

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 10 月 19 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：25462888

研究課題名(和文)CCNファミリ-3の新機能：内軟骨性骨形成における役割

研究課題名(英文)Novel function of CCN3: A regulator of endochondral ossification

研究代表者

服部 高子(Hattori, Takako)

岡山大学・医歯(薬)学総合研究科・助教

研究者番号：00228488

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：CCN3の骨格形成における役割を知るために、軟骨組織特異的過剰発現トランスジェニックマウスを作製した。作製したマウスは胎生期の骨異形成のみでなく、長管骨の骨化部分短縮、骨密度低下、軟骨最終分化や骨芽細胞のマーカー遺伝子陽性細胞の出現の遅延、また、軟骨組織への血管侵入の遅延を認めた。一方で軟骨分化の過度な促進を観察した。成体関節軟骨では関節軟骨の変性を確認した。これらの変化は多くの内軟骨性骨形成に關与する遺伝子発現の増減による事が明らかとなり、これらの結果はCCN3の軟骨組織における濃度維持は正常な骨格形成、関節軟骨の機能維持に必須であることを示しており、CCN3の新たな機能を示すものである。

研究成果の概要(英文)：To understand a role of CCN3 in bone formation, we generated a transgenic mouse line which is specifically overexpressing CCN3 in cartilage. The mice showed embryonic bone malformations, including shortened long bones, decreased bone mineralization, and delayed appearance of osteoblasts and cells expressing marker genes of late hypertrophy. Blood vessel invasion into the developing cartilage was also inhibited. In contrast, limb mesenchymal cells showed accelerated chondrogenesis. These phenomena correlated with changes in gene expression related to bone and cartilage development. Moreover, we observed degradation of articular chondrocytes and absorption of subchondral bone in adult knee joints. These findings demonstrate a novel role of CCN3 in skeletal development and maintenance of articular cartilage.

研究分野：口腔生化学、分子生物学、細胞生物学、発生学

キーワード：NOV/CCN3 トランスジェニックマウス 内軟骨性骨形成 in situ hybridization 間葉系細胞 軟骨分化 高密度培養系

### 1. 研究開始当初の背景

内軟骨性骨形成における軟骨から骨への移行過程は、長管骨、肋骨、脊椎での生理的な骨伸長に加えて、病理的な骨折治癒過程、骨棘形成過程などでも観察され、高度に複雑な機構で制御されている。軟骨異形成症による低身長、軟骨再生から骨への速やかな移行による骨折治癒、また、変形性関節症や関節リウマチなど様々な理由で失われた軟骨の再生など、組織再生工学の観点からもその過程の全容解明は切望され続けているが、未だその過程で次々と発現が変遷していく遺伝子の内軟骨性骨形成における役割も、ゲノム構造が明らかになった現在においても未解明な部分が多い。

内軟骨性骨形成は、軟骨細胞の観点から見ると、細胞の成長→成熟→肥大化→石灰化→アポトーシスと肥大化軟骨の吸収→骨系細胞の侵入といった連続した現象の流れによって起こる(図1)。これらそれぞれの現象は、さまざまなシグナル伝達によって制御されており、転写制御因子による成長因子、ホルモン、細胞内外基質の発現制御が誘導されている。

