

d 13 (2012) 51.

[4] Y. Kudo, S. Iizuka, M. Yoshida, T. Tsunematsu, T. Kondo, A. Subarnbhesaj, E.M. Deraz, S.B. Siriwardena, H. Tahara, N. Ishimaru, I. Ogawa, T. Takata, Matrix Metalloproteinase-13 (MMP-13) Directly and Indirectly Promotes Tumor Angiogenesis, *J Biol Chem* 287 (2012) 38716-38728.

2. 学会発表

発表者名：嶋本 颯、田原栄俊

題名：Generation of induced pluripotent stem cells from Werner syndrome patients

学会名：10th Annual Meeting ISSCR

発表年月日：2012年6月15日

会場：パシフィコ横浜

発表者名：嶋本 颯、田原栄俊

題名：ウェルナー症候群から学ぶ老化機構

学会名：第54回日本老年医学会学術集会

発表年月日：2012年6月28日

会場：東京フォーラム

発表者名：嶋本 颯、田原栄俊

題名：リプログラミングはウェルナー症候群患者由来細胞の早期老化を抑制する

学会名：第35回日本分子生物学会年会

発表年月日：2012年12月11日

会場：福岡国際会議場

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

2. 実用新案登録

3. その他

肝移植後患者数の推計の試み

分担研究者 田中 純子
広島大学 大学院医歯薬保健学研究院 疫学・疾病制御学

研究要旨

重度肝機能障害者による身体障害者手帳の交付対象者は「3ヶ月以上 Child-Pugh 分類グレードC」または「肝移植を受け、抗免疫療法を実施」のいずれかに該当することである。本研究班ではこのうち、「肝移植を受け、抗免疫療法を実施」に該当する肝移植後患者数の2020年までの推計を行った。解析には肝移植症例登録報告（日本肝移植研究会 2010）に掲載された肝移植後患者数および肝移植後生存率を用いた。その結果2010年時点における期待生存者数は4,322~4,728人、2020年時点における期待生存者数は7,670~7,797人であり、今後10年間で8,000人を超えない結果となった。なお、本推計値には脳死肝移植患者や海外移植実施分を含んでおらず、また今後10年間で年間肝移植件数や肝移植後生存率が変化しないという仮定の下で行った。

協力研究者 秋田智之（同 疫学・疾病制御学）

年時点）から、近似曲線をあてはめて肝移植後年数ごとの生存率を推定した（最小二乗法）。

A. 研究目的

重度肝機能障害者による身体障害者手帳の交付対象者は「3ヶ月以上Child-Pugh分類グレードC」または「肝移植を受け、抗免疫療法を実施」のいずれかに該当することである。本研究班では、重度肝機能障害者認定を受ける可能性のある患者のうち「肝移植を受け、抗免疫療法を実施」している患者数の推計を行った。

B. 研究方法

重度肝機能障害者のうち肝移植後患者数の推計を下記の方法で行った。なお、本解析には脳死肝移植患者や海外移植実施分は含まれていない。

1. 肝移植後生存率の推定（男女別、年齢区分別）

肝移植症例登録報告（日本肝移植研究会、2010）に掲載された男女別、年齢区分（18歳未満、18歳以上）別にみたレシピエントの累積生存率（6時点：移植後1,3,5,10,15,20

2. 肝移植後患者の期待生存者数の推計（男女別、年齢区分別）

（1）現時点までの肝移植後患者数

現時点までの肝移植後患者数は肝移植症例登録報告に掲載された2010年末までの累積生体肝移植後患者数を用いた。なお、すべての患者は肝移植後平均3年または7年経過していると仮定した。以下、肝移植後平均3年経過したと仮定した場合を【術後3年モデル】、平均7年経過した場合を【術後7年モデル】とおいた。

（2）新規の肝移植後患者数

新規の肝移植後患者数として、毎年2010年肝移植件数と同数の肝移植患者が発生すると仮定した。

（3）肝移植後患者の期待生存者数の推計

現時点までの肝移植後患者（1）および新規の肝移植後患者（2）の生命予後はそれぞれ1.で推定した推計生存率に従うものと仮定した。

(倫理面への配慮)

本研究はすでに集計・公表されたデータだけを解析に用いているため、「疫学研究に関する倫理指針」および「臨床研究に関する倫理指針」に抵触するものではない。

C. 研究結果

1. 肝移植後生存率の推定 (男女別、年齢区分別)

図1の上に男女別、下に年齢区分別にみた肝移植後の累積生存率 (点) と推定生存率 (生存曲線) を示した。この推定生存率をもとに、患者数推計を行った。

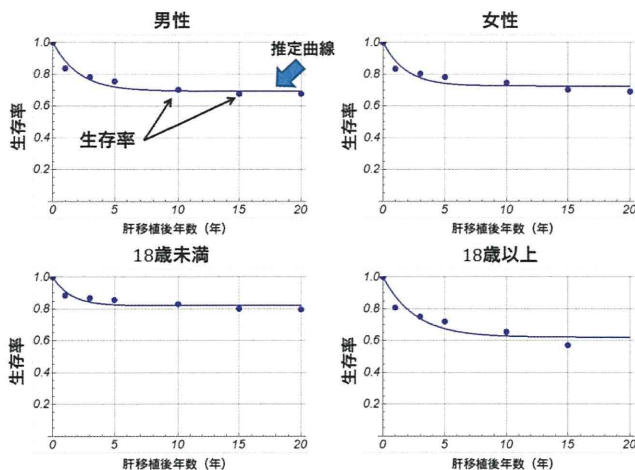


図1. 男女別・年齢区分別にみた肝移植後の推定生存率 (推定曲線)

2. 肝移植後患者の期待生存者数の推計 (男女別、年齢区分別)

(1) 現時点までの肝移植後患者数

現時点 (2010年末) までの肝移植後患者数は6,097人であった。これには死亡した症例も含まれている。男女別にみると男性2,923人、女性3,174人、年齢区分別にみると18歳未満2,224人、18歳以上3,873人であった。

(2) 新規の肝移植後患者数

新規患者数は444例であった。男女別にみると男性192例、女性252例、年齢区分別にみると18歳未満149例、18歳以上295例であった。

(3) 肝移植後患者の期待生存者数の推計

2010年から2020年の、肝移植後期待生存者数の推移を図2に示した。2010年の期待生存者数は、【術後3年モデル】

で4,698~4,728人、【術後7年モデル】で4,322~4,372人であった。2020年の期待生存者数はどちらのモデルでもほぼ同様で7,670~7,797人であった。

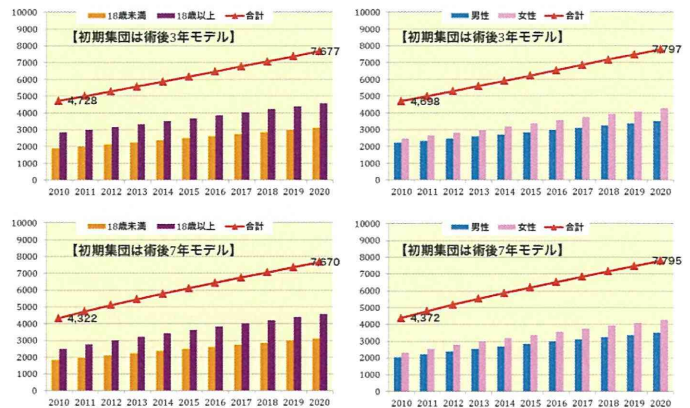


図2. 男女別・年齢区分別に算出した期待生存者数の推移 (上が【術後3年モデル】、下が【術後7年モデル】)

D. 考察 および E. 結論

今回の推定では、2020年において生存している肝移植後患者の期待生存者数は7,600~7,800人であった。前回行った、2006年のデータを用いた推計値も8,000人を超えておらず、ほぼ同様の結果になった。今後、肝移植数が急増したり、肝移植後生存率が著しく改善したりしない限り、推計値は大きく変化しないものと考えられる。

G. 研究発表

1. 論文発表

【著書】

- 1) 片山恵子、田中純子 肝炎・肝臓の疫学 Annual Review 消化器 2013;88-93.

