

201227024A

厚生労働科学研究費補助金

肝炎等克服緊急対策研究事業

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

平成24年度 総括研究報告書

研究代表者 紙谷 聡英

平成25（2013）年 3月

目 次

I. 総括研究報告

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 -----1

東海大学 創造科学技術研究機構・准教授 紙谷聡英

II. 研究に関するの刊行物の一覧表 ----- 16

III. 研究に関するの刊行物の別刷 ----- 18

I . 総括研究報告書

厚生労働科学研究費補助金(肝炎等克服緊急対策研究事業)

総括研究報告書

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

研究代表者 紙谷 聡英 (東海大学・創造科学技術研究機構・准教授)

研究要旨

B 型、C 型肝炎ウイルス(HBV, HCV)の感染は免疫・炎症反応を介して慢性肝炎を発症し、肝硬変・肝癌の原因となる。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。近年開発された免疫不全ヒト肝キメラマウスでは、HBV, HCV の *in vivo* で感染・増殖が可能だが、免疫細胞が欠損しており感染後に生じる慢性肝炎が再現されない。そこで本研究では、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。これにより、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。

ヒト肝細胞モデルマウス等の作成では、脳死ドナー肝臓から分離した初代培養肝細胞等が一般的に用いられている。しかし、得られる細胞数や種類(海外からの輸入品が多く日本人の遺伝的背景を持つものが少ない)に問題がある。近年、最終分化した体細胞に様々な遺伝子群を発現させ、神経細胞や心筋細胞、血液細胞に Direct Reprogramming できることが報告されている。そこで、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しキメラマウス作成に使用する。平成 24 年度は、前年度に引き続きマウス線維芽細胞をモデルとして、肝細胞への Direct Reprogramming を可能とする因子の探索を行っている。前年度までに、既に報告のある HNF4 α や FoxA3 に加えて複数の候補遺伝子を同定しており、その機能解析を本年度で行った。また、マウス胎仔および新生仔への肝幹・前駆細胞の移植系の構築を行っている。

A. 研究目的

ウイルス性肝疾患の治療法研究が困難な理由として、ウイルスの種特異性によりマウス・ラットといった簡便な実験動物による研究が困難な点がある。近年、免疫不全マウスに肝障害を誘導する遺伝子を組み込むことで、ヒト肝細胞を高効率に移植可能な系が構築され (Tateno et al., 2004)、作成したヒト肝細胞キメラマウスに HBV、HCV が感染可能なことが示されている (Tsuge et al., 2005 等)。しかし、このマウスモデルでは免疫細胞が存在しないために、慢性肝炎の原因となる肝臓へのウイルス肝炎に伴う免疫・炎症反応が再現できない。免疫機能を保持したまま肝細胞をヒト化できる系の確立が、肝炎ウイルスによる慢性肝炎の動物モデル作成を通じた新規治療法開発のために必須である。ヒト細胞をマウスに生着させるには異種移植に対する免疫拒絶を抑制する必要がある。本研究では、これまでの免疫不全動物モデルではなく、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・前駆細胞を移植して自己免疫寛容を誘導する。生体内では自己抗原を認識する免疫細胞を排除する選択システムが存在する。胎生・新生仔期にヒト細胞を移植し、ヒト細胞をレシピエントの免疫系に自己と認識させ免疫寛容を促すことで生着を可能にする系を構築する。

本研究では、ヒト肝幹・前駆細胞のソースとして、線維芽細胞に複数の遺伝子を導入

することで肝細胞系へと Direct

reprogramming したものを用いる。これによって患者個々の遺伝背景を反映した肝細胞を持つ動物モデルによるウイルスの増殖や肝炎の進行の研究が可能になり、薬物感受性の差異等を考慮した新薬開発など幅広い応用が考えられる。

我々は、マウス繊維芽細胞に肝発生・肝機能を制御する転写因子群を強制発現させスクリーニングを行った結果、複数の転写因子を導入することで繊維芽細胞を肝細胞様細胞へと Direct reprogramming できる

Preliminary な結果を得ている。また、

Grompe らが報告している

Fumarylacetoacetate hydrolase (FAH) 欠損マウスを用いて、レシピエント肝細胞のみに肝障害を誘導し移植細胞の増殖が誘導できることを確認している。平成 23 年度では、既知の肝分化誘導因子である HNF4 および FoxA2,3 に加えて、新規の誘導因子の候補を複数同定した。そこで平成 24、25 年度は、得られた候補遺伝子の機能解析を行うとともに、誘導ヒト肝幹・前駆細胞をマウス胎仔・新生仔肝臓へと移植した後にレシピエントの肝障害を誘導することで、免疫系を保持したヒト肝キメラマウスの作成を行い、肝炎ウイルス感染による炎症反応・慢性肝炎の誘導が可能か検討する。

