

綜 説

羊膜細胞の再生医学への応用

二階堂敏雄* 衛 俊萍 高島誠司
安尾将法 張 合林 趙 鵬 福山哲広
信州大学大学院医学研究科臓器発生制御医学講座

The Application of Amniotic Cell for Regenerative Medicine

Toshio NIKAIDO, Junping WEI, Seiji TAKASHIMA
Masanori YASUO, Zhang HELIN, Peng ZHAO and Tetsuhiro FUKUYAMA
Department of Organ Regeneration, Institute of Organ Transplants,
Reconstructive Medicine and Tissue Engineering, Shinshu University Graduate School of Medicine

Key words: stem cell, regeneration, amniotic membrane, diabetes, chondrocyte
幹細胞, 再生, 羊膜, 糖尿病, 軟骨

概 要

近年、臓器機能を失ってしまった患者に対し、細胞移植療法が、臓器移植の進化的代替法として期待されるようになった。細胞移植療法は、細胞を適所に生着させることで機能補助・補完するという方法であり、臓器移植に比しドナーおよびレシピエントの精神的・肉体的な負担を軽減し、加えて移植源の確保が比較的容易になることが期待できる。ここ数年における幹細胞研究の飛躍的な進展があり、特にヒト胚性幹細胞(ES細胞)の樹立がさらにこの方法論の幅を広げつつある。しかし、ES細胞を含めたこれらの候補には、使用における倫理的問題の解決、移植時の免疫反応の回避、ドナー細胞の確保など、様々な問題を抱えている。このような背景から筆者らは、上記の問題点の解決が期待できる新たな細胞源として、胎児由来組織のうち、分娩後に廃棄される羊膜に着目している。本稿においては、羊膜細胞を用いた膝疾患や肝疾患への細胞移植療法の可能性について、著者らの検討を紹介する。

I はじめに

臓器移植は、臓器機能を失ってしまった患者に対し、

*別刷請求先：二階堂敏雄 〒390-8621
松本市旭3-1-1 信州大学大学院医学研究科
臓器発生制御医学

欠失機能を補助・補完する目的で行われてきた。しかし、ドナー不足がこの医療手段を困難なものにしており、このような事態を克服すべく、「細胞移植療法」が、臓器移植の進化的代替法として期待されるようになった。細胞移植療法は、その臓器の機能細胞を移植源とし、それを適所に生着させることで機能補助・補完するという方法であり、臓器移植に比しドナーおよびレシピエントの精神的・肉体的な負担を軽減し、加えて移植源の確保が比較的容易になることが期待できる。細胞移植療法には3つの重要な要素があり、それらは①細胞源：移植するための細胞、②液性因子：細胞の増殖や分化を制御する増殖因子やサイトカインなど、③スカффールド(足場)；細胞の適切な増殖や分化に必要な微小環境を物理的に構成する細胞外マトリクスや人工足場など、である。ことに①の細胞源に関しては、ヒト胚性幹細胞(Embryonic Stem cell；ES細胞)の樹立¹⁾、そしてここ数年における幹細胞研究の飛躍的な進展が細胞移植療法に大きく貢献すると期待される。幹細胞とは、臓器細胞のターンオーバーおよび欠損・傷害時の再生に大きく寄与するとされている細胞のことで、複数種の細胞に分化する能力を維持しつつ、自己複製できる細胞であり、この細胞を細胞源とすることで、成熟細胞移植に比べ少量で効率よい臓器再生が期待できる。1999年には神経幹細胞²⁾が、2001年には造血幹細胞³⁾が、胚葉を越えた分化を

示すことが示唆され、移植細胞源として期待されるようになった。しかし、ES細胞を含めたこれらの候補には、使用における倫理的問題の解決、移植時の免疫反応の回避、ドナー細胞の確保など、様々な問題を抱えている。

