

(2002)

- (3) Okuno M, Kojima S, Akita K, Matsushima-Nishiwaki R, Adachi S, Sano T, Takano Y, Takai K, Obora A, Yasuda I, Shiratori Y, Okano Y, Shimada J, Suzuki Y, Muto Y, Moriwaki H : Retinoids in Liver Fibrosis and Cancer. *Front Biosci* 7, d204-d218 (2002)
- (4) Kato M, Tajika M, Miwa Y, Moriwaki H : Validation of a portable indirect calorimeter (Metavine(R)) for measuring energy expenditure in an elderly population. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 29(Suppl.):S9-S12 (2002)
- (5) Yasuda I, Shiratori Y, Adachi S, Obora A, Takemura M, Okuno M, Shidoji Y, Seishima M, Muto Y, Moriwaki H : Acyclic retinoid induces partial differentiation, down-regulates telomerase reverse transcriptase mRNA expression and telomerase activity, and induces apoptosis in human hepatoma-derived cell lines. *J Hepatol* 36, 660-671 (2002)
- (6) Yasuda S, Nagaki M, Moriwaki H : Staphylococcal enterotoxin B induces hepatic injury and lethal shock in endotoxin-resistant C3H/HeJ mice despite a deficient macrophage response. *J Endotoxin Res* 8, 253-261 (2002)
- (7) Tajika M, Kato K, Mohri H, Miwa Y, Kato T, Ohnishi H, Moriwaki H : Prognostic value of energy metabolism in patients with viral liver cirrhosis. *Nutrition* 18, 229-234 (2002)
- (8) Obora A, Shiratori Y, Okuno M, Adachi S, Takano Y, Matsushima-Nishiwaki R, Yasuda I, Yamada Y, Akita K, Sano T, Shimada J, Kojima S, Okano Y, Friedman SL, Moriwaki H : Synergistic induction of apoptosis by acyclic retinoid and interferon- β in human hepatocellular carcinoma cells. *Hepatology* 36, 1115-1124 (2002)
- (9) Naiki T, Nagaki M, Shidoji Y, Kojima H, Imose M, Kato T, Ohishi N, Yagi K, Moriwaki H : Analysis of gene expression profile induced by hepatocyte nuclear factor 4a in hepatoma cells using an oligonucleotide microarray *J Biol Chem* 277, 14011-14019 (2002)
- (10) Akita K, Okuno M, Enya M, Imai S, Moriwaki H, Kawada N, Suzuki Y, Kojima S : Impaired liver regeneration in mice by lipopolysaccharide via TNF- α /kallikrein mediated activation of latent TGF- β . *Gastroenterology* 123, 352-364 (2002)
- (11) Adachi S, Okuno M, Matsushima-Nishiwaki R, Takano Y, Kojima S, Friedman SL, Moriwaki H, Okano Y : Phosphorylation of retinoid X receptor at serine 260 suppresses its ubiquitin/proteasome-mediated degradation in human hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 35, 332-340 (2002)
- (12) Osawa Y, Nagaki M, Banno Y, Brenner DA, Takahiko Asano, Nozawa Y, Moriwaki H, Nakashima S : TNF- α -induced IL-8 production via NF- κ B and phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathways inhibits cell apoptosis in human hepatocytes. *Infect Immun* 70, 6294-6301 (2002)
- (13) Miwa Y, Fukushima H, Moriwaki H, Muto Y : Nutritional pharmacotherapy of liver cirrhosis for prognosis and improvement of quality of life. *J Clin Biochem Nutr* 31, 1-8 (2002)
- (14) Noda K, Miyoshi E, Kitada T, Nakahara S, Gao CX, Honke K, Shiratori Y, Moriwaki H, Sasaki Y, Kasahara A, Hori M, Hayashi N, Taniguchi N : The enzymatic basis for the conversion of nonfucosylated to fucosylated alpha-fetoprotein by acyclic retinoid treatment in human hepatoma cells: activation of alpha1-6 fucosyltransferase. *Tumour Biol* 23, 202-211 (2002)

2001年以前

- (1) Shimizu M, Hara A, Okuno M, Matsuno H, Okada K, Ueshima S, Matsuo O, Niwa M, Akita K, Yamada Y, Yoshimi N, Uematsu T, Kojima S, Friedman SL, Moriwaki H, Mori H. Mechanism

- of retarded liver regeneration in plasminogen activator-deficient mice: Impaired activation of hepatocyte growth factor after Fas-mediated massive hepatic necrosis. *Hepatology* 33:569-576, 2001
- (2) Okuno M, Akita K, Moriwaki H, Kawada N, Ikeda K, Kameda K, Suzuki Y, Kojima S. Prevention of hepatic fibrosis by the protease inhibitor, camostat mesilate, via reduced generation of active TGF- β . *Gastroenterology* 120:1784-1800, 2001
 - (3) Osawa Y, Nagaki M, Banno Y, Nozawa Y, Moriwaki H, Nakashima S. Sphingosine kinase-mediated formation of sphingosine 1-phosphate inhibits apoptosis through activation of Phosphatidylinositol 3-kinase/AKT in human hepatocytes stimulated by tumor necrosis factor- α . *J Immunol* 167:173-180, 2001
 - (4) Matsushima-Nishiwaki R, Okuno M, Adachi S, Sano T, Akita K, Moriwaki H, Friedman SL, Kijima S. Phosphorylation of retinoid X receptor α at serine 260 impairs its metabolism and function in human hepatocellular carcinoma. *Cancer Res* 61:7675-7682, 2001
 - (5) Nagaki M, Naiki T, Brenner DB, Osawa Y, Imose M, Hayashi H, Banno Y, Nakashima S, Moriwaki H. Tumor necrosis factor α prevents tumor necrosis factor receptor-mediated mouse hepatocyte apoptosis, but not Fas-mediated apoptosis: Role of nuclear factor- κ B. *Hepatology* 32:1272-1279, 2000
 - (6) Muto Y, Moriwaki H, Saito A. Prevention of second primary tumors by an acyclic retinoid in patients with hepatocellular carcinoma. *N Engl J Med* 340:1046-1047, 1999
 - (7) Moriwaki H, Yasuda I, Shiratori Y, Uematsu T, Okuno M, Muto Y. Deletion of serum lectin-reactive α -fetoprotein by acyclic retinoid: A potent biomarker in the chemoprevention of second primary hepatoma. *Clin Cancer Res* 3:727-731, 1997
 - (8) Muto Y, Moriwaki H, Ninomiya M, Adachi S, Saito A, Takasaki KT, Tanaka T, Tsurumi K, Okuno M, Tomita E, Nakamura T, Kojima T. Prevention of secondary primary tumors by a retinoid, Polyprenoic acid, in patients with hepatocellular carcinoma. *N. Engl. J. Med.* 334:1561-1567, 1996
 - (9) Y. Muto, H. Moriwaki. Antitumor Activity of Vitamin A and Its Derivatives. *J. Natl. Cancer Inst.* 73:1389-1394, 1984

平成 23 年度 肝炎等克服緊急対策研究事業『成果概要』

研究課題：B型肝炎ウイルス感染の病態別における宿主因子等について、網羅的な遺伝子解析を用い、新規診断法及び治療法の開発を行う研究

課題番号：H23-肝炎-一般-005

予定期間：H23 年度から H25 年度まで

研究代表者：徳永勝士

所属研究機関：国立大学法人 東京大学

所属部局：大学院医学系研究科人類遺伝学分野

職名：教授

年次別研究費(交付決定額)：1 年目 74,100,000 円

I. 研究の意義

- (1) B 型肝炎ウイルス感染に起因する各種病態に関わる宿主因子については、B 型慢性肝炎と HLA-DP 遺伝子の関連以外、十分に解明されていない。
- (2) B 型慢性肝炎と HLA-DP 遺伝子の関連の機序は不明である。
- (3) 各種病態の形成に関わる宿主因子とウイルス因子の相互作用は未解明である。
- (4) SNP 間相互作用解析や遺伝子パスウェイ・ネットワーク解析はほとんど行われていない。