B. 研究方法

HBV, HCV 由来の慢性肝炎モデル作成に必要な免疫系を保持したヒト肝細胞キメラマウスの作出技術の確立を目的として、次の研究を遂行する。

1. ヒト繊維芽細胞からの肝前駆細胞の分化誘導・純化系の構築

最終分化した体細胞に遺伝子導入して、神経細胞や心筋細胞、血液細胞に Direct Reprogramming できることが近年報告されている。本研究では、マウス・ヒト繊維芽細胞に候補遺伝子群を導入し、肝前駆細胞を誘導できるか検討する。分化誘導後に細胞表面抗原の網羅的なスクリーニングを行い作成したヒト肝前駆細胞の特異的細胞表面マーカーを同定し純化する。この目的のために、胎仔肝臓から肝幹・前駆細胞をフローサイトメーター (FACS) を用いて純化し、マイクロアレイによる網羅的発現解析を行った。HNF4 α 、FoxA2、FoxA3 などの既知の肝細胞機能遺伝子に加えて、肝分化過程で遺伝子発現が変化する核内因子群を候補遺伝子として同定した。候補遺伝子をレトロウイルスベクター (pGCDNSam) にクローニングし、強制発現用ウイルスを作成した。マウス胎仔繊維芽細胞を、胎生 13 日マウス胎仔を酵素処理することで分離・培養し、候補遺伝子をレトロウイルスを用いて強制発現させた後に、サイトカイン (Hepatocyte Growth Factor [HGF] および Epidermal Growth Factor) 存在下で培養

した。肝細胞系への分化誘導を、肝細胞マーカー遺伝子の発現をリアルタイム PCR を用いて同定した。

また我々は、マウス胎仔繊維芽細胞との共培養でマウス胎生肝前駆細胞の in vitro 増殖が誘導可能なことを見出しており、ヒト肝前駆細胞をこの系を用いて増幅することを目指した。そこで、ヒト iPS 細胞由来の肝幹・前駆細胞がこの系を用いて増殖が可能かをまず検討した。既報に従って、ヒト皮膚細胞由来 iPS 細胞を、アクチビン、Fibroblast growth factor, Bone morphogenetic protein, HGF とサイトカインを連続的に添加することで肝臓系細胞へと分化誘導した。得られた細胞から肝幹・前駆細胞を FACS を用いて分化し、マウス胎仔繊維芽細胞をフィーダー細胞としてコロニー形成培養を行い、細胞の増殖性と分化能を解析した。

2. 肝障害誘導マウス胎仔を用いた、生体由来肝幹・前駆細胞の移植系の構築

FAH 欠損マウスは、チロシン分解の最終段階を制御する酵素である FAH の欠損により、毒性代謝産物蓄積による肝障害を発症する。

FAH 欠損マウスは

2-(2-nitro-4-trifluoromethylbenzoyl)-1,3-cyclohexanedione (NTBC) の添加によりほぼ正常の状態を保つが、NTBC 添加を止めると速やかな肝障害を誘導できる。また、別の肝

障害誘導モデルマウスとして、ジフテリアトキシン受容体を肝細胞特異的に発現するマウスを作成している。ジフテリアトキシン受容体をCre依存的に発現するトランスジェニックマウスおよび AlbAFP プロモーター影響下で Cre を発現するトランスジェニックマウスを導入し交配させた。このダブルトランスジェニックマウスにジフテリアトキシンを添加することで肝細胞死を誘導できることを確認している。そこでこれらの遺伝子改変マウス胎仔肝臓に、同じ発生時期の正常肝幹・前駆細胞を移植した後に肝障害を誘導して、移植細胞の生着が可能か検討を行う。発生過程において肝臓形成が進行する各段階(マウス胎生 11 日から出生前後まで)の FAH 欠損胎仔肝臓に、GFP マウス胎児より分離した肝前駆細胞を実体顕微鏡下で経子宮的に移植する。手術後、親マウスへの NTBC 投与を停止し胎仔マウス肝臓における肝障害を誘導する。肝幹・前駆細胞の移植時期や NTBC 投与停止による肝障害誘導の時期を条件検討することで、最も適切な移植条件を設定することを目的とした。

平成 24 年度は、胎仔・新生仔マウスへの肝幹・前駆細胞への移植条件の検討を前年に引き続き行うとともに、ジフテリアトキシン受容体トランスジェニックマウス(iDTR マウス)および AlbAFP プロモーターCre-トランスジェニックマウス(AlbAFPCre マウス)の交配・作製を行った。

3. ヒト繊維芽細胞由来肝前駆細胞を用いた、免疫機能を持つヒト肝細胞キメラマウスの作成

上記1,2 の研究成果を元に、ヒト繊維芽細胞から肝前駆細胞を誘導し、FAH 欠損マウス胎仔肝臓へと移植を行う。NTBC の投与停止により肝障害を誘導し、FAH 欠損マウス胎児の肝臓内で移植したヒト細胞が肝細胞の障害を補完することで、マウス個体が成体まで成長できるか観察する。または、iDTR-AlbAFPCre マウスを用いて、ジフテリアトキシン投与によって肝障害を誘導した後に細胞を移植することで、効率的な生着が可能か検討する。ヒト細胞由来肝前駆細胞を移植した場合、マウス体内ではサイトカインの種差等の問題から十分な増殖効率が得られない可能性がある。その場合には、一過的な遺伝子導入・発現による移植・生着効率の改善を試行する。

4. 作成したキメラマウスにおける免疫系の評価および肝炎ウイルスの感染実験

これまでの研究で作成したヒト肝細胞キメラマウスを用いた肝機能・免疫機能の解析を行なう。キメラマウス体内のヒト血清アルブミンや薬物代謝酵素の発現レベルの解析、末梢血中の免疫細胞(B 細胞や T 細胞)の細胞数や機能が正常か解析する。肝臓切片の染色によりドナー細胞の生着率を測定する。

