

組織再構築能を有すると考えられる胎仔肝細胞（マウス）について、*in vitro*での肝機能の発現を重要な指標とし、液性因子と培養システムの影響を評価することを目的とした。すなわち、胎仔肝細胞の分化を促進する重要な因子の一つであるオンコスタチンMに加えて、成熟肝の培養において前駆細胞と考えられる小型肝細胞の選択的な増殖を促すニコチンアミドとジメチルスルフォキシドの機能と形態に関する影響を検討した。また、培養システムとしては、移植可能な生体吸収性樹脂であるポリ乳酸多孔質担体を用いる三次元培養の機能向上に関する影響を検討した（B）。

本研究の第二の目的は、肝臓のような大型で複雑かつ高度に組織化された臓器再構築用の生体吸収性テンプレートを作製する技術を開発することである。この技術体系が確立すれば、MRIなどの生体構造計測手法で得られた微細構造の3次元数値データを元に、任意の臓器テンプレートを作製することが可能とすることとなり、上述のようなより複雑かつ重要な臓器の再構築をめざす次世代の生体組織工学分野の重要な基本要素技術のひとつとなると期待できる。

最近では、各種の三次元造型技術がこの用途のために用いられているが、技術自体が発展途上にあり、特に精度面で大幅な向上が必要とされる。そこで、比較的精度が得やすいとされる光三次元造型技術の適用を想定し、光照射によってランダム多孔質部と微細流路を同時に形成する技術に焦点をあてて検討を行った（C）。

ここで開発された基本的な方法論と、臓器や血管の元となる複数の幹細胞の増殖分化を*in vitro*で同時にある程度コントロールするための生物学的知見を融合させることで、将来的には上述のような複雑な臓器の*in vitro*再構築が可能となると考えている。

## B. マウス胎仔肝細胞の *in vitro* における機能的成熟化

### 1. 方法

妊娠14日のC57BL/6マウスから採取した胎仔肝細胞分画を、コラーゲンコートした培養ディッシュ上に低密度（ $2.0 \times 10^4$  cells/cm<sup>2</sup>）で播種し、約一ヶ月の培養を行った。培養液は、William's E培地に血清やアスコルビン酸ニリン酸、増殖因子・ホルモンを添加したものとした。この基礎培地中で、ニコチンアミド(NA,

1 mM)・ジメチルスルフォキシド (DMSO, 1%)・オンコスタチンM (OSM, 10 ng/mL)の影響を評価した。三次元培養用のポリ乳酸多孔質担体は、高分子量ポリ-L-乳酸 (PLLA, M.W. = 300,000)と炭酸水素アンモニウム粒子を用いる塩発泡・溶出法により、直径 10 mm/厚さ 1.5 mm のディスク状に成型した (体積は約 0.1 cm<sup>3</sup>)。これに細胞を 1.0-2.0×10<sup>6</sup> cells/cm<sup>3</sup>-PLLA となるように播種し、約一ヶ月の培養を行った。形態観察と共に、培地中へのアルブミン分泌とチトクローム P450 1A1/2 活性 (エトキシレゾルフィンジェチラーゼ活性) の評価を行った。

## 2. 結果および考察

コラーゲンコートディッシュ上で、NA や DMSO を培養系に添加すると、小型肝細胞が非常に活発かつ選択的に増殖し、2 週間の培養でほぼ培養表面の 80% 程度を覆うまでになった。この 2 つの因子に OSM を添加すると、ほぼ血球細胞の増殖が全く見られなくなり、培養系を肝前駆細胞の割合の非常に高い集団へと純化することができた。三者共存下で培養を継続すると、小型肝細胞の一部は培養表面上に三次元的に積層化し、細

胞間には胆管様のネットワークが形成されるという高度な組織化が見られた。このような形態的な変化に従って、アルブミン分泌能は著しく向上した (図 1)。この培養条件下で、通常の手法で成型された PLLA 多孔質担体にマウス胎仔肝細胞を播種し長期培養を行うと、同様にアルブミン分泌能の著しい向上が見られた (図 2)。興味深いことは、三次元培養では OSM 単独の添加でも機能向上が見られたことで、これは担体内部に蓄積された細胞外マトリックス物質と OSM との相互作用を示唆しているものと思われる (図 2)。

機能レベルでの成熟化を評価するために、この状況下の肝細胞の機能を DNA 量当たりで規格化し、別途採取・培養した成熟マウスの肝細胞と比較すると (表 1)、PLLA 担体を用いる三次元培養では、成熟細胞レベルと同等以上のアルブミン分泌能が達成されていることがわかった。チトクローム 1A1/2 活性については、誘導・非誘導時共に、単層培養に比べて PLLA 培養の効果はあまり顕著ではなかった。これは、測定に用いた基質 (エトキシレゾルフィン) や生成物 (レゾルフィン)、誘導剤として用いた 3-メチルコラントレンなど

