

平成 22 年 6 月 16 日現在

研究種目：基盤研究（B）
 研究期間：2007～2009
 課題番号：19390340
 研究課題名（和文） 微小血管ネットワークを有する高次肝組織の生体内での再構築
 研究課題名（英文） Engineering three dimensional hepatic tissue with microvascular networks in vivo
 研究代表者 小池 直人 (KOIKE NAOTO)
 横浜市立大学医学研究科客員研究員
 研究者番号：50301081

研究成果の概要（和文）：

血管ネットワークを有する高次組織の創出は再生医療などの領域で高い期待が寄せられているものの、その再構築技術は十分に確立されていない。本研究では、ヒト高次再生組織の創出を目的として、まずヒト臍帯静脈血管内皮細胞（HUVEC）とヒト間葉系幹細胞（hMSC）のフィブロネクチンコラーゲンゲルへの3次元包埋培養によるヒト型微小血管ネットワークの再構築を *in vitro* で行った。次に、この細胞を包埋したフィブロネクチンコラーゲンゲルの微小片をマウス頭部観察窓（cranial window）内に移植することにより、*in vivo* でヒト型微小血管系の再構築を行い、更にそれを基盤に血管ネットワークを有するヒト高次肝組織の創出を試みた。

研究成果の概要（英文）：

Creation of the highly functional three dimensional (3-D) tissue with microvascular networks has been eagerly waited for regenerative medicine, however, the technology of such reconstitution is not established enough. The final goal of our study is creation of human highly functional and complicated tissues. To reach this final goal, we first seeded human umbilical-vein endothelial cells (HUVECs) and human mesenchymal stem cells (hMSC) in a three-dimensional fibronectin-collagen gel and reconstituted human 3D microvessels *in vitro*. Next, we reconstituted this human microvessels *in vivo* by transplanting a small piece of this fibronectin-collagen gel embedded HUVEC and hMSC in mouse cranial windows and aimed at the creation of human 3D hepatic tissue with microvascular network.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	6,000,000	1,800,000	7,800,000
2008年度	4,400,000	1,320,000	5,720,000
2009年度	3,900,000	1,170,000	5,070,000
年度			
年度			
総計	14,300,000	4,290,000	18,590,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・外科学一般

キーワード：移植外科学、人工微小血管

1. 研究開始当初の背景

本研究課題は、各領域において世界を先導している研究代表者の血管網再構築技術と研究分担者の肝幹細胞操作技術を融合させることにより、「微小血管

ネットワークを有する高次肝組織の生体内での再構築」を実現化するための研究計画である。肝臓は生命の維持に必須の臓器であり、臓器不全の際には肝移植が唯一の治療方法である。一般論として幹細胞

を用いた再生医療に期待はあるものの、現実的には肝細胞移植の臨床的有効性は低く、細胞移植という方法論には医療技術的に限界がある。したがって、肝臓領域における再生医療は高次肝組織そのものを再構成することが最終的に有効な方法だと思われる。肝臓のような大型臓器を再構成する試みを達成するためには、その前段階として、血管網構築を伴った微小組織の再構築研究が必要となる。生体外で肝組織を再構成する研究は、いわゆるバイオ人工肝臓の開発研究として実施されており、肝細胞や共培養する間葉系細胞、それらを3次元に構築する際に必要な細胞足場材料等に様々な工夫を加えながら行われている。しかし、高次機能を有する肝組織を生体内において再構成するための研究は、これまでは主に大型組織の再構築に必須とされる血管化技術の未熟性のため阻まれてきた。本研究は、この主要な問題点を克服するために最先端の血管網再構築技術を取り入れるものであり、肝臓だけにとどまらず様々な組織の再構築のための基盤技術となることが期待された。-

2. 研究の目的

血管ネットワークを有する高次肝組織を生体内において再構築する手法を確立することにより、組織再構築における細胞間相互作用や血流因子の解析を行い、血管ネットワークの再構成を伴った高次機能を発揮可能な移植用組織を開発するための基盤技術を創出することを目的とする。

(1) 生体下で組織をライブ観察するための細胞の蛍光標識技術の確立: Enhanced green fluorescence protein (EGFP) や Kusabira orange (KO) retrovirus vector を使用することにより、少なくとも2種類以上の異なった細胞群を別々に蛍光標識することを試みる。本研究では肝細胞、内皮細胞、間葉系細胞と血流を含めると4種類の異なった要素を別々に可視化する必要がある。

