

令和 3 年 6 月 5 日現在

機関番号：12602

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18H02790

研究課題名(和文) 肝線維化治療の標的分子同定にむけたヒトiPS細胞由来肝組織様オルガノイドの開発

研究課題名(英文) Development of human iPS cell-derived liver organoids for the discovery of target molecules for a therapy of liver fibrosis

研究代表者

柿沼 晴 (KAKINUMA, Sei)

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・教授

研究者番号：30372444

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,200,000円

研究成果の概要(和文)：研究代表者らは、ヒトiPS細胞から病態を再現しうる新たな肝疾患病態解析モデルを構築することを目的に研究を行った。先天性肝線維症のモデルとして、ゲノム編集により疾患型ヒトiPS細胞を作成し、これを胆管細胞に誘導して解析した。その結果、IL-8とCTGFとが本疾患の病態形成に重要な分子であることが示された。またヒトiPS細胞から、新規のヒトiPS由来肝星細胞の誘導系を開発した。誘導したiPS由来肝星細胞はLHX2遺伝子を強く発現させると、肝前駆細胞のアルブミン発現を約100倍上昇させるなど肝前駆細胞の成熟化をさらに強く促進した。このように肝疾患モデルから病態解明を進め、治療標的の探索を行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、研究グループで独自に先天性肝線維症モデルとなるヒトiPS細胞培養系を開発した。研究結果では、本症でみられる胆管形成の異常と進行性の肝線維化の分子病態の一部が解明され、治療標的の提案がなされた。本疾患は肝移植を要することもある難治性疾患であり、その新規治療開発への応用が期待される結果だった。本成果は、国際的評価の高い専門医学誌への掲載、学会学術賞の受賞、各種メディア記事への掲載など、極めて高く評価された。また、ヒトiPS由来肝星細胞の誘導法の開発も、肝硬変を治療するための画期的創薬研究への基盤技術となることが期待され、今後の波及効果が高い研究として学会学術賞の受賞し、高く評価された。

研究成果の概要(英文)：Aim of this research project was to develop novel disease models that can mimic the pathophysiology of several liver diseases using human induced pluripotent stem cells (iPS cells). We established the original human iPS cell lines as a model of congenital hepatic fibrosis using genome-editing technology. Analysis of the iPS cell-derived cholangiocytic organoids revealed that interleukin-8 and CTGF are responsible for the pathogenesis of congenital hepatic fibrosis. We developed an original method for differentiation of human iPS cells into hepatic stellate-like cells (iPS-HSCs). Hepatocytic maturation in iPS-derived hepatic progenitor cells, such as their capacity for albumin production, was significantly increased in direct co-culture with iPS-HSCs overexpressing LHX2. Our research indicates that studies using genetically edited iPS-derived hepatic cells will be of value for research into pathophysiology of liver diseases.

研究分野：消化器内科学

キーワード：ヒトiPS細胞 肝前駆細胞 再生医学 ゲノム編集 肝星細胞

1. 研究開始当初の背景

本邦では、肝癌を含めた慢性肝疾患によって、年間約 40,000 人以上が死亡し、その死因は終末像としての肝不全が大半を占めている。近年、C 型慢性肝疾患に対する抗ウイルス療法の飛躍的な進歩により、代償性肝硬変を含めた多くの患者でウイルス排除が可能となった一方で、ウイルスが排除された後にも依然として肝線維化は残存し、特に線維化進展例では肝細胞癌発生率が有意に高いこともこれまでの研究で示されている (Asahina et al, *Hepatology*, 2013)。

・ 加えて、本邦では非アルコール性脂肪性肝炎 (NASH) の疾病比率が高まっているが、NASH の線維化進行に対する有効な薬物治療の開発は未だ途上である。今後、国民食生活の変化と 10-20 年後におこる高度高齢化社会の成立に比例して、NASH 患者数は欧米並みに増加し 100 万人が罹患するとの推測もある。このような背景より、本邦の肝臓医療において、慢性肝疾患での線維化進展阻止・改善にむけた治療の開発、発癌リスクを評価した上での個別化医療に向けた研究、さらに稀少疾患として病態解明が進まなかった疾患の研究の重要性が、これまで以上に、ますます高まるものと予測される。