HBV または HCV をマウスに接種し、キメラ肝臓内でウイルスの感染・増殖を観察する。さらに、肝炎ウイルスの持続的な感染を起こすマウスが得られた場合には長期の飼育を行い、免疫細胞の活性化や炎症反応が生じるか観察する。

(倫理面への配慮)

遺伝子組み換え実験に関しては、「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律」に基づく「研究開発二種省令・研究開発等に係る遺伝子組換え生物等の第二種使用等に当たって執るべき拡散防止措置等を定める省令」に準拠し遂行する。

動物実験に関しては、当大学の定める指針に従って実験を遂行する。

ヒト細胞の使用に関しては倫理審査委員会の規定に従い、説明・同意を得られたサンプルを使用する。またヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針に従って研究を遂行する。

C. 研究結果

1. ヒト繊維芽細胞からの肝前駆細胞の分化誘導・純化系の構築

(1) マウス繊維芽細胞から肝細胞への Direct Reprogramming 系

肝細胞の機能は、HNF4 α や FoxA2, 3 といった Liver-enriched transcription factor のネットワークにより制御されている。これらの転写因子群、またはマイクロアレイによる網羅的解析によって肝分化過程で発現が変化した核内因子を肝細胞系へのリプログラミング候補遺伝子として選別した。平成 23 年度の成果として成熟肝細胞および胎生 13 日由来肝幹・前駆細胞を純化、RNA を回収しマイクロアレイによる比較を行ない、いくつかの候補核内因子を同定した。そこで平成 24 年度では前年に引き続いて、得られた候補遺伝子群をマウス繊維芽細胞にレトロウイルスベクターを用いて強制発現させ、約 2 週間培養した後に肝細胞マーカーであるアルブミンの発現をリアルタイム PCR にて解析することで網羅的なスクリーニングを行った(図 1)。

HNF4 α および FoxA2 の強制発現によりアルブミンの誘導が見られたもののその発現レベルはコントロールとして用いたマウス胎仔肝臓由来細胞と比べて低いものである。前年度には HLH 型核内因子の一つである Mist1 を強制発現した際にアルブミンが強く誘導されることを見出していた(PCR および免疫染色)。さらに、チトクローム P450 (CYP)3A11 等の成熟肝細胞のマーカー遺伝子の発現誘導も観察されたことから、既知因子(HNF4 α および FoxA2)に加えて Mist 1 を新規肝分化誘導因子として同定した。そこで平成 24 年度ではさらにスクリーニングを

進めた結果、新たな肝分化誘導因子として Bcl-6 および Hepatic leukemia factor (HLF) を同定した。これらの転写因子を HNF4 α および FoxA2 と同時にマウス線維芽細胞に発現することで、アルブミンやチロシンアミノトランスフェラーゼ等の肝細胞マーカー遺伝子の発現が強く誘導されることを見出した(図2)。さらにリアルタイム PCR および FACS による細胞表面抗原の発現解析を行った。その結果、特に Mist1 を強制発現させた際に、誘導される線維芽細胞由来肝臓系細胞中で肝幹細胞マーカーである CD133 陽性細胞の比率が増加することを明らかとした。現在、この細胞画分に高増殖性と多分化能をもつ肝前駆細胞が含まれるか検討を行っている。

(2) ヒト iPS 細胞を用いた肝幹・前駆細胞の純化・長期培養系の構築の試み

ヒト肝幹・前駆細胞の in vitro での増幅系を構築する目的で、ヒト iPS 細胞由来細胞をモデルとして研究を行っている。

平成 23 年度の研究成果としてヒト iPS 細胞を既報に従って肝臓系細胞へと分化誘導を行い、肝幹・前駆細胞マーカー CD13 および CD133 の表面抗原抗体を用いて細胞分画した。FACS を用いて分画した各細胞をマウス線維芽細胞をフィーダーとして低密度培養を行った結果、AFP、HNF4 α 陽性のコロニー形成能をもつ前駆細胞の存在を確認し

た。この細胞は継代培養を繰り返した結果、1 カ月にわたり増殖しつづけることが分かった(図3)。数代の継代培養後に形成されたコロニーでも、初代のコロニーと同様に AFP、FoxA2、HNF4 α 陽性を示すことから、継代培養後も肝幹・前駆細胞様細胞としての形質を維持していると考えられた。そこで平成 24 年度は、得られた肝幹・前駆細胞様細胞の成熟肝細胞・胆管細胞への分化能を検討した。幼弱な肝細胞は浮遊培養によるスフェロイド形成などによって 3 次元構造を取らせることで成熟化し、肝機能遺伝子の発現が上昇することが知られている。そこで、継代培養によって得られた iPS 由来肝幹・前駆細胞を浮遊培養(ハンギングドロップ法)によってスフェロイド形成させた後に、肝機能遺伝子(CYP など)の発現をリアルタイム PCR を用いて解析した(図4)。その結果、継代培養を重ねた iPS 由来肝幹・前駆細胞であっても高次構造の形成により CYP 系遺伝子の発現上昇がみられることが分かった。また、同様の細胞をラミニン・コラーゲン等の細胞外マトリクスゲルに包埋培養し、Wnt 等のサイトカインを添加することで上皮系の Cyst 構造を形成することを見出した(図5)。この Cyst は Apical 側、Basolateral 側それぞれに特異的なタンパク質を発現する極性を持つ上皮細胞シートから形成されており、胆管のマーカー遺伝子である Cytokeratin7 の発現が見られた。つまり、この培養系により iPS 由来肝幹・前駆細胞から胆管系細胞構造への

