
サル ES 細胞からの肝細胞分化誘導および増殖 に関する基礎的研究

(研究課題番号 13470233)

平成13年度～平成15年度科学研究費補助金（基盤研究（B））
研究成果報告書

平成16年3月

研究代表者 谷 徹
(滋賀医科大学医学部教授)

滋賀医科大学附属図書館



2003009008

目 次

1. はしがき	1
2. 研究組織	2
3. 研究経費	2
4. 研究発表	3
5. 研究成果	136

はしがき

滋賀医科大学第一外科のグループは、従来から肝不全に対する血液浄化法を開発してきた。肝移植導入のための実験も並列して行ってきたが、人工肝臓の開発がその主な研究テーマであった。人工肝臓開発では血液浄化法を駆使し、旭メディカルとの共同研究によりフォローファイバーを用い、ファイバー外部にコラーゲン包埋法を用いた肝細胞充填カラムを作り上げてきた。このカラムはコラーゲンによる包埋の特徴から三次元で肝細胞の増殖を助け、カラムに多量の肝細胞を充填でき、効率的な肝機能発現に適したカラムとなった。このカラムは *in vitro* ではもちろんのこと、血液浄化手法を用いて *in vivo* においても小動物からブタといった大動物の無肝状態に対して実験を繰り返され、無肝動物の肝機能維持効果と解毒作用等を確認された。*vitro* ではアルブミン等産生の確認も得られた。最終的にブタの無肝状態を生存維持できる能力が確認できた。

こうして血液浄化法的手法を用いた人工肝臓の開発は国内でもトップレベルとなったが、今後ヒトに応用する場合には細胞の供給が最大のテーマとなった。そのため平成 12 年科学研究費により、この細胞の供給を探索するためのプロジェクトとして本学に設置された動物生命科学研究センターのサル ES 細胞の樹立を応用することとした。科学研究期間にサルの ES 細胞にてサルの肝不全モデルを作る予定であったが、ES 細胞維持のテクニク確立が世界中になく遅くなった。この間に骨髄幹細胞からの肝幹細胞誘導を試み、動物も一旦サルからマウスに変更し、サルおよびマウスの ES 細胞からの樹立実験に入った。現在は肝幹細胞の骨髄細胞からの誘導と同時に肝 ES 細胞からの誘導も続けて検討している。さらに肝細胞再生実験と並行して大学で導入されている核磁気共鳴装置 (MR) による技術を用い、ウイルスベクターを用いて鉄を細胞内に封入する **Transfection** 法を駆使し、細胞をマーキングし、生きたまま動物の生体内移動を追跡するテーマにも着手した。この春にはこれらの成果が実り、肝幹細胞のマーキングを行った後、脾臓内に注入した細胞数千個が肝臓に移動し、広がっていく結果を画像化することに成功した。またカニクイザル ES 細胞の AFGF の投与のみでマウスと同様にサルでも肝幹細胞の特徴を持つ細胞の導入ができることが確認された。また肝特異的マーカー遺伝子の確認も完成した。

今後サル ES 細胞か、またはマウス骨髄由来肝幹細胞誘導により、早く達成できた細胞を用いて肝細胞機能評価の後、従来完成していた人工肝にこれら細胞を増殖させ、治療実験段階に移ることができると思われる。

研究組織

研究代表者：谷 徹（滋賀医科大学・医学部・教授）

研究分担者：鳥居 隆三（滋賀医科大学・動物生命科学研究センター・教授）

研究分担者：来見 良誠（滋賀医科大学・医学部・講師）

研究分担者：江口 豊（滋賀医科大学・医学部・講師）

研究協力者：犬伏 俊郎（滋賀医科大学・MR 医学総合研究センター・教授）

研究協力者：森川 茂廣（滋賀医科大学・MR 医学総合研究センター・助教授）

研究協力者：遠藤 善裕（滋賀医科大学・医学部・助手）

研究協力者：塩見 尚礼（滋賀医科大学・医学部・助手）

研究協力者：束田 宏明（滋賀医科大学・大学院）

研究協力者：佐藤浩一郎（滋賀医科大学・大学院）

研究協力者：小川 智道（滋賀医科大学・大学院）

交付決定額（配分額）

（金額単位：千円）

	直接経費	間接経費	合計
平成13年度	4,400	0	4,400
平成14年度	6,100	0	6,100
平成15年度	2,800	0	2,800
総計	13,300	0	13,300

