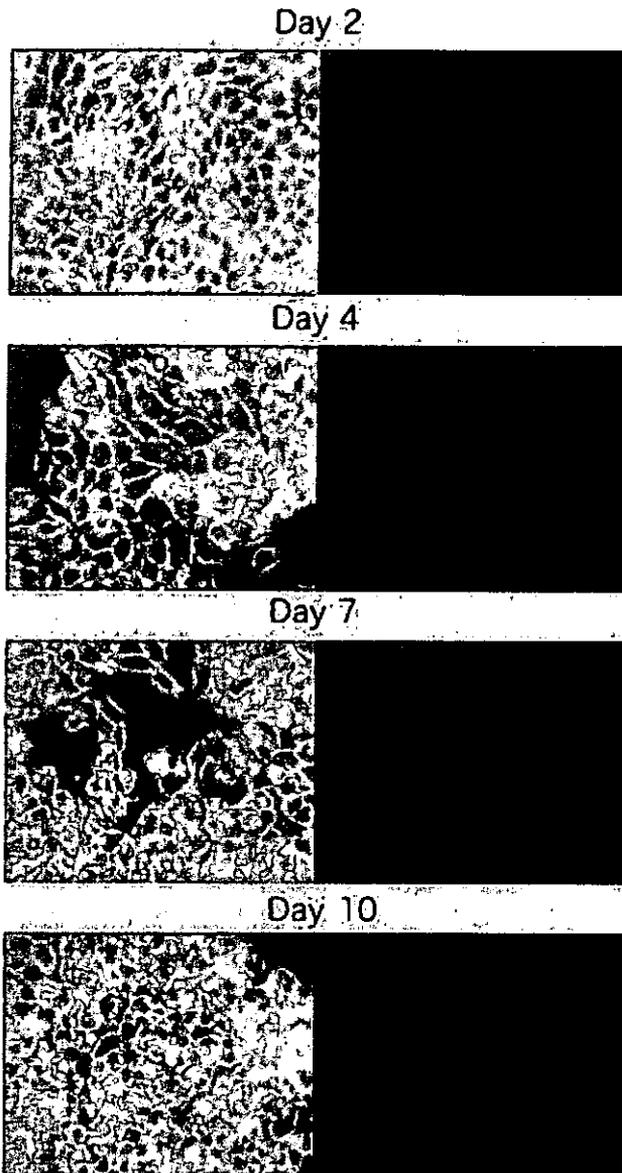
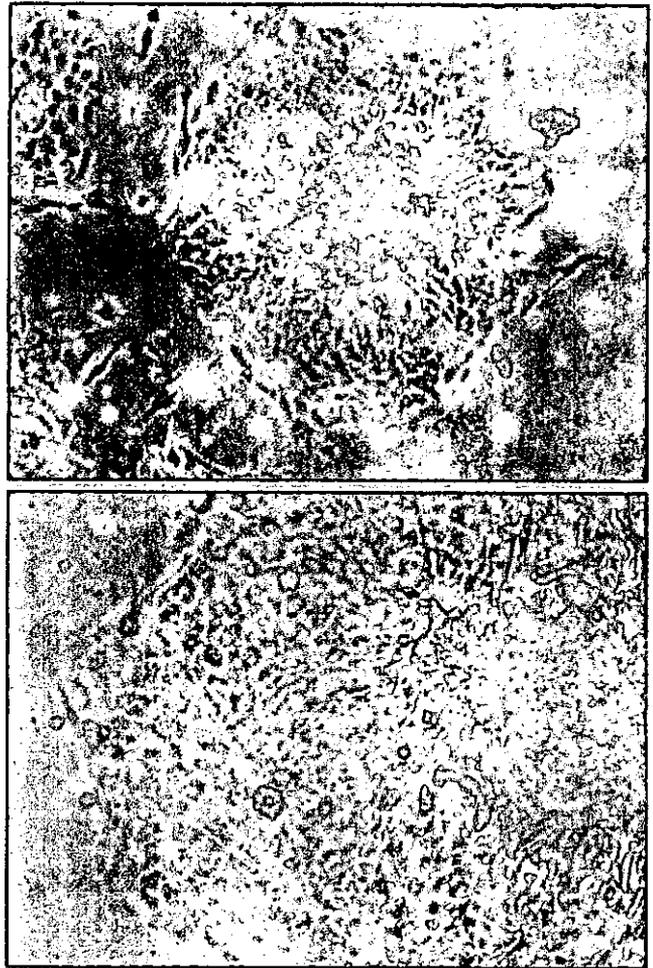