の三次元担体内への拡散過程が与えている影響も否めないため、今後検討が必要である。

いずれにせよ、この三者を共存させる培養条件は、現時点までで胎仔肝細胞の *in vitro* における成熟化を最も進める培養条件であり、近い将来 ES 細胞からの肝細胞への分化が展望に上った際には、重要な培養条件となると期待される。

### C. 微細テンプレート作製のための光反応性生分解樹脂の利用

#### 1. 方法

光架橋した後にある程度の強度を持ち、かつ軟組織の再構築に適した柔軟性と弾性を持つ樹脂の合成を目指し、モノマーとして生体内での安全性が広く認められている3種のうち、乳酸(LA)とカプロラクトン(CL)の組み合わせに注目した。4官能アルコールであるペンタエリチトールを開始点としてエステル開環重合し、4本の鎖の末端に光反応性のアクリロイル基を付加した(図3)。この樹脂中に、紫外光(375 nm)で急激に分解して窒素を放出するアゾ化合物(VF-096, 和光純薬)を溶かし込み、ガラス板上に載せて高出力の紫外光を照射した(図4。超高压水

銀灯紫外線照射装置、ウシオ電機、SX-UID250HUV、250 W)。平面上での微細造型の可能性検討のためには、最小間隙 0.5 mm の金属製のフォトマスクを通して照射を行った。

#### 2. 結果及び考察

光造型技術を利用して、組織化かつ貫通する血管網と細胞を担持する多孔質部とを合せ持つ軟組織再構築用の生分解テンプレートを作製するためには、いくつかの細かなプロセスが考えられる。特に細胞を担持するランダム多孔質部の成型については、水溶性の塩などの粒子原や発泡剤を用いる手法では多孔質部は確実に形成されるが、一方で組織化された血管網となるべき微細貫通流路が形成しにくいことや、後でこれらの粒子を溶出すること、Z 方向の造型性など、いずれにおいても困難が伴うと判断した。

そこで、光で分解して窒素を出すアゾ化合物に着目した。合成した分子量 10,000, LA:CL=50:50 の光感応性樹脂に(図3)アゾ化合物 VF-096 アセトン溶液を加えて混合し、光照射をすることで、照射部に重合と発泡を同時に起こし、多孔質体が形成しえる可能性がある。光照射をしない部分は重合しないので、後で

溶液状態のまま取り除くことができる。混合した樹脂・アゾ液をガラス板に載せ、高出力紫外線照射装置(240 W)で5分ほど照射すると、紫外線照射による樹脂重合速度と発泡速度が適当に釣り合い、100-500  $\mu\text{m}$  程度の穴を持つ生分解樹脂多孔質体が成型し得た(図 5)。この多孔質体の空隙率を水銀ポロシメータを用いて測定した。広く用いられている塩発泡溶出法によって成型された PLLA 多孔質体は 95%程度を示したが、本多孔質体は 67%程度であり、更なる改善が必要と思われた。

次に、このようなプロセスによって成型した多孔質担体の短期生体適合性を確かめるために、短期の *in vitro* 実験を行った。VF-096 およびその分解物は(株)和光純薬・化成品事業部によってエタノール洗浄で容易に除去可能であることが確かめられたので、この多孔質体について、エタノール洗浄後に、ヒト肝臓ガン細胞株を用いる短期組織適合性試験を行ったところ、上記で用いた PLLA 多孔質担体に遜色無い細胞増殖性が得られたことから、少なくとも短期の安全性には問題がないと考えられた。

さらに、フォトマスクを用いた照

射実験により、0.5 mm 程度の精度をもって、微細造型と造型部の発泡による多孔質化を同時に行わせるプロセスが可能であることが示された(図 6)。この結果は、少なくとも光造型システムにおける XY 平面内では、光照射部にスポンジ構造を形成させ、非照射部をマクロな血管構造として残すことが可能であることを示している。

#### D. 結論と今後の展望

肝臓などの複雑な臓器の *in vitro* 再構築を最終目的として、本年度は、*in vitro* での増殖能と組織再構築能に優れたマウス胎仔肝細胞の分化制御に関する検討、光三次元造型による複雑かつ高度な内部構造を持つ生分解樹脂テンプレートを作製するための基礎検討、をそれぞれ行った。

マウス胎仔肝細胞の培養においては、ニコチンアミド・DMSO・オンコスタチンMの三者を共存させることで、*in vitro* における成熟化のレベルを従来の培養条件と比較して飛躍的に高めることができた。この液性因子の条件に PLLA 多孔質担体を組み合わせることで、少なくとも細胞あたりのアルブミン分泌能については、別途採取・培養した成熟マウ