研究発表

(1) 学会誌等

1. Ejiri Shintaro, Eguchi Yutaka, Kishida Akihiro, Ishigami Fumitaka, Kurumi Yoshimasa, Tani Tohru, Kodama Masashi : Cellular distribution of thrombomodulin as an early marker for warm ischemic liver injury in porcine liver transplantation · Transplantation · 71(6) : 721~726 · 2001
2. Mandai Ryoichi, Eguchi Yutaka, Tanaka Motoi, Sai Yoshikazu, Nosaka Syuichi: Effects of profound hemodilution on small-intestinal wound healing in rabbits. Journal of Surgical Research · 99: 107~113 · 2001
3. Ishigami Fumitaka, Naka Shigeyuki, Takeshita Kazuyoshi, Kurumi Yoshimasa, Hanasawa Kazuyoshi, Tani Tohru : Bile salt tauroursodeoxycholic acid modulation of bax translocation to mitochondria protects the liver from warm ischemia-reperfusion injury in the rat · Transplantation · 72(11) : 1803~1807 · 2002
4. Takada Tatsuyuki, Suzuki Yutaka, Kondo Yasushi, Kadota Nae, Kobayashi Kinji, Nito Shinji, Kimura Hiroshi, Torii Ryuzo : Monkey embryonic stem cell lines expressing green fluorescent protein · Cell Transplantation · 11 : 631~635 · 2002
5. Mukaisho Kenichi, Sugihara Hiroyuki, Tani Tohru, Kurumi Yoshimasa, Kamitani Sumihiro, Tokugawa Tomoki, Hattori Takanori : Effects of microwave irradiation on rat hepatic tissue evaluated by enzyme histochemistry for acid phosphatase · Digestive Disease and Sciences · 47(2) : 376~379 · 2002
6. Mori Tsuyoshi, Eguchi Yutaka, Shimizu Tomoharu, Endo Yoshihiro, Yoshioka Toyokazu, Hanasawa Kazuyoshi, Tani Tohru : A case of acute hepatic insufficiency treated with novel plasmapheresis plasma diafiltration for bridge use until liver transplantation · Therapeutic Apheresis · 6(6) : 463~466 · 2002
7. Shimizu Tomoharu, Tani Tohru, Endo Yoshihiro, Hanasawa Kazuyoshi, Tsuchiya Masakazu , Kodama Masashi Elevation of plasma peptidoglycan and peripheral blood neutrophil activation during hemorrhagic shock: Plasma peptidoglycan reflects bacterial translocation and may affect neutrophil activation · Critical Care Medicine · 30(1) : 77~82 · 2002