図4 安定組換え体におけるGFPの発現



胞は全体の20%以下と少なく、さらに同分画に含まれる細胞の大多数は胆管上皮細胞の性質を有していた。すなわち、血管内皮細胞、星細胞、クッパー細胞はごく少量しか回収されなかった。約20例の検討を行ったが、増殖力のある上皮系未分化細胞が分離されたのはわずか1症例のみであり(図5)、再現性のある結果が得られなかった。

図5 ヒト肝組織由来上皮系細胞



### (3) ヒト肝組織よりの肝前駆細胞の分離/同定

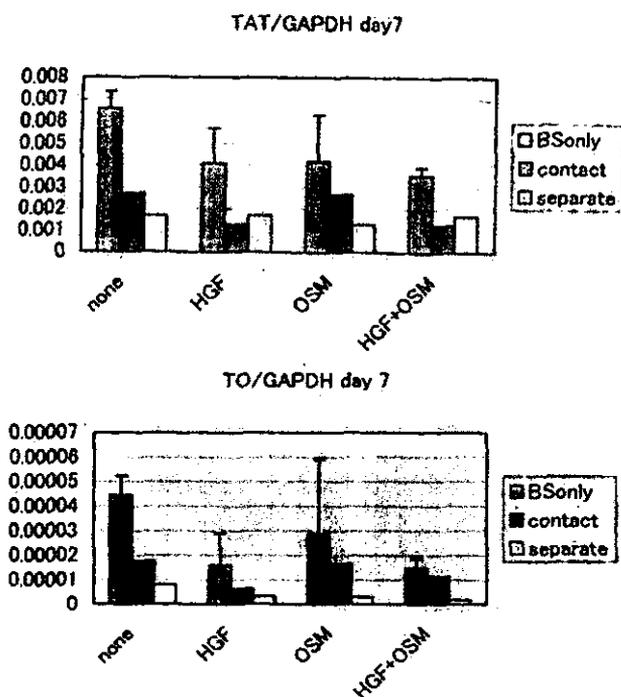
本年度より京都大学消化器外科における肝切除例について、ウイルス性肝炎の症例を含めて肝幹細胞の分離/同定を試みた。予備実験の結果、コラゲナーゼによる肝組織からの細胞分離については、検体の重量は約10グラム、コラゲナーゼの濃度は0.2%、量は200ミリリットルが至適であると判明した。本条件で実験を行うと一検体より約1億個の細胞が回収され、細胞の生存率は約90%であった。細胞の回収率はマウスにおける実験の約1/10であり、これまでに報告されている結果とほぼ同等であった。しかしマウスとは異なり、非実質分画の細

### (4) 肝幹細胞の分化誘導における間葉系細胞の関与に関する実験

昨年度におこなった予備実験から、胎児肝から得られた細胞をそのまま培養した場合と、一旦細胞凝集塊作製してこれを接着培養させた場合とを比較すると後者において細胞の成熟化が有意に進行するという結果が得られた。このため、細胞凝集塊には含まれていない細胞が肝幹細胞の成熟化を阻害することが推測された。これを証明するために、本年度は

新たな実験系を組み立てた。細胞凝集塊に含まれる肝幹細胞と間葉系細胞を蛍光励起セルソータで分取して培養、これに、細胞凝集塊に含まれない細胞をセルインサートに加えてその効果を確認した。定量的RT-PCRの結果、第三の細胞群を加えた群では有意に成熟化マーカーの発現が少なかった(図6)。

図6 肝幹細胞における成熟肝細胞マーカーの発現量の変化



#### (5) 遺伝子改変マウスを用いた新たな移植モデルの構築に関する実験

毒素投与により遺伝子改変マウスの肝細胞が破壊されることを、血中肝逸脱酵素値の測定および形態学的観察により確認した。脾臓に同系マウスの成熟肝細胞を移植すると、一ヶ月後にはレシピエント肝内にドナー細胞からなるコロニーが観察された。