分化誘導が確認できたと考えている。

以上の結果によって、本年度ではヒト iPS 由来肝幹・前駆細胞の長期培養系、さらに培養系中で多分化能(肝細胞および胆管細胞)への分化能を持つ細胞が維持されていることを証明した。

2. 肝障害誘導マウス胎仔を用いた、生体由来肝幹・前駆細胞の移植系の構築

マウス胎仔・新生仔への移植系構築の目的で、まず胎仔肝臓由来の肝幹・前駆細胞のマウス新生仔への移植を行っている(図6)。マウス胎生 13 日肝臓より分離した Dlk^{+} 肝幹・前駆細胞を新生仔マウスの肝臓に直接、または眼底静脈を通じた経静脈的な移植によって移植を行い結果を比較した。

Dlk^{+} 肝幹・前駆細胞を新生仔マウスの眼底静脈より移植し、各臓器における生着を観察した結果では、移植直後ある程度の期間で肝臓への生着を検出する一方で肺等への異所性の細胞の沈着や増殖が見られることが分かった(図6左)。一方、肝臓に直接移植を行った場合には、移植したマウス個体の一部で肝臓に移植細胞が検出されるものの、個体間のばらつきが観察された(図6右)。今後、移植後の時間経過に従って肝臓やその他の異所性の移植細胞の生着・増殖の過程を解析する予定である。

移植後に肝障害の誘導できるマウスモデルとして、ジフテリアトキシン受容体を肝細胞

特異的に発現するマウスの開発を行っている。Cre 依存的にジフテリアトキシン受容体を発現する iDTR マウスは JAX マウスより購入した。また、肝細胞特異的に Cre を発現する AlbAFPCre マウスは Dr. Kaestner より供与されたものを使用している。両トランスジェニックマウスを掛け合わせたダブルトランスジェニックマウスでは、ジフテリアトキシン刺激による肝障害を発症することを確認している。来年度以降、これらのモデルマウスを用いた移植系の研究を行う予定である。

3. ヒト繊維芽細胞由来肝前駆細胞を用いた、免疫機能を持つヒト肝細胞キメラマウスの作成

4. 作成したキメラマウスにおける免疫系の評価および肝炎ウイルスの感染実験

両研究課題に関しては、平成 25 年度での遂行を計画している。

D. 考察

マウス線維芽細胞から Direct に肝細胞を作り出す系として、我々は HNF4 α および FoxA2, 3 に加えて、HLH 型転写因子 Mist1 を発現させることで誘導効率が上昇することを見出した。さらに本年度の成果として、新たな肝分化誘導因子 Bcl6 および HLF を同定した。しかし、これらの転写因子がどのよう

な分子メカニズムによって線維芽細胞の運命決定機構を制御し、肝分化を誘導しているのかは未だ不明である。そこで、線維芽細胞にこれらの転写因子を発現させた際の網羅的な遺伝子発現変化の解析を、マイクロアレイを用いて現在行っている。現在までの検討結果では、肝幹細胞マーカーである CD133 等の発現が Mist1 によって強く誘導されることなどが明らかとなっており、今後詳細な解析を行うことで、肝分化における運命決定のメカニズムの同定、さらには本研究の目的である、ヒト線維芽細胞での Direct reprogramming につながる知見が得られることを期待している。

ヒト線維芽細胞への遺伝子導入、肝細胞(肝幹・前駆細胞)への分化誘導を進める上で細胞周期関連遺伝子の影響が考えられる。マウス線維芽細胞を用いた上記因子での Direct reprogramming の系においても正常マウス線維芽細胞よりも cdk インヒビターである p16/19 cdkn2a のノックアウトマウス由来の線維芽細胞を用いた際に、効率のよい肝分化誘導、その後の細胞の増殖が見られることがわかった。我々は既に、マウス胎仔肝臓から分離した肝幹・前駆細胞の長期培養を行う中で、培養が進むにつれて cdk インヒビターである cdkn2a の発現が上昇し細胞増殖が停止することを見出している。ヒト線維芽細胞からの肝幹・前駆細胞の分化系でも、試験管内での分化誘導・増殖の過程で

cdkn2a の発現上昇が誘導され、効率的な肝分化誘導が阻害される可能性が指摘される。そこで human cdkn2a のノックダウン shRNA ベクター等を同時に導入することで、肝分化効率を上昇できるか検討する予定である。

マウス胎仔および新生仔への移植系の構築では、どのような移植系が有用かの検討を行っている。マウス新生仔の眼底静脈を経由した移植では、細胞の一部が肝臓へ効率的に移行する一方で、肺への細胞の侵入・吸着も多く見られた。今後、このような条件下でマウス肝幹・前駆細胞がどのような挙動を示すのか解析するとともに、本年度より作製している新規肝障害マウスモデル等を用いて検討を行う予定である。

