

## V. その他

### 2. 成果一覧

#### 2-1. 特許リスト

##### <人工肝臓の開発>

発明の名称：肝細胞の活性化状態認識方法と肝障害の診断方法

発明者：小原正信、吉里勝利

出願人：科学技術振興事業団、(財)ひろしま産業振興機構

出願日：1999.11.24、公開番号：特開 2001-149095

内容：肝星細胞を含む検体のCAR (Coxsackie-adenovirus receptor) の発現量を指標として肝星細胞の活性化状態を認識することを特徴とする肝星細胞の活性化状態認識方法。

発明の名称：キメラ動物

発明者：向谷知世、吉里勝利、古川敏紀

出願人：科学技術振興事業団、(財)ひろしま産業振興機構

出願日：2000.5.18、公開番号：特開 2002-45087

内容：異種動物由来の肝細胞の集団を体内に有し、この肝細胞集団が実質的に動物の肝機能を担っていることを特徴とするキメラ動物。

発明の名称：キメラ動物

発明者：向谷知世、吉里勝利、古川敏紀

出願人：科学技術振興事業団、(財)ひろしま産業振興機構

出願日/出願番号：2001.5.18 (国内優先)、特願 2001-150098

国際出願日：2001.5.18、出願番号：PCT/JP01/04193

内容：異種動物由来の肝細胞の集団を体内に有し、この肝細胞集団が実質的に動物の肝機能を担っていることを特徴とするキメラ動物。

発明の名称：活性化肝星細胞で発現するタンパク質 STUF

発明者：Dan B. Kristensen、河田則文、朝比奈欣次、吉里勝利

出願人：科学技術振興事業団、(財)ひろしま産業振興機構

出願日：2000.8.18、公開番号：特開 2002-58488

内容：活性化した肝星細胞で特異的に高発現している新規蛋白質、STUF、とこの蛋白質 STUF の発現量を指標として肝障害を診断する方法

発明の名称：ヒト肝細胞増殖方法とヒト肝細胞の取得方法

発明者：向谷知世、吉里勝利、山崎ちひろ

出願人：科学技術振興事業団、(財)ひろしま産業振興機構

出願日：2002.3.25、出願番号：特願 2002-084280

内容：免疫不全肝障害マウスの肝臓にヒト肝細胞を移植し、補体抑制剤を投与しながらこの細胞移植マウスを飼育することによって、移植したヒト肝細胞をマウス肝臓で増殖させることを特徴とするヒト肝細胞増殖方法。

##### <組換えヒトコラーゲン生産系の開発>

発明の名称：形質転換カイコ

発明者：富田正浩、佐藤勉、安達敬泰、吉里勝利

出願人：科学技術振興事業団、(財)ひろしま産業振興機構、テルモ株式会社、株式会社高研

出願日：1999.12.12、公開番号：特開 2001-161214

内容：ヒト・コラーゲン遺伝子とカイコ・フィブロイン鎖遺伝子との融合遺伝子が組み込まれ、組換えヒト・コラーゲンを含む組換え融合タンパク質を繭または絹糸腺内のタンパク質の一部として生産する形質転換カイコ。遺伝子導入には核多核体ウイルスベクターを用いる。

発明の名称：形質転換カイコ作製用ベクター

発明者：森肇、富田正浩、佐藤勉、吉里勝利、田村俊樹

出願人：科学技術振興事業団、（財）ひろしま産業振興機構、テルモ株式会社、株式会社高研、  
（独法）農業生物資源研究所

出願日：2000.11.28、 公開番号：特願 2000-361563

内 容：Autographa californica 核多角体病ウイルス（AcNPV）のゲノム DNA 内に、トランスポゾン piggyBac の一対の逆向き反復配列とそれらに挟まれたトランスポゼース遺伝子とからなる DNA 断片が組み込まれている組換え AcNPV ベクター。

発明の名称：ヒト・コラーゲンを産生する形質転換カイコ

発明者：富田正浩、佐藤勉、安達敬泰、宗綱洋人、吉里勝利、田村俊樹

出願人：科学技術振興事業団、（財）ひろしま産業振興機構、テルモ株式会社、株式会社高研、

出願日：2001.4.18 出願番号：特願 2001-120155

内 容：ヒトコラーゲン遺伝子とカイコ由来のプロリン水酸化酵素を持つ形質転換カイコ。

発明の名称：ヒト・コラーゲンを産生する形質転換カイコ（新規 PCT 出願）

発明者：富田正浩、佐藤勉、安達敬泰、宗綱洋人、吉里勝利、田村俊樹、森肇

出願人：科学技術振興事業団、（財）ひろしま産業振興機構、テルモ株式会社、株式会社高研、  
（独法）農業生物資源研究所

国際出願日：2001.6.11、 出願番号：PCT/JP01/04906

内 容：ヒトコラーゲン遺伝子とカイコ由来のプロリン水酸化酵素を持つ形質転換カイコ。

発明の名称：ヒト・コラーゲンを生産する形質転換カイコ

発明者：富田正浩、佐藤勉、安達敬泰、宗綱洋人、吉里勝利、田村俊樹

出願人：科学技術振興事業団、（財）ひろしま産業振興機構、テルモ株式会社、株式会社高研、  
（独法）農業生物資源研究所

出願日：2002.6.18、 出願番号：特願 2002-177536

内 容：ヒトコラーゲン遺伝子とカイコ由来のプロリン水酸化酵素を持つ形質転換カイコ。コラーゲン蛋白質の分泌を確認したデータを追加。

### <毛髪再生療法の開発>

発明の名称：微細生体材料の排出方法

発明者：豊島公栄、吉里勝利

出願人：科学技術振興事業団、（財）ひろしま産業振興機構、（株）特殊免疫研究所

出願日：2002.6.18、 出願番号：特願 2002-177536

内 容：粘性液体層を形成した注射筒にて膨留疹形成術を行うことを特徴としたパピラ（毛乳頭）およびパピラ細胞移植による発毛療法。

発明の名称：ヒト毛の in vivo 発毛誘導法と、ヒト毛を有する非ヒト動物

発明者：豊島公栄、松長美香留、吉里勝利

出願人：科学技術振興事業団、（財）ひろしま産業振興機構、（株）特殊免疫研究所

出願日：2002.2.13、 出願番号：特願 2002-035815

内 容：パピラ細胞、表皮細胞及び皮膚線維芽細胞を混合して移植することを特徴とする、発毛誘導方法

### <プロテオーム解析>

発明の名称：肝障害の診断法

発明者：Dan B. Kristensen、今村邦彦、妙見夕佳、吉里勝利

出願人：科学技術振興事業団、（財）ひろしま産業振興機構

出願日/2001.4.10 公開番号：特開 2001-188069

発明の名称：リン酸化タンパク質の同定法

発明者：Dan B. Kristensen、吉里勝利

出願人：科学技術振興事業団、(財)ひろしま産業振興機構

出願日：2001.4.10、出願番号：特願2001-111561

国際出願日：2002.4.4、出願番号：PCT/JP02/03384

内容：リン酸化蛋白質の同定方法であって、試料蛋白質の二次元電気泳動を行った後、試料蛋白質をホスファターゼにより脱リン酸化し、再び同条件で二次元電気泳動を行い、等電点電気泳動上のアルカリ側に移動したスポットをリン酸化蛋白質として検出することを特徴とするリン酸化蛋白質の同定方法

発明の名称：プロテオーム解析方法

発明者：Dan B. Kristensen、吉里勝利

出願人：科学技術振興事業団、(財)ひろしま産業振興機構

出願日：2001.4.10、出願番号：特願2001-111561

国際出願日：2002.5.2、出願番号：PCT/JP02/04388

内容：生細胞に同位体標識アミノ酸を含む培養液を添加し、該生細胞を培養して一定時間経過後に該生細胞を採取し、蛋白質を抽出した後、抽出された蛋白質を二次元電気泳動で展開して分取し、分取された任意の蛋白質について標識アミノ酸を有する蛋白質と有さない蛋白質をその質量差からそれぞれ定量することを特徴とするプロテオーム解析方法。

発明の名称：乾燥電気泳動用ゲルカッター

発明者：Dan B. Kristensen、吉里勝利

出願人：科学技術振興事業団、(財)ひろしま産業振興機構

出願日：2001.4.13、出願番号：特願2001-115697

内容：保存用に乾燥した電気泳動用ゲルから試料を型抜きするための乾燥電気泳動用ゲルカッターであって、上下移動機構を備えた円形型と、円形型の外形よりも大きな穴を円形型の真下に有する穴明き台と、その上を前後左右に水平移動できる枠状の試料台と、型抜きされた乾燥電気泳動用ゲル試料を収集するための収集箱を有し、前記円形型の乾燥電気泳動用ゲルとの接触面が乾燥電気泳動用ゲルに対して平行であり、かつ前記円形型の直径と穴の内径のクリアランスが1~2umであることを特徴とする乾燥電気泳動用ゲルカッター

発明の名称：膀胱癌の検査判定方法

発明者：藤井亮治、木本真史、斎藤実、吉里勝利、碓井亜、秀道広

出願人：科学技術振興事業団、(株)福山臨床検査センター

出願日：2002.7.29、出願番号：特願2002-219856

内容：患者から採取した検体尿を、等電点(pI)及び分子量(MW)に基づいて分離する二次元電気泳動に付し、A群(pI:約5.28~5.38、MW:約70kDa)、B群(pI:約4.30~5.35、MW:約70~110kDa)、C群(pI:約4.50~6.20、MW:約230kDa)、D群(pI:約5.20~5.35、MW:約150kDa)及びE群(pI:約6.25~6.50、MW:約60kDa)における泳動パターン及びスポット強度を測定することを特徴とする膀胱癌の浸達度及び異型度の検査判定方法。

### <カエルの利用法の開発>

発明の名称：両生類、検出方法および検出システム

発明者：小原正信、戸笈修、吉里勝利

出願人：科学技術振興事業団、(財)ひろしま産業振興機構

出願日：1999.3.31、公開番号：特開2000-279053

内容：所定の条件に応じて感作する核酸が導入された細胞を保有することを特徴とする両生類

### <ヒトへの移植法の研究>

発明の名称：細胞活性の評価方法

発明者：佐藤玄、秀道広、筒井智子、吉里勝利、米田英克

出願人：科学技術振興事業団、(財)ひろしま産業振興機構、日本レーザ電子株式会社、(株)

ジェイ・エム・エス

出願日/2002.2.13

公開番号：特開 2002-85089

内 容：表面プラズモン共鳴装置を用いて生細胞に対する外部刺激の生理活性を評価する方法であって、生細胞が外部刺激に暴露された際に観察される 1 次シグナルの後に出現する 2 次シグナルを指標として、細胞に対する外部刺激の生理活性を評価する。

発明の名称：細胞活性の評価法（新規 PCT 出願）

発明者：佐藤玄、秀道広、筒井智子、吉里勝利、米田英克

出願人：科学技術振興事業団、日本レーザ電子株式会社、（株）ジェイ・エム・エス

国際出願日：2001.12.27、 出願番号：PCT/JP01/11565

内 容：上記に同じ

## 2-2. 論文リスト

### <平成 10 年度>

1) Inamatsu M., Matsuzaki T., Iwanari H. and Yosizato K.

Establishment of Rat Dermal Papilla Cell Lines that Sustain the Potency to Induce Hair Follicles from Afollicular Skin

The Journal of Investigative Dermatology 111, 767-775 (1998)

**Summary** Dermal papilla cells in culture show a lower proliferative capacity compared to dermal fibroblasts and lose their *in situ* potency to induce hair follicles in the epidermis at more than 10 passage numbers. The present study overcomes these limitations of cultured papilla cells and for the first time demonstrates that papilla cells can be serially cultured for a long period without losing their hair-inductive potency. Outgrowth and the ensuing proliferation of papilla cells were markedly stimulated when explants of rat vibrissa papillae were cultured with rat sole-derived keratinocytes. Such feeder effects of the keratinocytes could be replaced to some extent with conditioned medium of the cells. Serial cultivation of papilla cells was established by maintaining them in the conditioned medium in which they were subcultured for more than 90 passages with an approximate population doubling time of 30 hr, a value similar to that of rat dermal fibroblasts. During the subculture, they showed morphological characteristics and phenotypic expressions of original papilla cells. Even after at least 70 passages, papilla cells sustained the innate hair follicle inductive ability at a level comparable to that of intact dermal papillae. The established cell lines did not show tumorigenicity when they were subcutaneously implanted into nude mice. The culture method developed in this study should facilitate the search for a biochemical entity of dermal papilla cells.

2) Sato H., Funahashi M., Kristensen D.B., Tateno C. and Yosizato K.

Pleiotrophin as a Swiss 3T3 Cell-Derived Potent Mitogen for Adult Rat Hepatocytes

Experimental Cell Research 246, 152-164 (1999)

**Summary** Rat parenchymal liver cells were cultured in the presence of lethally treated Swiss 3T3 cells. This coculture allowed hepatocytes to produce colonies containing more than 300 cells in 30 days. Hepatocytes in colonies appeared morphologically normal and some of them were suggested to have bipotential differentiation capacity. The initial growth stimulatory activity of the feeder cells was replaceable with their conditioned medium (CM). Biochemical analysis of an active principle in the 3T3 cell-CM identified pleiotrophin. Pleiotrophin purified from the 3T3 cell-CM, recombinant human pleiotrophin, chemically synthesized human pleiotrophin, and midkine promoted the growth of hepatocytes as well. Reverse transcription-polymerase chain reaction clearly showed that the synthesis of mRNA of pleiotrophin was stimulated in the regenerating liver induced by either partial hepatectomy or the treatment with D-galactosamine, strongly suggesting a biological significance of pleiotrophin in the proliferation of hepatocytes *in vivo*. From these results we concluded that pleiotrophin is a new potent growth factor for adult parenchymal hepatocytes. This study indicates the importance of mesenchymal stimulation for the growth of adult rat hepatocytes.

3) Hino H., Tateno T., Yamaski T., Katayama S., Kohashi T. and Yosizato K.

A Long-term Culture of Human Hepatocyte Which Show a High Growth Potential and Express Their Differentiated Phenotypes

Biochemical and Biophysical Research Communications 256, 184-191 (1999)

**Summary** The present study succeeded for the first time in cultivating human hepatocytes for more than 2 months which showed a high growth potential and expressed their differentiated phenotypes. Constituents of culture medium were critical for this culture and the medium optimized for the growth contained human serum, Swiss 3T3-cell conditioned medium, fetal bovine serum, L-ascorbic acid 2-

phosphate, epidermal growth factor, nicotinamide, and dimethylsulfoxide. Hepatocytes steadily replicated and formed colonies which continued to increase in size up to around 35 days. The number of hepatocytes in the most replicative colonies increased 17-fold during 31 days. Cells in colonies expressed normal differentiated hepatocytic phenotypes for as long as 35 days. The hepatocytes secreted albumin, and metabolized lidocaine and D-galactose at least until 70 days.

#### <平成 11 年度>

4) Tateno C, Takai-Kajihara K, Yamasaki C, Sato H, and Yoshizato K.

Heterogeneity of growth ability of adult rat hepatocytes in vitro.

Hepatology, 2000, 31, 65-74

**Summary** Nearly pure populations of small hepatocytes (SHs), parenchymal hepatocytes (PHs), and nonparenchymal cells (NPCs) were prepared from the adult rat and co-cultures of hepatocytes and NPCs were reconstituted from them firstly to obtain the direct evidence that NPCs promote the growth of hepatocytes and secondly to compare the growth potential between SHs and PHs. SHs and PHs underwent multiple divisions when co-cultured with NPCs, whereas neither SHs nor PHs formed colonies at 10 days when cultured alone. Stellate cells in the NPCs were demonstrated to be responsible for this growth promotion. SHs showed a higher growth capacity than PHs. To clearly demonstrate the relationship between the growth potential and the size of hepatocytes, SHs and PHs were further fractionated by a fluorescence-activated cell sorter, because the size distribution of SHs and PHs was half overlapped. SHs produced two cell populations, SH-R2 and SH-R3. The former showed a greater extent of granularity and autofluorescence than the latter. In contrast, PHs produced only one population (PH-R2) which corresponded to the SH-R2. The size of hepatocytes of SH-R3 was smaller ( $17.1 \pm 0.2$  mm) than those of SH-R2 ( $22.6 \pm 0.5$  mm) and PH-R2 ( $24.1 \pm 0.1$  mm) and there was not a significant overlap in the size distribution between the two groups. The hepatocytes of SH-R3 were highly replicative and 4 or 5 times higher in their growth potential than those of SH-R2 and PH-R2. We concluded that the growth potential of hepatocytes is heterogeneous and is correlated with their size, and the extent of their granularity and autofluorescence.

5) Kristensen, D. B., Imamura, K., Miyamoto, Y., and Yoshizato, K.

Mass spectrometric approaches for the characterization of proteins on a hybrid quadrupole time-of-flight (Q-TOF) mass spectrometer.

Electrophoresis 21, 430-9. (2000)

**Summary** This study demonstrates structural and conformational characterization of proteins by nanoflow electrospray ionization (nanoESI) mass spectrometry (MS) and tandem mass spectrometry (MS/MS) utilizing a quadrupole time-of-flight (Q-TOF) mass spectrometer (Micromass, Manchester, England). Model peptides were successfully sequenced at the 35 attomole (amol) level, and peptides derived from a tryptic in-gel digest of 25 femtomole (fmol) bovine serum albumin (BSA) were successfully sequenced. The results demonstrated that the MS/MS sensitivity of the Q-TOF clearly surpassed the detection limit of the silver stain. A silver destaining step greatly improved the mass analysis of peptides derived from in-gel digests. Interestingly, sequence analysis revealed BSA residue 424 (tyrosine) as a potential chlorination site. In addition, a modified procedure was successfully used to extract and measure the masses of two-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis (2-D PAGE)-resolved proteins in the 10-68.5 kDa range. The Q-TOF was also used to monitor conformational changes of proteins. These experiments demonstrated an acid-induced denaturation of BSA in the pH 3-4 range, and heat-induced unfolding of cytochrome c between 50 and 60 degrees C. Finally, Zn<sup>2+</sup> binding was demonstrated for the carbonic anhydrase apoprotein. In summary, the wide range of applications and the high quality of the experimental data made the Q-TOF mass spectrometer a powerful analytical tool for protein characterization.

6) Kristensen, D. B., Inamatsu, M., Matsuzaki, T., and Yoshizato, K.

Analysis of the rat dermal papilla cell proteome.

Exp Dermatol 8, 339-340. (1999).

**Summary** The dermal papilla cells are a specialized group of fibroblastlike cells located in the bulb region of the mammalian hair follicle. These cells play a crucial role in the formation and differentiation of the hair follicle. Experiments have shown that cultured dermal papilla cells can induce hair growth and follicle formation when implanted into quiescent hair follicles and under a follicular epidermis, respectively(1,2). The aim of this project is to study the role of dermal papilla cells in the formation and differentiation of the mammalian hair follicle. As an approach to this aim we are currently establishing a two-dimensional(2-D)gel protein database of the proteins expressed by rat dermal papilla cells. This database will ultimately be used to perform qualitative as well as quantitative analysis of the protein composition-or proteome-of rat dermal papilla cells, with the aim of identifying components or pathways that are involved in the formation and differentiation of the mammalian hair follicle. Special emphasis is put on the identification of dermal papilla cell specific proteins, by comparing protein expression in the

dermal papilla cells and normal skin fibroblasts. Although these two cell types show many similarities, only the dermal papilla cells have the ability to induce hair follicle formation.

