

血管新生の制御による虚血系疾患治療薬の開発に関する基礎的研究

所属 国立医薬品食品衛生研究所 生物薬品部
研究者 新見 伸吾

研究要旨 HUVECにおいてトロンボモジュリンは100 pg/mlで増殖を促進し、40 µg/mlで管腔の形成を抑制した。カニクイザルのLPS投与によりTNF-αおよびIL-6が顕著に増加した。肝細胞において増殖刺激に伴いplasminタンパク質およびVEGF mRNAレベルが上昇した。

分担研究者

- (1) 三重大学医学部、鈴木宏治
- (2) 日本大学生物資源科学部、関泰一郎
- (3) 旭化成ファーマ株式会社ライフサイエンス総合研究所、佐々木康夫

A. 研究目的

脳血管疾患、心疾患は日本人の主要な死因に挙げられている。これらの疾患はいずれも虚血が原因であることから、血栓形成の制御あるいは病変部位への血流確保による虚血性疾患治療法の確立は保健衛生上の重要課題である。虚血部位への血流を確保する方法として、治療的血管新生が期待されているが、未だ十分な治療法は確立されていない。

我々はこれまでに、トロンボモジュリン(TM)が血液凝固促進因子トロンビンの機能を改変することにより血管新生を促進する可能性を新たに見出した。そこで本研究では、トロンビン・TM及び他の凝固・線溶系調節因子における作用を疾患との関連でさらに追求し、血管新生の制御法を探索することにより虚血性疾患治療薬の創出に向けた基礎的知見を得ることを目的として以下の各種検討を行った。

①TMが血管新生に及ぼす作用に関する基礎的検討 我々は、マウス乳癌(MMT)細胞においてTMが血清に含まれるトロンビンの作用を増強することにより、浸潤を促進することを示唆する知見を既に得ている。そこで、この知見に基づきTMについて以下のような検討を行った。(I) MMT細胞のTMによる浸潤促進におけるトロンビンの必要性についてさらに詳細な解析を行った。(II) トロンビンによるヒト臍帯静脈内皮細胞(HUVEC)の増殖促進を再現できる系において、TMの増殖促進作用について基礎的検討を行った。(III) HUVECの管腔形成に及

ぼすTMの作用について基礎的な検討を行った。②TMが炎症に及ぼす作用を検討するための評価系の構築に関する基礎的検討 血管内皮は抗炎症作用を発現する組織でありその作用発現にTMの関与が示唆されているが、その詳細については不明であり、評価系も確立されていない。そこで、炎症におけるTMの関与の評価系としてカニクイザルを用いた炎症モデル系の構築を試みた。③肝細胞における増殖刺激に伴う血管新生促進因子の発現に関する基礎的検討 血管新生促進因子としてplasminおよびVEGFに着目し、肝細胞におけるこれら血管新生促進因子の発現に及ぼす増殖刺激の作用について基礎的な検討を行った。

B. 研究方法

I. TMが血管新生に及ぼす作用に関する基礎的検討

I:I MMT細胞のTMによる浸潤促進におけるトロンビンの必要性についての検討
細胞培養

Mouse mammary tumor (MMT)細胞は10% calf serum (CS)を添加したmodified Eagle's medium (MEM)を用い、60-mm培養用ディッシュ当たり4 x 10⁵個播種し、培養した。7日後、細胞を0.25%トリプシン/EDTAで剥がし、MEMで洗浄した。細胞は0.1%ウシ血清アルブミン(BSA)を含むMEMに懸濁後、10 mg/mlのBSAでコートした非処理ディッシュにおいて非接着細胞として2時間培養した。細胞は0.1% BSA添加MEMを用いて洗浄後懸濁し以下の実験に用いた。

浸潤アッセイ

0.1% BSA添加MEM 750 µlを24ウエルコンパニオンプレートに加えた後、各因子を添加し軽く攪拌した。再水和したマトリゲルインベーションチャンバー(チャンバー)は5 µg/mlのファイブ

ロネクチンでコートした。細胞懸濁液 3.2×10^5 個/ml を 0.5 ml チャンバーに加え、18 時間培養を行った。チャンバーに装着されたフィルター上に付着した細胞をメタノールで固定後、ヘマトキシリンとエオシンで染色した。フィルターの上部表面に付着した細胞を綿棒で除去し、フィルターの下部表面に移動した細胞数を顕微鏡下で計測した。
走化性アッセイ