E. 結論

- (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 FoxA2、3 に加えて、新規の肝分化誘導因子として Mist1 に加えて Bcl-6、HLF を同定した。
- (2) ヒト iPS 細胞由来肝前駆細胞をモデルとして、2 方向の分化能を維持したまま長期間培養できる条件を決定した。
- (3) マウス胎仔および新生仔への移植系の構築を行い、マウス胎仔肝臓由来の肝幹・

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。また新規肝障害モデルマウスとして iDTR・AlbAfpCre マウスを作製した。

今後の研究課題として、

(1) Mist1、Bcl-6、HLF といった本研究によって同定した新規肝分化誘導因子による、肝分化の分子メカニズムを同定し、ヒト体細胞からの肝分化誘導系を構築する。

(2) 新規肝障害マウスモデルなどを用いて、マウス胎仔・新生仔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 での肝炎ウイルス感染実験を行う。

を予定しており、平成 25 年度の研究課題として実施する予定である。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

・原著論文

Kiyohashi K, Kakinuma S, Kamiya A, Sakamoto N, Nitta S, Yamanaka H, Yoshino K, Fijuki J, Murakawa M, Kusano-Kitazume A, Shimizu H, Okamoto R, Azuma S, Nakagawa

M, Asahina Y, Tanimizu N, Kikuchi A, Nakauchi H, Watanabe M. Wnt5a signaling mediates biliary differentiation of fetal hepatic stem/progenitor cells. Hepatology. 2013 in press.

Oikawa T, Kamiya A*, Zeniya M, Chikada H, Hyuck AD, Yamazaki Y, Wauthier E, Tajiri H, Miller LD, Wang XW, Reid LM*, Nakauchi H*. SALL4, a stem cell biomarker in liver cancers. Hepatology 57, 1469-83, 2013.

(*Corresponding Authors)

Yamaguchi T, Hamanaka S, Kamiya A, Okabe M, Kawarai M, Wakiyama Y, Umino A, Hayama T, Sato H, Lee YS, Kato-Itoh M, Masaki H, Kobayashi T, Yamazaki S, Nakauchi H. Development of an All-in-One Inducible Lentiviral Vector for Gene Specific Analysis of Reprogramming. PLoS One. 7, e41007, 2012

Sekine K, Takebe T, Suzuki Y, Kamiya A, Nakauchi H, Taniguchi H. Highly efficient generation of definitive endoderm lineage from human induced pluripotent stem cells. Transplant Proc. 244, 1127-9, 2012.

・総説

紙谷聡英「ヒト多能性幹細胞からの肝幹・前駆細胞分化誘導系の構築」 消化器内科, 2013, 56, 316-323

紙谷聡英「発生過程・生体における肝幹・前駆細胞の分化誘導の分子メカニズム」 肝胆膵, 2012, 65, 29-35

主な刊行物等はⅡ章に記載した。

・国内学会発表

紙谷聡英、中内啓光

「MEK-ERK シグナル伝達系による胎生肝
幹・前駆細胞の増殖制御機構」

第 48 回日本肝臓学会総会

ホテル日航金沢 2012 年 6 月 7 日

紙谷 聡英

「肝幹・前駆細胞の長期増殖を制御する細
胞内シグナル伝達機構」

第 11 回日本再生医療学会

ランチョンセミナー・招待講演

パシフィコ横浜 2012 年 6 月 14 日

紙谷聡英、伊藤 慶一、柳田 絢加、中内
啓光

「MEK-ERK シグナル経路による肝幹・前駆
細胞の増殖制御機構」

第 19 回肝細胞研究会

札幌医科大学 2012 年 6 月 29 日

紙谷聡英、伊藤 慶一、柳田 絢加、中内
啓光

「An in vitro expansion system in generating
purified hepatic stem/progenitor-like cells
derived from human iPS cells.」

第 35 回日本分子生物学会

福岡国際会議場 2012 年 12 月 11 日

近田裕美、紙谷聡英

「HLH型転写因子による胎生肝幹・前駆細
胞の分化誘導」

第 12 回日本再生医療学会

パシフィコ横浜 2013 年 3 月 23 日

・国際学会発表

紙谷聡英、伊藤 慶一、柳田 絢加、中内
啓光

「MEK activity regulates stem/progenitor
potential of fetal hepatoblasts through
induction of cell cycle arrest」

第 10 回 International Society of Stem Cell
Research パシフィコ横浜 2012 年 6 月 14 日

柳田 絢加、紙谷聡英、伊藤 慶一、中内
啓光

「The Application of Human iPS cells as an in
vitro expansion system in generating purified
Hepatic stem/progenitor-like cells to
determine the molecular mechanisms
regulating human liver organogenesis」