(2) 微小肝組織を維持する為の新たなヒト型微小血管ネットワークの開発: ヒト型組織の構築を目指し、マウス由来の C3H10T1/2 から human Mesenchymal Stem Cell (hMSC) に変更し Nature 誌 (Koike N et al., Nature 2004) で Cranial window 内で構築したものと同様な微小血管網の構築を試みる。微小血管ネットワーク構築のプロセスはライブ観察を行い、Nature 誌と同様な定量化を試みる。

(3) 肝組織構築過程の観察とその過程における血管内皮細胞や間葉系細胞の意義の評価: 本研究は肝組織の構築過程をライブ観察する世界初のモデルである。肝細胞のみの移植と、肝細胞と内皮細胞・間葉系細胞を共に移植した場合とで、この再構築過程で構造や生体内での組織生存期間に差がでるかを計時的にライブ観察する。

3. 研究の方法

(1) Cranial window の作製

NOD/SCID マウス (Sankyo Labo Service Co., Tokyo, Japan) を用い、Cranial window 作製は Dellian らの方法 (Dellian M et al., Am J Pathol 1996) に従って行った。

(2) 細胞培養

ヒト臍帯静脈血管内皮細胞 (Human Umbilical

Vascular Endothelial Cells: HUVEC) (Cambrex CL CC-2517-NZ)、ヒト間葉系幹細胞 human Mesenchymal Stem Cell (hMSC) (Cambrex CL PT-2501)、ヒト胎児肝臓細胞 (ACBRI CS-ABI-3716) を用いた

(3) 移植細胞への蛍光色素遺伝子導入

モロニーマウス白血ウイルスの LTR 部分に改変が加えられた pGCD Δ NsamEGFP 及び pGCD Δ NsamKO ベクターを用い、pGCD Δ Nsam-EGFP 及び pGCD Δ Nsam-KO レトロウイルスベクターの作製を作成した。

(4) ゲル包埋培養法及びクラニアルウインドウへの移植法

hMSC の微小血管ネットワーク構築における意義を探るために HUVEC のみと HUVEC+hMSC の混合培養をゲル包埋培養で行い比較検討した。次に、血管ネットワークの肝組織構築における意義を探るために、ヒト胎児肝臓細胞のみとヒト胎児肝臓細胞+HUVEC+hMSC の混合培養をゲル包埋培養で行い比較検討した。この際の条件は Nature 誌に掲載したとおりとした。

(5) in vitro での観察

37°C 5% CO₂ 条件下にて 3 次元包埋培養を行い、定時的に蛍光顕微鏡下にて毎回できる限り同じ部位の写真撮影を行い、定点観測とした。

(6) in vivo での観察

移植後のライブ観察は、ケタミン・キシラジン混合麻酔下でマウスを仰臥位固定し、倒立蛍光顕微鏡を用いて cranial window 内の微小肝組織や血管網の血流状態の計時的変化を観察した。血流を観察する際には、PBS により 10 mg/ml とした Rhodamin-Dextran MW 2 million (Molecular probes) をトレーサーとし尾静脈から注射し、ホスト血流を蛍光色素で可視化することにより観察を行った。

(7) 微小血管網の定量化

撮影した画像を用い、ソフトウェア NIH image で必要な計測を行い、そのデータから MGH Dr.Jain の研究室で作製されたマクロプログラムで、移植後 1 週目より 8 週目までの血管の密度、平均径を算出し、グラフとして表示した。

(8) 組織学的解析

計測終了時に 4% paraformaldehyde/PBS により還流固定後移植組織を脳とともに摘出、パラフィン切片を作成した。Hematoxylin & Eosin (HE) 染色を行い形態観察を行った。免疫染色は、上記の切片を用い、蛍光抗体免疫染色と酵素抗体免疫染色で行った。一次抗体は Monoclonal Rat Anti-Mouse Ki-67 Antigen: DAKO、Monoclonal Mouse Anti-Human CD31: DAKO、Polyclonal Rabbit Anti-Cow Keratin (MW: 58 kD: Cytokeratin 5, Cytokeratin 7, 56 kD: Cytokeratin 6, 52 kD: Cytokeratin 8, Cytokeratin 17): DAKO、Monoclonal Anti-α Smooth Muscle Actin: SIGMA、PECAM-1: Santa Cruz Biotechnology を用いた。