チャンバーの代わりにマトリゲルが塗布されていないコントロールインサートを用いた以外は、浸潤アッセイと同様に行った。

I:II HUVEC の増殖に及ぼす TM の作用についての基礎的検討

細胞培養

ヒト臍帯静脈内皮細胞 (HUVEC) を、非働化ウシ胎児血清 (FBS) を 2% 添加した EBM-2 培地を用いて 1 日培養後、TM、トロンピン、ヒルジンをそれぞれ単独もしくは同時に添加し、さらに 2 日培養した。

細胞増殖の測定

培養後の細胞数を、血球計算板を用いて計測した。結果は、コントロール (TM、トロンピン、ヒルジン無添加) を 100% として示した。

I:III HUVEC の管腔形成に及ぼす TM の作用についての基礎的検討

細胞培養

24 ウェルの細胞培養用のプレートに 0.3 ml のマトリゲルをコートし、2 万個の HUVEC 及び種々の濃度の TM あるいはアルガトロパンを含む 1 ml の 5% FBS 含有培地を添加し、6 時間培養した。

管腔形成の測定

培養後、マトリゲル上において内皮細胞により形成された管腔の長さを計測した。

II. TM が炎症に及ぼす作用を検討するための評価系の構築に関する基礎的検討

実験材料

雄性カニクイザル (ベトナム産、4-5 歳齢、体重 4-6kg)

Lipopolysaccharide (LPS, E. coli O55:B5 由来、Sigma)

Monkey TNF- α ELISA キット (Cell Sciences)

Monkey IL-1 β ELISA キット (Bender MedSystems)

Monkey IL-6 ELISA キット (Cell Sciences)

炎症モデル動物の作製と採血

カニクイザルをモンキーチェアに固定し、局方生理食塩水に溶解した LPS 溶液を前腕橈側皮静脈内に 0.2 または 1 mg/kg 投与した。

あらかじめ 3.8% クエン酸 3 ナトリウム溶液を 1/10 容充填したシリンジを用いて、LPS 投与 30 分前、LPS 投与後 30、60、120、180、240、360

および 480 分後に後肢伏在静脈から 1.5 mL ずつ採血した。

酵素免疫測定

得られた血液を 3,000 rpm、4°C で 10 分間遠心して血漿を調製し、TNF- α 、IL-1 β および IL-6 の値を酵素免疫測定法により測定した。

III. 肝細胞において増殖刺激が VEGF 産生に及ぼす作用に関する基礎的検討

実験材料

本研究で用いたラット plasminogen はクエン酸加血より調製したラット血漿を硼酸緩衝液で平衡化したリシンセファロースカラムに供して精製した。非吸着画分を溶出後、さらに 1M NaCl 含有硼酸緩衝液で非特異的吸着タンパク質を除去した。その後、0.1M トラネキサム酸溶液を用いて特異的に吸着した plasminogen を溶出し精製した。plasminogen 標品の精製度、活性はそれぞれ SDS-PAGE、fibrinogen を基質とした zymography により確認した。

肝細胞培養

肝実質細胞 (肝細胞) ならびに肝非実質細胞は Wistar 系オスラット (体重 150~180 g) から、コラゲナーゼ灌流法により単離した。単離肝細胞は 5% FBS、 10^{-8} M insulin、 10^{-8} M glucagon を添加した Williams' medium E (WE) を用い、細胞密度が 5×10^4 cells/cm² となるように type-1 collagen coated dish に播種後培養した。培養 4 時間後、非接着細胞を除去し、1% FBS 含有ホルモン不含 WE に交換し、さらに 18 時間培養後実験に用いた。肝細胞と非実質細胞の混合培養系では、肝細胞を 2×10^4 cells/cm² の細胞密度で播種して 2 時間培養後、非実質細胞を 3.0×10^5 cells/cm² の密度で添加し、混合培養した。