【総説】

- 1) 田中純子 C型肝炎はどのように日本で蔓延し肝臓をもたらしたのか -肝臓抑制の実地診療のすすめかた- Medical Practice 2013;30(2):194-202.
- 2) 田中純子 わが国におけるB型肝炎・C型肝炎ウイルスキャリアの現状 化学療法領域 2012;28(1):18-27.
- 3) 田中純子 B型肝炎に関する疫学調査の最新情報 医学のあゆみ 2012;242(5):373-380.
- 4) 田中純子 わが国におけるC型肝炎の疫学 臨床消化器内科 2012;27(11):1413-1422.
- 5) 田中純子、三浦宜彦 わが国における肝臓の疫学

【原著】

- 1) Kumada T, Toyoda H, Kiriyama S, Tanikawa M, Hisanaga Y, Kanamori A, Tada T, Tanaka J Characteristics of elderly hepatitis C virus-associated hepatocellular carcinoma patients Journal of Gastroenterology and Hepatology 2013;28(2):357-364.
 - 2) Kumada T, Toyoda H, Tada T, Kiriyama S, Tanikawa M, Hisanaga Y, Kanamori A, Niinomi T, Yasuda S, Ando Y, Yamamoto K, Tanaka J Effect of nucleos(t)ide analogue therapy on hepatocarcinogenesis in chronic hepatitis B patients: a propensity score analysis Journal of Hepatology 2013;58(3):427-433.
 - 3) 仁科惣治、栗原淳子、則安俊昭、糸島達也、山本和秀、田中純子、日野啓輔 岡山県における肝炎ウイルス検診陽性者の医療機関受診等に関する追跡調査 肝臓 2013;54(1):84-86.
 - 4) Matsuo J, Mizui M, Okita H, Katayama K, Aimitsu S, Sakata T, Obayashi M, Nakanishi T, Chayama K, Miyakawa Y, Yoshizawa H, Tanaka J, (Hiroshima Hepatitis Study Group) Follow up of the 987 blood donors found with hepatitis C virus infection over 9-18 years Hepatology Research 2012;42(7):637-647.
 - 5) Murakami Y, Toyoda H, Tanahashi T, Tanaka J, Kumada T, Yoshioka Y, Kosaka N, Ochiya T, Taguchi Y-h Comprehensive miRNA expression analysis in peripheral blood can diagnose liver disease PLoS ONE 2012;7(10):e48366.
 - 6) 片山恵子、松尾順子、秋田智之、田渕文子、酒井明人、田中純子 肝炎ウイルス検査の受診状況等に関する聞き取り調査報告 肝臓 2012;53(11):707-720.
2. 学会発表
 - 1) Tanaka J Hepatitis C in Japan The 10th JSH single topic conference (東京) 2012.
 - 2) Tanaka J Epidemiological studies from Japan Viral hepatitis policy forum and workshop -North Asia-(CEVHAP) (台湾 (台北)) 2012.
 - 3) 田中純子、小山富子、池田健次 肝炎ウイルス持続感染者の病態推移に関する数理疫学的研究 第16回日本肝臓学会大会 (神戸) 2012.
 - 4) Akita T, Ohisa M, Tanaka J Etiological-based mathematical model for hepatocellular carcinoma mortality XXVIth International Biometric Conference (2012 IBC) (兵庫) 2012.
 - 5) 田中純子 ウイルス肝炎・肝がんの疫学 第22回肝臓週間 肝炎ウイルスの克服と肝がん予防 (岐阜) 2012.
 - 6) 田中純子 疫学的視点からみたウイルス肝炎の現状 第17回日本医療政策機構朝食会 (東京) 2012.
 - 7) 田中純子 topics on hepatitis C and hepatitis B from an epidemiological viewpoint ACCJ(American Chamber of Commerce in Japan) Luncheon speech (東京) 2012.
 - 8) 田中純子 肝がんになりやすいグループを認識する 日本肝臓学会 肝がん撲滅週間 市民公開講座 (三島) 2012.
 - 9) 田中純子 我が国における肝炎ウイルス感染者数の推計について-社会における存在状態4分類別にみた検討- 第48回日本肝臓学会総会 (金沢) 2012.
 - 10) 田中純子 疫学的視点からみたB型肝炎の課題 第48回日本肝臓学会総会 モーニングセミナー2 (金沢) 2012.
 - 11) 松尾順子、片山恵子、中島歩、田中純子、広島透析患者肝炎study group 透析患者における肝炎ウイルス感染状況の推移と予後についての解析の試み 第48回日本肝臓学会総会 (金沢) 2012.
 - 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

ヒト肝細胞キメラマウス肝臓へのヒト類洞内皮細胞の移植

分担研究者 立野知世 株式会社フェニックスバイオ
研究協力者 山崎ちひろ 株式会社フェニックスバイオ
柳愛美 株式会社フェニックスバイオ
吉実康美 株式会社フェニックスバイオ
石田雄二 株式会社フェニックスバイオ

研究要旨 我々は、これまで、マウス肝臓の70%以上がヒト肝細胞で置換されたキメラマウスを作製してきた。このキメラマウスの肝臓は、肝細胞はヒト由来であるが、非実質細胞はマウス由来である。本研究では、キメラマウスへのヒト免疫細胞の生着およびヒト免疫細胞との相互作用をより促進させることを期待して、キメラマウス肝臓の類洞内皮細胞(mLSEC)をヒト類洞内皮細胞(hLSEC)で置換することを目的とした。昨年度の実験では、3週齢のホストマウスにヒト肝細胞と継代培養hLSECを同時に移植したところ、移植後1週間目の肝臓において、real-time RT-PCR法によりhLSECのマーカー遺伝子であるヒトCD31の発現が認められたが、移植後11週目では検出されなかった。今年度は、新たなドナーから得られたhLSEC、および不死化hLSEC TMNK-1細胞をドナー細胞として移植に用いた。その結果、hLSECは、これまでと同様に、2日目に比較して7日目での移植細胞の指標ヒトCD31遺伝子発現の低下が見られた。一方、TMNK-1細胞では、2日目から7日目にかけてヒトCD31発現量の増加が認められたが、4週目で低下していた。以上のことから、継代培養hLSECおよび不死化hLSECは、キメラマウス肝臓に生着することは確認できたが、肝臓内での増殖が観察されず、mLSECをhLSECに置換させることは困難であった。

A. 研究目的

昨年に引き続き、免疫細胞のより効率的な生着や類洞内皮細胞との相互作用が可能なヒト肝細胞キメラマウスを作出するために、キメラマウスの肝臓の類洞内皮細胞(mLSEC)をヒト類洞内皮細胞(hLSEC)に置換させることを目的とした。

B. 研究方法

ヒト肝細胞キメラマウスの作成

2歳/女兒/ヒスパニック人(BD Gentest、米国)の凍結ヒト肝細胞をキメラマウスのドナー肝細胞として用いた。キメラマウスのホストマウスである3週齢のurokinase plasminogen activator transgenic/SCID (uPA/SCID) マウスへ、1匹あたり 2.5×10^5 個のヒト肝細胞をマウスの脾臓より注入した(20 μ L)。移植後3週目、および6週目からは週1回尾静脈から2 μ Lの採血を実施した。採取した血液中のヒトアルブミン濃度を、抗ヒトアルブミン抗体を結合させたラテックスビーズ

を用いた免疫比濁法により測定し、その濃度推移をモニタリングした。

ヒト肝細胞キメラマウスからのヒト肝細胞分離

マウス血中ヒトアルブミン濃度が13 mg/ml以上の13-16週齢のキメラマウスから、コラゲナーゼ灌流法により肝細胞を分離した。この肝細胞にはわずかにマウス肝細胞が混入しているため、マウス肝細胞表面に特異的な抗体(66Z)に磁気ビーズを結合させたものを用いて、マウス肝細胞を除去した(2)。肝細胞の生存率をトリパンブルー染色により、マウス肝細胞の混入率をfluorescent activating cell sorting (FACS)により計測した。

ヒト類洞内皮細胞(hLSEC)

広島大学外科学において肝切除術における切除肝の正常部位をインフォームドコンセントを行った上で採取し、hLSECを分離した。今年度は、以下に示す2人のドナーより提供いた

