

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 26 日現在

機関番号：32653

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25293278

研究課題名(和文) Nrf2の賦活化は過食肥満マウスにおける脂肪性肝炎の発症と肝発癌の誘発を抑止する

研究課題名(英文) Nrf2 activation inhibits steatohepatitis and liver cancer in overeating-induced obese mice.

研究代表者

有泉 俊一 (Ariizumi, Syunnichi)

東京女子医科大学・医学部・講師

研究者番号：40277158

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,900,000円

研究成果の概要(和文)：近年、顕著な増加を示している疾患が非アルコール性脂肪性肝炎(NASH)である。本研究では新しいモデルマウスとしてヒトNASHに非常に類似した病態を呈するSqstm1/Nrf2二重欠失マウス(DKO)を作製し、NASH発症メカニズムに迫った。DKOマウスのNASH発症メカニズムには、過食肥満病態下における腸内環境変化によるLPS産生増加、腸管バリア機能障害による腸管透過性の亢進、肝のLPSに対する異物排除機構の障害、これに関連した自然免疫反応の亢進が重要であると考えられた。DKOマウスをさらに解析することで、未だ運動療法か食事療法以外に手技のないNASHの克服への端緒となることが期待される。

研究成果の概要(英文)：We generated double knockout (DKO) mice without Sqstm1 and Nrf2 genes. To confirm a hypothesis for bacteria-induced metabolic liver disease, we focused on the endotoxin produced by Gram-negative bacteria. In DKO mice, severe NASH was developed with the pathological state of steatohepatitis after 30 weeks. The serum endotoxin levels were significantly higher in DKO mice than those in WT mice. Furthermore, the intestinal permeability, and the gram-negative bacteria levels and endotoxin in feces were all increased significantly in DKO mice. DKO mice had a significant decrease in Kupffer cells (KCs)' phagocytic function compared with WT. The overload of serum endotoxin induced by the modification of intestine microbiota, the increase of intestinal permeability and the impaired clearance of LPS by KCs dysfunction were considered to be important for the progression of NASH in DKO mice. DKO mouse is a novel animal model that develops mature-onset NASH.

研究分野：肝臓外科学

キーワード：肥満 脂肪性肝炎 肝発癌 転写因子 動物モデル

1. 研究開始当初の背景

(1) 近年、運動不足と食生活の欧米化によって本邦の肥満人口が増加しており、それに伴い顕著な増加を示している疾患が非アルコール性脂肪性肝炎 (Non-alcoholic steatohepatitis; NASH) である。日本では200万人以上が NASH を罹患していると推定され今後も増加することが予想される。また、NASH の一部は肝硬変、肝癌まで進行するため、NASH は慢性肝疾患における最大の問題となると考えられる。

(2) NASH の発症機序としては、食事因子や炎症を誘導するである酸化ストレスや内臓脂肪由来の炎症性サイトカイン、腸由来のエンドトキシンなどが並行して肝臓に作用することで引き起こされる「multiple parallel hits hypothesis」が提唱されている。特に、エンドトキシンは肥満ともなう高レプチン血症において過剰な炎症反応を引き起こし非アルコール性脂肪性肝炎の進展に関与することが知られている。しかし、発症機序の詳細なメカニズムについては未だ明らかになっていない。

(3) 従来モデルに対し、我々の作製した *Sqstm1/Nrf2* 二重欠失マウスは、通常食餌による飼育下で NASH を自然発症する。本マウスは、加齢とともにゆっくりと病態が進行していき、ヒトの NASH 病態と非常に類似した、これまでに例のないモデルマウスである。*Sqstm1* はストレス応答、摂食調節に関与しているタンパク質であり、*Sqstm1* 欠損マウスは過食肥満となる。また *Nrf2* は酸化ストレスに対する生体防御の中心的役割を果たす転写因子であり、*Nrf2* 欠損マウスは酸化ストレス感受性が亢進する。いずれの単独欠損マウスでは NASH を発症しないが、これらの遺伝子を二重に欠損することで、初めて NASH があらわれる。

2. 研究の目的

新しい NASH モデルである *Sqstm1/Nrf2* 二重欠失マウスを用いて、臓器連関の観点より肝と腸管の解析を行い、NASH の発症メカニズムについて探索した。

3. 研究の方法

(1) 動物実験：野生型 (WT), *Nrf2* 欠失, *p62* 欠失, *Sqstm1/Nrf2* 二重欠失マウス (DKO) の 8 週, 30 週目より血液、肝臓、腸管、糞便を採取した。