肝細胞増殖の測定

[³H]-thymidine の DNA への取り込み

肝細胞は被検試料を含む WE で 57 時間培養後、[methyl-³H]-thymidine を 1.25 μ Ci/well (24 well plate) 添加して 9 時間培養した。細胞を 2 回洗浄後 10% トリクロロ酢酸により細胞を固定した。固定細胞を 1 N NaOH で溶解し、同量の 1 N HCl で中和後、細胞溶解液の放射能を液体シンチレーションカウンターにより測定し thymidine の DNA 画分への取り込み量とした。

MTT assay

生細胞測定試薬 SF (ナカライテスク) を用いた。肝細胞は被検試料を含む WE で 48 時間培養後、培養液に対して 10% となるように生細胞測定試薬を添加し 1 時間インキュベーションした。反応溶液の吸光度 (450 nm; 対照波長 620 nm) を測定しコントロールに対する相対値を細胞増殖能とした。

抗PCNA抗体を用いたウエスタンブロッティング

肝細胞は被検試料を含む WE で 24 時間培養後、細胞を 1% Triton X-100, 0.1 M NaCl 含有 50 mM Tris-HCl buffer (pH 7.5) 中で超音波破碎した。破碎後 15,000 rpm, 20 min 遠心し、得られた細胞抽出物(タンパク質として 15 μ g 相当量)を SDS-PAGE し、抗 PCNA 抗体 (M0879, DakoCytomation, USA) を用いたウエスタンブロッティングを行った。

RNA の抽出ならびに mRNA レベルの測定

培養肝細胞より ISOGEN™ (ニッポンジーン) を用いて全 RNA を抽出した。これらの全 RNA について RT-PCR を用いて VEGF, GAPDH mRNA レベルを測定した。

(倫理面への配慮)

動物実験については、各施設の動物実験指針を遵守し、動物福祉・愛護の精神に基づいて実験を実施し、倫理審査承認を得て行った。また、ヒト由来の生体試料は用いなかった。

C. 研究結果

I. TM が血管新生に及ぼす作用に関する基礎的検討

以下に示す HUVEC における増殖および管腔形成を指標とした血管新生に関する結果はそれぞれ我々の研究組織における異なった研究室から得られたものである。

I : I MMT 細胞の TM による浸潤促進におけるトロンビンの必要性についての検討

トロンビン (1 pg/ml) あるいは TM (10 pg/ml) 単独では浸潤に対して作用を示さなかったが、両者を同時に添加すると約 3.5 倍の浸潤促進がみられた (図 1)。同様に、トロンビンあるいは TM 単独では走化性に対して作用を示さなかったが、両者を同時に添加すると約 2.3 倍の促進がみられた (図 2)。

I : II HUVEC の増殖に及ぼす TM の作用についての基礎的検討

TM がトロンビンの細胞増殖促進作用に及ぼす影響を調べるための予備的検討として、本系のトロンビンによる増殖促進の評価系としての有用性について検討を行った。その結果、トロンビン (0.1 U/ml) は細胞数を約 1.4 倍増加させた (図 3)。なお、データは示していないがトロンビンの作用は濃度依存的であった。

本系において FBS の添加によるトロンビンの混入の影響を評価するため、ヒルジン (0.2 U/ml) を添加し同様な実験を行った。その結果、細胞数はコントロールの約 60% まで低下した (図 4)。一方、ヒルジン存在下において TM (100 pg/ml)