だいたひLSECを用いた。(1) hLSEC2:分離後3継代したhLSEC (65才、男性)を受領し、1継代行った細胞(合計4継代)を移植に用いた。(2) hLSEC3:分離後3継代したhLSEC (56才、女性)を受領し、4継代した細胞(合計7継代)を移植に用いた。また、1回継代行った細胞を凍結保存し、融解後1回継代し(合計5継代)移植に用いた。

健康人由来のhLSEC (Cell Systems Co., Seattle, WA) にSV40TとhTERTを導入し不死化したTMNK-1細胞を作製者である小林直哉先生より使用許諾後、都立医学研の小原道法先生より分与いただいた。19または22継代目のTMNK-1細胞を移植に用いた。

hLSEC 細胞とヒト肝細胞の同時移植

3週齢のuPA/SCIDマウスにモノクロタリンを腹腔内投与後に、凍結融解したヒト肝細胞、またはキメラマウスより分離したヒト肝細胞と、hLSECを混合し脾臓より移植した(20 μ L)。マウスの一部は移植後3, 7, 10日目に解剖し肝臓を採取した(表1)。

TMNK-1 と肝細胞の同時移植

3週齢のuPA/SCIDマウスにモノクロタリンを腹腔内投与後に、キメラマウスより分離したヒト肝細胞と、TMNK-1細胞を混合し脾臓より移植した(20 μ L)。また、1部のマウスには、3週齢のuPA/SCIDマウスにキメラマウスより分離したヒト肝細胞を移植し、翌週、モノクロタリンを腹腔内投与2日後に、TMNK-1細胞を脾臓より移植し、7日目と43日目に解剖し肝臓を採取した(表1)。

hLSEC または TMNK-1 細胞の PXB マウスへの移植

表1 uPA/SCIDマウスへの移植実験

移植番号	移植日	hLSEC	ドナー年齢	性別	継代数	MCT (mg/kg)	移植LSEC数 ($\times 10^5$)	移植肝細胞数 ($\times 10^5$)	匹数	死亡匹数	解剖
3	2012/7/4	hLSEC2	65	男	4	200	5	1.25 (BD195)	6	4	day 7
4	2012/7/27	hLSEC3	56	女	7	400	5	2.5 (BD195キメラマウス)	9	2	day 3, 7, 10
6	2012/10/17	TMNK-1	-	-	22	400	2.5	2.5 (BD195キメラマウス)	6	0	day 2, 7
7	2012/12/18	TMNK-1	-	-	22	400	2.5	5 (BD195キメラマウス)	15	7	day 43
8	2012/1/23	TMNK-1	-	-	19	400	2.5	5 (BD195キメラマウス)	7	2	day 7, 43

表2 キメラマウスへの移植実験

移植番号	移植日	hLSEC	ドナー年齢	性別	継代数	MCT (mg/kg)	移植LSEC数 ($\times 10^5$)	移植肝細胞数 ($\times 10^5$)	匹数	死亡匹数	解剖
5	2012/8/3	hLSEC3	56	女	5(凍結済み)	800	5	-	6	0	day 3, 7
6	2012/10/17	TMNK-1	-	-	22	800	2.5	-	4	0	day 2, 7

PXBマウスにモノクロタリンを腹腔内投与後に、上記継代培養hLSECまたはTMNK-1を脾臓より移植した(20 μ L)。マウスは移植後2日目または3日目と7日目に解剖し肝臓を採取した(表1、2)。

定量性 real-time RT-PCR 法による hCD31 の定量

凍結した肝臓組織約30 mgからQIAGENのRNeasy Mini Kitを用いてRNAを抽出し、以下のようにcDNAを合成した。Total RNA 1 μ g、dNTP (2.5 mM) 2 μ L、ランダムプライマー 1 μ Lを混合し、全量13 μ Lを65°Cで5分間変性させた後、氷冷した。この調製液に5 \times First-strand buffer 4 μ L、100 mM DTT 1 μ L、RNase-free水 1 μ L、SuperScript III RT逆転写酵素1 μ L (200 U/ μ L)を加えて全量20 μ Lとした。この調製液を25°Cで5分、55°Cで60分、72°Cで15分反応させた。得られたcDNAを鋳型として、以下の方法によりPCRを行った。逆転写反応液1 μ Lに対しforwardおよびreverse primerを5 mol/ μ L、CYBR Green PCR Master mixが1倍量になるように加え、滅菌精製水で全量を25 μ Lとした。それぞれの遺伝子について7500 Real Time RT-PCR System (Applied Biosystems)を用い、50°Cで2分間を1回、95°Cで10分間反応させた後に95°C、15秒間及び60°C、1分間を交互に40回反応させた。hCD31のPrimerは、Forward: TATGCAGACCTCAGAATCTAC, Reverse: CACTTAATGTGGAGCTGAGを用いた。陽性コントロールとして、市販の5ドナーの肝臓組織プール由来のRNA(pooledヒト肝臓、Biochain Institute Inc.)から合成したcDNAを用いた。発現量は各遺伝子のサイクル数(Ct値)から2^{-Ct}として表し、目的のmRNAのpooled肝臓のmRNAに対する相対比として示した。

キメラマウス肝臓における hCD31 免疫染色

キメラマウスから採取した肝臓をホルマリン固定し、パラフィンブロックを作製した。パラフィン切片を作製し、Target Retrieval Solution (DAKO)で処理後、hCD31マウスモノクローナル抗体 (DAKO) およびマウス Envision+system (DAKO)を用いて染色した。

(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・販売されているものを、(株)フェニックスバイオのヒト組織利用倫理委員会において承認を得た上で、購入して使用した。

ヒト肝細胞を持つキメラマウス作製実験に関しては、(株)フェニックスバイオの動物実験倫理委員会において研究計画の承認を得た上で行った。

hLSECは、広島大学の倫理委員会で承認を得た上で、患者にインフォームドコンセントを行ったものを使用した。

ヒト肝臓由来 RNA は、市販の 5 ドナーの肝組織プール由来の RNA (pooled ヒト肝臓、Biochain Institute Inc.) を用いた。

C. 研究結果

hLSECおよびTMNK-1細胞の形態及び倍化時間

hLSECとTMNK-1細胞の形態を図1に示す。両者に顕著な差はなかった。倍加時間は、hLSEC2は約33-345時間、hLSEC3は約80時間、TMNK-1細胞は約46時間であった。

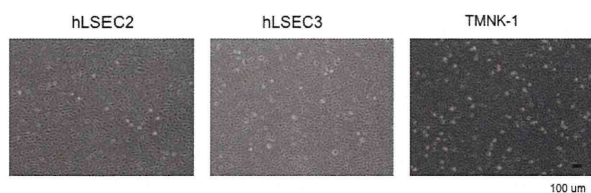


図1 hLSECおよびTMNK-1の位相差顕微鏡像

hLSEC移植キメラマウス肝臓におけるhCD31 mRNAの発現

3週齢のuPA/SCIDマウス6匹に200 mg/kgのモノクロタリンを腹腔内投与し、48時間後にヒト肝細胞 (1.25×10^5 個)と新たに広島大学より入手したhLSEC2(4継代目、 10×10^5 個)を脾臓より移植した(移植3)。その結果6匹中4匹が死亡した。残りのマウスは移植後7日目に肝臓を採取した。次に3週齢のuPA/SCIDマウス9匹に400 mg/kgのモノクロタリンを腹腔内投与して48時間後にヒト肝細胞 (2.5×10^5 個)と新たに広島大学より新たに入手したhLSEC3(7継代目、 5×10^5 個)を脾臓より移植した(移植4)。その結果9匹中2匹が死亡した。残りのマウスは移植後3、7日目に肝臓を採取した。肝臓におけるhCD31遺伝子発現を定量性 real-time RT-PCRにより調べたところ、3日に