II. 研究の目的、期待される成果

- (1) 各種病態形成(HBV 持続感染、HBV 関連肝癌、HBV 再活性化、HBV 重症化・劇症化、薬剤応答性)に関わる宿主因子を、網羅的ゲノム解析により同定し、新たな診断法や治療法の開発に寄与する。
- (2) 遺伝子発現解析、遺伝子機能の解析により、疾患発症機序の解明に貢献する。
- (3) 宿主因子とウイルス因子の相互作用を解析し、新規診断法や治療法の開発に貢献する。
- (4) SNP 間相互作用や遺伝子パスウェイ・ネットワークの解析により、多数の遺伝要因を同定する。

III. 1 年間の研究成果

・研究代表者(徳永勝士)

- (1) 新規ゲノムワイド SNP タイピングプラットフォームの条件を確立し、420 人の健常者データを取得した(西田と共同)。
- (2) 研究計画について、東京大学医学部ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理審査委員会へ申請し、承認を得た。引き続き班員および研究協力施設に倫理申請の依頼を行った。
- (3) 慢性肝炎群と HBV 排除群(HBsAg 陰性、HBcAb 陽性)のゲノムワイド関連解析から、HLA-DP 遺伝子が B 型肝炎ウイルスの排除にも寄与することを明らかにした(西田、溝上、田中らと共同)。

・研究分担者(溝上雅史)

- (1) 臨床検体の収集と解析のため、倫理審査委員会の承認を得た。
- (2) 患者 DNA・血清および臨床情報を保管するソフトウェア開発およびサーバの整備を行った。

・研究分担者(五條掘孝)

- (1) 検体の臨床情報と SNP タイピングデータを統合し、web 上でゲノム解析を行う為のプラットフォーム作りに着手した。

・研究分担者(脇田隆宇)

- (1) HBV 複製細胞を用い、ウイルスゲノム・RNA・ウイルス蛋白質の検出系をそれぞれ構築した。
- (2) 初代培養肝細胞に HBV を感染させ、接種ウイルス量に依存してウイルス感染を確認した。
- (3) ヒト肝細胞キメラマウスを作製し、ウイルスの感染感受性などを確認した。

・研究分担者(小池和彦)

- (1) この 1 年間の治療症例のうち、HBV 単独陽性の肝細胞癌症例 71 人の検体採取を行なった。
- (2) この 1 年間の急性 B 型肝炎症例 2 人の検体採取を行なった。

・研究分担者(持田智)

- (1) 埼玉医科大学の倫理委員会の承認を得て、検体を採取する体制を確立した。
- (2) HBV の既往感染例で免疫抑制・化学療法後に再活性化する症例および核酸アナログ製剤を中止した後に HBV-RNA が再上昇する症例を集積し、その臨床的、ウイルス的背景を解析した。

・研究分担者(八橋弘)

- (1) HBeAg 陽性 B 型慢性肝疾患患者の長期観察を行い、11 例の肝癌症例を認めた。発癌リスクとして年齢、AFP 値、HBeAg のセロコンバージョン(SC)年齢の 3 因子が抽出された。
- (2) 長崎医療センターの倫理委員会の承認を得て、検体を採取する体制を確立した。

・研究分担者(横須賀収)

- (1) HBV 感染における HBe 抗原セロコンバージョン後にウイルス遺伝子が多様性を示すことを明らかにした。
- (2) HBe 抗原陰性慢性 B 型肝炎の自然史を検討し、血小板の低下が肝細胞癌発生予測に有用であることを明らかにした。

・研究分担者(坂元亨宇)

- (1) 組織プロテオーム解析により、肝細胞癌のプログレッションの指標となる分子マーカーTalin-1 を同定した。

・研究分担者(武富紹信)

- (1) 所属する機関の倫理審査委員会に研究計画を申請中である。

・研究分担者(松本晶博)

- (1) HBV の機能別に解析する「連続変数型遺伝子関連検査法」の開発に成功。
- (2) HBV Basal core promoter および precore 変異と HBV DNA, HBs 抗原および HB コア関連抗原の変化の関係が、HBe 抗原のセロコンバージョン前後で異なることを証明した。

・研究分担者(松田浩一)

- (1) HLA-DP 遺伝子で層別化してゲノムワイド関連解析を行った結果、慢性肝炎の新たな感受性遺伝子として HLA-DQ 遺伝子を同定した。
- (2) HCV 陽性肝癌の感受性遺伝子として MICA を同定した。また MICA 遺伝子多型は HBV 陽性肝癌の発症リスクにも寄与することが示された。

・研究分担者(西田奈央)

- (1) 健常群 420 検体を対象に、新規のゲノムワイド SNP タイピングシステムを確立、実施した (徳永との共同)。
- (2) 慢性肝炎群と HBV 排除群(HBsAg 陰性、HBcAb 陽性)のゲノムワイド関連解析から、HLA-DP 遺伝子が B 型肝炎ウイルスの排除にも寄与することを明らかにした (徳永、溝上、田中らとの共同)。

・研究分担者(本多政夫)

- (1) B 型慢性肝炎(CH-B)、CH-B 関連肝癌(HCC-B)および C 型慢性肝炎(CH-C)、CH-C 関連肝癌(HCC-C)の肝組織を用い、慢性肝炎から肝癌発症に関わる遺伝子ネットワーク解析ならびに検証を試みた。
- (2) HCC-C ではリンパ球で発現する遺伝子が多く、HCC-B では細胞増殖群が多く認められた。また、CH-C の遺伝子クラスターとして炎症関連クラスター、CH-B では肝細胞に発現する機能未知の遺伝子群を認めた。

・研究分担者(宮寺浩子)

- (1) B 型肝炎慢性化に関連を示す HLA-DP アリルの組換えタンパク質発現系を構築した。
- (2) 組換え HLA-DP タンパク質に対する HBV 由来ペプチドの結合実験を開始した。

・研究分担者(間野修平)

- (1) データのクリーニングの手続きを確立した。
- (2) 臨床データと全ゲノム SNP タイピングのデータから疾患に関連する臨床とゲノムの交互作用の解析手法を確立した。

・研究分担者(鈴木哲朗)

- (1) ラミブジン投与 B 型肝炎患者の HBV 遺伝子解析を行い、S 抗原、ポリメラーゼ変異を伴う新たな HBV 変異を同定した。

・研究分担者(田中靖人)

- (1) 全国多施設共同研究により、検体とその検体についての臨床データおよび患者様情報(付帯情報)の収集を行った。各施設において検体とデータは、連結可能な匿名化を行った上で提出頂いた。
- (2) HBs 抗原陽性の肝がん患者 60 例検体と、年齢を一致させた非肝がん患者(無症候性キャリア、慢性肝炎)60 例をコントロールとして、ウイルス遺伝子解析を行った。

IV. 平成 24~25 年度の課題

- (1) 検体の収集および臨床情報の蓄積を継続して行う。
- (2) 各病態についてゲノムワイド SNP 解析や高密度マッピングを行い、宿主側遺伝要因を同定する。
- (3) 各病態についてウイルスゲノムの SNP 解析を行い、ウイルス側要因を同定する。

- (4) 相互作用解析など新たな統計解析手法による遺伝要因の探索を行う。
(5) 同定された遺伝要因について、遺伝子発現解析や遺伝子機能解析を行う。
(6) 宿主側・ウイルス側の両要因が考慮された新規診断法及び新規治療法の開発を目指す。

V. 行政施策への貢献の可能性

HBV 感染に起因する各病態に寄与する宿主側・ウイルス側の両遺伝要因が同定されることにより、新規診断法の開発が期待される。また、肝炎の発症・重篤化などの機序の解明が進み、新規治療法の開発に応用されることにより、患者数の減少、医療費の低減に繋がることが期待される。

VI. 本研究の成果(発表論文・ガイドライン・マニュアル等)

徳永勝士

Tanaka Y, Kurosaki M, Nishida N, Sugiyama M, Matsuura K, Sakamoto N, Enomoto N, Yatsuhashi H, Nishiguchi S, Hino K, Hige S, Itoh Y, Tanaka E, Mochida S, Honda M, Hiasa Y, Koike A, Sugauchi F, Kaneko S, Izumi N, Tokunaga K, Mizokami M. Genome-wide association study identified ITPA/DDR1GK1 variants reflecting thrombocytopenia in pegylated interferon and ribavirin therapy for chronic hepatitis C. *Hum. Mol. Genet.* 20(17): 3507-3516, 2011.