7) Asahina, K., Utoh, R., Obara, M., and Yoshizato, K.

Cell-type specific and thyroid hormone-dependent expression of genes of  $\alpha 1(I)$  and  $\alpha 2(I)$  collagen in intestine during amphibian metamorphosis.

Matrix Biology 18, 89-103. (1999)

**Summary** Both the epithelium and the mesenchyme of the larval small intestine of anurans undergoes metamorphic conversion into the adult counterparts. The conversion of the mesenchyme has been poorly understood especially at the molecular level, whereas the changes of the epithelium have been extensively studied. The present study investigated the metamorphic changes of the mesenchyme of tadpoles of bullfrog, *Rana catesbeiana*, focusing on the expression of genes of type I collagen. By using the cDNA clones coding for  $\alpha 1(I)$  and  $\alpha 2(I)$  collagen as probes, expression of each collagen gene was examined. These genes were drastically up-regulated at the climax period of spontaneous metamorphosis, which was precociously mimicked by treating tadpoles with thyroid hormone. The increased expression of these genes at the climax stage was well correlated with the conversion of the thin larval mesenchyme to more thick and dense adult connective tissues of the intestine. In situ hybridization identified the fibroblasts that were actively expressing the collagen genes and, therefore, were thought to be responsible for the remodeling. These results strongly suggest that the expression of type I collagen genes is regulated during the intestinal remodeling in a cell-type specific and thyroid hormone-dependent manner.

8) Asahina, K., Obara, M., and Yoshizato, K.

Expression of genes of type I and type II collagen in the formation and development of the blastema of regenerating newt limb.

Developmental Dynamics 216, 59-71. (1999)

**Summary** We cloned cDNAs of  $\alpha 1(I)$  and  $\alpha 1(II)$  collagen, and studied their expression profiles in regenerating limbs of newts, *Cynops pyrrhogaster*. The expression of the  $\alpha 1(I)$  gene was markedly up-regulated at the early bud stage of the blastema. In situ hybridization experiments revealed that the  $\alpha 1(I)$  gene was expressed in not only mesenchymal cells of the blastema, but also the basal cells of the wound epidermis at the wound healing stage when the epidermal basement membrane was absent. This unique expression continued until 21 days (late bud stage), while the basement membrane began to form at 14 days. These results indicate biochemical differences between the wound and normal epidermis, and suggest the direct involvement of the former in the synthesis of blastemal matrices of type I collagen. Actually, immunohistochemistry revealed that type I collagen began to be deposited beneath the wound epidermis at 8 days, and accumulated there and around blastemal mesenchymal cells at 14 to 21 days. Undifferentiated mesenchymal cells associated with the amputated muscle fibers actively expressed the  $\alpha 1(I)$  gene. Mesenchymal cells in the central region of blastemas deposited type I collagen fibers around them. Concomitantly with the appearance of prechondrocytes, the  $\alpha 1(II)$  collagen gene became activated. The present study clearly shows that the expression of the genes of both type I and type II collagen in blastemal cells is temporally and regionally well-regulated in a cooperative manner. Dev Dyn 1999;216:59-71. Copyright 1999 Wiley-Liss, Inc.

9) Tomita, M., Yoshizato, K., Nagata, K. and Kitajima, T.

Enhancement of secretion of human procollagen I in mouse HSP47-expressing insect cells.

J Biochem., 126, 1118-1126, (1999)

**Summary** We previously demonstrated that insect cells were able to synthesize recombinant human procollagen I as triple-helical heterotrimers when transfected with cDNAs of both  $\alpha 1(I)$  and  $\alpha 2(I)$  chains. However, most of the heterotrimers were retained within the cells unlike mammalian cells (Tomita, M., Kitajima, T., and Yoshizato, K. (1997) *J. Biochem.* **121**, 1061-1069). As an attempt to improve the secretion of the heterotrimers, we in this study introduced the putative collagen-specific chaperone, HSP47, into this insect expression model of human procollagen I. Mouse HSP47 produced by the insect cells intracellularly bound to both human  $\alpha 1(I)$  and  $\alpha 2(I)$  chains. Coexpressed HSP47 enhanced the secretion of procollagen I heterotrimers. HSP47 was also coexpressed with either of  $\alpha 1(I)$  chains or  $\alpha 2(I)$  chains, which showed that HSP47 enhanced the secretion of the former but not the latter. This selective effect of HSP47 was similarly observed in the cells treated with inhibitors of procollagen triple helix formation, indicating that HSP47 can also accelerate the secretion of non-helical procollagens. HSP47 did not change the intracellular solubility of  $\alpha 1(I)$  and  $\alpha 2(I)$  chains in 1% NP-40, eliminating the possibility that HSP47 prevents  $\alpha$  chains from aggregating into insoluble forms within the insect cells. We concluded that HSP47 can play a role for the secretion of  $\alpha 1(I)$ -procollagen chains in the insect cell model. The present study also demonstrated the dissimilarity in the mechanism of the folding and the secretion of the expressed procollagen I between the insect and mammalian cells.

10) Yoshizato, K., Tsukahara M., Oki T., Hayashi M., Obara M.

The Interaction of cellular Fibronectin with collagen During Fibroblast-Mediated Contraction of

Collagen gels.

The Society for Investigative Dermatology Vol.4 No.2 September 1999

**Summary** In the first instance highly hydrated collagen gels contract to dense and compact gels when populated by fibroblasts. We previously reported the involvement of fibronectin(FN) in an early process of the collagen gel contraction, utilizing a specific monoclonal antibody dubbed A3A5(MoAb-A3A5) that inhibits the gel contraction. This study was performed to further characterize the role of the epitope for MoAb-A3A5 in the interaction between fibroblasts and collagen fibrils. Although both cellular FN(cFN)and plasma FN(pFN)were reactive with MoAb-A3A5,the FN that actually participates in a process of the gel contraction was shown to be cFN. The gel contraction was significantly accelerated when fibroblasts were pretreated with excess amounts of cFN and was significantly inhibited when the collagen molecules were pretreated with excess cFN. Such effects of the pretreatments were not observed for pFN. The involvement of cFN, but not pFN, in the interaction of fibroblasts with collagen fibrils was additionally shown by the similar inhibitory action of cFN, but not pFN, on the spreading and elongation of fibroblasts on collagen fibrils. The epitope for MoAb-A3A5 was strongly suggested to be a new functional domain responsible for the interactions between fibroblasts and native collagen molecules. This was not the case for those with denatured one, because fibroblasts on collagen fibrils were not stainable with MoAb-A3A5,whereas the interactions on gelatin were stainable. The lack of the reactivity of fibroblasts on collagen fibrils toward MoAb-A3A5 was not a result of the absence of FN on the cell membrane, but seemed to be a steric hindrance to the access of the antibody.

11)Nishikawa K.,Tazawa I.,Uchiyama K.,Yoshizato K.

Expression of helix-loop-helix type negative regulators of differentiation during limb regeneration in urodeles and anurans

Develop. Growth Differ(1999) 41,731-743

**Summary** The urodele is capable of regenerating its limb by forming a blastema even in the adult. By contrast, the anuran, which is phylogenetically close to the urodele, loses this ability during metamorphosis and forms blastema-like tissues that develop only into a spike-like structure in the adult. In order to compare the molecular mechanism of the formation and maintenance of the blastema between the urodele and anuran, the genes encoding helix-loop-helix (HLH) type negative regulators of differentiation were characterized for both the Japanese newt, *Cynops pyrrhogaster*, and African clawed frog, *Xenopus laevis*. *Cynops* homologs of Id2, Id3, and HES1 and *Xenopus* Id2 were identified. To learn the roles of these genes in regeneration, their expression was examined. The expression of Id2 and Id3 was low in unamputated limbs, but was up-regulated in blastemas of both adult newt and *Xenopus*. Interestingly, transcripts of the two Id genes showed specific localizations in the blastema and the expression patterns were very similar in both species through the early to medium bud stage. Id2 was expressed predominantly in the blastemal epidermis, and Id3 was expressed equally in the blastemal epidermis and mesenchyme including cells in precartilaginous condensations. HES1 expression was up-regulated in the newt blastemal epidermis. It was thought that the up-regulation of these genes in the epidermis was related to the proliferation of the cells and that increased expression of these genes in the mesenchyme was related to the undifferentiated state of the blastemal cells. These results and considerations strongly suggested that the state of differentiation is similar in the early to medium bud blastema of both urodeles and anurans. The expression of Id3 remained high through to the digits stage in newts. In contrast, its expression in *Xenopus* decreased in spike-like regenerates, which correspond to palette-digits stage of newt regenerates. From these results, it was suggested that the blastema redifferentiates earlier in the frog than in the newt, and therefore the timing of redifferentiation of the cartilage is crucial for complete regeneration.

<平成 12 年度>

12) Katayama, S., Tateno, C., Asahara, T., and Yoshizato, K.

Size-Dependent *in Vivo* Growth Potential of Adult Rat Hepatocytes, The American Journal of Pathology, 158, 97-105, (2001)

**Summary** The present study was performed to determine whether hepatocytes show a size-dependent growth *in vivo* utilizing as a growth assay system, a retrorsine/partial hepatectomy model of dipeptidyl dipeptidase IV-deficient (DPPIV<sup>-</sup>) mutant Fischer rats. Nearly pure populations of small hepatocytes (SHs) and parenchymal hepatocytes (PHs) were prepared from DPPIV<sup>-</sup> rats. The same number of these SHs and PHs was transplanted into the liver of retrorsine-treated and two-thirds partial hepatectomized DPPIV<sup>-</sup> rats. At 21 days post transplantation, colonies derived from donor hepatocytes were detected as DPPIV<sup>+</sup> cells by enzyme-histochemistry. SHs were about 3 times more proliferative than PHs ( $673 \pm 25$  cells /colony versus  $226 \pm 10$  cells, mean  $\pm$  SE). SHs were subfractionated by a fluorescence-activated cell sorter into SHs-R2 and SHs-R3. SHs-R3 showed a lower extent of granularity and autofluorescence, and a smaller size than SHs-R2 which showed characteristics similar to PHs. The growth potential of SHs-R3 assayed as above was about 3 times higher than that of SHs-R2 ( $1,101 \pm 46$  cells/colony versus  $341 \pm 13$  cells). These results indicate that the *in vivo* growth potential of hepatocytes

is heterogeneous and is correlated with their size, and the extent of their granularity and autofluorescence.

13) Kristensen D.B., Kawada, N., Imamura, K., Miyamoto, Y., Tateno, C., Seki, S., Kuroki, T., and Yoshizato, K.

Proteome Analysis of Rat Hepatic Stellate Cells, HEPATOLOGY, 32, 268-277, (2000)

**Summary** Proteome analysis was performed on cellular and secreted proteins of normal (quiescent) and activated rat hepatic stellate cells. The stellate cells were activated either in vitro by cultivating quiescent stellate cells for 9 days or in vivo by injecting rats with carbon tetrachloride for 8 weeks. A total of 43 proteins/polypeptides were identified, which altered their expression levels when the cells were activated in vivo and/or in vitro. Twenty-seven of them showed similar changes in vivo and in vitro, including up-regulated proteins such as calyculin, calgizzarin, and galectin-1 as well as down-regulated proteins such as liver carboxylesterase 10 and serine protease inhibitor 3. Sixteen of them showed different expression levels between in vivo and in vitro activated stellate cells. These results were reproducibly obtained in 3 independent experiments. The up-regulation of calyculin, calgizzarin, and galectin-1 as well as the down-regulation of liver carboxylesterase 10 were directly confirmed in fibrotic liver tissues. Northern blots confirmed up-regulation of the messenger RNAs (mRNAs) of calyculin, calgizzarin, and galectin-1 in activated stellate cells, indicating that these changes were controlled at the mRNA level. In addition, a list compiling over 150 stellate cell proteins is presented. The data presented here thus provide a significant new protein-level insight into the activation of hepatic stellate cells, a key event in liver fibrogenesis.

### <平成 13 年度>

14) Kawada, N., Kristensen, D. B., Asahina, K., Nakatani, K., Minamiyama, Y., Seki, S. and Yoshizato, K.

Characterization of a stellate cell activation-associated protein (STAP) with peroxidase activity found in rat hepatic stellate cells.

J. Biol. Chem. 276, 25318-25323 (2001) Erratum in 276 (2001) 47744-47745

**Summary** liver-specific pericyte, led to the discovery of a novel protein named STAP (stellate cell activation-associated protein). We cloned STAP cDNA. STAP is a cytoplasmic protein with molecular weight of 21,496 and shows about 40% amino acid sequence homology with myoglobin. STAP was dramatically induced in in vivo activated stellate cells isolated from fibrotic liver and in stellate cells undergoing in vitro activation during primary culture. This induction was seen together with that of other activation-associated molecules, such as smooth muscle  $\alpha$ -actin, platelet-derived growth factor receptor- $\beta$ , and neural cell adhesion molecule. The expression of STAP protein and mRNA was augmented time-dependently in thioacetamide-induced fibrotic liver. Immunoelectron microscopy and proteome analysis detected STAP in stellate cells but not in other hepatic constituent cells. Biochemical characterization of recombinant rat STAP revealed that STAP is a heme protein exhibiting peroxidase activity towards hydrogen peroxide and linoleic acid hydroperoxide. These results indicate that STAP is a novel endogenous peroxidase catabolizing hydrogen peroxide and lipid hydroperoxides, both of which have been reported to trigger stellate cell activation and consequently promote progression of liver fibrosis. STAP could thus play a role as an antifibrotic scavenger of peroxides in the liver.

15) Oofusa K, Tooi O, Kashiwagi A, Kashiwagi K, Kondo Y, Sawada T, Yoshizato K.

Expression of thyroid hormone receptor  $\beta$  A gene assayed by transgenic *Xenopus laevis* carrying its promoter sequence,

Molecular and Cellular Endocrinology, 181, 97-110 (2001)

**Summary** The responsiveness of thyroid hormone responsive element (TRE)-containing promoter sequence to thyroid hormone (TH) was studied utilizing *Xenopus laevis* carrying a transgene containing 5'-upstream region of TR $\beta$ A1 gene and green fluorescent protein (EGFP) gene. EGFP-expression was seen first in neurulae, which continued to stage 45, then became weak, and again started to increase at the prometamorphic stage, culminating at the metamorphic climax stage. Immunohistochemistry identified eyes, viscera, and muscles as the EGFP-expressing larval tissues. The treatment of premetamorphic tadpoles with TH induced the precocious EGFP-expression. We also showed that the transgenic *Xenopus* adults were responsive to exogenous TH, a high responsiveness being seen in brain, small intestine, kidney, and bone. TR $\beta$ A-expression in the embryo, larva, and adult was verified by Western blotting. Thus, TH not only regulates the metamorphosis, but also might play some biological role(s) in embryos and adults.

16) Utoh R., Asahina K., Suzuki K., Kotani K., Obara M. & Yoshizato K.

Developmentally and regionally regulated participation of epidermal cells in the formation of collagen lamella of anuran tadpole skin,

Develop. Growth Differ., 42, 571-580 (2000)

**Summary** We investigated the cellular mechanism of formation of subepidermal thick bundle of



collagen (collagen lamella) during the larval development of bullfrog, *Rana catesbeiana*, utilizing cDNA of  $\alpha 1(I)$  collagen as a probe. The originally bi-layered larval epidermis contains basal skein cells and apical cells, and the collagen lamella is directly attached to the basement membrane. The basal skein cells above the collagen lamella and fibroblasts beneath it intensively expressed the  $\alpha 1(I)$  gene. As the skin developed, suprabasal skein cells ceased the expression of the gene. Concomitantly, the fibroblasts started to outwardly migrate and penetrated into the lamella, and formed the connective tissue between the epidermis and the lamella. These fibroblasts intensively expressed the gene. As the connective tissue developed, the basal skein cells ceased to express the gene and were replaced by larval basal cells that did not express the gene. These dynamic changes took place first in a lateral region of the body skin, and proceeded to its other regions except the tail. Isolated cultured skein cells expressed the gene and extracellularly deposited its products as the type I collagen fibrils. Thus, we concluded anuran larval epidermal cells can autonomously and intrinsically synthesize type I collagen.

17) Oomizu S., Sahuc F., Asahina K., Inamatsu M., Matsuzaki T., Sasaki M., Obara M. & Yoshizato K. *Kdap*, a novel gene associated with the stratification of the epithelium, *Gene*, 256, 19-27 (2000)

**Summary** The skin develops and differentiates during embryogenesis, which is concertedly regulated by a variety of genes. The present study isolated from the rat embryonic skin a novel differentiation-associated gene named *Kdap* (keratinocyte differentiation-associated protein) by suppression subtractive hybridization between the skin of 14-day postcoitus (dpc) embryo (the prehair-germ stage) and that of 17 dpc embryo (the hair-germ stage). Its mRNA contained 4 spliced forms in these tissues. The gene encoded a protein of total 98 amino acid with a calculated molecular mass of 11 kDa and an isoelectric point of 6.1 as an unspliced form. The two splicing zones were well conserved among rat, mouse, and human. This protein had a high hydrophobic N-terminal region, a possible signal sequence, and contained two putative N-myristoylation sites and two casein kinase II phosphorylation sites. *In situ* hybridization experiments detected *Kdap* transcripts exclusively in the suprabasal cell layers of the embryonic epidermis. Intense expression was also seen in suprabasal cells in regions of infundibulum of the hair follicle. These results indicated that *Kdap* provides a new insight into the mechanism of differentiation and the maintenance of stratified epithelia.

18) Okuyama H, Shimahara Y, Kawada N, Seki S, Kristensen, D.B., Yoshizato k., Uyama N, and Yamaoka, Y.

Regulation of cell growth by redox-mediated extracellular proteolysis of platelet derived growth factor receptor  $\beta$

*J. Biol. Chem.*, 276, 28274-28280 (2001)

**Summary** Redox-regulated processes are important elements in various cellular functions. Reducing agents, such as N-acetyl-L-cysteine (NAC), are known to regulate signal transduction and cell growth through their radical scavenging action. However, recent studies have shown that reactive oxygen species are not always involved in ligand-stimulated intracellular signaling. Here, we report a novel mechanism by which NAC blocks platelet-derived growth factor (PDGF)-induced signaling pathways in hepatic stellate cells, a fibrogenic player in the liver. Unlike in vascular smooth muscle cells, we found that reducing agents, including NAC, triggered extracellular proteolysis of PDGF receptor-beta, leading to desensitization of hepatic stellate cells toward PDGF-BB. This effect was mediated by secreted mature cathepsin B. In addition, type II transforming growth factor-beta receptor was also down-regulated. Furthermore, these events seemed to cause a dramatic improvement of rat liver fibrosis. These results indicated that redox processes impact the cell's response to growth factors by regulating the turnover of growth factor receptors and that "redox therapy" is promising for fibrosis-related disease.

19) Hayashi M., Tomita M. & Yoshizato K.,

Production of EGF-collagen chimeric protein shows the mitogenic activity, *Biochimica et Biophysica Acta*, 1528, 187-195 (2001)

**Summary** Collagen has been utilized as a natural biomaterial because of its high biocompatibility, adhesiveness to cells and tissues, and biodegradability. The present study developed a recombinant technology to confer a mitogenic activity on type III collagen by fusing it to epidermal growth factor (EGF) at the collagen's N-terminus. The chimeric protein of EGF-collagen was synthesized in insect cells by the baculovirus-insect cell expression system. The fusion protein was shown to hold the triple helical conformation of collagen and the mitogenic activity of EGF. It was also demonstrated that the chimeric protein can be immobilized on tissue culture dishes as a fibrous form and in collagen fibrils without abolishing the original mitogenic activity of EGF. This fusion protein can be utilized as a biocompatible, biodegradable, and adhesive fibrous mitogen for a variety of purposes in the area of tissue engineering.