8. Morikawa Shigehiro, Inubushi Toshiro, Kurumi Yoshimasa, Naka Shigeyuki, Sato Koichiro, Tani Tohru, Hasnine A Haque, Jun-ichi Tokuda, Hata Nobuhiko : New assistive devices for MR-guided microwave thermocoagulation of liver tumors1 · Academic Radiology · 10(2) : 180~188 · 2003
9. Shiomi Hisanori, Sugihara Hiroyuki, Kamitani Sumihiro, Tokgawa Tomoki, Tsubosa Yasuhiro, Okada Katsuji, Tamura Hiroki, Tani Tohru, Kodama Masashi, Hattori Takanori : Cytogenetic heterogeneity and progression of esophageal squamous cell carcinoma · Cancer Genetics and Cytogenetics · 147 : 50~61 · 2003
10. Asano Takayuki, Ageyama Naohide, Takeuchi Koichi, Momoeda Mikio, Kitano Yoshihiro, Sasaki Kyoko, Ueda Yasuji, Suzuki Yutaka, Kondo Yasushi, Torii Ryuzo, Hasegawa Mamoru, Ookawara Shigeo, Harii Kiyonori, Terao Keiji, Ozawa Keiya, Hanazono Yutaka : Engraftment and tumor formation after allogeneic in utero transplantation of primate embryonic stem cells · Transplantation · 76(7) : 1061~1067 · 2003
11. Morikawa Shigehiro, Inubushi Tohiro, Kurumi Yoshimasa, Naka Shigeyuki, Sato Koichiro, Demura Koichi, Tani Tohru, Hasnine A. Haque, Tokuda Junichi, Hata Nobuhiko : Advanced computer assistance for magnetic resonance-guided microwave thermocoagulation of liver tumors · Academic Radiology · 10 : 1442~1449 · 2003
12. Torii Ryuzo, Shiomi Masashi, Ito Takashi, Yamada Satoshi, Eguchi Yutaka, Ikeda Norimichi : Cholesterol-fed ovariectomized monkeys are good animal models for human atherosclerosis of postmenopausal women · Primates · 44 : 247~252 · 2003
13. Terada Yasuji, Eguchi Yutaka, Nosaka Shuichi, Toba Toshinari, Nakamura Tatsuo, Shimizu Yasuhiko : Capillary endothelial thrombomodulin expression and fibrin deposition in rats with continuous and bolus lipopolysaccharide administration · Laboratory Investigation · 83(8) : 1165~1173 · 2003
14. Hasegawa H, Eguchi Y, Endo K, Yoshida T, Okabe H, Tani Tohru : Effectiveness of coagulation Factor XIII concentrate for reversing loss of tensile strength of rat intestinal anastomoses · European Surgical Research · 36(1):53~58 · 2004

1. 谷 徹, 来見良誠, 遠藤善裕, 仲 成幸: 垂直型オープン MRI を用いた癌治療・血液・腫瘍科・44(3):195~202・2002
2. 鳥居隆三, 末盛博文: サル ES 細胞研究の最前線・分子細胞治療・1(1):15~22・2002

(2) 口頭発表

1. 佐藤浩一郎, 来見良誠, 仲 成幸, 遠藤善裕, 谷 徹, 森川茂廣, 犬伏俊郎, 徳田淳一, 波多伸彦, 土肥健純: MR ガイド下肝腫瘍マイクロ波凝固療法における凝固領域 3 次元記録の有用性・第 58 回日本消化器外科学会総会誌・p 536・2003
2. 出村公一, 来見良誠, 佐藤浩一郎, 塩見尚礼, 仲 成幸, 谷 徹, 森川茂廣, 犬伏俊郎, Hasnine A Haque: リアルタイム MR ガイド下治療を支援するための周辺機器・第 31 回日本磁気共鳴医学会大会誌・2003
3. 森川茂廣, 犬伏俊郎, 佐藤浩一郎, 出村公一, 塩見尚礼, 仲 成幸, 来見良誠, 谷 徹, Hasnine A Haque, 脇海道孝一: マルチスライス MR 温度モニタリングを用いたマルチチャンネルマイクロ波凝固・第 22 回 Microwave Surgery 研究会特別企画・p 69・2003
4. 佐藤浩一郎, 来見良誠, 仲 成幸, 塩見尚礼, 清水智治, 遠藤善裕, 花澤一芳, 谷 徹, 森川茂廣, 犬伏俊郎: マイクロ波凝固装置における直流電流同時通電の意義・第 22 回 Microwave Surgery 研究会特別企画・p 71・2003
5. 小川智道, 塩見尚礼, 来見良誠, 谷 徹, 森川茂廣, 犬伏俊郎, 遠山育夫: MRI を用いた肝再生モデルのバイオイメーjing・第 3 回日本再生医療学会総会誌・p 109・2004
6. 東田宏明, 高田達之, 塩見尚礼, 谷 徹, 鳥居隆三: カニクイザル ES 細胞の肝細胞への分化における a F G F の影響・第 3 回日本再生医療学会総会誌・p 170・2004