(2) 病理組織学的検討：各群より採取した肝臓は、HE 染色及びシリウスレッド染色を行った。また、腸管は、HE 染色を行った。

(3) 生化学的検討：血清中 ALT, AST は、外部委託し、測定した。空腹時血糖は、グルコース CII-テストワコーを用いて測定した。血清中のインスリン濃度とレプチン濃度は、ELISA キットを用いて測定した。空腹時血糖値とインスリン濃度より HOMA-IR を算出し、インスリン抵抗性の指標とした。血清中

糞便中エンドトキシン濃度は、Pyrochrome LAL kit を用いて行った。

(4) 腸内細菌叢の解析：凍結糞便試料より 16S rRNA を抽出し、T-RFLP 法により腸内細菌叢を測定した。

(5) 腸管透過性試験：各種マウスを 16 時間絶食した後、FITC-デキストラン 0.5mg/kg を強制経口投与した。投与 0, 1, 2, 3, 6 時間後に眼底採血し、血中の FITC-デキストランの濃度を測定した。

(6) クッパー細胞の機能解析：各種マウスに対して、小動物用 MRI を用いて SPIO-MRI 撮影を施行した。投与前と投与 20 分後の T2 強調画像を撮影し、T2 値の変化を評価した。

(7) クッパー細胞の表現型の解析：各種マウスにコラゲナーゼ IV 溶液の灌流を行い、30G 遠心により非肝実質細胞を分取し、各種抗体を用いて FACS 解析を行った。用いた抗体は以下の通りである。抗 F4/80 抗体 (eBioscience), 抗 CD11b 抗体, 抗 CD206 抗体 (BioLegend) を用いた。

(8) 炎症応答の解析：肝臓より mRNA を抽出し、realtimePCR を行い炎症に関わる遺伝子 (*TNF- α* , *IL-1 β* , *TLR2*, *TLR4*, *TLR6*, *TLR9* 等) 発現を解析した。

4. 研究成果

(1) DKO マウスにおける NASH 病態の発症と進展：通常食飼育下において約 10 週齢以降に過食による肥満と単純性脂肪肝を認め、30 週齢以降に NASH を発症した。また、30 週齢 DKO マウスにおいて血清中 AST 濃度が有意に高値であった。また、DKO マウスは 8 週齢よりインスリン抵抗性の指標である HOMA-IR が有意に高値であった。

(2) DKO マウスにおけるエンドトキシン (LPS) 濃度の増加：8 週齢では、4 群で有意な差は認められなかった。一方、30 週齢では糞便中 LPS 濃度が *Sqstm1* 欠失、DKO マウスで有意に増加し、血清中 LPS 濃度は DKO マウスでのみ有意に増加した。

(3) グラム陰性菌の割合の増加：8 週齢では、4 群で有意な差は認められなかった。一方、30 週齢では糞便中 LPS 濃度が DKO マウスで有意に増加した。

(4) 腸管透過性の亢進：腸管の病理組織は NASH 発症前の 8 週齢で *Nrf2* 欠失マウス、DKO では腸管上皮の萎縮や脱落が認められた。また、FITC-デキストランを経口投与し、その後血中への FITC を測定することにより、腸管透過性の評価をしたところ、*Nrf2* 欠失マウス、DKO マウスでは WT と比べ有意に透過性が亢進した。

(5) クッパー細胞の貪食能の低下：肝臓における LPS のクリアランスに重要な役割を果たすと考えられるクッパー細胞の貪食能について SPIO-MRI を用いて解析した。SPIO は、クッパー細胞に選択的に取り込まれることが知られており、SPIO 投与前後における T2 値の変化量を測定することにより、クッ

パー細胞の貪食能を評価した。Nrf2 欠失, Sqstm1 欠失、DKO マウスにおいて WT と比べ, T2 値の変化量が低下した。このことから, SPIO の取り込み能, つまりクッパー細胞の貪食能が低下することが明らかとなった。

(6) クッパー細胞の M1 型へシフト: フローサイトメトリにて表面マーカーである CD11b (M1 型), CD206 (M2 型) を解析した。DKO マウスでは, NASH 発症前の 8 週齢で CD11b (M1 型) が有意に増加していた。一方, CD206 (M2 型) には差が認められなかった。また, Nrf2 欠失, DKO において MARCO 陽性の細胞の割合が有意に低値であった。