20) Hide, M., Tsutsui, T., Sato, H., Nishimura, T., Morimoto, K., Yamamoto, S., and Yoshizato, K.

Real-time analysis of ligand-induced cell surface and intracellular reactions of living mast cells using a surface plasmon resonance based biosensor

*Anal. Biochem.* 302, 28-37 (2002).

**Summary** Surface plasmon resonance (SPR)-based sensors have been used to detect the binding

between interactive molecules. We applied the SPR technology for the analysis of interactions between living cells and molecules reactive to the cells, using mast cells and the mast cell-reactive antigens. The exposure of dinitrophenol-human serum albumin (DNP-HSA), an antigen that stimulates mast cells, to the IgE-sensitized mast cells induced a robust and long-lasting SPR signal in a dose-dependent manner. The maximal increase of SPR signal induced by 100 ng/ml DNP-HSA was  $0.200 \pm 0.120$  angle (mean  $\pm$  SD,  $n=37$ ), being about 1,000 times larger than the theoretically expected increase for the simple binding of DNP-HSA to FcεRI, the high affinity IgE receptor. A small, but similarly prolonged signal was seen, when the cells were stimulated by an agonist of the adenosine A3 receptor. The signal induced by DNP-HSA was abolished by genistein, and partially inhibited by phorbol-12-myristic-13-acetate and wortmannin. Interestingly, the signal induced by DNP-HSA was only weakly inhibited by DNP-lysine, suggesting that DNP-lysine manifests its action not by inhibiting, but by modulating the cross linking of FcεRI. We concluded that SPR sensors can detect biologically significant signals in a real-time manner from the interactions between cells and molecules reactive to the cells.

21) Hayashi M., Tomita M., and Yoshizato K.

Interleukin-2-collagen chimeric protein which liberates interleukin-2 upon collagenolysis.,  
Protein Engineering 15, 429-436 (2002)

**Summary** Interleukin-2 (IL-2) is a potent activator of cellular immunity and has been utilized as an immunotherapeutic agent. We stably immobilized human IL-2 to collagen by covalently binding it to the N-terminus of human type III collagen (3A1) as IL2-3A1 chimeric protein using the recombinant technology. The present study aimed at liberating IL-2 from the immobilized chimeric protein by treating the chimera with bacterial collagenase. These IL2-3A1 chimeras were synthesized in insect cells which had been infected with baculovirus vectors carrying IL2-3A1 cDNA. The produced IL2-3A1 protein was shown to be in a pepsin-resistant triple helical structure and exhibited the IL-2 activity to a similar extent of IL-2 itself. IL2-3A1 could be immobilized on the surface of plastic dishes by incubating it in the dishes. The IL-2 region of the immobilized IL2-3A1 was liberated to culture media by the collagenase treatment, and this freed IL-2 stimulated the growth of lined T cells. Thus, IL2-3A1 chimeric protein could be utilized as an IL-2 deliverer whose T cell mitogenic activity can be liberated by collagenolytic environment.

22) Sawada, T. Oofusa, K. and Yosizato, K.

In vivo thyroid hormone-responsiveness of a thyroid hormone response element-like sequence in 5'-upstream promoter region of anuran MMP1 gene  
J. Endocrinol., 169, 477-486 (2001)

**Summary** Gene (Rmmp1) of matrix metalloproteinase 1 (MMP1) of bullfrog, *Rana catesbeiana*, was previously shown to contain a thyroid hormone response element (TRE)-like sequence in its 5'-upstream region (Oofusa & Yoshizato 1996). The present study aimed to determine whether this TRE-like sequence is functional in vivo as a true TRE, and to characterize the sequences of the 5'-upstream region with respect to the regulation of the activity of the TRE when the TRE-like sequence was proved to be a true TRE. For this aim various sequences of TRE-like sequence-containing 5'-upstream region were constructed and fused to the enhanced green fluorescent protein (EGFP) gene as a reporter gene. The fusion constructs were bombarded to the skin of bullfrog tadpoles and the activity of TRE was quantitatively determined by measuring increased intensities of fluorescence when the animals were exposed to thyroid hormone. The present study clearly demonstrated that the sequence of Rmmp1 is a biologically active TRE in vivo. In addition a unique 36 bp-long sequence directly flanked to the 3'-end of the TRE was identified which worked cooperatively with TRE to regulate the transcriptional promoter activity. It should be emphasized that the presence of TRE in Rmmp1 gene is unique, because its presence has not been reported in the known promoter region of vertebrate MMPs.

23) Kohashi, T., Tateaki, Y. Tateno, C. Asahara, T. Obara, M. and Yoshizato, K.. Expression of pleiotrophin in hepatic nonparenchymal cells and preneoplastic nodules in carbon tetrachloride-induced fibrotic rat liver.

Growth Factors, in press.(2002)

**Summary** Pleiotrophin (PTN) is a heparin-binding protein, which induces growth, angiogenesis, differentiation, and transformation of cells. The aim of this study was to examine the role of PTN in liver fibrogenesis. Rats were treated with carbon tetrachloride (CCl<sub>4</sub>) for 3-9 weeks to induce liver fibrosis. The sirius-red staining of these liver tissue sections clearly showed the development of fibrosis and glutathione S-transferase placental type-positive preneoplastic nodules emerged at 7 weeks of the treatment. PTN expression was investigated in fibrotic liver tissues at the mRNA level using a real-time reverse transcription polymerase chain reaction and at the protein level by immunohistochemistry. Quantity of PTN mRNA increased 5-fold in fibrotic liver tissues at 7 weeks of CCl<sub>4</sub>-treatment over the control values. Immunohistochemistry localized PTN protein on hepatic nonparenchymal cells, mostly stellate cells and some of Kupffer cells, and the preneoplastic nodules in fibrotic liver tissues. PTN mRNA expression is significantly upregulated in the CCl<sub>4</sub>-induced chronic rat fibrotic liver tissues. We suggest that PTN might be involved in fibrogenesis and preneoplastic changes of liver.

24) Suzuki, K., Utoh R., Kotani, K., Obara, M., and Yoshizato, K.  
Lineage of Anuran Epidermal Basal Cells and Their Differentiation Potential in Relation to Metamorphic Skin Remodeling.

Dev. Growth & Dev., in press.(2002)

**Summary** The anuran remodels the larval epidermis into the adult one during metamorphosis. Larval and adult epidermal cells of the bullfrog were characterized by determining the presence of huge cytoplasmic keratin bundles and the expression profiles of specific marker genes, namely col 1 (collagen 1 (I)), rlk (larval keratin) and rak (adult keratin). We identified four types of epidermal basal cells: (i) basal skein cells that have keratin bundles and express col 1 and rlk; (ii) rak + -basal skein cells that have keratin bundles and express col 1, rlk, and rak; (iii) larval basal cells that express rlk and rak; and (iv) adult basal cells that express rak. These traits suggested that these basal cells are on the same lineage in which basal skein cells are the original progenitor cells that consecutively differentiate into rak + -basal skein cells into larval basal cells, and finally into adult basal cells. To directly verify the differentiation potential of larval basal cells into adult ones, the mono-layered epidermis composed of larval basal cells was cultured in the presence of aldosterone and thyroid hormone. In this culture, larval basal cells differentiated into adult basal cells that reconstituted the adult epidermis. Thus, it was concluded that larval basal cells are the direct progenitor cells of the adult epidermal stem cells.

25) Asahina, K., Sato, H., Yamasaki, C., Tateno, C., Kataoka, M., Shiokawa, M., Katayama, S., and Yoshizato, K.

Pleiotrophin/HB-GAM as a Mitogen of Rat Hepatocytes and Its Role in Regeneration and Development of Liver.

A.J. Path., Vol.160, No.6, 2191-2205(2002)

**Summary** Previously pleiotrophin (PTN) was identified among proteins secreted by Swiss 3T3 cells as a mitogen for cultured adult rat hepatocytes. The present study showed that the growth of rat hepatocytes was enhanced when cultured with rat hepatic stellate cells (HSCs). HSCs expressed PTN mRNA and secreted its protein in the cocultures. Recombinant PTN enhanced the growth of hepatocytes in culture, suggesting that HSCs stimulate the growth of hepatocytes through the action of PTN. To know the biological role of PTN in the growth of hepatocytes *in vivo*, we examined the expression of PTN in 4 regeneration models of adult liver and embryonic liver of rat. The expression of PTN mRNA in the liver was markedly up-regulated by the treatment with D-galactosamine (GalN) or with acetylaminofluorene followed by partial hepatectomy. HSCs expressed PTN mRNA in response to GalN-treatment and its protein was found on hepatocytes. The mRNA expression of N-syndecan, a PTN receptor, was up-regulated in GalN-treated hepatocytes. The mesenchymal cells in the septum transversum enclosing the embryonic liver, but not embryonic HSCs, expressed PTN mRNA. We suggest that PTN is secreted from activated adult HSCs and embryonic mesenchymal cells as a mitogen of parenchymal cells in adult and embryonic liver, respectively.

26) Suzuki K., Sato K., Katsu K., Hayashita H., Kristensen D.B., Yoshizato K.

Novel Rana Keratin genes and their expression during larval to adult epidermal conversion in bullfrog tadpoles

Differentiation (2001) 68:44-54

**Summary** The conversion of the larval to adult epidermis during metamorphosis of tadpoles of bullfrog, *Rana catesbeiana*, was investigated utilizing newly cloned Rana keratin cDNAs as probes. Rana larval highly specific antisera against *Xenopus* larval keratin (XLK). Tail skin proteins of bullfrog tadpoles were separated by 2-dimensional gel electrophoresis and subjected to Western blot analysis with anti-XLK antisera. The Rana antigen detected by this method was sequenced and identified as a type II keratin. We cloned rlk from tadpole skin by PCR utilizing primers designed from these peptide sequences of RLK. RLK predicted by nucleotide sequences of rlk was a 549 amino acid -long type II keratin. Subtractive cloning between the body and the tail skin of bullfrog tadpole yielded a cDNA (rak) of Rana adult keratin (RAK). RAK was a 433 amino acid-long type I keratin. We also cloned a Rana keratin 8 (RK8) cDNA (rk8) from bullfrog tadpole epidermis. RK8 was 502 amino acid-long and homologous to cytokeratin 8. Northern blot analyses and *in situ* hybridization experiments showed that rlk was actively expressed through prometamorphosis in larva-specific epidermal cells called skein cells and became completely inactive at the climax stage of metamorphosis and in the adult skin. RAK mRNA was expressed in basal cells of the tadpole epidermis and germinative cells in the adult epidermis. The expression of rlk and rak was down- and up-regulated by thyroid hormone (TH), respectively. In contrast, there was no change in the expression of RK8 during spontaneous and TH-induced metamorphosis. RK8 mRNA was exclusively expressed in apical cells of the larval epidermis. These patterns of keratin gene expression indicated that the expression of keratin genes is differently regulated by TH depending on the type of larval epidermal cells. The present study demonstrated the usefulness of these genes for the study of molecular mechanism of postembryonic epidermal development and differentiation.

27) Nakano M., Hara T., Hayama T., Obara M., Yoshizato K.  
Membrane-type 1 matrix metalloproteinase is induced in decidual stroma without direct invasion by trophoblasts. *Mol. Hum. Reprod.* 7 (2001) 271-277.

Molecular Human Reproduction

**Summary** Membrane-type 1 matrix metalloproteinase (MT1-MMP) in endometrium and decidua may greatly affect attachment of the embryo to the epithelium, invasion of the trophoblast into the stroma, and extracellular matrix remodelling in the endometrium and decidua. We investigated the expression of this enzyme in normally cycling endometrium and in decidua associated with normal and tubal pregnancies at both the gene and protein level. Localization of expression (but not the overall level of expression), differed between endometrium and decidua parietalis and tubal pregnancy decidua. MT1-MMP mRNA was expressed mainly in epithelium and only faintly in stroma throughout the menstrual cycle, while in decidua parietalis and tubal pregnancy decidua, this mRNA was expressed predominantly in stromal cells. MT1-MMP protein was detected in the epithelium alone throughout the menstrual cycle, while in decidua parietalis and tubal pregnancy decidua, it was detected in stromal cells as well as the epithelium. Since decidua showed altered expression in the absence of trophoblastic contact, trophoblast invasion may not directly affect MT1-MMP gene expression.

### <平成 14 年度>

28) Akira Yamagata, Kristensen Dan Bach, Yoshiko Takeda, Yuka Miyamoto, Keiko Okada, Mutsumi Inamatsu, Katsutoshi Yoshizato

Mapping of phosphorylated proteins on two-dimensional polyacrylamide gels using protein phosphatase  
*Proteomics* 2, 1267-1276(2002)

**Summary** This study developed an enzymatic method for high-throughput mapping of phosphoproteins on two-dimensional (2-D) polyacrylamide gels. Proteins of cultured rat skin fibroblasts were divided into two aliquots, one of which was dephosphorylated using recombinant lambda protein phosphatase and the other was not treated with the enzyme. The two aliquots were then subjected to 2-D electrophoresis. Phosphoproteins could be mapped on the 2-D gel of the non-treated aliquot by comparing the gels of the two aliquots, because the phosphoproteins in the treated aliquot shifted to more basic positions on the gel. This technique revealed that approximately 5% of the detectable proteins was phosphorylated. Fourteen phosphoproteins were identified by mass spectrometry, including proteasome component C8 and small glutamine-rich tetratricopeptide repeat-containing protein. Furthermore, the extent of phosphorylation of two actin-modulating proteins, destrin and cofilin, was found to be significantly reduced when the cells were chemically or enzymatically detached from the culture dishes. The method developed by this study can generally be applied to all biological materials and is useful for high-throughput mapping of phosphoproteins in proteome research.

29) Asahina K., Kawata N., Kristensen Dan Bach., Nakatani K., Seki S., Shiokawa M., Tateno, C., Obara M., Yoshizato K.

Characterization of human stellate cell activation-associated protein (STAP) and its expression in human liver

*Biochimica et Biophysica Acta*(Vol.160 No.6 2191-2205)

**Summary** Previously we isolated a heme protein named rSTAP (stellate cell activation-associated protein) from rat stellate cells. This study cloned cDNA of human STAP (hSTAP). hSTAP gene is on chromosome 17q and is composed of 4 exons. Various types of cells including hepatic stellate cells expressed hSTAP mRNA. Recombinant hSTAP was a heme protein with the activity of peroxidase. hSTAP can be used as a marker of quiescent stellate cells in human liver.

### <投稿中、論文準備中>

30) Adachi T., Tomita M., and Yoshizato K.

Exclusive expression of genes of prolyl 4-Hydroxylase  $\alpha$  subunit and type IV collagen in hemocytic granular cells and fat bodies in silkworm, *Bombyx mori*.

Matrix Biology (in submission)

**Summary** The full-length cDNA coding for prolyl 4-hydroxylase  $\alpha$  subunit of *Bombyx mori* (*BmP4Ha*) was cloned from *B. mori* larval tissues by reverse transcription (RT)-PCR and rapid amplification of cDNA ends (RACE). The protein expressed by the cDNA was composed of 550 amino acid residues and its deduced amino acid sequence showed 45 and 33% identities to prolyl 4-hydroxylase  $\alpha$  subunit (P4Ha) of human type I and *Drosophila melanogaster*, respectively. The recombinant *BmP4Ha* showed the prolyl 4-hydroxylase activity on human type III procollagen as a substrate when combined with the recombinant *B. mori* prolyl 4-hydroxylase  $\beta$  subunit. Partial cDNA sequence of *B. mori* type IV

collagen (*BmCOLIV*) was also identified from *B. mori* EST database, which encoded about a half of the triple helical domain and most of the NC1 domain. RT-PCR analysis of their mRNAs in developmental stages from fifth instar larva to pupa showed that the expression of *BmP4Ha* rose in pupal stages, and that of *BmCOLIV* decreased during early fifth instar larval stages and rose in spinning stages and pupal stages. RT-PCR analysis of the mRNAs in various tissues of fifth instar larvae and the *in situ* hybridization analysis of the mRNAs in their whole body sections revealed that the mRNAs of *BmP4Ha* and *BmCOLIV* were expressed in hemocytes and fat bodies. Hemocytes contain 5 different types of cells. *In situ* hybridization showed that mRNAs of both *BmP4Ha* and *BmCOLIV* were exclusively expressed in granular cells that are known to play a central role in self-defense against invading foreign objects.

31) Tomita M., Sato T., Munetsuna H., Adachi T., Hino R., and Yoshizato K.

Production of recombinant human type III procollagen mini-chains in *Bombyx mori* silk glands.

J. Biol. Chem. (in preparation)

**Summary** We produced in *Bombyx mori* silk glands recombinant human type III procollagen mini-chains, the length of whose helical domain was one fifth of the original. cDNA was constructed that contained a fibroin light chain (L-chain) promoter and sequences for a fusion protein comprising fibroin L-chain and enhanced green fluorescent protein (EGFP). Silk glands isolated from 5<sup>th</sup>-instar larvae were transfected with the construct and were transplanted into the body of larvae. The fusion protein was detected in the lumen of posterior silk gland (PSG). cDNA of the mini-chain was inserted into the vector between fibroin L-chain and EGFP, which was transfected as above. This fusion cDNA was expressed at an extremely low level. The mini-chain cDNA was divided into 3 domain cDNAs, cDNA of N-propeptide, triple helix, and C-propeptide, and each of them was similarly transfected. The expression of C-propeptide cDNA was very low as compared with the other two cDNAs, suggesting that C-propeptide inhibits the expression of mini-chains. Actually, mini-chains deprived of C-propeptide were effectively synthesized within the PSG cells and normally secreted into the PSG lumen. The present study suggests that *B. mori* can be utilized as an animal for producing recombinant human collagen.

32) Tomita M., Munetsuna H., Sato T., Adachi T., Hino, R., Hayashi M., Shimizu K., Nakamura N., Tamura T., Yoshizato K.

Nat. Biotechnol. (in submission)

**Summary** We investigated the possibility of generating transgenic silkworms spinning recombinant human collagen as a component of cocoon proteins. cDNAs were constructed that encoded fusion proteins comprising C-propeptide-deleted human type III procollagen mini-chain, fibroin light chain (L-chain), and enhanced green fluorescent protein (EGFP) under fibroin L-chain promoter sequences, and were incorporated into *piggyBac* vectors. The vectors were injected into eggs to yield transgenic silkworms. The worms carrying the vectors displayed EGFP-fluorescence from silk glands, and produced cocoons emitting the strong EGFP-fluorescence, indicating that the promoter and fibroin L-chain cDNAs directed the synthesized products to be secreted into cocoons. In fact, the presence of fusion proteins in cocoons was shown by immunoblots, collagenase-sensitivity tests, and amino acid sequencing. The fusion proteins were biochemically purified from cocoons to a single band on electrophoretic gels with ease. This study proposes transgenic silkworms as a viable tool for producing various useful proteins, in which silk glands are used as bioreactors.