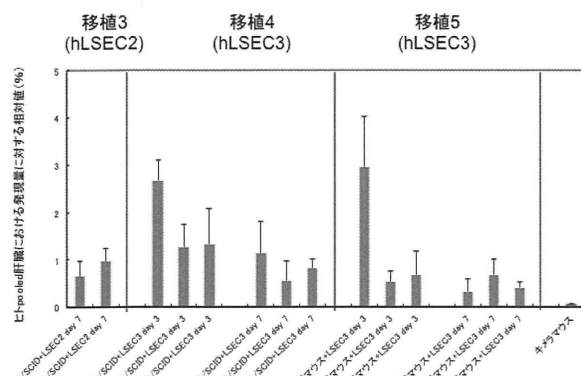


図2 hLSEC移植後の肝臓におけるhCD31 mRNAの発現量

比べて7日目で低下していた(図2)。

これまで、400 mg/kgのモノクロタリンをキメラマウスに投与し、hLSECを移植したところ、肝臓への生着が認められなかった。そこで、キメラマウス6匹に800 mg/kgのモノクロタリンを腹腔内投与し、48時間後にhLSEC3(5継代目、 5×10^5 個)を脾臓より移植し(移植5)、3日目と7日目に肝臓を採取した。肝臓におけるhCD31遺伝子発現は、3日目よりも7日目で低下していた(図2)。

hLSEC移植キメラマウス肝臓におけるhCD31抗体による免疫染色

hLSECを移植して3日目のキメラマウス肝臓(移植5)でhCD31 mRNAが最も高かったキメラマウス肝臓を用いて、hLSECのマーカであるhCD31抗体で免疫染色を行った。その結果、hCD31陽性細胞は肝臓中に散在しているのが観察された(図3)。一方、hLSECとヒト肝細胞を移植して3日目のuPA/SCIDマウス肝臓(移植4)ではhCD31陽性細胞は観察されなかった。

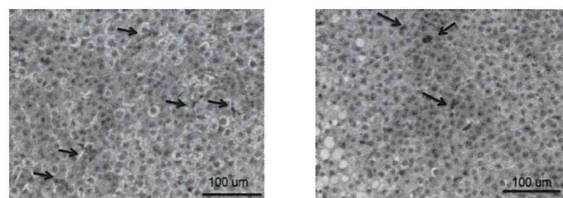


図3 キメラマウスへのLSEC3移植後3日(移植5)の肝臓におけるhCD31免疫染色

TMNK-1移植キメラマウス肝臓におけるhCD31 mRNAの発現

3週齢のuPA/SCIDマウス6匹に400 mg/kgのモノクロタリンを腹腔内投与し、48時間後にヒト肝細胞 (2.5×10^5 個)とTMNK-1(22継代目、 2.5×10^5 個)を脾臓より移植し(移植6)、移植後2、7日目に肝臓を採取した。次に3週齢のuPA/SCIDマウス15匹にヒト肝細胞 (5×10^5 個)を移植し、翌週、400 mg/kgのモノクロタリンを腹腔内投与後48時間後にTMNK-1(22継代目、 2.5×10^5 個)を脾臓より移植したところ(移植7)、15匹中7匹が死亡したため、追加でヒト肝細胞 (5×10^5 個)とTMNK-1(19継代目、 2.5×10^5 個)7匹に移植した(移植8)。移植後7、43日目に肝臓を採取した。肝臓におけるhCD31遺伝子発現を調べたところ、7日目に比較して、43日目では低下していた(図4)。

キメラマウス4匹に800 mg/kgのモノクロタリンを腹腔内投与して、48時間後にTMNK-1(22継代目、 2.5×10^5 個)を脾臓より移植し(移植6)、2日目と7日目に肝臓を採取した。肝臓におけるhCD31遺伝子発現は、2日目に比べて7日

目で低下していた (図4)。

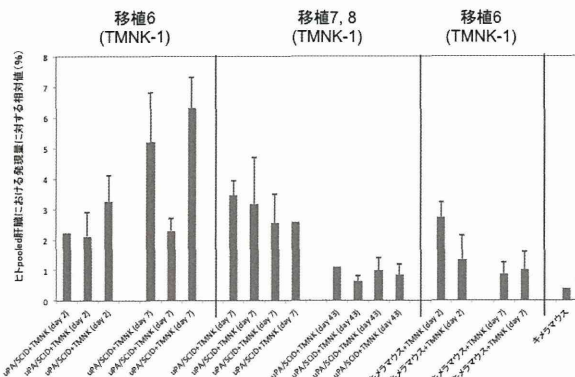


図4 TMNK-1移植後の肝臓におけるhCD31 mRNAの発現量

TMNK-1移植キメラマウス肝臓におけるhCD31抗体による免疫染色

TMNK-1を移植して7日目のキメラマウス肝臓 (移植6) を用いて、hLSECのマーカであるhCD31抗体で免疫染色を行った。その結果、hCD31陽性細胞は肝臓中に散在しているのが観察された (図5)。一方、hCD31 mRNAが高かったキメラマウス肝臓 (移植6) では、肝臓が広範囲に壊死を起こしているのが観察された。これは、移植したTMNK-1細胞が肝臓に塞栓を起こした事によるものと考えられた。

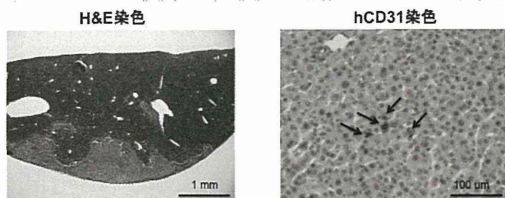


図5 uPA/SCIDマウスへのTMNK-1細胞移植後7日目 (移植6) の肝臓における組織染色

D. 考察

今年度は、新たに入手したhLSECと不死化細胞であるTMNK-1細胞を用いて、mLSECをhLSECに置換させることを試みた。モノクローリン投与によるmLSEC除去後に3週齢uPA/SCIDマウスへのヒト肝細胞とhLSECまたはTMNK-1細胞の同時移植と、キメラマウスへの移植を行った。hLSECのマーカであるhCD31 mRNAの発現は、hLSEC移植では移植3日に比較して7日目で低下していたため、ホストマウス肝臓へ一旦生着はするものの、増殖しなかったと考えられた。TMNK-1細胞は移植後2日目に生着が見られ、7日目に増加している個体も見られたが、hCD31の免疫染色の結果から、コロニーを形成して増殖しているような像は観察されなかった。また、移植後43日目にはhCD31発現量の低下が観察されたことから、移植したヒト肝細胞

の増殖と同様な増殖は起こらなかったと考えられた。

E. 結論

uPA/SCIDマウスにモノクローリンを投与し、hLSECまたはTMNK-1とヒト肝細胞を同時に移植したマウス肝臓において、mLSECをhLSECに置換することはできなかった。また、キメラマウスにモノクローリンを投与し、hLSECまたはTMNK-1を移植したマウス肝臓においても同様の結果であった。今後、ヒト血管内皮前駆細胞 (hEPC) などを移植細胞として用いることにより、マウス肝臓での増殖が期待される。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- Hata T, Uemoto S, Fujimoto Y, Murakami T, Tateno C, Yoshizato K, Kobayashi E. Transplantation of Engineered Chimeric Liver With Autologous Hepatocytes and Xenobiotic Scaffold. *Annals of Surgery* 2013;257(3):542-547.
- Kakuni M, Morita M, Matsuo K, Katoh Y, Nakajima M, Tateno C, Yokoi T. Chimeric Mice with a Humanized Liver as an Animal Model of Troglitazone-induced Liver Injury. *Toxicology Letter* 2012;214(1):9-18.
- Hasegawa M, Tahara H, Inoue R, Kakuni M, Tateno C, Ushiki J. Investigation of Drug-drug Interactions Caused by Human Pregnane X Receptor-mediated Induction of Cytochrome P450 3A4 and 2C Subfamilies in Chimeric Mice with a Humanized Liver. *Drug Metab Dispos* 2012;40(3):474-480.
- Okazaki A, Hiraga N, Imamura M, Hayes CN, Tsuge M, Takahashi S, Aikata H, Abe A, Ochi H, Tateno C, Yoshizato K, Ohdan H, Chayama K. Severe Necroinflammatory Reaction Caused by Natural Killer and Dendritic Cells in Human Hepatocyte Chimeric Mouse. *Hepatology* 2012;56(2):555-566.
- Ohara E, Hiraga N, Imamura M, Iwao E, Kamiya N, Yamada I, Kono T, Onishi M, Hirata D, Mitsui F, Kawaoka T, Tsuge M, Takahashi S, Abe H, Hayes CN, Ochi H, Tateno C, Yoshizato K, Tanaka S, Chayama K. Elimination of hepatitis C virus by short term NS3-4A and NS5B inhibitor combination therapy in human hepatocyte chimeric mice. *J Hepatol*. 2011;54(5):872-878.
- Sanoh S, Horiguchi A, Sugihara K, Kotake Y, Tayama Y, Uramaru N, Ohshita H, Tateno C, Horie T, Kitamura S, Ohta S. Predictability of Metabolism of Ibuprofen and Naproxen Using

Chimeric Mice with Human Hepatocytes. Drug Metabolism and Disposition 2012;40(12):2267-2272.

