

機関番号：32659

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2008～2010

課題番号：20500412

研究課題名（和文）ラミニン機能部位を応用した肝細胞培養基質の開発

研究課題名（英文）Primary culture of hepatocytes on synthetic peptides mimicking the functions of laminin-111

研究代表者

吉川 大和（KIKKAWA YAMATO）

東京薬科大学・薬学部・准教授

研究者番号：20274227

研究成果の概要（和文）：

生体から単離された肝細胞はその機能を速やかに失う。このため肝細胞と人工装置を組み合わせたハイブリッド型人工肝臓の開発では、肝細胞の機能を維持できる培養基質が求められている。本研究では、肝細胞の接着および機能を維持することができるラミニン-111由来の合成ペプチドを同定した。肝細胞接着活性ペプチド及びそのアミノ酸配列は、肝細胞培養基質への利用だけでなく培養基質のデザインへ応用することが期待される。

研究成果の概要（英文）：

The isolated cells rapidly lose viability and hepatic functions. Therefore, for development of culture systems for primary hepatocytes, effective substrata are required for both hepatocyte adhesion and maintenance of hepatic function. In this study we identified hepatocyte adhesive peptides in biologically active peptides-derived from laminin-111. Some of them also maintained hepatic functions. The identified peptides may be useful for the design of hepatocyte culture substrata that can regulate specific cellular behaviors in the context of a bio-artificial liver.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2009年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2010年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：人間医工学・医用生体工学・生体材料学

キーワード：生体機能材料、マトリックス工学、バイオマテリアル

1. 研究開始当初の背景

代謝の要である肝臓は、その複雑な代謝機能の解明に加えて、人工肝臓の開発という点において注目されている。特に重篤な肝臓疾患では、肝臓の移植が最も有効な治療法であるにもかかわらず深刻なドナー不足があり、早急な人工肝臓の開発が求められている。人工肝臓は肝細胞の複雑な代謝機能のため

工装置のみで代替することが難しい。そのため肝細胞と人工装置を組み合わせたハイブリッド型として開発が進んでいる。ハイブリッド型人工肝臓は肝障害や肝細胞癌などによって失った肝細胞の機能を補助するだけでなく、新規薬物のスクリーニングなど薬物動態の分野でも期待されている。ハイブリッド型人工肝臓の開発における重要なポイント

トは、肝臓から単離した肝細胞の代謝機能の維持である。肝細胞の代謝機能は、さまざまなサイトカインや細胞外マトリックスといった複雑な細胞外環境によって制御されているため、肝臓から単離されると急速に低下してしまうことが知られている。これまでに国内外の多くの研究者が、サイトカインだけでなく、細胞外マトリックスを含む培養条件の検討を行ってきた。なかでも、マウス腫瘍由来の基底膜ゲル（通称、マトリゲル）を塗布した培養ディッシュで肝細胞を培養した場合、通常の培養ディッシュに比べて、肝細胞の代謝機能が長く維持される。しかしながら、マトリゲルはマウス腫瘍由来であり、種の違いからヒトへの臨床応用に適さないこと、ヒト型マトリゲルの開発も困難が予想されている。このような背景から、ハイブリッド型人工肝臓の開発を含む組織工学において、マトリゲルのように優れた機能を持ち、再生医療に適応できる培養基質が求められている。一方、研究代表者・吉川は肝臓の特徴である肝再生に着目し、肝再生における細胞外マトリックスの動態について研究を行ってきた。肝臓は薬物による障害を受たり外科的に切除されると、その機能を補うために肝細胞の増殖と組織の再構築が行われる。これまでに、肝再生においてマトリゲルの主要成分であるラミニン-111と同様の機能を持つラミニン-121が発現し、肝細胞の接着に関わることを明らかにした (Kikkawa et al., *Exp Cell Res*, 2005)。この結果は、増殖した肝細胞がマトリゲル様の細胞外環境中で代謝機能を維持しながら肝組織へ再構成されていくことを示唆した。これらのことから、肝細胞の代謝機能に関わる重要な機能部位がラミニン-111 またはラミニン-121 にあると予想された。以上のように、ハイブリッド型人工肝臓の開発における問題点や研究代表者による肝臓の肝再生におけるラミニンの研究に基づいて、本研究課題である『ラミニン機能部位を応用した肝細胞培養基質の開発』を着想した。