溝上雅史

Sugiyama M, Inui A, Shin-I T, Komatsu H, Mukaide M, Masaki N, Murata K, Ito K, Nakanishi M, Fujisawa T, Mizokami M. Easy-to-use phylogenetic analysis system for hepatitis B virus infection. *Hepatol. Res.* 41(10): 936-945, 2011.

脇田隆字

Sugiyama M, Tanaka Y, Wakita T, Nakanishi M, Mizokami M. Genetic Variation of the IL-28B Promoter Affecting Gene Expression. *PLoS One* 6(10): e26620, 2011.

小池和彦

Ikeda H, Tateishi R, Enooku K, Yoshida H, Nakagawa H, Masuzaki R, Kondo Y, Goto T, Shiina S, Kume Y, Tomiya T, Inoue Y, Nishikawa T, Ohtomo N, Tanoue Y, Ono T, Koike K, Yatomi Y. Prediction of hepatocellular carcinoma development by plasma ADAMTS13 in chronic hepatitis B and C. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 20: 2204-2211, 2011.

八橋弘

Tamada Y, Yatsuhashi H, Masaki N, Nakamuta M, Mita E, Komatsu T, Watanabe Y, Muro T, Shimada M, et al. Hepatitis B virus strains of subgenotype A2 with an identical sequence spreading rapidly from the capital region to all over Japan in patients with acute hepatitis B. *Gut* 2011 Nov 7. [Epub ahead of print]

横須賀收

Wu S, Imazeki F, Kurbanov F, Fukai K, Arai M, Kanda T, Yonemitsu Y, Tanaka Y, Mizokami M, Yokosuka O. Evolution of hepatitis B genotype C viral quasi-species during hepatitis B e antigen seroconversion. *J. Hepatol.* 54(1): 19-25, 2011.

坂元亨宇

Kanamori H, Kawakami T, Effendi K, Yamazaki K, Mori T, Ebinuma H, Masugi Y, Du W, Nagasaka K, Ogiwara A, Kyono Y, Tanabe M, Saito H, Hibi T, Sakamoto M. Identification by Differential Tissue Proteome Analysis of Talin-1 as a Novel Molecular Marker of Progression of Hepatocellular Carcinoma. *Oncology* 80: 406-415, 2011.

武富紹信

Sugimachi K, Shirabe K, Taketomi A, Soejima Y, Iguchi T, Takeishi K, Toshima T, Aishima S, Tajima T, Maehara Y. Prognostic significance of preoperative imaging in recipients of living donor liver transplantation for hepatocellular carcinoma. *Transplantation*. 91(5): 570-574, 2011.

松田浩一

Mbarek, H., Ochi, H., Urabe, Y., Kumar, V., Kubo, M., Hosono, N., Takahashi, A., Kamatani, Y., Miki, D., Abe, H., Tsunoda, T., Kamatani, N., Chayama, K., Nakamura, Y., and Matsuda, K. A genomw-wide association study of chronic hepatitis B identified novel risk locus in a Japanese population. *Hum. Mol. Genet.* 20(19): 3884-3892, 2011.

西田奈央

Tanaka Y, Kurosaki M, Nishida N, Sugiyama M, Matsuura K, Sakamoto N, Enomoto N, Yatsuhashi H, Nishiguchi S, et al. Genome-wide association study identified ITPA/DDR1GK1 variants reflecting thrombocytopenia in pegylated interferon and ribavirin therapy for chronic hepatitis C. *Hum. Mol. Genet.* 20(17): 3507-3516, 2011.

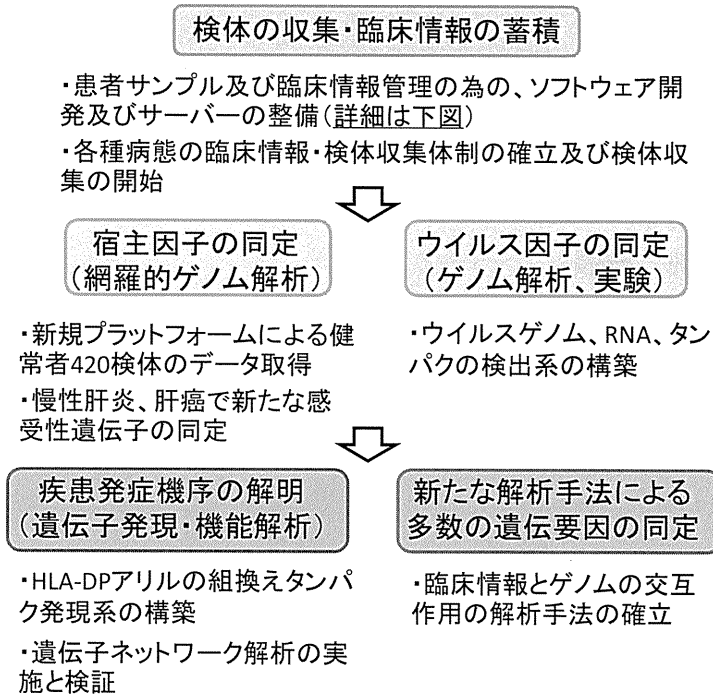
本多政夫

Mizukoshi E, Nakamoto Y, Arai K, Yamashita T, Sakai A, Sakai Y, Kagaya T, Yamashita T, Honda M, Kaneko S. Comparative analysis of various tumor-associated antigen-specific t-cell responses in patients with hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 53(4): 1206-1216, 2011.

田中靖人

Yuen MF, Ka-Ho Wong D, Lee CK, Tanaka Y, Allain JP, Fung J, Leung J, Lin CK, Sugiyama M, Sugauchi F, Mizokami M, Lai CL. Transmissibility of Hepatitis B Virus (HBV) Infection through Blood Transfusion from Blood Donors with Occult HBV Infection. *Clin. Infect. Dis.* 52(5): 624-632. 2011.

