

ンテッセンス 22、193-198、2003

- 8) 松下 祥:5 項目担当, 永田和宏、宮坂昌之、宮坂信之、山本一彦編:「分子生物学・免疫学キーワード辞典」第 2 版、医学書院(東京)、2003
- 9) 松下 祥、植村靖史、大山秀樹:分子擬態による T 細胞セルフトランスの破綻。BIO Clinica118、18-22、2003
- 10) 松下 祥:日本人の免疫系、佐藤方彦編:「日本人の事典」, 朝倉書店(東京) pp138-146、2003
- 11) 松下 祥:自己抗原の同定と合成ワクチンのデザイン。自己抗体と自己免疫' 03、株式会社医学生物学研究所(名古屋) pp43-50、2003
- 12) 松下 祥、植村靖史、大山秀樹:MHC 結合性ペプチドワクチン、松島綱治編:「分子予防環境医学」, 本の泉社(東京) pp715-726、2003
- 13) Nishimura, Y., Chen, Y-Z., Uemura, Y., Tanaka, Y., Tsukamoto, H., Kanai, T., Yokomizo, H., Yun, C., Matsuoka, T., Irie, A., and Matsushita, S. Degenerate recognition and response of human CD4+ Th cell clones: Implications for basic and applied immunology. Mol. Immunol. in press.
- 14) Matsushita, S., Ohyama, H., Kudo, H., Tabata, H. and Matsuoka, T. HLA-mediated signaling via HLA-peptide-TCR complex determines immune responses of antigen-presenting cells. Current Topics in Peptide & Protein Research., in press.
- 15) 松下 祥:抗原の処理と提示、烏山一編:「キーワードとイラストで理解する免疫学」, 羊土社(東京) 印刷中、2004
- 16) 松下 祥:抗原特異的免疫療法、「医学のあゆみ」連載「アレルギー疾患治療法の近未来」, 医歯薬出版(東京) 印刷中、2004
- 17) 松下 祥:免疫遺伝学、福田 健編:「総合アレルギー学」, 南江堂(東京) 印刷中、2004
- 18) 松下 祥:抗原認識、花岡炳雄編:「臨床分子細胞生物学」, メディカルレビュー社(東京) 印刷中、2004

2. 学会発表

- 1) 松下 祥:自己抗原の同定と合成ワクチンのデザイン。第 10 回「自己抗体と自己免疫シンポジウム」。東京、2003 年 3 月 8 日。
- 2) Matsushita, S. Designing peptide ligands to modify antigen recognition by T cells.
- 3) in Unzen Workshop on Immunoregulation and Autoimmunity. Nagasaki, March 16, 2003.
- 4) 松下 祥:ペプチド/非ペプチドワクチンとアレルギー。第 15 回日本アレルギー学会春季臨床大会シンポジウム「気管支喘息の新治療」。横浜、2003 年 5 月 13 日。
- 5) 松下 祥:免疫学・アレルギー学の基礎。第 24 回日本アレルギー学会認定医教育セミナー。東京、2003 年 8 月 31 日。
- 6) Matsushita, S., Matsuoka, T. and Ohyama, H. HLA restriction in allergen-dependent IgE production. "Genetics and IgE" in World Allergy Organization Congress - XVIII ICACI. Vancouver, September 9, 2003.
- 7) 松下 祥:逆転の発想:HLA は TCR 受容体である。日本歯周病学会第 29 回「若手研究者の集い」。新潟、2003 年 10 月 16 日。

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定も含む)

1. 取得:なし
2. 実用新案登録:なし
3. その他:なし

Figure 1

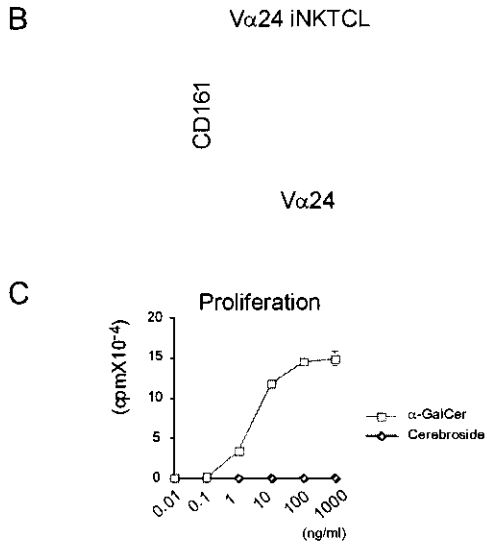
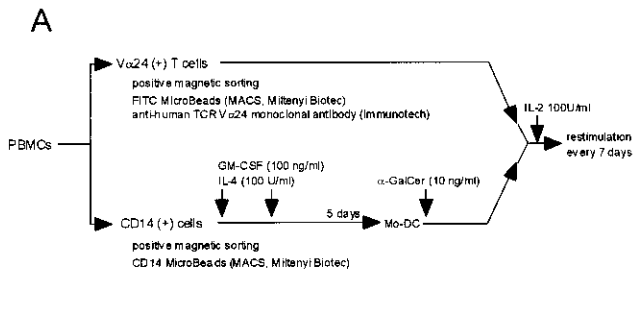


Figure 3

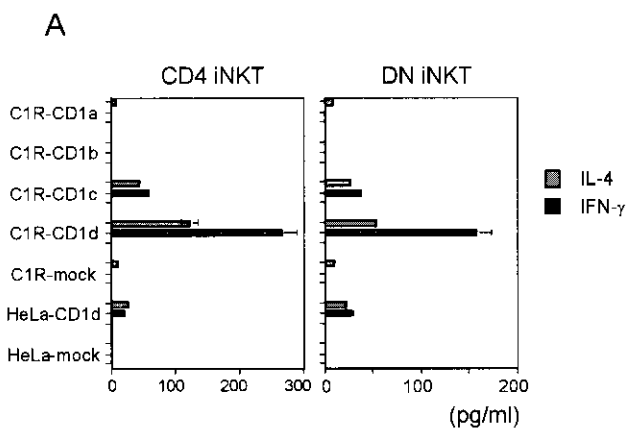


Figure 2

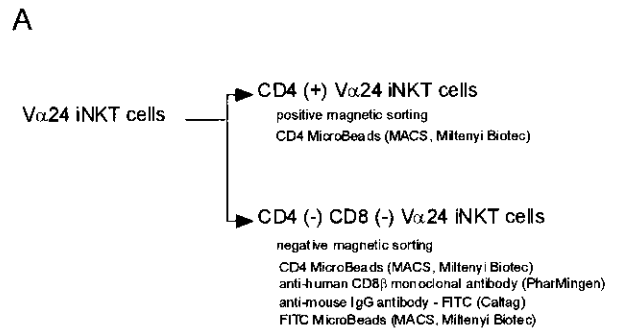


Figure 4

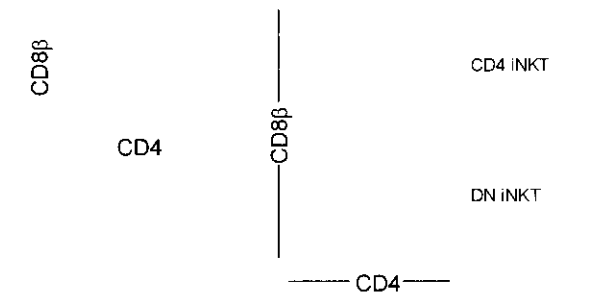


图5

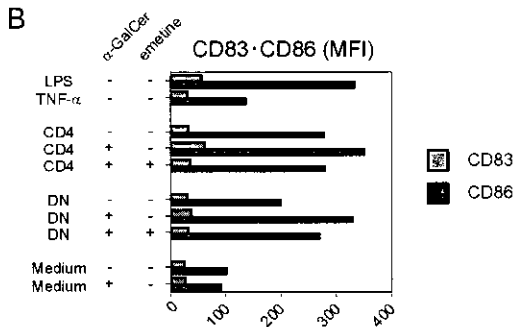
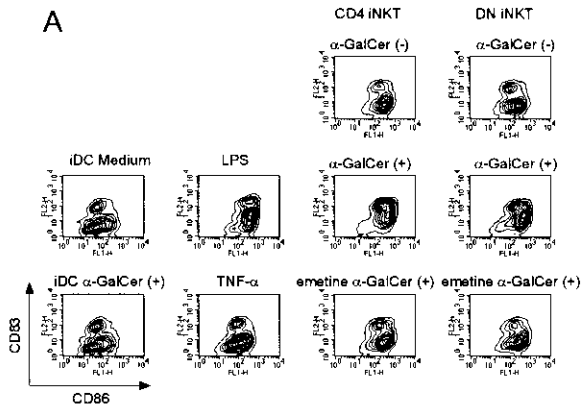