7. Sanoh S, Horiguchi A, Sugihara K, Kotake Y, Tayama Y, Ohshita H, Tateno C, Horie T, Kitamura S, Ohta S. Prediction of in vivo hepatic clearance and half-life of drug candidates in human using chimeric mice with humanized liver. Drug Metab Dispos. 2012;40(2):322-328.

8. Mashimo T, Takizawa A, Kobayashi J, Kunihiro Y, Yoshimi K, Ishida S, Tanabe K, Yanagi A, Tachibana A, Hirose J, Yomoda J, Morimoto S, Kuramoto T, Voigt B, Watanabe T, Hiai H, Tateno C, Komatsu K, Serikawa T. Generation and Characterization of Severe Combined Immunodeficiency Rats. Cell Reports 2012;2(3):685-694.

9. Fujiwara S, Fujioka H, Tateno C, Taniguchi K, Ito M, Ohishi H, Utoh R, Ishibashi H, Kanematsu T, Yoshizato K. A novel animal model for in vivo study of liver cancer metastasis. World J Gastroenterol. 2012;18(29):3875-3882.

10. Tateno C, Miya F, Wake K, Kataoka M, Ishida Y, Yamasaki C, Yanagi A, Kakuni M, Wisse E, Verheyen F, Inoue K, Sato K, Kudo A, Arie S, Itamoto T, Asahara T, Tsunoda T, Yoshizato K. Morphological and microarray analyses of human hepatocytes from xenogeneic host livers. Laboratory Investigation 2013;93(1):54-71.

11. 加国雅和、立野知世、ヒト肝細胞キメラマウスを用いた抗肝炎ウイルス薬効評価系、ファルマシア 2012;4:956-958.

12. 立野知世、ヒト肝細胞キメラマウス—肝臓肥大のメカニズムに関して—生化学 特集「肝臓の発生・再生」宮島篤編、生化学 2012;84:699-706.

13. 石田雄二、立野知世、吉里勝利、ヒト化肝臓をもつキメラマウスを用いた創薬研究、最新疾患モデルと創薬応用研究の最前線、遺伝子医学 MOOK 2012;22:38-43.

2. 学会発表

1. Tateno C, Ishida Y, Kakuni M, Fukumuro M, Tanaka J, Masumori S, Nakajima M, Hayashi M. Comet assay and micronucleus test using chimeric mice with humanized liver (PXB mice®). Annual Meeting and ToxExpo2012. San Francisco 2012

2. Kakuni M, Hasegawa M, Tahara H, Inoue R, Ushiki J, Tateno C. Investigation of drug-drug interactions caused by human pregnane X receptor-mediated induction of cytochrome P450 3A4 and 2C subfamilies in PXB-mice. Annual Meeting and ToxExpo2012. San Francisco 2012

3. 立野知世、ヒト肝細胞キメラマウスを用いた抗肝炎ウイルス薬効評価系の開発 ウィルス性肝炎と肝がん撲滅を目指した研究最前線、日本薬学会第 132

回年会一般シンポジウム。札幌。2012。

4. 佐能正剛、堀口彩、杉原数美、浦丸直人、立野知世、堀江透、北村繁幸、太田茂、ヒト肝細胞移植マウスを用いたイブプロフェンの代謝、血中動態の予測。日本薬学会第 132 回年会。札幌。2012

5. 大下浩樹、浜村理子、横道博、加国雅和、川瀬洋介、寺社下浩一、須藤正幸、飛田良美、小原道法、立野知世、cDNA-uPA/SCID マウスを宿主とした長期試験に適するヒト肝細胞キメラマウスの開発、日本実験動物科学・技術 九州 2012. 大分。2012

6. 西倉康史、植田亮、大下浩樹、加国雅和、立野知世、ヒト肝細胞キメラマウス (PXB マウス) 作製におけるヒト肝細胞移植時の鎮痛剤投与の効果、日本実験動物科学・技術 九州 2012. 大分。2012

7. 石田雄二、柳愛美、吉実康美、山崎ちひろ、横道博、渡士幸一、脇田隆字、茶山一彰、立野知世、キメラマウス由来の初代培養ヒト肝細胞への HBV 感染。第 48 回 日本肝臓学会。石川。2012

8. Tateno C, Nakada N, Kakuni M, Ohbuchi M, Hamamura S, Ohshita H, Kazuki Y, Oshimura M, Sato K, Kato K, Kawamura A, Kamimura H, Usui T. Novel Cyp3a Knockout Chimeric Mouse with Humanized Liver and Metabolic Profiling of Nefazodone for Accurate Pre-clinical Human Prediction. 19th MDO Meeting and 12th European ISSX Meeting, Noordwijk aan Zee, the Netherlands. 2012

9. Sanoh S, Naritomi Y, Sato K, Kawamura A, Horiguchi A, Sugihara K, Tateno C, Horie T, Kitamura S, Ohta S. Prediction of human pharmacokinetics by allometric scaling using chimeric mice with humanized liver. 19th MDO Meeting and 12th European ISSX Meeting, Noordwijk aan Zee, the Netherlands. 2012

10. de Lannoy I, Saldivia V, Pang H, Kaczmarek S, Pan S, Morikawa Y, Tateno C. Evaluation of the Pharmacokinetics (PK) of Clozapine (CLZ) and Its Two Major Metabolites in PXB- and C57BL/6 Mice Following Intravenous (i.v.) and Oral (p.o.) Dosing of CLZ. NEDMDG Summer Symposium. Humanized in vivo models and in vivo-like in vitro models for DMPK/Tox. Shrewsbury. 2012

11. 柳愛美、立花亜里、山崎ちひろ、吉実康美、石田雄二、真下知士、芹川忠夫、立野知世、新規免疫不全ラットを用いたヒト肝細胞キメララットの作出、第 19 回 肝細胞研究会。札幌。1012.

12. 辰巳公平、大橋一夫、鶴頭理恵、立野知世、中井浩之、吉里勝利、岡野光夫、自己肝細胞を用いた血友病新規細胞遺伝子治療法の開発、第 19 回 肝細胞研究会。札幌。1012

13. 小嶋聡一、坂田幸太郎、原祥子、鈴木哲朗、渡邊則幸、相崎英樹、高谷大輔、松本武久、立野知世、脇田隆字、C 型肝炎ウイルス NS プロテアーゼによる TGF-β 疑似活性を介する肝線維化、第 19 回 肝細胞研究会。札幌。1012

14. 石田雄二、柳愛美、吉実康美、山崎ちひろ、横道博、渡士幸一、脇田隆字、茶山一彰、立野知世、ヒト肝細胞キメラマウス由来の初代培養ヒト肝細胞を用いた *in vitro* HBV 感染モデル. 第 8 回 広島肝臓プロジェクト研究センター. シンポジウム. 広島. 1012

15. 佐能正剛、堀口彩、藤本真美、成富洋一、佐藤公也、河村章生、杉原数美、立野知世、堀江透、北村繁幸、太田茂、ヒト肝細胞移植キメラマウス (PXB mice®) を用いた医薬品のヒト血中動態予測とその応用. 第 8 回 広島肝臓プロジェクト研究センターシンポジウム. 広島. 1012

16. 立野知世、山本敏誠、吉里勝利、ヒト肝細胞キメラマウスを用いた PPAR- α agonist のヒト肝細胞への作用に関する解析. 第 39 回 日本毒性学会学術年会. 仙台. 2012

17. Tateno C, Yanagi A, Yamasaki C, Yoshizane Y, Ishida Y. Induction of growth arrest and mitochondrial compromise in human hepatocytes by telomere shortening during mitosis through *in vivo* passage. FASEB Summer Research Conference 2012 Liver Biology: Fundamental Mechanisms & Translational Applications, Snowmass Village. 2012

18. Tanaka J, Fukumuro M, Masumori S, Nakajima M, Hayashi M, Ishida Y, Kakuni M, Tateno C. Micronucleus Assay and Comet Assay Using a Human Hepatocyte Chimeric Mice. 43th EMS Annual meeting. Washington. 2012

19. Pang H, Pan S, Saldivia V, Kaczmarek S, Morikawa Y, Tateno C, de Lannoy I. Evaluation of the Metabolite Profile of Clozapine in PXB- and C57BL/6 Mice Following Intravenous and Oral Dosing of CLZ. 18th North American Regional Meeting ISSX Meeting. Dallas. 2012

20. Ishida Y, Yanagi A, Yoshizane Y, Yamasaki C, Chayama K, Tateno C. A new *in vitro* hepatitis B virus infection model using fresh primary human hepatocytes isolated from humanized mouse liver AASLD, Boston, 2012.