Ⅶ. Ⅲ (1年間の研究成果)の概要図等



(1) 平成 23 年度は検体の収集・臨床情報の蓄積に必須であるソフトウェア開発及びサーバーの整備を中心に行った(詳細は下の概略図参照)。

(2) 宿主因子・ウイルス因子同定の為の準備として、新規プラットフォームでのデータ取得、実験系の構築を行った。

(3) 疾患発症機序の解明へ向けて、遺伝子発現解析と遺伝子機能解析を目的とした実験系の構築を行った。

(4) 検体の臨床情報・宿主ゲノム情報・ウイルスの情報等を総合して多数の遺伝要因を同定する為の新たな解析方法を確立した。

●研究代表者の研究歴等

・過去に所属した研究機関の履歴

昭和58年 東京大学理学部人類学教室 助手

(昭和62年から63年までオーストラリア・パース Royal Perth Hospital, Dept. of Clinical Immunology にて Senior Research Fellow として研究)

平成元年 東京大学医学部附属病院輸血部 助手

平成4年 日本赤十字中央血液センター研究部 課長

平成7年 東京大学大学院医学系研究科 (国際保健学専攻) 人類遺伝学分野 教授
(平成19年より同研究科国際保健学専攻長 現在に至る)

・主な共同研究者(又は指導を受けた研究者)

十字猛夫、笹月健彦、門脇孝、溝上雅史

・主な研究課題

多因子疾患 (肝炎、結核などの感染症、睡眠障害、糖尿病など) の遺伝要因のゲノム全域探索
HLA (ヒト白血球抗原) 遺伝子群の多様性と疾患関連

・これまでの研究実績

主な原著論文

(1) Okamoto K, Tokunaga K, Doi, K, Fujita T, Suzuki H, Katoh T, Watanabe T, Nishida N, Mabuchi A, Takahashi A, Kubo M, Maeda S, Nakamura Y, and Noiri E: Common variation in GPC5 is associated with acquired nephrotic syndrome. **Nat. Genet.** 43: 459-463, 2011.

(2) Okamoto K, Iwasaki N, Nishimura C, Doi K, Noiri E, Nakamura S, Takizawa M, Ogata M, Fujimaki R, Grarup N, Pisinger C, Borch-Johnsen K, Lauritzen T, Sandbaek A, Hansen T, Yasuda K, Osawa H, Nanjo K, Kadowaki T, Kasuga M, Pedersen O, Fujita T, Kamatani N, Iwamoto Y, and Tokunaga K: Identification of KCNJ15 as a susceptibility gene in Asian patients with type 2 diabetes mellitus. **Am. J. Hum. Genet.** 86: 54-64, 2010.

(3) HUGO Pan-Asian SNP Consortium (90名からなる国際コンソーシアムのため、個々の著者名は省略). Mapping human genetic diversity in Asia. **Science** 326: 1541-1545, 2009.

(4) *Tanaka Y, Nishida N, Sugiyama M, Kurosaki M, Matsuura K, Sakamoto N, Nakagawa M, Korenaga M, Hino K, Hige S, Ito Y, Mita E, Tanaka E, Mochida S, Murawaki Y, Honda M, Sakai A, Hiasa Y, Nishiguchi S, Koike A, Sakaida I, Imamura M, Ito K, Yano K, Masaki N, Sugauchi F, Izumi N, Tokunaga K, and Mizokami M:*

Genome-wide association of IL28B with response to pegylated interferon-alpha and ribavirin therapy for chronic hepatitis C. Nat. Genet. 41: 1105-1109, 2009. (C型肝炎のインターフェロン・リバビリン療法への応答性遺伝子 *IL28B* を、分担研究者の溝上、田中らと共同で発見、すでに臨床の場に遺伝子診断法として導入されている)

(5) Miyagawa T, Kawashima M, Nishida N, Ohashi J, Kimura R, Fujimoto A, Shimada M, Morishita S, Shigeta T, Lin L, Hong SC, Faraco J, Shin YK, Jeong JH, Okazaki Y, Tsuji S, Honda M, Honda Y, Mignot E, and Tokunaga K:

Variant between CPT1B and CHKB associated with susceptibility to narcolepsy. **Nat. Genet.** 40(11): 1324-1328, 2008.
(50万種以上のSNPを用いるGWAS(ゲノムワイド関連解析)をいち早く導入、世界に先駆けて睡眠障害の遺伝要因を複数同定し、発症機序の解明に貢献している)

(6) Nakatsuji N, Nakajima F, and Tokunaga K: Highly efficient HLA-haplotype banking of pluripotent stem cell lines is possible by identification of homozygotes and production of induced pluripotent stem cells. **Nat. Biotech.** 26(7): 739-740, 2008.

(7) Kuroki K, Tsuchiya N, Shiroishi M, Rasubala L, Yamashita Y, Matsuta K, Fukazawa T, Kusaoi M, Murakami Y, Takiguchi M, Juji T, Hashimoto H, Kohda D, Maenaka K, and Tokunaga K: Extensive polymorphisms of LILRB1 (ILT2, LIR1) and their association with HLA-DRB1 shared epitope negative rheumatoid arthritis. **Hum. Mol. Genet.** 14: 2469-2480, 2005.

(8) Omi K, Ohashi J, Patarapotikul J, Hananantachai H, Naka I, Looareesuwan S, and Tokunaga K: CD36 polymorphism is associated with protection from cerebral malaria. **Am. J. Hum. Genet.** 72: 364-374, 2003.

(9) Kobayashi K, Nakahori Y, Miyake M, Matsumura K, Kondo-Iida E, Momura Y, Segawa M, Yoshioka M, Saito K, Osawa M, Hamano K, Sakakibara Y, Nonaka I, Nakagome Y, Kanazawa I, Nakamura Y, Tokunaga K, and Toda T: An ancient retrotransposal insertion causes Fukuyama-type congenital muscular dystrophy. **Nature** 394: 388-392, 1998.

(10) Wang L, Juji T, Tokunaga K, Takahashi K, Kuwata S, Uchida S, Tadokoro K, and Takai K: Polymorphic microsatellite markers for the diagnosis of graft-versus-host disease. **N. Engl. J. Med.** 330: 398-401, 1994.

(11) Uchigata Y, Kuwata S, Tokunaga K, Eguchi Y, Takayama-Hasumi S, Miyamoto M, Omori Y, Juji T, and Hirata Y: Strong association of insulin autoimmune syndrome with HLA-DR4. **Lancet** 339: 393-394, 1992.

(12) Tokunaga K, Sauerecker G, Kay P, Christiansen F, Anand R, and Dawkins RL: Extensive deletions and insertions in different MHC supratypes detected by pulsed field gel electrophoresis. **J. Exp. Med.** 168: 933-940, 1988

(Nature、Science、Nature Genetics、New England Journal of Medicine、Lancet、Nature Medicine、Nature Biotechnology 誌に15報発表、その他英文原著論文460報以上発表)

特許申請：12件

政策提言：

- (1) 人類遺伝学会理事として、遺伝病、薬理ゲノミクス等の遺伝子診断・検査のガイドライン策定に参加
- (2) 現在、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」(三省指針)に関する専門委員会の委員として指針の見直しに参加

平成 23 年度 肝炎等克服緊急対策研究事業『成果概要』

研究課題：慢性C型肝炎患者由来HCV株感受性正常肝細胞による
病原性発現機構の解明および薬剤評価系の構築

課題番号：H23-肝炎-若手-006

予定期間：H23 年度から H25 年度まで

研究代表者：伊藤 昌彦

所属研究機関：浜松医科大学

所属部局：医学部

職名：助教

年次別研究費(交付決定額)：1 年目 5,000,000 円

I. 研究の意義

- (1) 現在の治療法による治癒率は 50%を少し上回る程度であり、遺伝子型や HCV ゲノム変異による薬剤耐性から、新たな HCV 特異的抗ウイルス剤の開発が望まれている。
- (2) 特に個々の患者 HCV 株に対する薬剤効果や新規治療薬開発のために新たな評価培養系の確立が急務である。
- (3) これまで患者血清から HCV 株を効率よく感染増殖できる細胞株・培養細胞系は樹立されていない。
- (4) HCV に関する研究は限られたヒト肝癌細胞株で行われており、正常細胞株での病原性発現機構に関する知見は不足している。

II. 研究の目的、期待される成果

- (1) 慢性 C 型肝炎感染患者由来の HCV 株を高効率に分離培養できる正常肝細胞株を樹立する。
- (2) HCV 感染および複製に関与する新規因子の同定。
- (3) 慢性 C 型肝炎感染患者由来の多種の HCV 株の病原性発現機構の解明。
- (4) 患者由来 HCV 株の薬剤感受性および耐性獲得機構の解明。