33) Oofusa, K., Tooi, O., Kashiwagi, A., Kashiwagi, K., Kondo, Y., Hiratsu, S., Obara, Y., Yoshizato, K. Production of *Xenopus laevis* transduced with metallothionein promoter-driven reporter genes as an environmental metal ion-indicator animal. *Environ. Health. Perspect.* (in submission).

**Summary** We generated germ line-transgenic *Xenopus laevis* to obtain environmental heavy metal ion-monitoring aquatic tetrapods. Sperm nuclei were transduced with enhanced green fluorescent protein genes driven by murine metallothionein-1 gene promoters and were microinjected into unfertilized eggs to produce transgenic tadpoles. The transgenic tadpoles at the premetamorphic stage were reared in water containing either of Zn<sup>++</sup> or Cd<sup>++</sup> at the concentrations of 0.025 to 0.1 ppm. The tadpoles emitted fluorescence whose intensity was increased with increase of the concentration of the metal ions and with the exposure time up to 48 hrs. The fluorescent response was much more sensitive to Cd<sup>++</sup> than to Zn<sup>++</sup>. We concluded that these transgenic tadpoles are useful as a living animal indicator for environmental heavy metal ions.

34) Yamasaki, T., Tateno, C., Oonishi, C., Katayama, S., Kohashi, T., Hino, H., Maruzawa, H., Asahara, T., Yoshizato, K.

Growth and Differentiation of Proliferative Human Hepatocytes *In vitro*. (in submission)

**Summary** Isolated normal human hepatocytes show a low growth potential when cultured in conventional culture media. The present study co-cultured normal hepatocytes from patients at different ages with Swiss 3T3 cells in the medium containing human sera, fetal bovine sera, EGF, nicotinamide, and ascorbic acid 2-phosphate. Small percentage (0.01-0.09%) of hepatocytes grew to form colonies, the colony forming efficiency being decreased with the age of donors. A fluorescence-activated cell sorter

devided hepatocytes into 2 cell populations, R2 and R3, utilizing the difference in their autofluorescence and granularity. R2 hepatocytes showed a stronger autofluorescence and a higher granularity, and larger in size than R3 hepatocytes. Isolated R3 cells were approximately 15 mm in diameter and showed a higher colony forming efficiency than R2 cells. Colony forming hepatocytes could be subcultured 4 to 7 times, and then terminated their growth. They showed a liver epithelial cell-like morphology and expressed albumin, cytokeratins 7, 8, 18, and 19 in a low-density culture. In contrast, the cells took on a typical mature hepatocyte-like morphology and expressed  $\alpha_1$ -antitrypsin, but did not express cytokeratins 7 and 19 in a high-density culture. We concluded that a population of proliferative hepatocytes exists even in the adult human liver. The size of its population decreased as the donor aged.

35)Soeno Y., Obara M. and Yoshizato K.

Development of Eerythropoetin-secreting bio-artificial skin with plasmid vector derived from bovine papilloma virus

Journal of Investigative Dermatology (in preparation)

36)Yamasaki C, Tateno C, Ohnishi C, Katayama S, Kohashi T, Hino H, Marusawa H, Asahara T, and Yoshizato K

Growth and Differentiation of Proliferative Human Hepatocytes *In Vitro*

(in submission).

37)Tateno C, Yoshizane Y, Saito N, Yamasaki C, Asahina K, Kataoka M, Hino H, Asahara T, Furukawa T and Yoshizato K.

A near-complete repopulation of mouse liver with human hepatocytes that express a variety of human cytochrome P450

(in preparation)

38)Takaishi H, Tahara H, Tateno C, Nakanishi T, Barrett JC, Chayama K, Yoshizato K and Ide T.

Extension of replicative lifespan with hTERT genes in human cultured hepatocytes and non-parenchymal liver cells

(in preparation)

39)Asahina K, Shiokawa M, Yamasaki C, Aratani A, Tateno C, and Katsutoshi Yoshizato.

Gene expression profiles of multiplicative small-sized hepatocytes and their localization in the periportal zone of adult liver

(in preparation)

40)Saito,M., Kimoto M., Araki, T., Yukie Shimada Y., Fujii R., Hide M., Usui T., and Yoshizato K.

Proteome analysis of urine from patient with bladder cancer in combination with gelatin beads pre-purification

(in preparation)

41)Hair Follicle Inducing Ability of Serial Cultured Adult Human Dermal Papilla Cells

Toyoshima K., Yamao M. Mutsumi Inamatsu M. and Yoshizato K.

Journal of Investive Dermatology

(in preparation)

42)Inamatsu M, Oomizu S, Matsuzaki M, and Yoshizato K

Serial Cultivation of Dermal Papilla Cells that Sustain the Inherent functions to induce hair follicles from epidermis

J Invest Dermatol (in preparation)

43)Inamatsu M, Makabe A, Endo T, Kobayashi E, and Yoshizato K

Epidermal-dermal interaction required for inducing the dermal condensation during hair follicle development

Dev Biol (in preparation)

## 2-3. 総説リスト

### <平成 10 年度>

1) 吉里勝利：特別企画 再生医学 総論、臨床科学 34、1118-1124 (1998)

要旨：体は傷つけられると、止血反応が起き、その後、傷口は塞がり、傷によって体に生じた

組織構造上の不連続性は見掛け上克服され、連続性を回復する。組織構造の連続性を回復するという体に本来的に備わった能力が治癒力である。例えば、皮膚の一部を切除すると皮膚は構造的傷害を受けて不連続状態に陥り、治癒過程に入る。

連続性には、単に構造的連続性のみならず、機能的連続性も含まれる。体の種々の組織、器官は体の全体的サイズに見合った機能をもっている。ある組織が傷害を受けると、傷害を受ける前の体のホメオスタシスが傷害を受けて損失した分だけ負に傾き、機能的連続性（相関関係）が破壊される。これを回復させることができなければ、構造的連続性以上の負の影響を受けて体は死に至るであろう。

治癒は連続性の構造的、機能的回復であるということが出来る。通常治癒では両者が現象の表裏をなしながら進行するので、構造的、機能的回復を明確に区別してその素過程の異同を論ずることは困難である。

構造的治癒と機能的治癒を区別して考える上で、役に立つのは肝臓である。肝再生の研究の実験モデルとしてラットの 2/3 切除肝がある。肝葉の 2/3 を切除しても、残余肝の肝細胞が細胞周期を 1~2 回回って元の肝重量を回復する。注意しておきたいのは、残余肝には傷害は与えられていないことである。このモデルにおいては無傷害の、従って構造的には正常な（連続性を維持した）肝臓が治癒過程に入ることになる。

## <平成 11 年度>

2) 立野知世、吉里勝利：6. 幹細胞、ティッシュエンジニアリング（上田実編）、68-79、1999、名古屋大学出版会

**要旨：**生物の体は1個の受精卵から始まる。受精卵は細胞分裂を繰り返し、外胚葉、中胚葉、内胚葉の細胞に分化する。それぞれの胚葉はさらに細胞分裂や移動を繰り返し、手や足や様々な組織・臓器となる。広義の意味での幹細胞とは、発生過程における形態形成や、成体における恒常性、生殖細胞の維持に働く一群の細胞である。胚幹細胞（ES細胞）とは、胚盤胞の内部細胞塊に由来し、癌化することなく *in vitro* で安定に増殖する細胞で、あらゆる細胞に分化することができる唯一の幹細胞といえる。胚幹細胞は標的遺伝子組み換えによる変異マウスの作製などの今日の発生工学の技術に必須の材料である。

狭義の意味で使われる幹細胞とは、成体でもなお組織や臓器の恒常性の維持や傷害時の再生に働く細胞の一群といえる。今日の分子生物学の目覚ましい発展は、幹細胞の同定や分化過程の解析に大きな進歩をもたらした。これまで、造血組織、骨格筋、神経、乳腺、ケラチノサイト、腸管、精子などにおいて、幹細胞の存在が確認され、その性質が詳細に調べられている。ここでは、成体の組織や臓器に存在する幹細胞の研究でこれまでわかっていることと、組織工学への利用の可能性について述べる。

3) Tateno, C. and Yoshizato, K. : (1999) Growth potential and differentiation capacity of adult rat hepatocytes *in vitro*. *Wound Rep. Reg.*, 7(1), 36-44.

**要旨：**We have devised a medium which supports the continuous growth of hepatocytes without losing their replicative potential and differentiation capacity for a longer period (C. Tateno & K. Yoshizato, *Am. J. Pathol.* 1996; 148: 383-392). The medium, HCGM, contains four key substances in addition to fetal bovine serum, i.e., epidermal growth factor, nicotinamide, ascorbic acid 2-phosphate, and dimethylsulfoxide. When a nonparenchymal cell fraction containing small hepatocytes and nonparenchymal cells was cultured in HCGM, small hepatocytes grew clonally and differentiated into cells expressing either mature hepatocyte marker proteins or biliary cell marker proteins (C. Tateno & K. Yoshizato, *Am. J. Pathol.* 1996; 149: 1593-1605). The growth potential of small hepatocytes was variable among the cells, the highest case being that a single cell produced a colony containing over 100 cells in 10 days. When a hepatocyte was allowed to divide for 105 days, it produced a colony of approximately 0.2 mm<sup>2</sup> which contained approximately 1,700 hepatocytes, indicating that the cell divided more than 10 times. Thus, we for the first time showed the presence of a small compartment of bipotent and highly replicative clonogenic hepatocytes in the rat adult liver *in vitro*.

4) 吉里勝利、立野知世：再生と再生医学、特集—再生医学、現代医療、vol. 31, No. 12、29-34、株式会社現代医療社

**要旨：**最近1, 2年、雑誌やテレビでよく再生医学という言葉聞くようになった。再生こそ、21世紀の病気治療の技術ということになってしまった。ヒトの成体組織の中に未分化で増殖能力の高い幹細胞あるいは前駆細胞の存在が示された。カエルを使って初めて成功したクローン動物の作製がヒツジやウシなどの哺乳類でも可能になった。このような生物学の技術的成功が、成体細胞は条件さえ整えば若返ることが可能であることを実感させたことが、再生医学への期待と夢の背景であろう。ここでは、幹細胞の性質と再生医療への可能性、肝臓の最近の再生研究について述べる。

5) 立野知世：肝細胞の増殖と肝幹細胞、特集 幹細胞の生物学—再生医学の時代に向けて、Molecular Medicine, Vol. 36, No. 12, 1999, 1414-1422、中山書店

**要旨：**肝臓は非常に再生力の強い臓器として知られているが、肝臓の幹細胞の存在の是非については、今のところ結論は出ていない。肝臓における幹細胞研究の現状について考察し、肝臓の幹細胞を用いた再生医学への応用の可能性を探る。

6) 吉里勝利：幹細胞 基礎研究から再生医学へ—新世紀医学への展望、Molecular Medicine, Vol. 36, No. 12, 1999, 1356-1357、中山書店

**要旨：**表皮幹細胞は表皮分化細胞を生み出すと共に毛母細胞を生み出すことが実験的に証明されている。多分、将来、爪母細胞にも分化しうるということが証明されるだろう。このように表皮幹細胞は表皮系細胞になることに決定された多能性未分化細胞である。最近、この幹細胞の分子マーカーが同定され、幹細胞の維持機構や増殖性細胞や終末分化細胞への移行をうながす分子シグナルの実体についても解明されつつある。

7) 立野知世、吉里勝利：肝臓の再生、特集：再生医工学、学術月報、Vol. 52, No. 12, 30-35、日本学術振興会

**要旨：**肝臓は、大人になっても強い再生能力を持つ。肝臓の2/3を切除すると、肝臓の細胞が活発に分裂増殖し、ラットでは1週間、ヒトでは1ヶ月でもとの大きさにもどる。これまで、その旺盛な再生力は人々の興味を引きつけ、多くの研究者らが肝再生の謎に取り組んできた。その長年の研究成果は、今まさに再生医療の実現へ向けて役立とうとしている。ここでは、最近の肝臓の再生研究と再生医療への可能性について述べる。

8) 吉里勝利、大房 健：オタマジャクシの皮膚の変態の分子しくみ、蛋白質核酸酵素 Vol. 44, No. 14, 1999.11, 2069-2079

**要旨：**両生類幼生（オタマジャクシ）の皮膚は構造的にも構成細胞の種類においても全く異なる成体（カエル）の皮膚に変態する。幼生の体の特定の部位に皮膚変換中心が上皮間充織相互作用と甲状腺ホルモンの作用で出現する。この中心はユニークなパターンを描きながら幼生の体を移動しながら成体皮膚の領域を広げていくが、体の後方（尾）と前方（口周辺）には移動しない。変換中心の移動過程をI型コラーゲンとケラチンの遺伝子の発現パターンで示した。さらに、この過程をトランスジェニックカエルを用いて研究する事ができることを示した。

9) 立野知世、吉里勝利：肝幹細胞、再生医学と生命科学—生殖工学・幹細胞工学・組織工学、蛋白質核酸酵素 増刊号、Vol.45, No.13, 2085-2091 共立出版株式会社

**要旨：**我が国では、肝疾患による死亡者は毎年4万人といわれ、そのうち60歳以下の肝移植適応患者は年間約3,500~5,000人と見積もられている1)。しかし、臓器提供者の不足は深刻な問題となっている。また、劇症肝炎の年間発生率は約2,500例と推定されるが、重大な基礎疾患がなく、肝移植の適応となる患者は年間100例程度と概算されている。最近、肝細胞移植が、全肝移植までのブリッジや、肝不全の際の代謝補助や、ある代謝疾患のための全肝移植に置き換わる方法として、有効であるといわれている。また、宿主の肝細胞死の割合が高い特別な状況においては、移植肝細胞が増殖して置き換わることも期待される。しかし、臓器移植と同様、肝細胞移植に用いるための肝細胞の不足は明らかであり、ヒト肝細胞の培養、増殖、凍結保存技術の開発は大きな課題である。私達は、ヒト肝細胞を増殖させる技術を開発するために、ラットまたはヒト肝細胞の増殖能や分化能の多様性について研究を行っている。私達の研究の最近の知見を述べると共に、肝臓における幹細胞の存在の可能性について考察する。

10) 戸笈 修、大房 健、柏木昭彦、柏木啓子、近藤育志、吉里勝利：トランスジェニックカ



エルの作製方法、実験医学 Vol.18, No.6, 795-801

**要旨：**トランスジェニックマウスを作製する技術は 1980 年代に確立され、すでに多くの系統が作出されている。これにとどまらず、マウスでは、さらに、特定遺伝子の改変、破壊（ターゲティング、ノックアウト）の技術も確立されている。これらは原理的には全細胞に外来遺伝子（あるいは変異遺伝子）が導入され、その遺伝子が次世代に引き継がれると言う点において他に比肩するものはない。また、この外来遺伝子導入法は、古典遺伝学的手法の応用できない実験動物において遺伝子の機能を知る究極の方法と位置づけられる。Kroll & Amaya は、1996 年にアフリカツメガエル (*Xenopus laevis*) を用いてトランスジェニックカエルの作出に成功した(1)。我々は、Kroll & Amaya の方法にしたがってアフリカツメガエルにおけるトランスジェニック技術を確認した。トランスジェニックカエルの作成が可能になったことで、変態現象に代表される形態形成機構の解明に向けた研究は大きく進展するものと期待している。本稿ではトランスジェニックカエル作成技術の概要とともに、我々が行っているトランスジェニックカエルを用いた遺伝子解析を紹介する。

### <平成 12 年度>

11) 鈴木賢一、朝比奈欣治、吉里勝利：現代化学増刊 39、ボディープランと器官形成第 6 章 変態、64-72, (2001), 東京化学同人

12) 稲松 睦、立野 (向谷) 知世、吉里勝利：組織再生と新しい医療

Tissue regeneration and new medical applications, BIO INDUSTRY 9 月号 Vol.17, No.9, 23-31 (2000)

**要旨：**昨今、遺伝子やタンパクレベルでの解析技術の進歩により、組織再生のメカニズムの解析が飛躍的に進んだ。今まさに、その成果を再生医療へ応用する試みが始まりつつある。本稿では、毛の生える人工皮膚の開発、および肝臓の幹細胞探索とそれを利用した再生医療応用に関する最近の筆者らの研究内容を紹介する。

13) 吉里勝利：幹細胞の研究の展開、組織培養工学、26 (8) , 294-296, (2000)

**要旨：**1953 年に発表されたワトソンとクリックの DNA 構造解明を大きな契機として染色体遺伝子の全情報解明での努力がはじまったが、この努力は間もなく完成しようとしている。この成果を享受しつつ種々の生命現象の基本的仕組みの分子的理解は飛躍的に進んだ。胚発生や細胞の増殖・分化の分子しくみも、現在、活発に研究されており、大きな成果が得られるつつある。

生命科学のこのような発展を受けて、最近、研究者が熱いまなざしを向け始めたのが幹細胞である。幹細胞は未分化であり、増殖性の娘細胞を生み出すことができ、条件さえ整えば、種々の機能的細胞に分化誘導できるため、分化誘導に興味をもつ基礎研究者のみならず、病気の治療を行っている臨床研究者からも、大きな関心が寄せられている。この細胞を活用することによって、傷害細胞を置換するという治療法が体の全組織に可能であるという夢があるからである。

本特集では、種々の幹細胞の中でも特に研究が進んでおり、また臨床技術としても現実のもの、あるいはそれに近い段階にある血液幹細胞と神経幹細胞、また、これからの発展に強い期待がかけられている肝臓幹細胞を取り上げて、その研究の現状を基礎系及び臨床系の方々に解説していただく。また、企業サイドからみた幹細胞について Venture コーナーで論じる。

14) 吉里勝利：肝細胞移植、月刊カレントセラピー10月号、Vol.18, 90-95, (2000)

**要旨：**肝臓を構成する主要細胞は肝細胞、星細胞、クッパー細胞および血管内皮細胞である。なかでも、肝細胞は肝実質細胞として肝臓の主要機能を担う細胞であり、哺乳類の肝臓細胞のおよそ 7 割を占める。肝細胞の生体における置換速度は他の消化器官や皮膚の細胞などに比べて非常に遅いと考えられている。一方で、肝臓は障害を受けてその一部を喪失すると、これを補うために再生を速やかに開始する器官でもある。置換速度が緩やかなため、肝細胞の生理的置換に幹細胞が必要であるのかという問いに対する明確な答えを実験的に与えることが困難であった。

最近、再生医療技術が新しい治療技術として注目されている。ある臓器に対して、この再生

医療が適応可能かどうかを決めているのは、その臓器に幹細胞が存在しているか、その幹細胞の性質が明らかにされているかである。肝臓病のため肝臓移植を必要としている患者は多い。現状では臓器移植でしか対応できない。細胞移植で対応できれば肝臓病治療に革新的進歩をもたらす。そのためには、肝臓に幹細胞が存在するのか、存在するとしたらその細胞はどのような性質をもっているのかを明らかにする必要がある。

肝臓が再生するためには次のことが可能でなくてはならない。生理的あるいは病理的原因で喪失した肝臓細胞（この場合、肝実質細胞と胆管上皮細胞）を細胞分裂によって補給できることである。これを細胞補給系とよぶ。肝臓が再生できることから、肝臓にも細胞補給系が存在するのは明らかである。

肝臓の細胞補給は次のいずれによってされているのだろうか。分化した肝実質細胞と胆管上皮細胞がそれぞれ分裂して、それぞれ肝実質と胆管を再生しているのだろうか。それとも、肝臓幹細胞が存在し、この細胞が分裂を開始して肝実質と胆管を再構築しているのだろうか。この問いに答えるためにこれまで多くの研究がなされてきた。本稿では主として細胞移植の技術を使ってこの問いに答えようとしている研究に注目して、肝臓幹細胞理解の現状を紹介する。

15) 吉里勝利：器官の再構築と再生医学、最新医学・2000年・別冊、60-69、(2000)、最新医学社

**要旨：**生命科学はポストゲノム時代を視野に入れつつ新しい研究方向を模索している。これまでの還元論的生命科学の研究手法に加えて、構成論的手法を取り入れながら、生物学は構成論的生物学的生物学として”生命とは何か”という生命科学の根元的に問いに向けて新しい出発をしようとしている。この動きに医学領域で対応しようとするものが再生医学である。構成的生物学と再生医学は生きている人工器官の再構築技術の開発を課題として共有し、お互いに影響しあいながら、ポストゲノム時代の新しい生命観の構築に向かうであろう。

16) 立野（向谷）知世、吉里勝利：器官の再生と増殖因子 Organ regeneration and growth factors、現代化学2000年11月号 特集：発生と再生の化学、No.356, 50-55、(2000)、東京化学同人

**要旨：**それぞれの器官の構成員は、実質組織と間充織で構成されている。実質組織はその器官の機能を実行している組織であり、間充織は実質組織の活動を支持している組織である。ここでは、肝臓の再生のしくみを、実質細胞と間充織細胞とそれらから分泌される増殖因子という観点から述べる。

17) 立野（向谷）知世：肝細胞と肝星細胞 Hepatocytes and liver stellate cells、Connective Tissue 32巻4号,383-388

**要旨：**We have developed a culture system in which small hepatocytes (SHs) can grow forming colonies, when a nonparenchymal cell (NPC) fraction containing SHs and NPCs was cultured in the medium we devised (HCGM). To obtain the direct evidence that NPCs promote the growth of hepatocytes and to compare the growth potential between SHs and parenchymal hepatocytes (PHs), pure populations of SHs, PHs, and NPCs were prepared from the adult rat and co-cultures of hepatocytes and NPCs were reconstituted from them. SHs and PHs underwent multiple divisions, and the former showed a higher growth capacity than the latter when co-cultured with NPCs, whereas neither SHs nor PHs formed colonies when cultured alone. Stellate cells in the NPCs were demonstrated to be responsible for this growth promotion. We suggested that growth factors and extracellular matrices secreted by stellate cells as a result of cooperative interactions with hepatocytes stimulate the growth and differentiation of hepatocytes.

