

令和 3 年 5 月 27 日現在

機関番号：15301

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2019～2020

課題番号：19K22716

研究課題名(和文) 内在性UTRブロッカーによるCCN2遺伝子発現制御とその生物学的意義

研究課題名(英文) Regulation of CCN2 by an endogenous UTR blocker and its biological significance

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) 4,900,000円

研究成果の概要(和文)：CCN2は軟骨細胞で発現し骨格形成に重要な遺伝子である。本研究では、ヒトCCN2遺伝子の3'-非翻訳領域(UTR)を覆うアンチセンス長鎖ノンコーディングRNAであるACURの機能の解明を目指した。まずACURのヒト細胞での発現は、各種がん細胞だけでなく軟骨細胞様細胞や、膝関節軟骨細胞でも確認できた。さらにマウス間葉系幹細胞株でもACURが転写され、脂肪細胞への分化に伴いCCN2と同様発現が低下することが分かった。一方マウス軟骨前駆細胞株では、分化前にはACURの発現は弱く、分化に伴い上昇した。以上の成果はACURがCCN2発現を正に制御し、軟骨細胞分化に関与していることを示すものである。

研究成果の学術的意義や社会的意義

転写後調節に重要な3'-UTRを覆ってしまうACURはアンチセンスRNAの中でも特殊である。lncRNAの多くは転写因子やクロマチン制御因子を招いて周囲の転写に影響を与えるが、ACURはこれらとは異なる。つまり本研究は新たなlncRNAカテゴリーを見出しlncRNAタクソミーを塗り替えようとする挑戦である。またアンチセンスRNAの存在が知られる前は、mRNAとアンチセンスRNAの総和を目的mRNA量だと勘違いしていたケースが想定される。そして研究者は遺伝子ロックアウトの際、アンチセンス側に与える影響を十分に考慮してきただろうか？本研究は既存の研究成果に再検討の必要性を認識させるものでもある。

研究成果の概要(英文)：The CCN2 gene is expressed in chondrocytes and plays a critical role in mammalian skeletal development. The aim of this study is to clarify the function of a novel lncRNA entitled ACUR that covers the entire 3'-untranslated region of the CCN2 mRNA. First, we found that ACUR was expressed, not only in several types of cancer cells, but also in human chondrocytic cells and chondrocytes isolated from knee joints. ACUR expression was subsequently confirmed in a murine mesenchymal stem cell-like cells, which was repressed along with adipogenic differentiation. Interestingly, CCN2 mRNA expression was decreased upon adipogenic differentiation as well. ACUR was also detected in murine chondroblastic cells. However, in contrast, ACUR expression was increased during the course of chondrocytic differentiation. These findings indicate that ACUR is conserved between human and murine species and that this lncRNA contributes to chondrocytic differentiation, positively regulating the CCN2 gene.

研究分野：硬組織生物学

キーワード：CCN2 lncRNA antisense RNA gene regulation skeletal development

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

応募者は30年以上にわたり分子生物学的研究を続けてきたが、その間正体不明のRNAの存在を意識せざるを得ない状況にしばしば直面してきた。たとえば組織切片で目的遺伝子の発現をみるために、アンチセンスRNAをプローブとして*in situ* hybridizationを行なう際、当時センスRNAを陰性対象として用いていた。ところがこのセンスRNAで強いシグナルが出てしまうことは少なくなかった。それはまぎれもなく目的遺伝子のアンチセンスRNAであり、応募者は少なからず興味を覚えたことを記憶している。同様の現象がヒトCCN2 mRNAを標的としたRNase protection analysisで観察されたのが2000年の頃である。陰性対象であるはずの、センス鎖CCN2 3'-UTRをプローブとした実験で、転写産物を示す明瞭なバンドがヒト細胞RNA中に検出されたのである。なおこのバンドは、塩基配列がヒトとは異なるマウス細胞では検出されない。当時は内在性アンチセンスRNAなど話題にもされず、3'-UTRがmiRNAの標的を持つことなども知られていなかったため、応募者は臨床系論文の一部として当該データを発表するに留まった。ところが2017年に理化学研究所がlncRNAデータベースFANTOM-CATを公開し、応募者もしばしばアクセスするようになった。そして多くのヒト遺伝子の裏側から、夥しい種類のアンチセンスRNAが転写されている事実と直面した。mRNAの3'-UTRの機能に着目して研究を展開してきた応募者は、それをブロックするアンチセンスRNAの解析の意味に気づいたのである。