上記のような研究を進める上で、ヒト iPS 細胞を利用した研究の重要性と利便性が近年高くなっている。ヒト iPS 細胞を利用することで、血液細胞を用いればあらゆる個人からの細胞樹立が可能であり、様々な遺伝的背景を有する細胞株が入手可能であること、細胞株としての品質管理の方法が標準化されつつあること、株化できるため、近年確立された Crispr/Cas9 系を用いたゲノム編集技術を利用した、遺伝子改変・遺伝子強制発現が可能であること、などが大きな利点となり、病態解明研究に優位性を発揮しうると考えられるためである。ヒト iPS 細胞の肝臓系譜への分化・誘導技術は、発生過程を再現する形で構築され始め、肝細胞と類似の形質を再現できること、肝細胞・胆管細胞の 2 方向性分化が可能で増殖性が高い肝前駆細胞レベルまでは分化誘導して株化することが可能であることが連携研究者らにより報告されている (Yanagida & Kamiya et al, *PLoS One*, 2013) が、初代培養肝細胞の成熟化レベルまで標準的に分化誘導する技術は完全には確立されていないと考えられる。そして、肝細胞のみを誘導する培養系では、病態を再現・解析するには一定の限界があり、やはり他の肝臓構成細胞、例えば星細胞・内皮細胞・胆管細胞との共培養系で評価できることが望ましいと考えられる。

これまで、当研究グループは、肝前駆細胞の増殖・分化を制御する分子機構の解析、線維化形成機構の解明を中心として研究を進め、これらを基盤としてヒト iPS 細胞培養系を用いた肝疾患病態モデルの作成に着手してきた。直近では、ヒト iPS 細胞由来肝前駆細胞を用いた新規の B 型肝炎ウイルス感染培養系を構築し、これが従来の肝癌細胞株と比べて、生体に近い状態で自然免疫応答と抗ウイルス薬反応が解析できる感染培養系であることを報告した (Kaneko & Kakinuma et al. *Sci Rep*, 2016)。同様に、肝疾患の病態再現を考える上では、胆管上皮細胞の存在も重要な因子となるが、ヒト iPS 細胞の胆管細胞系譜への分化誘導に関しても、新規に独自の培養系を構築してきた。

我々はヒト iPS 細胞培養系を用いる肝疾患病態モデルの一例として、稀少疾患である先天性肝線維症に着目していた。本疾患の原因遺伝子である PKHD1 遺伝子をゲノム編集によって人為的に欠損せしめた iPS 細胞を樹立し、胆管上皮細胞を分化誘導すると、preliminary data として、健常群と比較して異常に増殖が亢進した胆管上皮細胞が誘導されることが示された。この培養系でみられた表現型は本疾患にみられる拡張した胆管の異常な増生 (ductal plate malformation) を模倣していると考えられた。稀少疾患研究で患者臨床検体を用いて検討することは様々な困難を伴うが、ヒト iPS 細胞培養系を用いる本解析手法は他の病態モデルにも応用が十分に可能であった。

さらに我々はヒト iPS 細胞培養系を用いる肝疾患病態モデルの創成に必要な、肝特異的間葉系細胞 (星細胞) を誘導する技術の開発を進めてきた。これまでの検討で、独自の方法でヒト iPS 細胞から誘導した間葉系細胞は、星細胞に類似した遺伝子発現プロファイルを呈し、脂肪滴の貯留が見られること、さらに本細胞を肝前駆細胞と共培養するとアルブミン発現レベルを押し上げ、星細胞機能を調節しうる因子の強制発現により相乗的に押し上げる可能性が示された。このように、肝前駆細胞の分化機構の知見を基盤にヒト iPS 細胞培養系を用いた肝疾患病態モデルの開発は着実に進んでいるものの、肝細胞成熟化のレベル、間葉系細胞の分化誘導法などは、未だ病態解析に用いるには十分ではない点も残されており、さらにヒト肝疾患を再現し、創薬研究の基盤モデルとして用いるのには、改善すべき点が残されている。

2. 研究の目的

このような背景及び我々が確立してきた学術・技術基盤に基づいて、研究代表者・分担者らは、本研究計画において以下の目的を設定した。

最初に、(1) 単一遺伝子の異常が線維化を惹起しうる疾患をターゲットとして、ゲノム編集により標的遺伝子を改変したヒト iPS 細胞から肝前駆細胞を分化誘導し、病態を再現しうる新たな肝疾患病態解析モデルを構築する。(2) ヒト iPS 細胞由来肝間葉系細胞 (星細胞) の分化誘導

法を確立し、標的遺伝子の修飾により肝星細胞としての誘導効率化を目指す。次にこれらを基盤として、(3) ヒト iPS 細胞由来肝前駆細胞・間葉系細胞の新規共培養系確立により、肝組織を一部模倣しうる培養体<iPS-derived Liver Organoid>を作成し、炎症刺激、脂肪化、肝炎ウイルス感染による変化を解析する。(4) これらの知見が臨床検体を用いた解析において、実際の疾患と同様の挙動を示すことを検証する。これらの研究を通じて、ヒト iPS 細胞培養系を用いた肝疾患病態モデルを創成し、抗肝線維化療法開発への治療標的の探索と開発へ向けた学術・技術的な基盤形成に貢献すること、ヒト iPS 細胞の新たな研究応用性を開発することを本計画の目的とした。