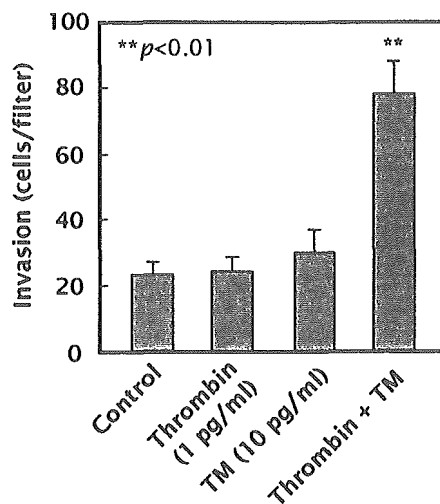


図1. トロンビン除去培養系において TM とトロンビンが MMT 細胞の浸潤に及ぼす影響

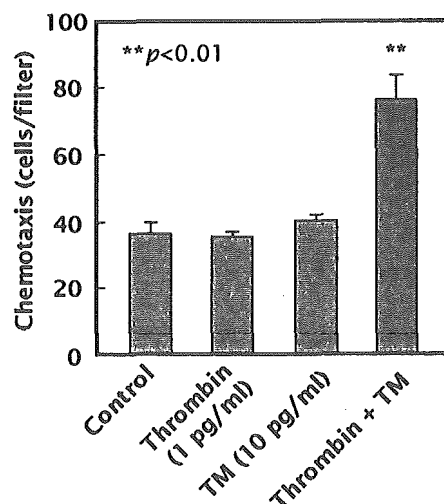


図2. トロンビン除去培養系において TM とトロンビンが MMT 細胞の遊走に及ぼす影響

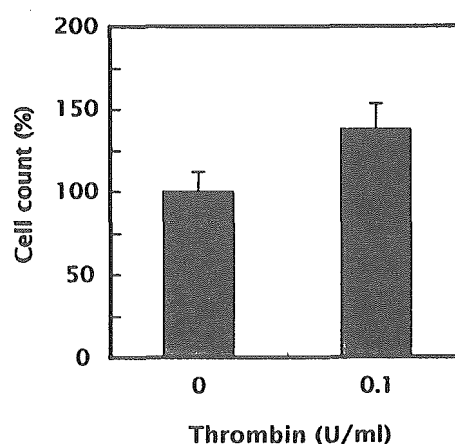
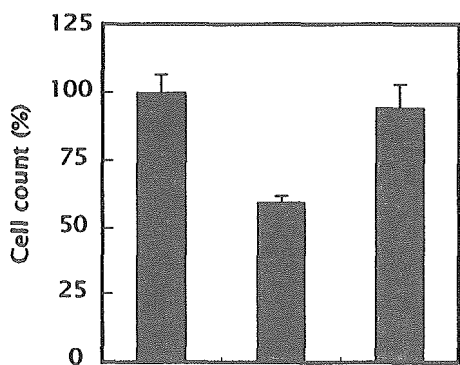


図3. トロンビンが HUVEC の増殖に及ぼす影響は細胞数をヒルジン無添加のレベルまで増加させた (図 4)。



Hirudin (0.2 U/ml) - + +
 TM (100 pg/ml) - - +

図4. ヒルジン存在下で TM が HUVEC の増殖に及ぼす影響

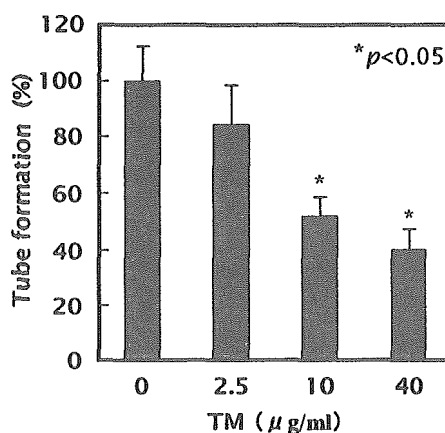


図5. TM が HUVEC の管腔形成に及ぼす影響

I : III HUVEC の管腔形成に及ぼす TM の作用についての基礎的検討

管腔形成に及ぼす FBS の作用を検討した結果、5%FBS の存在下においてマトリゲル内には顕著な管腔形成が認められた (図 5)。なお結果は示し

ていないが、トロンビン特異的阻害剤であるアルガトロバンは高濃度でも FBS 存在下における管腔形成に全く影響を与えなかった。一方、TM は FBS 存在下における管腔形成を濃度依存的に阻害し、40 μg/ml では約 60%の阻害がみられた (図 5)。

表 1. LPS 投与カニクイザルの血漿中 TNF-α 抗原値の経時変化

動物番号	LPS (mg/kg)	TNF-α 抗原値 (pg/mL)						
		pre	30min	60min	120min	240min	360min	480min
0998	0.2	< 25	1,179	2,232	554	69	< 25	< 25
1014		< 25	920	1,779	232	< 25	< 25	< 25
0994	1.0	< 25	1,179	1,935	393	< 25	< 25	< 25
1008		< 25	784	2,091	715	42	< 25	< 25
1011		< 25	1,183	2,116	396	< 25	< 25	< 25