4. 研究成果

(1) 細胞の蛍光標識技術の確立

細胞標識のため、HUVEC および hMSC に pGCD Δ Nsam-EGFP 及び pGCD Δ Nsam-KO レトロウイルスベ

クターを各々4日間感染させ、フローサイトメーターにより感染率を測定した。感染率が99.9%となったHUVEC-EGFPと、感染率が82.7%であったhMSC-KO、感染率が88.7%であったヒト胎児肝臓細胞-KOを以後の移植実験に用いた。これらの細胞に形態的異常は観察されなかった。

(2) 微小肝組織を維持する為の新たなヒト型微小血管ネットワークの開発

HUVECとhMSCのフィブロネクチンコラーゲンゲルへの3次元包埋培養による微小血管ネットワーク再構築を試みた。hMSCがマウスC3H10T1/2同様、新生血管の成熟安定に関わるかどうかを、HUVEC-EGFPのみの群とHUVEC-EGFPとhMSC(-KO)の混合培養群とで比較した。

(A) in vitro

微小血管網の形態形成と微小血管網におけるhMSCの分布を倒立蛍光顕微鏡にて経時的に観察した。培養0日目では各細胞が散在しているが、培養2日目ではspindle shapeに形態を変えたHUVEC-EGFPの連結することにより血管ネットワーク様の構造が観察された。培養4日目ではHUVEC-EGFPで形成されたネットワークに管腔構造が確認され、hMSC-KOがHUVEC-EGFPで形成されたネットワーク周囲を覆うように存在する様子が観察された。このように混合培養群では、培養0日目から培養6日目にかけて多数の血管ネットワークの形成が確認された。一方、単独培養群では、培養0日目では多数のHUVEC-EGFPの生存が確認されるものの、培養6日目では殆どのHUVEC-EGFPが死滅し、血管ネットワークの形成は全く確認出来なかった。

(B) in vivo

(a) 微小血管ネットワークの構築過程と細胞の局在

HUVEC-EGFP、hMSC-KOを混合包埋培養したフィブロネクチンコラーゲンゲルをマウスcranial window内へ移植し、蛍光顕微鏡により経時的に観察を行った。その結果、in vitro同様に移植直後ではHUVEC-EGFPとhMSC-KOは散在しているが、移植後1週目よりHUVEC-EGFP同士によるネットワーク形成とともに管腔構造が見られ、移植後2週目では形成されたネットワークがより高密度となることが明らかとなった(Fig.1, a, b, c)。移植後3週目ではHUVEC-EGFPからなるネットワーク周囲を包み込むようなhMSC-KOの局在が観察され(Fig.1, d)、この局在は日数経過とともにより高頻度に確認され(Fig.1, e, f, g, h, i)、移植後8週目まで維持された。この混合培養群に対し単独培養群では移植後0週目では多数のHUVEC-EGFPの生存が確認されるものの、移植後3週目では殆どのHUVEC-EGFPが死滅し、血管ネットワークは認められなかった。

(b) 微小血管ネットワークの定量化

cranial window内移植後に形成されたヒト血管ネットワークの定量化を行うため、再構成された血管ネットワークの画像解析を行い、総ての血管、HUVEC-EGFPのみで構成される血管、hMSC-KOを有する血管の三群に分類して、単位面積当りの血管密度・総血管長・平均血管径を定量解析した。その結果、移植後3週目まではHUVEC-EGFPのみから成

るヒト血管が形成されており、その後、ほぼ全ての血管がhMSC-KOに接触していることが示された(Fig.2, a, b, c)。この、hMSC-KOと接触した血管の血管密度は、移植後5週目から移植後8週目まで単位面積の30%(SE±0.5%)で維持され、そのとき平均血管径は直径8μm(SE±0.45μm)で維持された(Fig.2, a, b, c)。