3. 研究の方法

(1) ゲノム編集により標的遺伝子を改変したヒト iPS 細胞から肝前駆細胞への分化誘導

担当: 柿沼・紙谷(連携研究者), 研究協力者: 角田知之(東京医歯大・大学院生)

最初に、単一遺伝子の異常が線維化を惹起しうる疾患をターゲットとして、先天性肝線維症(CHF)を選択した。先天性肝線維症の責任遺伝子であるPKHD1を欠損するiPS細胞を樹立し、肝細胞及び胆管細胞を分化誘導し、形質を解析する。

形質を解析する過程で、whole transcriptome解析とcytokine array解析等を用いて網羅的に変動分子を抽出する。その結果に基づき、強制発現あるいは阻害剤添加により分子生物学的手法から検証実験を行う。また順調に進行しない場合はwhole transcriptome解析の結果を利用して、標的分子の候補を抽出し、他の分子による形質変化を確認する方向に変えてゆく。その形質がin vivoでも再現されるかを検証するため、nude mouseあるいはNOD/SCID mouseへの腎皮膜下移植を行い、同様の形質が維持されるかを検証する。

(2) ヒト iPS 細胞由来肝間葉系細胞(星細胞)の分化誘導法の確立と標的遺伝子の修飾による肝間葉系細胞誘導の効率化

担当: 柿沼・朝比奈・紙谷、研究協力者: 三好正人(東京医歯大・大学院生)

(1)と並行して、星細胞類似の細胞をヒト iPS 細胞から誘導する研究を進める。Preliminaryな検討で、独自の方法で考案し、ヒト iPS 細胞から誘導した間葉系細胞は、星細胞に類似した形態を呈し、脂肪滴の貯留が見られることが示された。しかし現在の誘導法ではFACSを用いて純化しないとheterogenousな細胞集団であり、継代を繰り返すと形質転換してしまう欠点がある。そこで、星細胞の静止期維持に重要な役割を有するLHX2、星細胞分化に重要であるWT1等の転写因子をPiggyBac Transposon系を利用して本細胞へ、テトラサイクリン誘導性に強制発現する細胞を構築する。並行してヒト肝星細胞株を用いて同様の検証を行うことで、細胞株との形質の差異を明らかにし、whole transcriptome解析とcytokine array解析より変動分子を抽出、shRNA発現あるいは阻害剤添加により分子生物学的手法から検証実験を行う。LHX2、WT1のみで十分な結果が出ない場合には、whole transcriptome解析の結果を利用して他の候補因子の強制発現に切り替えて進行させる。

(3) <iPS-derived Liver Organoid> の作成

担当: 柿沼・紙谷・朝比奈・渡辺、研究協力者: 佐藤綾子(東京医歯大・大学院生)、三好正人

前記のように作成したヒト iPS 細胞由来肝前駆細胞あるいは成熟化肝細胞とヒト iPS 細胞由来肝間葉系細胞を共培養し、肝組織を模倣しうる培養体の構築を進める。初期は2種の培養とするが、前記で誘導した胆管細胞系譜の細胞、既報に基づいて誘導可能な内皮細胞も用いて、他細胞種を用いた共培養を計画している。作成したOrganoidの機能判定として、マウスの腎被膜下移植により生着すること、部分肝切除後に細胞増殖がみられることを確認する。

肝前駆細胞と間葉系細胞でのそれぞれの遺伝子変動を網羅的に解析し、(1)(2)の解析で得られた結果とも統合的に解析し、治療標的の候補分子を抽出する。そしてこれらの解析による知見が、肝生検組織・患者血清でも同じ発現動態を呈するかを検証する。

4. 研究成果

(1) CHFモデルとして、ゲノム編集によりPKHD1を改変したヒト iPS 細胞から胆管細胞への分化誘導と機能解析

先天性肝線維症は、PKHD1 (Polycystic Kidney and Hepatic Disease 1)を責任遺伝子とする遺伝性肝疾患であり、進行性の肝線維化と細胆管の増生とを特徴とする。進行例では、小児期に肝不全を呈して肝移植が必要となる場合もある。本症では、炎症細胞の浸潤が乏しく、肝星細胞の活性化が乏しいこと、門脈域周囲にのみ広範な線維化が生じることから、通常の慢性肝炎に伴う肝硬変とは異なる線維化の病態があると考えられる。本症は、胎生期の胆管原器に異常を生じるductal plate malformationに起因することが示唆されているが、その病態には多くの不明点が残されている。そこで我々は、本症を模倣したiPS細胞培養系を構築することで、疾患モデルとして標的分子を探索できないか考えた。すなわち、疾患型ヒトiPS細胞株から胆管細胞系譜へ分化誘導し、本症で見られる特異な肝線維化のメカニズムを解明することを試みた。