表 2. LPS 投与カニクイザルの血漿中 IL-6 抗原値の経時変化

動物番号	LPS (mg/kg)	IL-6 抗原値 (pg/mL)						
		pre	30min	60min	120min	240min	360min	480min
0998	0.2	< 25	84	1,848	46,925	20,808	11,435	6,122
1014		< 25	277	3,586	23,639	8,675	4,329	2,242
0994	1.0	< 25	156	1,713	13,585	5,024	2,752	1,544
1008		< 25	48	950	22,239	7,459	3,046	1,415
1011		< 25	385	2,588	14,388	8,578	4,361	1,737

表 3. LPS 投与カニクイザルの血漿中 IL-1β 抗原値の経時変化

動物番号	LPS (mg/kg)	IL-1β 抗原値 (U/mL)						
		pre	30min	60min	120min	240min	360min	480min
0998	0.2	< 31	< 31	< 31	< 31	< 31	< 31	< 31
1014		< 31	< 31	< 31	< 31	< 31	< 31	< 31
0994	1.0	< 31	< 31	< 31	< 31	< 31	< 31	< 31
1008		< 31	< 31	< 31	< 31	< 31	< 31	< 31
1011		< 31	< 31	< 31	< 31	< 31	< 31	< 31

II. TM が炎症に及ぼす作用を検討するための評価系の構築に関する基礎的検討

LPS 投与前では、TNF- α および IL-6 の値は検出限界以下であった(表1および2)。LPS 投与後 TNF- α の値は上昇し、1 時間後に最大となり 6 時間後には検出限界以下まで低下した(表1)。また、LPS 投与後 IL-6 の値も上昇し、2 時間で最大となりその後徐々に低下したが 8 時間後においても高値であった(表3)。一方、IL-1B の値は、LPS 投与前および投与後のいずれも検出限界以下であった(表2)。

III 肝細胞において増殖刺激が VEGF 産生に及ぼす作用に関する基礎的検討

III:I 線溶酵素およびトラネキサム酸が肝細胞の増殖に及ぼす影響 ([³H]-thymidine の DNA への取り込み)

肝細胞と非実質細胞を共培養すると、肝細胞の単独培養に比べ肝細胞の増殖は約 2 倍増加した(図6)。結果は示していないが、この共培養系の培養液中において plasmin、plasminogen activator などの線溶活性の増加がみられたため、合成 plasmin 阻害剤であるトラネキサム酸の影響について検討した。その結果、トラネキサム酸は肝細胞の増殖を濃度依存的に阻害し、100 μ M では約 50% の阻害がみられた(図6)。

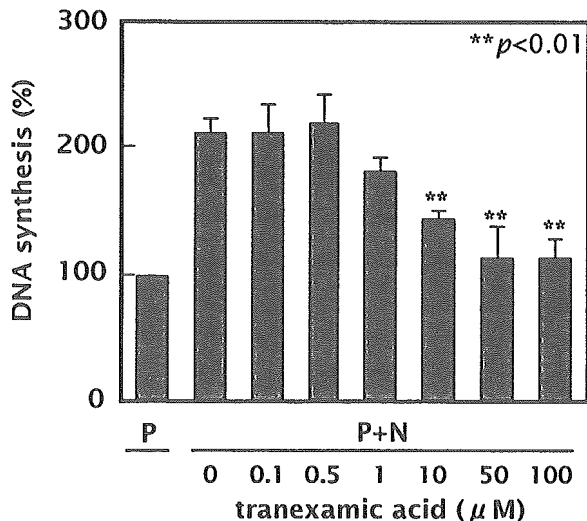


図6. 非実質細胞(N)との共培養においてトラネキサム酸が肝細胞(P)の増殖に及ぼす影響

III:II Carboxypeptidase B が肝細胞増殖に及ぼす影響 (MTT assay)

上皮増殖因子(EGF)(10 ng/ml)および insulin (10⁻⁷ M) は肝細胞の増殖を約 2 倍促進した。一方、肝細胞の表面に露呈しているタンパク質の C 末端リシン残基除去作用を有する Carboxy-peptidase B によりこの促進は濃度依存的に抑制され、20 U/ml ではコントロールレベルまで低下した(図7)。