2. 研究の目的

ヒトゲノムには30,000種もの長鎖ノンコーディングRNA(long noncoding RNA: lncRNA)が転写されており、この数はタンパク質を作るための遺伝子の数を遥かに凌ぐ。さらに、このうち20,000種程度には何らかの機能があるとされている。とりわけmRNAと相補的なlncRNA(アンチセンスlncRNA)の存在は、当該mRNA発現制御に関わる可能性、およびmRNAに紛れて定量されてしまう危険性の両面から十分に認識しておく必要がある。

CCN2は、脊椎動物の骨格を造り上げる内軟骨性骨化をはじめとして、さまざまな組織の発生・成長過程に重要な分子である。応募者はその研究途上、上記のようにCCN2遺伝子に対してもアンチセンスlncRNAが発現していることに気づいたが、それは2017年に公開されたFANTOM-CATにも登録されていた。このRNAはCCN2の3'-非翻訳領域(3'-UTR)を過不足なく覆う、既存のカテゴリーに収まらない特異なアンチセンスlncRNAである。本研究ではこれをAnti-CCN2 3'-UTR RNA (ACUR)と名付け、以下を明らかにすることを目的とした。

(1) ACURの非コード領域封鎖(UTRブロッカー)機能の検証

mRNAの3'-UTRとはコード領域からポリAテールまでの部分のことであるが、今世紀に入りこの3'-UTRがmiRNAの標的を数多く含み遺伝子発現制御に重要な役割を演じていることが明らかになった。まずこの3'-UTRによる制御へのACURの影響力を検証する。

(2) ACURの生物学的役割の解析

非コード領域封鎖機能を確認後、生体内におけるACURの役割の解明に進む。CCN2の分子機能を鑑み、骨格形成における役割解明を中心に据える。

(3) ACURの医学的応用可能性へ向けての検討

CCN2は骨格形成だけでなくエネルギー消費、線維化疾患や乳癌の転移に積極的に関与している。ACURの機能を利用してCCN2発現を操作し、関連疾患の病態制御を目指す。

3. 研究の方法

(1) 細胞培養

ヒト軟骨細胞様HCS-2/8細胞株、ラット軟骨細胞様RCS細胞株、ヒト乳がん由来MDA-MB231細胞、およびヒト脛骨から分離した軟骨細胞は10%ウシ胎児血清(FBS)を含むDulbecco's modified Eagle's minimum essential medium中で培養し実験に供した。またマウス間葉系幹細胞様C3H10T1/2細胞は10% FBSを含む α modification of Eagle's medium (α MEM)で培養し、インスリンとデキサメタゾンを含む分化誘導培地にて脂肪細胞に分化させた。一方マウス軟骨前駆細胞様ATDC5細胞については、5%FBSを含むDMEMとHam's F12培地の混合培地にて培養し、インスリン、トランスフェリンおよび亜セレン酸ナトリウムを含む培地にて軟骨細胞分化を誘導した。

(2) 遺伝子発現解析

ACURおよび*Col2a1*、*Acan*などの軟骨細胞マーカー、および*Pparg*、*Cebpa*などの脂肪細胞マーカー遺伝子発現の定量評価は、細胞から全RNAを抽出し、逆転写ののち各mRNA特異的増幅用プライマーを用いた定量リアルタイムPCR法によって行った。なおACUR、CCN2および*Ccn2*に関しては、それぞれのRNA鎖特異的プライマーで逆転写を行い、センス鎖とアンチセンス鎖を弁別的に定量した。内部標準としてはglyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase 遺伝子(*Gapdh*)の発現量を同様に測定し、データの標準化を行った。

(3) レポータージーンアッセイ

ヒト CCN2 遺伝子 3'-UTR の遺伝子発現抑制機能に対する ACUR の影響を評価するため、3'-UTR 全長を、ホタルルシフェラーゼ遺伝子下流の 3'-UTR 部分に接続したレポータープラスミドを準備した。併せて ACUR 転写領域をサイトメガロウイルスプロモーター下流に接続し、これを強発現するためのプラスミドも構築した。これらプラスミドを HCS-2/8 細胞内に DNA トランスフェクション法により導入し、細胞抽出液中のルシフェラーゼ活性を、ACUR を強発現しない場合と比較定量した。