健常者由来ヒトiPS細胞株に対してCRISPR/Cas9法を用いて、完全欠損させたPKHD1-KO iPS細胞株、及び非特異的挿入変異を考慮したコントロールとしてヘテロ欠損株 (PKHD1-Hetero iPS) を樹立した。これらのiPS細胞株を、連携研究者の既報 (Yanagida et al, *PLoS One*, 2013) に従い、*in vitro* で肝芽細胞系譜に分化誘導して株化し、胆管細胞系譜への分化誘導を行い、その形質を解析した。胆管細胞系譜への分化誘導により球形培養体が誘導された。これは細胞極性をもった一層のCK7陽性細胞から構成され、胆管細胞関連分子の発現が亢進していることから、胆管細胞の形質を呈するcholangiocytic cysts (CCs)であることが示された。PKHD1-KO CCsでは*PKHD1*遺伝子がコードするFibrocytinの発現が欠損しており、走査型電子顕微鏡による解析では、PKHD1-KO CCsでは一次繊毛の短縮と変形とが認められた。さらに、PKHD1-KO CCsでは、PKHD1-Hetero CCsに比べて大型のcystが有意に多く形成され、細胞増殖が亢進していることが明らかになった。

変動因子をみると、PKHD1-KO CCsにおいてインターロイキン (IL) -8の発現が顕著に亢進していた。IL-8産生は蛋白レベルでもPKHD1-KO CCで有意に亢進していることを確認したため、IL-8の関与を検証したところ、PKHD1-KO CCsに対してIL-8受容体拮抗剤を添加すると細胞増殖が抑制され、逆にPKHD1-Hetero CCsではIL-8の添加により細胞増殖が促進した。このことから、CHF型胆管細胞では、IL-8依存的にCCsの細胞増殖亢進がみられることが明確に示された。

次に、線維化に関与する分子を解析すると、PKHD1-KO CCsでは対照と比較してCTGF (結合組織成長因子) の産生が亢進していた。PKHD1-KO CCsにIL-8受容体拮抗剤を添加するとCTGFの産生が抑制され、Hetero CCsへのIL-8添加ではCTGFの産生上昇が認められたことから、PKHD1-KO CCsにおけるCTGF産生もIL-8依存的であることが示された。

IL-8およびCTGFの産生がPKHD1-KO CCsで亢進する機序を検討したところ、PKHD1-KO CCsではHetero CCsに比べてERKを含めたMAPキナーゼ経路の活性化が認められた。PKHD1-KO CCsに対して選択的MEK/ERK経路阻害剤を添加すると、IL-8およびCTGFの産生とCC形成が有意に抑制された。これらのことから、PKHD1-KO CCsでは自律的なERK経路の活性化がIL-8やCTGFの産生亢進を誘導することが示された。

最後に検証解析として、先天性肝線維症症例の血清及び肝生検検体を用いて解析を行った。CHF症例の血清中IL-8は全例で対照群 (同年齢小児のC型慢性肝炎症例) に比して高値であった。定量的PCRを用いた肝組織中の遺伝子発現比較では、CHF症例において肝組織中のIL-8およびCTGFの発現が、C型慢性肝炎症例と比較して有意に亢進していた (Tsunoda & Kakinuma et al, *J Hepatol*, 2019)。

CHFにおいてはIL-8およびCTGFの産生亢進が病態形成に重要であることが示された。さらに、IL-8シグナルの抑制により、異常な胆管形成と線維化の進展とを抑制できる可能性が示された。

(2) ヒトiPS細胞由来肝間葉系細胞(星細胞)の分化誘導法の確立と標的遺伝子の修飾による肝間葉系細胞誘導の効率化

我々はiPS-HSCsを誘導する独自の系の構築を試みた。ヒト肝星細胞の発生に関しては未だ不明な点が多く残されているが、マウスでの研究では一定の知見があり、中胚葉系譜、横隔間充織、中皮細胞を経て発生することが報告されている。

そこでヒトiPS細胞から中胚葉系譜への分化誘導に関する報告を基盤として、4つの因子 (FGF-2、BMP-4、Activin A、GSK3 β -inhibitor) を選択して誘導系を構築した。誘導した細胞は肝星細胞に発現するALCAM、NGFR、HGF、PPAR γ といった遺伝子群を発現すること、ビタミンA貯蔵能があること、TGF- β 1による活性化能を呈することから、肝星細胞と類似した形質を示すことが示され、既報でみられるようなiPS由来肝星細胞 (iPS-HSCs) であると考え、以下の検討を行った。

iPS-HSCsの機能的評価として、iPS-HPCsと共培養することで、iPS-HPCsの形質変化が誘導されるかについて検討した。iPS-HPCsとiPS-HSCsとを接触共培養したところ、iPS-HPCsにおけるアルブミン発現は、共培養により有意に顕著な発現亢進を認め、iPS-HPCsの肝成熟化を促進する効果を示した。