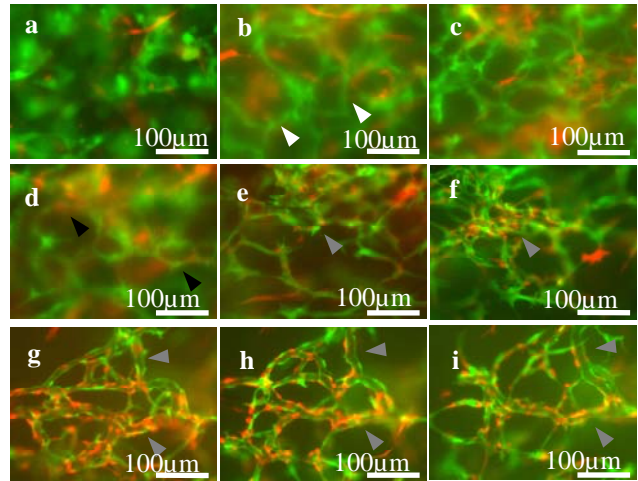


Fig.1 in vivoにおけるHUVEC-EGFP、hMSC-KOによるヒト血管ネットワークの再構築

(a)移植後0週目(b)1週目(c)2週目(d)3週目(e)4週目(f)5週目(g)6週目(h)7週目(i)8週目経過観察像。移植後0週目ではHUVEC-EGFP、hMSC-KOは共に散在して認められるが、移植後1週目よりHUVEC-EGFP細胞同士が集積したネットワーク構造が見られるようになり(白矢頭)、日数経過に伴って形成されたネットワークは更に密度を増していった。移植後3週目ではHUVEC-EGFPからなるネットワークを取り囲むようにhMSC-KOの局在が観察された(黒矢頭)。hMSC-KOに周囲を支持されたHUVEC-EGFPネットワーク接着は移植後8週目まで維持されることが確認された(灰矢頭)。

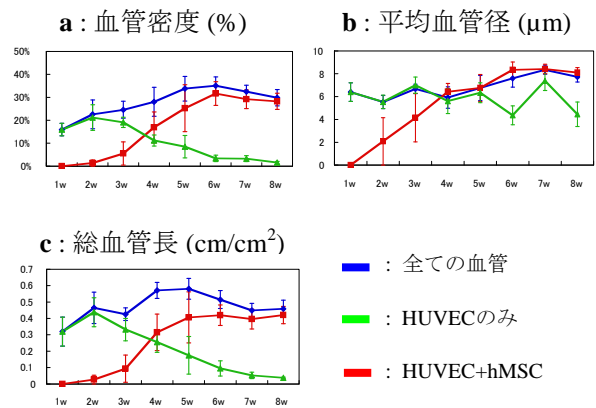


Fig.2 再構成されたヒト血管ネットワークの定量化

(c) 微小血管ネットワークでの血流観察

再構成された血管の機能を確認するため、HUVEC-EGFP及び、hMSC-KOを移植後、マウスの尾静脈より蛍光色素(Rhodamin-Dextran)を注射し、cranial window内で再構築された血管ネットワークが

宿主の循環系と連結し、血流を有するようになるかを観察した。その結果、移植後 2 週目に構築された血管の一部で血流が認められた。また、移植後 8 週目まで維持された血管においては、ほぼ全ての血管で血流が確認された。

(d) 微小血管ネットワークの組織解析

vivo で形成された微小血管網の組織学的解析を行った。移植後 1,2,8 週目の *cranial window* 内のゲルを摘出して作成した HE 染色標本では、移植後 1 週目より血管様管腔構造が確認された。再構築された管腔構造は移植後 2 週目および 8 週目においても確認された。さらに、移植後 8 週目の組織について血管内皮細胞マーカー(PECAM-1)と平滑筋マーカー(α -SMA)の発現を検討したところ、再構成された血管様構造内で PECAM-1 陽性細胞が α -SMA 陽性細胞に囲まれて存在していることが確認された。

以上の結果より、HUVEC と hMSC の混合培養でも *Nature* 誌に掲載された HUVEC とマウス C3T101/2 の混合培養時と同様に、長期安定した完全ヒト型微小血管ネットワークが再構築できることが証明された。また、hMSC は混合培養後、微小血管の壁細胞に分化し、微小血管の成熟安定化に重要な役割を果たすことが示唆された。