III. 1 年間の研究成果

・研究代表者

- (1) 肝前駆細胞を分化誘導するための支持基質の比較を行い、TypeIV コラーゲンが HCV 感染受容体の発現、HCVcc(J6/JFH1)感染能が高いことを明らかにした。
- (2) 成熟肝細胞特異的な遺伝子発現および HCV 感染受容体の発現を指標に、肝前駆細胞から適した分化誘導条件を確立した。
- (3) ヒト肝癌細胞株である Huh-7 に OCT3/4, SOX2, KLF4 LIN28, NANOG を発現するレトロウイルスを感染させることにより、iPS 細胞(低分化細胞)を樹立した。この細胞はオーバル細胞に近い発現を有しており、Huh-7 と異なる HCV 感染性、複製能を示していた。これらの細胞の mRNA、miRNA の網羅的な発現の比較検討を行った。

- ・研究分担者なし

IV. 平成 24 年度の課題

- (1) HCV 感染および複製に関与する新規因子の探索
- (2) 患者由来 HCV 株感染性細胞株のスクリーニング
- (3) 患者由来 HCV 株の特性および病原性の解析
- (4) 患者由来 HCV 株の薬剤感受性および耐性獲得機構の解明

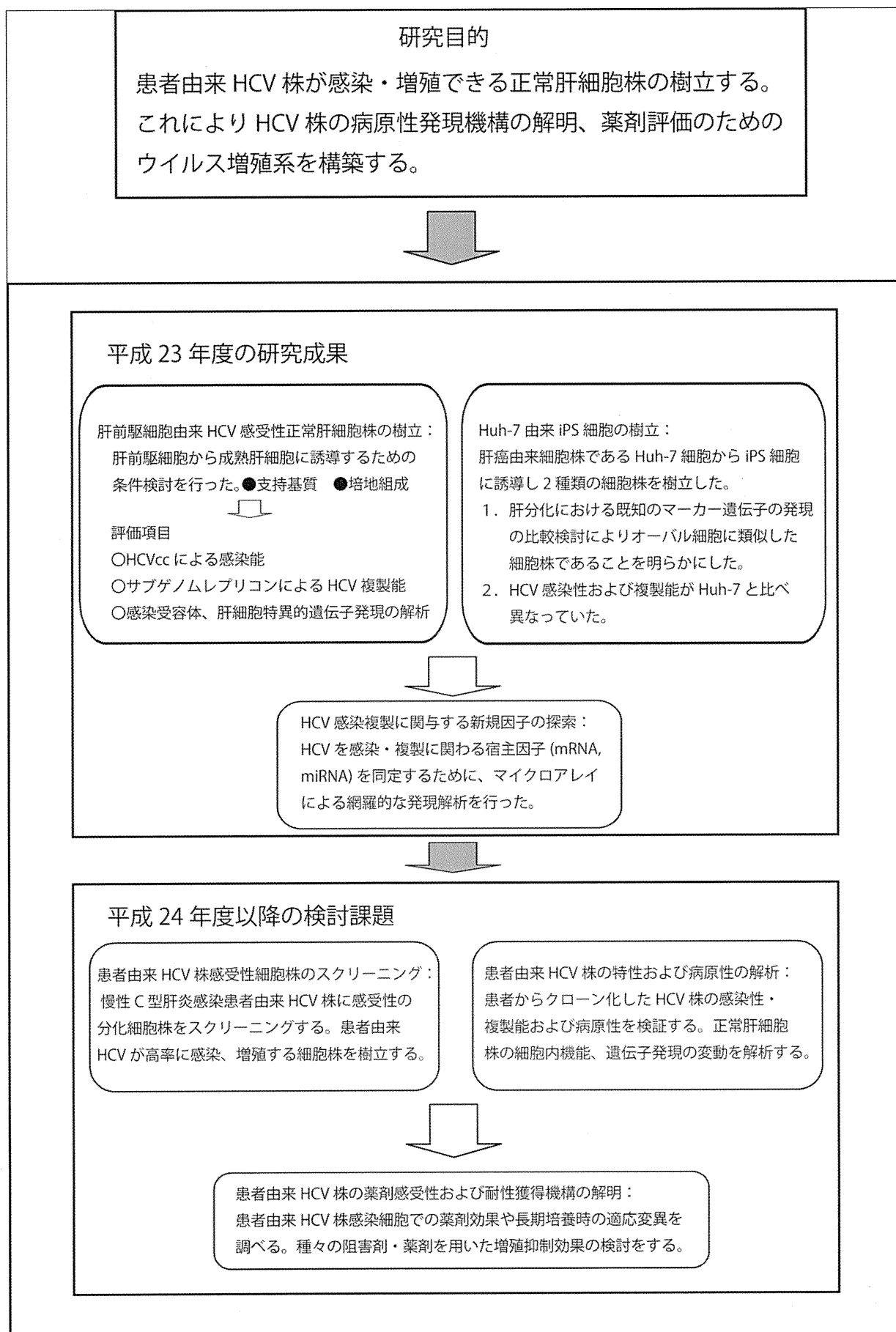
V. 行政施策への貢献の可能性

C 型肝炎ウイルスに関する研究は、これまで限られたヒト肝癌細胞株と HCV 株の組み合わせにより行われてきた。しかしながら、HCV の病原性発現の分子機構を解析するためには、本来の肝細胞機能を有する正常ヒト肝細胞に様々な患者由来 HCV 株が感染増殖することのできるモデルが必要である。本研究によりこのモデルを樹立することは、患者個々の HCV 株の病原性発現の解析のみならず、既存の薬剤の効果の検証、さらには新規治療薬の評価法としても有用となりえる。より効果的な薬剤の選択は肝炎患者にとって大きな福音になるものと思われる。本研究は、保健、医療、福祉の向上とともに、医療費の低減が期待される。

VI. 本研究の成果(発表論文・ガイドライン・マニュアル等)

本年度は、本研究により得られた成果での発表論文・ガイドライン・マニュアル等の作成は無し。

Ⅶ. Ⅲ (1年間の研究成果)の概要図等



●研究代表者の研究歴等

・過去に所属した研究機関の履歴

2010年7月 - 現在：浜松医科大学医学部感染症学講座 助教
2009年4月 - 2010年6月：山口大学総合科学実験センター 助教
2008年4月 - 2009年3月：財団法人ウイルス肝炎財団 リサーチ・レジデント
2008年4月 - 2009年3月：国立感染症研究所血液・安全性研究部 流動研究員
2007年4月 - 2008年3月：国立感染症研究所血液・安全性研究部 非常勤職員
2007年4月 - 2009年3月：東京女子医科大学医学部第二生理学教室 非常勤講師
2004年12月 - 2009年3月：国立成育医療センター研究所 共同研究員
2004年4月 - 2007年3月：東京女子医科大学医学部第二生理学教室 特任助手
2001年4月 - 2004年3月：日本学術振興会特別研究員(DC1)

・主な共同研究者(又は指導を受けた研究者)

鈴木哲朗 (浜松医科大学・医学部感染症学講座・教授)
水落利明 (国立感染症研究所・血液安全性研究部・室長)
山口一成 (国立感染症研究所・血液安全性研究部・部長)
益見厚子 (国立感染症研究所・血液安全性研究部・主任研究官)
宮崎俊一 (東京女子医科大学・学長)
瀬藤光利 (浜松医科大学・解剖学講座・教授)
谷口英樹 (横浜市立大学大学院・医学研究科臓器再生医学・教授)