(7) 若齢時からの肝臓の炎症の惹起: 各種マウスの肝臓から mRNA を抽出し, 遺伝子発現を調べた。NASH 病態を認める 30 週齢において, DKO マウスは WT に比べ TNF- α , IL-1 β , TLR2, TLR4, TLR6, TLR9 の遺伝子発現量が有意に増加していた。さらに, 興味深いことに, NASH 発症前と考えられる 8 週齢においても各種遺伝子の発現量が増加していた。

以上の結果から, DKO マウスの NASH 発症, 進展には以下ことが考えられる。DKO マウスは加齢とともにグラム陰性菌の増大し, 糞便中 LPS が増加する。また, 8 週齢の若齢時から腸管透過性の亢進していることから, 肝臓へ流入してくる LPS が増大すると考えられる。さらにクッパー細胞の貪食能の低下, M1 型へのシフトを認めるため, 肝臓へ LPS が蓄積し, 炎症がさらに増大する。これら LPS を中心とした自然免疫反応の活性化と炎症性障害の持続が重要な役割を演じていることが考えられた。

しかし, DKO マウスは全身で両遺伝子が欠損しているため, NASH 発症に重要な組織・細胞の特定が困難である。また, NASH 発症機序における各種組織・細胞での両遺伝子の分子機構が明らかとなっていないことも問題点である。そのため, 今後 DKO マウスの任意の組織・細胞において各遺伝子をレスキューしたマウスを作製し, NASH 発症機序における重要な組織・細胞の特定, および各種臓器での両遺伝子の分子機構が明らかにする必要がある。

Sqstm1/Nrf2 二重欠失マウスの NASH 発症には肝臓と腸管が関わっており, その中心には LPS の関与が疑われた。また, DKO マウスは multiple parallel hits hypothesis を支持するモデルマウスである可能性が示唆された。

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 23 件)

(1) Ariizumi S, Yamamoto M. Intrahepatic

cholangiocarcinoma and cholangiolocellular carcinoma in cirrhosis and chronic viral hepatitis. Surgery Today 2015; 45: 682-687.

- (2) Kawamoto T, Ishige K, Tomas M, Yamashita Y, Shu S, Ishikura N, Ariizumi S, Yamamoto M, Kurosaki K, Shoda J. Overexpression and gene amplification of EGFR, HER2, and HER3 in biliary tract carcinomas, and the possibility for therapy with the HER2-targeting antibody pertuzumab. J Gastroenterol 2015; 50: 467-479.
- (3) Fujimoto A, Furuta M, Shiraishi Y, Gotoh K, Kawakami Y, Arihiro K, Nakamura T, Ueno M, Ariizumi S, Ha HN, Shigemizu D, Abe T, Keith A. B, Nakano K, Sasaki A, Kitada R, maejima K, Yamamoto Y, Tanaka H, Shibuya T, Shibata T, Ojima H, Shimada K, Hayami S, Shigekawa Y, Aikata H, Ohdan H, Marubashi S, Yamada T, Kubo M, Hirano S, Ishikawa O, Yamamoto M, Yamae H, Chayama K, Miyano S, Tsunoda T, Nakagawa H. Whole-genome mutational landscape of liver cancers displaying biliary phenotype reveals hepatitis impact and molecular diversity. Nature Communications 2015; 6: 6120-6127.
- (4) Horie M, Warabi E, Komine S, Oh S, Shoda J. Cytoprotective role of Nrf2 in electrical pulse stimulated C2C12 myotube. PLoS One 201510.
- (5) Matsuda A, Kuno A, Nakagawa T, Ikegaya Y, Irimura T, Yamamoto M, Nakanuma Y, Miyoshi E, Nakamori S, Nakanishi H, Viwatthanasittiphong C, Strivatanakul P, Miwa M, Shoda J, Narimatsu H.: Highly sensitive measurement of qualitative changes in glycosylation of mucin 1 for serodiagnosis of cholangiocarcinoma. Anal Chem 87:7274-81, 2015.
- (6) Oh S, Tanaka K, Chiaki K, Tsujimoto T, So R, Shida T, Shoda J: Total Volume of Moderate-Vigorous Physical Activity a Week is an Important Factor Improving the Pathophysiology of Obesity-Related Liver Disease. Hepatology 61:1205-15, 2015.
- (7) Suzuki H, Roa JC, Kawamoto T, Ishige K, Shoda J, Wistuba II, Li D, Thomas MB.: Expression of insulin-like growth factor receptor (IGFR) as a useful biomarker for predicting prognosis in biliary tract cancer patients. Mol & Clin Oncol 3:464-70, 2015.
- (8) Yamaguchi T, Yokoyama Y, Ebata T, Matsuda A, Kuno A, Ikegaya Y, Narimatsu H, Shoda J, Nagino M. Verification of WFA-sialylated MUC1 as a sensitive biliary biomarker for human biliary tract cancer. Anal Sug Oncol 10: e0144835, 2015.
- (9) Shiraishi Y, Fujimoto A, Furuta M, Tanaka