图6

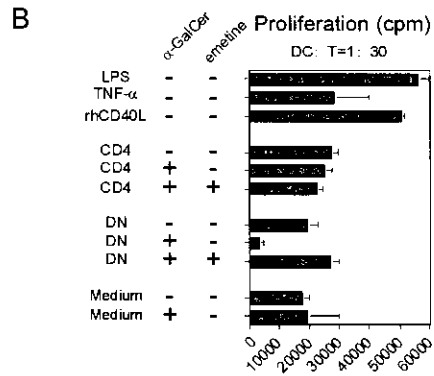
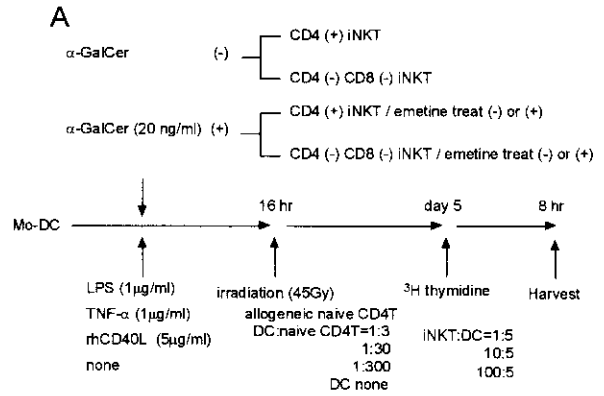
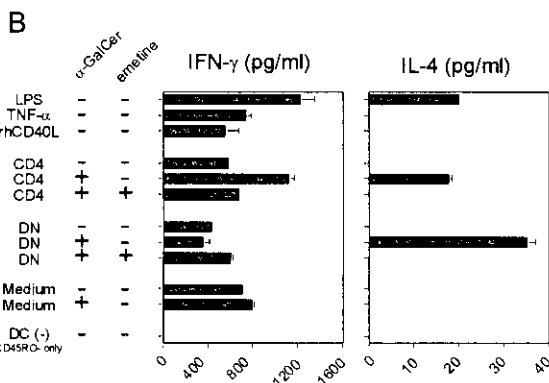
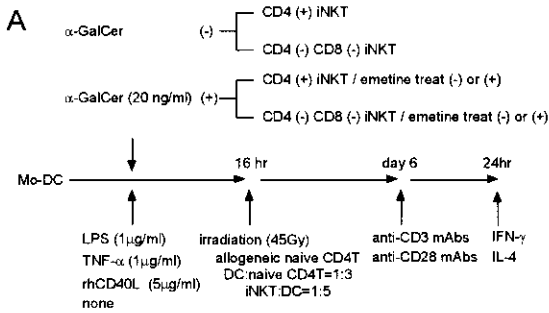


图7



厚生労働科学研究費補助金（肝炎等克服緊急対策研究事業）
分担研究報告書

抗原の経口投与により肝臓で誘導される新規免疫調節性T細胞の同定と
その誘導機序・臨床応用に関する研究

分担研究者 若月 芳雄 京都大学医学研究科 講師

研究要旨：肝臓の慢性炎症を成立・維持する細胞機序を解明し、将来の難治性自己免疫性肝炎の治療法の開発に向けた基礎的なデータを集積する目的で、抗原の特異性が明瞭なマウスモデルを用いて肝臓の免疫調節機序の一端を明らかにした。今回は主に、経口からの抗原投与により肝臓に新たな免疫調節性 CD4T 細胞が誘導されることを明らかにし、その誘導機序を検討した。今回の結果を基に、免疫学的機序でおこる肝障害モデルに、免疫寛容を肝臓で誘導することにより、肝障害が阻止できるか検討した。

A. 研究目的

肝臓には固有のリンパ系細胞が存在し、免疫調節に関わるがその詳細は不明である。肝臓は比較的移植に際して、免疫寛容が成立しやすく、また門脈を経て流入する抗原に対しても免疫寛容が成立する。肝における免疫寛容誘導機序を解析することにより、慢性炎症を抑制するような、新たな肝炎の治療法を開発するための基礎的なデータを得ることをこの研究の目的とする。

B. 研究方法

マウスに経口から卵白アルブミン（OVA）を投与し、OVA 特異的 CD4T 細胞の肝臓における動態を観察した。また抗原投与後の特異的 CD4T 細胞の *in vitro*, *in vivo* における機能を評価する。肝臓から T 細胞、抗原提示細胞を単離して、免疫寛容が起こるため細胞機序を明らかにする。以上の研究結果をもとにして、肝炎モデル（ConA 肝炎、Liposome に包埋された OVA を OVA 特異的 CD4T 細胞を有するマウスに経静脈的に投与して誘導される肝炎）に応用して、肝細胞障害を防止できるか検討する。

C. 研究結果

経口からの抗原投与により肝臓で抗原特異的 CD4T 細胞の活性化がおこり、FasL の発現増強がおこる。その結果、Fas 陽性 T 細胞のアポトーシスが招来され、その結果 投与抗原特異的な CD4+/FasL+T 細胞が肝臓で選択された。この細胞は *in vitro* で抗原非特異的な T 細胞の増殖を抑制するとともに、活性化により、多量の IL-4, TGF-beta, IL-10 を産生した。

この細胞を移入することにより、全身性の遅延型免疫反応が抑制された。この抑制性の CD4T 細胞

の誘導には、肝臓に存在する CD11c+classII+ 細胞が必要である。

D. 考察

経口から投与された蛋白性抗原が抗原活性を失わずに肝臓に到達し、肝臓で抗原特異的な CD4 T 細胞を活性化し得ることが判明した。活性化に伴い、肝臓に特異的な遅延性のアポトーシスが起これ、その結果免疫抑制性の CD4T 細胞が選択された。免疫抑制機序は抗原非特異的であるため、炎症惹起性抗原が不明な肝炎においても、肝炎阻止効果が期待できることが示唆された。免疫学的にも二次性リンパ臓器における免疫寛容の獲得機構の一端を明らかにした研究と考えられる。

E. 結論

肝臓で新たな免疫抑制性の CD4 T 細胞が誘導される機序を明らかにした。慢性肝炎の成立維持機構の解明、あるいは、新たな肝炎治療法の開発のための基礎的データが得られた。

F. 健康危険情報 該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Tomohiro Watanabe, Hiroaki Katsukura, Yasuhiko Shirai, Masashi Yamori, Toshiki Nishi, Tsutomu Chiba, Toru Kita, and Yoshio Wakatsuki: A liver tolerates to a portal antigen by generating CD11c+ cells which select FasL+Th2 cells via apoptosis. *Hepatology* 2003, 38:403-412