(4) 遺伝子ノックアウト・ノックダウン実験

RCS 細胞に対して CRISPR/Cas9 システムを用い、2 種のガイド RNA を用いて標的遺伝子に欠損を入れる方法で遺伝子ノックダウンを行った。また HCS-2/8 細胞におけるアンチセンス RNA 特異的ノックダウン(サイレンシング)のための、ギャップを含む修飾 RNA 複合体の設計に着手した。

(5) *In silico* 解析

軟骨細胞、骨芽細胞、間葉系幹細胞の RNA シークエンシングデータ、および C2C12 細胞の H3ac histone ChIP シークエンシングデータは ENCODE ポータルサイト(<http://www.encodeproject.org>) からダウンロードし、University of California Santa Cruz ゲノムブラウザ (<http://genome.ucsc.edu>) にて解析した。

4. 研究成果

(1) ACUR が CCN2 3'-UTR による転写後遺伝子発現抑制機能に与える影響

CCN2 3'-UTR が転写後段階で遺伝子発現を抑制することは、応募者が初めて明らかにした事実であり (Kubota et al. *Oncogene* 2000)、その後の研究でこの 3'-UTR には多数の転写後抑制エレメントが含まれることが明らかにされている。したがってまず ACUR が、3'-UTR と相補的に結合してその転写後遺伝子発現機能を封じ込めるか否かを、レポータージーンアッセイで検討した。すなわちヒト CCN2 3'-UTR をホタルルシフェラーゼ遺伝子 3'-UTR として組み込んだレポータープラスミドと、ACUR を強発現するプラスミドまたはその母体となったプラスミド(陰性対照)とを HCS-2/8 細胞に導入し、ルシフェラーゼ遺伝子発現を比較検討した。その結果、ルシフェラーゼ産生量に両者の間で差はみられなかった。以上より ACUR は、プラスミドから出力された CCN2 3'-UTR を持つ mRNA には有効に作用しないと考えられる。したがって別遺伝子で報告されているように、ACUR が標的遺伝子(この場合 CCN2)のエピジェネティック制御に関わっている可能性も考慮しつつ、今後は解析を進めて行く必要がある。

(2) 各種ヒト細胞における ACUR 発現の確認と CCN2 発現量との連関

通常アンチセンス RNA はセンス RNA の発現を抑制することが知られているため、センス RNA である CCN2 mRNA と ACUR の発現量には負の相関を予測することもまた自然な考えである。これを確認するためにヒト乳がん細胞株とヒト脛骨関節より分離した軟骨細胞間で、この 2 つの RNA の発現量を定量評価したところ、この常識に反してどちらの RNA の発現もヒト関節軟骨細胞において高いことが明らかになった。したがって研究開始以前の予備実験データと併せて考えても、ACUR と CCN2 mRNA の発現量には正の相関があるという結論を得た。

(3) マウス細胞株における ACUR 発現の確認と脂肪細胞・軟骨細胞分化における発現変動

LncRNA には種間で保存されていないものも多いので、マウスを用いた研究を念頭において ACUR がマウス細胞にも存在するかを、間葉系幹細胞株 C3H10T1/2 と、軟骨前駆細胞株 ATDC5 において確認した。その結果 ACUR オルソログはどちらの細胞にも発現していることが確認できた。続いて C3H10T1/2 細胞が脂肪細胞へ分化する過程、および ATDC5 細胞が軟骨細胞に分化する過程において、ACUR 発現がどのように変動するかを解析した。分化誘導により C3H10T1/2 細胞は脂肪細胞マーカーである *Pparg*、*Cebpa* を強く発現するようになったが、CCN2 と ACUR の発現は逆に大きく減少した。また ATDC5 細胞の軟骨細胞への分化が進むに従って、ACUR の発現は軟骨細胞マーカーである *Col2a1*、*Acan* と同様に上昇した。以上の結果を図 1 にまとめて示す。これら所見から ACUR は軟骨細胞分化と脂肪細胞分化の両方に関わっている可能性を強く示している。さらにどちらの分化過程においても CCN2 と同傾向の変動を見せたという事実は、(2) で得られた結果とともに ACUR が通常のアンチセンス RNA とは異なり、CCN2 遺伝子発現を正の方向に制御している可能性を改めて示唆している。