転写因子LHX2 (LIM homeobox 2) は、マウスでは肝星細胞の活性化を抑制することが報告され、LHX2欠損マウスの肝臓では、胎生期から線維化が進展し、肝発育不全や造血障害により胎生致死に至る [13]。しかしながら、ヒト肝星細胞におけるLHX2の機能は未だ不明であり、今回誘導したiPS-HSCsを用いて、LHX2のヒト肝星細胞における機能解析を行った。

Doxycycline依存的にLHX2強制発現を誘導可能なヒトiPS細胞株 (iLHX2) を作製した。このiLHX2から肝星細胞に誘導して作製したiLHX2-HSCsとiPS-HPCsとを接触共培養し解析を行ったところ、LHX2を強制発現したiLHX2-HSCsと共培養を行ったiPS-HPCsは、対照のDoxycycline非添加群に比べて α -fetoprotein、Albumin、アポ蛋白等の発現が有意に上昇しており、さらに培養上清中のAlbumin産生量も有意に増加し、肝細胞としての機能成熟化が促進されていることが示された。

最後にLHX2発現増強iPS-HSCsによる機能成熟化促進のメカニズムについて解析した。非接触共培養系では、接触共培養で得られたLHX2の肝成熟化促進効果は認められなかったことから液性

因子の関与は否定的だった。網羅的発現解析では、肝臓の細胞外マトリクスとして重要な構成成分であるコラーゲン、ラミニンの発現プロファイルがLHX2強制発現によって様々な変化をしていた。したがって、iPS-HSCsではLHX2発現を増強することで細胞外マトリクスの発現プロファイルが変化し、その変化がiPS-HPCsの肝細胞としての成熟化促進に重要であることが示唆され、iPS-HSCsにおけるLHX2の機能が本研究によって初めて示された (Miyoshi & Kakinuma et al, *Sci Rep*, 2019)。

(3) iPS-derived Liver Organoidの作成への試み

作成したヒトiPS細胞由来肝前駆細胞あるいは成熟化肝細胞とヒトiPS細胞由来肝間葉系細胞を共培養し、肝組織を模倣する培養体の構築を進めた。そのためにヒトiPS細胞由来肝前駆細胞あるいは成熟化肝細胞を用いた3次元培養系の樹立に着手した。ヒトiPS細胞由来肝前駆細胞をヒト胎児肝細胞由来オルガノイドで報告された既報の方法 (Hu et al, *Cell*, 2018) に従って3次元培養を行うと、その殆どが胆管細胞系譜の形質として増殖していた。従って、今後はiPS-HSCsなどの間葉系細胞の補助も得ながら、肝細胞形質を維持したままの培養系を構築することを目的に研究を進めた。

肝細胞と併存する胆管形成の調節においても、肝前駆細胞とその微小環境、特に肝間葉系細胞との細胞間相互作用が重要と考えられるが、本研究では肝間葉系細胞から分泌される液性因子としてVasoactive intestinal peptide (VIP)の重要性に着目した。ヒトiPS由来胆管細胞ではVIP受容体(VIPR)の発現を認め、iPS由来胆管細胞の管腔形成はVIPの添加によって有意に促進された。VIPRをknock downするとVIPによる管腔形成の促進効果は阻害された。VIPによる胆管管腔形成促進機構を解析したところ、胆管細胞におけるtight junctionの形成促進によることが示された (Sato & Kakinuma et al, *Hepatol Commun*, 2020)。