2. 学会発表

米国消化器病学会学術週間
(Orlando, 2003, May 17~22)

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得:なし
2. 実用新案登録:なし
3. その他:なし

「PBC動物モデルの開発とそれを用いた胆道傷害機序の解析・治療法開発」に関する研究

分担研究者 松口 徹也 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 教授

研究要旨：PBC発症の病態に細菌感染の関与が提唱されている。肝内リンパ球のうちNKT細胞は特徴的に高いToll-like receptor (TLR) 2の発現を示し、そのリガンドに刺激によって細胞表面FasLの発現が誘導された。またこの肝内NKTにおけるFasLの発現はマウス腹腔細菌感染モデルにおける肝障害の原因として重要なことが明らかとなった。さらに、最近作成した、Cot/Tpl2キナーゼのKOマウスはTh1優位な抗原特異的免疫反応を示し、PBC動物モデルとして有望と考えられた。

A. 研究目的

PBCの正確な発症機構は不明であるが、最近の複数の報告で細菌感染とPBCとの関連が指摘されており、病原体パターン認識レセプターであるToll-like receptor (TLR)からのシグナルがPBCの発症メカニズムへ関与している可能性も考えられる。本研究では肝内リンパ球画分におけるTLRの発現パターンとその肝障害誘導における役割を解析し、また、同時に、PBC治療法開発に向けてのマウス病態モデルの開発を目指した。

B. 研究方法

PBC発症における病原体感染の関与（特にTLRシグナルの関与）を解析する目的で、1) C57BL/6マウス肝内リンパ球を抗体標識によるセルソーティングにより分画し、それぞれの画分におけるTLR遺伝子発現を比較した。2) TLR2発現の高かった肝内NKT細胞をTLR2リガンドである合成リポペプチドで刺激し、その反応性を解析した。3) TLR2KOマウス、FasL欠損 (*gld/gld*) マウスおよびNKT欠損マウス (Ja281^{-/-}) を用いて細菌感染後の肝障害の程度をコントロールマウスと比較検討した。

また、PBC動物モデル開発に向けて、4) セリンスレオニンキナーゼの一つであるCot/Tpl2キナーゼのノックアウトマウスを作成し、そのTh1タイプ優位の抗原特異的免疫反応について免疫グロブリンサブセットやサイトカイン濃度の解析を行った。

C. 研究結果

1) マウス肝内リンパ球各分画のうち、TLR2の遺伝子発現は、T細胞やNK細胞に比してNKT細胞に著明に高い発現を認めた。

2) 肝内NKT細胞はTLR2のリガンドである合

成リポペプチドの刺激によりFasL発現の著明な増加を示したが、TLR4のリガンドであるLPS刺激によってもFasL発現に変化は見られなかった。

3) TLR2KOマウス、FasL欠損 (*gld/gld*) マウスおよびNKT欠損マウス (Ja281^{-/-}) それぞれにおいて、*E. coli* もしくは *S. choleraesuis* 腹腔内感染における血清トランスアミナーゼ値の上昇は、コントロールマウスと比べて有意に減弱していた。

4) Cot/Tpl2^{-/-}マウスからのマクロファージおよび樹状細胞は、TLRリガンドによる刺激によってコントロールマウスと比較して著明に高いIL-12産生能を示した。また、Cot/Tpl2^{-/-}マウスは卵白アルブミン (OVA) 感作後に抗原特異的にTh1優位な免疫反応 (IgG2a 優位な免疫グロブリンサブセットプロファイル、高IFN・血清濃度) を示した。

D. 考察

PBCの正確な発症機構は不明であるが、慢性のクラミジア感染やエンドトキシンとPBCとの関連を指摘する報告も複数認められている。また、ピルビン酸脱水素酵素複合体 (PDC) に対するTh1優位な抗原特異的免疫反応の病態への関与も指摘されている。各種感染症において病原体関連分子パターン (PAMP) は、最近発見された一群のTLRsによって認識され、そこからのシグナルはその後の抗原特異的免疫反応の質・量的コントロールに重要な役割を果たすことが明らかになってきた。よってPBC発症におけるTLRシグナルの関与は検討に値する。今回我々の研究によって肝内に多く認められるNKT細胞は特徴的に高いTLR2を発現し、そのリガンド刺激依存性にFasLを発現することによって細菌感染による肝障害に必須な役割を果たす。この現象とPBCの病態との関連を明

らかにすることで、PBC の画期的治療への手掛かりを掴める可能性がある。

また、PBC の研究が進みにくい理由の一つとして明確な動物モデルが存在しなかったことがあげられ、適切なPBC病態モデルの開発が急務である。今回我々の作成した Cot/Tpl2^{-/-}マウスはTLR刺激によるIL-12産生の亢進と、Th1優位な抗原特異的免疫反応を示し、PBCモデルマウスとして有望と考える。今後PBC感作による胆道障害等について多方面から検討していく予定である。

E. 結論

マウス肝内リンパ球画分のうち、NKT細胞は特徴的に高いTLR2発現レベルを示し、そのリガンド刺激依存性に細胞表面FasLの発現が誘導された。マウス腹腔細菌感染による肝障害モデルにおいて、肝内NKTにおけるFasLの発現は細菌感染によって誘導される肝障害の原因として必須な役割を果たしていた。また、Cot/Tpl2^{-/-}マウスはTh1優位な抗原特異的免疫反応を示し、PBC動物モデルとして有望と考えられた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Matsuguchi, T., Masuda, A., Sugimoto, K., Nagai, Y., Yoshikai, Y. : JNK-interacting protein 3 associates with Toll-like receptor 4 and is involved in LPS-mediated JNK activation. *EMBO J.*, 22, 4455-4464, 2003
- 2) Hiromatsu, T., Matsuguchi, T., Shimizu, H., Yajima, T., Nishimura, H., Arai, T., Yoshikai, Y. : NKT cells stimulated with a ligand for TLR2 at least partly contribute to liver injury caused by *Escherichia coli* infection in mice. *Eur. J. Immunol.* 33, 2511-2519, 2003.
- 3) Musikacharoen T, Yoshikai Y, Matsuguchi T. : Histone acetylation and activation of CREB regulate transcriptional activation of MKP-M in LPS-stimulated macrophages. *J Biol Chem.* 278, 9167-9175. 2003

- 4) Matsuguchi, T., Takagi, A., Matsuzaki, T., Nagaoka, M., Ishikawa K., Yokokura, T., Yoshikai, Y. : Lipoteichoic Acid of *Lactobacillus* Elicits Strong TNF α -inducing Activity on Macrophages through Toll-like Receptor 2. *Clin Diagn Lab Immunol.* 10, 259-266, 2003. PMID: 12626452
- 5) Hiromatsu, T., Yajima, T., Matsuguchi, T., Nishimura, H., Wajjwalku, W., Arai, T., , Nimura, Y., Yoshikai, Y. : Overexpression of IL-15 protects against *Escherichia coli*-induced shock accompanied by inhibition of TNF- α -induced apoptosis. *J. Infectious Disease.* 187, 1442-1451, 2003. PMID: 12717626
- 6) Kikuchi, T., Yoshikai, Y., Miyoshi, J., Katsuki, M., Mitani A., Tanaka S., Noguchi, T. Matsuguchi, T. : Cot/Tpl2 is essential for RANKL induction by lipid A in osteoblasts. *J. Dental Res.* 82, 546-550, 2003.