- H, Chiba K, Keith AB, Abe T, Kawakami Y, Ueno M, Gotoh K, Ariizumi S, Shibuya T, Nakano K, Sasaki A, Maejima K, Kitada R, Hayami S, Shimosegawa Y, Marubashi S, Yamada T, Kubo M, Ishikawa O, Aikata H, Arihiro K, Ohden H, Yamamoto M, Yamaue H, Chayama K, Tsunoda T, Miyano S, Nakagawa H. Integrated Analysis of Whole Genome and Transcriptome Sequencing Reveals Diverse Transcriptomic Aberrations Driven by Somatic Genomic Changes in Liver Cancers. PLOS ONE 2014; 9: e114263.
- (10) Ariizumi S, Kotera Y, Katagiri S, Nakano M, Nakamura T, Saito A, Yamamoto M. Long-term survival of patients with cholangiolocellular carcinoma after curative hepatectomy. Ann Surg Oncol 2014; 21(Suppl3): 451-458.
- (11) Chen I, Ariizumi S, Nakano M, Yamamoto M. Positive glypican-3 expression in early hepatocellular carcinoma predicts recurrence after hepatectomy. J Gastroenterol 2014; 49: 117-125.
- (12) Mu H, Ariizumi S, Katagiri S, Egawa H, Yamamoto M. An extended dysfunctional area in the congestive area of the remnant liver after hemi-hepatectomy with middle hepatic vein resection for liver cancers evaluated on the gadoxetic acid disodium-enhanced magnetic resonance imaging. JHBPS 2014; 21: 64-71.
- (13) Nakanuma Y, Sato Y, Ojima H, Kanai Y, Aishima S, Yamamoto M, Ariizumi S, Furukawa T, Hayashi H, Unno M, Ohta T. Clinicopathological characterization of so-called "cholangiocarcinoma with intraductal papillary growth" with respect to "intraductal papillary neoplasm of bile duct (IPNB)". Int J Clin Exp Pathol 2014; 7: 3112-3122.
- (14) Seto K, Shoda J, Horibe T, Warabi E, Kohno M, Yanagawa T, Bukawa H, Nakanuma Y, Kawakami Y. Interleukin-4 receptor α -based hybrid peptide effectively induces antitumor activity in biliary tract cancer cells. Int J Hepatol 2014, doi.org/10.1155/2014/584650
- (15) Oh S, Tanaka K, Tsujimoto T, So R, Eto M, Shoda J. Regular Exercise Coupled to Diet Regimen Accelerates Reduction of Hepatic Steatosis and Associated Pathological Conditions in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. Metabolic Syndrome & Related Disorders 12:290-98, 2014.
- (16) Miyahara N, Ishida H, Ueda T, Kawamoto T, Akimoto Y, Kawakami H, DiGiovanni J, Kiguchi K, Irimura T, Shoda J. Interaction of Muc4 and ErbB2 in a transgenic mouse model of gallbladder carcinoma: potential pathobiological implications. Oncol Rep 32:1796-1802, 2014.
- (17) Onuki K., Sugiyama H., Ishige K., Kawamoto T., Ota T., Ariizumi S, Yamato M., Kadota S., Takeuchi K., Ishikawa A., Onodera M., Onizawa K., Yamamoto M, Miyoshi E., Shoda J: Expression of N-acetylglucosaminyltransferase V in the subserosal layer correlates with postsurgical survival of pathological tumor stage 2 carcinoma of the gallbladder. J Gastroenterol 49:702-714, 2014.
- (18) Seto K, Shoda J, Horibe T, Warabi E, Ishige K, Yamagata K, Kohno M, Yanagawa T, Bukawa H, Kawakami K: Interleukin-4 receptor α -based hybrid peptide effectively induces antitumor activity in head and neck squamous cell carcinoma. Oncology Report 29:2147-53, 2013.
- (19) Harada H, Warabi E, Matsuki T, Yanagawa T, Okada K, Uwayama J, Ikeda A, Nakaso K, Kirii K, Noguchi N, Bukawa H, Siow R, Mann G, Shoda J, Ishii T, Sakurai T: Deficiency of p62/Sequestosome 1 causes hyperphagia due to leptin resistance in the brain. J Neuroscience 33:14767-14777, 2013.
- (20) Ito T, Kimura S, Seto K, Warabi E, Kawauchi Y, Shoda J, Tabuchi K, Yamagata K, Hasegawa S, Bukawa H, Ishii T, Yanagawa T: Peroxidoxin I plays a protective role against UVA irradiation through reduction of oxidative stress. J Dermatol Sci 74:9-17, 2014.
- (21) Ariizumi S, Kotera Y, Takahashi Y, Katagiri S, Yamamoto M. Impact of Hepatectomy for Huge Solitary Hepatocellular Carcinoma. Journal of surgical oncology. 2013; 107: 408-413.
- (22) Itoh S, Tanaka K, Warabi E, Shoda J: Exercise training decreases elevated serum ferritin and lipid peroxidation marker levels in middle-aged obese men with non-alcoholic fatty liver disease. Medicine & Science in Sports & Exercise 45:2214-22, 2013.
- (23) Matsuda A, Kuno A, Matsuzaki H, Kawamoto T, Shinkai T, Nakanuma Y, Yamamoto M, Ohkohchi N, Ikehara Y, Shoda J, Hirabayashi J, Narimatsu H: Glycoproteomics-based cancer marker discovery adopting dual enrichment with Wisteria floribunda agglutinin for high specific glyco-diagnosis of cholangiocarcinoma. J Proteomics 85:1-11, 2013.