2. 研究の目的

ラミニン-111 由来の合成ペプチドライブラリーを利用して、肝細胞接着ペプチドのスクリーニングを行い、肝細胞接着ペプチド上で培養した肝細胞の代謝機能について評価する。さらに、肝細胞接着ペプチドをキトサン膜に結合させ、ハイブリッド型人工肝臓に有効な培養基質を開発する。

これまでにラミニン機能部位の探索手法として、9~16 残基の合成ペプチドが用いられている。研究代表者・吉川らは、マトリゲルの主要成分であるラミニン-111 に着目し、すでにラミニン-111 のアミノ酸配列に基づいた合成ペプチドのなかから、肝細胞に対し

て接着性を示す数種類の合成ペプチド同定し、さらに代謝機能に関わる肝細胞接着ペプチド A13 (RQVFQVAYIIIIKA) を見出している。しかしながら、ラミニン-111 由来のペプチドライブラリーには、スクリーニングが行われていない合成ペプチドが残っている。本研究の第 1 段階では、残りのラミニン-111 由来ペプチドから肝細胞接着ペプチドを同定し、肝細胞接着ペプチド上で培養した肝細胞の代謝機能を検討する。第 2 段階では、キトサン膜に肝細胞接着ペプチドを結合させた膜型培養基質を作製する。

3. 研究の方法

(1) 肝細胞接着ペプチドの探索と活性配列の同定

ラミニン-111 は、 $\alpha 1$ 、 $\beta 1$ 、 $\gamma 1$ の鎖からなる分子量 800kDa のヘテロ三量体蛋白質である。これまでに、ラミニン $\alpha 1$ 鎖の全アミノ酸配列を網羅した合成ペプチドのなかでヒト線維肉腫細胞 HT-1080 に対して細胞接着活性を示す活性ペプチドを用いて肝細胞接着ペプチドのスクリーニングを行ない、A13 (RQVFQVAYIIIIKA) が肝細胞接着活性を示し、さらに肝細胞の機能低下を抑えることを見出してきた。さらに A13 ペプチドにおける肝細胞接着や遺伝子発現維持に必要とされるアミノ酸残基を同定するために変異を導入したペプチドを合成した。また、残りのラミニン $\beta 1$ および $\gamma 1$ 鎖の全アミノ酸配列を網羅するペプチドのなかから、同様に細胞接着活性を示す活性ペプチド 22 種類について肝細胞接着活性を検討した。細胞接着活性は、合成ペプチドを 96 穴の ELISA プレートに吸着させ、ブロッキングの後、肝細胞を播種し、接着した細胞数を測定した。肝細胞はコラゲナーゼ灌流法により処理したラット肝臓から単離し、死んだ細胞を取り除くためにパーコールを用いた密度勾配遠心法を行った。以後の各実験には、肝細胞の生存率が 95% 以上の分画を使用した。ペプチドは Fmoc 固相合成法によって合成し、マススペクトロメトリーにより正しく合成されていることを確認した。

(2) ペプチド上で培養した肝細胞の代謝機能の評価

肝細胞接着ペプチド上で培養した肝細胞の代謝機能は、肝分化マーカーの遺伝子発現により評価した。肝分化マーカーの遺伝子発現は、Reverse transcriptase-PCR または Real time-PCR 法により検出した。肝細胞はペプチドを吸着させた培養プレート上で培養し、経時的 (0, 2, 6, 24, 72 時間) に RNA を抽出した。肝分化マーカーの遺伝子として、アルブミン、アミノ酸代謝酵素である TAT:Tyrosine aminotransferase ;

