼとインテグリンが描き出す CCN2 の新たな機能。第 55 回 歯科基礎医学会学会学術大会、メインシンポジウム 2「オーミクスから彫塑する疾患像」2013, 9, 20-22、岡山コンベンションセンター (岡山、岡山)
 23. 西田崇、軟骨細胞における CCN2 発現及び産生量に与える低出力性超音波(LIPUS)の効果。第 55 回歯科基礎医学会学会学術大会、サテライトシンポジウム 4「CCN ファミリーをめぐるトランスクリプトーム」2013, 9, 20-22、岡山コンベンションセンター (岡山、岡山)
 24. 服部高子、軟骨特異的 CCN3 過剰発現による内軟骨性骨形成の修飾。第 55 回歯科基礎医学会学術大会、サテライトシンポジウム 9「CCN ファミリーをめぐるトランスクリプトーム」2013, 9, 20-22、岡山コンベンションセンター (岡山、岡山)
 25. Aoyama, E. Molecular mechanism of CCN2-induced osteoclastogenesis. The 38th FEBS Congress, 2013, 7, 6-11, St. Petersburg (Russia)
 26. Aoyama, E. CCN2 enhances osteoclastogenesis via its direct bindings to RANK and OPG. 2nd joint meeting of IBMS-JSBMR, 2013, 5, 28- 6, 1、神戸国際会議場 (神戸、兵庫)
 27. Nishida, T. CCN2 is up-regulated in cultured chondrocytes treated with low-intensity pulsed ultrasound (LIPUS). 2nd joint meeting of IBMS-JSBMR, 2013, 5, 28- 6, 1、神戸国際会議場 (神戸、兵庫)
 28. Maeda, A. Crucial role of CCN2 in energy metabolism in chondrocytes. 2nd joint meeting of IBMS-JSBMR, 2013, 5, 28- 6, 1、神戸国際会議場 (神戸、兵庫)
 29. Abd El Kader, T. Identification and characterization of chondrocytic fibroblast growth factor 1 as a molecular counterpart of CCN family member 2. 2nd joint meeting of IBMS-JSBMR, 2013, 5, 28- 6, 1、神戸国際会議場 (神戸、兵庫)
 30. Hattori, T. Cartilage-specific overexpression of CCN3 negatively regulates endochondral bone formation. 2nd joint meeting of IBMS-JSBMR, 2013, 5, 28- 6, 1、神戸国際会議場 (神戸、兵庫)
- 6 . 研究組織
- (1)研究代表者
久保田 聡 (KUBOTA, Satoshi)
岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・教授
研究者番号：9 0 2 2 1 9 3 6
- (2)研究分担者
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：2 0 1 1 2 0 6 3
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：0 0 2 2 8 4 8 8
西田 崇 (NISHIDA, Takashi)
岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・准教授
研究者番号：3 0 3 2 2 2 3 3
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：1 0 4 3 2 6 5 0