ス肝細胞と同レベルの機能発現を達成し得た。今後は、米国の企業からヒト胎仔肝細胞が購入可能であるので、今後、この基礎培養条件のヒトでの可能性を検討する予定である。また、肝切除マウス（同系または免疫不全マウス）を用いた移植実験で、再構築した肝組織の *in vivo* における肝機能代替性を評価する必要がある。

光三次元造型によるテンプレート作製のための検討としては、本年度は光反応性生体吸収性樹脂の開発とアゾ化合物を用いる光同時発泡重合プロセスの可能性を、少なくともXY平面内において示した。しかし、これをZ方向に繰り返して三次元の光造型を行うためには、市販の光造型システムでは、ハード・ソフトの両面において大幅な改善が必要であることも判明してきた。従って、現在、より確実に目的の担体が得られる手法として、多孔質平板積層・切削造型による作製を開始している。目的物が製作できれば、前述の胎仔肝細胞 *in vitro* 分化誘導条件下で灌流培養を行うことで、移植可能な大型の肝組織再構築に一步近づくことになる。

## E. 健康危険情報

特になし

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- Efficacy of non-woven fabric bioreactor immobilized with porcine hepatocytes for ex vivo xenogeneic perfusion treatment of liver failure in dogs, K. Naruse, Y. Sakai, G. Lei, Y., Y. Sakamoto, T. Kobayashi, C. Puliatti, G. Aronica, F. Leone, S. Qiang, S.-G. Ming, Z. Li, S.-J. Chang, M. Suzuki and M. Makuuchi, *Artif. Organs*, 25, 4, 273-280, 2001.4.
- In vitro organization of biohybrid rat liver tissue incorporating growth-factor- and hormone-releasing biodegradable-polymer microcapsules, Y. Sakai, K. Furukawa, T. Ushida, T. Tateishi, and M. Suzuki, *Transplant.*, 10, 479-483, 2001.8.
- 再生医学における肝細胞の分離・再構築法, 成瀬勝俊, 酒井康行, *Surgery Frontier*, 8, 3, 309-315, 2001.3.
- Enhanced in vitro maturation of fetal mouse liver cells with oncostatin M, nicotinamide and dimethylsulfoxide:, Y. Sakai, J. Jiang, N. Kojima, T. Kinoshita and A. Miyajima: *Cell Transplant.*, in

press.

・ Cultivation of fetal liver cells in a three-dimensional poly-L-lactic acid scaffold in the presence of oncostatin M: J. Jiang, N. Kojima, T. Kinoshita and A. Miyajima, Weiqun Yan and Y. Sakai: *Cell Transplant.*, in press.

## 2. 学会発表

・ マウス胎仔肝細胞の更なる in vitro 成熟化の試み：酒井康行，姜金蘭，小島伸彦，木下大成，宮島篤，鈴木基之：第9回細胞療法研究会，A-13，松本，2001.4.

・ Cultivation of fetal liver cells in a three-dimensional poly-L-lactic acid scaffold in the presence of Oncostatin M: Jiang, J., Sakai, Y., Kojima, N., Kinoshita, T., Miyajima, A., Yan, W. and Suzuki, M.: 第9回細胞療法研究会，A-19，松本，2001.4.

・ マウス胎仔肝細胞の更なる in vitro 成熟化の試み：酒井康行，姜金蘭，小島伸彦，木下大成，宮島篤，鈴木基之：第4回日本組織工学会，P13，東京，2001.7.

・ エラスティックな光重合性の生分解性材料の開発と力学的な特性の評価：古川克子，松澤光宏，酒井康行，小佐々淳一，白樫了，宮田房枝，牛田多加志，立石哲也：日本機械学会2001年年次大会，福井，2001.8.

・ 生分解性ポリマーの新しい人工臓器への応用例1：酒井康行，小佐々淳一，古川克子，

宮田房枝，牛田多加志，立石哲也，白樫了：日本医工学治療学会第17回学術大会，カレントコンセプト2-3，東京，2001.9.

・ Cultivation of fetal liver cells in a poly-L-lactic acid scaffold with oncostatin M, nicotinamide and dimethyl sulfoxide for liver tissue engineering, J. Jiang, N. Kojima, T. Kinoshita, A. Miyajima and Y. Sakai, 13th Meeting of International Society for Artificial Organs (ISAO), 187, Osaka, 2001.11.

・ Development of xenogenic direct hemoperfusion method for bioartificial liver: Naruse, Y. Sakai, D. Endoh, J. Shindoh, K. Kojima, Y. Karasawa, T. Khsaki, Y. Iida and M. Makuuchi: 13th Meeting of International Society for Artificial Organs (ISAO), 130, Osaka, 2001.11.