TO:Tryptophan-2,3-dioxygenase、薬物代謝酵素では Cytochrome P450 (CYP3A1, 4A3) のプライマーを用いて発現を測定した。

(3) 膜型培養基質の作製と機能評価

カニの甲羅などに多量に含まれるキトサンはヒトに対して抗原性をほとんど持たず、すでに医療用のキトサン膜として創傷の被覆に使用されている。本研究では、肝細胞の積層培養を可能にするため、細胞接着ペプチドをキトサン膜に固定化した膜型培養基質を作製した。膜型培養基質上で細胞を培養し、肝細胞の培養に適応できるか検討を行った。

4. 研究成果

(1) ラミニン α 1 鎖由来の肝細胞接着ペプチドの解析

これまでに我々の研究室ではラミニン-111の α 1鎖全アミノ酸配列を網羅する321種類のペプチドを合成し、ヒト線維肉腫細胞HT-1080を用いて25種類の細胞接着ペプチドを同定してきた(Nomizu et al., J Biol Chem, 1995 and 1998)。そしてラット初代肝細胞を用いて、これら合成ペプチドの細胞接着活性を検討したところ、ラミニン α 1鎖からは16種類のペプチドで肝細胞接着活性がみられた。なかでもA13(RQVFQVAYIIKA, mouse laminin α 1 chain 121-133)に強い活性がみられた(図1)。さらに、ラット肝細胞を

ラミニン α 1鎖	Peptides	Residues	Sequences	Attachment activity	
				Fibrosarcoma	Hepatocyte
LN	A3	18-30	LWVTVRSQQGLF	++	+
	A4	27-38	RGLFPAILNLAT	+	+
	A10	95-107	GTNNWQSPSIQN	++	+
	A12	113-125	WVTVLTLRQVFQ	++	-
	A13	121-133	RQVFQVAYIIKA	+++	+++
LEa	A24	222-233	LLEFTSARVIRL	+++	++
	A25	230-241	YIIRLRQIRITL	+	-
	A50	552-563	VILGGRQISINN	+	-
LEb	A51	560-571	SINNTAVMQRLT	+	+
	A54	583-594	LGNKLTAFGGFL	+	-
	A55	591-602	GGFLKTVSVYDI	++	+
	A64	663-674	RDQLMTVLNAVY	++	+
	A65	671-682	ANVTHLLIRANY	++	-
	A119	1321-1332	LSSNIDVILIKAS	++	++
LEc	A121	1237-1248	LQSRRIANISME	++	++
	A167	1786-1797	NLLLLLVKANLK	++	+
LCC	A174	1844-1855	HRDELLLVWARKI	++	-
	A203	2080-2092	MENIQANLLDRL	+	+
	A206	2106-2117	LSEIKLISRSAR	++	+
	A208	2121-2132	AASIKVAVSADR	+++	++
	AG10	2207-2218	NRWHSYITRFQ	++	-
LG	AG22	2314-2325	SSFIFPGSGVAM	++	++
	AG52	2394-2405	TWYKIAFQNRNK	+	-
	AG56	2594-2605	SLVNRNRVITIQ	+	+
	AG73	2743-2754	RKRLQVLSIRT	+++	++

図1 ラミニン α 1鎖由来細胞接着ペプチドのアミノ酸配列とそのポジション。ラミニン α 1鎖のアミノ酸配列に基づいてペプチドを合成した。細胞接着アッセイには、これまでに線維肉腫細胞に対して細胞接着活性を示すことが明らかになっているペプチドを用いた。ペプチドを吸着させた96穴プレートに、ラット初代肝細胞を分注し、37°Cで1時間のインキュベーションの後、接着した肝細胞を評価した。N末端の球状ドメインに位置するA13ペプチドが強い肝細胞接着活性を示した。