〔学会発表〕(計 19 件)

- (1) 有泉俊一, 小寺由人, 高橋豊, 他.80 歳以上の肝細胞癌患者に対する肝切除. 第 77 回日本臨床外科学会総会、2015、福岡国際会議場 (福岡県福岡市) .

- (2) 有泉俊一, 中野雅行, 山本雅一. 混合型肝癌と細胆管細胞癌は臨床像、切除成績が異なる. 第 20 回日本外科病理学会学術集会. 2015、ホテル アバローム紀の国 (和歌山県和歌山市).
- (3) 有泉俊一, 山本雅一, 片桐聡. 細胆管細胞癌は予後良好だが混合型肝癌は予後不良である. 第 13 回日本消化器外科学会大会. 2015、グランドプリンスホテル新高輪 (東京都港区).
- (4) 有泉俊一, 山本雅一, 片桐聡, 他. 慢性肝炎合併 ICC と細胆管細胞癌の切除成績は異なり, それぞれ独立した原発性肝癌である. 第 51 回日本肝癌研究会. 2015、神戸国際会議場 (兵庫県神戸市).
- (5) 有泉俊一, 小寺由人, 高橋豊, 他. Right hepatectomy for hepatocellular carcinoma by the Glissonian pedicle approach. 第 70 回日本消化器外科学会総会 2015、アクトシティ浜松 (静岡県浜松市).
- (6) Ariizumi S. The Tumor Shape in the Hepatobiliary Phase Predicts Microvascular Invasion and Intrahepatic Metastasis of Hepatocellular Carcinoma. The 6th Asia-Pacific Primary Liver Cancer Export Meeting. 2015, Hyatt Regency Osaka (Japan).
- (7) 有泉俊一, 小寺由人, 高橋豊, 他. リンパ節転移陽性肝内胆管癌の治療戦略. 第 27 回日本肝胆膵外科学会 2015, ホテル グランパシフィック LE DAIBA (東京都港区).
- (8) 有泉俊一, 小寺由人, 山本雅一. 肝内胆管癌には術後補助療法が予後向上に有用である. 第 51 回日本肝臓学会総会 2015 ホテル日航熊本 (熊本県熊本市).
- (9) Akiyama K, Warabi E, Okada K, Ariizumi S, Yamamoto M, Shoda J. *p62:Nrf2* double knockout mice develop steatohepatitis through the serum endotoxin overload. The 25th Conference of the Asian Pacific Association for the Study of the Liver 2016, Tokyo (Japan).
- (10) Ikeuchi M, Warabi E, Nagaoka T, Ariizumi S, Yamamoto M, Shoda J. The effect of female hormones on NAFLD in *p62* knockout mice. The 25th Conference of the Asian Pacific Association for the Study of the Liver 2016 Tokyo (Japan).
- (11) 有泉俊一, 中野雅行, 山本雅一. 肝細胞腺腫の新たな診断法と限局性結節性過形成の再診断. 第 19 回日本外科病理学会学術集会 2014 沖縄県医師会館 (沖縄県島尻郡).
- (12) Ariizumi S. Surgical Outcome of Patients with Hepatocellular Carcinoma Showing High Intensity in the Hepatobiliary Phase of Gadoteric Acid Disodium-Enhanced Magnetic Resonance Images. The 39th Biennial World Congress of the International College of Surgeons. 2014 Bali (Indonesia).
- (13) 有泉俊一, 小寺由人, 高橋豊, 他. 術後補助療法は進行肝内胆管癌の予後を改善する. 第 26 回日本肝胆膵外科学会学術集会、2014 ホテル アバローム紀の国 (和歌山県和歌山市).
- (14) Ariizumi S, Katagiri S, Kotera Y, Takahashi Y, Egawa H, Yamamoto M. Repeat Hepatectomy for Patients with Intrahepatic Recurrence of Hepatocellular Carcinoma. 4th International Kyoto Liver Cancer Symposium 2014 Kyoto (Japan).