・主な研究課題

C型肝炎ウイルス(HCV)の研究

HCV 感染増殖細胞系の開発と複製調節機構に関する研究

HCV ゲノムパッケージングと粒子形成に関する研究

HCV 感染と脂質代謝異常に関する研究

患者血清からの HCV 単離法に関する研究

慢性 C 型肝炎患者にみられる肝外病変発症機構に関する研究

HCV 感染における自然免疫応答異常に関する研究

B 細胞への HCV 感染およびリンパ腫発症に関する研究

B型肝炎ウイルス(HBV)の研究

HBV の複製調節、粒子産生機構に関する研究

・これまでの研究実績

《発表論文》

1. M Ito, H Kusunoki, T Mizuochi. Peripheral B cells as reservoirs for persistent HCV infection. Front. Microbiol., 2; 177, 2011.
2. M Ito, H Kusunoki, K Mochida, K Yamaguchi, T Mizuochi. HCV infection and B-cell

- lymphomagenesis. *Adv. Hematol.*, 2011; 835314, 2011.
3. Mizuochi T, M Ito, Takai K, Yamaguchi K. Peripheral blood memory B cells are resistant to apoptosis in chronic hepatitis C patients. *Virus Res.*, 155; 349-351, 2011.
 4. M. Ito, A. Masumi, K. Mochida, H. Kukihara, K. Moriishi, Y. Matsuura, K. Yamaguchi, T. Mizuochi, Peripheral B cells may serve as a reservoir for persistent hepatitis C virus infection, *J. Innate Immun.*, 2, 607-617, 2010.
 5. M. Ito, K. Murakami, T. Suzuki, K. Mochida, M. Suzuki, K. Ikebuchi, K. Yamaguchi, T. Mizuochi, Enhanced expression of lymphomagenesis-related genes in peripheral blood B cells of chronic hepatitis C patients, *Clin. Immunol.*, 135, 459-465, 2010.
 6. A. Masumi, M. Ito, K. Mochida, I. Hamaguchi, T. Mizukami, H. Momose, M. Kuramitsu, M. Tsuruhara, K. Takizawa, A. Kato, K. Yamaguchi, Enhanced RIG-I expression is mediated by interferon regulatory factor-2 in peripheral blood B cells from hepatitis C virus-infected patients, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 391, 1623-1628, 2010.
 7. T. Mizuochi, M. Ito, K. Saito, M. Kasai, T. Kunimura, T. Morohoshi, H. Momose, I. Hamaguchi, K. Takai, Possible recruitment of peripheral blood CXCR3+ CD27+ CD19+ B cells to the liver of chronic hepatitis C patients, *J. Interferon Cytokine Res.*, 30, 243-252, 2010.
 8. M. Ito, F. Mizoroki, K. Takai, K. Yamaguchi, T. Mizuochi, Functional phenotypes and gene expression profiles of peripheral blood mononuclear cells in chronic hepatitis C patients who developed non-Hodgkin's B-cell lymphoma, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 390, 269-272, 2009.
 9. T. Mizuochi, M. Ito, K. Takai, K. Yamaguchi, Differential susceptibility of peripheral blood CD5+ and CD5- B cells to apoptosis in chronic hepatitis C patients, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 389, 512-515, 2009.
 10. M. Ito, T. Shikano, K. Kuroda, S. Miyazaki, Relationship between nuclear sequestration of PLCzeta and termination of PLCzeta-induced Ca²⁺ oscillations in mouse eggs, *Cell Calcium*, 44, 400-410, 2008, corresponding author.
 11. K. Miyado, K. Yoshida, K. Yamagata, K. Sakakibara, M. Okabe, X. Wang, K. Miyamoto, H. Akutsu, T. Kondo, Y. Takahashi, T. Ban, C. Ito, K. Toshimori, A. Nakamura, M. Ito, M. Miyado, E. Mekada, A. Umezawa, The fusing ability of sperm is bestowed by CD9-containing vesicles released from eggs in mice, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 105, 12921-12926, 2008.
 12. M. Ito, T. Shikano, S. Oda, T. Horiguchi, S. Tanimoto, T. Awaji, H. Mitani, S. Miyazaki, Difference in Ca²⁺ oscillation-inducing activity and nuclear translocation ability of PLCZ1, an egg-activating sperm factor candidate, among mouse, rat, human and medaka fish, *Biol. Reprod.*, 78, 1081-1090, 2008, corresponding author.

13. K. Kuroda, M. Ito, T. Shikano, T. Awaji, A. Yoda, H. Takeuchi, K. Kinoshita, S. Miyazaki, The role of X/Y linker region and N-terminal EF-hand domain in nuclear translocation and Ca^{2+} oscillation-inducing activities of phospholipase C ζ , a mammalian egg-activating factor, *J. Biol. Chem.*, 281, 27794-27805, 2006, corresponding author.
14. S. Miyazaki, M. Ito, Calcium signals for egg activation in mammals, *J. Pharmacol. Sci.*, 100, 542-552, 2006.
15. H. Shirakawa, M. Ito, M. Sato, Y. Umezawa, S. Miyazaki, Measurement of intracellular IP_3 during Ca^{2+} oscillations in mouse eggs with GFP-based FRET probe, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 345, 781-788, 2006.
16. Y. Sone, M. Ito, H. Shirakawa, T. Shikano, H. Takeuchi, K. Kinoshita, S. Miyazaki, Nuclear translocation of phospholipase C-zeta, an egg - activating factor, during early embryonic development, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 330, 690-694, 2005.
17. M. Ito, M. Nakasato, T. Suzuki, S. Sakai, M. Nagata, F. Aoki, Localization of janus kinase 2 to the nuclei of mature oocytes and early cleavage stage mouse embryos, *Biol. Reprod.*, 71, 89-96, 2004.
18. M. Ito, S. Sakai, M. Nagata, F. Aoki, Effect of histone deacetylase inhibitors on early preimplantation development in mouse embryo, *J. Mamm. Ova Res*, 17, 90-95, 2000.

平成 23 年度 肝炎等克服緊急対策研究事業『成果概要』

研究課題：免疫機能を保持したヒト肝細胞キメラマウスによる慢性肝炎モデル作出

課題番号 : H23-肝炎-若手-007
 予定期間 : H23 年度から H25 年度まで
 研究代表者 : 紙谷 聡英
 所属研究機関 : 東京大学
 所属部局 : 医科学研究所
 職名 : 助教
 年次別研究費(交付決定額) : 1 年目 6,500,000 円

I. 研究の意義

- (1) B 型および C 型肝炎ウイルス (HBV, HCV) は種特異性から、マウス等の実験動物を用いた感染実験が困難である。
- (2) 免疫不全ヒト肝キメラマウスでは、HBV, HCV の *in vivo* での感染・増殖が可能だが、免疫細胞が欠損しており感染後の慢性肝炎が再現されない。
- (3) 免疫機能を保持した状態でヒト肝細胞の移植ができれば、肝炎ウイルスの研究に有用である。

II. 研究の目的、期待される成果

- (1) 患者由来のヒト繊維芽細胞を用いて、肝細胞誘導因子の遺伝子導入によりヒト肝前駆細胞を誘導する。
- (2) 免疫系の完成していない胎生期や新生児期のマウス肝臓にヒト肝幹・前駆細胞を移植し、ヒト細胞をレシピエントの免疫系に自己と認識させることで免疫寛容を促す。
- (3) 免疫不全動物を使用せず異種移植に対する免疫拒絶反応を抑制することで、免疫系を保持した状態でのヒト細胞の生着を可能としたキメラマウスを作成し、*in vivo* における肝炎ウイルスの感染・増殖に伴う炎症反応の再現系を構築する。