A13でコートしたプレート上で培養し、代謝遺伝子の発現維持をRT-PCR法にて解析したところ、通常の培養プレート上ではTyrosine aminotransferase (TAT)、Tryptophan-2,3-dioxygenase (TO)、Cytochrome P450 (CYP) 4A3といった代謝遺伝子の発現が経時的に消失していくが、A13をコートしたプレート上ではマトリゲルと同様に72時間後においてもTAT、TO、CYP4A3の発現が維持された(図

2)。このことから、A13が肝細胞培養基質として有用であることが示された。

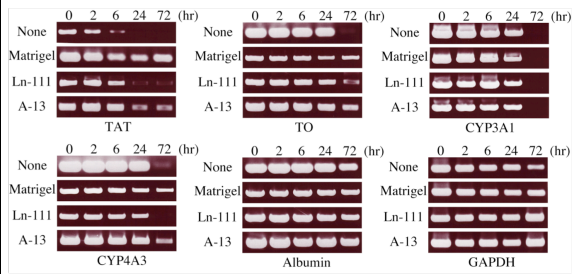


図2 マトリゲル、ラミニン-111、A13ペプチド上で培養した肝細胞における肝分化マーカー遺伝子の発現維持。経時的に肝細胞からRNAを抽出し、tyrosine aminotransferase (TAT)、tryptophan-2,3-dioxygenase (TO)、cytochrome P450 (CYP3A1, CYP4A3)、albumin、GAPDHの発現をRT-PCRにより検出した。A13ペプチドは、TAT、TO、CYP4A3の発現を何もコートしていないときよりも維持した。

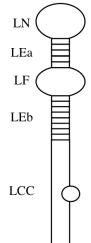
さらにA13における肝細胞接着活性に必要な配列を同定するため、A13のC末端、N末端を欠失させたペプチドの肝細胞接着活性を測定した。その結果、A13のN端側に存在するArg、Glnを欠失させたペプチドA13a(VFQVAYIIKA)は接着活性を失った。また、A13のC末端を欠失させたところ、接着活性は3つのIleを全て欠失させたA13k(RQVFQVAY)で認められなくなった。このことから、A13j(RQVFQVAYI)が肝細胞接着活性配列であることが明らかになった。A13あるいはA13jにおける肝分化マーカー遺伝子の発現レベルを比較するためReal Time-PCRにより定量化を行った。A13あるいはA13jをコートしたプレート上で72時間培養した後、ラット肝細胞のRNAを抽出し、逆転写反応を行った。各肝分化マーカー遺伝子としてAlbumin、TAT、TO、CYP4A3についてReal Time-PCRを行い、遺伝子発現量を定量的に解析した。その結果、何もコートしていないプレートに比べA13上で培養した肝細胞ではAlbumin、CYP4A3、TAT、TOの遺伝子発現量が維持された。一方、A13j上では調べた全ての遺伝子の発現量は維持されなかった。この結果、肝細胞の機能維持にはA13jの接着活性部位だけでなく、その周辺のアミノ酸残基も必要であることが示唆された。

(2) ラミニン β 1および γ 1鎖由来の肝細胞接着ペプチドの探索と解析

我々の研究室では、ラミニン β 1鎖および γ 1鎖の全アミノ酸配列を網羅する352種類のペプチドを合成し、ヒト線維肉腫細胞HT-1080を用いて、 β 1鎖からは11種類(Nomizu et al., Arch Biochem Biophys, 2000)、 γ 1鎖からは11種類の細胞接着ペプチドを同定している(Nomizu et al., J Biol Chem, 1997)。さらに、ラミニン β 1鎖および γ 1鎖にも肝細胞接着活性を示すペプチドがあると予想されることから、肝細胞接着活性や肝分化マーカー遺伝子の維持を評価した。ラット初代肝細胞を用いて、ラミニン β 1鎖および γ 1鎖配列由来ペプチドの肝細胞接