18) 立野（向谷）知世、吉里勝利：再生医学における生物学の役割 Role of Biology for Regenerative Medicine、週刊「医学のあゆみ」Vol.196, No.5, 296-300 (2001)

**要旨：**最近の再生に関する一般の人々の関心の高さは再生ブームとも呼ばれる程で、再生医療こそ21世紀の病気治療の技術ということになってしまった。また、ヒトの成体組織の中に未分化で増殖能力が高い幹細胞、あるいは前駆細胞の存在が示されてきた。それらは、in vitroで増殖・分化し、in vivoに戻すと、分化細胞として機能することが示されている。このような生物学の技術的成功が再生医学への期待と夢を背負ってしまった背景であろう。再生医療が夢の技術で終わるのか、あるいは究極の医療技術として損傷を受けた人体のあらゆる部分を

再生させることができるようになるのか、私達研究者に託された責任と期待は大きい。

19) 立野(向谷)知世、吉里勝利：小型肝細胞と肝再生 Small hepatocytes and liver regeneration、臨床雑誌「外科」63巻3号 特集/外科学の進歩と再生医学

立野(向谷)知世、片山繁、吉里勝利、成体肝臓に存在する増殖性幹細胞の性質と tissue engineering への応用、102巻 第3号 総会特集号、273-278、日本外科学会雑誌

**要旨：**私達は、ラットの肝臓から、直径 13-18 mm の小型の肝細胞を FACS を用いて分取する技術を確立した。この小型の肝細胞は、in vivo や in vitro において高い増殖能を示す。一方、最近、ある種の肝障害時には、小型肝細胞様前駆細胞が出現することが報告された。私達が分取した小型の肝細胞と、この細胞の関係を調べている。今後、この増殖性小型肝細胞を肝臓の再生医療に役立てたい。

20) 立野(向谷)知世：臨床雑誌「外科」63巻5号、557-562、特集/人工臓器研究-最新の進歩、増殖性小型肝細胞の培養

**要旨：**私達は、ラットの肝臓から小型肝細胞を分離・培養し、クローン性に増殖することと、分化した肝細胞のマーカーと胆管上皮細胞のマーカーを発現する細胞に分化することを示した。さらに、ヒトの肝臓からもラットと同様な増殖・分化する小型肝細胞を分離・培養する技術を開発した。この培養系において、ヒト小型肝細胞はコロニーを形成しながら長期間増殖を繰り返し、アツプミン分泌や P450 活性、および糖代謝能を示した。今後、このヒト増殖性小型肝細胞をハイブリッド型人工肝などに役立てたい。

21) 立野(向谷)知世、稲松睦、吉里勝利：皮膚と肝臓の再生、「生物の科学 遺伝」別冊13号、53-61 (2001年)

**要旨：**私たちは皮膚と肝臓に関する再生医療をめざした研究を行なっている。皮膚では毛乳頭細胞を継代培養する方法を開発し、継代培養を行なった細胞が in vivo (生体内)において毛包誘導能を維持していることを確認した。この培養毛乳頭細胞を培養人工皮膚に埋め込み、毛の生える人工皮膚の開発を目指している。肝臓においては、肝臓の幹細胞を利用した肝臓の再生医療を目指している。私たちは肝臓に存在している小型の肝細胞が in vivo においても in vitro (生体外)においても高い増殖能を有することを明らかにした。私たちは小型の肝細胞は肝臓において幹細胞的役割をしているのではないかと考えており、臨床へ応用できるかどうか明らかにしていきたいと考えている。

22) 稲松睦、添野吉徳、吉里勝利：組織再構築のためのテクノロジー、蛋白質核酸酵素 Vol.45 No.14, 2441-2446, (2000), 共立出版株式会社

**要旨：**自己複製能と多分化能を持つ細胞である幹細胞を分離し、増殖・分化させる技術を応用し、組織・器官を再構築する手法が急速に発展してきた。これを利用する再生医療が医療分野で大きく期待されている。幹細胞の分離・増殖技術が確立されている皮膚においては、再構築皮膚つまり人工皮膚がすでに作製されている。本稿では、この人工皮膚にさらに付加価値をもたせるための研究について紹介する。

23) 立野(向谷)知世、吉里勝利：再生医療、消化器疾患の最新医療 先端医療シリーズ11・消化器疾患 盛岡恭彦、蒲田武信、戸田剛太郎監修 14-19, 2001 先端医療技術研究所

**要旨：**20世紀の分子生物学技術の発展はめざましく、生物を細分化することにより、生命現象は、蛋白、分子、DNA レベルまで解明されてきた。20世紀の医療は、解明された生命現象を利用した薬剤(分子)による医療と言える。一方、生物学研究には細分化された成分を材料として”生きた物”を再構築しようとする別の流れがある。解離した細胞を再構築して1つの生命を作り上げる成功例は極めて稀であるが、ある種の細胞を再構築して、1部の機能を有する組織を再構築する技術は可能となってきた。薬剤(分子)だけではなく、生きた細胞や、再構築した組織を治療に利用しようとするのが21世紀の医療として期待されている再生医療である。これまでの分子生物学の発展により、発生や再生現象の解明は大きく前進した。また、最近、様々な臓器の幹細胞が単離・培養されるようになった。ヒト胚性幹細胞(ES細胞)株の樹立も報告された。幹細胞は、組織や臓器の再生、創傷治癒において重要な働きをするため、再生医療に必須なものである。このような生命科学の進歩が再生医学の勃興を促し、21世紀の医療として、人々の注目を集めるようになったのである。

24) 吉里勝利：オタマジャクシがカエルになるしくみ(1)～(5)、新生出版、理科教室 No.538(11月号),539(12月号),540(1月号),541(2月号),542(3月号)

### <平成 13 年度>

25) 朝比奈欣治、立野知世、吉里勝利：再生医学-ES 細胞と組織幹細胞、Journal of Gastrointestinal Research, Vol. 9, 205-211, 先端医学社, 2001

**要旨：**ヒトが本来もっている組織・細胞の再生能力を利用して、失われた臓器や組織の機能を甦らせる再生医学は、これまで治療が困難であった疾患に対する有効な医療方法として注目されている。またすべての胚葉に分化可能な ES 細胞や、多くの細胞に分化可能な幹細胞研究の発展にともなって、多分化能をもつ細胞の医療応用が期待されている。本稿では ES 細胞と組織幹細胞の持つ再生医療への可能性について述べる。また、これまで特定の組織幹細胞はその組織内の決まった細胞系譜にしたがって分化すると考えられてきたが、いくつかの幹細胞が全く予想しえなかった細胞に分化することが示された。こうした幹細胞分化の可塑性が秘める医療応用への可能性についても言及したい。

26) 山縣彰、朝比奈欣治、吉里勝利：第 1 章 基礎医学/生物学研究、5 幹細胞・再生研究、34-40、フローチャートでみる先端バイオ研究の進め方、羊土社、2001

**要旨：**幹細胞は様々な分化細胞になりうる多分化能や自己複製能力など、特異な性質を持つ細胞である。そのため、幹細胞の性質を理解するために、研究者はそれぞれが個別の遺伝子やタンパク質に注目し研究してきた。しかしながら、ゲノム解析がもたらす膨大な遺伝子情報とともに、研究者は細胞を多様な分子が構成する生命システムとして捉えることが可能になった。細胞を構成するすべてのタンパク質を扱うプロテオーム解析や、同時に発現している遺伝子すべてを対象とするトランスクリプトーム解析は、生命現象を網羅的に解析するための手法である。本稿では、これらの網羅的解析法を幹細胞研究に適用する方法を 3 つ紹介する。

27) 立野（向谷）知世、吉里勝利：再生医療の現状、Japan Medicine、8 月 3 日号、7P

**要旨：**21 世紀の医療として細胞本来が持つ再生能力と最新の Tissue Engineering 技術を利用した再生医療に期待が集まっている。最近、様々な臓器の幹細胞を単離・培養することが可能となった。幹細胞は、組織や臓器の再生や創傷治癒において重要な働きをするため、再生医療にはなくてはならない存在である。このような背景から注目を集めている再生医療の現状について紹介する。

28) 日野裕史、立野（向谷）知世、吉里勝利：肝細胞生物学と再生医学のこれから、実験医学 2001 年 9 月号、1932-1937

**要旨：**多細胞生物は誕生から死に至るまで常に再生を行っている。再生は多細胞生物が生きていくために必須の課程である。生物学の領域での再生に関する知見が急速に拡がり、胚性幹細胞(ES 細胞)のヒトにおける樹立、成体の体細胞からクローン個体を作ることの成功、組織幹細胞の同定と幹細胞の分化転換の解明など、発生・再生に関する大きな転機となる研究成果が発表された。再生を医療分野に応用する動きが急速に高まり、時代の流れとも言える大きなうねりとなっている。ここでは、再生医療と関連のある研究を最近の知見を交えて説明する。

29) 立野知世、吉里勝利：再生医療一概説、発生学から再生医療へ、医学のあゆみ 199:1095-1100、2001

**要旨：**最近、再生医学という言葉とともに再生生物学という言葉が頻繁に聞かれるようになり、再生医療こそ 21 世紀の病気治療の技術といわれるようになった。再生生物学が世の中で認知されはじめたのは、純粋な学問としての再生生物学の自己の発展のみでは説明できない。再生医療の実現を願う社会がこの分野の研究の必要性を認めてきたことにあると考えられる。再生医療が夢の技術として単なるブームで終わるのか、あるいは究極の医療技術として損傷を受けた人体の一部を再生させることができるようになるのか、私達研究者に託された責任と期待は大きい。

30) 吉里勝利：再生医療の歴史と将来、治療学 No.10 2001

**要旨：**21 世紀初頭の科学技術研究分野において、再生医療は、情報科学、ナノテクノロジーなどとともに、時代を理解するキーワードの 1 つになった。筆者は、1984 年に New England Journal of Medicine 誌に発表された論文が再生医療の口火を切ったものと思う。この論文は、従来の治療法では救命不可能と考えられた大火傷の少年を、今で言う再生治療によって救命したことを報告したものである。17 年間前の論文である。再生医学および再生医療の歴史を振り返るには時期尚早と思うが、わずか 20 年足らずで現在の隆盛を迎えた驚くべき再生医学・再生治療の急成長ぶりをこの時点で記録しておくことは、この分野の今後を予想するうえでも意味のあることだと考えて、本稿の筆を執ることとした。最初にお断りしておかなければならないことは、限られた紙面で、生命化学のさまざまな要素を取り込んで成長しつつある再生医療の歴史と今後を展望することは不可能である。それでもこのような記録が意味をもつのは、再生医療の出発が皮膚の再生治療成功であったということと、筆者が「生物学的」人工皮膚にほぼ 20 年来関心をもち続けているため、再生医療の最初の成功例について「現場の情報」を少しはより多く知りうる立場にいたるためである。

2001 年の今、皮膚の再生治療のために貢献した論文を読み返してみると、現在、研究者がさまざまな臓器で成功させようとしている再生治療の原型のすべてがすでに 20 年前以上に皮膚で実施されていたことがわかる。当時はもちろん再生医療という述語と概念は一般的ではなかった。にもかかわらず、現在、再生治療の概念の基に多くの情報を取り入れながら、実施されている方法の原型をそこに見いだすことができる。このことは、科学的に正しいと考えられる道とその過程で得られた成果を正しい道で社会に役立たせようとする試みは、必然的に時代を超えた普遍的な方法論を採ることを示している。正しい意図で実施され確立された原型は普遍的なのである。社会的に広くその概念が認知されていない 1 つの新しい分野が開拓され短期間のうちに社会を巻き込み、時代を代表する分野に急成長する過程を振り返ることはその意味でも、また、今後の再生医療の行く道を予測するうえでも意味があると思う。

31) 立野知世、吉里勝利：肝臓の幹細胞、特集 獣医臨床に役立つ生物学 update、JVM 獣医畜産新報、Vol. 55、132-137、2002

**要旨：**肝臓は再生能が高い臓器であるが、肝細胞を分離し培養すると、せいぜい 1, 2 回しか分裂しないと考えられてきた。私達は、肝細胞がクローン性に増殖する培養方法を開発し、かつ肝細胞の中で増殖能が高い小型の肝細胞の集団を分離することに成功した。これらの細胞はラットの肝臓への移植実験から、*in vivo* においても高い増殖能を持つことが確認された。私達はこれらの細胞は、肝臓の幹細胞的役割をしており、再生医療に利用できないかと考えている。

32) 山縣彰、吉里勝利：プロテオーム解析技術、酵素工学ニュース、Vol.46、2001

**要旨：**プロテオームは細胞や組織に含まれるタンパク質の総称であり、プロテオーム解析とは二次元電気泳動などに代表されるタンパク質の分離と質量分析法によるタンパク質の同定を根幹としたタンパク質の網羅的解析法である。ポストゲノム時代において生命現象をタンパク質レベルで理解するための有力な手段として注目されている。

ゲノムプロジェクトによる膨大な遺伝子情報と個々のタンパク質機能等の情報を整理統合するバイオインフォマティクスは、生命現象をコンピューター上のシミュレーションによって再現することを目標としている。しかし、その実現のためにはすべてのタンパク質の機能を明らかにする必要がある。今後の課題は未知タンパク質の機能を知ることであるが、生命の本質は多数のタンパク質の相互作用であるために、個々のタンパク質の機能だけを見ることは、生命現象の完全な理解につながらない。プロテオーム解析は、細胞や組織内タンパク質を網羅的に解析し、生命現象をタンパク質の相互作用システムとして捉えることができる。本稿では、プロテオーム解析法の基礎と、タンパク質の網羅的な機能解析法の一例であるリン酸化タンパク質の解析について私達の研究成果を述べる。

33) 山縣彰、吉里勝利：プロテオーム解析法、日本血栓止血学会誌、Vol.12、306-310、2001

**要旨：**私たちはヒトゲノムプロジェクトによって、膨大な遺伝子の配列情報を手に入れることになったが、ホモロジー検索などによる遺伝子間の近似性からすべてのタンパク質の機能を推定することは難しく、いまだ 3 分の 1 のタンパク質の機能は不明とされている。今後これらのタンパク質の機能を明らかにすることが重要となる。しかし生命システムは複雑な数多くのタンパク質が相互作用をしているために個々のタンパク質の機能だけを見ることは、生命現象の

完全な理解につながらない。プロテオーム解析と呼ばれる細胞や組織内タンパク質の網羅的解析は、生命現象をタンパク質レベルで理解するための有力な方法の一つである。本稿では、プロテオーム解析法の基礎と、それによる研究の実際例を私達の研究成果を中心に述べる。

34) 朝比奈欣治、立野知世：組織肝細胞と間葉幹細胞、medicina、2002,Vol.39,No.3, 435-455

35) 細胞 The Cell ニューサイエンス社 Vol.34、No.1、2002

特集 広島県組織再生プロジェクト－産官学連携の推進－（吉里勝利編）

- ・吉里勝利：組織再生の研究開発の最近の動向－特集に寄せて－
- ・立野知世：増殖生小型肝細胞の培養と移植
- ・富田正浩：組換えヒトコラーゲン生産系の開発
- ・伊藤博 他：コラーゲンをを用いた遺伝子導入
- ・稲松睦、豊島公栄：発毛因子の探索
- ・添野吉徳：トランスジェニック人工皮膚の開発
- ・川村和男：エリスロポエチンの遺伝子治療：現状と課題
- ・山縣彰：プロテオーム解析
- ・木本真史：プロテオーム解析の疾病検査への応用
- ・戸笈修、大房健：両生類を用いた内分泌攪乱化学物質のスクリーニング法の開発
- ・郷田文吾：両生類を用いた環境評価法の開発について
- ・日野裕史：再生医療研究室

## <平成 14 年度>

36) 吉里勝利、小原政信、富田正浩、添野吉徳、豊島公栄、稲松睦：動き出した再生医療の臨床～皮膚～、分子細胞治療, 61-72, 2002.2 月号

**要旨：**皮膚はおよそ 20 年前に再生治療の端緒を開いた器官である。再生治療の花が咲こうとしている現代においても、皮膚は再生治療の技術開発の対象器官としての魅力を依然としてもちつづけている。皮膚を対象として今後の研究開発が期待されるつぎの四つの課題について、われわれの研究を中心に紹介する。①毛髪の再生、②生物学的人工皮膚を利用した皮膚形成のしくみの解明、③人工皮膚をキャリアとする遺伝子治療の可能性、④ウイルス感染のないヒト組換えコラーゲンの作製。

37) 山縣 彰、吉里勝利：活性化肝星細胞のプロテオミクス、医学のあゆみ、2002,Vol.202,No.5 347-352

**要旨：**現在、多くのバイオ関連企業が、生命現象の直接の担い手である蛋白質を網羅的に解析するプロテオミクス技術を創薬研究や病態診断へ応用することを試みている。これらの試みは、病態に移行した細胞や組織に含まれる蛋白質の構成変化の情報から、創薬ターゲットや診断マーカーの探索、または新薬候補物質のスクリーニングに応用することを目標としている。