本研究により確立した生体内への血流を有するヒト型微小血管ネットワークの再構築技術は、大型臓器の創出に向けた要素技術として必須であると考えられ、再生医学の発展に大きく貢献できると考えられる。さらに、*Cranial window* 法は移植後の細胞挙動を追跡観察することが可能であるため、血管ネットワークを有する高次組織の再構築過程を明らかにすることで、組織の機能維持に働く組織幹細胞のニッチと言われる“*vascular niche*”の解明が出来ると考えられる。現在までに、各組織の幹細胞と“*vascular niche*”の関係は有用な解析系が存在しなかったため殆ど明らかとされておらず、本研究で開発されたヒト血管ネットワーク再構成法はこれらの未解明な事象の研究基盤となりうると考えられる。

(3) 微小血管ネットワークを有するヒト型微小肝組織の再構築

確立したヒト型微小血管ネットワーク再構築法を用いて、高次構造を有するヒト肝組織の再構成を試みた。各移植細胞の動態を明確にするため、移植に先立ち、レトロウイルスベクターを用いて各移植細胞に異なる蛍光タンパク質の発現を誘導した。その際、HUVEC には pGCD Δ Nsam-EGFP を導入し、ヒト胎児肝臓細胞に pGCD Δ Nsam-KO を導入した。このとき、遺伝子導入の前後でヒト胎児肝臓細胞の形態や増殖性に変化は認められなかった。HUVEC-EGFP を 8.0×10^5 個/ml、hMSC を 2.0×10^5 個/ml、ヒト胎児肝臓細胞-KO を 1.0×10^7 個/ml の細胞密度で 1ml の I 型コラーゲンゲルにて包埋し、クラニアルウインドウ内へ移植し、経時的に観察を行った。移植直後ではヒト胎児肝臓細胞と HUVEC は散在して認められたが、移植後 1 週目には微小血管ネットワークの構築が確認され、移植後 5 週経過した観察像からはヒト胎児肝臓細胞は集塊となって観察され

(Fig.3a)、その中に EGFP 陽性の HUVEC からなる血管網が認められた(Fig.3b)。次に、ヒト肝組織創出再構成系においてヒト胎児肝細胞の存在が及ぼす影響を検討するため、HUVEC・hMSC のみの移植群と HUVEC・hMSC・ヒト胎児肝臓細胞の移植群間で、移植後構築された血管の単位面積あたりの血管密度・平均血管径・総血管長を比較検討した。その結果、移植後 5 週目の組織において HUVEC・hMSC・ヒト胎児肝臓細胞移植群での血管密度の増加が確認された(Fig.4)。さらに、組織学的解析の結果、HUVEC・hMSC・ヒト胎児肝臓細胞移植群において、血管様構造とともに、上皮様細胞から構成される管腔構造が確認され、このうちの一部では胆管様構造が観察された。このとき、再構成された組織中では、血管様構造とともにサイトケラチン陽性細胞から構成される細胞クラスターやアルブミン陽性細胞集団が多数観察され、血管構造を有する肝組織が再構成されたと考えられた。本研究により、生体内における血管ネットワークを有するヒト肝組織の再構成法の基礎が確立され、肝臓組織の再構成過程を動的に解析するための基盤技術が開発されたといえる。しかしながら、形態的には細胞の異型、組織の構造異型がやや強く、移植肝細胞が transform している可能性が否定できなかった。今後、安定した正常な肝組織の構築とその成熟過程の定量化を試みる予定である。

以上の成果は第 8 回、及び 9 回日本再生医療学会総会にて発表した。

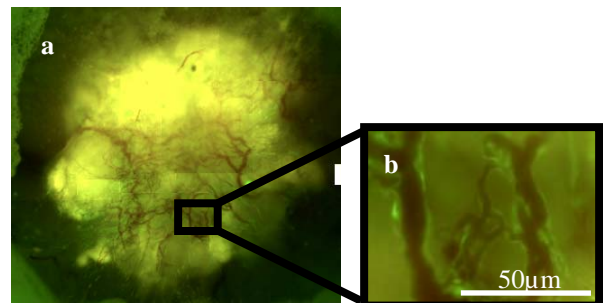


Fig. 3 HUVEC-EGFP, hMSC、ヒト胎児肝臓細胞-KO 同時移植後の微小血管ネットワークを有するヒト肝臓組織

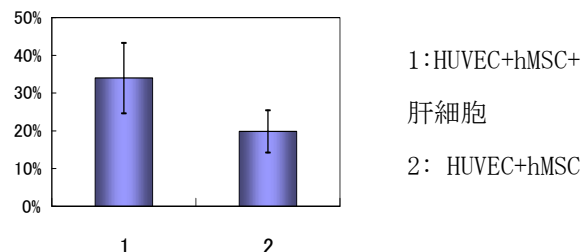


Fig. 4 ヒト胎児肝臓細胞内の微小血管網の血管密度

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 16 件)