2. 学会発表

- 1) 松口徹也 : 微生物リガンドに対する生体応答の分子基盤 日本生体防御学会 シンポジウム 京都 2003
- 2) 杉本憲治、吉開泰信、松口徹也 : Cot/Tpl2のサイトカイン産生プロファイルと適応免疫への関与の検討 日本免疫学会 福岡 2003
- 3) 今西貴之、松口徹也 : AP-2複合体によるTLR2細胞表面発現の調節機構 日本免疫学会 福岡 2003
- 4) 安部哲也、新井利幸、小川敦史、広松孝、増田章男、二村雄次、松口徹也、吉開泰信 : 閉塞性黄疸ではクッパー細胞からのサイトカイン産生が変化し感染排除能が低下する 日本免疫学会 福岡 2003

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得 : なし
2. 実用新案登録 : なし
3. その他 : なし

肝細胞移植法の開発

分担研究者 兼松 隆之 長崎大学大学院病態解析・制御学講座 移植・消化器外科 教授

研究要旨： 進行した原発性胆汁性肝硬変に対し、肝組織の再構築を目指し、肝細胞と肝 progenitor cell を移植する治療法について検討した。まず、摘出肝から組織再生に關与する stem cell factor の存在について免疫組織学的に検討した。原発性胆汁性肝硬変と末期肝硬変には明らかな差は認められなかった。一方、末期肝硬変から分離した細胞分画中に progenitor cell の出現と長期生存を認めた。原発性胆汁性肝硬変にも同様のことが期待され、progenitor は存在するがでてこない環境にあるものと考えられた。外因的な progenitor あるいは肝細胞の投与がこの環境を改善させる可能性が示唆された。

共同研究者：

蒲原行雄 長崎大学医学部歯学部附属病院助手
川下雄丈 長崎大学医学部歯学部附属病院助手
渡海大隆 長崎大学医歯薬総合大学院院生
日高匡章 長崎大学医歯薬総合大学院院生
藤岡ひかる 国立病院長崎医療センター

A. 研究目的

原発性胆汁性肝硬変は中年女性に好発する原因不明の疾患で、いったん肝硬変に進行すれば唯一肝移植しか有効な治療法が残されていない難治性の疾患である。しかし、肝移植は深刻なドナー不足に有り移植施行まで待てない症例も多数存在する。この現状をふまえ、肝機能・肝再生の担い手である肝細胞や肝progenitor cellを細胞移植する方法について検討を行った。

B. 研究方法

1. 肝細胞移植あるいは肝幹細胞移植による治療法の開発にむけて、原発性胆汁性肝硬変（PBC）肝移植症例の摘出肝を以下の点について検討した。

- 1) 肝の崩壊および再生能
- 2) 肝細胞のprogenitor cellの存在状況を検索方法) HE、PCNAおよびstem cell markerによる免疫染色法（c-kit, CD34）対照として肝硬変・劇症肝炎による肝移植症例の摘出肝を用い比較検討した。

2. 移植をうけた臨床症例の検討

当院で生体肝移植をうけ健存中の3症例について免疫抑制剤・血清学的再発・組織学的再発につ

いて検討した。

C. 研究結果

HE・PCNA染色では各種疾患群に明らかな差を見いだせなかった。stem/progenitor cellはc-kit, CD34について検討を行ったが、PBC症例では肝硬変症例と同等に中等度の大きさの胆管に発現が認められた。一方、劇症肝炎の中でも長期経過をとった症例ではstem cell markerの発現が高度であった。

3) 移植をうけた臨床症例の検討

生存中の3例（男性2例、女性1例）では全例術前と同じタイプの抗ミトコンドリア抗体が上昇したが肝生検を行った2例では組織学的な再発は認められなかった。

D. 考察

肝不全において比較的強い再生刺激を一定期間うける状況でstem/progenitor cellの集積が期待されると思われる。また、肝硬変症例から分離した非実質細胞分画からprogenitor cell様細胞が認められ、PBC症例でも周囲環境から細胞を隔離してやることでprogenitor cellを活用できる可能性が示唆された。今後、PBC症例に分離したprogenitor cellを移植する可能性の検討が必要である。また、免疫反応として移植した肝臓への攻撃がないことからPBC肝内への肝細胞、stem/progenitor cell移植による肝再構築の可能性が期待される。これらを次年度研究にて検討したい。

E. 結論

進行した原発性胆汁性肝硬変に対し、肝組織の再構築を目指し、肝細胞と肝progenitor cellを移

植する治療法について検討した。摘出肝から組織再生に關与するstem cell factorの存在について免疫組織学的に検討した結果、原発性胆汁性肝硬変と末期肝硬変には明らかな差は認められなかった。一方、末期肝硬変から分離した細胞分画中にprogenitor cellの出現と長期生存を認めた。原発性胆汁性肝硬変にも同様のことが期待され、progenitorは存在するがでてこれない環境にあるものと考えられた。外因的なprogenitorあるいは肝細胞の投与がこの環境を改善させうる可能性が示唆された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Ahmad TA, Fujioka H, Eguchi S, Yanaga K, Kamohara Y, Furui J, Kanematsu T.: Long-term effect of hepatocyte transplantation on fulminant hepatic failure in rats. Hepatogastroenterology. 2003 Mar-Apr; 50 (50): 467-71.
- 2) Hou Z, Yanaga K, Kamohara Y, Eguchi S, Tsutsumi R, Furui J, Kanematsu T.: A new suppressive agent against interleukin-1 beta and tumor necrosis factor-alpha enhances liver regeneration after partial hepatectomy in rats. Hepatol Res. 2003 May;26(1):40-46.
- 3) Fujita F, Yamashita-Futsuki I, Eguchi S, Kamohara Y, Fujioka H, Yanaga K, Furui J, Moriuchi R, Kanematsu T, Katamine S.: Inactivation of porcine endogenous retrovirus by human serum as a function of complement activated through the classical pathway. Hepatol Res. 2003 Jun;26 (2):106-113.

2. 学会発表

- 1) 日高匡章、蒲原行雄、杉山 望、渡海大隆、伊藤雄一郎、高槻光寿、宮本俊吾、川下雄丈、奥平定之、兼松隆之
劇症肝不全における progenitor cell の存在
- 摘出肝を用いた細胞分離の試み -
第9回九州肝不全研究会

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得：なし
2. 実用新案登録：なし
3. その他：なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

末期肝硬変に対する遺伝子組み換え型ヒトHGFの臨床応用

分担研究者 坪内 博仁 宮崎大学医学部内科学第二講座 教授

研究要旨：進行した原発性胆汁性肝硬変に対する肝細胞増殖因子（hepatocyte growth factor; HGF）を用いた肝再生療法の確立を目的として、遺伝子組み換え型ヒトHGFの前臨床試験を行った。Dimethylnitrosamine (DMN)にて誘導した肝硬変ラットに遺伝子組み換え型ヒトHGFを静脈内投与したところ、組織学的に肝線維化が軽減し、肝重量、血清アルブミン値が増加した。肝硬変ラットにおける遺伝子組み換え型ヒトHGF静脈内投与における薬理動態を検討したところ、肝硬変ラットでは血中ヒトHGF濃度が上昇し、血中消失も遷延する傾向がみられた。一方、HGF治療を行った肝硬変ラットでは無治療の肝硬変ラットに比して血中ヒトHGF濃度は低下した。また、遺伝子組み換え型ヒトHGF静脈内投与後の組織分布を検討したところ、最大の標的臓器は肝臓であったが、その他、脾臓、副腎、腎臓にも移行し、遺伝子組み換え型ヒトHGFの投与によって尿中アルブミンが出現した。遺伝子組み換え型ヒトHGFの静脈内投与において、その腎毒性軽減にはHGFの除放化または肝選択的投与を可能とするドラッグデリバリーシステムの開発が必要と考えられた。