第 10 回 International Society of Stem Cell
Research パシフィコ横浜 2012 年 6 月 14 日

H. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

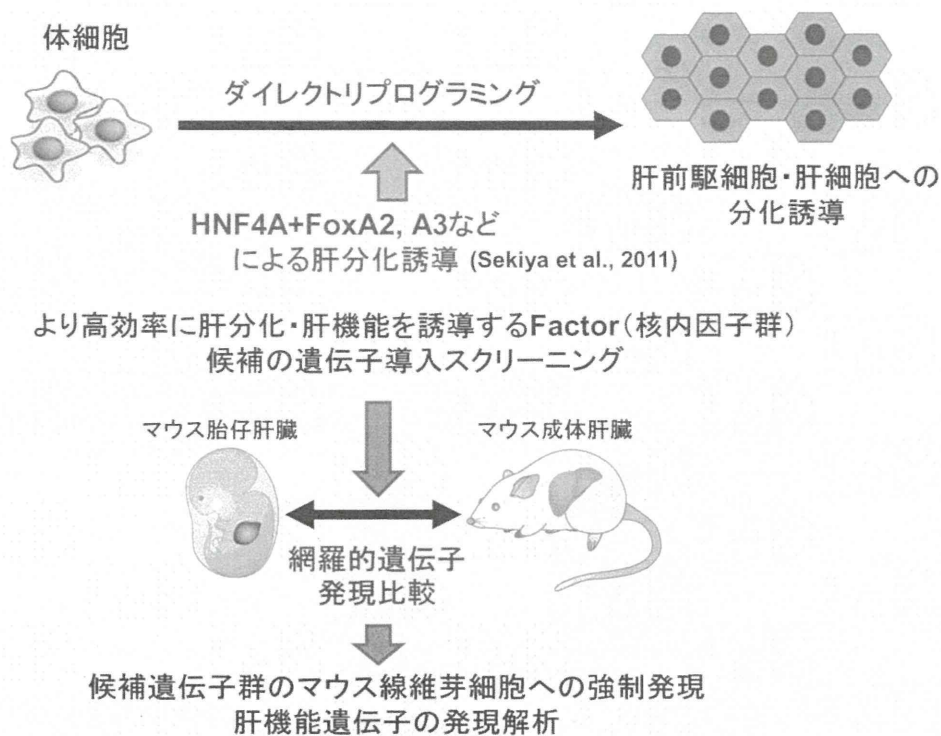
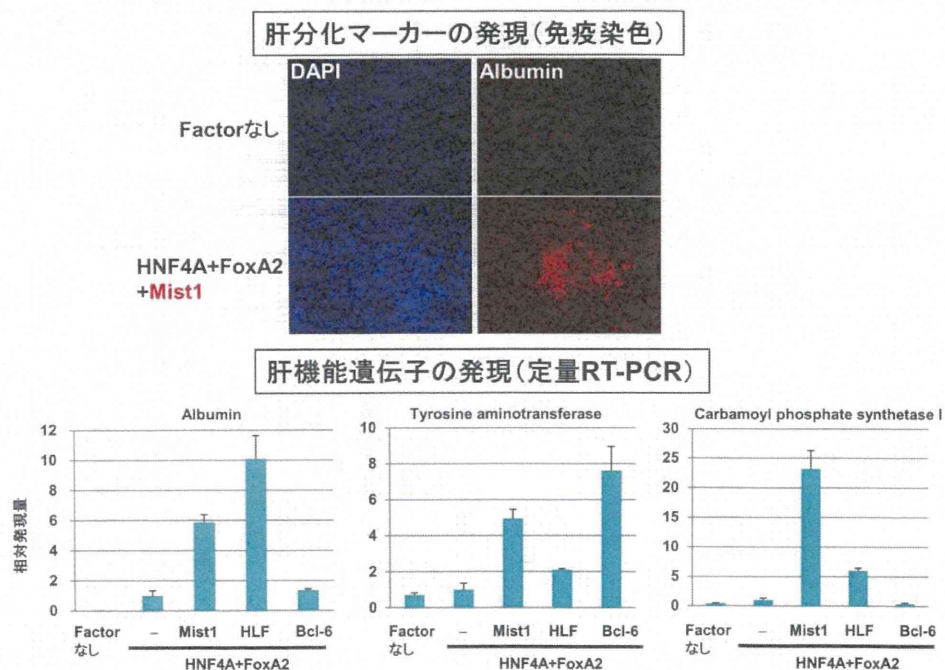