Cho A, Gunji H, Koike N, Narumoto S, Asano T, Yamamoto H, Kainuma O, Ryu M, Mori C, Murakami G, Okazumi S, Ochiai T: Intersegmental arterial communication between the medial and left lateral segments of the liver. *Dig Surg* 24 (5): 328-30, 2007.

Yamamoto Y, Togo S, Zheng YW, Kubota T, Taniguchi H, Shimada S: Adult rat hepatic bipotent progenitor cells remain dormant even after extensive hepatectomy. *Sound Repair and Regeneration* 15: 422-429 2007

Chiba T, Zhen YW, Kita K, Yokosuka O, Saisho H, Onodera M, Miyoshi H, Nakano M, Zen Y, Nakanuma Y, Nakauchi H, Iwama A, Taniguchi H: Enhanced self-renewal capability in hepatic stem/progenitor cells drives cancer initiation. *Gastroenterology* 133: 937-950 2007

Yamamoto T, Noiri E, Ono Y, Doi K, Negishi K, Kamijo A, Kimura K, Fujita T, Kinukawa T, Taniguchi H, Nakamura K, Goto M, Shinozaki N, Ohshima S, Sugaya T: Renal L-Type Fatty Acid-Binding Protein in Acute Ischemic Injury *Journal of the American Society of Nephology* 18:2894-2902 2007

Kita K, Watanabe T, Ohsaka K, Hayashi H, Kubota Y, Nagashima Y, Aoki I, Taniguchi H, Noce T, Inoue K, Miki H, Ogonuki N, Tanaka H, Ogura A, Ogawa T : Production of Functional Spermatids from Mouse Germline Stem Cells in Ectopically Reconstituted Seminiferous Tubules. *Biol Reprod.* 76(2):211-7 2007

Oshima Y, Suzuki A, Kawashimo K, Ishikawa M, Ohkohchi N, Taniguchi H : Isolation of mouse pancreatic ductal progenitor cells expressing CD133 and c-Met by flow cytometric cell sorting. *Gastroenterology* 132(2):720-732 2007

Okamura A, Zheng Y W, Hirochika R, Tanaka J, Taniguchi H : In vitro reconstitution of hepatic tissue architectures with neonatal mouse liver cells using three-dimensional culture. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology* 7(2):721-5 2007

Zhao W, Hirose T, Ishikawa M, Oshima Y, Hirai S, Ohno S, Taniguchi H. Neonatal pancreatic cells redifferentiate into both neural and pancreatic lineages. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 352(1):84-90.2007

Suzuki A, Sekiya S, Büscher D, Izpisua Belmonte JC, Taniguchi H: Tbx3 controls the fate of hepatic progenitor cells in liver development by suppressing p19ARF expression. *Development* 135: 1589-1595, 2008

Cho A, Asano T, Yamamoto H, Nagata M, Takiguchi N, Kainuma O, Souda H, Gunji H, Miyazaki A, Nojima H, Ikeda A, Matsumoto I, Ryu M, Koike N: Hepatic hilar resection for hilar cholangiocarcinoma based on a reclassification. *Hepatogastroenterology* 55 (86-87): 1764-1765 2008

Suzuki A, Sekiya S, Onishi M, Oshima N, Kiyonari H, Nakauchi H, Taniguchi H.: Flow cytometric isolation and

clonal identification of self-renewing bipotent hepatic progenitor cells in adult mouse liver. *Hepatology* 48(6) 1964-78 2008

Chiba T, Miyagi S, Saraya A, Aoki R, Seki A, Morita Y, Yonemitsu Y, Yokosuka O, Taniguchi H, Nakauchi H, Iwama A: The polycomb gene product BMI1 contributes to the maintenance of tumor-initiating side population cells in hepatocellular carcinoma. *Cancer Research* 68(19):7742-9. 2008