CCNファミリーメンバータンパク質は4つの特徴的なドメイン構造を持つ因子群と

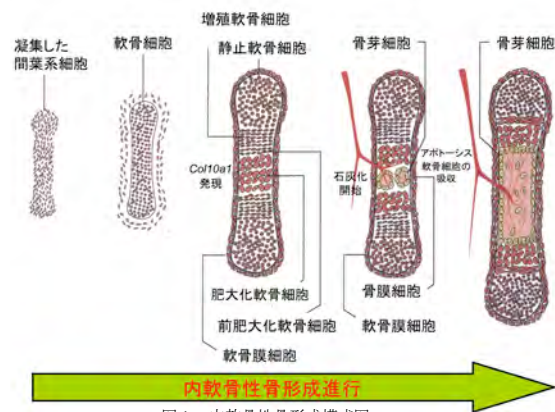


図1 内軟骨性骨形成模式図

して現在CCN1-6が同定されている。研究代表者らのグループは、軟骨組織に多く存在する因子としてCCN2(結合組織成長因子、CTGF)を肥大軟骨細胞層より単離し、内軟骨性骨形成過程を全般において促進する因子としての位置づけを行ってきた。In vitroの培養成長軟骨細胞においてCCN2は細胞増殖、成熟、肥大化、石灰化(文献1)を促進し、また、血管新生を誘導する(文献2)。Ccn2欠損マウスでは、骨の脆弱化が観察され、出生後すぐ死亡する(Ivkovic S et.al, 2003)。

さらに、研究代表者らのグループは軟骨組織特異的にCCN2を発現する遺伝子改変マウスを作製したところ、内軟骨性骨形成の促進に起因すると見られる骨長の増大が見られ(文献3)、また、このCCN2軟骨特異的過剰発現マウスは、老齢期の関節軟骨が加齢に伴う変性を示さないことから、CCN2は正常な内軟骨性骨形成を促進する因子で、軟骨の

アンチエイジング因子であると結論づけた(文献4)。このように研究代表者らのグループはCCN2の骨格系の発現過程における重要性を明らかにしてきたが、一方で異所性の過剰な発現は組織の線維化や乳癌細胞などの病変を誘発する事から、細胞内および細胞周辺のCCN2の量的また活性をコントロールする事は、生体において重要であると思われる。

研究代表者らのグループは、このCCN2の活性をコントロールする因子の探索を様々な方法で行ってきた。このうち、Yeast two-hybridによって単離されたaggrecan core proteinは、細胞外でCCN2を補足し、細胞内へのCCN2のシグナル伝達を強める(文献5)。また、CCN2とfibronectinとの結合は、インテグリンを介した細胞接着を増強する(文献6)。CCNファミリーメンバー3 [CCN3;NOV (nephroblastoma overexpressed)]も同様にCCN2と結合する因子として同定され、CCN2とCCN3はヘテロダイマーを形成する事、軟骨基質の合成をCCN2-CCN2のホモダイマーよりさらに強力に促進する事を明らかにした(文献7)。研究代表者らのグループはCCN3が胎生期の軟骨組織で発現している事、関節表面での発現が比較的多い事を既に確認している。このため、内軟骨性骨形成過程だけでなく、関節軟骨の形成、維持におけるCCN3の役割も期待された。

### 2. 研究の目的

本研究では、CCN3の内軟骨性骨形成過程における役割を明らかにする事を目的とした。すでに研究代表者らのグループはCCN3が胎児長管骨の骨端軟骨で発現している事を確認している。そこでまず、CCN3を軟骨組織特異的に発現する遺伝子改変マウスを作製し、まずこのマウスの表現型を解析し、それを誘発する細胞内シグナル伝達機構を明らかにする事を目的とする。次に、表現型を回復する事が期待される遺伝子改変マウスとの交配を行い、我々の仮説を実証を試みた。さらには変形性関節症、関節リウマチ、軟骨肉腫などの軟骨組織に病変を持つ疾患の病態形成におけるCCN3の役割を明らかにする事を本研究の最終目的とした。

### 3. 研究の方法

1) 軟骨組織特異的CCN3過剰発現ベクターの構築とトランスジェニックマウスの作製

強力な軟骨組織特異的プロモーターであるCol2a1 3 kb-3 kbプロモーター-エンハンサーフラグメントの下流に、GFP融合蛋白として発現するmCCN3遺伝子、その下流にIRES-LacZ遺伝子を接続し、軟骨組織特異的CCN3過剰発現ベクター(Col2a1-mNOV-GFP-IRES-LacZ、図2)を作製した。作製したコンストラクトをマウス受精