21. Yamasaki C, Yanagi A, Yoshizane Y, Kageyama Y, Iwasaki Y, Ishida Y, Tateno C. *In vitro* evaluation of the utility of human hepatocytes isolated from chimeric mice with humanized livers (PXB-mice®). 日本薬物動態学会第 27 回年会. 千葉. 2012

22. Fujimoto M, Sanoh S, Naritomi Y, Sato K, Kawamura A, Horiguchi A, Sugihara K, Tateno C, Horie T, Kitamura S, Ohta S. Predictability of human pharmacokinetics by allometric scaling in chimeric mice with humanized liver. 日本薬物動態学会第 27 回年会. 千葉. 2012

23. Nozawa K, Ambo T, Ito S, Kamimura H, Aoyama S, Hamamura S, Ohshita H, Tateno C, Adachi Y, Ninomiya S. Retrospective prediction of circulating human metabolites of ziprasidone by

Cyp3a KO chimeric mice with humanized liver 日本薬物動態学会第 27 回年会. 千葉. 2012

24. Ambo T, Nozawa K, Ito S, Kamimura H, Aoyama S, Hamamura S, Ohshita H, Tateno C, Adachi Y, Ninomiya S. Retrospective prediction of circulating human metabolites of torcetrapib by Cyp3a KO chimeric mice with humanized liver 日本薬物動態学会. 第 27 回年会. 千葉. 2012

25. Ohara Y, Sanoh S, Sugihara K, Kishino T, Taya ma Y, Uramaru N, Tateno C, Kitamura S, Ohta S. Comparison of aldehyde oxidase activity in liver of human, mice, and chimeric mice with humanized liver. 日本薬物動態学会第 27 回年会. 千葉. 2012

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

人工多機能幹細胞に関する研究

研究分担者 伊藤 敬 長崎大学 教授

研究要旨

人工多能幹細胞の誘導によるクロマチン構造の変化を明らかにすることを目的として、マウス繊維芽細胞とES細胞を用いて未分化細胞特異的な転写因子のプロモーター領域のヒストン翻訳後修飾の違いを明らかにした。

マウス繊維芽細胞のOCT3/4, Nanogのプロモーター領域ではヒストンH2Aがユビキチン化されヒストンH3K4のメチル化は低レベルであった。一方ES細胞のOCT3/4, Nanogのプロモーター領域ではヒストンH2Aのユビキチン化は低レベルで、ヒストンH3K4のメチル化は高レベルであった。平成24年度はBACクローンを用いた試験管内転写を確立しin vivoで観察されたヒストン修飾がin vitroで再現できる実験系を確立した。

A. 研究目的

人工多能幹細胞クロマチン構造の解明

B. 研究方法

マウス繊維芽細胞とES細胞を用いてクロマチン免疫沈降によりOCT3/4, Nanogのプロモーター領域のヒストン修飾を調べた。

C. 研究結果

マウス繊維芽細胞のOCT3/4, Nanogのプロモーター領域ではヒストンH2Aがユビキチン化されヒストンH3K4のメチル化は低レベルであった。一方ES細胞のOCT3/4, Nanogのプロモーター領域ではヒストンH2Aのユビキチン化は低レベルで、ヒストンH3K4のメチル化は高レベルであった。さらに平成24年度はBACクローンを用いた試験管内転写を確立しin vivoで観察されたヒストン修飾がin vitroで再現できる系を確立した。

D. 考察

未分化細胞特異的な転写因子のプロモーター領域のヒストンH2Aユビキチン化とヒストンH3K4のメチル化はES細胞における遺伝子転写に重要であることをin vitroで確認できる実験系を確立した。

E. 結論

ES細胞とiPS細胞を用いて、未分化細胞特異的な転写因子のプロモーター領域のヒストンの翻

訳後修飾が重要であることを明らかにした。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Endoh M, Endo T.A, Endoh T, Isono K, Sharif J, Ohara O, Toyoda T, Ito T, Eskeland R, Bickmore W.A, Vidal M, Bernstein B.E, Koseki H. (2012). Histone H2A Mono-Ubiquitination Is a Crucial Step to Mediate PRC1-Dependent Repression of Developmental Genes to Maintain ES Cell Identity. PLoS Genet 8, e1002774.

2. Whitcomb S.J, Fierz B, McGinty R.K, Holt M, Ito T, Muir T.W, Allis C.D. (2012). Histone Monoubiquitylation Position Determines Specificity and Direction of Enzymatic Cross-talk with Histone Methyltransferases Dot1L and PRC2. J Biol Chem 287, 23718-23725.

2. 学会発表

1. 伊藤 敬: ASNAはCBP/p300と共に遺伝子転写調節に関与する. 第35回日本分子生物学会年会, 福岡, 2012

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

特記すべきことなし

TRAIL レセプター表出による小児肝芽腫における 未成熟NK細胞移入療法有効性の検討

研究分担者 瀧本 康史 国立成育医療研究センター
臓器・運動器病態外科部外科医長

研究要旨

ヒトの肝臓内には自然免疫応答を司る大量の未成熟NK細胞が含有され、末梢血由来のNK細胞と異なり、強力な抗腫瘍分子(TRAIL: tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand)を誘導し得る。術後再発率が高い中～低分化肝細胞癌はTRAIL受容体(death receptors)を高発現しTRAILを介した細胞死が誘導されやすいことが分かっている。肝癌合併肝硬変例に対し肝移植後の肝由来NK細胞移入療法を施行にて、副作用および癌の再発が抑制され、本治療の安全性と有効性が確認された。この未成熟NK細胞移入療法を肝細胞癌のみではなく小児肝芽腫へ応用可能かどうか小児肝芽腫組織を用いて免疫染色にてTRAIL受容体death receptor DR4+, DR5+, decoy receptor DR1-/DR2-の表出を検討した。

肝芽腫生検組織 3 例、肝芽腫切除組織 3 例、肺転移肝芽腫組織標本 2 例につき、免疫組織染色を行ったが、いずれの肝芽腫組織もコントロールの正常肝と比較し、優位なTRAIL受容体 death receptor DR4+, DR5+の表出は確認できなかった。また肝芽腫細胞でのコントロールに比して decoy receptor DR1-/DR2-の表出の抑制を認めなかった。小児肝芽腫では TRAIL を介した成熟NK細胞移入療法の有効性は少ないことが推察された。

A. 研究目的

自然免疫応答を司るNK細胞は、腫瘍転移形成の初期段階に腫瘍細胞を自己正常細胞から識別し、選択的に殺傷する能力を有するリンパ球である。ヒトの肝臓内には大量の未成熟NK細胞が含有され、末梢血由来のNK細胞と異なり、強力な抗腫瘍分子(TRAIL: tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand)を誘導し得ることを確認し、術後再発率が高い中～低分化肝細胞癌はTRAIL受容体(death receptors)を高発現しTRAILを介した細胞死が誘導されやすいことも報告した。

現在までに、肝癌合併肝硬変例に対し肝移植後の肝由来NK細胞移入療法を施行したところ、副作用および癌の再発は現在まで認められておらず、本治療の安全性と有効性が確認された。未成熟NK細胞移入療法を肝細胞癌のみではなく肝芽腫への応用の可能性を確認するため以下の研究を行った。

B. 研究方法

肝芽腫生検組織 3 例ならびに肝芽腫切除組織 3 例、肺転移肝芽腫組織標本 2 例につき、免疫組織染色を行った。リン酸緩衝食塩水の適切な濃縮のビオチン抱合型抗 TRAILDR4、抗 -TRAIL-DR5、抗 -TRAIL-DcR1 と抗 -TRAIL-DcR2 抗体を使用して各肝芽腫組織の TRAIL 受容体 death receptor DR4+, DR5+, decoy receptor DR1-/DR2-での表出を確認した。