・ Morphological and functional maturation of fetal mouse liver cells in vitro: Y. Sakai, J. Jiang, N. Kojima, T. Kinoshita and A. Miyajima: 1st Biennial Meeting of the European Tissue Engineering Society - ETES, 4th International Meeting of the Tissue Engineering Society International - TESI, P-90, Freiburg, 2001.11.

・ 生分解性多孔質担体と各種因子を用いたマウス胎仔肝細胞の in vitro 成熟化:酒井康行，

姜金蘭, 小島伸彦, 木下大成, 宮島篤 : 第 39  
回日本人工臓器学会, 1-H-15-2, 大阪,  
2001.11.

## G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

### 1. 特許取得

・伸縮性の(エラスティックな)性質を有する生分解性材料およびこの材料から形成される人工血管, 特願 2002-49776 (平成 14 年 2 月 26 日出願), 発明者: 酒井克子, 酒井康行, 宮田房枝, 牛田多加志, 立石哲也, 出願人: (独)産業技術総合研究所.

・生体吸収性多孔質担体の製造方法, 特願 2002-82039 (平成 14 年 3 月 22 日出願), 発明者: 酒井康行, 大塚崇年, 宮田房枝, 酒井克子, 山下明泰, 牛田多加志, 立石哲也, 出願人: (財)生産技術奨励会

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

なし

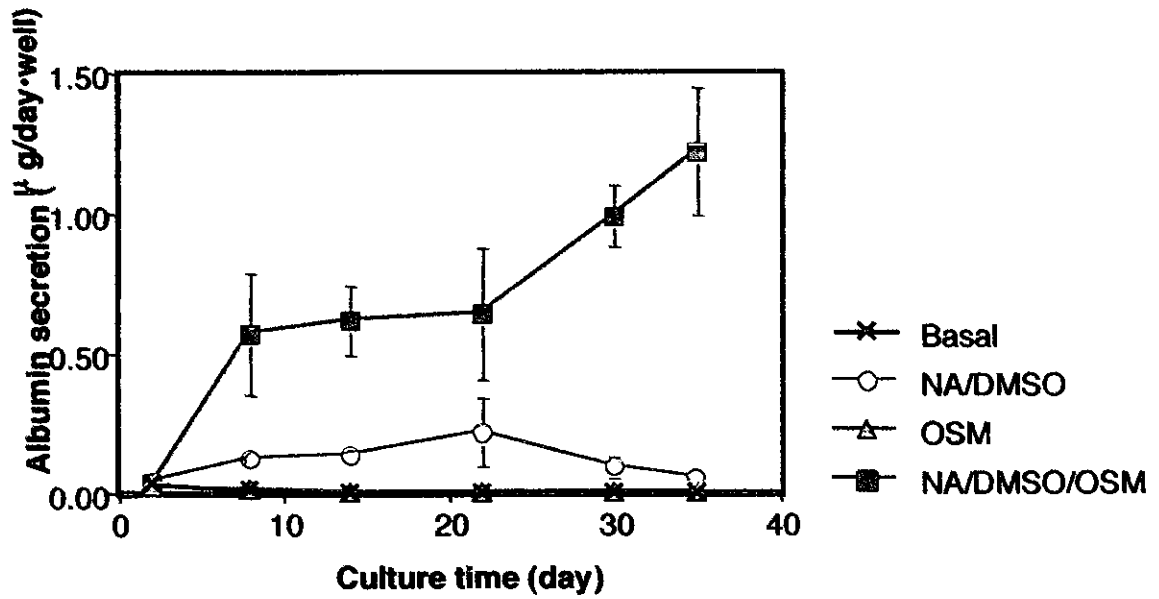


図1. アルブミン分泌に対する液性因子の影響 (単層培養)