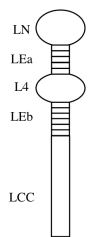
着活性を測定した。その結果、B30、B31、B62、B123、B133、B160、C16、C28、C31の9種類のペプチドが肝細胞接着活性を示した(図3)。なかでもB160(VILQSSADIAR)とC16(KAFDITYVRLKF)がA13やラミニン-111と同等の強い肝細胞接着活性を示した。一方、ヒト線維肉腫細胞HT-1080に対して強い接着活性を示したB20、B23、B43、C64、C68には、肝細胞接着活性がみられなかった。

(A) ラミニンβ1鎖



Domain	Peptides	Residues	sequences	Attachment activity	
				Fibrosarcoma	Hepatocyte
LN	B15	144-155	HEVVVTFAPNR	+	-
	B20	183-194	HLIMTFKTRPA	++	-
	B23	206-217	KTWGVYRYFAYD	++	-
	B30	271-282	RIQNLLKITNLR	+	+
	B31	279-290	TNLRKIFVKLHT	++	+
B34	303-314	REKYYAVYDMV	+	-	
LEa	B43	393-403	HFDMAVFLATG	++	-
LF	B62	613-624	GGVYVYVRYQYI	++	+
LCC	B123	1287-1298	AAEPLKNGILF	+	+
	B133	1357-1368	DSITKYQMSLE	+++	++
	B160	1607-1618	VILQSSADIAR	+++	+++

(B) ラミニンα1鎖



Domain	Peptides	Residues	sequences	Attachment activity	
				Fibrosarcoma	Hepatocyte
LN	C16	139-150	KAFDITYVRLKF	+++	+++
	C18	154-165	RPESAIYKTRTR	+	-
	C28	245-257	TDIRVTLNRLNTE	++	+
	C30	263-275	NEPKVLKSYAYAI	+	-
	C31	272-283	YYAISDFAVGGR	+	++
LEa	C35	318-330	LPFENDRPWRAT	+	-
L4	C57	559-571	APVKFLGNQVLSY	+	-
	C59	576-587	SFSFRVDRRDTR	+	-
	C64	615-627	SETTYKVIKRLHE	+++	++
	C68	650-661	TSIKIRGTYSER	++	-
LCC	C118	1205-1216	TSAEAYNLLRT	+	-

図3 ラミニンβ1およびγ1鎖由来細胞接着ペプチドのアミノ酸配列とそのポジショニング

ラミニンβ1およびγ1鎖のアミノ酸配列に基づいてペプチドを合成した。細胞接着アッセイには、これまでに線維肉腫細胞に対して細胞接着活性を示すことが明らかになっているペプチドを用いた。ペプチドを吸着させた96穴プレートに、ラット初代肝細胞を分注し、37°Cで1時間のインキュベーションの後、接着した肝細胞を評価した。その結果、β1鎖のB133とγ1鎖のC16ペプチドが強い肝細胞接着活性を示した。

ラット肝細胞をA13、B160、C16でコートしたプレート上で72時間培養した後、mRNAを抽出し、逆転写反応を行った。各肝分化マーカー遺伝子としてAlbumin、TAT、T0、CYP4A3についてReal Time-PCRを行い、遺伝子発現量を定量的に解析した。その結果、AlbuminとCYP4A3の遺伝子発現はC16上で効果的に維持された。TATとT0の遺伝子発現はA13と同様にB160およびC16上で維持された。このことから、ラミニンα1鎖以外にも肝細胞の接着や機能維持に関わる機能部位の存在が示唆された。

肝細胞接着ペプチドの接着メカニズムを解明するため、ヘパリン、EDTA、抗インテグリン抗体による肝細胞接着阻害アッセイを行った。その結果、A13、B160とC16の肝細胞接着活性は同様にヘパリンとEDTAの両方で阻害され、これらの肝細胞接着メカニズムは2価カチオン依存性であり、ヘパリンあるいはヘパリン硫酸プロテオグリカンの関与が示唆された。細胞表面の受容体であるインテグリンは2価カチオン依存性であることが知られている。A13、B160、C16の肝細胞接着活性がEDTAで阻害されたことから、インテグリンがこれらのペプチドの細胞受容体として関与していることが示唆された。