#### D 考察

ヒト肝細胞を安定的に供給するために我々は胎児肝幹細胞、成体組織由来肝幹細胞、およびES細胞に着目し研究をすすめた。まず肝幹細胞に関する一

般的性質を研究するためには胎児肝由来の細胞が量的に最も有利であることから、同細胞について初めに検討することとし、同細胞の分離法の開発に着手した。胎児肝は多数の造血系細胞やその他の間葉系細胞を含むため、肝幹細胞を入手するために細胞凝集塊形成法という新たな手法を開発した。同法により肝幹細胞を簡便に比較的高純度に入手することが可能となり、以後の研究を進める上で非常に有効であった。同法により得られた細胞はその約50%が肝前駆細胞の性質を有しており、特異抗原として知られているCD49Fを用いると、蛍光励起セルソータによりほぼ均一な肝前駆細胞が効率よくソーティングできる。同システムにより我々は再現性よく胎児肝幹細胞/前駆細胞を利用することが可能となった。本年度は肝幹細胞を成熟肝細胞に分化誘導する上で必要な条件を決定することを目的として、間葉系細胞が肝幹細胞の分化におよぼす影響について検討した。その結果、細胞凝集塊の形成に関与しない間葉系細胞が肝幹細胞の分化を阻害し、未分化な状態を維持する働きを持つことを見いだした。昨年度に得られた研究結果とあわせると、間葉系細胞を利用することにより肝幹細胞の分化スイッチのオンオフを調節することが可能となるのではないかと推測される。

ヒト胎児肝幹細胞については本年度は4例について実験を行い、細胞凝集塊形成法により同様に肝幹細胞を分離可能であることを確認した。さらに同細胞がマウスと同様の遺伝子発現上の性質を有することを明らかとした。しかし胎児肝を細胞供給源とすることは今後倫理的な面からも不適當であると考えられ、生物学的な基礎的検討のみを行うこととして臨床応用へむけた実験に関しては現在のところ予定していない。

成体組織由来肝幹細胞に関しては、我々は細胞凝集塊形成法を応用することにより条件を新たに設定することで、これまで性質が十分に解明されていなかった成体肝組織由来の肝前駆細胞を入手することが可能となった。さらにGFPトランスジェニックマウスのある一ラインが肝内において肝細胞系に比較的強くGFPを発現することを見だし、同マウスから蛍光励起セルソータによって成体肝組織由来

肝幹細胞をソーティングした。昨年度は同細胞に特異的に発現する遺伝子をcDNAサブトラクション法によりスクリーニングし、特異的マーカー遺伝子の候補を約30遺伝子同定した。本年度の二次スクリーニングにより3遺伝子が非常に有望であることが判明し、現在最終的な確認を行っているところである。これらの遺伝子が実際に成体肝幹細胞に特異的に発現しているのならば、その応用範囲は極めて広いため、その成果が期待される。

ヒト細胞に関する実験については昨年度までの予備実験に引き続き、本年度は多数の症例で実験を行った。手術時に肝門部の脈管を処理する前、すなわち肝虚血を加える前に約10グラムの正常部組織を採取し、これをコラゲナーゼ処理によって細胞を回収してマウスと同様に培養を行った。いくつかの条件設定の結果、細胞の回収率、生存率ともにほぼ満足のいく条件で採取することが可能となり、培養により肝幹細胞の性質を有する細胞がみられるかどうかを検討した。しかしながら期待される細胞が得られたのはわずかに1例のみであり、再現性が得られなかった。今回の実験結果から推定される問題点は以下の通りである。(1) 実験に用いた症例の年齢が50歳代から70歳代と高齢であり、そもそも肝幹細胞の含有率が非常に低い可能性があること。

(2) 実験に用いた肝組織は採取の関係上、肝の辺縁部を用いており肝深部の組織に比べて同部位には肝幹細胞の割合が少ない可能性があること。(3) 培養液にある種の増殖因子が欠如しており、肝幹細胞が増殖分化できずにその存在が検出されていない可能性があること。(4) 培養系に混入する星細胞やクッパー細胞などが少ないため維持培養が困難であった可能性があること。(5) コラゲナーゼを用いた細胞分散法では、比較的高度の高いヒト肝組織から細胞を完全に回収することが困難であること。今後は培養によらずに細胞の性質を検出する方法の開発、細胞の回収率を上げる方法の開発等が必要であると考えている。

ES細胞はほぼ無限に増殖するその増殖能から、特に人工肝臓に用いる細胞供給源として期待されている。しかし現在のところ肝細胞をはじめ内胚葉系の細胞に分化誘導することは困難であるとされてお

り、ごく一部の分化細胞を分取することも困難である。そのため我々はAFPプロモータを利用したレポーターシステムを開発することとし、本年度から実験を開始した。現在までに安定組み替え細胞を得ることができ、同細胞を蛍光励起セルソータと組み合わせてES細胞由来肝幹細胞を分離増殖させることを計画している。

## E 結論

- (1) 肝幹細胞特異的抗原遺伝子の候補として三遺伝子を同定した。
- (2) AFPプロモータによりGFPを発現するES細胞株を作製した。
- (3) ヒト肝組織より肝幹細胞を分離する実験を施行した。
- (4) ある種の間葉系細胞が肝幹細胞の分化を抑制することを発見した。