これらの結果に基づいて、今後の計画では、肝細胞オルガノイドの樹立と、星細胞との共培養系の確立を目指し、さらなる検討を行う必要があると考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計13件（うち査読付論文 13件／うち国際共著 4件／うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Tsunoda T, Kakinuma S, Miyoshi M, Kamiya A, Kaneko S, Sato A, Tsuchiya J, Nitta S, Kawai-Kitahata F, Murakawa M, Itsui Y, Nakagawa M, Azuma S, Sogo T, Komatsu H, Mukouchi R, Inui A, Fujisawa T, Nakauchi H, Asahina Y, Watanabe M	4. 巻 71
2. 論文標題 Loss of fibrocystin promotes interleukin-8-dependent proliferation and CTGF production of biliary epithelium	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Hepatology	6. 最初と最後の頁 143 ~ 152
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jhep.2019.02.024	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Sato A, Kakinuma S, Miyoshi M, Kamiya A, Tsunoda T, Kaneko S, Tsuchiya J, Shimizu T, Takeichi E, Nitta S, Kawai-Kitahata F, Murakawa M, Itsui Y, Nakagawa M, Azuma S, Koshikawa N, Seiki S, Nakauchi H, Asahina Y, Watanabe M.	4. 巻 4
2. 論文標題 Vasoactive Intestinal Peptide Derived From Liver Mesenchymal Cells Mediates Tight Junction Assembly in Mouse Intrahepatic Bile Ducts	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Hepatology Communications	6. 最初と最後の頁 235 ~ 254
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/hep4.1459	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Kakinuma S, Watanabe M.	4. 巻 42
2. 論文標題 Analysis of the mechanism underlying liver diseases using human induced pluripotent stem cells	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Immunological Medicine	6. 最初と最後の頁 71 ~ 78
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/25785826.2019.1657254	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Miyoshi M, Kakinuma S, Kamiya A, Tsunoda T, Tsuchiya J, Sato A, Kaneko S, Nitta S, Kawai-Kitahata F, Murakawa M, Itsui Y, Nakagawa M, Azuma S, Nakauchi H, Asahina Y, Watanabe M.	4. 巻 9
2. 論文標題 LIM homeobox 2 promotes interaction between human iPS-derived hepatic progenitors and iPS-derived hepatic stellate-like cells	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 2072
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-018-37430-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Nakagawa M, Nawa N, Takeichi E, Shimizu T, Tsuchiya J, Sato A, Miyoshi M, Kawai-Kitahata F, Murakawa M, Nitta S, Itsui Y, Azuma S, Kakinuma S, Fujiwara T, Watanabe M, Tanaka Y, Asahina Y	4. 巻 55
2. 論文標題 Mac-2 binding protein glycosylation isomer as a novel predictive biomarker for patient survival after hepatitis C virus eradication by DAAs	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Gastroenterology	6. 最初と最後の頁 990 ~ 999
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00535-020-01715-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Morikawa R, Nemoto Y, Yonemoto Y, Tanaka S, Takei Y, Oshima S, Nagaishi T, Tsuchiya K, Nozaki K, Mizutani T, Nakamura T, Watanabe M, Okamoto R.	4. 巻 11
2. 論文標題 Intraepithelial Lymphocytes Suppress Intestinal Tumor Growth by Cell-to-Cell Contact via CD103/E-Cadherin Signal	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology	6. 最初と最後の頁 1483 ~ 1503
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jcmgh.2021.01.014	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Sapena V, Enea M, Torres F, Celsa C, Rios J, Rizzo GEM, Nahon P, Marino Z, Tateishi R, Minami T, Sangiovanni A, Fornis X, Toyoda H, Brillianti S, Conti F, Degasperi E, Yu ML, Tsai PC, Jean K, El Kassas M, Shousha HI, Omar A, Zavaglia C, Nagata H, Nakagawa M, Asahina Y, et al	4. 巻 印刷中
2. 論文標題 Hepatocellular carcinoma recurrence after direct-acting antiviral therapy: an individual patient data meta-analysis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Gut	6. 最初と最後の頁 印刷中
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1136/gutjnl-2020-323663	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Nitta S, Takahashi K, Kawai-Kitahata F, Tsuchiya J, Sato A, Miyoshi M, Murakawa M, Itsui Y, Nakagawa M, Azuma S, Kakinuma S, Watanabe M, Asahina Y.	4. 巻 50
2. 論文標題 Time course alterations of virus sequences and immunoglobulin titers in a chronic hepatitis E patient	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Hepatology Research	6. 最初と最後の頁 524 ~ 531
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/hepr.13480	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nitta S, Asahina Y, Kato T, Tsuchiya J, Inoue-Shinomiya E, Sato A, Tsunoda T, Miyoshi M, Kawai-Kitahata F, Murakawa M, Itsui Y, Nakagawa M, Azuma S, Kakinuma S, Hikita H, Takehara T, Watanabe M.	4. 巻 9
2. 論文標題 Impact of novel NS5A resistance-associated substitutions of hepatitis C virus detected in treatment-experienced patients	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 5722
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-42114-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kawai-Kitahata F, Asahina Y, Kaneko S, Tsuchiya J, Sato A, Miyoshi M, Tsunoda T, Inoue-Shinomiya E, Murakawa M, Nitta S, Itsui Y, Nakagawa M, Azuma S, Kakinuma S, Tanabe M, Sugawara E, Takemoto A, Ojima H, Sakamoto M, Muraoka M, Takano S, Maekawa S, Enomoto N, Watanabe M.	4. 巻 49
2. 論文標題 Comprehensive genetic analysis of cholangiolocellular carcinoma with a coexistent hepatocellular carcinoma like area and metachronous hepatocellular carcinoma	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Hepatology Research	6. 最初と最後の頁 1466 ~ 1474
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/hepr.13403	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Inoue-Shinomiya E, Murakawa M, Asahina Y, Nakagawa M, Tsuchiya J, Sato A, Tsunoda T, Miyoshi M, Nitta S, Kawai-Kitahata F, Itsui Y, Azuma S, Kakinuma S, Murata K, Mizokami M, Watanabe M.	4. 巻 49
2. 論文標題 Association of serum interferon 3 levels with hepatocarcinogenesis in chronic hepatitis C patients treated with direct acting antiviral agents	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Hepatology Research	6. 最初と最後の頁 500 ~ 511
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/hepr.13307	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kirino S, Tsuchiya K, Kurosaki M, Kaneko S, Inada K, Yamashita K, Osawa L, Hayakawa Y, Sekiguchi S, Okada M, Wang W, Higuchi M, Takaura K, Maeyashiki C, Tamaki N, Yasui Y, Nakanishi H, Itakura J, Takahashi Y, Asahina Y, Izumi N.	4. 巻 15
2. 論文標題 Relative dose intensity over the first four weeks of lenvatinib therapy is a factor of favorable response and overall survival in patients with unresectable hepatocellular carcinoma	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 PLoS ONE	6. 最初と最後の頁 e0231828
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0231828	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Azuma S, Asahina Y, Kakinuma S, Azuma K, Miyoshi M, Inoue E, Tsunoda T, Sato A, Kaneko S, Nagata H, Kawai-Kitahata F, Murakawa M, Nitta S, Itsui Y, Tomita M, Nakagawa M, Watanabe M.	4. 巻 37
2. 論文標題 Diabetic Retinopathy as a Risk Factor Associated with the Development of Hepatocellular Carcinoma in Nonalcoholic Fatty Liver Disease	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Digestive Diseases	6. 最初と最後の頁 247 ~ 254
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1159/000493580	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計18件 (うち招待講演 3件 / うち国際学会 4件)