肝臓の細胞の一種である肝星細胞の活性化は、肝硬変に伴う肝臓の線維化と深く関わっている。私たちはプロテオーム解析によって、肝星細胞の活性化に伴って発現量の変化する蛋白質のカタログ化と新規蛋白質の探索を行った。本稿では私たちの肝星細胞のプロテオーム解析の研究成果を紹介し、プロテオーム解析によって得られた情報を病態診断や創薬研究に応用する手法について概説する。

38) 山縣 彰、吉里勝利：活性化肝星細胞のプロテオーム解析、現代医学 増刊 42「プロテオミクス-方法とその病態解析への応用-」、2002.10 刊行予定

**要旨：**肝臓の細胞の一種である星細胞は、肝臓の線維化に深く関わるということが知られている。肝星細胞は障害や長期培養によって活性化すると、高い増殖能を持つ筋繊維芽様細胞に形質転換する。活性化した星細胞は、細胞外マトリクスを再構築し肝臓の線維化を進めると考えられている。本節では、この肝星細胞の活性化現象の分子機構を明らかにすることを目的に、プロテオーム解析を行った事例について紹介する。活性化星細胞と非活性化星細胞の細胞タンパク質と分泌タンパク質の二次元電気泳動像を比較することによって、活性化によって変化するスポットとそれらの質量分析による同定をおこなった。また、二次元電気泳動と脱リン酸化酵素を組

み合わせた方法で、活性化星細胞のリン酸化タンパク質の解析を試みている。

39) 立野知世、吉里勝利：5. ヒト肝細胞キメラマウス、ヒト型モデル動物（井上 達、野田哲生、野本明夫編）、2002, シュプリンガー・フェアラーク東京株式会社 (in press)

**要旨：**医薬品開発研究においては、候補化学物質が医薬品として認可されるまで10年もの年月を要すると言われている。候補化学物質に対しては、前臨床試験として薬効試験、安全性試験、薬物代謝試験などの多くの試験が行われているが、これらはマウス、ラットなどの齧歯類を用いて行われている。化学物質の多くは肝臓で代謝・解毒される。これまでの多くの実験から、齧歯類とヒトの肝臓ではこれら化学物質の代謝活性が異なることが知られている。また、肝癌という深刻な疾患をもたらすB型およびC型肝炎ウイルスは、ヒトの体内の肝細胞にしか感染しないため、このことが、ウイルス感染のメカニズム解明や治療法の開発に大きな遅れをもたらしている。

これらの問題を解決するために、近年ヒト肝細胞を持つキメラマウスの作製がいくつかの研究グループにより行われている。それらの研究内容および、私達の研究の試みを紹介する。

40) 立野知世、吉里勝利：肝幹細胞と再生医学、日本消化器病学会雑誌 Vol. 99, 2002 (in press)

**要旨：**既に、肝細胞移植による障害肝の治療効果が示されている。肝細胞移植は肝臓の再生医療として期待されている。肝細胞移植の問題点は、肝臓移植のためのドナー肝の不足と同様に、移植肝細胞の不足が挙げられる。移植肝細胞の候補としては、胎児幹細胞、肝実質細胞、肝上皮細胞、oval cell、小型肝細胞が考えられる。また、最近の幹細胞研究の進展により、他の臓器の幹細胞や、骨髄細胞やES細胞から分化させた肝細胞などの可能性も出てきた。今後、肝臓の再生医療にどの細胞が適しているかを見極める必要がある。

## 2-4. 学会発表

### <平成10年度>

**演 題：**Heterogeneity in growth and differentiation capacity of rat hepatocytes.

**発表者：**立野（向谷）知世、吉里勝利、佐藤 玄

**学会名：**'98 Experimental Biology、アメリカ、H10.4.18～4.22

**演 題：**Pleiotrophin as a new Pten mitogen for Adult Rat Hepatocytes devived from 3T3 cells.

**発表者：**佐藤 玄、吉里勝利、立野（向谷）知世

**学会名：**'98 Experimental Biology、アメリカ、H10.4.18～4.22

**演 題：**肝細胞の増殖・分化における Heterogeneity

**発表者：**立野（向谷）知世、吉里勝利、山崎ちひろ、荒谷彰男、片山 繁、

**学会名：**第1回日本組織工学会、名古屋、H10.4.26～4.27

**演 題：**肝細胞の増殖・分化における Heterogeneity

**発表者：**立野（向谷）知世、吉里勝利、山崎ちひろ、荒谷彰男、片山 繁、梶原 薫

**学会名：**第5回肝細胞研究会、つくば、H10.6.5～6.6

**演 題：**肝細胞と間質系細胞による肝の再構築

**発表者：**吉里勝利

**学会名：**第5回肝細胞研究会、つくば、H10.6.5～6.6

**演 題：**Stimnlation of Growth of Adult Rat Hepatocytes by Co-culture with 3T3 cells.

**発表者：**佐藤 玄、吉里勝利、立野（向谷）知世

**学会名：**4TH CGGH Symposium、広島、H10.6.20～6.22

**演 題** : Requirement of Liver Nonparenchymal Cells for Growth and Differentiation of Adult Rat Hepatocytis.

**発表者** : 立野 (向谷) 知世、吉里勝利、梶原 薫

**学会名** : 4TH CGGH Symposium、広島、H10.6.20~6.22

**演 題** : Enhancement of procollagen-secretion by HSP47 : Co-expression analysis with a baculovirus expression system.

**発表者** : 富田正浩、吉里勝利、永田和宏、北嶋 隆

**学会名** : 4TH CGGH Symposium、広島、H10.6.20~6.22

**演 題** : コラーゲンゲル収縮の機構解明—創収縮のしくみ解明への一つの試み—

**発表者** : 吉里勝利

**学会名** : 札幌医科大学研究発表会、札幌、H10.8.2

**演 題** : ラット毛乳頭細胞のプロテオーム解析

**発表者** : Kristensen D.B.、今村邦彦、宮本夕佳、稲松 睦、佐藤 玄、吉里勝利

**学会名** : 第49回タンパク質構造討論会、長岡、H10.9.24

**演 題** : トランスジェニックアフリカツメガエルの作製

**発表者** : 戸笈 修、柏木昭彦、西川慶子、近藤育氏、大房 健、柏木啓子、吉里勝利

**学会名** : 第69回日本動物学会、広島大学、H10.9.28

**演 題** : 増殖生肝細胞とその臨床応用への展望

**発表者** : 立野 (向谷) 知世

**学会名** : 第60回日本臨床外科学会、広島、H10.11.11

**演 題** : 体の再生力

**発表者** : 吉里勝利

**学会名** : 第60回日本臨床外科学会、広島、H10.11.12

**演 題** : 「発毛に関する遺伝子研究の現状」

**発表者** : 吉里勝利

**学会名** : '98 バイオサイエンス シンポジウム、大阪、H10.11.18

**演 題** : Expression of Genes of Collagen and Matrix Metalloproteinase in Relation to the Formation of the Basement Membrane in the Apical.

**発表者** : 吉里勝利

**学会名** : 韓国発生生物学会、韓国、H11.2.5

**演 題** : 肝細胞と増殖と分化における星細胞の役割

**発表者** : 立野 (向谷) 知世

**学会名** : MINOPHAGEN LIVER SYMPOSIUM "Hepatic Stellate Cells and Fibrosis"、東京、H11.2.20

**演 題** : Analysis on Molecules involved in the Activation of Stellate Cells.

**発表者** : 河田則文、池田一雄、金田研司、Kristensen D.B.、吉里勝利

**学会名** : MINOPHAGEN LIVER SYMPOSIUM "Hepatic Stellate Cells and Fibrosis"、東京、H11.2.20

**演 題** : The Region-Dependent Metamorphic Transformation of the Anuran Tadpole Skin.

**発表者** : 吉里勝利

**学会名** : The Frontiers of the Biology of Amphibia.The International Symposium.、広島、H11.3.24



<平成 11 年度>

演 題：肝臓と再生と再構築

発表者：吉里勝利

学会名：第 25 回日本医学研究会総会、東京、H11.4.3

演 題：細胞のプロテオーム解析

発表者：吉里勝利

学会名：ジャスコインタナショナル ライフサイエンスセミナー、大阪、H11.5.20

演 題：肝細胞増殖促進因子プレイオトロフィン

発表者：佐藤 玄、立野（向谷）知世、山崎ちひろ、片山 繁、吉里勝利

学会名：日本組織培養学会 第 72 回大会、富山、H11.5.20

演 題：Proteome research utilizing a hybrid quadrupole time of flight mass spectrometer

発表者：Kristensen D.B.、今村邦彦、宮本夕佳、吉里勝利

学会名：Electrophoresis '99、大宮、H11.5.26

演 題：増殖性肝細胞の性質

発表者：吉里勝利

学会名：秋田大学医学部分子生物学フォーラム、秋田、H11.5.27

演 題：プレイオトロフィンによる肝細胞の増殖制御

発表者：佐藤 玄、立野（向谷）知世、山崎ちひろ、片山 繁、吉里勝利

学会名：日本発生生物学会 第 32 回大会、神戸、H11.5.29

演 題：ALP(Antileukoprotease)のラット毛胞での発現

発表者：齋藤 実、松崎 貴、稲松 睦、大水総一、鍛本 仁、伊藤実和子、吉里勝利

学会名：日本発生生物学会 第 32 回大会、神戸、H11.5.29

演 題：ラット肝星細胞のプロテオーム解析

発表者：今村邦彦、宮本夕佳、Kristensen D.B.、河田則文、吉里勝利

学会名：第 6 回肝細胞研究会、東京、H11.6.4

演 題：肝実質細胞と星細胞と共培養系における肝機能を有するオルガノイドの開発

発表者：荒谷彰男、立野（向谷）知世、山崎ちひろ、吉里勝利

学会名：第 6 回肝細胞研究会、東京、H11.6.4

演 題：FACS により分取した増殖能の高い肝細胞の性質

発表者：立野（向谷）知世、山崎ちひろ、吉里勝利

学会名：第 6 回肝細胞研究会、東京、H11.6.4

演 題：間葉系細胞との肝細胞に対する増殖効果

発表者：山崎ちひろ、立野（向谷）知世、佐藤 玄、吉里勝利

学会名：第 6 回肝細胞研究会、東京、H11.6.5

演 題：I L - 2 と III 型コラーゲンのキメラ分子の作製

発表者：富田正浩、林 昌弘、吉里勝利

学会名：第 46 回マトリックス研究会大会、名古屋、H11.6.9

演 題：細胞増殖活性を持ったコラーゲン分子の創出

発表者：林 昌弘、富田正浩、小原政信、吉里勝利

学会名：第 46 回マトリックス研究会大会、名古屋、H11.6.9

**演 題**：肝細胞/星細胞の混合培養系とその臨床応用への展望  
**発表者**：立野（向谷）知世、山崎ちひろ、佐藤 玄、荒谷彰男、吉里勝利  
**学会名**：第 17 回肝移植研究会 第 25 回日本急性肝不全研究会合同学術集会、東京、H11.6.22

**演 題**：肝細胞の増殖における星細胞の役割  
**発表者**：立野（向谷）知世、山崎ちひろ、吉里勝利  
**学会名**：第 2 回日本組織工学会、東京、H11.6.25

**演 題**：肝実質細胞と星細胞と共培養系における肝機能を有するオルガノイドの開発  
**発表者**：荒谷彰男  
**学会名**：第 2 回日本組織工学会、東京、H11.6.25

**演 題**：A highly proliferative population of mammalian hepatocytes.  
**発表者**：吉里勝利  
**学会名**：日伊セミナーThe 7th Japan-Italy Joint Seminar、広島、H11.6.29

**演 題**：ヒト肝細胞の増殖培養方法-ハイブリッド型人工肝臓への応用に向けての基礎的研究-  
**発表者**：日野裕史、立野（向谷）知世、佐藤 玄、片山 繁、浅原利正、土肥雪彦、吉里勝利  
**学会名**：第 17 回肝移植研究会 第 25 回日本急性肝不全研究会合同学術集会、東京、H11.7.1

**演 題**：Mechanism of conversion of larval epidermal cells to adult once during anuran metamorphosis.  
**発表者**：吉里勝利  
**学会名**：Gordon Research Conference、アメリカ、H11.7.15

**演 題**：Expression of thyroid hormone receptor  $\beta$  A gene determined using transgenic xenopus laevis tadpoles carrying its 5'-flanking sequence.  
**発表者**：大房 健、吉里勝利、渡辺裕介、柏木昭彦、柏木啓子、近藤育志（広大理）、戸笈 修、平津紫乃  
**学会名**：Gordon Research Conference、アメリカ、H11.7.15

**演 題**：増殖性二能性肝細胞の分離とその性質  
**発表者**：吉里勝利  
**学会名**：京都大学医学部講演、京都、H11.7.27

**演 題**：ラット表皮の発生及び分化にともない発現する新規遺伝子、Kdap について  
**発表者**：大水総一、稲松 睦、松崎 貴、朝比奈欣治、F. Sahuc、小原政信、吉里勝利、佐々木正和  
**学会名**：日本研究皮膚科学会 第 24 回学術大会、神戸、H11.7.30

**演 題**：ALP のラット毛包組織における発現について  
**発表者**：齋藤 実、松崎 貴、稲松 睦、大水総一、吉里勝利  
**学会名**：日本研究皮膚科学会 第 24 回学術大会、神戸、H11.7.30

**演 題**：ヒト肝細胞の分化増殖培養研究の人工臓器細胞移植の応用  
**発表者**：日野裕史、小橋俊勝、片山 繁、浅原利正、土肥雪彦、立野（向谷）知世、佐藤 玄、吉里勝利  
**学会名**：第 35 回日本移植学会総会、筑波、H11.9.2

**演 題**：オタマジャクシはなぜカエルになるのか  
**発表者**：吉里勝利  
**学会名**：日本遺伝子学会 第 71 回大会 一般公開市民講演会、東広島、H11.9.28

**演 題**：トランスジェニックアフリカツメガエルを用いた甲状腺ホルモンレセプター  $\beta$  AI 遺伝子の発現解析

**発表者**：大房 健、戸笈 修、柏木昭彦、柏木啓子、近藤育志、平津紫乃、渡辺裕介、吉里勝利

**学会名**：日本動物学会 70 回大会、山形、H11.9.29

**演 題**：アフリカツメガエルに導入されたメタロチオネインプロモータの亜鉛に対する回答

**発表者**：戸笈 修、大房 健、平津紫乃、兼田啓史、柏木昭彦、近藤育志、柏木啓子、小原政信、吉里勝利

**学会名**：日本動物学会 70 回大会、山形、H11.9.29

**演 題**：トランスジェニックツチガエルの作成

**発表者**：柏木昭彦、近藤育志、柏木啓子、花田秀樹、戸笈 修、大房 健、吉里勝利

**学会名**：日本動物学会 70 回大会、山形、H11.9.29

**演 題**：増殖性肝細胞の分離とその性質

**発表者**：吉里勝利

**学会名**：日本癌学会第 58 回総会、広島、H11.10.1

**演 題**：成体由来の高増殖性肝細胞の性質

**発表者**：吉里勝利

**学会名**：第 3 回肝臓分子生物学研究会、京都、H11.10.23

**演 題**：プロジェクトのパネルによる紹介

**発表者**：三宅哲雄、立野（向谷）知世、稲松 睦、添野吉徳、富田正浩、戸笈 修、Kristensen D.B.、吉里勝利

**学会名**：国際新技術フェア '99、東京、H11.10.27

**演 題**：ヒトパピラ細胞の継代培養と毛包誘導能の検討

**発表者**：豊島公栄、佐々木良枝、稲松 睦、大水総一、吉里勝利

**学会名**：第 7 回毛髪科学研究会、山形、H11.11.6

**演 題**：毛包誘導能の評価法の開発

**発表者**：稲松 睦、大水総一、吉里勝利

**学会名**：第 7 回毛髪科学研究会、山形、H11.11.6

**演 題**：ラット頬髯を免疫原として得られたモノクローナル抗体 K1310 の抗原同定

**発表者**：鎌本 仁、岩成宏子、大浦 一、稲松 睦、松崎 貴、Kristensen D.B.、荒瀬誠治、吉里勝利

**学会名**：第 7 回毛髪科学研究会、山形、H11.11.6

**演 題**：増殖能と分化能を持つ成体ラット肝細胞培養と肝オルガノイドとしての応用

**発表者**：立野（向谷）知世、荒谷彰男、山崎ちひろ、佐藤 玄、吉里勝利

**学会名**：4TH International conference on cellular engineering、奈良、H11.12.1~3

**演 題**：トランスジェニックカエルによる内分泌攪乱物質の検出

**発表者**：吉里勝利

**学会名**：第 2 回内分泌攪乱化学物質問題に関する国際シンポジウム、神戸、H11.12.10

**演 題**：星細胞のプロテオーム解析

**発表者**：河田則文、黒木哲夫、Kristensen D.B.、吉里勝利

**学会名**：第 13 回 肝類洞壁細胞研究会、山口、H11.12.17

**演 題**：増殖性肝細胞の医療技術への応用

**発表者**：吉里勝利

**学会名**：第 29 回神奈川肝談話会、横浜、H12.1.29

**演 題**：幹細胞の生物学と医学

**発表者**：吉里勝利

**学会名**：J S T異分野研究者交流フォーラム、大磯、H12.2.11～2.14

**演 題**：ラット肝臓に存在する増殖能の高い小型の肝細胞集団

**発表者**：立野（向谷）知世、片山 繁、山崎ちひろ、吉里勝利

**学会名**：J S T異分野研究者交流フォーラム「幹細胞の生物学と医学」、大磯、H12.2.11～2.14

**演 題**：再生医療の現状と将来展望

**発表者**：吉里勝利

**学会名**：広島市先端科学技術フォーラム、広島、H12.2.29

**演 題**：生命の再構築

**発表者**：吉里勝利

**学会名**：さいえんすセミナー、東京、H12.3.3

**演 題**：増殖性肝細胞による肝臓の自己修復能

**発表者**：吉里勝利

**学会名**：日本化学会第 78 春季年会、東京、H12.3.28

**演 題**：再生医学に対する広島での取り組み—皮膚と肝臓の再生

**発表者**：吉里勝利

**学会名**：広島大学原爆放射能医学研究所シンポジウム、広島、H12.3.30

**演 題**：回転培養装置による動物細胞三次元高密度培養の検討

**発表者**：青田とも子、石川陽一、佐藤尚子、佐藤岳哉、佐藤 充、三浦光隆、小嶋直介、今井克幸、妹尾春樹、立野（向谷）知世、吉里勝利

**学会名**：第 105 回日本解剖学会総会 全国学術会議、秋田、H12.3.30～3.31

**演 題**：肝臓星細胞の回転培養装置による三次元培養

**発表者**：佐藤尚子、石川陽一、佐藤尚子、佐藤岳哉、佐藤 充、三浦光隆、小嶋直介、今井克幸、妹尾春樹、立野（向谷）知世、吉里勝利、赤池敏宏、畑隆一郎

**学会名**：第 105 回日本解剖学会総会 全国学術会議、秋田、H12.3.30～3.31

## <平成 12 年度>

**演 題**：A highly proliferative population of mammalian hepatocytes in vitro and in vivo as a source of liver stem-like cells.