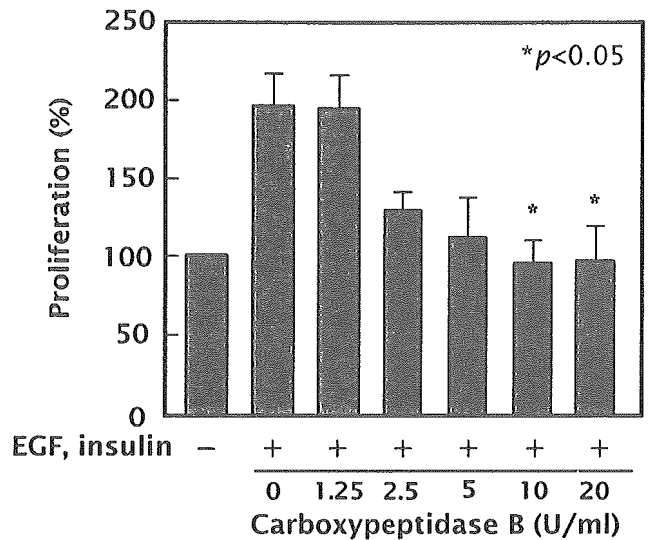


図7. EGF、insulin 存在下において Carboxypeptidase B が肝細胞の増殖に及ぼす影響

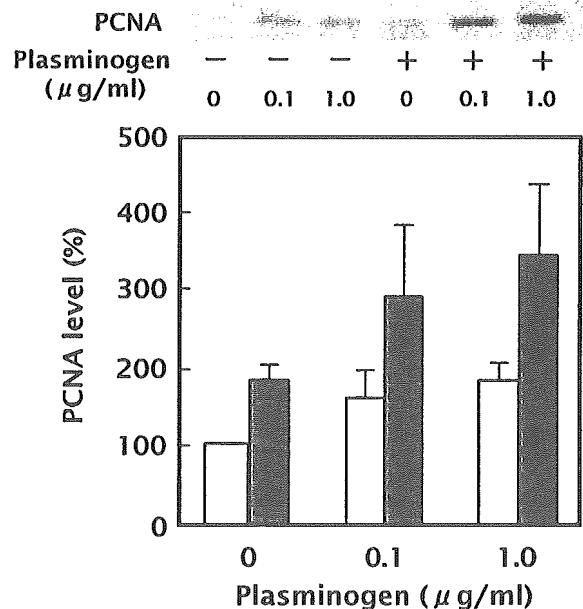


図8. EGF、insulin 存在下において plasminogen が肝細胞の増殖に及ぼす影響

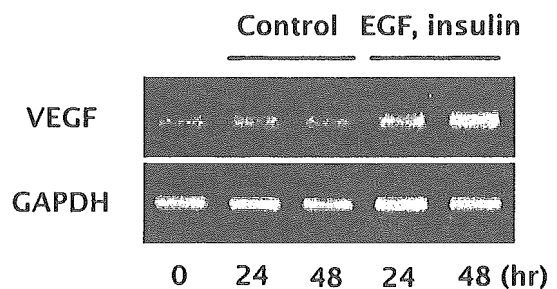


図9. EGF、insulin が VEGF mRNA レベルに及ぼす影響

Ⅲ:Ⅲ Plasminogen が肝細胞増殖に及ぼす影響 (抗 PCNA 抗体を用いたウエスタンブロッティング)

Plasminogen は EGF、insulin の増殖刺激存在下および非存在下で肝細胞増殖を濃度依存的に促進し、1 $\mu\text{g/ml}$ では約 2 倍の増加がみられた (図 8)。

Ⅲ:Ⅳ 増殖刺激が VEGF mRNA レベルに及ぼす作用

EGF およびインスリンによる増殖刺激 1 日後において VEGF mRNA レベルの増加がみられ、そのレベルは 2 日後さらに増加した (図 9)。

D. 考察

I. TM が血管新生に及ぼす作用に関する基礎的検討

I: I MMT 細胞のトロンピンによる浸潤促進における TM の必要性についての検討

本結果から、MMT 細胞の TM による浸潤促進においてトロンピンが必要であることが直接的に示された。また、その浸潤促進は主に走化性促進によることが明らかになった。これまでの検討結果によると、トロンピンが単独で浸潤促進作用を示すには約 50 ng/ml 必要とする。一方、今回の検討において TM の作用発現に必要なトロンピン濃度は 1 pg/ml であることから、TM はトロンピンと相互作用しトロンピンの作用有効濃度を顕著に低下させる可能性が考えられる。なお、このような TM の作用はトロンピンによるプロテイン C の活性化などにおいても明らかになっている。