1. 発表者名 柿沼 晴
2. 発表標題 【シンポジウム臓器領域別再生医療の最前線】肝・胆道:ヒトiPS細胞由来肝臓構成細胞による肝線維症の病態解析
3. 学会等名 第20回 日本再生医療学会総会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 柿沼 晴
2. 発表標題 ヒトiPS細胞由来肝臓構成細胞の疾患モデルへの応用
3. 学会等名 第27回 肝細胞研究会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 柿沼 晴、佐藤綾子、三好正人、紙谷聡英、土屋 淳、志水太郎、北畑富貴子、村川美也子、新田沙由梨、井津井康浩、中川美奈、東 正新、朝比奈靖浩、渡辺 守.
2. 発表標題 肝間葉系細胞によるvasoactive intestinal peptideを介した胆管形成調節機構
3. 学会等名 第27回 肝細胞研究会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 佐藤綾子、柿沼 晴、志水太郎、土屋 淳、三好正人、北畑富貴子、村川美也子、新田沙由梨、井津井康浩、中川美奈、東 正新、朝比奈 靖浩.
2. 発表標題 Vasoactive intestinal peptideの肝内胆管形成および胆汁うっ滞性肝障害への寄与
3. 学会等名 第24回 日本肝臓学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 佐藤綾子、柿沼 晴、朝比奈靖浩
2. 発表標題 【シンポジウム肝疾患と微小環境】肝間葉系細胞由来vasoactive intestinal peptideによる胆管形成の促進機構
3. 学会等名 第56回 日本肝臓学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Fukiko Kawai-Kitahata, Yasuhiro Asahina , Sei Kakinuma, Miyako Murakawa, Sayuri Nitta, Masato Miyoshi, Ayako Sato, Jun Tsuchiya, Taro Shimizu, Eiko Takeichi, Mina Nakagawa, Yasuhiro Itsui, Seishin Azuma, Shinji Tanaka , Minoru Tanabe, Shinya Maekawa, Nobuyuki Enomoto, Mamoru Watanabe.
2. 発表標題 Comprehensive analysis of cancer-related genes and AAV/Hepatitis B virus integration into genome on development of hepatocellular carcinoma in patients with prior Hepatitis B virus infection.
3. 学会等名 EASL The Digital International Liver Congress 2020 (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 柿沼 晴、角田知之、朝比奈靖浩
2. 発表標題 【シンポジウム消化器疾患における最先端のトランスレーショナルリサーチ】ヒトiPS細胞を用いた肝線維症における分子標的の探索
3. 学会等名 第106回 日本消化器病学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 角田知之、柿沼 晴、渡辺 守
2. 発表標題 【シンポジウム 1:技術革新がもたらした消化器研究のパラダイムシフト】ヒト iPS 細胞を用いた疾患モデルによる肝線維化の病態研究.
3. 学会等名 第105回 日本消化器病学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 三好正人、柿沼 晴、渡辺 守
2. 発表標題 【ワークショップ:肝構成細胞の病態生理】転写因子 LHX2のヒトiPS細胞由来肝星細胞様細胞における機能の解析.
3. 学会等名 第55 回日本肝臓学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Asahina Y, Kawai-Kitahata F, Murakawa M, Nitta S, Itsui Y, Nakagawa M, Azuma S, Kakinuma S.
2. 発表標題 Comprehensive analysis of cancer gene mutations and viral integration in hepatocellular carcinoma arising from non-fibrotic liver.
3. 学会等名 AASLD The Liver Meeting 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 佐藤綾子、柿沼 晴、土屋 淳、三好正人、角田知之、井津井康浩、中川美奈、東 正新、朝比奈靖浩、渡辺 守.
2. 発表標題 Vasoactive intestinal peptide による胆管形成調節の分子機序.
3. 学会等名 第26回肝細胞研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 柿沼 晴.
2. 発表標題 [会長賞受賞講演]ヒトiPS細胞による疾患モデルを利用した先天性肝線維症分子標的の探索.
3. 学会等名 JDDW2019 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 三好正人、柿沼 晴、渡辺 守
2. 発表標題 【統合シンポジウム:肝移植と肝再生の現状と展望】ヒト iPS 細胞由来肝星細胞様細胞による肝前駆細胞機能の調節.
3. 学会等名 JDDW2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 角田知之、柿沼 晴、渡辺 守
2. 発表標題 ヒトiPS 細胞を用いた先天性肝線維症病態モデルの 樹立と分子標的の探索
3. 学会等名 第54回日本肝臓学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 三好正人、柿沼晴、金子俊、紙谷聡英、佐藤綾子、角田知之、四宮恵美、北畑富貴子、新田沙由梨、村川美也子、井津井康浩、中川美奈、東正新、朝比奈靖浩、渡辺 守
2. 発表標題 ヒトiPS細胞由来星細胞様細胞における転 写因子LHX2の機能解析
3. 学会等名 第54回日本肝臓学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Asahina Y, Kawai-Kitahata F, Murakawa M, Nitta S, Nakagawa M, Kakinuma S, Watanabe M
2. 発表標題 Gene Mutational Profile and Viral Integration in Hepatocellular Carcinoma with or without HBV/HCV Suppression.
3. 学会等名 AASLD The Liver Meeting 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Nakagawa M, Asahina Y, Kawai-Kitahata F, Murakawa M, Nitta S, Itsui Y, Azuma S, Kakinuma S, Tomita M, Watanabe M
2. 発表標題 Post-Treatment M2BPGi Level Is Useful for Predicting HCC Occurrence and Recurrence after Viral Eradication in Chronic Hepatitis C Patients.
3. 学会等名 AASLD The Liver Meeting 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 角田知之、柿沼 晴、朝比奈靖浩
2. 発表標題 iPS細胞先天性肝線維症病態モデルによる胆管細胞異常に起因する肝線維化における免疫応答の解析
3. 学会等名 第42回日本肝臓学会東部会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Kakinuma S., Kamiya A (In: Tanimizu N)	4. 発行年 2019年
2. 出版社 Springer Nature	5. 総ページ数 248
3. 書名 A Rodent Model for Cell Transplantation of Hepatic Progenitor Cells (Hepatic Stem Cells)	