III. 1 年間の研究成果

※この期間にどのような成果があったか、研究代表者、研究分担者毎に、できるだけわかりやすく具体的に記述してください。

・研究代表者

- (1) 線維芽細胞から肝前駆細胞を分化誘導するために必要な遺伝子群の探索を行い、既知の分化誘導因子である HNF4 α および FoxA3 に加えて、新規の肝分化誘導因子を同定した。
- (2) ヒト肝幹・前駆細胞の *in vitro* での培養条件の探索を行い、ヒト iPS 細胞由来細胞を用いて、

肝幹・前駆細胞の増殖を促進する条件を見出した。

(3) マウス胎児および新生児への移植系の構築を行い、マウス胎児肝臓由来の肝幹・前駆細胞の移植により肝臓および異所性の生着・増殖が見られることが分かった。

：

IV. 平成 24～25 年度の課題

(1) 同定した肝分化誘導遺伝子を用いた、ヒト線維芽細胞からの肝前駆細胞の分化誘導および in vitro での純化・培養系を構築する。

(2) マウス胎児・新生児への肝前駆細胞の移植系を構築する

(3) ヒト線維芽細胞から誘導した肝前駆細胞の in vitro および in vivo でのウイルス感染実験を行う。

：

V. 行政施策への貢献の可能性

(1) 肝炎ウイルスによる慢性肝炎の発症を in vivo で再現することにより、ウイルス性肝炎の新規治療法の探索等に貢献できる。

：

VI. 本研究の成果(発表論文・ガイドライン・マニュアル等)

※本研究費において行った研究に対するもののみを記載してください。

※研究代表者、研究分担者、研究協力者ごとに、発表論文名・学協会誌名・発表年(西暦)、

知的財産権の取得及び申請状況、ガイドライン名・作成主体・策定年月日等を記載して下さい。

※執筆者全員を明記し、当該研究者名に下線を引いてください。

(1) 研究代表者 紙谷聡英

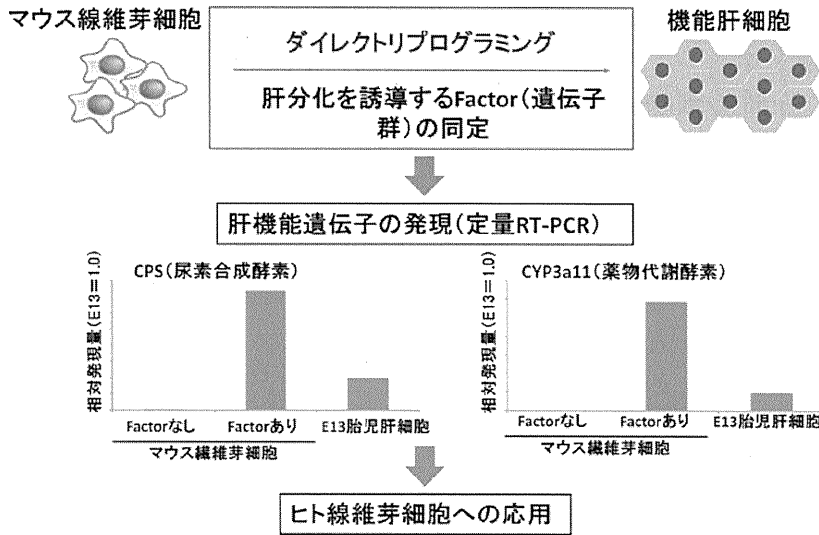
本年度は該当なし。

Ⅶ. Ⅲ (1年間の研究成果)の概要図等

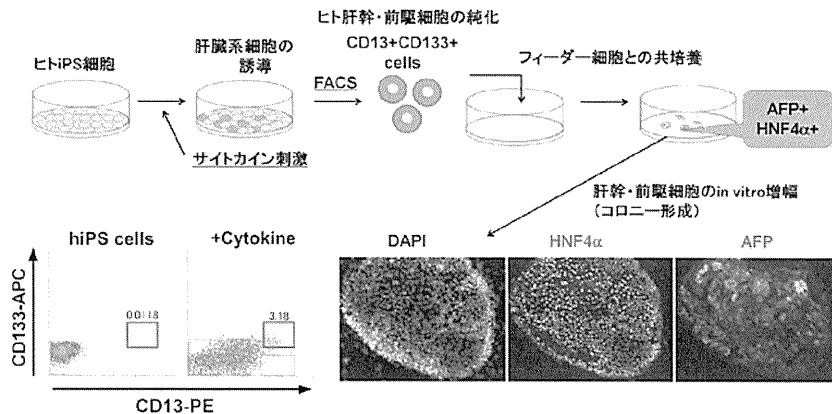
※ポンチ絵等でわかりやすく簡潔に説明してください。

平成23年度 成果概要

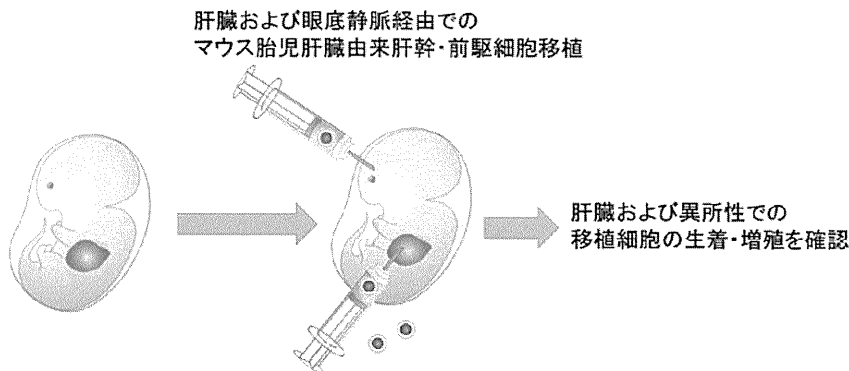
1. 線維芽細胞から肝細胞へのDirect Reprogramming 誘導因子の探索



2. ヒト肝幹・前駆細胞のin vitroでの純化・培養系の構築



3. 肝幹・前駆細胞のマウス胎児・新生児への移植系構築



●研究代表者の研究歴等

※研究代表者に関するもののみを記載してください。(研究代表者には下線をつけて下さい)

・過去に所属した研究機関の履歴

- 1999年4月-2001年10月 神奈川科学技術アカデミー・宮島幹細胞制御プロジェクト・研究員
2001年11月-2004年6月 Visiting Fellow, National Cancer Institute, National Institutes of Health, USA
2004年7月-2005年3月 東京大学医科学研究所・ヒト疾患モデル研究センター・高次機能分野・産学官連携研究員
2005年4月-2008年3月 東京大学医科学研究所・ヒト疾患モデル研究センター・高次機能(幹細胞治療)分野・助手(助教)
2008年4月-(現職) 東京大学医科学研究所・幹細胞治療研究センター・幹細胞治療分野・助教

・主な共同研究者(又は指導を受けた研究者)

- 宮島篤 教授 (東京大学・分子細胞生物学研究所・教授)
Dr. Frank Gonzalez (Laboratory Chief, National Cancer Institute, National Institutes of Health)
中内啓光 教授 (東京大学・医科学研究所・教授)

・主な研究課題

- ・肝幹・前駆細胞の増殖・分化を制御する分子メカニズムの解析
- ・多能性幹細胞および体細胞からの肝幹・前駆細胞誘導系の構築
- ・肝幹・前駆細胞の新規移植系・生体内増幅系の構築

・これまでの研究実績

※研究代表者の本研究の成果以外の実績も記載してください。

(成果概要VIと重複するものや本研究成果によるものは、太字・斜体文字で記載してください)

※発表論文名・学協会誌名・発表年(西暦)、知的財産権の取得及び申請状況、研究課題の実施を通じた政策提言(寄与した指針又はガイドライン等)のうち、主なものを選択し、直近年度から順に記載してください。

(原著論文)