II 羊膜とは

羊膜は胎盤表皮にある薄い1枚の膜で(図1)、構造的には上皮細胞が敷石状に覆っており、その下にラミニン、タイプIVコラーゲンよりなる基底膜、そして間質層があり、その中に間葉系細胞が点在する(図2)。発生学的には、胚盤胞における内部細胞塊が、胚盤葉上層および下層に分かれた後、上層がさらに外胚葉と、羊膜上皮の元となる羊膜芽細胞に分かれ、発生してくる。また、間葉系細胞は中胚葉のうち、胚外壁側中胚葉より形成される。このように羊膜細胞はES細胞が分化した組織より由来する胎児由来の組織である。

III 羊膜の新規幹細胞源としての可能性

ヒトES細胞の様な多能性幹細胞を含有する組織が他にもないだろうか? 筆者らは、未分化な状態を維持していると考えられる組織、つまり胎児由来組織に幹細胞が含まれているのではないかと考えている。しかし、細胞源として胎児の一部を使うことは現実的ではないので、分娩後に廃棄される胎盤付着物に着目している。ヒトの発生に目を向けると(図3)、胚体外組織の中でも羊膜は、胎児を形成する胚盤葉上層に由来する羊膜上皮、および胚外中胚葉の一部(羊膜間葉組織)から構成されていることが分かる⁴⁾。よって筆者らは、胚体外組織の中でも特にこの羊膜組織中の細胞に多能性幹細胞が含まれている可能性があると考えている。そこでまず著者らは、羊膜上皮(図4)および間葉系細胞(図5)における未分化細胞の特徴を示す遺伝子の発現をRT-PCRにより検討したところ、未分化ES細胞に発現するOct-4、神経幹細胞に発現するNestinおよびMusashi-1の発現が確認された。こ

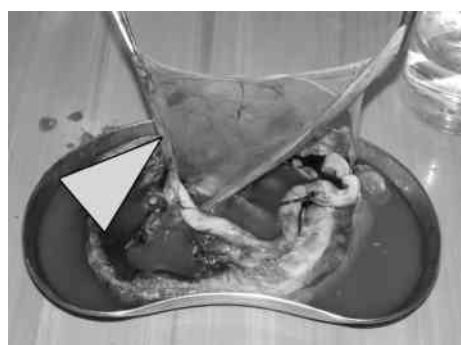


図1 ヒト羊膜と臍帯

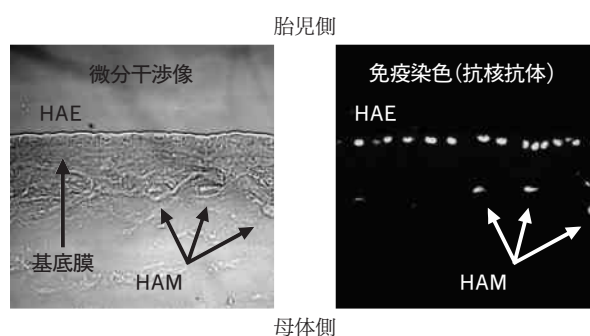


図2 羊膜細胞の性質
上皮細胞(HAE)と間葉系細胞(HAM)