## F 健康危険情報

なし

## G 研究発表

### (1) 論文発表

1. Baba S, Fujii H, Hirose T, Yasuchika K, Azuma H, Hoppo T, Naito M, Machimoto T, Ikai I. Commitment of bone marrow cells to hepatic stellate cells in mouse. *J Hepatol.* 2004 Feb;40(2):255-60.
2. Ikai I, Itai Y, Okita K, Omata M, Kojiro M, Kobayashi K, Nakanuma Y, Futagawa S, Makuuchi M, Yamaoka Y. Report of the 15th follow-up survey of primary liver cancer. *Hepatol Res.* 2004 Jan;28(1):21-29.
3. Fujikawa T, Hirose T, Fujii H, Oe S, Yasuchika K, Azuma H, Yamaoka Y. Purification of adult hepatic progenitor cells using green fluorescent protein (GFP)-transgenic mice and fluorescence-activated cell sorting. *J Hepatol.* 2003 Aug;39(2):162-70.
4. Matsushita T, Ikai I, Nishitai R, Katsura N, Yamanokuchi S, Matsuo K, Sugimoto S, Shiotani T, Takahashi R, Terajima H, Yamaoka Y. Suppressed complement activation in human decay accelerating

factor transgenic porcine liver cross-circulated with nonhuman primates. *Transplantation*. 2003 Jun 15;75(11):1807-12.

5. Azuma H, Hirose T, Fujii H, Oe S, Yasuchika K, Fujikawa T, Yamaoka Y. Enrichment of hepatic progenitor cells from adult mouse liver. *Hepatology*. 2003 Jun;37(6):1385-94.
6. Ikai I, Yamamoto Y, Yamamoto N, Terajima H, Hatano E, Shimahara Y, Yamaoka Y. Results of hepatic resection for hepatocellular carcinoma invading major portal and/or hepatic veins. *Surg Oncol Clin NAm*. 2003 Jan;12(1):65-75, ix.
7. Nishio T, Iimuro Y, Nitta T, Harada N, Yoshida M, Hirose T, Yamamoto N, Morimoto T, Brenner DA, Yamaoka Y. Increased expression of collagenase in the liver induces hepatocyte proliferation with cytoplasmic accumulation of beta-catenin in the rat. *J Hepatol*. 2003 Apr;38(4):468-75.
8. Oe S, Fukunaka Y, Hirose T, Yamaoka Y, Tabata Y. A trial on regeneration therapy of rat liver cirrhosis by controlled release of hepatocyte growth factor. *J Control Release*. 2003 Mar 7;88(2):193-200.

## (2) 学会発表

1. 東久弥、猪飼伊和夫 成体マウス肝からの効率的な肝前駆細胞分離法の開発 第6回日本組織工学会 東京 2003年12月5日.
2. 東久弥、猪飼伊和夫 正常成体肝からの肝前駆細胞分離の試み 第16回肝再生研究会 東京 2003年6月12日.
3. 馬場慎司, 廣瀬哲朗, 藤井英明, 安近健太郎, 東久弥, 藤川貴久, 北方敏敬, 内藤雅人, 待本貴文, 山岡義生. Green fluorescent protein(GFP) トランスジェニックマウスを用いた骨髄細胞由来肝星細胞の検討. 第103回日本外科学会総会 札幌 2003年6月4日
4. 馬場慎司, 廣瀬哲朗, 藤井英明, 安近健太郎, 東久弥, 北方敏敬, 内藤雅人, 待本貴文, 山岡義生. GFP トランスジェニックマウスを用いた骨髄細胞由来肝星細胞の検討. 第58回日本消化器外科学会総会 東京 2003年7

月17日

5. Azuma H, Hirose T, Fujii H, Yasuchika K et al. Establishment of enrichment system for immature endodermal cells from adult mouse liver. *Digestive Disease Week 2003 (Orlando, FL)*

## H 知的財産権の出願・登録状況

なし

厚生労働科学研究費補助金（ヒトゲノム・再生医療研究事業）  
分担研究報告書

ヒト肝組織からの肝幹細胞分離・同定及び分化誘導と肝不全治療に関する研究  
分担研究者 永尾 雅哉 京都大学大学院生命科学研究科・教授

**研究要旨** 細胞凝集塊形成法によって得られた比較的純度の高い胎児肝幹細胞の接着培養系をもちいて、同細胞の分化成熟化過程における遺伝子発現の変化をマイクロアレイを利用してゲノムワイドに解析した。発現量が2倍以上あるいは1/2以下の遺伝子が各々数百ずつ選択された。現在発現量に大きな変化がみられた転写因子について肝幹細胞の分化誘導に関する作用機序を解析している。本知見は肝幹細胞の分化誘導法の開発にあたり有用な情報となり得ると考えられる。