I: II HUVEC の増殖に及ぼす TM の作用についての基礎的検討

本結果から 2% FBS 添加 EBM-2 培地が HUVEC におけるトロンピンの増殖促進作用を再現できる培地として有用であることが示された。本系でトロンピン非添加下における増殖はヒルジンにより抑制されたことから、血清中に含まれるトロンピンが増殖促進に関与することが示された。この条件において TM (100 pg/ml) により増殖が促進されたことから、TM は血管新生促進因子として作用することが示された。本結果は TM の作用がトロンピンに依存しない直接作用である可能性も示唆している。MMT 細胞の TM による浸潤促進作用はトロンピンに依存することが I: I の検討結果より明らかになっており、細胞および対象とする指標が異なれば TM 作用機構は異なることが示唆された。今後、抗トロンピン抗体及びヒルジンを用いたアフィニティーカラムによりトロンピンを除去した血清の存在下あるいはトロンピン受容体に対する抗体の存在下において TM の増殖に及ぼす作用を調べることにより TM の作用機構をより詳細に解明する必要がある。

I: III HUVEC の管腔形成に及ぼす TM の作用についての基礎的検討

本結果から 5%FBS は HUVEC の管腔形成の誘導において有用であり、この誘導は TM (40 $\mu\text{g/ml}$) により抑制されたことから TM は血管新生阻害因子として作用することが示された。さらに、FBS および TM の作用は FBS に含まれるトロンピンを介したものではないことも示された。

以上 2 つの異なる研究室より独立して得られた TM が血管新生に及ぼす作用は必ずしも一致していない。この原因については明らかではないが、用いた TM の濃度、評価の指標、FBS の濃度およびロット、基本培地の違いによる可能性が考えられる。

II. TM が炎症に及ぼす作用を検討するための評価系の構築に関する基礎的検討

TNF- α の値の経時変化は同様な炎症モデルにおいて報告されている知見と一致しており、今回用いた炎症モデル系の有用性が確かめられた。今後、本炎症モデルを用いて TM が炎症に及ぼす作用について解明を行う必要がある。LPS による TNF- α および IL-6 の値の上昇については用量依存性がみられなかったが、これはサル个体差による可能性が考えられた。一方、IL-1B の値は、全て検出限界以下であったが、今回用いた条件では IL-1B 産生が促進されないのか、あるいは用いた ELISA キットではカニクイザルの IL-1B を検出できないのかについては不明である。

III. 肝細胞において増殖刺激が VEGF 産生に及ぼす作用に関する基礎的検討

本結果から血管新生促進因子である plasmin は肝細胞の増殖刺激によりその産生が促進されると共に増殖促進因子として作用することが明らかになった。さらに、その作用発現には肝細胞膜上に存在するタンパク質の C 末端リシン残基に対する結合が必要であることも明らかになった。また、増殖刺激により VEGF mRNA レベルの上昇がみられたことから、肝細胞は増殖時において plasmin および VEGF の産生を促進することによりパラクラインの様式で血管新生を促進する可能性が示唆された。

E. 結論

今回の検討結果から以下の点が明らかになった。
① MMT 細胞の TM による浸潤および走化性促進作用の発現においてトロンピンが必要である。
② 2%FBS およびヒルジンを添加した条件における HUVEC の培養において TM (100 pg/ml) は増殖を促進した。
③ 5%FBS を添加した条件における HUVEC の培養において TM (40 $\mu\text{g/ml}$) は管

腔形成を抑制した。④カニクイザルに LPS 0.2 mg/kg を投与することにより血漿中における TNF- α および IL-6 の値が顕著に増加した。⑤肝細胞において増殖刺激に伴い plasmin タンパク質および VEGF mRNA レベルが上昇し、plasmin は増殖促進因子として作用した。

F. 研究発表

1. 論文発表

新見伸吾

1. Niimi S, Harashima M, Takayama K, Hara M, Hyuga M, Seki T, Ariga T, Kawanishi T and Hayakawa T. Thrombomodulin enhances the invasive activity of mouse mammary tumor cells. *J. Biochem* (in press)