そこで次に、抗β1インテグリン抗体による肝細胞接着阻害アッセイを行った。その結果、A13は抗β1インテグリン抗体による接着の阻害がわずかにみられたが、B160、C16は阻害がみられなかった。このことから、β1サブユニットを含まないインテグリンの関与が示唆された。

(3) 膜型培養基質の作製と機能評価

細胞接着活性を持つ合成ペプチドを生体由来のキトサン膜に結合させた。2種類の受容体特異性の異なる細胞接着ペプチドをキトサン膜に結合させることで細胞の形態を制御することが可能になった(Yamada et al., Biopolymers, 2010; Hozumi et al., Biomaterials, 2010)。しかしながら、研究期間中に肝細胞接着ペプチドを結合させたキトサン膜の作製にまではいたらなかった。

以上の研究成果の一部は、バイオマテリアル領域のトップジャーナルであるBiomaterials誌に掲載され高い評価を得ることができた(Kikkawa et al., Biomaterials, 2009)。残りの部分についても、論文投稿中となっている。また、この論文の研究内容により、日本結合組織学会から大高賞が授与された。今後は、複数の肝細胞接着ペプチドをキトサン膜に結合させ、よりラミニン-111そしてマトリゲルの機能に類似した膜状の人工細胞外マトリックスを目指す。本研究の一部は、肝細胞癌の細胞接着メカニズム解明へ発展している。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計34件)

- 1 Yamada Y, Hozumi K, Katagiri F, Kikkawa Y, and Nomizu M Biological activity of laminin peptide-conjugated alginate and chitosan matrices. Biopolymers, 94, 711-720 (2010)
- 2 Urushibata S, Hozumi K, Ishikawa M, Katagiri F, Kikkawa Y, and Nomizu M. Identification of biologically active sequences in the laminin alpha2 chain G domain. Arch Biochem Biophys, 497, 43-54 (2010)
- 3 Suzuki N, Hozumi K, Urushibata S, Yoshimura T, Kikkawa Y, Gumerson JD, Michele DE, Hoffman MP, Yamada Y, and Nomizu M. Identification of alpha-dystroglycan binding sequences in the laminin alpha2 chain LG4-5 module. Matrix Biol, 29, 143-151 (2010)
- 4 Kikkawa Y, Takaki S, Matsuda Y, Okabe K, Taniguchi M, Oomachi K, Samejima T, Katagiri F, Hozumi K, and Nomizu M The influence of Tribenoside on expression