### A 研究目的

肝細胞の恒常的細胞供給を担うにあたり自己複製能を有する肝幹細胞の同定・分離は重要な案件といえる。この目標にむけ、我々は昨年度にマウス胎仔肝からの未分化内胚葉細胞の分離法を利用して得られた肝幹細胞の表面抗原を解析し、いくつかの知見を得ることができた。さらに、肝幹細胞が成熟肝細胞へ分化するためにはある種の間葉系細胞が必須であることを証明した。このことは、間葉系細胞からのシグナルにより肝幹細胞の内部で遺伝子発現が変化しその結果として分化が進むことが推測され、この遺伝子発現の変化を知ることは肝細胞系の分化誘導を進める上で重要であると考えられる。このため本年度は肝幹細胞が分化する過程でどのような遺伝子が変動するかについてマイクロアレイを用いてゲノムワイドに遺伝子発現の変化を検討することを研究の目的とした。これまでに発表されている胎児肝を用いた遺伝子発現については、胎児肝全体を用いているため、間葉系細胞や血球計細胞などの雑多な細胞を非常に多く含む系を用いているために、肝幹細胞のそのものの遺伝子変化については検出が困難であった。われわれは分担研究者の猪飼らが開発した細胞分離法を用いて、これまでに報告された系よりも純度の高い肝幹細胞を用いて、同細胞の分化過程における遺伝子発現について解析を行った。

### B 研究方法

胎生13日目のマウス肝からコラゲナーゼ処理により細胞浮遊液を作製し、16時間の浮遊培養により細胞凝集塊を形成させてこれを分離し、I型コラーゲンコート培養皿上で培養する。培養2日目、3日目、7日目に同細胞のメッセンジャーRNAを回収する。培養2日目のRNAをCY5で、培養3日目、7日目のRNAをCY3でラベリングし、マイクロアレイプレートと反応させプレート上のcDNAと結合した標識核酸の蛍光強度を測定する。各々の色素の発光量について補正を行い、閾値を設定した後に発現量の比をソフトウェアで解析する。発現量の比が2倍以上または1/2以下である場合を有意とした。

### C 研究結果

昨年までの研究から細胞凝集塊には肝幹細胞/前駆細胞が約50%含まれており、約30%含まれている間葉系細胞が肝幹細胞の分化をひきおこすことが判明している。細胞の含有比がこれに類する場合は肝幹細胞は速やかに成熟肝細胞へと分化が進行し、培養7日目には形態的にはほぼ成熟肝細胞へと分化していることが、昨年までの検討で明らかになっている。本実験系では培養2日目に比べ、7日目では成熟肝細胞への分化が十分に進行していると考え

られるため、この両者において遺伝子の発現量を検討した。今回利用したマイクロアレイは約2万遺伝子が解析可能であり、そのうち肝幹細胞の成熟化により発現が増強する遺伝子および減弱する遺伝子がそれぞれ数百ずつ選択された。本実験によって得られた値の信頼性を確認するために、RT-PCRにより遺伝子発現量を測定したところ、ほぼマイクロアレイのデータと一致することが判明した。現在細胞の分化に関与すると考えられる転写因子群および細胞のソーティングに利用可能な表面抗原遺伝子群に標的をしぼり発現の変化の解析を継続している。

#### D 考察

近年の発生生物学の研究は主に外胚葉系および中胚葉系が対象となっており、内胚葉系に関する研究は少ない。このため内胚葉系の細胞である肝幹細胞の分化誘導機序についてはいまだに十分には解明されていない。またES細胞から内胚葉系細胞を分化誘導することは非常に難しいことが知られており、ES細胞からの肝細胞作成にあたって内胚葉系の分化誘導機序に関する研究の進展が期待されている。これまでに胎児肝の発生過程における遺伝子発現の解析に関してはいくつかの報告がみられるが、それらはいずれも雑多な細胞を含む系を用いており、本研究で用いた純度の高い肝幹細胞の系におけるデータは得られておらず、本研究によって得られた遺伝子発現解析の結果は非常に重要なものであると考えられる。肝由来の肝幹細胞を成熟肝細胞に分化させること、また逆に幹細胞を未分化な状態で維持することは肝不全などの治療に応用する上で重要な事項であり、現在その機序の解明が急がれている。本研究により、同機序に関していくつかの遺伝子が関与していることが明らかとなり、今後の研究進展の糸口となることが期待される。我々はある種の転写因子が分化制御の鍵を握っているものとの推測しており、今後はこれらの転写因子の発現様式や作用機序について詳しく解析を進めることとしている。またヒト細胞についてもこれらの転写因子の働きについて解析する予定である。