（倫理面への配慮）

全症例、成育医療研究センターの倫理委員会にて承認されたインフォームドコンセントを患者から得て施行した。

C. 研究結果

いずれの肝芽腫組織も免疫染色にてコントロールの正常肝と比較し、優位なTRAIL受容体death receptor DR4+, DR5+の表出は確認できなかった。また肝芽腫細胞でのコント

ロールに比してdecoy receptor DR1-/DR2-の表出の抑制を認めなかった。

D. 考察

今回の研究では肝芽腫組織でのコントロールに比べての、優位なTRAIL受容体death receptor DR4+, DR5+の高発現ならびにdecoy receptor DR1-/DR2-の表出の抑制は認められなかった。すなわち、小児の主な肝腫瘍である肝芽腫ではTRAILを介した成熟NK細胞移入療法の有効性は少ないことが推察された。しかし、研究標本数が少ないために更なる検討が必要と考えられた。

E. 結論

今回の研究では小児の主な肝腫瘍である肝芽腫では TRAIL を介した成熟NK細胞移入療法の有効性は少ないことが推察された。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Fuchimoto Y, Morikawa N, Kuroda T, Hirobe S, Kamagata S, Kumagai M, Matsuoka K, Morikawa Y. Vincristine, actinomycin D, cyclophosphamide chemotherapy resolves Kasabach-Merritt Syndrome resistant to conventional therapies. *Pediatr Int.* 2012 Apr;54(2):285-7.
2. Shinoda M, Tanabe M, Kawachi S, Ono Y, Hayakawa T, Iketani O, Kojima M, Itano O, Obara H, Kitago M, Hibi T, Matsubara K, Shimojima N, Fuchimoto Y, Hoshino K, Wabayashi G, Shimazu M, Tanigawara Y, Kuroda T, Morikawa Y, Kitajima M, Kitagawa Y. Pharmacokinetics of mizoribine in adult living donor liver transplantation. *Transplant Proc.* 2012 Jun;44(5):1329-35.
3. Osumi T, Miharuru M, Fuchimoto Y, Morioka H, Kosaki K, Shimada H. The germline TP53 mutation c.722 C>T promotes bone and liver tumorigenesis at a young age. *Pediatr Blood Cancer.* 2012 Aug 9. doi: 10.1002/pbc.24269.
4. Yotaro Izumi, Ken Hoshino, Naoki Shimojima, Yasushi Fuchimoto, Yuichiro Hayashi, Yasuhide Morikawa, Hiroaki Nomori. Hepatoblastoma Metastasis Confined to the Pulmonary Artery: Report of a Case. *Ann Thorac Cardiovasc Surg.* 2012 Aug 20. doi:10.5761/atcs.cr.11.01848doi
5. 瀧本康史: Mixed chimerismによる免疫寛

容誘導-大動物における前臨床研究と臨床応用-. 総説 今日の移植 2012,25(4): 301-308,
6. Go J Yoshida, Yasushi Fuchimoto*, Tomoo Osumi, Hiroyuki Shimada, Seiichi Hosaka, Hideo Morioka, Makio Mukai, Yohei Masugi, Michiie Sakamoto, Tatsuo Kuroda. Li-Fraumeni syndrome with simultaneous osteosarcoma and liver cancer: Increased expression of a CD44 variant isoform after chemotherapy. *BMC Cancer* 2012, 12:444, DOI: 10.1186/1471-2407-12-444

2. 学会発表

1. 瀧本康史: 小児臓器移植の未来—ドナー特異的免疫寛容の誘導—. 第49回日本小児外科学会総会 2012.5
2. Fuchimoto Y, Tanabe M, Hoshino K, Yamada Y, Kawachi S, Itano O, Obara H, Kitago M, Shinoda M, Shimojima N, Matsubara K, Kitagawa Y, Ohdan O, Kuroda T: American Transplant Congress, 2012. Boston.

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得
該当なし。
2. 実用新案登録
該当なし。
3. その他
該当なし。

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

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
片山恵子、田中純子	肝炎・肝癌の疫学	林紀夫、日比紀文、上西紀夫、下瀬川徹	Annual Review 消化器	中外医学社	東京	2013	88-93

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Iwako H, Tashiro H, Amano H, Tanimoto Y, Oshita A, Kobayashi T, Kuroda S, Tazawa H, Nambu J, Mikuriya Y, Abe T, <u>Ohdan H.</u>	Prognostic significance of antithrombin III levels for outcomes in patients with hepatocellular carcinoma after curative hepatectomy.	Ann Surg Oncol.	19	2888	2012
Oshita A, Tashiro H, Amano H, Kobayashi T, Onoe T, Ide K, Takaki S, Takahashi S, Arihiro K, Chayama K, <u>Ohdan H.</u>	Safety and feasibility of diet-treated donors with steatotic livers at the initial consultation for living-donor liver transplantation.	Transplantation.	93	1024	2012
Tashiro H, Ide K, Amano H, Kobayashi T, Onoe T, Ishiyama K, Kuroda S, Tazawa H, Kono H, Aikata H, Takahashi S, Chayama K, <u>Ohdan H.</u>	Surgical treatment for portosystemic encephalopathy in patients with liver cirrhosis: Occlusion of portosystemic shunt in combination with splenectomy.	Hepato Res.	43(3)	249-54	2012
Ohira M, Nishida S, Tryphonopoulos P, Tekin A, Selvaggi G, Moon J, Levi D, Ricordi C, Ishiyama K, <u>Tanaka Y.</u> , <u>Ohdan H.</u> , Tzakis AG.	Clinical-scale isolation of interleukin-2-stimulated liver natural killer cells for treatment of liver transplantation with hepatocellular carcinoma.	Cell Transplant.	321(7)	1397-406	2012
Kajitani K, <u>Tanaka Y.</u> , Arihiro K, Kataoka T, <u>Ohdan H.</u>	Mechanistic analysis of the antitumor efficacy of human natural killer cells against breast cancer cells.	Breast Cancer Res Treat.	134(1)	139-55	2012
Kobayashi T, Ishiyama K, <u>Ohdan H.</u>	Prevention of recurrence after curative treatment for hepatocellular carcinoma.	Surg Today.	12	[Epub ahead of print]	2012
Sainz B Jr, Barretto N, Martin DN, Hiraga N, <u>Imamura M.</u> , Hussain S, Marsh KA, Yu X, <u>Chayama K.</u> , Alrefai WA, Uprichard SL.	Identification of the Niemann-Pick C1-like 1 cholesterol absorption receptor as a new hepatitis C virus entry factor.	Nat Med.	18(2)	281-5	2012
Kawaoka T, Takahashi S, Takaki S, Hiramatsu A, Waki K, Hiraga N, Miki D, Tsuge M, <u>Imamura M.</u> , Kawakami Y, Aikata H, Ochi H, Onoe T, Tashiro H, Ohdan H, <u>Chayama K.</u>	IL28B SNP of donors and recipients can predict virological response to PEGIFN/RBV therapy in patients with recurrent hepatitis C after living donor liver transplantation.	J Gastroenterol Hepatol.	27(9)	1467-1472	2012
Kudo Y, Iizuka S, Yoshida M, Tsunematsu T, Kondo T, Subarnbhesaj A, Deraz EM, Siriwardena SB, <u>Tahara H.</u> , Ishimaru N, Ogawa I, Takata T.	Matrix metalloproteinase-13 (MMP-13) directly and indirectly promotes tumor angiogenesis.	Journal of Biological Chemistry.	287(46)	38716-38728	2012