共同研究者：

井戸章雄 京都大学探索医療センター助教授
宇都博文 宮崎大学医学部第二内科助手
蓮池 悟 宮崎大学医学部第二内科医員
楠元寿典 宮崎大学医学部第二内科大学院生

A. 研究目的

原発性胆汁性肝硬変は中年女性に好発する原因不明の疾患で、いったん肝硬変に進行すれば唯一肝移植しか有効な治療法が残されていない難治性の疾患である。一方、肝細胞増殖因子（hepatocyte growth factor: HGF）は最も強力な肝再生因子として劇症肝炎患者血漿から単離・精製された増殖因子で、上皮系細胞に対する増殖促進作用のみならず、抗線維化作用、抗アポトーシス作用など多彩な作用を有している。本研究では末期肝硬変に対する遺伝子組み換え型ヒトHGFを用いた肝再生・抗線維化療法の確立を目的として、その前臨床試験を行った。

B. 研究方法

1. ラットに dimethylnitrosamine (DMN) (10 mg/kg)を週3回、4週間腹腔内投与し肝硬変を作製した。Phosphate buffered saline (PBS) または遺伝子組み換え型ヒトHGF 0.3 mg/kgをDMN投与第1~4週に1日1回（対照(I)またはHGF(I)）またはDMN投与第3~4週に1日2

回（対照(II)またはHGF(II)）、静脈内投与し、肝重量、血清アルブミン、血清ALT、肝組織中hydroxyproline (HP)、肝組織中TGF- β 、尿中アルブミンに及ぼす影響を検討した。

2. 正常またはDMN誘導肝硬変ラットに遺伝子組み換え型ヒトHGF 0.1 mg/kgを静脈内投与し、血中ヒトHGF濃度の経時変化および組織濃度を検討した。

C. 研究結果

1. 遺伝子組み換え型ヒトHGFの肝再生促進効果
HGF投与群では肝重量が増加し、血清アルブミンは上昇した（表1）。特にDMN投与第3~4週に2/日静脈内投与したHGF(II)群では統計学的有意差をもって肝重量増加と血清アルブミン上昇が誘導された。
2. 遺伝子組み換え型ヒトHGFの肝線維化抑制作用
HGF投与群では組織学的に肝線維化の改善が認められたが、肝組織中HPおよびTGF- β は減少しているものの統計学的に有意差がみられなかった。
3. 正常および肝硬変ラットにおける遺伝子組み換え型ヒトHGFの薬理動態
正常ラットに遺伝子組み換え型ヒトHGF (0.1 mg/kg)を静脈内投与すると投与5分後の血清ヒトHGFは 89.7 ± 20.6 ng/mlで、半減期は2.4

分であった。一方、DMN 誘導肝硬変ラットにおける投与 5 分後の血清ヒト HGF 濃度は 255.4 ± 181 ng/ml と上昇したが、HGF(I)群では 170.0 ± 96.2 ng/ml と減少した。

4. 遺伝子組み換え型ヒト HGF の静脈内投与における組織分布

正常ラットにおける遺伝子組み換え型ヒト HGF 投与 5 分後の組織中ヒト HGF 濃度を測定したところ、肝臓 290.2 ± 38.2、脾臓 582.2 ± 205.0、副腎 278.1 ± 114.1、腎臓 101.3 ± 19.3、肺 16.2 ± 3.2 (ng/g 湿重量)であった。

5. 肝硬変ラットにおける遺伝子組み換え型ヒト HGF の腎毒性

HGF(I)群ではHGF投与第1週(DMN投与第1週)から軽度のアルブミン尿(100 mg/日以下)が出現し、第2~3週に170~340 mg/日に増加したが、第4週には86~170 mg/日に減少した。一方、HGF(II)群ではHGF投与第1週(DMN投与第3週)から140~200 mg/日のアルブミン尿が出現し、投与第2週には700~970 mg/日に著増した。しかし、いずれの群においてもBUN/クレアチニンが上昇した個体は見られなかった。

D. 考察

DMN 誘導肝硬変に遺伝子組み換え型ヒト HGF を静脈内投与したところ、肝重量の増加と血清アルブミン上昇が認められ、肝再生が促進された。一方、組織学的には肝線維化が改善し、肝組織中 HP も減少したが、統計学的有意差は認められなかった。また、遺伝子組み換え型ヒト HGF の薬理動態では、DMN 肝硬変ラットでは血中ヒト HGF 濃度が上昇し、ヒト HGF 治療をうけた肝硬変ラットでは血中ヒト HGF 濃度は非治療群に比して減少したものの、正常ラットよりは依然高濃度であった。遺伝子組み換え型ヒト HGF の組織分布の検討から HGF の最大の標的臓器は肝臓と考えられることから、肝硬変ラットにおけるヒト HGF 濃度上昇は線維化による肝細胞減少を反映していることが考えられ、HGF 投与を受けた肝硬変ラットでは肝再生が促進され、肝細胞数の増加に伴い血中 HGF 濃度が減少したものと考えられた。遺伝子組み換え型ヒト HGF の一般毒性では腎毒性が問題となるが、肝硬変ラットへの投与でもアルブミン尿が出現し、投与量の増大(0.3 mg/kg x 2/日)でアルブミン尿は増強した。

E. 結論

肝硬変に対して遺伝子組み換え型ヒト HGF の静脈内投与が肝再生を促進し、線維化を抑制することが示されたが、遺伝子組み換え型ヒト

HGF のクリアランスが低下し、尿中アルブミンも出現した。遺伝子組み換え型ヒト HGF の静脈内投与では肝臓のみならず、腎臓、脾臓などにも多く移行するため、その毒性減少には肝臓選択的もしくは除放化を可能とするドラッグデリバリーシステムの開発が必要と考えられた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Moriuchi A, et al. A CRE and the region occupied by a protein induced by growth factors contribute to up-regulation of cyclin D1 expression in hepatocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 300, 415-421, 2003.
- 2) Onaga M, et al. Osteoactivin, expressed during cirrhosis development in rats fed a choline-deficient, L-amino acid-defined diet, accelerates motility of hepatoma cells. *J Hepatol* 39, 779-785, 2003.
- 3) Tahara Y, et al. Hepatocyte growth factor facilitates colonic mucosal repair in experimental ulcerative colitis in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 307, 146-151, 2003.
- 4) Onaga M, et al. Enhanced expression of growth factors and imbalance between hepatocyte proliferation and apoptosis in the livers of rats fed a choline-deficient, L-amino acid-defined diet. *Hepatol Res* 28, 94-101, 2004.
- 5) 井戸章雄 他. 肝疾患の分子生物学—治療への応用— HGF を用いた肝再生療法. *最新医学* 58, 2023-2029, 2003.
- 6) 坪内博仁 他. 肝幹細胞研究の現状—肝発生と再生時の HGF. *肝胆膵* 46, 303-309, 2003.

2. 学会発表

- 1) 井戸章雄 他. 肝細胞増殖因子 (HGF) による消化器疾患の再生医療. 第 89 回日本消化器病学会総会 2003 年 4 月 24 日.
- 2) 井戸章雄 他. 肝再生を目的とした肝細胞増殖因子 (HGF) の臨床応用. 第 7 回日本肝臓学会大会 2003 年 10 月 16 日.
- 3) 蓮池悟 他. HGF により誘導される Solt Farber Model ラット肝における遺伝子・蛋白の発現変動の網羅的解析. 第 7 回日本肝臓学会大会 2003 年 10 月 16 日.
- 4) Hasuike S, et al. Hepatocyte growth factor accelerates differentiation of hepatic oval

cells in a 2-acethylaminofluorene/partial hepatectomy model in rat. 54th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases. 2003年10月25日.