- (1) Ito H, Kamiya A*, Ito K, Yanagida A, Okada K, Nakauchi H*. In vitro expansion and functional recovery of mature hepatocytes from mouse adult livers. Liver Int. 2011 in press. (*Corresponding Authors)
- (2) Nishimura S, Manabe I, Nagasaki M, Kakuta S, Iwakura Y, Takayama N, Ooehara J, Otsu M, Kamiya A, Petrich B, Urano T, Kadono T, Sato S, Aiba A, Yamashita H, Sugiura S, Kadowaki T, Nakauchi H, Eto K,

- Nagai R. In vivo imaging visualizes discoid platelet aggregations without endothelium disruption and implicates contribution of inflammatory cytokine and integrin signaling. *Blood*. 2011 in press.
- (3) Okada K, Kamiya A*, Ito K, Yanagida A, Ito H, Kondou H, Nishina H, Nakauchi H*. Prospective Isolation and Characterization of Bipotent Progenitor Cells in Early Mouse Liver Development. *Stem Cells Dev*. 2011 in press. (*Corresponding Authors)
- (4) Onozuka I, Kakinuma S, Kamiya A, Miyoshi M, Sakamoto N, Kiyohashi K, Watanabe T, Funaoka Y, Ueyama M, Nakagawa M, Koshikawa N, Seiki M, Nakauchi H, Watanabe M. Cholestatic liver fibrosis and toxin-induced fibrosis are exacerbated in matrix metalloproteinase-2 deficient mice. *Biochem Biophys Res Commun*. 406, 134-40, 2011
- (5) Chiba T, Seki A, Aoki R, Ichikawa H, Negishi M, Miyagi S, Oguro H, Saraya A, Kamiya A, Nakauchi H, Yokosuka O, Iwama A. Bmi1 promotes hepatic stem cell expansion and tumorigenicity in both Ink4a/Arf-dependent and independent manners. *Hepatology* 52, 1111-1123, 2010
- (6) Kamiya A*, Kakinuma S, Yamazaki Y, Nakauchi H*. Enrichment and clonal culture of progenitor cells during mouse postnatal liver development in mice. *Gastroenterology* 137, 1114-1126, 2009.
(*Corresponding Authors)
- (7) Kakinuma S, Ohta H, Kamiya A, Yamazaki Y, Oikawa T, Okada K, Nakauchi H. Analyses of cell surface molecules on hepatic stem/progenitor cells in mouse fetal liver. *J Hepatol*. 51, 127-138, 2009.
- (8) Yamada A, Suzuki D, Miyazono A, Oshima K, Kamiya A, Zhao B, Takami M, Donnelly R, Itabe H, Yamamoto M, Kimura S, Kamiyo R, IFN- γ down-regulates Secretoglobin 3A1 gene expression. *Biochem. Biophys. Res. Com.* 379, 964-968, 2009.
- (9) Oikawa T, Kamiya A*, Kakinuma S, Zeniya M, Nishinakamura R, Tajiri H, Nakauchi H*. Sall4 Regulates Cell Fate Decision in Fetal Hepatic Stem/Progenitor Cells. *Gastroenterology* 136, 1000-1011, 2009. (*Corresponding Authors)
- (10) Kamiya A*, Kakinuma S, Onodera M, Miyajima A, Nakauchi H*. Prospero-related homeobox 1 and liver receptor homolog 1 coordinately regulate long-term proliferation of murine fetal hepatoblasts. *Hepatology* 48, 252-64, 2008. (*Corresponding Authors)
- (11) Eto K, Nishikii H, Ogaeri T, Suetsugu S, Kamiya A, Kobayashi T, Yamazaki D, Oda A, Takenawa T, Nakauchi H. The WAVE2/Abi1 complex differentially regulates megakaryocyte development and spreading: implications for platelet biogenesis and spreading machinery. *Blood* 110, 3637-47, 2007.
- (12) Suzuki A, Ivandini TA, Kamiya A, Nomura S, Yamanuki M, Matsumoto K, Fujishima A, Einaga Y, Direct electrochemical detection of sodium azide in physiological saline buffers using highly boron-doped diamond electrodes. *Sensors and Actuators B* 120, 500-507, 2007.
- (13) Barbier O, Girard H, Inoue Y, Duez H, Villeneuve L, Kamiya A, Fruchart JC, Guillemette C, Gonzalez FJ and Staels B. Hepatic expression of the UGT1A9 is governed by HNF4alpha. *Mol. Pharm.* 67, 241-249,

2005.

- (14) Kamiya A, Inoue Y, Kodama T and Gonzalez FJ. Hepatocyte nuclear factors 1alpha and 4alpha control expression of proline oxidase in adult liver. *FEBS Lett.* 578, 63-68, 2004.
- (15) Kamiya A and Gonzalez FJ. Tumor necrosis factor- α regulates mouse fetal hepatic maturation induced by oncostatin M and extracellular matrices. *Hepatology* 40, 527-536, 2004.
- (16) Kamiya A, Inoue Y and Gonzalez FJ. Role of the hepatocyte nuclear factor 4alpha in control of the pregnane X receptor during fetal liver development. *Hepatology* 37, 1375-1384, 2003.
- (17) Anzai H, Kamiya A, Shirato H, Takeuchi T and Miyajima A. Impaired differentiation of fetal hepatocytes in homozygous jumonji mice, *Mech. Dev.* 120, 791-800, 2003.
- (18) Matsui T, Kinoshita T, Morikawa Y, Tohya K, Katsuki M, Ito Y, Kamiya A and Miyajima A. K-Ras mediates cytokine-induced formation of E-cadherin-based adherens junctions during liver development. *EMBO J.* 21, 1021-1030, 2002.
- (19) Kamiya A, Kojima N, Kinoshita T, Sakai Y and Miyajima A. Maturation of fetal hepatocytes in vitro by extracellular matrices and oncostatin M: Induction of tryptophan oxygenase. *Hepatology* 35, 1351-1359, 2002.
- (20) Kamiya A, Kinoshita T and Miyajima A. Oncostatin M and hepatocyte growth factor induce hepatic maturation via distinct signaling pathways. *FEBS Lett.* 492, 90-94, 2001.
- (21) Ito Y, Matsui T, Kamiya A, Kinoshita T and Miyajima A. Retroviral gene transfer of signaling molecules into murine fetal hepatocytes defines distinct roles for the STAT3 and ras pathways during hepatic development. *Hepatology* 32, 1370-1376, 2000.
- (22) Kojima N, Kinoshita T, Kamiya A, Nakamura K, Nakashima K, Taga T and Miyajima A. Cell density-dependent regulation of hepatic development by a gp130-independent pathway. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 277, 152-158, 2000.
- (23) Kinoshita T, Sekiguchi T, Xu MJ, Ito Y, Kamiya A, Tsuji K, Nakahata T and Miyajima A. Hepatic differentiation induced by oncostatin M attenuates fetal liver hematopoiesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 96, 7265-7270, 1999.
- (24) Kamiya A, Kinoshita T, Ito Y, Matsui T, Morikawa Y, Senba E, Nakashima K, Taga T, Yoshida K, Kishimoto T and Miyajima A. Fetal liver development requires a paracrine action of oncostatin M through the gp130 signal transducer. *EMBO J.* 18, 2127-2136, 1999.
- (25) Kinoshita T, Shirouzu M, Kamiya A, Hashimoto K, Yokoyama S and Miyajima A. Raf/MAPK and rapamycin-sensitive pathways mediate the anti-apoptotic function of p21Ras in IL-3-dependent hematopoietic cells. *Oncogene.* 15, 619-627, 1997.
- (26) Ito Y, Yamasaki K, Iwahara J, Terada T, Kamiya A, Shirouzu M, Muto Y, Kawai G, Yokoyama S, Laue