胚に注入し、トランスジェニックマウスを作製した（業者委託）。

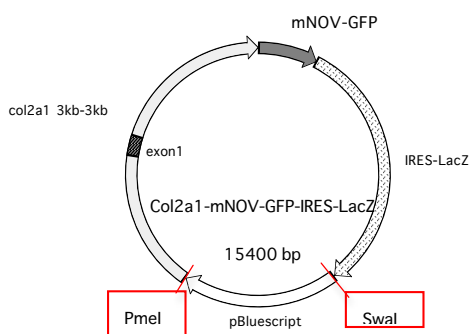


図2 軟骨組織特異的 CCN3-GFP 発現ベクターの設計図。PmeI-SwaI で直鎖状にし、マウス受精卵に注入した。

## 2) $CCN3^{Col2a1tg}$ マウスの骨-軟骨領域における表現型解析

胎生 18.5 日齢の骨格標本を、骨化部分をアリザリン赤、軟骨部分をアルシアン青で染色し、軟組織を水酸化カリウムで溶解する事によって作製した。CCN3 の軟骨組織における発現量を高めるために、tg/wt 同士を交配し、tg/tg のホモ接合体を作製した。長管骨の切片標本の *in situ* hybridization により遺伝子発現の変化を、マイクロ CT により骨成分の変化を調べた。さらに、初代培養軟骨細胞を単離し、遺伝子発現の変化を確かめた。

## 3) 成体 $CCN3^{Col2a1tg}$ マウスの関節軟骨の解析

2 ヶ月齢の膝関節の切片標本のアルシアン青染色、TRAP 染色を行い、軟骨-骨の組織学的解析を行った。

## 4. 研究成果

### 1) 軟骨組織特異的 CCN3 過剰発現トランスジェニックマウスの作製

Col2a1-mNOV-GFP-IRES-LacZ コンストラクトのマウス受精卵への導入の結果、2 系統の founder line を得た。CCN3 の軟骨組織における発現量を高めるために、tg/wt 同士を交配し、tg/tg のホモ接合体を作製した ( $CCN3^{Col2a1tg}$  マウス)。その結果、野生型と比較して、tg/tg では出生後の体重増加が著しく遅いことが明らかとなった。

### 2) $CCN3^{Col2a1tg}$ マウスの骨-軟骨領域における表現型

胎生 18.5 日齢の骨格標本より、 $CCN3^{Col2a1tg}$  マウスの胸骨の異形成、長管骨の骨化部分の短小が認められた (図 3)。マイクロ CT により、皮質骨、海綿骨共に骨密度、骨量共に  $CCN3^{Col2a1tg}$  マウスにおいて低下していた。さらに胎生期の様々な日齢から得た切片標本を用いた *in situ* hybridization により、軟骨最終分化や骨芽細胞のマーカー遺伝子陽性細胞の出現が遅延していることが明らかとなった。血管内皮細胞のマーカーである抗 CD31 抗体を用いた免疫染色により、長管骨発生時の軟骨細胞への血管侵入が抑制されていることが明らかとなった。これらの結果から、 $CCN3^{Col2a1tg}$  マウスの骨格では、軟骨から骨への置換が著しく遅延していることが明

らかとなった。

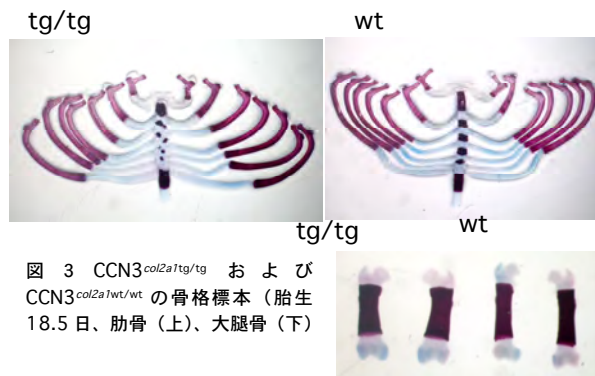


図 3  $CCN3^{Col2a1tg/tg}$  および  $CCN3^{Col2a1wt/wt}$  の骨格標本 (胎生 18.5 日、肋骨 (上)、大腿骨 (下))

### 3) $CCN3^{Col2a1tg}$ マウス肢芽由来間葉系細胞の高密度培養

$CCN3^{Col2a1tg}$  マウス胎生 10.5 日齢の肢芽由来間葉系細胞を高密度に培養し、軟骨への分化能を野生型と比較したところ、 $CCN3^{Col2a1tg}$  マウス由来間葉系細胞において、軟骨への分化が著しく促進されていた。

### 4) $CCN3^{Col2a1tg}$ マウス由来初代培養軟骨細胞における遺伝子発現網羅解析

$CCN3^{Col2a1tg}$  マウス由来初代培養軟骨細胞より単離した RNA のマイクロアレイ解析を行ったところ、多くの内軟骨性骨形成過程に関与する遺伝子発現の増減が観察された。このうち、非常に強い発現誘導を受けていた因子のリコンビナント蛋白を野生型マウスの肢芽由来間葉系細胞の高密度培養系に添加したところ、 $CCN3^{Col2a1tg}$  マウス由来肢芽由来間葉系細胞と同様に軟骨細胞への分化が誘導された。

### 5) 成体 $CCN3^{Col2a1tg}$ マウスの関節軟骨の解析

2 ヶ月齢の膝関節の切片標本のアルシアン青染色を行ったところ、 $CCN3^{Col2a1tg}$  マウスで関節軟骨の著しい変性が認められた。さらに TRAP 染色によって破骨細胞を検出したところ、 $CCN3^{Col2a1tg}$  マウスの関節軟骨下骨において破骨細胞が強く誘導されていた。

これらの結果は CCN3 の軟骨組織における濃度維持は正常な骨格形成、関節軟骨の機能維持に必須であることを示している。研究代表者らのグループは、これまで軟骨組織特異的に CCN2 を過剰発現したマウスを作製し、胎生期、老年期における作用を報告してきた (文献 3, 4)。一方で骨格形成における CCN3 の役割を解明する研究は、一部ドメインを欠失したノックアウトマウスで骨にわずかな表現系が見られるとの報告や、我々のグループの培養細胞への添加実験で、CCN2 とホモダイマーやヘテロダイマーを形成する事により、内軟骨性骨形成を促進する CCN2 の機能を制御する事がわずかに報告されている (文献 7) のみであった。本研究により、CCN3 が新規内軟骨性骨形成制御因子として機能していることが明らかになった。さらにその分子レベルでの情報伝達機構が解明されれば、CCN3 が新たな内軟骨性骨形成制御因子とな

り、骨・軟骨・関節における疾患の病因解明に繋がる事が期待される。

#### <参考文献>

1. Takigawa M, Nishida T, Kubota S (2005) In: Perbal B, Takigawa M, editors. CCN Proteins. Imperial College Press. pp. 19-59.
2. Shimo T, Nakanishi T, Nishida T, Asano M, Kanyama M, et al. (1999) J Biochem 126: 137-145.
3. Tomita N, Hattori T, Ito S, Aoyama E, Yao M, Yamashiro T, Takigawa M. (2012) manuscript submitted.
4. Itoh S, Hattori T, Tomita N, Aoyama E, Yutani Y, Yamashiro T, Takigawa M. (2012) manuscript submitted.
5. Aoyama E, Hattori T, Hoshijima M, Araki D, Nishida T, et al. (2009) Biochem J 420: 413-420.
6. Hoshijima M, Hattori T, Inoue M, Araki D, Hanagata H, et al. (2006) FEBS Lett 580: 1376-1382.
7. Hoshijima M, Hattori T, Aoyama E, Nishida T, Yamashiro T, et al. (2012) Febs J 279: 3584-3597.