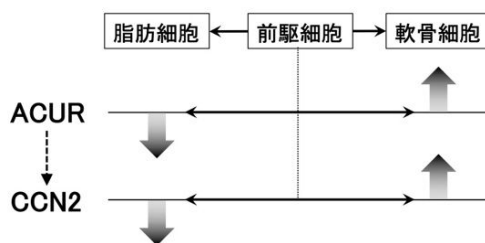


図 1: ACUR と CCN2 mRNA の間葉系細胞分化過程における発現変動

(4) ヒトとマウスにおける新たな ACUR 関連 lncRNA の解析

ENCODE ポータルサイトで公開されている RNA sequencing data を解析することにより、ACUR がヒト骨芽細胞、軟骨細胞において発現している一方、間葉系幹細胞ではほとんどその発現が

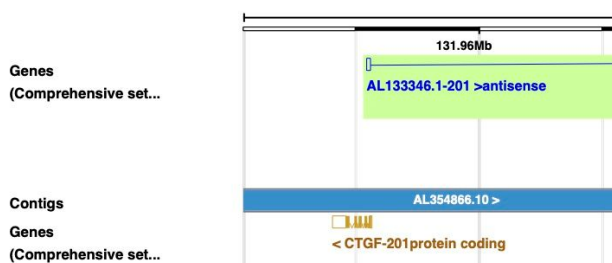


図2: 新たに見つかった CCN2(図中では CTGF)のアンチセンス RNA 2つのエクソンからなり1番目のエクソンが CCN2 mRNA と重なっており、2番目のエクソンははるか下流(右方向)に存在する

見られないことを見出した。これは ACUR が骨格形成に重要な役割を果たしていることを裏付ける事実として重要である。さらにヒトもう一つ、CCN2 遺伝子座に ACUR 以外に CCN2 mRNA 5'末端領域と重なる形で別のアンチセンス lncRNA が転写されていることが判った(図2)。同様の lncRNA はマウスにも存在するため、マウスの当該 lncRNA に対して特異的プライマーを設計し、C3H10T1/2 細胞での発現を評価したが、発現は検知されなかった。この RNA は ACUR とは逆にヒト間葉系幹細胞でみられ、やはり CCN2 mRNA との相互作用が疑われる。

(5) ACUR 特異的遺伝子ノックアウト、ノックダウン方法の検討

ACUR の機能を解析するためには、CCN2 遺伝子に影響を及ぼすことなく遺伝子ノックアウト、あるいはノックダウンを行う必要があるが、これには特別な工夫が必要である。ノックアウトする場合の標的は、CCN2 mRNA の転写装置ならびに転写領域外に限られる。そこで CCN2 遺伝子下流(つまり ACUR 遺伝子上流)に ACUR 特異的プロモーターを検索し、そこを標的とすることにした。そのため ENCODE ポータルサイトで公開されているデータの中から、ACUR の発現が確認できている C2C12 細胞の histone chromatin immuno-precipitation data を抽出し解析を行なった。図3に示すように、CCN2 遺伝子座の ACUR 転写領域の直上流に、アセチル化ヒストンの集積する、つまりクロマチンが開放されている部分を見出し、そこを標的領域と定めた。並行して CRISPR-Cas9 システムによる

遺伝子破壊の予備実験として、RCS 細胞の angiotensin II type 1 receptor 遺伝子に2本のガイド RNA を作

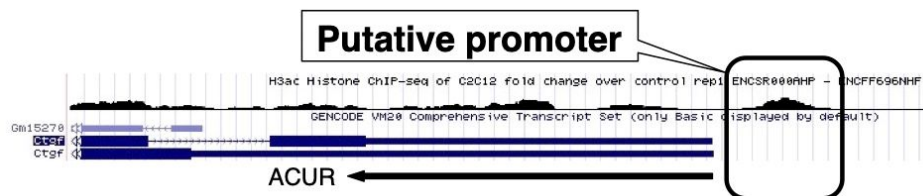


図3: マウス ACUR 遺伝子のプロモーターと推定される領域

用させて欠損させることに成功し、本実験の条件が定まった。また CCN2 mRNA には作用せず、ACUR だけをノックダウンするためのギャップを含む修飾 RNA 複合体の作製に着手した。しかしこれらを使った本実験は、研究計画期間以降に持ち越されることとなった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計12件（うち査読付論文 12件／うち国際共著 2件／うちオープンアクセス 9件）

1. 著者名 Mizukawa Tomomi, Nishida Takashi, Akashi Sho, Kawata Kazumi, Kikuchi Sumire, Kawaki Harumi, Takigawa Masaharu, Kamioka Hiroshi, Kubota Satoshi	4. 巻 -
2. 論文標題 RFX1 mediated CCN3 induction that may support chondrocyte survival under starved conditions	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Cellular Physiology	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/jcp.30348	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 Elseoudi Abdellatif, Nishida Takashi, Mizukawa Tomomi, Hattori Takako, Kawata Kazumi, Taha Eman A., Takigawa Masaharu, Kubota Satoshi	4. 巻 15
2. 論文標題 Bipartite regulation of cellular communication network factor 2 and fibroblast growth factor 1 genes by fibroblast growth factor 1 through histone deacetylase 1 and fork head box protein A1	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Cell Communication and Signaling	6. 最初と最後の頁 81～91
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s12079-020-00600-4	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 Kuwahara Miho, Kadoya Koichi, Kondo Sei, Fu Shanqi, Miyake Yoshiko, Ogo Ayako, Ono Mitsuaki, Furumatsu Takayuki, Nakata Eiji, Sasaki Takako, Minagi Shogo, Takigawa Masaharu, Kubota Satoshi, Hattori Takako	4. 巻 21
2. 論文標題 CCN3 (NOV) Drives Degradative Changes in Aging Articular Cartilage	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 7556～7556
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms21207556	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 Takashi, Kubota Satoshi	4. 巻 56
2. 論文標題 Roles of CCN2 as a mechano-sensing regulator of chondrocyte differentiation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Japanese Dental Science Review	6. 最初と最後の頁 119～126
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jdsr.2020.07.001	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 Sho, Nishida Takashi, Mizukawa Tomomi, Kawata Kazumi, Takigawa Masaharu, Iida Seiji, Kubota Satoshi	4. 巻 62
2. 論文標題 Regulation of cellular communication network factor 2 (CCN2) in breast cancer cells via the cell-type dependent interplay between CCN2 and glycolysis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Oral Biosciences	6. 最初と最後の頁 280 ~ 288
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.job.2020.07.001	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 Ohkawara Bisei, Kobayakawa Akinori, Kanbara Shunsuke, Hattori Takako, Kubota Satoshi, Ito Mikako, Masuda Akio, Takigawa Masaharu, Lyons Karen M, Ishiguro Naoki, Ohno Kinji	4. 巻 21
2. 論文標題 CTGF/CCN2 facilitates LRP4 mediated formation of the embryonic neuromuscular junction	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 EMBO reports	6. 最初と最後の頁 e48462 ~ e48462
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.15252/embr.201948462	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 Hoshijima Mitsuhiro, Hattori Takako, Aoyama Eriko, Nishida Takashi, Kubota Satoshi, Kamioka Hiroshi, Takigawa Masaharu	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 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 2769 ~ 2769
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 Kubota S, Ishikawa T, Kawata K, Hattori T, Nishida T	4. 巻 21
2. 論文標題 Retrotransposons manipulating mammalian skeletal development in chondrocytes	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 1564
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms21051564	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 -
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 Journal of Cellular Biochemistry	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 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 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	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 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 2020年
3. 雑誌名 Journal of Endocrinology	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) 10.1530/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 Kamatsuki Y, Aoyama E, Furumatsu 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 Journal of Cell Communication and Signaling	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 オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計30件（うち招待講演 3件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 石川崇典、西田 崇、大野充昭、宝田剛志、Ha Thi Thu Nguyen, 栗原慎之介、古松毅之、村瀬友里香、滝川正春、大橋俊孝、上岡 寛、久保田聡
2. 発表標題 ヒト骨格形成細胞分化におけるurothelial cancer-associated 1(UCA1)長鎖ノンコーディングRNAの生理的役割
3. 学会等名 第33回日本軟骨代謝学会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Mizukawa Tomomi, Nishida Takashi, Akashi Sho, Kamioka Hiroshi, Takigawa Masaharu, Kubota Satoshi
2. 発表標題 Regulation of CCN3 gene expression by glycolytic activity in chondrocytes
3. 学会等名 The 9th International Orthodontic Congress（国際学会）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 水川朋美、西田 崇、明石 翔、堀 綾花、高柴正悟、上岡 寛、滝川正春、久保田聡
2. 発表標題 軟骨細胞での解糖活性によるCCN3遺伝子の発現調節
3. 学会等名 第61回日本生化学会 中国・四国支部例会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 西田 崇、滝川正春、久保田聡
2. 発表標題 CCN2の核移行による線維化の制御
3. 学会等名 第62回歯科基礎医学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 水川朋美、西田 崇、上岡 寛、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を介した歯肉線維化抑制効果の検証
3. 学会等名 第79回日本矯正歯科学会
4. 発表年 2020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 軟骨細胞におけるエネルギー代謝不全時でのCCN3増産システムの解明
3. 学会等名 第38回日本骨代謝学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 西田 崇、滝川正春、久保田聡
2. 発表標題 LIPUSによる脂肪細胞分化の抑制と骨芽細胞分化への影響
3. 学会等名 第38回日本骨代謝学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 近藤 星、服部高子、桑原実穂、Fu Shanqi、西田 崇、吉岡洋祐、森谷徳文、飯田征二、滝川正春、久保田聡
2. 発表標題 Non-coding RNAを介したメトホルミンの抗線維化作用の解析
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 桑原実穂、近藤 星、Fu Shanqi、大野充昭、古松毅之、中田英二、皆木省吾、滝川正春、久保田聡、服部高子
2. 発表標題 軟骨組織におけるCCN3の老化促進作用
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 桑原実穂、武内聡子、近藤 星、Fu Shanqi、大野充昭、古松毅之、中田英二、滝川正春、久保田聡、服部高子
2. 発表標題 軟骨細胞老化促進因子としてのCCN3
3. 学会等名 第33回日本軟骨代謝学会
4. 発表年 2021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 2021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 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

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 (招待講演) (国際学会)
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 河田かずみ、久保田聡、滝川正春
2. 発表標題 癌抑制遺伝子PDGFRLはCCN2、CCN3による軟骨細胞増殖と分化の制御を抑制する。
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, 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 青山絵理子、西田崇、久保田聡、滝川正春
2. 発表標題 低出力パルス超音波(LIPUS)の半月板修復効果とその作用機序 -CCN2/CTGFの関与
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 河田かずみ、久保田聡、滝川正春
2. 発表標題 癌抑制遺伝子PDGFRLはCCN2、CCN3のデコイ受容体として軟骨細胞増殖と分化を制御する。
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 西田崇、滝川正春、久保田聡
2. 発表標題 Angiotensin II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 桑原実穂、武内聡子、近藤星、Fu S、大野充昭、古松毅之、中田英二、滝川正春、久保田聡、服部高子
2. 発表標題 軟骨細胞は加齢とともにCCN3を高発現し、その過剰発現は軟骨加齢を促進する。
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 村瀬友里香、青山絵理子、鈴木康弘、佐々木朗、久保田聡、佐藤靖史、滝川正春
2. 発表標題 軟骨細胞の分化過程におけるCCN2の発現変動の意義
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 河田かずみ、久保田聡、滝川正春
2. 発表標題 CCN2、CCN3による軟骨細胞増殖と分化の制御を抑制する癌抑制遺伝子PDGFRL
3. 学会等名 第40回岡山歯学会学術集会
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回岡山歯学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 桑原実穂、武内聡子、近藤星、Fu Shanqi, 大野充昭、古松毅之、中田英二、滝川正春、久保田聡、服部高子
2. 発表標題 CCN3は軟骨細胞の加齢に伴い発現上昇し、過剰発現は軟骨加齢を促進する。
3. 学会等名 第40回岡山歯学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 水川朋美、西田崇、明石翔、高柴正悟、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 桑原実穂、武内聡子、近藤星、Fu Shanqi, 大野充昭、古松毅之、中田英二、滝川正春、久保田聡、服部高子
2. 発表標題 軟骨細胞老化因子としてのCCN3
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 Fu Shanqi、桑原実穂、内田瑤子、近藤星、西田崇、池亀美華、丸山雄介、服部淳彦、高垣安紗美、下村侑司、林大智、久保田聡、服部高子
2. 発表標題 Plasma melatonin enhances growth, inhibits maturation, adjusting circadian rhythm of melatonin production in chondrocytes.
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 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 軟骨細胞での解糖活性によるCCN3遺伝子の発現調節
3. 学会等名 第61回日本生化学会中国・四国支部例会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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	西田 崇 (Nishida Takashi) (30322233)	岡山大学・医歯薬学総合研究科・准教授 (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	高江洲 かずみ(河田かずみ) (Takaesu Kazumi) (10457228)	岡山大学・医歯薬学総合研究科・助教 (15301)	

6. 研究組織（つづき）

	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	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	青山 絵理子 (Aoyama Eriko) (10432650)	岡山大学・医歯薬学総合研究科・助教 (15301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関			
米国	UCLA			
エジプト	Ain Shams University			
カナダ	University of Montreal			