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得：なし
2. 実用新案登録：なし
3. その他：なし

表 1

	肝重量 (/100g 体重)	血清アルブミン (g/dl)	血清 ALT (IU/L)	肝 HP (\cdot mol/g 湿重量)	肝 TGF- β (mmol/g 湿重量)
対照 (I)	3.58 \pm 0.86	2.16 \pm 0.30	87.0 \pm 27.4	3.00 \pm 1.55	26.7 \pm 8.0
HGF (I)	3.92 \pm 0.43	2.34 \pm 0.19	78.4 \pm 18.6	2.30 \pm 1.16	21.8 \pm 6.0
対照 (II)	3.69 \pm 0.60*	2.26 \pm 0.16#	81.3 \pm 24.5	2.69 \pm 0.93	34.3 \pm 12.0
HGF (II)	4.65 \pm 0.55*	2.93 \pm 0.18#	65.9 \pm 11.9	2.32 \pm 0.71	24.5 \pm 4.6

* $p < 0.01$, # $p < 0.001$

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

ヒト造血組織由来幹細胞の多能性、可塑性解析と肝再生の応用に関する研究

分担研究者 石川 文彦 九州大学医学研究院病態修復内科学 特別研究員

研究要旨：近年明らかにされつつある、幹細胞の可塑性、多能性について、難治性肝疾患への画期的治療となりうるかについて検討を加える。幹細胞の中でも特に造血組織由来幹細胞は、十分な細胞数を得ることが比較的容易である。われわれは、CD34+CD38-のヒト造血幹細胞分画を用いて、異種となる免疫不全マウス体内で、肝細胞および胆管細胞への分化能力を検討した。その結果、4ヶ月以上の長期に渡って、ヒト造血幹細胞由来肝細胞および胆管細胞がレシピエントマウス肝内に認められた。肝細胞は少なくともアルブミン産生能を有していることが mRNA レベルとタンパクレベルにおいて確認されたため、合成能と言う点で機能的である。このようにして発見された、ヒト造血組織由来幹細胞の多能性が、将来の治療法として確立するかについて、今後検討を加える。

A. 研究目的

近年、骨髄由来幹細胞を用いた可塑性、多能性が明らかにされてきた。われわれは、まず、ヒト骨髄細胞を用いて肝臓を構成する肝細胞や胆管細胞への分化能力を示し、将来的に原発性胆汁性肝硬変や自己免疫性肝炎に対して、骨髄細胞による再生能力が画期的治療となるかどうかについて検討したいと考えた。

B. 研究方法

ヒト臍帯血細胞より、造血幹細胞を多く含む CD34 陽性分画を免疫ビーズ法により純化し、それらの細胞の純度をフローサイトメトリー法によって確認する。

さらに、これらの臍帯血由来造血幹細胞分画を免疫不全マウスの新生児へと経静脈的または経皮肝内へ移植、輸注する。レシピエントである免疫不全マウスは、NOD/SCID であるために成熟 T 細胞および B 細胞が欠損しており、さらに $\beta 2$ ミクログロブリンノックアウトマウスをバッククロスして作製したマウスを使うことで NK 細胞活性を極めて低下させることに成功した。そのため、異種となるヒト造血細胞を拒絶する機能も極めて低い。このレシピエントマウスが新生児から成熟する過程で、肝組織の増大とともに構成する肝細胞や胆管細胞へと分化するかについて、RT-PCR, FISH, Western blot 法によって解析を行う。

C. 研究結果

免疫ビーズ法によって純化した臍帯血由来ヒ

ト CD3 4 陽性細胞の純度は、90%以上であった。これらの細胞を移植したマウスは、2-4ヶ月後にまず、フローサイトメトリーによって、ヒト細胞の生着率を解析した。異種となるヒト細胞は、骨髄、末梢血、脾臓、リンパ節、胸腺の各造血、免疫組織において高率な生着を認めた。さらに、肝組織を解析すると、固定組織において、ヒト X 染色体を有する肝細胞および胆管細胞を認めた。特異性、再現性を確認するために、mRNA レベルでのヒト特異的アルブミンの産生を確認したところ、レシピエントマウスのみを求めるバンドを検出し、その RT-PCR 産物をシーケンス解析したところ、既知のヒトアルブミン配列と 100%一致した。また、Western blot 法においても、同様な解析を行った結果、ヒトアルブミンの産生がレシピエントマウスにおいてのみ認められた。

D. 考察

純化した造血幹細胞を *in vivo* で定量的評価を行うことおのできるアッセイ系を確立して、それを用いて肝における多分化能および可塑性を評価することに成功した。

E. 結論

ヒト造血幹細胞は、*in vivo* において、肝細胞および胆管細胞に分化する、少なくとも bi-lineage な分化能を有することが証明された。肝細胞については、合成能について機能的であることが証明されたが、胆管細胞についての機能の証明は困難である。今後、治療法とし

て成立するかについての検討が必要である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Ishikawa F, et al.: Human cord blood long-term engrafting cells are CD34⁺ CD38⁻. Leukemia 2003;17(5):960-964

2) Ishikawa F, Harada M. et al. “Transplanted human cord blood cells give rise to hepatocytes in engrafted mice”. Annals of NY Academy of Sciences 2003;996:174-185

2. 学会発表

- 1) 石川文彦、小川真紀雄、原田実根
“ヒト造血組織由来肝細胞の再生”
第64回日本血液学会奨励賞受賞

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得

新生児ほ乳動物を用いた再生型臓器の作製法

（平成14年11月17日出願）

（平成15年11月18日PCT出願）

2. 実用新案登録：なし

3. その他：なし

研究成果の刊行に関する一覧表

	著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
1	Shinji Shimoda, Akiyoshi Nishio, Hiromi Ishibashi and M. Eric Gershwin	Primary Biliary Cirrhosis Bench to Bedside.	Gianfranco Alpini, Domenico Alvaro Marco Marziani Gene LeSage, Nicholas LaRusso	The Pathophysiology of the Biliary Epithelia	LANDES BIOSCIENCE, GEORGETOWN, EUREKAH.COM	AUSTIN	2003	330-348
2	大黒 学, 石橋大海	原発性胆汁性肝硬変 (PBC), 原発性硬化性胆管炎 (PSC)	高久史磨総監修	外来診療のすべて 改訂第3版	メディカルレビュー社	東京	2003	442-443
3	市田隆文	生体肝移植-EBMから将来へ-	第7回大塚リバーシンポジウム	第7回大塚リバーシンポジウム記録 Vol. VII 肝疾患研究の新しい展開	メディカルレビュー社	東京	2003	81-89
4	山際 訓 市田隆文	C型慢性肝疾患における肝臓内リンパ球の変動	犬山シンポジウム記録刊行会編	B型・C型肝炎の病態と治療	アークメディア	東京	2003	101-108
5	市田隆文	原発性胆汁性肝硬変	監修:下條文武、齋藤康/編集主幹:辻省次、浅香正博、一山智、清水栄治、相澤義房、小川敏英、佐々木毅、上田孝典、山内豊明	ダイナミックメディスン4	西村書店	新潟	2003	(15-39) -(15-41)
6	松下 祥、松岡多香子、大山秀樹	抗原提示細胞	狩野庄吾、中川武正編	アレルギー・リウマチ・膠原病の最新医療	先端医療技術研究所	東京	2003	22-27
7	松下 祥	日本人の免疫系	佐藤方彦編	日本人の事典	朝倉書店	東京	2003	138-146
8	松下 祥	自己抗原の同定と合成ワクチンのデザイン		自己抗体と自己免疫	株式会社医学微生物学研究所	名古屋	2003	43-50
9	松下 祥、植村靖史、大山秀樹	MHC 結合性ペプチドの分子予防医学への応用	松島綱治編	分子予防環境医学	本の泉社	東京	2003	715-726