鈴木宏治

1. Asanuma K, Wakabayashi H, Hayashi T, Okuyama N, Seto M, Matsumine A, Kusuzaki K, Suzuki K, Uchida A. (2004) Thrombin inhibitor, argatroban, prevents tumor cell migration and bone metastasis. *Oncology* 7: 166-173.
2. Kamada, H., Hattori, K., Hayashi, T., Suzuki, K. (2004) In vitro evaluation of blood coagulation activation and microthrombus formation by a microchannel array flow analyzer. *Thromb. Res.* 114: 195-203.
3. Hayashi, T., Nishioka, J., Kamada, H., Asanuma, K., Kondo, H., Gabazza, E.C., Ido, M. and Suzuki, K. (2004) Characterization of a novel human protein C inhibitor (PCI) gene transgenic mouse useful for studying the role of PCI in physiological and pathological conditions. *J. Thromb. Haemost.* 2: 949-961.
4. Suzuki, K., Gabazza, E.C., Hayashi, T., Adachi, Y. and Taguchi, O. (2004) Protective role of activated protein C in lung and airway remodeling. *Crit. Care Med.* 32: S262-265.
5. Yuda, H., Adachi, Y., Taguchi, O., Gabazza, E.C., Hataji, O., Fujimoto, H., Tamaki, S., Nishikubo, K., Fukudome, K., D'Alessandro-Gabazza, C.N., Maruyama, J., Izumizaki, M., Iwase, M., Homma, I., Inoue, R., Kamada, H., Hayashi, T., Kasper, M., Barnes, P.J. and Suzuki, K. (2004) Activated protein C inhibits bronchial hyperresponsiveness and Th2 cytokine expression in the mouse. *Blood* 103: 2196-2204.
6. Toyoda, H., Ido, M., Hayashi, T., Gabazza, E.C., Suzuki, K., Bu, J., Tanaka, S., Nakano, T., Kamiya, H., Chipeta, J., Kisenge, R.R., Kang, J.,

Hori, H., Komada, Y. (2004) Impairment of IL-12-Dependent STAT4 Nuclear Translocation in a Patient with Recurrent Mycobacterium avium Infection. *J. Immunol.* 172: 3905-3912.

7. Wakita, T., Hayashi, T., Nishioka, J., Tamaru, H., Akita, N., Asanuma, K., Kamada, H., Gabazza, E.C., Ido, M., Kawamura, J. and Suzuki, K. (2004) Regulation of carcinoma cell invasion by protein C inhibitor whose expression is decreased in renal cell carcinoma. *Int. J. Cancer* 108: 516-523.

佐々木康夫

なし

関泰一郎

1. Akao M, Hasebe Y, Okumura N, Seki T, Ariga T. (2004) The role of plasminogen in the proliferation of murine hepatocytes in primary culture. *Animal Cell Technology: Basic & Applied Aspects* (Eds., Yagasaki K, Miura Y, Hatori M, Nomura Y) 13: 323-327.

2. 学会発表

新見伸吾

1. 高智彦、奥村暢章、鈴木崇文、妹尾ありさ、渡邊豪、長谷部祐一、関泰一郎、有賀豊彦、新見伸吾、川西徹、肝障害、肝再生モデルラットにおける TAFI 発現の変動と生理的役割について 第 27 回 血栓止血学会学術集会 (2004 年 11 月)

鈴木宏治

なし

佐々木康夫

なし

関泰一郎

1. 奥村暢章、矢敷彩子、長谷部祐一、高智彦、関泰一郎、有賀豊彦、肝細胞表面に局在する線溶活性が肝細胞増殖に及ぼす影響 日本農芸化学会 2004 年度大会 (2004 年 3 月)
2. 奥村暢章、矢敷彩子、高智彦、妹尾ありさ、長谷部祐一、関泰一郎、有賀豊彦、Plasma carboxypeptidase B による肝細胞の増殖制御 第 11 回 肝細胞研究会 (2004 年 7 月)
3. 高智彦、奥村暢章、鈴木崇文、妹尾ありさ、渡邊豪、長谷部祐一、関泰一郎、有賀豊彦、新見伸吾、川西徹、肝障害、肝再生モデルラットにおける TAFI 発現の変動と生理的役割について 第 27 回 血栓止血学会学術集会 (2004 年 11 月)

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし