

平成18年度

政策創薬総合研究
重点研究報告書（I）

目 次

| 課題番号 | | | |
|---------|---|-------|-----|
| KH11001 | バイオフィotonicsを利用した細胞組織障害を視る、測る、解析する技術の開発 | 川西 徹 | 1 |
| KH11002 | 成長制御機構の解明と成長障害治療法の開発 | 緒方 勤 | 16 |
| KH12072 | 変異を克服した画期的抗ウイルス薬の開発 | 野口博司 | 21 |
| KH21004 | 動脈硬化症と血栓症にかかわるスフィンゴシン1-リン酸 (S1P) 受容体 (S1P3) の拮抗薬の開発 | 望月直樹 | 30 |
| KH21005 | 遺伝子改変動物を用いた病態関連因子の解明と創薬への応用に関する研究 | 田上昭人 | 40 |
| KH21006 | 病態時の侵害情報伝達に関与するプリン受容体の機能解明 | 井上和秀 | 100 |
| KH21007 | 蛋白立体構造異常を原因とするコンフォメーション病に対する病態解明と創薬探索システムの確立 | 桃井 隆 | 126 |
| KH21008 | 高密度CGHアレイを用いた新規白血病・リンパ腫治療薬の標的分子の探索 | 小川誠司 | 144 |
| KH21009 | 脂質代謝・機能の解明とその抗微生物薬開発への応用 | 花田賢太郎 | 154 |
| KH21010 | 繊維芽細胞の放出するmacrophage活性化因子とJAG1蛋白の関連と臓器繊維化の機序解明 | 香坂隆夫 | 168 |
| KH21011 | 血管におけるレクチンを介する生体防御システムの解明と創薬への応用 | 若宮伸隆 | 181 |
| KH21012 | コネキシン遺伝子の癌抑制機能の網羅的解析；癌予防および治療への応用 | 矢野友啓 | 196 |
| KH21013 | 免疫グロブリン大量静注療法的作用機序解明と新しい治療標的分子の探索 | 阿部 淳 | 208 |
| KH21014 | 受精および初期胚発生における糖鎖の役割解析とその応用に関する研究 | 藤本純一郎 | 221 |
| KH21015 | 細胞内エネルギー代謝制御分子の機能発現機構の解明と新規治療薬への応用 | 江崎 治 | 235 |
| KH21018 | アルツハイマー病における新規創薬ターゲット検索のための、APP細胞内ドメインの機能解析 | 中山耕造 | 247 |
| KH21019 | 創薬への応用を目標としたB細胞の分化・増殖・細胞死の制御機構解明に関する研究 | 上出利光 | 262 |
| KH21021 | エンドトキシン認識・刺激伝達機構の解明と医療への応用に関する研究 | 西島正弘 | 286 |
| KH21022 | ウイルスRNA結合ペプチドを用いたC型肝炎治療薬の開発 | 鈴木哲朗 | 300 |
| KH21023 | 末梢血幹細胞の分化増殖機構の解明と創薬への応用に関する研究 | 葛西正孝 | 310 |
| KH21101 | DNAマイクロアレイによる多発性硬化症の迅速診断法の樹立に関する研究 | 佐藤準一 | 318 |

| | | |
|---------|---|------------------|
| KH22073 | 機能性精神疾患のハイスループットSNPs解析と機能解析による創薬標的分子の解明 | 功 刀 浩 …… 344 |
| KH31024 | 超難溶性薬物の効率的製剤化に非晶質の特異性を活用する技術とその評価法の確立 | 吉 岡 澄 江 …… 358 |
| KH31025 | 生薬及び漢方処方of科学的品質保証に関する研究 | 合 田 幸 広 …… 373 |
| KH31026 | 食中毒細菌の新規迅速検査法の開発とその評価法に関する研究 | 工 藤 由 起 子 …… 390 |
| KH31027 | ハイスループット・ヒト型遺伝毒性試験系の構築 | 能 美 健 彦 …… 402 |
| KH31028 | ヒト肝細胞で置換された肝臓を持つマウスの医薬品開発への利用ー非拘束マウスの胆汁採取分析技術の確立ー | 吉 里 勝 利 …… 417 |
| KH31029 | 高度分析評価技術を応用した医薬品製剤開発および製造工程管理手法の研究 | 檜 山 行 雄 …… 435 |
| KH31030 | 患者個別化薬物治療のための遺伝子タイピング法及びメタボロミクス的手法の開発に関する研究 | 斎 藤 嘉 朗 …… 449 |
| KH31031 | 細胞医療に用いられる細胞組織利用医薬品の品質・安全性評価技術の開発 | 山 口 照 英 …… 466 |
| KH31032 | 医薬品等の有効性・安全性を保証するための分析・解析技術の評価と標準化に関する研究 | 林 謙 …… 481 |
| KH31034 | プロテオミクス及び構造生物学的アプローチ等を用いたバイオ医薬品の特性解析・品質評価技術の開発 | 川 崎 ナ ナ …… 494 |
| KH31035 | 生物由来製品のウイルス安全性に関する基盤研究 | 内 田 恵 理 子 …… 509 |
| KH31036 | 臨床薬理学的視点による薬効ゲノム情報活用のための基盤研究 | 東 純 一 …… 525 |
| KH32074 | IT技術を用いた低コストかつ高品質な大規模臨床試験実施基盤の構築 | 永 井 洋 士 …… 537 |
| KH41037 | 抗フリーラジカル療法を目指した基盤研究と創薬への応用 | 網 脇 祥 子 …… 551 |
| KH41038 | ボツリヌス神経毒素有効成分を利用したジストニア・痙縮等の治療法の確立と筋萎縮性側索硬化症に対するdrug delivery systemの開発 | 梶 龍 兒 …… 566 |
| KH42075 | 熱帯病・寄生虫症に対する稀少疾病治療薬の輸入・保管・治療体制の開発研究 | 名 和 行 文 …… 576 |

ヒト肝細胞で置換された肝臓を持つマウスの医薬品開発 への利用—非拘束マウスの胆汁採取分析技術の確立—

所属 広島大学大学院理学研究科

研究者 吉里 勝利

研究期間 平成16年4月～平成19年3月

研究要旨 ヒトの薬物動態を反映するとされるキメラマウスの非拘束胆汁回収モデルの確立を行った。キメラマウスにモデル化合物を投与し、非拘束胆汁回収装置を用いて回収した胆汁中代謝物を分析したところ、それらはヒトの薬物動態を反映するものであることがわかった。

分担研究者

- (1) 株式会社フェニックスバイオ 堀江透
- (2) 自治医科大学分子病態治療研究センター臓器置換研究部 小林英司
- (3) 国立成育医療センター研究所移植・外科研究部 絵野沢伸

A. 研究目的

医薬品開発には、通常、10年以上の歳月と数百億円の巨額の研究開発費を要する。よって研究開発の中止は企業経営に大きな影響を与えるため、製薬企業各社は新薬開発の成功確率を高めることと研究開発期間の短縮に努めている。しかし、医薬品の開発段階における動物実験では、薬物代謝にかかわる動物種差のため、ヒトの薬物動態を予測することは難しい。実際、臨床試験の段階で開発中止となる医薬候補品はその60%に達するが、その原因の約8割が種差に起因するものである。

広島県地域結集型共同研究事業（研究統括：広島大学大学院理学研究科 吉里勝利）で開発されたヒト肝細胞キメラマウス（以後、キメラマウス）は、マウス肝臓の70%以上がヒト肝細胞で置換されており、キメラマウス肝臓におけるヒト肝細胞は、薬物代謝に関わるヒト型酵素系をドナー肝細胞と同様のレベルで発現していることが分かっている。このため、キメラマウスは医薬品開発に必須であるヒトにおける薬物の動態および安全性を予測するモ

デル動物になり得ると期待されている。

新規医薬品の開発においては尿中排泄と共に胆汁への排泄データも求められている。また、薬物体内動態の解析、予測において胆汁への薬物排泄を定量的に調べることは、肝薬物移行の解明上も極めて重要である。胆汁排泄試験にヒト肝細胞で置換されたキメラマウスを用いることができれば、ヒトの胆汁中薬物代謝の予測にも有用となる。

しかしながら、マウスの胆汁排泄試験は技術的に容易ではない。さらに非拘束条件下でマウス胆汁を採取することは困難であり、これまで確立された方法はない。そこで本研究では、キメラマウスを用いた上記胆汁排泄試験を行うため、マウスの非拘束型胆汁排泄モデル系の開発を試みた。

B. 研究方法

1. ヒト肝細胞キメラマウスの作製

免疫不全肝障害マウス（以下uPA^{+/+}/SCIDマウス）は肝障害マウス（uPAトランスジェニックマウス）と免疫不全マウス（SCIDマウス）とを交配させることによって作出された。uPA^{+/+}/SCIDマウスへのヒト肝細胞の移植はマウスの脾臓に1匹あたり0.75-1.0 x 10⁶個のヒト肝細胞を20 μlに懸濁し脾臓から注入した。移植後3週目から週1回のペースでマウス血液を尾静脈から2 μl採取し、抗ヒトアルブミン抗体を結合させたラテックスビーズを用いた比濁法のキットでマウス血中ヒトアルブミン濃度を測

定した。肝へのヒト肝細胞の生着及びその後の置換の程度はあらかじめ求めたマウス血中のヒトアルブミン濃度とマウス肝臓切片におけるヒトサイトケラチン 8/18 抗体による免疫染色の相関係数から算出した。

2. マウス胆嚢カニューレシヨシ術法の開発

キメラマウスに対する胆嚢へのカニューレシヨシ術は実体顕微鏡下で行った。マウスに麻酔薬を腹腔内投与し、十分麻酔が効いたところで仰向けの状態で腹部を横切開した。十二指腸に近い部分の総胆管を結紮した後、胆嚢の一部を切開して抜出防止ストッパー付きのポリウレタン製カニューレ（内径：0.3 mm）を挿入した。挿入したカニューレのストッパーの手前側で胆嚢とカニューレを一緒に縛り、カニューレを固定した。胆嚢に接続したカニューレの反対端は、腹部皮下を通してマウスの体外へ露出させた後、切開した腹部を縫合した。

3. マウス小型非拘束胆汁回収装置の開発

本研究ではキメラマウスを通常とほぼ同じ生理的条件下において、それから経時的に胆汁を回収するため、マウスがケージ内を拘束されないで自由に且つ軽く動くことができるよう独自の非拘束胆汁回収装置の開発を行った。

非拘束胆汁回収装置は市販のマウス飼育ケージ本体およびケージの蓋を改造して作製した。マウスの動きに合わせてケージの長手方向に振り子のような動きをするコの字型のアームを装置に取り付けた。装置本体とマウスの接続はケージ内を縦横無尽に移動するマウスの動きを考慮し、ランドセルタイプのハーネスに結束バンドの固定具を組み合わせたものを用いた。マウス胆嚢に挿入したカニューレは、皮下を通してハーネスユニットに導入し、マウス噛み切り防止用コイルスプリング、上部を切断し底に穴を開けたプラスチックチューブを介して市販のシーベルに接続した。シーベルの反対端にもカニューレを接続し、そこから装置より低い位置に取り付けた胆汁回収チューブに接続した。

4. キメラマウス胆汁の胆汁酸組成分析

キメラマウス及びヒトから採取した胆汁の組成を分析し、それぞれ比較した。各胆汁を試料として、抗ヒトアルブミン抗体を用いたイムノブロット解析を行った。次に胆汁中の胆汁酸であるグリココール酸(GC)とタウロコール酸(TC)について高速液体クロマトグラフィーによる分析を行った。

5. キメラマウスへのモデル化合物投与試験

キメラマウスにヒトで代謝経路が確認されているモデル化合物を投与し、回収した胆汁中代謝物を探索することでキメラマウスの非拘束胆汁排泄モデルが医薬品開発におけるヒト代謝予測に有用であるか検証した。

まず、拘束状態でキメラマウスに³H-S-warfarin および¹⁴C-ジアゼパムを投与した。胆嚢カニューレシヨシ術を施したマウスをうつぶせにプレートに固定した。マウスが覚醒した状態で³H-S-warfarin は 30 mg/kg、¹⁴C-ジアゼパムは 5.13 mg/10 μ Ci で経口投与した。露出させたカニューレはマウスより低い位置に置いた 1.5 ml チューブに接続し、胆汁を 24 時間回収した。胆汁中代謝物分析はそれぞれ HPLC、TLC で分析した。

次に非拘束胆汁回収装置に接続したキメラマウスにナテグリニドとアトルバスタチンの 2 種類の化合物の投与試験を行った。キメラマウスに胆嚢カニューレシヨシ術を施し、非拘束胆汁回収装置に接続した。ナテグリニドは 10 mg/kg/day でキメラマウスに 5 日間反復投与し、その胆汁を投与開始から 5 日間、1 日ごとに回収した。アトルバスタチンはキメラマウスに 50 mg/kg で単回投与し、その胆汁を 5 日間、1 日ごとに回収した。回収した胆汁中アトルバスタチンおよび、その代謝物の分析は LC/MS/MS で行った。回収した胆汁中ナテグリニドおよび、その代謝物の分析は LC/MS/MS で行った。

(倫理面への配慮)

キメラマウスに移植するヒト肝細胞は、海外において適切な手続きを経て加工され、販売されているものを購入して使用した。ヒト肝細胞を持つキメラ

マウス作製に関しては、動物実験の倫理指針に従って実施し、(株) フェニックスバイオの社内倫理委員会において研究計画の承認を得た上で行った。マウス非拘束型胆汁排泄モデルのための手術は全身麻酔下で行い、実験終了時には苦痛を最小限にとどめて死亡させた。拘束状態で胆汁を回収する場合は、24 時間以内に実験を終了させ、実験終了時には苦痛を最小限にとどめて死亡させた。

C. 研究結果

1. ヒト肝細胞キメラマウスの作製

今年度胆汁排泄試験に使用したキメラマウスは非接着性の凍結ヒト肝細胞ロットである BD-061 を移植したものをを用いた。BD-061 は融解後の細胞生存率が約 75% で、1 バイアル当たり約 9 匹のマウスに移植が可能であった。キメラマウスの置換率は BD-061 を移植したキメラマウスの解剖時のマウス血中ヒトアルブミン濃度により予測し、最終的にはマウス肝臓切片におけるヒトサイトケラチン 8/18 抗体による免疫染色により求めた。BD-061 を uPA^{-/-}/SCID マウスに移植して 60 日目以降にマウス血中ヒトアルブミン濃度が 6.0 mg/ml 以上に達したマウスを高置換率キメラマウス (置換率 70% 以上) とした。

2. 胆嚢カニューレーション施術法の開発

キメラマウスに対する胆嚢カニューレーション施術法を開発した。胆嚢にカニューレを挿入する手法をとったことで体重が小さくストレスに弱いとされるキメラマウスから胆汁を回収することが可能となった。胆嚢に挿入するカニューレは先端を加工し、ストッパーをつけることでカニューレの抜出等のトラブルを防ぐことができた。この方法を用いることにより、継続的にキメラマウスから胆汁を回収することが可能となった。

3. 非拘束胆汁回収装置の開発

ラット用の非拘束胆汁回収装置を基にキメラマウスが軽快にストレスなく動くことができる独自の非拘束胆汁回収装置の開発を行った。

装置とマウスを接続するハーネスについてはマウスの体に合わせて拘束具の長さが調整できるため、マウスの喉や体に拘束具が食い込むことはなく、ハーネスがマウスから外れることもなかった。また、マウスの動きに追従してシーベルユニットが動作するため、マウスが非拘束胆汁回収装置に接続されていてもカニューレのねじれをおこすことなくケージ内を移動することが可能となった。この装置を用いてキメラマウスから非拘束状態で胆汁を回収したところ、2 週間以上の胆汁回収が可能であった。

4. キメラマウス胆汁の胆汁酸組成分析

キメラマウスから回収した胆汁をヒト胆汁と比較した。抗ヒトアルブミン抗体を用いたイムノプロット解析でキメラマウスの胆汁中にはヒト胆汁と同程度のヒトアルブミンが存在することが明らかとなった。次にキメラマウス及びヒト胆汁中の胆汁酸、特に TC と GC について HPLC による解析を行った。キメラマウス胆汁にはヒト胆汁には存在しマウス胆汁には存在しない GC が検出された。

5. キメラマウスへのモデル化合物の投与試験

キメラマウスがヒトの胆汁中薬物代謝の予測に有用であるか検証するため、ヒトで代謝経路が確認されているモデル化合物 4 種類を投与する試験を行った。まず、胆嚢カニューレーション施術を施したキメラマウスに拘束状態で ³H-*S*-warfarin を 30 mg/kg 経口投与し、胆汁を回収した。回収した胆汁を HPLC で分析した結果、胆汁中に排泄された *S*-warfarin 及び、既知の代謝物の割合は、4'-OH : 5.31%、6-OH : 8.38%、7-及び、8-OH の重複ピーク : 9.33%、未変化体 : 18.65% で 24 時間の放射能の排泄率は 9.53% であった。また、¹⁴C-ジアゼパム 5.13 mg/10 µCi/Body を単回経口投与した際の胆汁中代謝物について TLC 分析を行ったところ、24 時間までに未変化体が 1.81%、M-1 が 0.67% 及び M-2 が 0.74% であった。

次に非拘束状態での胆汁排泄試験を行った。ナテグリニドを 10 mg/kg/day でキメラマウスに 5 日間反復投与し、その胆汁を投与開始から 5 日間、1 日ごとに回収した。キメラマウスから回収した胆汁を

LC/MS/MS で分析した結果、ナテグリニドおよび、その代謝物を全てのサンプルにおいて確認することができた。さらにアトルバスタチンを 50 mg/kg で単回投与し、胆汁を 5 日間、1 日ごとに回収した。キメラマウスから回収した胆汁を LC/MS/MS で分析した結果、アトルバスタチンおよび、その代謝物が経時的に減少する様子を観察することができた。

D. 考察

ヒトの薬物動態を反映するとされるキメラマウスの胆汁排泄モデルを開発するにあたり、キメラマウスに対する胆汁排泄施術法の開発を行った。ラットに比べて体の小さなマウスの胆管にカニューレを挿入して胆汁を回収することは困難なため、胆嚢にカニューレを挿入する手法をとった。胆管より大きな胆嚢にカニューレを挿入することで体重が小さくストレスに弱いとされるキメラマウスから胆汁を回収することが可能となった。

次に胆汁を継続的に回収するため、非拘束状態で胆汁を回収できる装置の開発を行った。マウスの動きに合わせて長手方向にスイングするアームユニットを装置に組み込むことでマウスは装置内で制限されることなく行動することが可能であった。この装置を使用し、マウスが装置内でストレスなく行動できるようになったことでキメラマウスから 2 週間以上安定的に胆汁回収をすることが可能となった。

キメラマウスから回収した胆汁の組成をマウス胆汁およびヒト胆汁と比較した。キメラマウスから採取した胆汁にヒトアルブミンが高濃度に存在すること、ヒト胆汁には存在しマウス胆汁には存在しない GC が検出された。このことから、置換されたヒト肝細胞が胆汁分泌機能を営み、また肝組織内において肝実質細胞の極性を有しており、基底側へ胆汁分泌を行っていることが示唆された。

キメラマウスがヒトの胆汁中薬物代謝の予測に有用であることを検証するため、ヒトで代謝経路が確認されているモデル化合物 4 種類を投与する試験を行った。 ^3H -*S*-warfarin の投与試験では、7-及び、8-OH 体の重複ピークの割合が 4'-OH や 6-OH に比べて多かった。これは、ヒトにおいて *S*-warfarin が

CYP2C9 により芳香環の主に 7 位、一部は 6 位が酸化され、7 位水酸化体が主要代謝物として生成するという報告と一致していた。また、キメラマウス胆汁中には *S*-warfarin の未変化体が比較的多量に検出されたことから、肝臓から胆汁へ排出された *S*-warfarin は腸管から再吸収され門脈を経て肝臓に戻り、能動輸送で肝細胞に取り込まれる腸肝循環により最終的にはほとんど代謝されると考えられた。 ^{14}C -ジアゼパムを投与したキメラマウスから回収した胆汁を TLC 分析したところ、胆汁中に脂溶性代謝物 M-1, M-2 よりも未変化体が多く排泄されていることから、ヒトでジアゼパムはわずかながら腸肝循環していることが推察される。ナテグリニドの投与試験では胆汁にヒト特異的な代謝物であるグルクロン酸抱合体だけでなく、他の代謝物も排泄されていることが確認された。このことからキメラマウスに化合物を反復投与し、経時的に胆汁を採取することで単回投与のときよりも大量にヒト特異的な代謝物を回収できることが確認された。また、アトルバスタチンを投与した試験ではキメラマウスでラットやイスで確認された半減期より長い代謝を示したことから、ヒトで半減期の長い胆汁代謝物の回収がキメラマウスの非拘束胆汁回収モデルで可能であることがわかった。

これまでの動物実験では胆汁の採取は麻酔下に開腹して行うことが多く、このような非生理的状況が薬物の排泄における血中・胆汁中分配に影響を与える可能性がある。本モデルではその点が改良され、得られる胆汁量も拘束状態での胆汁回収に比べて多い。また、ヒトの代謝が解明されている化合物のキメラマウスへの投与実験からもキメラマウスの非拘束胆汁排泄モデルはヒトの薬物動態を反映した胆汁を回収できる非常に優れたモデルであると考えられる。

E. 結論

本研究で開発したキメラマウスの非拘束胆汁排泄モデルは生理的条件下に近い状態でヒトの薬物動態を反映した胆汁を回収できる非常に優れたモデルであると考えられる。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Chise Tateno, Yasumi Yoshizane, Naomi Saito, Miho Kataoka, Rie Utoh, Chihiro Yamasaki, Asato Tachibana, Yoshinori Soeno, Kinji Asahina, Hiroshi Hino, Toshimasa Asahara, Tsuyoshi Yokoi, Toshinori Furukawa, Katsutoshi Yoshizato: Near-completely humanized liver in mice shows human-type metabolic responses to drugs. *Am J Pathol*, 165:901-912, 2004
- 2) Miki Katoh, Tomohiko Matsui, Miki Nakajima, Chise Tateno, Miho Kataoka, Yoshinori Soeno, Toru Horie, Kazuhide Iwasaki, Katsutoshi Yoshizato, and Tsuyoshi Yokoi: Expression of Human CYPs in Chimeric Mice with Humanized Liver. *Drug Metab Dispos* 32:1402-1410, 2004
- 3) Masuhiro NISHIMURA, Tsuyoshi YOKOI, Chise TATENO, Miho KATAOKA, Eiji Takahashi, Toru HORIE, Katsutoshi YOSHIZATO, and Shinsaku NAITO: Induction of Human CYP1A2 and CYP3A4 in Primary Culture of Hepatocytes from Chimeric Mice with Humanized Liver. *Drug Metabolism and Pharmacokinetics* (in press)
- 4) Chise Tateno, Toru Horie, Katsutoshi Yoshizato: Chimeric mice with human hepatocytes—a new tool for preclinical evaluation of new medicines— *The Cell*, 36:328-332, 2004
- 5) 立野知世、吉里勝利: ヒト肝細胞キメラマウス 月刊薬事、46:1877-1880、2004
- 6) 立野知世、吉里勝利: ヒトの肝細胞を持つキメラマウス LABI021、No. 19、6-10、2005
- 7) 立野知世、吉里勝利: ヒト肝細胞を導入したスキッドマウス 摘出ヒト組織/細胞を用いた非臨床研究、(株) エル・アイ・シー (印刷中)
- 8) Katoh, M., Matsui, T., Nakajima, M., Tateno, C., Soeno, Y., Horie, T., Iwasaki, K., Yoshizato, K., and Yokoi, T. (2005). In vivo induction of human cytochrome P450 enzymes expressed in chimeric mice with humanized liver. *Drug Metabolism and Disposition*. 33, 754-763.
- 9) Nishimura, M., Yokoi, T., Tateno, C., Kataoka, M., Takahashi, E., Horie, T., Yoshizato, K., and Naito, S. (2005). Induction of human CYP1A1 and CYP3A4 in primary culture of hepatocytes from chimeric mice with humanized liver. *Drug Metabol. Pharmacokin.* 20, 121-126.
- 10) Tsuge, M., Hiraga, N., Takaishi, H., Noguchi, C., Oga, H., Imamura, M., Takahashi, S., Iwao, E., Fujimoto, Y., Ochi, H., Chayama, K., Tateno, C., and Yoshizato, K. (2005). Infection of human hepatocyte chimeric mouse which genetically engineered hepatitis B virus. *Hepatology*, 42, 1046-1054.
- 11) Katoh, M., Matsui, T., Okumura, H., Nakajima, M., Nishimura, M., Naito, S., Tateno, C., Yoshizato, K., and Yokoi, T. (2005). Expression of human phase II enzymes in chimeric mice with humanized liver. *Drug Metabolism and Disposition*. 33, 1333-1340.
- 12) Emoto K., Tateno C., Hino H., Amano H., Imaoka Y., Asahina K., Asahara T., and Yoshizato K. Efficient In Vivo Xenogeneic Retroviral Vector-Mediated Gene Transduction into Human Hepatocytes. *HUMAN GENE THERAPY* 16:1138-1174, 2005
- 13) 吉里勝利. ヒト肝細胞キメラマウス. 化学と生物. 印刷中
- 14) 小林英司、添野吉徳、堀江透. 拘束実験技術—古くて新しい技術. *Biophilia*: Vol.1 No.3 p43 2005
- 15) 宮本義孝、絵野沢 伸. 細胞の保存と蘇生. *Organ Biology* 12(4):263-272,
- 16) Aoki, K., Kashiwagura, Y., Horie, T., Sato, H., Tateno, C., Ozawa, N., Yoshizato, K. 2006. Characterization of Humanized Liver from Chimeric Mice Using Coumarin as a Human CYP2A6

- and Mouse CYP2A5 Probe. Drug Metab. Pharmacokinet. 21, 277-285
- 17) 向谷(立野)知世, 森川 良雄, 吉里 勝利 ヒト肝細胞キメラマウス New Technology Vol.33 No.1 P650-651
- 18) 吉里勝利 医学のあゆみ キメラマウス vol. 218 NO.9 P805-807 2006
- 19) Chise Tateno, Miho Kataoka, Rie Utoh, Chihiro Yamasaki, Asato Tachibana, Kenjiro Wake, Koji Inoue, Katsutoshi Yoshizato Chimeric Mice with Human Hepatocytes_Growth Ability of Human Hepatocytes in Liver of an Immunodeficient and Liver-damaged Mouse Model- Minophagen Proceedings
- 20) 吉里勝利 ヒト肝細胞キメラマウス 化学と生物 vol. 44 no. 6 2006 P352-354 ヒト肝細胞キメラマウス
- 21) Chise Tateno, Katsutoshi Yoshizato SINUSOID NEWSLETTER INTERNATIONAL Chimeric mice whose livers have human hepatocytes -Future Aspects of the Humanized Chimeric Mouse Whose Liver in Almost Completely Repopulated with Human Hepatocytes-
- 22) Miyamoto Y, Suzuki S, Nomura K, Enosawa S. Improvement of hepatocyte viability after cryopreservation by supplementation of long-chain oligosaccharide in the freezing medium in rats and humans. Cell Transplantation 15(10); 911-919, 2006
- 23) Tokiwa T, Yamazaki T, Xin W, Sugae N, Noguchi M, Enosawa S, Tsukiyama T. Differentiation potential of an immortalized non-tumorigenic human liver epithelial cell line as liver progenitor cells. Cell Biology International 30; 992-998, 2006
- 24) 絵野沢 伸. 書評 ビッグ・ファーマ 製薬会社の真実. Organ Biology 13(2); 181-182, 2006
2. 学会発表
- 1) 吉里勝利: マウスを媒体として増殖させたヒト肝細胞の医学・医療分野における応用、連携大学院セミナー、2004. 7. 30、長崎医療センター
- 2) 吉里勝利: 肝再生医療の展望、第2回 COE「細胞社会学の拠点形成」セミナー、2004. 9. 22、岡山大学
- 3) 添野吉徳、安達弥永、海老根博樹、大曾根義泰、井上多恵、袴田陽二、二ノ宮真一、小林英司、吉里勝利、堀江透: ヒト薬物代謝予測へのヒト肝細胞キメラマウスの利用(II)ーキメラマウスのフリームービングシステムを用いた胆汁排泄ー、第19回薬物動態学会年会ポスター発表(18PE-38)、2004. 11. 17~11. 19、石川県立音楽堂・金沢全日空ホテル
- 4) 吉里勝利: 「マウスで増殖させたヒト肝細胞の性質と創薬への利用」、動物細胞工学シンポジウム、2005. 11. 30、東京大学山上会館
- 5) 吉里勝利: 「再生医療の最前線」、第5回日本再生医療学会総会、2006. 3. 8、岡山コンベンションセンター
- 6) 井上多恵、新田華容子、杉原数美、北村繁幸、堀江透、太田茂: 「ヒト肝細胞を有するキメラマウスにおける warfarin 代謝」、日本薬学会第126年会、2006. 3. 30、仙台国際センター
- 7) 堀江透、立野知世: 「The utilization of chimeric mice (humanized mice) in drug discovery and development」、PACIFICHEM 2005, 2005. 12. 15, Honolulu, USA
- 8) 絵野沢 伸. トランスポーターの医工学的利用. ワークショップ4. 薬物体内動態、代謝酵素とトランスポーター. 第12回日本臓器保存生物医学会総会 筑波 平成17年11月25-26日
- 9) 宮本義孝、山田奈央、絵野沢 伸. 糖質を利用した肝細胞の保存技術の開発とその有用性. シンポジウム1. 細胞・組織・臓器保存法の進展. 第12回日本臓器保存生物医学会総会 筑波 平成17年11月25-26日
- 10) 絵野沢 伸. 医学研究における人由来組織の必要性. ワークショップ2. ヒト由来資源の応用. 日本生命倫理学会第17回年次大会 東京 平成17年11月19-20日

- 11) 宮本義孝、山田奈央、絵野沢 伸. 糖質効果を利用したヒト肝細胞の凍結保存. 日本生物工学会 第57回大会 筑波 平成17年11月15-17日
- 12) 若林 正、絵野沢 伸、小林英司. 医学研究における「既存試料」の取扱いに関する一般市民の意識. 第4回日本再生医療学会総会 平成17年3月1-2日
- 13) 向谷(立野)知世 鶴頭 理恵、片岡 美穂、山崎ちひろ、立花 亜里、吉里 勝利 ヒト肝細胞キメラマウスの医薬品開発への応用 平成18年6月16日 第2回広島肝臓プロジェクト研究センターシンポジウム
- 14) 向谷(立野)知世 片岡 美穂、宮 冬樹、角田 達彦、妙見 夕佳、山縣 彰、大房 健、吉里 勝利 ヒト肝細胞キメラマウスのヒト成長ホルモン投与によるヒト肝細胞の遺伝子およびタンパク質発現の変化 平成18年6月30日-7月1日 第13回肝細胞研究会
- 15) 片岡美穂 鶴頭理恵、立野(向谷)知世、吉里勝利 継代移植ヒト肝細胞キメラマウスに見られる脂肪性肝炎の解析 平成18年6月30日~7月1日 第13回肝細胞研究会
- 16) 山崎ちひろ 向谷(立野)知世、片岡 美穂、二宮 真一、安達 弥永、松田 直、舛本 法生、初迫 博幸、五十嵐 友香、五十嵐 由希子、浅原 利正、吉里 勝利 ヒト肝細胞キメラマウスから分離した肝細胞の *in vitro* における機能評価 平成18年6月30日-7月1日 第13回肝細胞研究会
- 17) 向谷(立野)知世 片岡 美穂、吉里 勝利ヒト肝細胞キメラマウスにおける脂肪肝およびNASH様病変に関する研究 平成18年8月26日 OSAKA CITY LIVER CLUB
- 18) Y. Morikawa H. Ohshita, M. Nakagawa, C. Ohnishi, A. Yanagi, T. Arimura, M. Kakuni, Y. Kageyama, T. Horie, S. Enosawa, C. Tateno, K. Chayama, K. Yoshizato Utilization and application of chimeric mice with humanized liver for studies of cell biology and pharmacology as *in vivo* human model. 平成18年9月3日-9月7日 16th International Symposium on Microsomes and Drug Oxidation
- 19) Chise Tateno Miho Kataoka, Rie Utoh, Chihiro Yamasaki, Asato Tachibana, Kenjiro Wake, Koji Inoue, Katsutoshi Yoshizato Chimeric Mice with Human Hepatocytes -Growth Ability of Human Hepatocytes in Liver of an Immunodeficient Liver-damaged Mouse Model 平成18年9月8日 Minophagen International Symposium 2006 "Liver Cell Injury, Pathogenesis and Therapeutic Implications"
- 20) Chise Tateno Miho Kataoka, Norio Masumoto, Rie Utoh, Asato Tachibana, Fuyuki Miya, Tatsuhiko Tsunoda, Katsutoshi Yoshizato Human growth hormone induces the growth of human hepatocytes and ameliorates liver steatosis in human hepatocyte-chimeric mice 平成18年10月31日 The Liner Meeting 2006
- 21) Miho Kataoka Chise Tateno, Rie Utoh, Katsutoshi Yoshizato A Humna NASH mouse model: a chimeric mouse produced by transplanting human hepatocytes isolated from liver of uPA/SCID mice that had been near completely replaced with human hepatocytes 平成18年10月31日 The Liner Meeting 2006
- 22) 森川 良雄、大下 浩樹、柳 愛美、大西 千元、中川 真紀子、景山 豊、堀江 透、向谷(立野) ヒト肝細胞キメラマウスの作製と *in vivo* ヒトモデルとしての医薬品開発および細胞生物学への応用 平成19年3月13日-3月14日 第6回日本再生医療学会
- 23) 絵野沢 伸. 人由来組織の医療、研究、創薬の視点からみた利用の現状について. 第124回ヒューマンサイエンス振興財団研究資源委員会. 平成18年4月21日、東京
- 24) 宮本義孝、鈴木 聡、絵野沢 伸. 肝細胞の凍結液組成の基礎的検討-オリゴ糖の効果-. 第13回肝細胞研究会. 平成18年6月30日-7月1日 旭川
- 25) 宮本義孝、鈴木 聡、小川亜希子、絵野沢 伸.

セリシンを利用したヒト肝細胞凍結保存液の検討.
第 58 回日本生物工学会大会. 大阪. 平成 18 年 9
月 11-13 日

26) 宮本義孝、絵野沢 伸、竹内朋代、竹澤俊明.
ビトリゲル薄膜担体上で培養した状態での細胞の
凍結保存と蘇生. 第 33 回日本臓器保存生物医学会
学術集会 一ツ橋、東京 平成 18 年 11 月 23, 24
日

27) ISSX-JSSX(仙台、10 月 2007 年)予定

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許出願

実験用小動物飼育容器 (特願 2005 年 第
149768 号)

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

平成18年度
政策創薬総合研究
重点研究報告書(Ⅰ)

平成19年7月31日発行

発行 財団法人 ヒューマンサイエンス振興財団
〒103-0001 東京都中央区日本橋小伝馬町13番4号
共同ビル(小伝馬町駅前)4F
電話 03(3663)8641 FAX 03(3663)0448

印刷 株式会社 ソーラン社