#### E 結論

肝幹細胞が成熟肝細胞へ分化する過程についてマイクロアレイを用いた遺伝子スクリーニングを施行し、発現量に変化が見られる遺伝子を同定した。

#### F 健康危険情報

なし

#### G 研究発表

##### (1) 論文発表

1. Yasuda, Y., Matsuo, T., and Nagao, M. Blockade of erythropoietin signal at the early postimplantation period inhibits the development of decidua and embryo in mice. *Congenital Anomalies* 44, 9-17 (2004) in press
2. Kambe T, Yamaguchi-Iwai Y, Sasaki R, Nagao M. Overview of mammalian zinc transporters. *Cell. Mol. Life Sci.* 61, 49-68 (2004)
3. Murakami K, Irie K, Morimoto A, Ohigashi H, Shindo M, Nagao M, Shimizu T, Shirasawa T. Neurotoxicity and physicochemical properties of A $\beta$  mutant peptides from cerebral amyloid angiopathy: implication for the pathogenesis of cerebral amyloid angiopathy and Alzheimer's disease. *J. Biol. Chem.* 278, 46179-46187 (2003)
4. Ogawa A, Terada, S., Sakuragawa, N., Masuda, S., Nagao, M., and Miki, M. Progesterone, not 17 $\beta$ -estradiol, up-regulates erythropoietin (EPO) production in Human Amniotic Epithelial cells. *J. Biosci. Bioeng.* 96, 448-453 (2003)

##### (2) 学会発表

なし

#### H 知的財産権の出願・登録状況

なし

厚生労働科学研究費補助金（ヒトゲノム・再生医療研究事業）  
分担研究報告書

ヒト肝組織からの肝幹細胞分離・同定及び分化誘導と肝不全治療に関する研究  
分担研究者 塩田 浩平 京都大学大学院医学研究科・教授

**研究要旨** 本事業を推進するために必要な遺伝学および細胞生物学的情報に関して各分担研究者が必要とする情報提供を行った。本年度はヒト肝組織から肝幹細胞を分離するために必要な肝幹細胞特異抗原の同定及び肝幹細胞の分化誘導に関する転写因子に関する情報について重点的に研究をすすめた。さらにヒト胎児肝幹細胞分離培養に関する研究について検体提供、検体管理等の研究援助を行った。これらの研究結果はヒト肝幹細胞の分離法の確立及び分化誘導法の確立に関して有用であると思われる。

### A 研究目的

成体の肝組織から分離された組織由来肝幹細胞は、胎児肝に存在する肝幹細胞あるいは肝芽細胞と類似した性質を持つものと推測されている。また、肝幹細胞から成熟肝細胞にいたる分化の経路についても、胎児肝の発生過程と同様の経路をたどるものと考えられる。このため、胎児肝における肝発生についての知見を得ることは、肝組織から得られた肝幹細胞を分化誘導させるうえで重要であることが予測される。さらに成体組織由来肝幹細胞と胎児由来肝幹細胞または肝芽細胞との類似点を検討することは、その表面抗原解析において、特に蛍光励起セルソータによるセルソーティングシステムの構築にあたり重要な役割を果たすと思われる。こうした研究の進展に寄与するため、我々は前年度にひきつづき、胎生期における肝臓の組織構築および肝細胞への分化過程において発現する遺伝子などについての情報提供を行う。また前年度と同様に、ヒト胎児を対象とした研究についても検体の提供やその管理などについて総合的に援助する。

### B 研究方法

前年度と同様に、これまでに知られている胎児肝に発現している遺伝子について、我々の独自データを含めて情報提供を行う。本年度は表面抗原遺伝子

および転写因子について重点的に情報を収集する。また前年度にひきつづき、ヒト胎児を対象とした肝前駆細胞の分離および培養について援助する。細胞分離法は猪飼らが開発した細胞凝集塊形成法に準ずる。すなわち、まず直接穿刺法によりコラゲナーゼ液を肝組織に注入して細胞外基質を消化した後に機械的に組織を破碎して細胞浮遊液を作製する。これをペトリディッシュ上で16時間浮遊培養することにより細胞凝集塊を形成させ、これを1型コラーゲンコート培養皿上で接着培養する。なお胎児検体を利用した研究については平成13年度に京都大学医学部医の倫理委員会において研究遂行に関する承認を得ている。