- (15) 有泉俊一, Chen I, 片桐聡, 他. Glypican3 陽性の早期肝細胞癌は二次発癌が高率である. 第 50 回日本肝癌研究会 2014 国立京都国際会館 (京都府京都市).
- (16) 有泉俊一, 小寺由人, 高橋豊, 他. 肝細胞癌の Stage 分類 (T 因子) を加えた新しい治療アルゴリズム. 第 114 回日本外科学会定期学術集会 2014 国立京都国際会館 (京都府京都市).
- (17) Ariizumi S, Kotera Y, Takahashi Y, Yamamoto M. Long-term survival of patients with cholangiocellular carcinoma after curative hepatectomy. 11th World Congress of the International Hepato-Pancreato-Biliary Association. 2014 Seoul (Korea).
- (18) Akiyama K, Ikeuchi M, Shoda J, Warabi E. *p62* and *Nrf2* deficiency is associated with progression of nonalcoholic steatohepatitis. The 17th biennial meeting of society for free radical research international 2014 Kyoto (Japan).
- (19) Akiyama K, Warabi E, Okada K, Ikeuchi M, Kose K, Shoda J. Deletion of both *p62* and *Nrf2* spontaneously leads to development of steatohepatitis in mice. The Liver Meeting 2014-AASLD, The 65th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Boston (USA) 2014.
- { 図書 } (計 5 件)
- (1) Ariizumi S, Yamamoto M. Elsevier Modern Gastrointestinal Oncology. Surgical Management of Hepatocellular Carcinoma in Japan. 2015, 978-8131239155.
- (2) 正田純一: 胆汁酸とその分画 新・検査値のみかた 中外医学社 (東京) pp.218-19, 2015.

- (3) Shoda J: Epidemiology and Pathogenesis of Hepatocellular Carcinoma. In: Hepatocellular Carcinoma. Ohkochi N, ed. NOVA Science Publishers, New York, pp. 1-23, 2014.
- (4) 正田純一, 松田厚志, 久野 敦, 池原 譲, 成松 久, 大河内信弘, 山本雅一, 中沼安二: 肝内胆管癌の新規バイオマーカー Hepatology Practice 文光堂(東京), pp. 286-88, 2014.
- (5) 正田純一: 生活習慣と胆道癌-胆管癌集団発症への対策も含めて Annual Review 消化器 2014 中外医学社(東京) pp.258-262, 2014.

6. 研究組織

(1)研究代表者

有泉 俊一 (ARIIZUMI SYUNNICHI)
東京女子医科大学・医学部・講師
研究者番号：40277158

(2)研究分担者

中山 正道 (NAKAYAMA MASAMITI)
東京女子医科大学・医学部・講師
研究者番号：00338980

柳川 徹 (YANAGAWA TORU)
筑波大学・医学医療系・准教授
研究者番号：10312852

山本 雅一 (YAMAMOTO MASAKAZU)
東京女子医科大学・医学部・教授
研究者番号：60220498

宇都宮 洋才 (UTSUNOMIYA HIROTOSHI)
和歌山県立医科大学・共同利用施設・准教授
研究者番号：60264876

後藤 直宏 (GOTO NAOHIRO)
東京海洋大学・海洋科学技術研究科・准教授
研究者番号：60323854

蕨 栄治 (WARABI EIJI)
筑波大学・医学医療系・講師
研究者番号：70396612

正田 純一 (SHODA JUNNICHI)
筑波大学・医学医療系・教授
研究者番号：90241827