#### 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 15 件)

1. Hara C, Kubota S, Nishida T, Hiasa M, Hattori T, Aoyama E, Moriyama Y, Kamioka H, Takigawa M. Involvement of multiple CCN family members in platelets that support regeneration of joint tissues. Mod Rheumatol. 2016 Feb in press, 査読あり.
2. Murase Y, Hattori T, Aoyama E, Nishida T, Maeda-Uematsu A, Kawaki H, Lyons KM, Sasaki A, Takigawa M, Kubota S.: Role of CCN2 in Amino Acid Metabolism of Chondrocytes. J Cell Biochem. 2016 Apr;117(4):927-37, 査読あり.
3. Mariko Kawai, Ning Liu, Takako Hattori, Yo-Hei Kataoka, Masaharu Takigawa, Satoshi Kubota, Toshio Yamamoto and Kiyoshi Ohura. : Sorcin Expression in the Epiphyseal Growth Plates of Mice. Journal of Hard Tissue Biology, 2016, 25(1): 57-62, 査読あり.
4. Park, J., Gebhardt, M., Golovchenko, S., Perez Branguli, F., Hattori, T., Hartmann, C., Zhou, X., de Crombrughe, B., Stock, M., Schneider, H., von der Mark, K. : Dual pathways to Endochondral osteoblasts: A novel chondrocyte-derived cell identified

in hypertrophic cartilage. Biol Open. 2015 Apr 16;4(5):608-21, 査読あり.

5. Murata H, Hattori T, Maeda H, Takashiba S, Takigawa M, Kido J, Nagata T. Identification of transactivation-responsive DNA-binding protein 43 (TARDBP43; TDP-43) as a novel factor for TNF- $\alpha$  expression upon lipopolysaccharide stimulation in human monocytes. J Periodontal Res. 2015; 50: 452-460, 査読あり.
6. Alyssa Charrier, Ruju Chen, Li Chen, Sherri Kemper, Takako Hattori, Masaharu Takigawa, and David R. Brigstock. Exosomes mediate intercellular transfer of pro-fibrogenic connective tissue growth factor (CCN2) between hepatic stellate cells, the principal fibrotic cells in the liver. Surgery 2014 Sep;156(3):548-55. doi: 10.1016/j.surg.2014.04.014, 査読あり.
7. Charrier A, Chen R, Chen L, Kemper S, Hattori T, Takigawa M, Brigstock DR. Connective tissue growth factor (CCN2) and microRNA-21 are components of a positive feedback loop in pancreatic stellate cells (PSC) during chronic pancreatitis and are exported in PSC-derived exosomes. J Cell Commun Signal. 2014 Jun;8(2):147-56. doi: 10.1007/s12079-014-0220-3, 査読あり.
8. El Kader TA, Kubota S, Nishida T, Hattori T, Aoyama E, Janune D, Hara ES, Ono M, Tabata Y, Kuboki T, Takigawa M. The regenerative effects of CCN2 independent modules on chondrocytes in vitro and osteoarthritis models in vivo. Bone. 2014; 59:180-8, 査読あり.
9. Maeda-Uematsu A, Kubota S, Kawaki H, Kawata K, Miyake Y, Hattori T, Nishida T, Moritani N, Lyons KM, Iida S, Takigawa M. CCN2 as a Novel Molecule Supporting Energy Metabolism of Chondrocytes. J Cell Biochem. 2014 May;115(5):854-65, 査読あり.
10. Takako Hattori, Tetsuya Kishino, Shelley Stephen, Heidi Eberspaecher, Sayumi Maki, Masaharu Takigawa, Benoit de Crombrughe, and Hideyo Yasuda. E6-AP/UBE3A Protein Acts as a Ubiquitin Ligase toward SOX9 Protein. J. Biol. Chem. 2013 288: 35138-35148, 査読あり.
11. Itoh S, Hattori T, Tomita N, Aoyama E, Yutani Y, Yamashiro T, Takigawa M. (2013)

CCN Family Member 2/Connective Tissue Growth Factor (CCN2/CTGF) Has Anti-Aging Effects That Protect Articular Cartilage from Age-Related Degenerative Changes. PLoS ONE 8(8): e71156, 査読あり.