小池直人、趙明浩、有田誠司、大河内信弘：長期生存が得られた腹膜播種を伴う有茎型肝細胞癌の 1 切除例. *日本臨床外科学会雑誌* 69 (11): 2956-2959 2008

谷口英樹、上野康晴：肝臓における組織幹細胞. *日本臨床* 66: 932-938 2008

Taniguchi H, Chiba T: Stem cells and cancer in the liver. *Dis Markers* 24: 223-229 2008

小池直人、Dai Fukumura, Rakesh K Jain, 谷口英樹：ヒト幹細胞を用いた in vivo における微小血管網の構築とその応用. *Organ Biology* 16 (3) : 349-357 2009

Yamaguchi H, Shimizu M, Ban S, Koyama I, Hatori T, Fujita I, Yamamoto M, Kawamura S, Kobayashi M, Ishida K, Morikawa T, Motoi F, Unno M, Kanno A, Satoh K, Shimosegawa T, Orikasa H, Watanabe T, Nishimura K, Ebihara Y, Koike N, Furukawa T: Intraductal tubulopapillary neoplasms of the pancreas distinct from pancreatic intraepithelial neoplasia and intraductal papillary mucinous neoplasms. *Am J Surg Pathol.* 33(8): 1164-1172 2009

Koike N, Cho A, Nasu K, Seto K, Nagaya S, Ohshima Y, Ohkohchi N: Role of diffusion-weighted magnetic resonance imaging in the differential diagnosis of focal hepatic lesions. *World J Gastroenterol.* 15(46): 5805-5812 2009

谷口英樹：【ヒト細胞の創薬研究への利用】ヒト肝幹細胞の創薬研究への応用. *移植* 44: 178-182 2009

谷口英樹：【幹細胞研究の最近の進歩 多能性幹細胞】幹細胞の臨床応用 糖尿病の再生治療へ向けた多角的アプローチ. *最新医学* 64: 1434-1444 2009

谷口英樹：【ここまできた再生医学・再生医療】最先端の幹細胞研究 幹細胞を用いた肝組織構造の再構成に向けて. *Surgery Frontier* 16: 264-265 2009

谷口英樹：iPS 細胞から肝細胞を分化誘導する意義. *臨床検査* 53: 1609-1613 2009

谷口英樹：【ヒト幹細胞による薬物代謝・トランスポート・副作用予測 iPS・ES 細胞・間葉系細胞を用いた新たな創薬スクリーニング】膵β細胞の分化誘導系の創薬スクリーニングへの利用. *医学のあゆみ* 232: 110-116 2010

[学会発表] (計 22 件)

小池直人、有田誠司、柏原英彦、大河内信弘：膵疾患における MRI 拡散強調画像の意義. 第 107 回日本外科学会定期学術集会 April 11-13, 2007. (大阪)

小池直人、有田誠司、井坂直秀、柏原英彦、伴慎一、

大河内信弘：主膵管を広汎に進展する粘液産生に乏しい膵管内乳頭粘液性腺癌の1切除例。第20回日本肝胆膵外科学会・学術集会 June 6-8 2007 (横浜)

Koike N, Arita S, Isaka S, Kashiwabara H, Ban S, Ohkohchi N: A successfully resected case of intraductal papillary-mucinous carcinoma without mucin secretion widely growing through the main pancreatic duct. International Surgical Week 2007 August 26-30 2007 Montreal Canada

小池直人、有田誠司、田中元、大島祐二、川島太一、武内俊章、山本盛夫、大河内信弘：Metallic stentとマイクロウェーブ焼灼術(MCT)により長期生存した肝外胆管癌の一例。第7回千葉肝胆膵外科フォーラム October 6 2007 (千葉)

小池直人、関谷武司、有田誠司、大島祐二、川島太一、武内俊章、山本盛雄、田中元：当院におけるダブルバルーン内視鏡の経験。第19回千葉消化管フォーラム November 7 2007 (千葉)

谷口英樹：ヒト研究用モデル細胞としての幹細胞クローン。第25回日本ヒト細胞学会学術集会 Aug.3-4,2007 (東京)

谷口英樹：組織幹細胞と“がん幹細胞”。第17回日本サトメトリ学会学術集会 June 7-8,2007 (横浜)