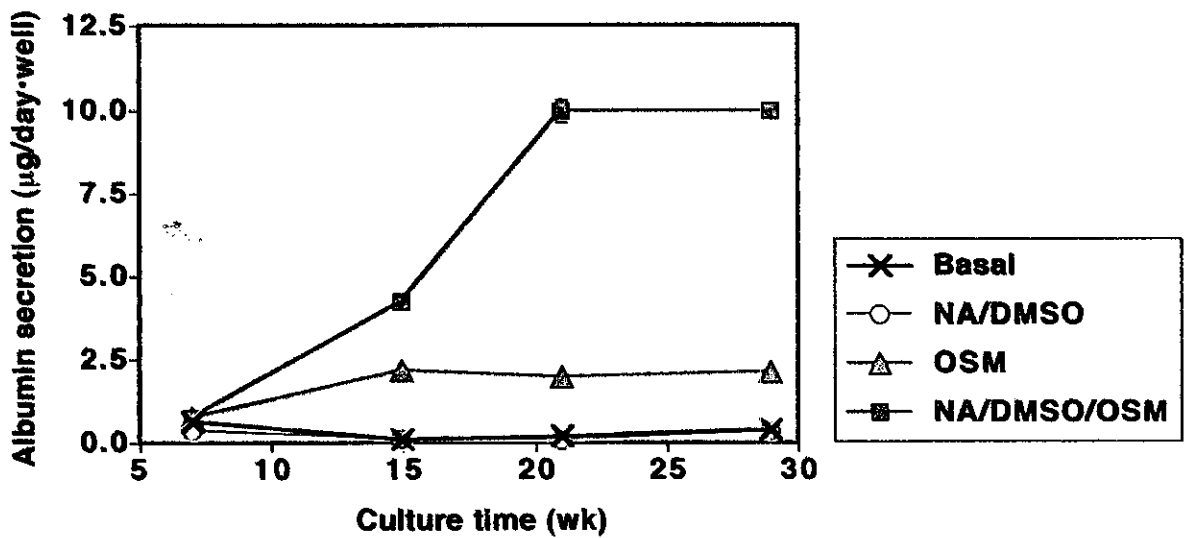


図2. アルブミン分泌に対する液性因子の影響 (PLLA担体三次元培養)



表1. 培養胎児細胞と成熟細胞の機能比較 (DNA量当たり)

	アルブミン分泌 (ng/day·μg-DNA)	CYP1A1/2活性	
		ER除去 (pmol/hr· μg-DNA)	R生成 (pmol/hr· μg-DNA)
胎児肝細胞 (NA/DMSO/OSM)			
Coated-CN, wk 5	109 ± 20	283 ± 131	2.46 ± 1.10
Gelled-CN, wk 5	225 ± 28	492 ± 107	2.08 ± 0.17
PLLA, wk 2	472 ± 10	568 ± 106	0.73 ± 0.20
PLLA, wk 4	1227 ± 166	106 ± 31	0 ± 0
成熟肝細胞 (Basal)			
Coated-CN, day 3	716 ± 58	1870 ± 40	24.3 ± 1.2

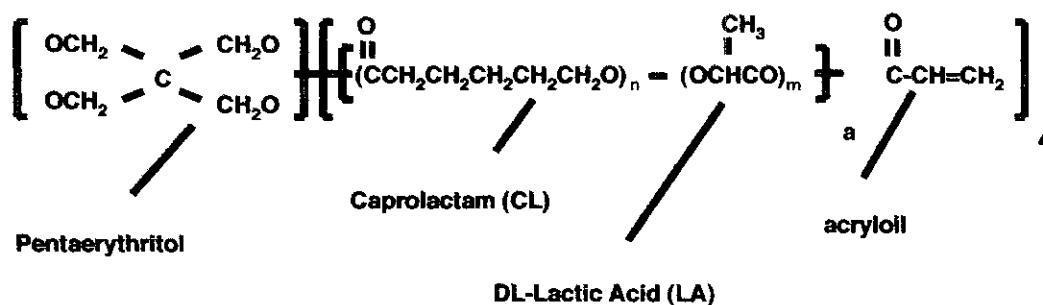


図3. 今回実験に用いた光架橋性生体吸収性樹脂

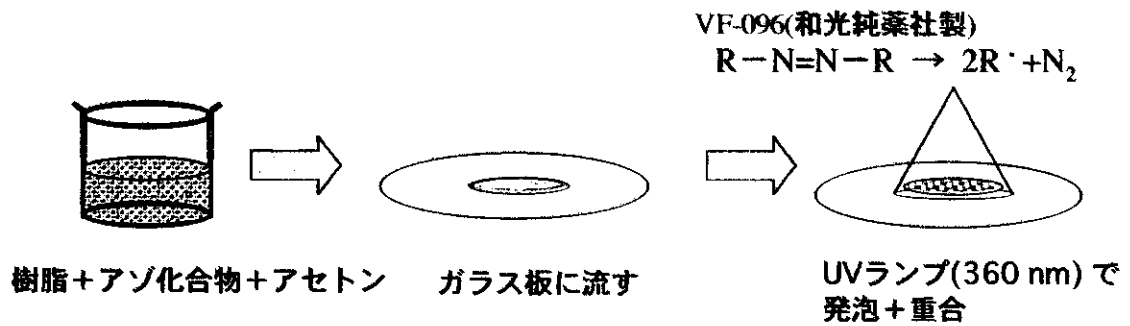
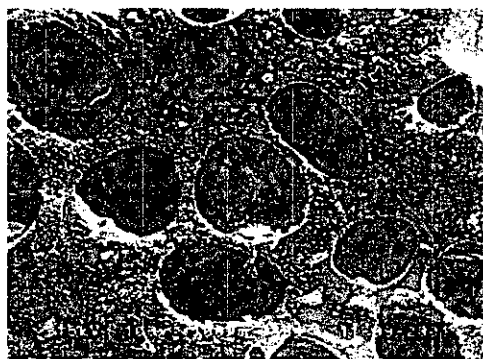
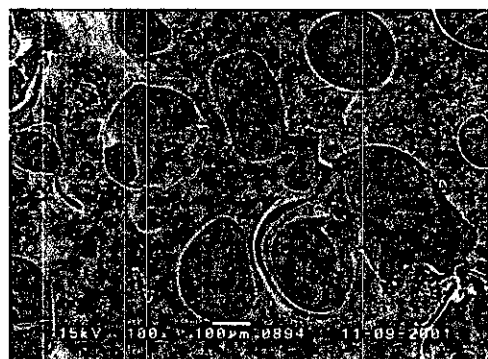