12. Svitlana Golovchenko, Takako Hattori, Christine Hartmann, Matthias Gebhardt, Sonja Gebhard, Andreas Hess, Friederike Pausch, Britta Schlund, Klaus von der Mark. Deletion of beta catenin in hypertrophic growth plate chondrocytes impairs trabecular bone formation. Bone. 2013 Jul;55(1):102-12, 査読あり.

13. Nao Tomita, Takako Hattori, Shinsuke Itoh, Eriko Aoyama, Mayumi Yao, Takashi Yamashiro, and Masaharu Takigawa. Cartilage-specific over-expression of CCN family member 2/connective tissue growth factor (CCN2/CTGF) stimulates insulin-like growth factor expression and bone growth. PLoS One. 2013;8(3):e59226, 査読あり.

14. Abd El Kader T, Kubota S, Janune D, Nishida T, Hattori T, Aoyama E, Perbal B, Kuboki T, Takigawa M. Anti-fibrotic effect of CCN3 accompanied by altered gene expression profile of the CCN family. J Cell Commun Signal. 2013 Mar;7(1):11-8, 査読あり.

15. Hara ES, Ono M, Kubota S, Sonoyama W, Oida Y, Hattori T, Nishida T, Furumatsu T, Ozaki T, Takigawa M, Kuboki T. Novel chondrogenic and chondroprotective effects of the natural compound harmine. Biochimie. 2013 Feb;95(2):374-81, 査読あり.

[学会発表、一部] (計 49 件)

1. 服部高子、角谷宏一、桑原実穂、大野充昭、星島光博、窪木拓男、久保田聡、滝川正春：軟骨特異的 CCN3 過剰発現は内軟骨性骨化の遅延と関節変性を誘発する。第 33 回日本骨代謝学会、2015, 7, 23-25, 東京

2. Hattori, T., Kishino, T., Stephen, S., Eberspaecher, H., Maki, S., Takigawa, M., Nishida, T., Kubota, S., de Crombrughe, B. and Yasuda, H.: E6-AP/UBE3A Protein, a Ubiquitin Ligase toward SOX9 Protein is essential to endochondral ossification, Gordon Research Conference, Cartilage Biology & Pathology, March 22-27, 2015, Hotel Galvez, Galveston, TX, U. S. A.

3. von der Mark, K., Park J., Gebhardt, M.,

Surmann-Schmitt, C., Stock, M., Hattori, T., Hartmann, C., Zhou, X., and de Crombrughe, B.: Dual Origin of Endochondral Osteoblasts: A Novel Chondrocyte-derived Osteoprogenitor Cell Identified in Hypertrophic Cartilage near the Chondro-osseous Junction, Gordon Research Conference, Cartilage Biology & Pathology, March 22-27, 2015, Hotel Galvez, Galveston, TX, U. S. A.

4. 服部高子、木住野達也、Shelley Stephen, Heidi Eberspaecher, 卷さゆみ、滝川正春、Benoit de Crombrughe、安田秀世：E6-AP/UBE3A は SOX9 のユビキチンリガーゼである。第 27 回日本軟骨代謝学会、2014. 2. 28. -3. 1. 京都府医師会館

5. 服部高子、大野充昭、星島光博、角谷宏一、窪木拓男、滝川正春：軟骨特異的 CCN3 過剰発現は軟骨の最終分化の遅延だけでなく、変形性関節症を誘発する。第 56 回歯科基礎医学会、2014, 9, 25-27, 福岡

6. 服部高子、木住野達也、Shelley Stephen, Heidi Eberspaecher、卷さゆみ、滝川正春、Benoit de Crombrughe、安田秀世：E6-AP/UBE3A は SOX9 のユビキチンリガーゼとして軟骨組織の分化を制御する。第 87 回日本生化学会、2014, 10, 15-18, 京都

7. 服部高子、木住野達也、Shelley Stephen, Heidi Eberspaecher、卷さゆみ、滝川正春、西田 崇、久保田聡、Benoit de Crombrughe、安田秀世：SOX9 のユビキチンリガーゼ E6-AP/UBE3A は正常な骨格形成に必須である。第 37 回日本分子生物学会、2014, 11, 25-27, 横浜