- and deposition of epidermal laminins in HaCaT cells. *Biol Pharm Bull*, 33, 307-310 (2010)
- 5 Katagiri F, Takeyama K, Ohga Y, Hozumi K, Kikkawa Y, Kadoya Y, and Nomizu M. Amino Acid Sequence Requirements of Laminin beta1 Chain Peptide B133 (DISTKYFQMSLE) for Amyloid-like Fibril Formation, Syndecan Binding, and Neurite Outgrowth Promotion. *Biochemistry*, 49, 5909-5918 (2010)
 - 6 Katagiri F, Ohga Y, Takeyama K, Hozumi K, Kikkawa Y, Kadoya Y, and Nomizu M. B133 (DSITKYFQMSLE), a laminin beta1-derived peptide, contains distinct core sequences for both integrin alpha2beta1-mediated cell adhesion and amyloid-like fibril formation. *Arch Biochem Biophys*, 500, 189-195 (2010)
 - 7 Hozumi K, Otagiri D, Yamada Y, Sasaki A, Fujimori C, Wakai Y, Uchida T, Katagiri F, Kikkawa Y, and Nomizu M. Cell surface receptor-specific scaffold requirements for adhesion to laminin-derived peptide-chitosan membranes. *Biomaterials*, 31, 3237-3243 (2010)
 - 8 Hozumi K, Kobayashi K, Katagiri F, Kikkawa Y, Kadoya Y, and Nomizu M. Syndecan- and integrin-binding peptides synergistically accelerate cell adhesion. *FEBS Lett*, 584, 3381-3385 (2010)
 - 9 Hozumi K, Akizuki T, Yamada Y, Hara T, Urushibata S, Katagiri F, Kikkawa Y and Nomizu M. Cell adhesive peptide screening of the mouse laminin alpha1 chain G domain. *Arch Biochem Biophys*, 503, 213-222 (2010)
 - 10 Mitaka T, and Ooe H. Characterization of hepatic-organoid cultures. *Drug Metab Rev*, 42, 472-481 (2010)
 - 11 Vuoristo S, Virtanen I, Takkunen M, Palgi J, Kikkawa Y, Rousselle P, Sekiguchi K, Tuuri T, and Otonkoski T. Laminin isoforms in human embryonic stem cells: Synthesis, receptor usage and growth support. *J Cell Mol Med*, 13, 2622-2633 (2009)
 - 12 Urushibata S, Katagiri F, Takaki S, Yamada Y, Fujimori C, Hozumi K, Kikkawa Y, Kadoya Y, and Nomizu M. Biologically active sequences in the mouse laminin alpha3 chain G domain. *Biochemistry*, 48, 10522-10532 (2009)
 - 13 Ohga Y, Katagiri F, Takeyama K, Hozumi K, Kikkawa Y, Nishi N, and Nomizu M. Design and activity of multifunctional fibrils using receptor-specific small peptides. *Biomaterials*, 30, 6731-6738 (2009)
 - 14 Niiya D, Egawa N, Sakamoto T, Kikkawa Y, Shinkawa T, Isobe T, Koshikawa N, and Seiki M. Identification and characterization of Lutheran blood group glycoprotein as a new substrate of MT1-MMP: A systemic whole-cell analysis of MT1-MMP-associating proteins in A431 cells. *J Biol Chem*, 284, 27360-27369 (2009)
 - 15 Kikkawa Y, Takahashi N, Matsuda Y, Miwa T, Akizuki T, Kataoka A, and Nomizu M. The influence of synthetic peptides derived from the laminin alpha1 chain on hepatocyte adhesion and gene expression. *Biomaterials*, 30, 6888-6895 (2009)
 - 16 Hozumi K, Yamagata N, Otagiri D, Fujimori C, Kikkawa Y, Kadoya Y, and Nomizu M. Mixed peptide-chitosan membranes to mimic the biological activities of a multifunctional laminin alpha1 chain LG4 module. *Biomaterials*, 30, 1596-1603 (2009)
 - 17 Hozumi K, Suzuki N, Uchiyama Y, Katagiri F, Kikkawa Y, and Nomizu M. Chain-specific heparin-binding sequences in the laminin alpha chain LG45 modules. *Biochemistry*, 48, 5375-5381 (2009)
 - 18 Kon J, Ichinohe N, Ooe H, Chen Q, Sasaki K, and Mitaka T. Thy1-positive cells have bipotential ability to differentiate into hepatocytes and biliary epithelial cells in galactosamine-induced rat liver regeneration. *Am J Pathol*, 175, 2362-2371 (2009)
 - 19 Virtanen I, Banerjee M, Palgi J, Korsgren O, Lukinius A, Thornell LE, Kikkawa Y, Sekiguchi K, Hukkanen M, Konttinen YT, and Otonkoski T. Blood vessels of human islets of Langerhans are surrounded by a double basement membrane. *Diabetologia*, 51, 1181-1191 (2008)
 - 20 Kikkawa Y, Sudo R, Kon J, Mizuguchi T, Nomizu M, Hirata K, and Mitaka T. Laminin alpha 5 mediates ectopic adhesion of hepatocellular carcinoma through integrins and/or Lutheran/basal cell adhesion molecule. *Exp Cell Res*, 314, 2579-2590 (2008)
 - 21 Kawasaki H, Mizuguchi T, Kikkawa Y,