Xu D, <u>Tahara H.</u>	The role of exosomes and microRNAs in senescence and aging.	Advanced Drug Delivery Reviews.	65(3)	368-375.	2013
Zhang X, Horibata K, Saijo M, Ishigami C, Ukai A, Kanno S, <u>Tahara H</u> , Neilan EG, Honma M, Nohmi T, Yasui A, Tanaka K.	Mutations in UVSSA cause UV-sensitive syndrome and destabilize ERCC6 in transcription-coupled DNA repair.	Nature Genetics.	44	593-597	2012
Sato M, Shin-ya K, Lee JI, Ishihara M, Nagai T, Kaneshiro N, Mitani G, <u>Tahara H</u> , Mochida J.	Human telomerase reverse transcriptase and glucose-regulated protein 78 increase the life span of articular chondrocytes and their repair potential.	BMC Musculoskeletal Disord.	13	51	2012
Kumada T, Toyoda H, Kiriyama S, Tanikawa M, Hisanaga Y, Kanamori A, Tada T, <u>Tanaka J</u>	Characteristics of elderly hepatitis C virus-associated hepatocellular carcinoma patients.	Journal of Gastroenterology and Hepatology.	28 (2)	357-364	2013
Kumada T, Toyoda H, Tada T, Kiriyama S, Tanikawa M, Hisanaga Y, Kanamori A, Niinomi T, Yasuda S, Ando Y, Yamamoto K, <u>Tanaka J</u>	Effect of nucleos(t)ide analogue therapy on hepatocarcinogenesis in chronic hepatitis B patients: a propensity score analysis.	Journal of Hepatology.	58 (3)	427-433	2013
仁科惣治、栗原淳子、則安俊昭、糸島達也、山本和秀、 <u>田中純子</u> 、日野啓輔	岡山県における肝炎ウイルス検診陽性者の医療機関受診等に関する追跡調査	肝臓	54 (1)	84-86	2013
<u>田中純子</u>	C型肝炎はどのように日本で蔓延し肝臓をもたらしめたのか -肝臓抑制の実地診療のすすめかた-	Medical Practice.	30 (2)	194-202	2013
Matsuo J, Mizui M, Okita H, Katayama K, Aimitsu S, Sakata T, Obayashi M, Nakanishi T, Chayama K, Miyakawa Y, Yoshizawa H, <u>Tanaka J</u> , (Hiroshima Hepatitis Study Group)	Follow up of the 987 blood donors found with hepatitis C virus infection over 9-18 years.	Hepatology Research.	42 (7)	637-647	2012
Murakami Y, Toyoda H, Tanahashi T, <u>Tanaka J</u> , Kumada T, Yoshioka Y, Kosaka N, Ochiya T, Taguchi Y-h	Comprehensive miRNA expression analysis in peripheral blood can diagnose liver disease.	PLoS ONE.	7 (10)	e48366	2012
片山恵子、松尾順子、秋田智之、田淵文子、酒井明人、 <u>田中純子</u>	肝炎ウイルス検査の受診状況等に関する聞き取り調査報告	肝臓	53 (11)	707-720	2012
<u>田中純子</u>	わが国におけるB型肝炎・C型肝炎ウイルスキャリアの現状	化学療法の領域	28 (1)	18-27	2012

田中純子	B型肝炎に関する疫学調査の最新情報	医学のあゆみ	242 (5)	373-380	2012
田中純子	わが国におけるC型肝炎の疫学	臨牀消化器内科	27 (11)	1413-1422	2012
田中純子、三浦宜彦	わが国における肝癌の疫学	肝胆膵	65 (6)	985-992	2012
田中純子	肝癌の疫学と対策	内科 特集 肝癌診療の最前線 -知っておきたい診断・治療の最新情報-	109 (3)	386-392	2012
Tateno C, Miya F, Wake K, Kataoka M, Ishida Y, Yamasaki C, Yanagi A, Kakuni M, Wisse E, Verheyen F, Inoue K, Sato K, Kudo A, Arii S, Itamoto T, Asahara T, Tsunoda T, Yoshizato K.	Morphological and microarray analyses of human hepatocytes from xenogeneic host livers.	Laboratory Investigation.	93	54-71	2013
Kakuni M, Morita M, Matsuo K, Katoh Y, Nakajima M, Tateno C, Yokoi T.	Chimeric Mice with a Humanized Liver as an Animal Model of Troglitazone-induced Liver Injury.	Toxicology Letter.	214	9-18	2012
Sanoh S, Horiguchi A, Sugihara K, Kotake Y, Tayama Y, Uramaru N, Ohshita H, Tateno C, Horie T, Kitamura S, Ohta S.	Predictability of Metabolism of Ibuprofen and Naproxen Using Chimeric Mice with Human Hepatocytes.	Drug Metabolism and Disposition.	40	2267-2272	2012
Sanoh S, Horiguchi A, Sugihara K, Kotake Y, Tayama Y, Ohshita H, Tateno C, Horie T, Kitamura S, Ohta S.	Prediction of in vivo hepatic clearance and half-life of drug candidates in human using chimeric mice with humanized liver.	Drug Metabolism and Disposition.	40	322-328	2012
Mashimo T, Takizawa A, Kobayashi J, Kunihiro Y, Yoshimi K, Ishida S, Tanabe K, Yanagi A, Tachibana A, Hirose J, Yomoda J, Morimoto S, Kuramoto T, Voigt B, Watanabe T, Hiai H, Tateno C, Komatsu K, Serikawa T.	Generation and Characterization of Severe Combined Immunodeficiency Rats.	Cell Reports.	18	3875-3882	2012
加国雅和、立野知世	ヒト肝細胞キメラマウスを用いた抗肝炎ウイルス薬効評価系	ファルマシア	4	956-958.	2012
立野知世	ヒト肝細胞キメラマウス—肝臓肥大のメカニズムに関して—	生化学 特集 「肝臓の発生・再生」宮島篤編	84	699-706	2012

Endoh M, Endo TA, Endoh T, Isono K, Sharif J, Ohara O, Toyoda T, <u>Ito T</u> , Eskeland R, Bickmore WA, Vidal M, Bernstein BE, Koseki H.	Histone H2A Mono-Ubiquitination Is a Crucial Step to Mediate PRC1-Dependent Repression of Developmental Genes to Maintain ES Cell Identity.	PLoS Genet.	8	e1002774	2012
Whitcomb SJ, Fierz B, McGinty RK, Holt M, <u>Ito T</u> , Muir TW, Allis CD.	Histone Monoubiquitylation Position Determines Specificity and Direction of Enzymatic Cross-talk with Histone Methyltransferases Dot1L and PRC2.	J Biol Chem.	287	23718-23725	2012
<u>Fuchimoto Y</u> , Morikawa N, Kuroda T, Hirobe S, Kamagata S, Kumagai M, Matsuoka K, Morikawa Y.	Vincristine, actinomycin D, cyclophosphamide chemotherapy resolves Kasabach-Merritt Syndrome resistant to conventional therapies.	Pediatr Int.	54(2)	285-7.	2012
Shinoda M, Tanabe M, Kawachi S, Ono Y, Hayakawa T, Iketani O, Kojima M, Itano O, Obara H, Kitago M, Hibi T, Matsubara K, Shimojima N, <u>Fuchimoto Y</u> , Hoshino K, Wakabayashi G, Shimazu M, Tanigawara Y, Kuroda T, Morikawa Y, Kitajima M, Kitagawa Y.	Pharmacokinetics of mizoribine in adult living donor liver transplantation.	Transplant Proc.	44(5)	1329-1335	2012
Osumi T, Miharuru M, <u>Fuchimoto Y</u> , Morioka H, Kosaki K, Shimada H.	The germline TP53 mutation c.722 C>T promotes bone and liver tumorigenesis at a young age.	Pediatr Blood Cancer.	59(7)	1332-1333	2012
Izumi Y, Hoshino K, Shimojima N, <u>Fuchimoto Y</u> , Hayashi Y, Morikawa Y, Nomori H.	Hepatoblastoma Metastasis Confined to the Pulmonary Artery: Report of a Case.	Ann Thorac Cardiovasc Surg.		Epub ahead of print	2012
<u>淵本康史</u>	Mixed chimerismによる免疫寛容誘導-大動物における前臨床研究と臨床応用	今日の移植	25(4)	301-308	2012
Yoshida GJ, <u>Fuchimoto Y</u> , Osumi T, Shimada H, Hosaka S, Morioka H, Mukai M, Masugi Y, Sakamoto M, Kuroda T.	Li-Fraumeni syndrome with simultaneous osteosarcoma and liver cancer: Increased expression of a CD44 variant isoform after chemotherapy.	BMC Cancer.	12	44	2012

IV. 研究成果の刊行物・別刷