図4. アゾ化合物を用いた光同時発泡重合による担体成型



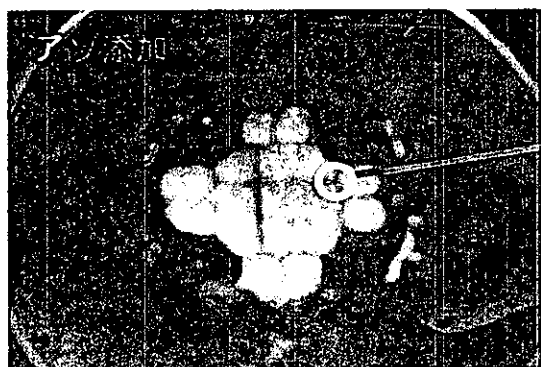
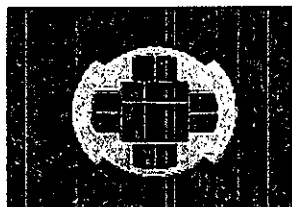
M.W.10000 (polymer:azo = 1:2)



M.W.5000 (polymer:azo = 1:4)

図5. 同時発泡重合で成型された多孔質体の電子顕微鏡像

フォトマスク  
(最小間隔0.5mm)



T字路付近拡大図



図6. 同時発泡重合を利用した流路構造と多孔質構造の同時成型

## ES 細胞からの肝細胞分化系

分担研究者 渡部 徹郎 東京大学大学院医学系研究科・助手

**研究要旨** 臓器移植がドナー不足により困難な我が国においては、外傷や疾病によって損なわれた臓器を補うために、ほぼ全ての臓器に分化する能力を持つ胚性幹細胞（ES 細胞）を用いた再生医療への期待が高まっている。殊に患者数の多い肝疾患の治療を目的とした肝臓などの内胚葉由来の組織細胞への分化系の樹立は急務である。しかし哺乳類の内胚葉形成機構には未解明な部分が多く、ES 細胞から肝臓細胞への分化系はいまだ確立されていない。発生生物学的知見より内胚葉形成におけるアクチビン・Nodal シグナルの重要性が示唆されているが、アクチビンのリガンド刺激では ES 細胞から内胚葉が形成されない。本研究では ES 細胞におけるアクチビン・Nodal シグナル伝達に関する因子の発現を解析し、アクチビンの細胞外阻害因子である lefty の発現が ES 細胞のアクチビンリガンド刺激に対する応答性の低さの原因であることを示唆した。さらにリガンド非依存的にアクチビン・Nodal シグナルを伝達するために Tetracycline 誘導システムにより Nodal 活性型受容体を発現する ES 細胞株を樹立した。

### A. 研究目的

多分化能を持つ初期胚細胞が機能を持った組織細胞へと分化していく過程においてはさまざまなシグナルによる分化誘導が起こっている。ES 細胞が *in vitro* で効率良く分化する際にも同様なシグナルを与えることで初期胚と同様な環境をつくり出すことが必要であることが予想される。本研究においては発生生物学、遺伝学から得られた知見をもとに、ES 細胞に Nodal シグナルを与えることによって初期内胚葉、さらには肝細胞への分化を試みる。本報告書では、

(1) ES 細胞における TGF- $\beta$ スーパーファミリーのシグナル伝達因子の発現を解析する、(2) Tetracycline 誘導システムにより Nodal 活性型受容体を発現する ES 細胞株を樹立することを行ったので報告する。

### B. 研究方法

(1) LIF 存在下で培養している未分化の ES 細胞と LIF 非存在下で培養している分化した ES 細胞から RNA を調製し、TGF- $\beta$ スーパーファミリーのシグナル伝達因子の発現を RT-PCR 法によって解析した。

(2) Tetracycline (Tet) activator を恒常的に発現する ES 細胞に Tet 応答性プロモーターにより ALK3CA (BMP タイプ1 活性型受容体) または ALK4CA (アクチビン・Nodal タイプ1 活性型受容体) を発現する遺伝子カセットを導入した。Tet 発現誘導システムによりそれぞれの遺伝子が発現しているかどうかを Tet 存在下・非存在下で培養した ES 細胞より調製したサンプルのウェスタン解析を行うことにより解析した。