図1 マウス線維芽細胞での肝分化誘導因子の網羅的探索



マウス線維芽細胞を分化誘導可能な新規肝分化誘導因子としてMist1, HLF, Bcl-6を同定

図2 Direct Reprogramming によるマウス線維芽細胞の機能肝細胞への分化誘導

ヒト肝幹・前駆細胞の移植： 移植に必要な細胞のin vitro expansion系を構築

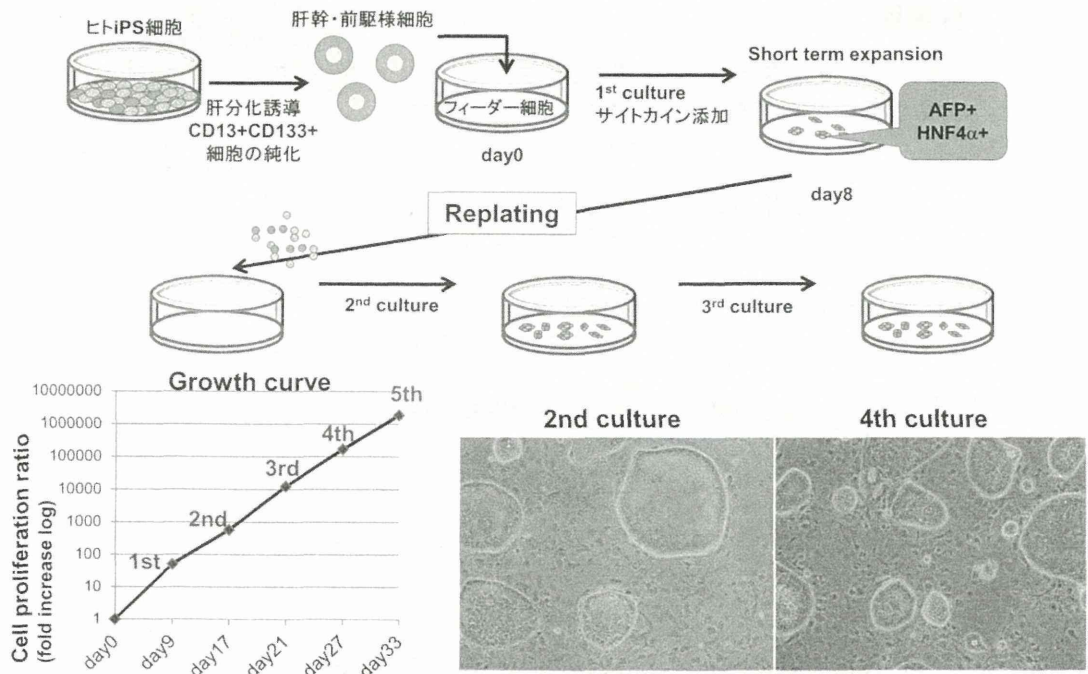


図3 ヒト iPS 由来肝幹・前駆細胞の分離・培養系の構築

ヒトiPS細胞由来肝幹・前駆細胞の機能肝細胞への分化誘導

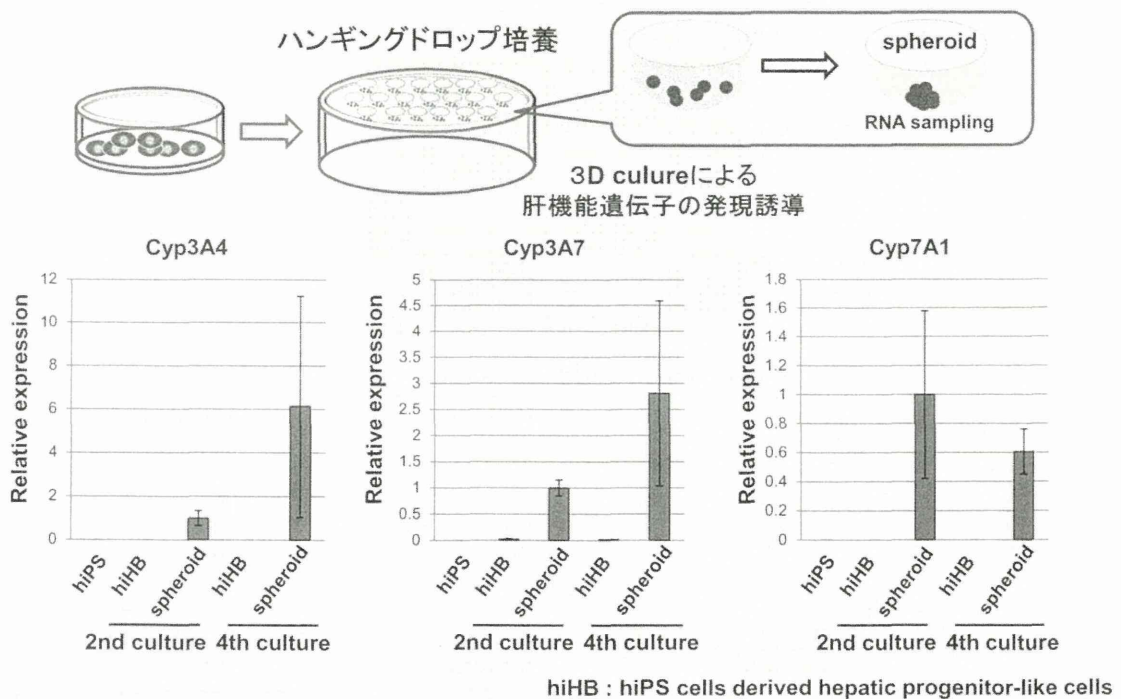


図4 ヒト iPS 由来肝幹・前駆細胞の成熟肝細胞様細胞への分化

ヒトiPS細胞由来肝幹・前駆細胞の胆管細胞への分化誘導

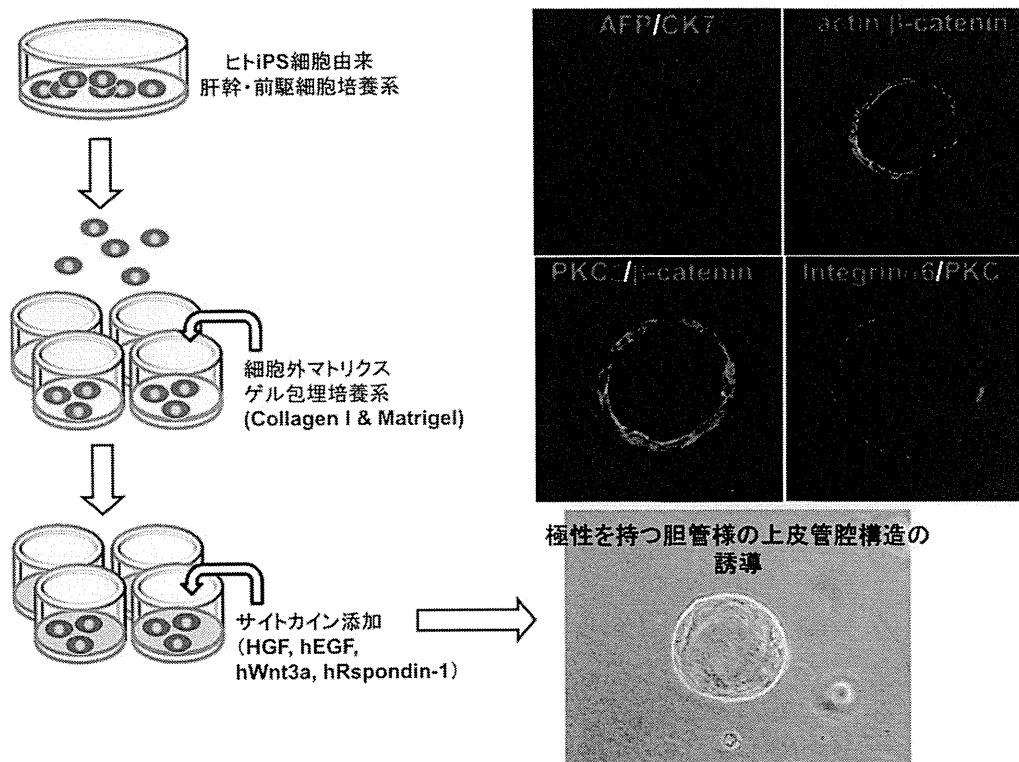


図5 ヒトiPS由来肝幹・前駆細胞の胆管様構造への分化

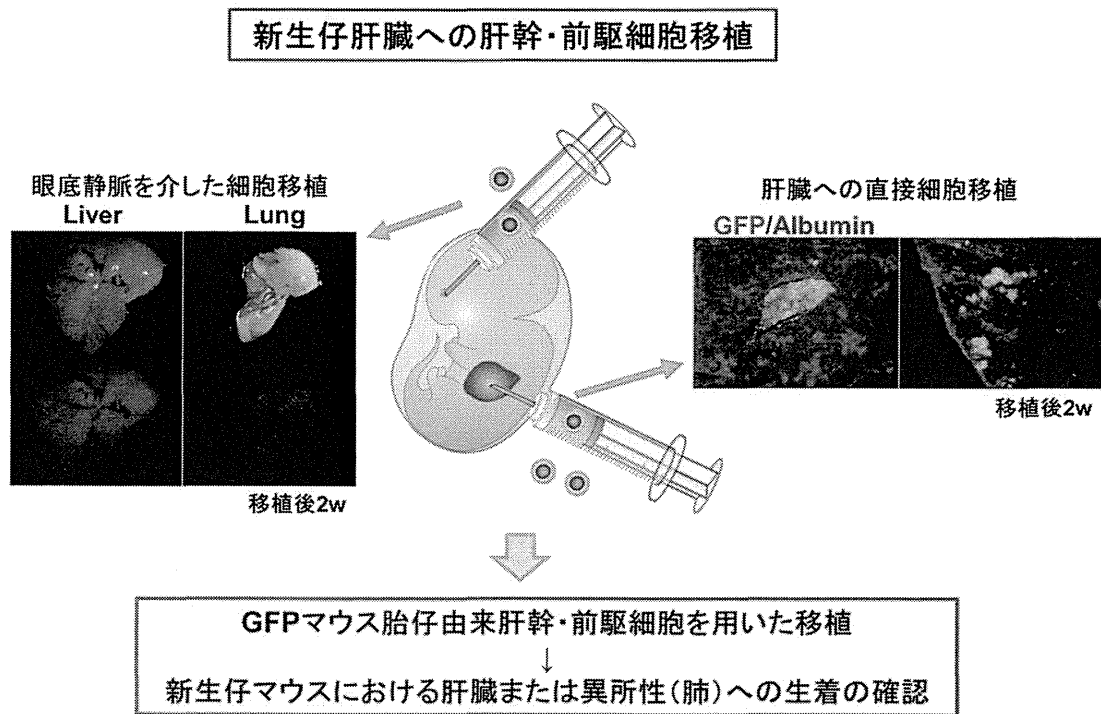


図6 肝幹・前駆細胞のマウス胎仔・新生仔への移植系

II. 研究に関する主な刊行物の一覧表

研究に関する主な刊行物の一覧

雑誌

原著論文

- (1) Oikawa T, Kamiya A*, Zeniya M, Chikada H, Hyuck AD, Yamazaki Y, Wauthier E, Tajiri H, Miller LD, Wang XW, Reid LM*, Nakauchi H*. SALL4, a stem cell biomarker in liver cancers. *Hepatology* **57**, 1469-83, 2013. (*Corresponding Authors)

総説

- (1) 紙谷聡英 「発生過程・生体における肝幹・前駆細胞の分化誘導の分子メカニズム」 肝胆膵, 2012, 65, 29-35
- (2) 紙谷聡英 「ヒト多能性幹細胞からの肝幹・前駆細胞分化誘導系の構築」 消化器内科, 2013, 56, 316-323

III. 研究に関する主な刊行物の別刷