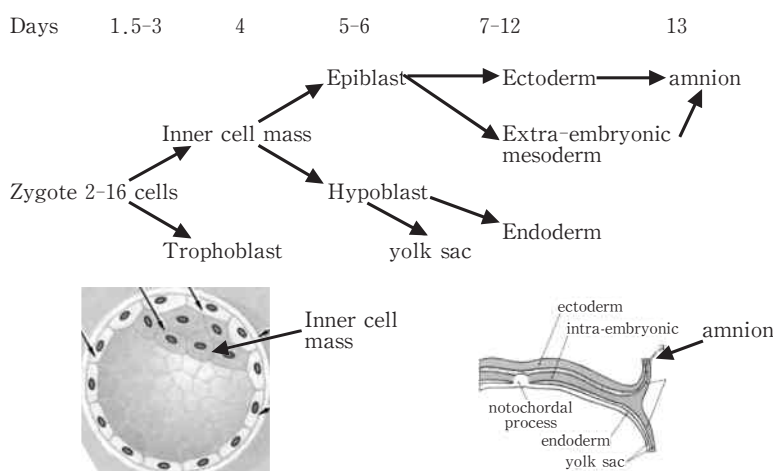


図3 受精卵の分化と羊膜の形成過程

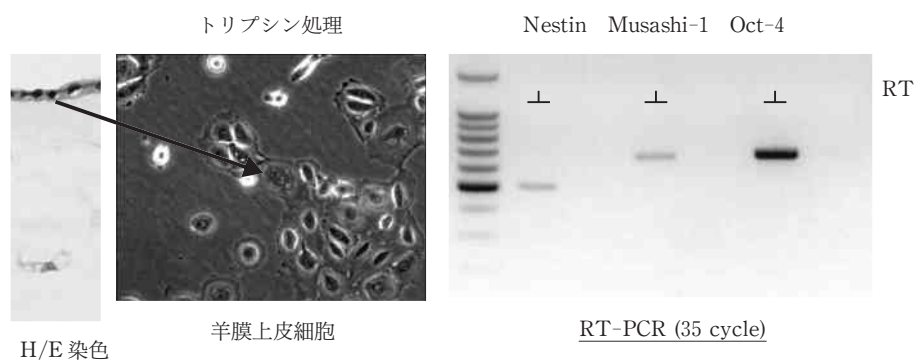


図4 羊膜上皮細胞の性質

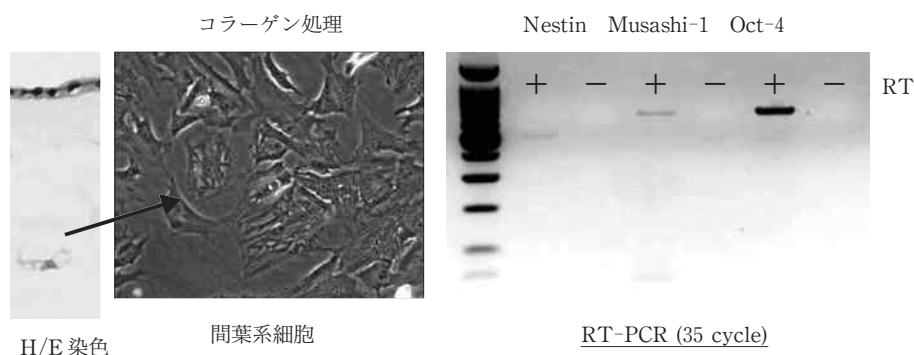


図5 羊膜間葉系細胞の性質

のことから、当初の予測のように、羊膜由来細胞に未分化な細胞群が含まれる可能性が示唆された。また羊膜は、免疫学的にも特殊な性質を有している。羊膜細胞はMHC (Major Histocompatibility Complex) クラス I の発現が弱く、またクラス II の発現がないことから⁵⁾、母体免疫システムから認識されにくいと考えられる。そして種々の免疫抑制因子を産生することで、免疫反応を抑制するシステムも有している⁶⁾⁻⁹⁾。このことから、羊膜細胞はたとえ移植時に HLA の一致が不十分な場合でも、レシピエントの免疫反応が比較的穏やかであると期待される。

このような背景から筆者らは、細胞移植療法における幹細胞源としての羊膜細胞の可能性を検討している。

IV 羊膜細胞の膵β細胞への分化の可能性

糖尿病は、短期的にはインスリン注射などによりコントロールすることができるが、健常者のような厳密な血糖調節が不可能なため、長期的には様々な合併症を誘発する危険性が非常に高い。特にインスリン依存型糖尿病は、膵β細胞が自己免疫的に傷害されることにより発症するが、主に若年期に発症する例が多く、将来的に腎症や糖尿病性網膜症等の二次疾患に苛まれることになる。糖尿病の疾患の根治療法としては、膵