以上の実験はすべて in vitro のマウス培養細胞を用いた実験であり、倫理面の問題はないと考える。

## B. 研究結果

(1) 未分化のまたは分化した ES 細胞においてアクチビン、Nodal、BMP のシグナル伝達因子 (リガンド、受容体、細胞内伝達因子 Smad) は発現していた。また未分化の ES 細胞においてはアクチビン・Nodal の細胞外阻害因子である lefty が発現していた (図1 参照)。(2) 樹立した Tet 誘導細胞株において ALK3CA または ALK4CA の発現は Tet 依存的に調節されていた (図2 参照)。

## D. 考察

シグナル伝達因子が発現していることから ES 細胞はアクチビン・Nodal、BMP のシグナルを伝達する能力があることが示唆された。しかし未分化の ES 細胞において lefty が発現していることから、ES 細胞にアクチビンのリガンドを添加することにより内胚葉への分化を検討することは困難であることが示唆された。

そこで細胞内へアクチビン、

Nodal、BMP のシグナルをリガンド非依存的に伝達するために ALK3CA または ALK4CA を Tet 誘導システムにより発現する ES 細胞株を樹立した。現在これらの ES 細胞株を用いて内胚葉への分化の効率を検討中である。

## E. 結論

本研究により ES 細胞においてはアクチビンと Nodal の阻害因子 lefty が発現していることからリガンド刺激によりシグナルを伝達することは難しく、Tet 誘導システムにより活性型受容体を発現させる実験系の有効性が示唆された。

## F. 健康危険情報

特になし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

Watabe T, Lin M, Ide H, Donjacour AA, Cunha GR, Witte ON, Reiter RE. (2002) Growth, Regeneration and Tumorigenesis of the Prostate Activates the PSCA Promoter. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 99(1):401-406.

## H. 知的所有権の取得状況

特になし

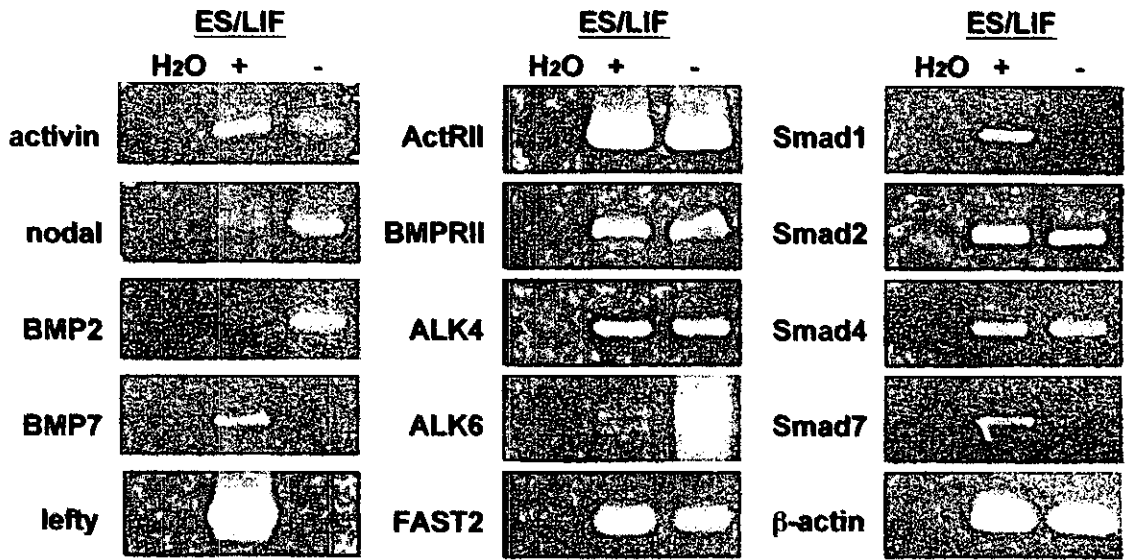


図1. 未分化または分化した ES 細胞におけるTGF- $\beta$  スーパーファミリーシグナル伝達因子の発現

LIF存在下(+)で培養している未分化のES細胞とLIF非存在下(-)で培養している分化したES細胞からRNAを調製し、TGF- $\beta$ スーパーファミリーのシグナル伝達因子の発現をRT-PCR法によって解析した。ネガティブコントロールとしてH2OをテンプレートとしてPCRを行った。ActRII; アクチピンタイプ2受容体、BMPRII; BMPタイプ2受容体