Oshima H, Sasaki Y, Tokino T, Kokai Y, Miyazaki J, Katsuramaki T, Mitaka T and Hirata K. In vitro transformation of adult rat hepatic progenitor cells into pancreatic endocrine hormone-producing cells. J Hepatobiliary Pancreat Surg, 15, 310-317 (2008)

[学会発表] (計80件)

- 1 吉川大和、ヒト肝細胞癌におけるラミニン α 鎖とその受容体の発現、第40回日本結合組織学会学術大会/第55回マトリックス研究会大会 合同学術大会、2008年05月29-31日、東京
- 2 三輪隆博、ラミニン α 1鎖由来の合成ペプチドを用いたラット肝細胞の培養、第40回日本結合組織学会学術大会/第55回マトリックス研究会大会 合同学術大会、2008年05月29-31日、東京
- 3 Kikkawa Y、Laminin alpha5 mediates ectopic adhesion of hepatocellular carcinoma through integrins and/or Lutheran/basal cell adhesion molecule, Gordon Research Conferences、2008年07月22-27日、Biddeford, ME, USA
- 4 Kikkawa Y、Ectopic deposition of laminins in human hepatocellular carcinoma are associated with expression of their receptors、第67回日本癌学会学術総会、2008年10月28-30日、名古屋
- 5 Kikkawa Y、Ectopically-deposited laminin alpha5 chain mediates adhesion of hepatocellular carcinoma through integrins and/or Lutheran/basal cell adhesion molecule, The American Society for Cell Biology: 48th Annual Meeting、2008年12月13-17日、San Francisco, CA, USA
- 6 Matsuda, Y, Hepatocyte binding sequences in laminin alpha1 chain, The American Society for Cell Biology: 48th Annual Meeting、2008年12月13-17日、San Francisco, CA, USA
- 7 Kikkawa Y、Primary Culture of Hepatocytes on A13 Peptide derived from Laminin Alpha1 Chain、第43回日本結合組織学会学術大会/第56回マトリックス研究会大会 合同学術集会、2009年06月4-7日、横須賀
- 8 片岡輝、ラミニン-111由来の合成ペプチド A13 (RQVFQVAYII-IKA) を基質に用いたラット肝細胞の培養、第16回肝細胞研究会、2009年06月26-27日、山形
- 9 市戸義久、Thy1/CD44 両陽性肝前駆細胞の分化機序の解析、第16回肝細胞研究会、2009年06月26-27日、山形

- 10 片岡輝、ラミニン β 1および γ 1鎖由来の合成ペプチドを基質に用いたラット肝細胞の培養、第17回肝細胞研究会、2010年6月19日、秋田
- 11 市戸義久、肝前駆細胞移植におけるドナー細胞増殖機序の解析、第17回肝細胞研究会、2010年6月19日、秋田
- 12 片岡輝、ラミニン β 1鎖および γ 1鎖由来細胞接着ペプチドライブラリーを用いた肝細胞接着ペプチドの探索と肝細胞培養、第42回日本結合組織学会学術大会・第57回マトリックス研究会大会 合同学術集会、2010年8月19-20日、秋田
- 13 吉川大和、肝細胞癌の細胞外マトリックス環境:異所的なラミニン α 5鎖とその受容体ルテランによる細胞接着の解明、第83回日本生化学会大会、2010年12月8日、神戸

[その他]

ホームページ等

<http://www.ps.toyaku.ac.jp/~nomizu/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

吉川 大和 (KIKKAWA YAMATO)
東京薬科大学・薬学部・准教授
研究者番号: 20274227

(2) 研究分担者

野水 基義 (NOMIZU MOTYOUSHI)
東京薬科大学・薬学部・教授
研究者番号: 00311522
三高 俊広 (MITAKA TOSHIHIRO)
札幌医科大学・医学部・教授
研究者番号: 50231618

(3) 連携研究者

該当者なし