8. 角谷宏一、服部高子、桑原実穂、大野充昭、星島光博、三宅佳子、窪木拓男、滝川正春：軟骨特異的 CCN3 過剰発現は内軟骨性骨形成の遅延による骨梁形成の低下を誘発する。第 55 回歯科基礎医学会学術総会、2013. 9. 21-22、岡山コンベンションセンター、岡山

9. 服部高子、大野充昭、星島光博、角谷宏一、桑原実穂、三宅佳子、窪木拓男、滝川正春：軟骨特異的 CCN3 過剰発現は内軟骨性骨形成の不全より骨異形性を誘発する。第 36 回日本分子生物学会年会、2013. 12. 3-6、神戸ポートアイランド他、神戸

10. Hattori, T., Ono, M., Hoshijima, M., Kadoya, K., Kuwahara, M., Oie, H., Miyake, Y., Kuboki, T., Takigawa, M.: Cartilage-specific overexpression of CCN3 negatively regulates endochondral bone formation. 2nd joint meeting of IBMS-JSBMR,

Kobe, Japan, May 28- June 1, 2013.

11. Takako Hattori, Mitsuaki Ono, Mitsuhiro Hoshijima, Koichi Kadoya, Miho Kuwahara, Yoshiko Miyake, Takuo Kuboki, Masaharu Takigawa: Cartilage-specific overexpression of ccn3 modulates endochondral bone formation. The seventh International Workshop on the CCN Family of Genes, Mercue Hotel, Nice, France, 16th-19th October 2013.

12. 服部高子、大野充昭、星島光博、角谷宏一、桑原実穂、三宅佳子、窪木拓男、滝川正春 軟骨特異的 CCN3 過剰発現は内軟骨性骨形成の遅延による骨梁形成の低下を誘発する。第 55 回歯科基礎医学会サテライトシンポジウム、2013 年 9 月 20 日、岡山コンベンションセンター、岡山

13. Takako Hattori: Effects of overexpression of CCN2 in mouse cartilage. Okayama Univ.-Harvard Univ.-Helsinki Univ.-NUS Calcified-Tissue Joint Seminar/50th Molecular Biology of Calcified Tissue Seminar, 2013.9.24, Okayama University Dental School, Okayama.

〔図書〕(計 4 件)

1. Takako Hattori, Shinsuke Itoh and Masaharu Takigawa: Generation and analyzing cartilage specific CCN2 overexpressing transgenic mice, in Methods in Molecular Biology: CCN Proteins: Methods and Protocols (ed. M. Takigawa), Springer, 2016, in press.

2. Takako Hattori, Mitsuhiro Hoshijima, and Masaharu Takigawa: Protein Imaging of CCN2 and CCN3 in a live cell, in Methods in Molecular Biology: CCN Proteins: Methods and Protocols (ed. M. Takigawa), Springer, 2016, in press.

3. M. Hoshijima, T. Hattori, M. Takigawa: Protocols for screening binding partners to CCN proteins: Yeast two hybrid system, in Methods in Molecular Biology: CCN Proteins: Methods and Protocols (ed. M. Takigawa), Springer, 2016, in press.

4. Eriko Aoyama, Takako Hattori, Satoshi Kubota, Masaharu Takigawa: Production of recombinant CCN family 2 protein in Escherichia coli. in Methods in Molecular Biology: CCN Proteins: Methods and Protocols (ed. M. Takigawa), Springer, 2016, in press.

(その他)

1. 服部高子: CCN ファミリーメンバー 2/結合組織成長因子 (CCN2/CTGF) の軟骨組織特異的過剰発現はインスリン様成長因子の発現と骨の成長を誘発する、1st Author, 2014, 日本骨代謝学会ホームページ. [http://www.jsbmr.jp/1st\\_author/15\\_thattori.html](http://www.jsbmr.jp/1st_author/15_thattori.html)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

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

(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・教授  
研究者番号: 90221936

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: 30322233

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

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