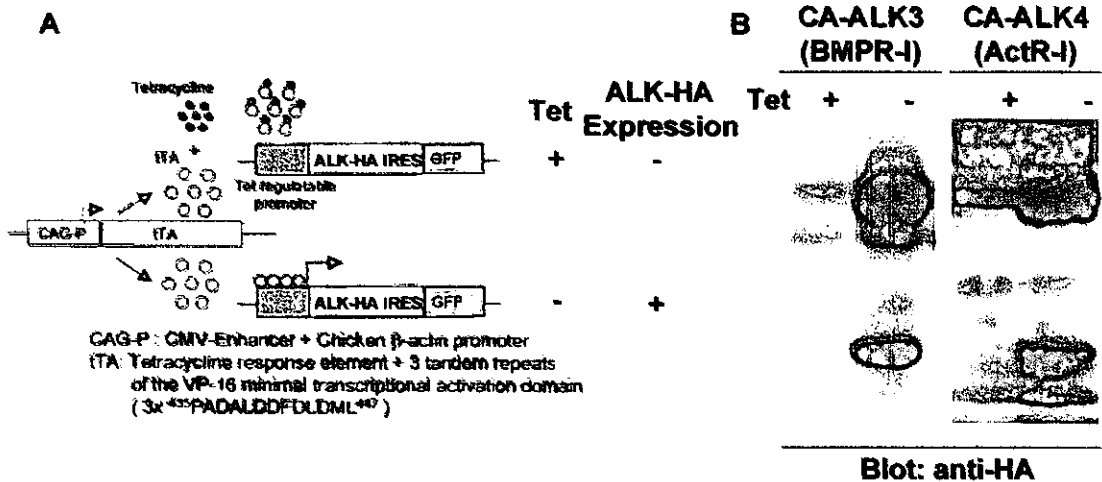


図2. ES細胞株における恒常的活性型ALK3/4のTetracycline (Tet)による発現誘導  
 A. ES細胞におけるTet発現誘導システムの原理。CAGプロモーターにより発現しているITAはTet非存在下でTet調節プロモーターに結合しALK-HAの発現を誘導する。Tet存在下ではITAはプロモーターに結合できず、ALK-HAは発現しない。B. Tet誘導株における活性型ALK3/4の発現誘導。HAタグがついたCA-ALK3/4の発現を抗HA抗体を用いて解析した。

### III. 研究成果の刊行に関する一覧表

書籍： なし

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表雑誌	巻号	ページ	出版年
A.Kamiya, T.Kinoshita and A.Miyajima	Oncostatin M and hepatocyte growth factor induce hepatic maturation via distinct signaling pathways.	FEBS Letters	492	90-94	2001
T.Matsui,T.Kinoshita,Y.Morikawa,K.Tohya,M.Katsuki,Y.Ito,A.Kamiya, and A.Miyajima	K-Ras mediates cytokine-induced formation of adherens junctions during liver development.	EMBO J.	21	1021-1030	2002
K. Naruse, Y. Sakai, G. Lei, Y., Y. Sakamoto, T. Kobayashi, C. Puliatti, G. Aronica, F. Leone, S. Qiang, S.-G. Ming, Z. Li, S.-J. Chang, M. Suzuki and M. Makuuchi	Efficacy of non-woven fabric bioreactor immobilized with porcine hepatocytes for ex vivo xenogeneic perfusion treatment of liver failure in dogs	Artif. Organs	25, 4	273-280	2001
Y. Sakai, K. Furukawa, T. Ushida, T. Tateishi, and M. Suzuki	In vitro organization of biohybrid rat liver tissue incorporating growth-factor- and hormone-releasing biodegradable-polymer microcapsules	Cell Transplant.	10	479-483	2001
成瀬勝俊, 酒井康行	再生医学における肝細胞の分離・再構築法	Surgery Frontier	8, 3	309-315	2001
Y. Sakai, J. Jiang, N. Kojima, T. Kinoshita and A. Miyajima	Enhanced in vitro maturation of fetal mouse liver cells with oncostatin M, nicotinamide and dimethylsulfoxide	Cell Transplant.			in press
J. Jiang, N. Kojima, T. Kinoshita and A. Miyajima, Weiqun Yan and Y. Sakai	Cultivation of fetal liver cells in a three-dimensional poly-L-lactic acid scaffold in the presence of oncostatin M	Cell Transplant.			in press
Watabe T, Lin M, Ide H, Donjacour AA, Cunha GR, Witte ON, Reiter RE.	Growth, Regeneration and Tumorigenesis of the Prostate Activates the PSCA Promoter.	Proc. Natl. Acad. Sci. USA.	99(1)	401-406	2002

## IV. 研究成果の刊行物・別刷



20010471

以降のページは雑誌/図書等に掲載された論文となりますので  
「研究成果の刊行に関する一覧表」をご参照ください。