雑誌

	発表者	論文タイトル	発表誌	巻号	ページ	出版年
1	Tanimoto H, Shimoda S, Nakamura M, Ishibashi H, Kawano A, Kamihira T, Matsushita S, Gershwin ME, Harada M	Promiscuous T cells selected by <i>Escherichia coli</i> : OGDC-E2 in primary biliary cirrhosis.	Journal of Autoimmunity	20(3)	255-263	2003
2	Masuda J, Omagari K, Ohba K, Hazama H, Kadokawa Y, Kinoshita H, Hayashida K, Hayashida K, Ishibashi H, Nakanuma Y, Kohno S	Correlation between histopathological findings of the liver and IgA class antibodies to 2-oxo-acid dehydrogenase complex in primary biliary cirrhosis.	Digestive Diseases Sciences	48(5)	932-938	2003
3	Shimoda S, Nakamura M, Ishibashi H, Kawano A, Kamihira K, Sakamoto K, Matsushita S, Tanaka A, Worman HJ, Gershwin ME, Harada M	Molecular mimicry of mitochondrial and nuclear autoantigens in primary biliary cirrhosis.	Gastroenterology	124(7)	1915-1925	2003
4	Kamihira T, Shimoda S, Harada K, Kawano A, Handa M, Baba E, Tsuneyama K, Nakamura M, Ishibashi H, Nakanuma Y, Gershwin ME, Harada M	Distinct costimulation dependent and independent autoreactive T-cell clones in primary biliary cirrhosis.	Gastroenterology	125(5)	1379-1387	2003
5	Ishibashi H., Nakamura M, Shimoda S, Gershwin ME	T cell immunity and primary biliary cirrhosis.	Autoimmunity Reviews	2(1)	19-24	2003
6	Kazufumi Dohmen, Toshihiko Mizuta, Makoto Nakamura, Naoya Shimohashi, Hiromi Ishibashi, Kyosuke Yamamoto	Fenofibrate for patients with asymptomatic primary biliary cirrhosis.	World J Gastroenterol	10(6)	894-898	2004
7	Nobuyoshi Fukushima, Greg Nalbandian, Judy Van de Water, Kandra White, Aftab A. Aasari, Patrick Leung, Thomas Kenny, Shizuo G. Kamita, Bruce D. Hammock, Ross L. Goppel, Freida Stevenson, Hiromi Ishibashi, M. Eric Gershwin	Characterization of Recombinant Monoclonal IgA Anti-PDC-E2 Autoantibodies Derived From Patients With PBC	HEPATOLOGY	36(6)	1383-1392	2002
8	下田慎治、上平幸史、石橋大海	自己免疫性肝疾患の成因	Modern Physician	23(4)	460-462	2003
9	中村 稔、下田慎治、石橋大海	特集:原発性胆汁性肝硬変—最近の話題 原発性胆汁性肝硬変の成因 ミトコンドリア抗原と免疫応答	臨床消化器内科	18(5)	545-551	2003
10	小森敦正、中村 稔、石橋 大海	原発性胆汁性肝硬変の病因解明	現代医療	35(11)	2581-2585	2003
11	石橋大海	エキスパートに学ぶ治療戦略. 難波する症例をどうするか、自己免疫性肝炎.	今月の治療	10 (臨増)	S156-S160	2003
12	石橋大海	はじめに. 特集:Molecular mimicry (分子模倣)と疾患	医学のあゆみ	206 (11)	835	2003

13	下田慎治、中村 稔、 石橋 大海	Molecular mimicry(分子模倣)と疾患⑥ 肝疾患-原発性胆汁性肝硬変と分子擬態	医学のあゆみ	206 (11)	859-863	2003
14	石橋大海、大黒 学	自己免疫性肝炎の急性発症とⅡ型 AIH	肝臓	44(9)	431-434	2003
15	Sato Y, Ichida T, Yamamoto S, Hirano K, Kobayashi T, Oya H, Nakastukasa H, Watanabe T, Hatakeyama K	Shear stress theory and small-for-size graft in adult living related liver transplantation.	Transplantation Proceedings	35(1)	78	2003
16	Sato Y, Ichida T, Watanabe H, Yamamoto , Oya H, Nakatsukasa H, Kobayash T, Watanabe T, Kameyama H, Hatakeyama K.	Repeating intraportal donor specific transfusion may induce tolerance following adult living-related donor liver transplantation.	Hepato-Gastroenterology	50	601-606	2003
17	Sato Y, Ichida T, Yamamoto S, Oya H, Nakatsukasa H, Kobayashi T, Watanabe T, Kameyama H, Hatakeyama K.	Analysis of microchimerism in peripheral blood by short tandem repeated sequences immediately after living related liver transplantation.	Transplantation Proceedings	35(1)	412-413	2003
18	Takeishi T, Sato Y, Ichida T, Yamamoto S, Kobayashi T, Hatakeyama K	Short-term outcomes of living-related liver transplantation for primary biliary cirrhosis and its recurrence: report of five cases.	Transplantation Proceedings	35(1)	372	2003
19	Ichida T	Artificial liver support system for fulminant hepatic failure as bridge-use to living donor liver transplantation.	Internal Medicine	42(10)	920-921	2003
20	市田隆文	肝移植時のB型肝炎ウイルスとC型肝炎ウイルス再感染の予防と治療	肝胆臓	47(5)	715-724	2003
21	市田隆文	生体肝移植におけるドナー選択のピットホール	今日の移植	16(5)	440-450	2003
22	市田隆文	バイオ人工肝臓の臨床成績と適応	細胞	35(12)		
23	楊 秀華、市田隆文、 山際 訓、菅原 聡、 石川 達、佐藤好信、 渡部久実、安保 徹、 朝倉 均	肝細胞癌周囲非癌部に増加するCD4 陽性 CD25 陽性 T 細胞の解析	消化器と免疫	39	124-126	2002
24	Toda K, Okada Y, Zubair M, Morohashi KI, Saibara T, Okada T.	Aromatase-Knockout Mouse Carrying an Estrogen-Inducible Enhanced Green Fluorescent Protein Gene Facilitates Detection of Estrogen Actions in Vivo.	Endocrinology	145(4)	1880-888	2004
25	Kawai S, Enzan H, Hayashi Y, Jin YL, Guo LM, Miyazaki E, Toi M, Kuroda N, Hiroi M, Saibara T, Nakayama H.	Vinculin: a novel marker for quiescent and activated hepatic stellate cells in human and rat livers.	Virchows Arch	443	78-86	2003
26	Toda K, Okada T, Miyaura C, Saibara T.	Fenofibrate, a ligand for PPARalpha, inhibits aromatase cytochrome P450 expression in the ovary of mouse.	J Lipid Res	44	265-270	2003