臓移植もしくは膵島移植となるが、いずれもドナーの不足は否めないのが現状である。そこで期待されるようになったのが幹・前駆細胞を用いた膵幹細胞移植療法である。2000年には成体マウス膵管より自己複製能を有する膵幹細胞の存在を報告し¹⁰⁾、その後ヒト膵からも同様の結果が報告されるに至り¹¹⁾、膵幹細胞を用いた細胞移植療法が現実味を帯びはじめている。しかし、その細胞源はやはり膵臓にあり、ドナーの不足という問題を完全にぬぐい去れたとはいえない。ES細胞からの分化誘導についても報告があるものの¹²⁾、ヒトES細胞の実用化には倫理的問題の解決を待たねばならない。そこで筆者らは新規幹細胞源として着目している羊膜細胞について、膵幹細胞の新たな候補としての可能性を検討している。

まず筆者らは、羊膜上皮細胞および間葉系細胞に膵分化誘導を試みた。すると、浮遊培養条件下ニコチンアミドを添加し2週間培養すると、これらの細胞は膵島状の細胞塊を形成した。このとき、膵分化マーカーの発現をRT-PCRによって検討すると、上皮細胞にインスリン、間葉系細胞にグルカゴンの発現が確認された。このことから、羊膜細胞が膵内分泌細胞へ分化しうることが示された。同じ分化誘導条件下にも関わらず、上皮細胞からインスリンの発現、間葉系細胞から

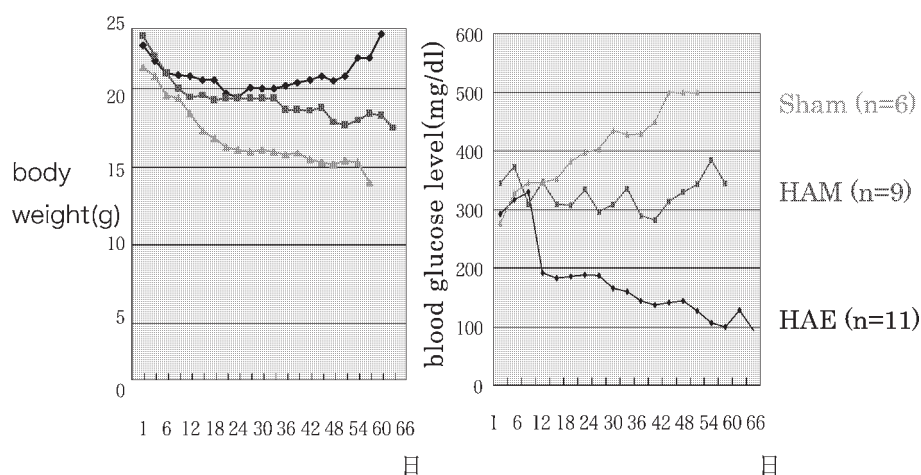


図6 移植マウスの血糖値の変化

らグルカゴンの発現のみが確認されたことが非常に興味深い。

羊膜細胞の膵分化が示唆されたことから、筆者らは次に、羊膜細胞移植による高血糖改善効果があるか否かを検討すべく、糖尿病モデルマウス（ストレプトゾトシン処理 SCID マウス）へ羊膜上皮細胞を脾内移植した（図6）。すると、上皮細胞移植群において血中グルコース濃度の有意な減少が認められた。また羊膜上皮細胞移植から1カ月経過後の脾臓、膵臓、肝臓において、PCRによりヒトDNAが検出され、細胞の生着が確認された。そして、脾臓に生着した細胞がインスリンを発現していることも示された。これらの結果より、羊膜由来細胞に膵分化を示す細胞群が存在することが示された。また、羊膜上皮細胞は糖尿病モデルマウスに生着するとともにインスリンを発現し、レシピエントの高血糖およびそれに連座する体重減少を改善したことから、羊膜上皮細胞がインスリン依存性糖尿病に対する細胞移植治療の細胞源として有用であることが示された¹³⁾。