〔産業財産権〕

〔その他〕

Press release

http://www.tmd.ac.jp/english/press-release/20190416_1/index.html

ヒトiPS細胞由来肝星細胞の作製と細胞間相互作用を介した肝細胞の成熟化に成功

http://www.tmd.ac.jp/archive-tmd/kouhou/20190215_1.pdf

ヒトiPS細胞を用いた疾患モデルを開発し、難治性肝疾患の病態解明に成功

http://www.tmd.ac.jp/archive-tmd/kouhou/20190319_1.pdf

Website寄稿

ヒトiPS細胞を利用した肝疾患モデル(肝細胞研究会・研究交流) <http://hepato.umin.jp/kouryu/kouryu54.html>

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	朝比奈 靖浩 (ASAHINA Yasuhiro) (00422692)	東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・寄附講座教授 (12602)	
研究分担者	渡辺 守 (WATANABE Mamoru) (10175127)	東京医科歯科大学・高等研究院・特別荣誉教授 (12602)	

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	三好 正人 (MIYOSHI Masato)	東京医科歯科大学・消化器病態学・プロジェクト助教 (12602)	
研究協力者	角田 知之 (TSUNODA Tomoyuki)	東京医科歯科大学・消化器病態学・大学院生 (12602)	
研究協力者	佐藤 綾子 (SATO Ayako)	東京医科歯科大学・消化器病態学・大学院生 (12602)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
連携研究者	紙谷 聡英 (KAMIYA Akihide) (30321904)	東海大学・医学部・准教授 (32644)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関		
米国	Stanford University School of Medicine		