**発表者**：吉里勝利

**学会名**：Experimental Biology,2000、カリフォルニア、H12.4.15

**演 題**：ヒトパピラ細胞の継代培養と毛包誘導能の検討

**発表者**：豊島公栄、佐々木良枝、佐藤明男、稲松 睦、大水総一、吉里勝利

**学会名**：細胞療法研究会、京都、H12.4.27～4.28

**演 題**：糖尿病治療のためのインスリン分泌性人工皮膚の開発

**発表者**：添野吉徳、日野里香、平山志津子、三宅哲雄、吉里勝利

**学会名**：細胞療法研究会、京都、H12.4.27～4.28

**演 題**：Production of chimeric proteins composed of growth factors and collagone by genetic engineering technologies.

**発表者**：富田正浩、林 昌弘、吉里勝利

**学会名**：The Sixth World Biomaterials Congress、ハワイ、H12.5.18

**演 題**：細胞増殖活性を持ったコラーゲン分子の創出

**発表者**：林 昌弘、富田正浩、吉里勝利

**学会名**：第47回マトリックス研究会大会、東京、H12.5.23

**演 題**：ラット肝細胞移植による in vivo における増殖能の Heterogeneity の評価に関する研究

**発表者**：片山 繁、立野（向谷）知世、吉里勝利

**学会名**：第36回日本肝臓学会総会、福岡、H12.6.9

**演 題**：FACS により分取した増殖能の高い肝細胞の性質および in vivo における存在場所について

**発表者**：立野（向谷）知世、山崎ちひろ、片山 繁、吉里勝利

**学会名**：第7回肝細胞研究会、岡山、H12.6.23～6.24

**演 題**：D-ガラクトサミン投与ラット肝臓におけるヘパリン結合性増殖因子 pleiotrophin の発現様式

**発表者**：朝比奈欣治、佐藤 玄、立野（向谷）知世、吉里勝利

**学会名**：第7回肝細胞研究会、岡山、H12.6.23～6.24

**演 題**：肝細胞移植によるラット肝細胞の in vivo における増殖能の Heterogeneity に関する研究

**発表者**：片山 繁、立野（向谷）知世、浅原利正、吉里勝利

**学会名**：第7回肝細胞研究会、岡山、H12.6.23～6.24

**演 題**：継代培養可能なヒト肝細胞培養法の開発および培養ヒト肝細胞の性質について

**発表者**：山崎ちひろ、立野（向谷）知世、片山 繁、小橋俊彦、吉里勝利

**学会名**：第7回肝細胞研究会、岡山、H12.6.23～6.24

**演 題**：ラット小型肝細胞の in vivo および in vitro における増殖能について

**発表者**：立野（向谷）知世、浅原利正、片山 繁、吉里勝利、山崎ちひろ

**学会名**：第3回日本組織工学会、広島、H12.6.30

**演 題**：傷害肝におけるプレイオトロフィンの発現

**発表者**：佐藤 玄、立野（向谷）知世、朝比奈欣治、吉里勝利、山崎ちひろ

**学会名**：第3回日本組織工学会、広島、H12.6.30

**演 題**：肝実質細胞と星細胞と共培養系における肝機能を有する オルガノイドの開発～新しい培養装置の検討～

**発表者**：荒谷彰男、立野（向谷）知世、吉里勝利

**学会名**：第3回日本組織工学会、広島、H12.6.30

**演 題**：細胞増殖活性を持ったコラーゲン分子の創出

**発表者**：林 昌弘、富田正浩、吉里勝利

**学会名**：第3回日本組織工学会、広島、H12.6.30

**演 題**：レトロウイルスベクターを用いたインスリン分泌性人工皮膚の開発

**発表者**：日野里香、添野吉徳、平山志津子、三宅哲雄、吉里勝利

**学会名**：第3回日本組織工学会、広島、H12.6.30

**演 題**：Heterogeneity of growth potential of adult rat hepatocytes

**発表者**：立野（向谷）知世、山崎ちひろ、片山 繁、吉里勝利

**学会名**：FASEB Summer Research Conferences 2000、アメリカ、H12.7.30～8.03

**演 題** : Molecular profiling of stellate cell activation.  
**発表者** : N.Kawada, T.Mishima, S.Seki, K.Ikeda, K.Kaneda, Kristensen D.B., K.Yoshizato  
**学会名** : Proceed of the Tenth International Symposium on Cells of the Hepatic Sinusoid、イギリス、H12.9.03~9.07

**演 題** : Proteome Analysis Its Application In The Study Of Hepatic Stellate Cell Activation.  
**発表者** : Kristensen D.B., Y.Miyamoto, N.Kawada, K.Yoshizato  
**学会名** : Proceed of the Tenth International Symposium on Cells of the Hepatic Sinusoid、イギリス、H12.9.03~9.07

**演 題** : Characterization of developing hair follicle induced by cultured dermal papilla cells. 培養パピラ細胞によって誘導された毛包構造の性質について  
**発表者** : 遠藤哲也、大水総一、稲松 睦、吉里勝利  
**学会名** : Annual Meeting of the European Hair Research Society、ドイツ、H12.9.15~9.17

**演 題** : 毛髪誘導能を保持したヒトパピラ細胞の連続培養 Serial cultivation of human dermal papilla cells retaining the hair-inducing ability.  
**発表者** : 豊島公栄、稲松 睦、吉里勝利  
**学会名** : Annual Meeting of the European Hair Research Society、ドイツ、H12.9.15~9.17

**演 題** : トランスジェニックアフリカツメガエルに導入されたメタロチオネインプロモータの重金属イオンに対する応答  
**発表者** : 戸笈 修、柏木昭彦、小原政信、近藤育志、柏木啓子、吉里勝利、平津紫乃、藤井貴明  
**学会名** : 第 71 回日本動物学会、東京、H12.9.21

**演 題** : トランスジェニックアフリカツメガエルの環境水に対する応答  
**発表者** : 平津紫乃、戸笈修、柏木昭彦、近藤育志、柏木啓子、藤井貴章、小原政信、吉里勝利  
**学会名** : 第 71 回日本動物学会、東京、H12.9.21

**演 題** : *Xenopus Tropicalis* の発生段階表の作成  
**発表者** : 中島明子、奥本 均、戸笈修、平津志乃、柏木昭彦、近藤育志、吉里勝利、柏木啓子  
**学会名** : 第 71 回日本動物学会、東京、H12.9.22

**演 題** : 広島県組織再生プロジェクトについて  
**発表者** : 三宅哲雄  
**学会名** : 日本バイオマテリアル学会 2000、横浜、H12.11.8

**演 題** : 培養パピラ細胞によって誘導された毛包構造の性質について  
**発表者** : 遠藤哲也、大水総一、稲松 睦、吉里勝利  
**学会名** : 第 8 回毛髪科学研究会、徳島、H12.11.18

**演 題** : 肝幹細胞の探索—FACS による分離と移植—  
**発表者** : 立野 (向谷) 知世  
**学会名** : 第 9 回秋田大学肝臓フォーラム、秋田、H12.11.22

**演 題** : トランスジェニックカエルを用いた甲状腺ホルモン様物質検出法の開発  
**発表者** : 戸笈 修、大房 健、柏木昭彦、近藤育氏、柏木啓子、平津柴乃、吉里勝利  
**学会名** : 第 3 回環境ホルモン学会研究発表会、横浜、H12.12.15

#### <平成 13 年度>

**演 題** : Characterization of a highly proliferative population of adult hepatocytes and its use for tissue

engineering.

発表者：吉里勝利

学会名：第101回日本外科学会総会、宮城、H13.4.11

演題：肝細胞移植による in vivo におけるラット肝細胞の増殖能の Heterogeneity の評価に関する研究

発表者：片山 繁、立野（向谷）知世、浅原利正、吉里勝利

学会名：第101回日本外科学会総会、宮城、H13.4.12

演題：In vivo における成体ラット肝細胞の直径の違いによる増殖能の検討

発表者：片山 繁、立野（向谷）知世、浅原利正、吉里勝利

学会名：肝移植研究会、横浜、H13.5.16

演題：増殖生肝細胞の移植

発表者：吉里勝利

学会名：第19回日本肝移植研究会、横浜、H13.5.16

演題：ラット肝小型細胞と肝前駆細胞のフェノタイプに関する研究

発表者：片山 繁、立野（向谷）知世、浅原利正、吉里勝利

学会名：日本肝臓学会総会、横浜、H13.5.17

演題：リン酸化蛋白質の網羅的解析法

発表者：山縣 彰、宮本夕佳、Kristensen D.B.、吉里勝利

学会名：第51回日本電気泳動学会春季大会、東京、H13.6.7～6.9

演題：毛包の分化過程における上皮-間充組織相互作用について

発表者：稲松 睦、大水総一、鍛本 仁、遠藤哲也、豊島公栄、吉里勝利

学会名：Third Intercontinental Meeting of Hair Research Societies、東京、H13.6.13～6.15

演題：培養ラットパピラ細胞による毛棒誘導

発表者：豊島公栄、鍛本 仁、末吉洋三、稲松 睦、吉里勝利

学会名：Third Intercontinental Meeting of Hair Research Societies、東京、H13.6.13～6.15

演題：培養人工皮膚における毛包発生

発表者：山尾美香留、稲松 睦、大水総一、吉里勝利

学会名：Third Intercontinental Meeting of Hair Research Societies、東京、H13.6.13～6.15

演題：新しい蛋白質 STAP の星細胞における発現とその機能解析

発表者：河田則文、Kristensen D.B.、朝比奈欣治、吉里勝利

学会名：第8回肝細胞研究会、東京、H13.6.30

演題：ラット小型肝細胞特異的に発現する遺伝子のクローニング

発表者：朝比奈欣治、塩川美穂、立野（向谷）知世、片山 繁、山崎ちひろ、荒谷彰男、大西千元、吉里勝利

学会名：第8回肝細胞研究会、シンポジウム、東京、H13.6.30

演題：ヒト肝細胞を有するキメラマウス作出に関する研究

発表者：立野（向谷）知世、吉実康美、齋藤直美、古川敏紀、吉里勝利

学会名：第8回肝細胞研究会、東京、H13.6.30

演題：増殖生肝細胞の性質とその組織工学的応用

発表者：立野（向谷）知世、片山 繁、山崎ちひろ、吉里勝利

学会名：第4回日本組織工学会、神奈川、H13.7.6

**演 題**：肝臓の再生医療を目的とした正常ヒト肝細胞の増殖培養法の開発  
**発表者**：日野裕史、片山 繁、小橋俊彦、天野尋暢、江本健太郎、立野（向谷）知世、荒谷彰男、山崎ちひろ、吉里勝利、浅原利正  
**学会名**：第 56 回日本消化器外科学会総会、秋田、H13.7.26

**演 題**：Proteins involved in the interaction between somatic nuclei and egg cytoplasm  
**発表者**：Yamagata A., Oofusa T., Yosizato K.  
**学会名**：14th International Congress of Developmental Biolog、京都、H13.7.8～7.12

**演 題**：An enzymatic approach for the mapping of phosphoproteins resolved on two-dimensional polyacrylamide gels  
**発表者**：Yamagata A., Kristensen DB. & Yoshizato K.  
**学会名**：7th International Congress on Amino Acids and Proteins、オーストリア、H13.8.4

**演 題**：活性化肝星細胞のプロテオーム分析  
**発表者**：吉里勝利  
**学会名**：木原生物学研究所セミナー、東京、H13.8.08

**演 題**：Proteome Analysis of Activated Hepatic Stellate Cell  
**発表者**：吉里勝利  
**学会名**：韓国プロテオミックス学会、韓国、H13.8.24～8.25

**演 題**：ラットおよびヒト増殖性小型肝細胞の性質  
**発表者**：立野（向谷）知世、吉里勝利  
**学会名**：第 74 回日本生化学会、京都、H13.8.25

**演 題**：増殖性肝細胞の性質  
**発表者**：吉里勝利  
**学会名**：Cell Biology of the Liver、東京、H13.8.25

**演 題**：毛嚢の再生のしくみ  
**発表者**：吉里勝利  
**学会名**：日本組織培養学会第 74 回大会、第 15 回日本動物代替法学会合同学術大会、つくば、H13.8.30～9.1

**演 題**：表皮肝細胞の細胞系譜  
**発表者**：吉里勝利  
**学会名**：日本皮膚科学会 第 109 回広島地方会 秀 道広教授就任記念、広島、H13.9.9

**演 題**：再生工学の基礎と将来の展望  
**発表者**：吉里勝利  
**学会名**：第 35 回香川臨床内分泌研究会、香川、H13.9.21

**演 題**：A comprehensive proteome analysis of cellular phosphorylated proteins  
**発表者**：吉里勝利  
**学会名**：International Proteomics Conference 2001 2nd Pacific Rim Meeting、オーストラリア、H13.9.30～10.03

**演 題**：アフリカツメガエルでは導入遺伝子が次世代に受け継がれる  
**発表者**：柏木昭彦、中島明子、戸笈 修、柏木啓子、藤井貴章、近藤泰征、大房 健、吉里勝利  
**学会名**：第 72 回日本動物学会、福岡、H13.10.6



**演 題** : cDNA cloning of silkworm prolyl 4-hydroxylase  $\alpha$  submit  
**発表者** : 安達敬泰、富田正浩、吉里勝利  
**学会名** : 日本動物学会第 72 回大会、福岡、H13.10.6~10.8

**演 題** : 再生生物学から再生医学へ From Regenerative Biology to Regenerative Medicine  
**発表者** : 立野 (向谷) 知世 (口頭発表、ポスター発表)、富田正浩 (ポスター発表)  
**学会名** : 「地域から発信する科学技術」シンポジウム、東京、H13.10.12

**演 題** : 両生類の形づくり  
**発表者** : 吉里勝利  
**学会名** : 第 17 回ライフサイエンスセミナー「生命の形づくり」、西宮、H13.10.12

**演 題** : Proteomics in hepatic fibrosis 肝繊維化のプロテオミックス  
**発表者** : Kawada.N., Kristensen.D.B, Asahina. K., Yoshizato. K.  
**学会名** : Liver fibrosis :From cell biology to clinical targets、イタリア、H13.10.12~10.13

**演 題** : 四肢の再生、奇形 —哺乳類の肢の再生は可能か— 組織再生研究の現状と将来  
**発表者** : 吉里勝利  
**学会名** : 第 16 回日本整形外科学会基礎学術集会、広島、H13.10.18~10.19

**演 題** : シンポジウム講演 : 「組織再生研究の現状と将来」  
**発表者** : 吉里勝利  
**学会名** :

**演 題** : ラットおよびヒト増殖性小型肝細胞の性質  
**発表者** : 立野 (向谷) 知世、吉里勝利  
**学会名** : 第 74 回日本生化学大会、京都、H13.10.25

**演 題** : 肝細胞の増殖能と分化能  
**発表者** : 吉里勝利  
**学会名** : 第 39 回日本癌治療学会、広島、H13.11.8

**演 題** : Isolation of A stellate cell Activation - Associated Protein(STAP) with peroxidase Activity from Rat Hepatic Stellate cells.  
**発表者** : 河田則文、Kristensen D.B.、朝比奈欣治、中谷和樹、南山ゆきこ、関 秀一、吉里勝利  
**学会名** : 52nd Annual Meeting for American Association for the study of liver Disease (AASLD)、アメリカ、H13.11.9~11.13

**演 題** : Growth and Differentiation Potential of Hepatocyte Progenitor-like Cells of Rats and Humans  
**発表者** : 吉里勝利  
**学会名** : アジア学術セミナー、名古屋、H13.11.10

**演 題** : 再生医療の現状と展望  
**発表者** : 吉里勝利  
**学会名** : 第 17 回中国地区臨床検査大会、広島、H13.11.11

**演 題** : 新しい蛋白質 STAP のラットおよびヒト肝細胞における発現とその機能解析  
Functional analysis of a novel protein 'STAP' expressed in rat liver.  
**発表者** : 河田則文、Kristensen D. B.、朝比奈欣治、吉里勝利  
**学会名** : 第 24 回日本分子生物学会年会、横浜、H13.12.9~12.12