### C 研究結果

分担研究者の猪飼らが行っている成体肝由来の肝前駆細胞特異的表面抗原遺伝子のスクリーニングにおいて検出された数十の遺伝子について、それらの胎児肝やその他の組織における発現パターンについて検討した。その結果、いくつかの遺伝子は胎生期には比較的特異的に肝に発現することが確認され、これらの遺伝子が肝幹細胞/前駆細胞の特異抗原である可能性が期待された。最も注目している表面抗原遺伝子GP38は、肺の発生に関与していることが推測されており、さらに胎生期には内胚葉組織に発現していることが明らかとなった。このことから

同遺伝子が胎児肝幹細胞に発現し、肝発生に関与していることが推測される。また猪飼らが確立したマウス胎児肝からの肝幹細胞/前駆細胞分離法を応用して、ヒト胎児肝から同様の細胞を分離する研究については、本年度は4例援助を行った。いずれの症例においても、肝臓からマウスと同様に肝幹細胞より構成される細胞凝集塊が形成され、培養が可能であった。同細胞は形態的にはマウス胎児由来の肝前駆細胞に類似しており増殖力は旺盛であったが、我々の培養条件では成熟肝細胞様に分化する様子が見られず、なんらかの分化誘導因子が欠如していることが推測された。

#### D 考察

胎児期は細胞の増殖・分化・組織構築が盛んに行われている時期であり、そこから得られる発生学的知見は、本研究が目指しているヒト肝組織由来の幹細胞からヒト成熟肝細胞への分化誘導法の確立に有用な指標になると考えられる。本事業における目標にヒト肝組織からの肝幹細胞の分離があげられるが、高純度に肝幹細胞を分離するためには同細胞に特異的に発現する抗原の同定が必須である。猪飼らが昨年度に成体肝由来の肝前駆細胞からスクリーニングによって得られた遺伝子群から、本年度に我々の提供した情報を通して、新たな肝幹細胞特異的遺伝子が同定されることが期待される。新たな表面抗原が同定されればその応用範囲は広く、今後の幹細胞移植における活用が期待される。一方、本研究によって、ヒト胎児肝組織に由来する肝幹細胞を分離培養することが可能となった。またヒト肝幹細胞は遺伝子発現などについてマウスの同細胞と同様の性質を有することが確認された。しかし培養過程を観察するとマウスとは異なり形態的な肝細胞への成熟化がごくわずかしか観察されないことから、なんらかの分化誘導因子が培養液中に欠損している可能性が考えられた。培養液中に含まれる血清は成人ボランティア由来のものであり、胎児血清が含まれていないことがその原因として推測された。同培養研究を通して、マウスで得られた知見をヒトに応用する上で留意点、相違点、工夫すべき点を今後さらに検討

することが求められる。本研究で得られたヒト細胞に関する情報は大変貴重なものであり、今後の研究進展に寄与するものと考えられる。

#### E 結論

胎児発生段階の肝形成に関する研究結果から得られた情報は、臨床応用に向けたヒト肝幹細胞からのヒト成熟肝細胞分化誘導に有用であることが確かめられた。

#### F 健康危険情報

なし

#### G 研究発表

##### (1) 論文発表

1. Takahara S, Takigawa T, Shiota K. Programmed cell death is not a necessary prerequisite for fusion of the fetal mouse palate. *Int J Dev Biol.* 2004 Feb;48(1):39-46.
2. Chou MJ, Kosazuma T, Takigawa T, Yamada S, Takahara S, Shiota K. Palatal shelf movement during palatogenesis: a fate map of the fetal mouse palate cultured in vitro. *Anat Embryol (Berl).* 2004 Feb 21
3. Hayase T, Yamamoto Y, Yamamoto K, Muso E, Shiota K. Microarray profile analysis of toxic cocaine-induced alterations in the expression of mouse brain gene sequences: a possible 'protective' effect of buprenorphine. *J Appl Toxicol.* 2004 Jan-Feb;24(1):15-20.
4. Hayase T, Yamamoto Y, Yamamoto K, Muso E, Shiota K, Hayashi T. Similar effects of cocaine and immobilization stress on the levels of heat-shock proteins and stress-activated protein kinases in the rat hippocampus, and on swimming behaviors: the contribution of dopamine and benzodiazepine receptors. *Behav Pharmacol.* 2003 Nov;14(7):551-62.
5. Hayase T, Yamamoto Y, Yamamoto K, Muso E,

Shiota K. Stressor-like effects of cocaine on heat shock protein and stress-activated protein kinase expression in the rat hippocampus: interaction with ethanol and anti-toxicity drugs. *Leg Med (Tokyo)*. 2003 Mar;5 Suppl 1:S87-90.