V 羊膜細胞の肝細胞への分化の可能性

肝細胞移植は、急性肝不全における肝移植までの bridge use や症状の改善¹⁴⁾¹⁵⁾、および先天性代謝疾患等への適用¹⁶⁾¹⁷⁾に関する研究がためされてきた。細胞移植による治療効果を高めるには、より多くの肝細胞を生着させる必要があるが、移植肝細胞の長期生着における適性移植部位が門脈もしくは脾臓であるため、大量の肝細胞を移植することで門脈塞栓等を惹起する危険性がある。そこで、移植後により効率よく生着・増殖することが期待される肝幹・前駆細胞の移植が理

想的である。これまで、ES細胞¹⁸⁾、小型肝細胞¹⁹⁾、アジアロ糖蛋白質レセプター低発現細胞²⁰⁾、造血幹細胞²¹⁾が、移植幹細胞源として有用であると考えられてきた。これまでの細胞源候補が問題としてきた問題を克服しうるものとして、現在筆者らは、羊膜細胞の肝細胞移植療法における新たな移植幹細胞源としての可能性を検討している。

筆者らはまず、羊膜上皮および間葉系細胞における肝特異的遺伝子の発現を RT-PCR によって検討した。羊膜上皮細胞は単離直後より複数の遺伝子発現し、培養を経てさらに多くのマーカーを発現するようになった。培養を経ることでより多くの遺伝子発現が惹起された。同様に羊膜間葉系細胞についても同様の検討をしたところ、培養の有無に関わらず種々の肝特異的遺伝子の発現を確認した。羊膜細胞は、肝発生における遺伝子発現様式との相違点はあるものの、複数の幹特異的遺伝子発現を示し、肝分化の可能性が示唆された。

このことから筆者らは、羊膜細胞が移植細胞源として機能しうるかを検討すべく、上皮および間葉系細胞を肝再生モデルマウス（2-AAF/30%部分肝切除 SCID マウス）へ経脾的に移植し、生着およびマーカー発現を免疫染色により評価した（図7）。移植45日後に肝への生着が見られ、 α -フェトプロテイン（AFP）陽性細胞が認められた。さらに、*in vitro* では認められなかった ALB（albumin）の発現が確認された。これらの結果から羊膜細胞は、*in vitro* において種々の肝分化マーカーを発現し、*in vivo* ではマウス肝臓に生着し、環境に応じて肝分化する可能性が示唆された（高島ほか、未発表）。

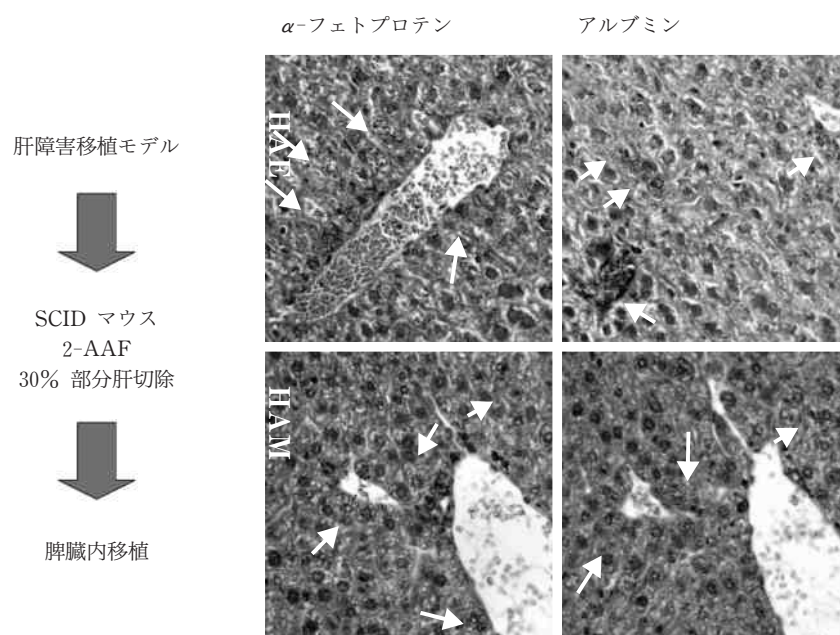
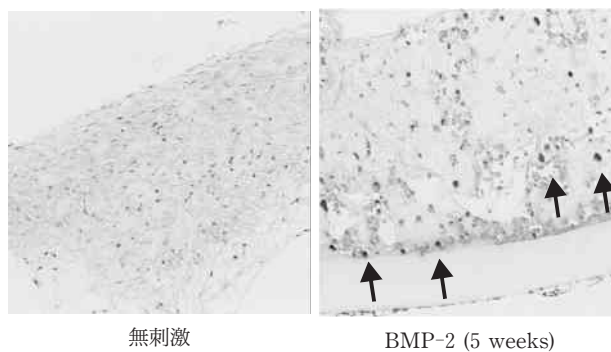