**演 題：**コラーゲンとインターロイキン 2 からなるキメラタンパク質の作製、Production of Interleukin-2-collagen chimeric protein

**発表者：**富田正浩、佐藤 勉、安達敬泰、宗綱洋人、田村俊樹、神田俊男、吉里勝利

**学会名：**第 24 回日本分子生物学会年会、横浜、H13.12.12

**演 題：**遺伝子銃を用いたカイコ絹糸腺におけるヒトコラーゲン遺伝子の発現、Expression of human collagen genes in B. mori silk glands using gene gun

**発表者：**佐藤 勉、富田正浩、安達敬泰、宗綱洋人、吉里勝利

**学会名：**第 24 回日本分子生物学会年会、横浜、H13.12.12

**演 題：**ヒトコラーゲン遺伝子を組み込んだトランスジェニックカイコの作出、Production of transgenic silkworms bearing human collagen gene

**発表者：**林 昌弘、富田正浩、吉里勝利

**学会名：**第 24 回日本分子生物学会年会、横浜、H13.12.12

**演 題：**肝臓の再生と発生におけるプレイトロフィンの役割

**発表者：**朝比奈欣治、佐藤 玄、山崎ちひろ、片岡美穂、塩川美穂、立野（向谷）知世、吉里勝利

**学会名：**第 15 回肝類洞壁細胞研究会、埼玉、H13.12.15

**演 題：**トランスジェニックカエルの次世代を用いた化学物質のスクリーニング法の開発

**発表者：**戸笈 修、大房 健、藤井貴章、柏木昭彦、中島明子、柏木啓子、近藤泰征、野坂俊樹、吉里勝利

**学会名：**第 4 回環境ホルモン学会研究発表会、筑波、H13.12.16

**演 題：**肝臓の再生・修復の制御とそれにかかわる線溶系因子、Urokinase Plasminogen Activator トランスジェニックマウスを用いたヒト肝細胞置換キメラマウスの作製

**発表者：**立野（向谷）知世、朝比奈欣治、吉実康美、齋藤直美、古川敏紀、吉里勝利

**学会名：**第 79 回日本生理学会大会、シンポジウム、広島、H14.3.28~3.30

**演 題：***hTERT* 導入による培養ヒト肝細胞および非実質細胞の延命化と肝不全治療への応用

**発表者：**高石英樹、田原栄俊、立野（向谷）知世、吉里勝利、井出利憲、茶山一彰

**学会名：**第 4 回 Liver forum in kyoto, 京都、H14. 3. 30

## <平成 14 年度>

**演 題：**トランスジェニックカイコによる組み換えヒトコラーゲン生産系開発の試み

**発表者：**富田正浩、佐藤 勉、安達敬泰、宗綱洋人、日野里香、林 昌弘、吉里勝利

**学会名：**第 49 回マトリックス研究会大会、静岡、H14.4.5

**演 題：**ヒト肝細胞の増殖法とその利用

**発表者：**立野（向谷）知世、吉里勝利

**学会名：**日本再生医療学会、京都、H14.4.18

**演 題：**バンク化に向けたヒト肝細胞の採取、保存

**発表者：**江本健太郎、日野祐史、今岡泰博、天野尋暢、高石英樹、山崎ちひろ、荒谷彰男、立野（向谷）知世、浅原利正、吉里勝利

**学会名：**日本再生医療学会(第 1 回)、京都、H14.4.18~4.19

**演 題：**ヒト肝細胞の増殖能に関する研究-Growth Potential of Human Hepatocytes.

**発表者：**吉里勝利

**学会名：**放射能影響研究所講演、広島、H14.5.9

**演 題**：テロメラーゼ逆転写酵素(hTERT)遺伝子導入培養ヒトパピラ細胞の発毛能に関する研究

**発表者**：山尾美香留、豊島公栄、楯本 仁、稲松 睦、田原栄俊、井出利憲、吉里勝利

**学会名**：第 10 回毛髪科学研究会、新潟、H14.5.11

**演 題**：ヒト肝細胞およびヒトパピラ細胞の延命化とその性質

**発表者**：吉里勝利

**学会名**：日本基礎老化学会第 25 回大会、筑波、H14.5.17

**演 題**：両生類成体表皮細胞の細胞系譜と表皮細胞誘導誘導因子

**発表者**：吉里勝利

**学会名**：第 35 回日本発生生物学会、横浜、H14.5.23

**演 題**：動物の変態現象の仕組み

**発表者**：吉里勝利、Yun-Bo Shi、桜井 勝、早川洋一、矢尾板芳郎

**学会名**：第 55 回日本細胞生物学会大会、横浜、H14.5.23

**演 題**：ヒト肝細胞の凍結保存および融解後の機能について

**発表者**：立野（向谷）知世、荒谷彰男、宮川 功、守屋宏毅、浅原利正、吉里勝利

**学会名**：第 9 回 HAB 協議会学術年会・第 9 回日本臓器保存生物医学学会総会合同大会、東京、H14.5.24

**演 題**：広島県における産学官連携事業-地域結集型共同研究事業の活動報告-

**発表者**：吉里勝利

**学会名**：産学官コラボレーションサミット、岡山、H14.6.1

**演 題**：皮膚科領域における再生医学

**発表者**：吉里勝利

**学会名**：第 101 回日本皮膚科学会総会、熊本、H14.6.7

**演 題**：増殖性ヒト肝細胞移植による肝臓の再構築

**発表者**：吉里勝利

**学会名**：第 28 回日本急性肝不全研究会、大阪、H14.6.12

**演 題**：培養下で増殖させた肝細胞の脾臓内移植による急性肝不全ラットの救命

**発表者**：天野尋暢、江本健太郎、日野裕史、立野（向谷）知世、浅原利正、吉里勝利

**学会名**：第 38 回日本肝臓病学会総会、大阪、H14.6.13~6.14

**演 題**：hHERT gene 導入による培養ヒト肝細胞及び星細胞の延命化と再生医療への応用

**発表者**：高石英樹、立野（向谷）知世、吉里勝利

**学会名**：第 38 回日本肝臓学会総会、大阪、H14.6.13~6.14

**演 題**：ラット線維化肝における肝細胞の増殖能に関する検討

**発表者**：小橋敏彦、小原政信、立野（向谷）知世、片山 繁、日野裕史、板本敏行、浅原利正、吉里勝利

**学会名**：第 38 回日本肝臓学会総会、大阪、H14.6.13~6.14

**演 題**：人工肝臓の開発・組み換えヒトコラーゲン生産系の開発

**発表者**：三宅哲雄、林 昌弘、佐藤 勉

**学会名**：第 1 回医学官連携推進会議、京都、H14.6.15

**演 題**：広島県組織再生プロジェクトの紹介（肝臓・コラーゲン）

**発表者**：林 昌弘

**学会名**：第 1 回産学官連携推進会議、京都、H14.6.16

**演 題**：培養毛乳頭細胞による毛包の誘導

**発表者**：吉里勝利

**学会名**：第8回 日本・アジア臨床毛髪外科学会、大阪、H14.6.23

**演 題**：キメラマウスの作製と生化学的、病理組織学的特徴について

**発表者**：立野（向谷）知世

**学会名**：キメラマウスの創薬研究への利用、東京、H14.6.27

**演 題**：Hair-inducing ability of cultured dermal papilla cells、培養パピラ細胞の毛髪誘導能

**発表者**：豊島公栄、稲松 睦、鎌本 仁、山尾美香留、吉里勝利

**学会名**：European Hair Research Society-9th meeting、ベルギー、H14.6.27～6.29

**演 題**：Epidermal-dermal interaction required for inducing the dermal condensation during hair follicle development、毛包分化過程における真皮集塊形成に必要な上皮-間充織相互作用

**発表者**：稲松 睦、真壁 綾、豊島公栄、吉里勝利

**学会名**：European Hair Research Society-9th meeting、ベルギー、H14.6.27～6.29

**演 題**：ラット増殖性小型肝細胞に発現する遺伝子の解析

**発表者**：塩川美穂、朝比奈欣治、立野（向谷）知世、山崎ちひろ、荒谷彰男、大西千元、吉実康美、吉里勝利

**学会名**：第9回 肝細胞研究会、秋田、H14.7.12～7.13

**演 題**：ヒト肝細胞をもつキメラマウスから分離した肝細胞に発現するヒト型 P450 の解析及びヒト肝細胞の純化

**発表者**：片岡美穂、立野(向谷)知世、山崎ちひろ、齋藤直美、吉実康美、河野弘美、吉里勝利

**学会名**：第9回 肝細胞研究会、秋田、H14.7.12～7.13

**演 題**：ヒト肝細胞の凍結保存と融解後の肝機能評価

**発表者**：荒谷彰男、立野（向谷）知世、宮川 功、守屋宏毅、浅原利正、吉里勝利

**学会名**：第9回 肝細胞研究会、秋田、H14.7.12～7.13

**演 題**：ヒト増殖性肝細胞を特異的に認識するモノクローナル抗体の作製

**発表者**：山崎ちひろ、立野（向谷）知世、林 昌弘、大西千元、吉里勝利

**学会名**：第9回 肝細胞研究会、秋田、H14.7.12～7.13

**演 題**：マウスを媒体としたヒト肝細胞増殖法の開発及びその機能解析

**発表者**：立野（向谷）知世、朝比奈欣治、片岡美穂、吉実康美、齋藤直美、浅原利正、日野裕史、古川敏紀、吉里勝利

**学会名**：第9回 肝細胞研究会、秋田、H14.7.12～7.13

**演 題**：Transgenic frogs and proteome analyses are potent methods to detect environmental endocrine disruptors.

**発表者**：大房 健、戸笈 修、柏木昭彦、藤井貴明、内藤由紀、山藤憲明、吉里勝利

**学会名**：Gordon research conference on environmental endocrine disruptors.、アメリカ、H14.7.14

**演 題**：肝臓と毛包の再生

**発表者**：吉里勝利

**学会名**：日本生化学会中国・四国支部例会シンポジウム、広島、H14.7.19

**演 題**：線維化肝における肝細胞の増殖能に関する検討

**発表者**：小橋俊彦、小原政信、立野（向谷）知世、片山 繁、日野裕史、板本敏行、浅原利正、吉里勝利

**学会名**：第57回日本消化器外科学会総会、秋田、H14.7.26

演 題：ヒト肝細胞を使用したハイブリッド型人工肝臓の開発-ヒト肝細胞の臨床応用-  
 発表者：日野裕史  
 学会名：第 57 回日本消化器外科学会、京都、H14.7.28～7.30

演 題：Production of human collagen in silkworms.  
 発表者：富田正浩  
 学会名：2002 昆虫産業創出ワークショップ、東京、H14.8.8

演 題：再生医療-あなたの細胞から臓器が作られる- ” 眼・血管・神経・心筋・肝臓・膵臓・骨・皮膚が再生治療に”  
 発表者：吉里勝利  
 学会名：医学検査学会、呉、H14.9.1

演 題：Generation of transgenic silkworms producing recombinant human mini-collagen.  
 発表者：富田正浩  
 学会名：First International Workshop of Lipidopteran Genomics、つくば、H14.10.2

演 題：キメラマウスで増殖させたヒト肝細胞の性質に関する研究  
 発表者：吉里勝利  
 学会名：薬物動態談話会、浜松、H14.10.3

演 題：広島大学を中心とした再生医療.プロテオームのトランスレーショナル・リサーチ  
 発表者：吉里勝利  
 学会名：HS 財団勉強会、東京、H14.10.10

演 題：細胞移植による臓器再生を目指して  
 発表者：吉里勝利  
 学会名：創薬等ヒューマンサイエンス総合研究 平成 14 年度 成果発表会、東京、H14.10.17

演 題：ヒト肝臓を有するキメラマウスにおける薬物代謝酵素及びトランスポーターの発現解析  
 発表者：上田信彦、西村益浩、内藤真策、堀江 透、立野(向谷)知世、片岡美穂、吉里勝利  
 学会名：第 17 回日本薬物動態学会、東京、H14.11.20～11.22

演 題：再生医療研究の展望-肝臓と毛包の再生-  
 発表者：吉里勝利  
 学会名：第 3 回生体組織再生工学研究会、H14.10.24

## 2-5. マスコミ発表

報道機関	年月日	内 容
中国新聞	H9.7.31	人工皮膚から毛生やします 広島県の産官学スクラム 「最先端技術を結集 薄毛治療など活用めざす」
広島テレビ	H10.4.5	「おはよう!ひろしま県」 広島県産業科学技術研究所の紹介 広島県組織再生プロジェクト研究内容紹介
広島テレビ	H10.4.13	広島県組織再生プロジェクト研究内容紹介
NHK 総合テレビ	H10.5.18	広島県組織再生プロジェクト研究内容紹介
日本工業新聞	H10.7.27	産業トレンド 広島大学理学部・吉里研究室 目覚めよ再生遺伝子 健康な肝臓や毛髪を復活
中国新聞	H11.1.9	広がれハイテク交流の場

		「25歳の群像-③研究者-安達敬泰さん」
中国新聞	H11.1.29	中国地方発・ビジネス創出 第2部スクラム組んで 「再生能持つ人工組織開発」
科学技術ジャーナル3月号	H11.3.1	特集 地域が開く新世紀 「地域結集型共同研究事業・広島県組織再生プロジェクト研究の目指すもの」
テレビ新広島	H11.3.10	「スーパーニュース」 平成10年度研究報告会の開催案内
テレビ新広島	H11.3.11	平成10年度研究報告会の放映
中国新聞	H11.4.17	地域の産業技術振興 人や素材生かす努力を
中国新聞(夕刊)	H11.5.20	ザ・追跡「広島発夢の研究」 薄くなった髪を「復活」 細胞増やして人工肝臓
Asahi Shimbun Weekly AERA	H11.6.21	臓器再生ここまで来た 移植医療を越える試み
Newton Press ニュートン別冊	H11.9.10	失われた毛髪は再生できるか 「発毛と脱毛のメカニズムを探る」
中国新聞	H11.9.14	ヒト肝細胞を大量培養 「人工肝臓へ応用期待」 広島医学部など学会で発表へ
日本経済新聞	H11.9.17	成人肝細胞 体外で増殖 「人工肝臓 開発に道」
中国新聞	H11.9.20	重金属に反応 光るカエル 「世界で初めて開発」
The Daily Jakarta Shimbun	H11.9.28	重金属で光るカエル誕生 「環境汚染の監視に利用」
中央公論 12月号	H11.12.1	シリーズ対談・立花隆のスーパー好奇心 第十回 「イモリの再生力はヒトに潜むか」
日経バイオテク 第488号	H11.12.20	広島大学 環境ホルモンや重金属を感知し蛍光を発する組換えカエルを開発
TBS テレビ	H12.1.3	「21世紀プロジェクト」 筑紫哲也・立花隆、ヒトへの旅～人類最先端 2000年スペシャル
RCC テレビ	H12.1.12	「ニュース・ブリッジ」 DNA操作 “光るカエル” を広島大学が開発
毎日新聞	H12.3.1	研究室探訪(10) 環境破壊を体現するカエル 広島大理学部発生生物学講座など
中国新聞	H12.3.8	細胞から臓器・神経培養 「再生医療研究会が始動」 広大理・医学部
中国新聞	H12.4.1	人工皮膚や肝臓など「組織再生」で報告会 4日・広島県産業機構
メディア東京 テクノ探偵団	H12.4.1	発毛因子を組み込んだ人工皮膚について
中国新聞	H12.4.4	ラット肝細胞スピード増殖 通常の5倍「人工肝臓」へ前進 広島県産科研成功
Medical Academy News 第750号	H12.4.21	第3回日本組織工学会 幹細胞の生物学と組織工学への応用
RCC テレビ	H12.5.31	「エコ特番」 自然の叫び・エコガエル
読売新聞(夕刊) 京都神戸方面	H12.6.30	インスリン分泌 人工皮膚が代役 「遺伝子導入で糖尿病治療に期待」
読売新聞(夕刊) 大阪方面	H12.6.30	人工皮膚でインスリン分泌 「糖尿病治療に期待」
日刊工業新聞	H12.7.31	プロテオーム研究 共同解析チーム あす立ち上げ 広島県産業技術振興機構
日刊工業新聞	H12.8.1	自由競争の活力
中国新聞	H12.8.23	毛髪再生 産業科学技術研究所 「育てて植える毛乳頭」

中国新聞	H12.9.6	本人の細胞を培養 体に戻し機能回復 広島県産科研 再生医療研究室あす立ち上げ 「肝不全など臨床目指す」
NHK 総合テレビ	H12.9.7	再生医療最前線 「再生医療研究室開所式の紹介」
広島テレビ	H12.9.7	「テレビ宣言にゆー」 再生医療研究室開所式の紹介
テレビ新広島	H12.9.7	再生医療研究室開所式の紹介
RCC テレビ	H12.9.7	「ときめきストーリー」 再生医療研究室開所式の紹介
毎日新聞	H12.9.19	「再生医療」開発へ研究室 県が東広島に開設 全国初、ヒト細胞使う 専用クリーンルーム備え
毎日新聞	H12.11.2	皮膚や肝臓を再生医療で 広島県組織再生プロジェクト 再生医療研究室長 秀道広さん (43)
日刊工業新聞	H12.11.9	キーマンに聞く 地域結集型共同研究事業 再生医療技術を事業化 広島 吉里勝利氏
週刊東洋経済 特大号	H12.11.11	ロボット、ナノテク、臓器再生「近未来技術最前線」 特集 未来技術の全貌
中国新聞	H12.12.14	研究開発も競争の原理
BS-1 テレビ	H13.1.7 H13.2.11	はげ治療の新世紀 ーうわさの植毛剤から遺伝子治療までー
中国新聞	H13.1.9	新世紀を拓く⑦ ミクロ分析から構成へ 臓器・皮膚 自在につくる ヒトの組織再生を研究する吉里勝利さん (57) 東広島市
東広島ケーブル メディア	H13.3.14	「KAMONたいむ」 第4回再生医療研究会の様様
ひろしま 県民だより 第197号	H13.4.1	活力ある産業の再生 「研究・開発が集積する広島中央サイエンスパーク (東広島市)」
日本経済新聞	H13.8.31	髪の毛、腕から生えた 毛根の細胞を移植 再生技術へ一歩
読売新聞	H13.8.31	「毛乳頭」細胞 腕に移植 毛が生えた! 広島大教授ら成功
読売新聞 (全国版)	H13.9.1	毛髪再生 「毛乳頭」の細胞移植でー 広島大研究チームが成功
広島テレビ	H13.9.4	「テレビ宣言にゆー」 「毛乳頭」細胞 腕に移植
中国新聞	H13.10.2	「研究活用プラザ」完成 科学技術振興事業団 来月開館へ準備 東広島
中国新聞	H13.10.5	ヒト肝細胞マウスで増殖 薬物代謝試験に応用期待 広島県産科研
中国新聞	H13.10.19	ゲノム治療など討議 整形外科学会基礎学術集会 広島に1200人集う
NHK 総合テレビ	H13.12.19	「お好みワイド広島」 ヒトコラーゲンを吐き出す蚕の開発について
テレビ新広島	H13.12.19	「スーパーニュース」 ヒトコラーゲンを吐き出す蚕の開発について
RCC テレビ	H13.12.19	ヒトコラーゲンを吐き出す蚕の開発について
広島テレビ	H13.12.19	「テレビ宣言にゆー」 ヒトコラーゲンを吐き出す蚕の開発について
広島 ホームテレビ	H13.12.19	ヒトコラーゲンを吐き出す蚕の開発について
中国新聞	H13.12.20	遺伝子技術で牛依存から脱却 「蚕からヒトコラーゲン」広島県産科研 医療素材や化粧品
読売新聞	H13.12.20	ヒトコラーゲン吐くカイコ 広島県組織再生プロジェクト「遺伝子組み換え開発」 医療用に
毎日新聞	H13.12.20	カイコからヒトコラーゲン

		広島県研究所遺伝子操作で「安く安全な生産へ」
日本経済新聞	H13.12.20	ヒトの遺伝子持つ 「コラーゲン出す蚕」 広島県産業科技研が開発 化粧品・食品などに利用
日刊工業新聞	H13.12.20	蚕からヒトコラーゲン 「大量生産システム確立」広島県産技研 牛皮抽出精製を代替
朝日新聞	H13.12.20	蚕からヒトコラーゲン 広島大教授らシステム開発 大量生産に道
山陽新聞	H13.12.20	「ヒトコラーゲン」蚕の繭使い生産 広島大、県、地元企業 合同チーム世界初開発 医薬、化粧品に利用期待
産経新聞	H13.12.21	蚕から安全な「コラーゲン」 広島大などのプロジェクト世界で初めて成功
読売新聞	H13.12.26	「緑に光るカイコ」 人工皮膚、化粧品利用へ 広島大など開発
TBS テレビ	H14.1.27	「ホウレン草の遺伝子を組み込んだブタ」 遺伝子組み換えの最前線
すこぶる広島 2002年3月号	H14.2.1	蚕からヒトコラーゲンの生産に成功
中国新聞	H14.2.1	研究活用プラザ広島「5テーマ発表」 科技術振興事業団
毎日新聞	H14.3.4	カイコやガ活用し「昆虫工場」 遺伝子組み換えで医薬品原料を生産
NHK 総合テレビ	H14.3.28	「お好みワイド広島」 再生医療研究の進捗状況と今後の課題について
日本経済新聞	H14.4.16	知的クラスター事業 バイオで広島選定 文科省 大学・企業、実用化探る
中国新聞	H14.4.16	革新技術開発支援事業 広島など12地域 文科省指定
中国新聞	H14.4.25	「日本版シリコンバレー」に広島県 産学でバイオ産業創出 東広島 ヒト肝細胞を活用
日刊工業新聞	H14.5.14	たんぱく質 分析・研究で子会社 東和科学 広島大教授らと連携
テレビ朝日	H14.5.18	「組み換えヒトコラーゲン」に関する取材
広島テレビ	H14.5.26	「おはよう！ひろしま県」 「組み換えヒトコラーゲン」の生産系に関する取材
読売新聞	H14.6.3	「毛乳頭」細胞 発毛力 遺伝子操作 ネズミで成功 広島大教授ら
読売新聞	H14.6.3	“毛髪寿命” 遺伝子操作で延びた 毛乳頭を活用化、発毛も
中国新聞	H14.6.13	患者の細胞 体外で増殖後利用 肝移植に画期的治療 広島大大学院グループ確立
中国新聞	H14.6.19	バイオ産業創成 着々 「知的クラスター」広島県の3カ所
日経産業新聞	H14.6.20	先端技術 ～再生医療の最前線～ 肝臓や皮膚を主体に ベンチャー企業で事業化も推進 広島県産業科技研
読売新聞	H14.7.8	細胞から髪 “再生”広島大大学院理学研究科 吉里勝利教授
日本経済新聞 (夕刊)	H14.7.10	毛髪再生VBが発足 広大の移植技術を実用化
日本経済新聞	H14.8.24	「知的クラスター」取り組み本格化 広島 遺伝子組み換え研究