Taniguchi H: Excessive self-renewal of hepatic stem cells derives cancer initiation. 2007 Soon Chun hyang Stem Cell Symposium 15 Sep. 2007 (Seoul)

Taniguchi H: Excessive self-renewal of hepatic stem/progenitor cells drives cancer initiation. 第66回日本癌学会学術総会 Oct.3-5, 2007 (横浜)

谷口英樹、仲野晶、岡村愛、田中順三：膵島創出へ向けた細胞操作技術の開発。第34回日本臓器保存生物医学学会学術集会 Nov.16-17,2007 (札幌)

谷口英樹：細胞を用いた治療の臨床応用をめざして移植用組織の人為的創出へ向けた細胞操作技術の開発。第108回日本外科学会定期学術集会 May.15-17, 2008 (長崎)

小池直人、田中元、有田誠司、大島祐二、川島太一、武内俊章、大河内信弘：エコーにて無黄疸で発見された早期肝外胆管癌の1切除例。第20回日本肝胆膵外科学会・学術集会 May 28-30 (山形)

小池直人、長屋重幸、有田誠司、田中元、大島祐二、川島太一、武内俊章、山本盛雄、大河内信弘：肝細胞癌におけるMRI拡散強調画像の意義。第63回日本消化器外科学会総会 July. 17-18, 2008 (札幌)

小池直人、有田誠司、大島祐二、川島太一、武内俊章、廣橋健太郎、田中元：異時性両側副腎転移巣の繰り返し切除を行った肝細胞癌の1例。第8回千葉肝胆膵外科フォーラム September 13 2008 (千葉)

谷口英樹：Hepatic stem cellとcancer stem cell肝臓における組織幹細胞と癌幹細胞(cancer stem cell)。第12回日本肝臓学会大会 Oct.10-13. 2008 (東京)

小池直人、大島祐二、田中元、廣橋健太郎、武内俊章、川島太一、有田誠司、篠崎英司、河上牧夫：大腸癌化学療法中進行する脾腫に対し腹腔鏡下脾

摘を施行した1例。第14回千葉内視鏡外科研究会 January 31 2009 (千葉)

仲野晶、藤原綾二、小池直人、千葉豊生、網谷猛、岡村愛、Dai Fukumura, Rakesh K Jain, 上野康晴、鄭允文、谷口英樹：In vivoにおける血管ネットワーク構造を有するヒト高次肝像組織の再構築。第8回日本再生医療学会総会 March 5-6, 2009 (東京)

小池直人、趙明浩、有田誠司、大島祐二、武内俊章、川島太一、田中元、河上牧夫、大河内信弘：腎静脈グラフトを用い門脈再建を先行させた肝門部胆管癌に対する拡大肝右葉切除術。第21回日本肝胆膵外科学会・学術集会 June 10-12 2009 (名古屋)

Koike N, Cho A, Ohshima Y, Arita S, Takeuchi T, Tanaka H, Kawakami M, Ohkohchi N: Extended right hepatectomy with portal vein resection and reconstruction used by renal vein graft prior to hepatic dissection for hilar cholangiocarcinoma. International Surgical Week 2009 September 7-10 2009 (Adelaide Australia)

小池直人、大島祐二、佐藤慎二：当院におけるPTCDの実験。第45回日本胆道学会学術集会 September 18-19 2009 (千葉)

小池直人、眞崎義隆：当院における自家癌ワクチンの経験。第6回がんワクチン療法研究会 October 31 2009 (京都)

藤原綾二、小池直人、千葉豊生、Dai Fukumura, Rakesh K Jain, 関根圭輔、上野康晴、鄭允文、谷口英樹：in vivoにおける血管ネットワークを有したヒト肝組織再構成系の確立。第9回日本再生医療学会総会 March 18-19 2010 (広島)

〔図書〕(計1件)

谷口英樹(分担執筆)：再生医療工学の技術 シーエムシー出版 251 2007

6. 研究組織

(1)研究代表者：小池直人
(横浜市立大学医学研究科客員研究員)

研究者番号：50301081

(2)研究分担者：谷口英樹
(横浜市立大学医学研究科教授)

研究者番号：70262555

(2)研究分担者：鄭允文
(横浜市立大学医学部助教)

研究者番号：80404995