27	Y Nakamoto, S Kaneko, H Takizawa, Y Kikumoto, M Takano, Y Himeda, K Kobayashi	Analysis of the CD8-positive T cell response in Japanese patients with chronic hepatitis C using HLA-A*2402 peptide tetramers.	J Med Virol	70(1)	51-61	2003
28	Harada K, Ohira S, Isse K, Ozaki S, Zen Y, Sato Y, Nakanuma Y	Lipopolysaccharide activates nuclear factor- κ B through toll-like receptors and related molecules in cultured biliary epithelial cells.	Laboratory Investigation	83(11)	1657-1667	2003
29	Zhe-Xiong Lian, Tomoyuki Okada, Xiao-Song He, Hiroto Kita, Yong-Jun Liu, Aftab A. Ansari, Kentaro Kikuchi, Susumu Ikehara, and M. Eric Gershwin	Heterogeneity of Dendritic Cells in the Mouse Liver: Identification and Characterization of Four Distinct Populations.	The Journal of Immunology	170	2323-2330	2003
30	Hiroto Kita, Xiao-Song He, M. Eric Gershwin	Application of Tetramer Technology in Studies on Autoimmune Diseases.	Autoimmunity Review	2	43-49	2003
31	Hiroto Kita, Aftab A. Ansari, Xiao-Song He, Zhe-Xiong Lian, Judy Van de Water, Ross L. Coppel, Velimir Luketic, Marshall Kaplan, Hideaki Inamori, Norio Isoda, Kentaro Sugano, Michio Imawari, and M. Eric Gershwin	Proteasome is Required for Class I-restricted Presentation by Fc γ Receptor-Mediated Endocytosis in Primary Biliary Cirrhosis.	Journal of Autoimmunity	21	175-182	2003
32	Kita H, He XS, Gershwin ME.	Autoimmunity and environmental factors in the pathogenesis of primary biliary cirrhosis.	Ann Med	36(1)	2-80	2004
33	Meguro, M., Nishimura, F., Ohyama, H., Takashiba, S., Murayama, Y, Matsushita, S	Ligation of HLA-DR Molecules on Fibroblasts Induces Rantes Expression via c-Jun N-terminal Kinase (JNK) Pathway.	Cytokine	22	107-115	2003
34	Ohyama H, Takeuchi K, Yamada H, Uemura Y and Matsushita S.	SNPs on IL-12 receptor gene associated with the susceptibility to leprosy.	In US-Japan Cooperative Medical Science Program	38	105-110	2003
35	松下 祥	抗原特異的免疫療法	薬事日報	臨時増刊 9740号	8-9	2004
36	松下 祥	歯周病医療から健康科学への貢献とその展望：生物学の立場から	The Quintessence	22(5)	193-198	2003
37	松下 祥、植村靖史、大山秀樹	分子擬態によるT細胞セルフトレランスの破綻。	BIO Clinica	18(8)	18-22	2003
38	Tomohiro Watanabe, Hiroaki Katsukura, Yasuhiko Shirai, Masashi Yamori, Toshiki Nishi, Tsutomu Chiba, Toru Kita, Yoshio Wakatsuki	A liver tolerates to a portal antigen by generating CD11c+ cells which select FasL+Th2 cells via apoptosis.	Hepatology	38(2)	403-412	2003

39	Matsuguchi, T., Masuda, A., Sugimoto, K., Nagai, Y., Yoshikai, Y.	JNK-interacting protein 3 associates with Toll-like receptor 4 and is involved in LPS-mediated JNK activation.	The EMBO Journal	22(17)	4455-4464	2003
40	Hiromatsu, T., Matsuguchi, T., Shimizu, H., Yajima, T., Nishimura, H., Arai, T., Yoshikai, Y.	NK T cells stimulated with a ligand for TLR2 at least partly contribute to liver injury caused by <i>Escherichia coli</i> infection in mice.	Eur. J. Immunol.	33	2511-2519	2003
41	Musikacharoen T, Yoshikai Y, Matsuguchi T.	Histone acetylation and activation of CREB regulate transcriptional activation of MKP-M in LPS-stimulated macrophages.	The Journal Biological Chemistry	278 (11)	9167-9175	2003
42	Matsuguchi, T., Takagi, A., Matsuzaki, T., Nagaoka, M., Ishikawa, K., Yokokura, T., Yoshikai, Y.	Lipoteichoic Acid of <i>Lactobacillus</i> Elicits Strong TNF α -inducing Activity on Macrophages through Toll-like Receptor 2.	Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology	10(2)	259-266	2003
43	Hiromatsu, T., Yajima, T., Matsuguchi, T., Nishimura, H., Wajjwalku, W., Arai, T., Nimura, Y., Yoshikai, Y.	Overexpression of IL-15 protects against <i>Escherichia coli</i> -induced shock accompanied by inhibition of TNF α -induced apoptosis.	The Journal of Infectious Disease	187	1442-1451	2003
44	T. Kikuchi, Y. Yoshikai, J. Miyoshi, M. Katsuki, T. Musikacharoen, A. Mitani, S. Tanaka, T. Noguchi, T. Matsuguchi	Cot/Tpl2 is Essential for RANKL Induction by Lipid A in Osteoblasts.	JOURNAL OF DENTAL RESEARCH	82(7)	546-550	2003
45	Moriuchi A, Ido A, Nagata Y, Nagata K, Uto H, Hasuike S, Hori T, Hirono S, Hayashi K, Tsubouchi H.	A CRE and the region occupied by a protein induced by growth factors contribute to up-regulation of cyclin D1 expression in hepatocytes.	Biochemical Biophysical Research Communications	300	415-421	2003
46	Onaga M, Ido A, Hasuike S, Uto H, Moriuchi A, Nagata K, Hori T, Hayash K, Tsubouchi H.	Osteoactivin, expressed during cirrhosis development in rats fed a choline-deficient, L-amino acid-defined diet, accelerates motility of hepatoma cells.	Journal Hepatology	39	779-785	2003
47	Tahara Y, Ido A, Yamamoto S, Miyata Y, Uto H, Hori T, Hayashi K, Tsubouchi H	Hepatocyte growth factor facilitates colonic mucosal repair in experimental ulcerative colitis in rats.	The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics	307(1)	146-151	2003
48	Onaga M, Ido A, Hasuike S, Uto H, Moriuchi A, Kato J, Hori T, Hayash K, Tsubouchi H.	Enhanced expression of growth factors and imbalance between hepatocyte proliferation and apoptosis in the livers of rats fed a choline-deficient, L-amino acid-defined diet.	Hepatology Research	28	94-101	2004
49	井戸章雄、森内昭博、蓮池悟、宇都浩文、坪内博仁	特集) 肝疾患の分子生物学-治療への応用- HGF を用いた肝再生療法	最新医学	58(9)	2023-2029	2003
50	坪内博仁、井戸章雄、宇都浩文、蓮池悟、森内昭博	特集) 肝幹細胞研究の現状 - 肝発生と再生時の HGF	肝胆膵	46(3)	303-309	2003

51	Ahmad TA, Fujioka H, Eguchi S, Yanaga K, Kamohara Y, Furui J, Kanematsu T.	Long-term effect of hepatocyte transplantation on fulminant hepatic failure in rats.	Hepatogastroenterology	50 (50)	467-471	2003
52	Hou Z, Yanaga K, Kamohara Y, Eguchi S, Tsutsumi R, Furui J, Kanematsu T.	A new suppressive agent against interleukin-1 beta and tumor necrosis factor-alpha enhances liver regeneration after partial hepatectomy in rats.	Hepatology Research	26(1)	40-46	2003
53	Fujita F, Yamashita-Futsuki I, Eguchi S, Kamohara Y, Fujioka H, Yanaga K, Furui J, Moriuchi R, Kanematsu T, Katamine S.	Inactivation of porcine endogenous retrovirus by human serum as a function of complement activated through the classical pathway.	Hepatology Research	26(2)	106-113	2003
54	Ishikawa F, Livingston AG, Minamiguchi H, Wingard JR, Ogawa M.	Human cord blood long-term engrafting cells are CD34+ CD38-.	Leukemia	17(5)	960-964	2003
55	Ishikawa F, Drake CJ, Yang S, Fleming P, Minamiguchi H, Visconti RP, Crosby CV, Argraves WS, Harada M, Key LL Jr, Livingston AG, Wingard JR, Ogawa M.	Transplanted human cord blood cells give rise to hepatocytes in engrafted mice.	Annals of NY Academy of Sciences	996	174-185	2003