6. Komatsu S, Sasaki Y, Shiota K. A quantitative study of the facial nerve in mice prenatally exposed to ethanol. *Congenit Anom Kyoto*. 2003 Mar;43(1):41-5.
7. Saito H, Ishibashi M, Nakano H, Shiota K. Spatial and temporal expression of folate-binding protein 1 (Fbp1) is closely associated with anterior neural tube closure in mice. *Dev Dyn*. 2003 Jan;226(1):112-7.
8. 番匠武蔵, 水田忍, 松田哲也, 塩田浩平. ヒト胎児形態データベースの書誌情報に基づく検索システム. 電子情報通信学会技術研究報告 (ME とバイオサイバネティクス)103 巻 81 号 Page29-34(2003.05)
9. 塩田浩平, 才津浩智. 【妊娠と薬物 EBM 時代に対応した必須知識】 薬物の胎児・新生児への影響. *臨床婦人科産科*(0386-9865)57 巻 5 号 Page657-661(2003.05)

## (2) 学会発表

## H 知的財産権の出願・登録状況

なし

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	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Ikeda S, Mitaka T, Harada K, Sato F, Mochizuki Y, Hirata K	Tumor necrosis factor-alpha and IL-6 reduce bile canalicular contractions of rat hepatocytes	Surgery	133(1)	101-109	2003
Takamura A, Adachi M, Wada I, Mitaka T, Takayama S, Imai K	Accumulation of Hsp70/Hsc70 molecular chaperone regulator BAG-1 on COPI-coated structures in gastric epithelial cells	International Journal of Oncology	23(5)	1301-1308	2003
Harada K, Mitaka T, Miyamoto S, Sugimoto S, Takeda H, Mochizuki Y, Hirata K	Rapid formation of hepatic organoid in collagen sponge by rat small hepatocytes and hepatic nonparenchymal cells	Journal of Hepatology	39(5)	716-723	2003
Sudo R, Mitaka T, Ikeda S, Sugimoto S, Harada K, Hirata K, Tanishita K, Mochizuki Y	Bile canalicular formation in hepatic organoid reconstructed by rat small hepatocytes and hepatic nonparenchymal cells	Journal of Cell Physiology	199(2)	252-261	2004
Baba S, Fujii H, Hirose T, Yasuchika K, Azuma H, Hoppo T, Naito M, Machimoto T, Ikai I	Commitment of bone marrow cells to hepatic stellate cells in mouse	Journal of Hepatology	40(2)	255-260	2004
Fujikawa T, Hirose T, Fujii H, Oe S, Yasuchika K, Azuma H, Yamaoka Y	Purification of adult hepatic progenitor cells using green fluorescent protein (GFP)- transgenic mice and fluorescence-activated cell sorting	Journal of Hepatology	39(2)	162-170	2003

Matsushita T, Ikai I, Nishitai R, Katsura N, Yamanokuchi S, Matsuo K, Sugimoto S, Shiotani T, Takahashi R, Terajima H, Yamaoka Y	Suppressed complement activation in human decay accelerating factor transgenic porcine liver cross-circulated with nonhuman primates	Transplantation	75(11)	1807-1812	2003
Azuma H, Hirose T, Fujii H, Oe S, Yasuchika K, Fujikawa T, Yamaoka Y	Enrichment of hepatic progenitor cells from adult mouse liver	Hepatology	37(6)	1385-1394	2003
Nishio T, Iimuro Y, Nitta T, Harada N, Yoshida M, Hirose T, Yamamoto N, Morimoto T, Brenner DA, Yamaoka Y	Increased expression of collagenase in the liver induces hepatocyte proliferation with cytoplasmic accumulation of beta-catenin in the rat	Journal of Hepatology	38(4)	468-475	2003
Oe S, Fukunaka Y, Hirose T, Yamaoka Y, Tabata Y	A trial on regeneration therapy of rat liver cirrhosis by controlled release of hepatocyte growth factor	Journal of Control Release	88(2)	193-200	2003
杉本真一、原田敬介、 三高俊広	肝幹細胞研究の現状 ー小型肝細胞ー	肝胆膵	46(3)	327-333	2003
三高俊広、杉本真一、 宮本茂樹	In Vitro における肝組織形成	最新医学	58(3)	708-718	2003

20030408

以降は雑誌/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。