図7 羊膜細胞の肝臓への移植

VI 羊膜細胞の軟骨細胞への分化の可能性

高齢難治疾患である変形性関節症や慢性関節リウマチなどは日常臨床で最も高頻度に遭遇する高齢者疾病であり、高齢化社会の到来とあいまって罹患率は極めて高い。そのメカニズムは加齢に伴う骨組織や軟骨細胞の破壊であり、治療が困難とされている。このような修復できないような重篤な疾患に対しては、現状では再生医療による治療以外には有効な方法はない。そこで、羊膜細胞を使って軟骨細胞に分化するか否を明らかにすることによって、羊膜細胞による軟骨組織障害の治療の可能性を検討した。インフォームドコンセントが得られた帝王切開患者より胎盤を得、羊膜を分離し、上皮細胞および間葉系細胞を分離し、分離した上皮細胞および間葉系細胞より RNA を抽出して、骨細胞や軟骨細胞の増殖・分化因子である BMP (Bone Morphogenic protein) およびその受容体 (BMPR) 発現の有無を RT-PCR で解析した。上皮細胞および間葉系細胞双方で、BMP 受容体である BMPRIA, BMPR1B, BMPRII いずれの遺伝子も発現していた。また BMP-2, BMP-4, osteocalcin の発現も見られた。次に、羊膜上皮および間葉系細胞を BMP および高分子乳酸-ポリエチレングリコールで培養し、ヒトコラーゲンタイプ II 抗体の発現を解析したところ、形態が変化した細胞が出現した。軟骨細胞に特異的に発現するヒトコラーゲンタイプ II 抗体で



BMP-2 刺激羊膜間葉系細胞
図8 羊膜間葉系細胞の軟骨への分化

染色すると、形態が変化した細胞にのみ染色された。さらに信州大学整形外科学教室が開発中の *in vivo* で軟骨誘導を起こさせる系で、間葉系細胞に BMP を添加して軟骨の形成を解析したところ、図8に示すように軟骨様の細胞への分化が見られた。これらより結果をまとめると、羊膜細胞は、BMP 受容体 (BMPRI-A, BMPRI-B, BMPRII) を発現し、さらに BMP-2, BMP-4, Osteocalcin も産生していた。羊膜間葉系細胞を BMP-2 と高分子乳酸-ポリエチレングリコールで培養すると、軟骨細胞特異的なコラーゲンタイプ II の発現が見られた。羊膜間葉系細胞を BMP-2 と *in vivo* で培養すると、軟骨細胞様形態が誘導された。これらより、ヒト羊膜間葉系細胞より、軟骨細胞が誘導できる可能性が示された (衛ほか, 未発表)。

Ⅶ 羊膜細胞を使った人工器官開発の試み

外傷や気切後、悪性腫瘍などにより気管管状切除の適応となる症例が存在するが、切除断端の端々吻合には限界があり、通常6cm程度までとされる。長い欠損を補い、適応外とされてきた手術を可能とする方法として人工気管の使用が考えられるが、人工気管移植における主要な問題点として、狭窄、感染、虚血、逸脱などが挙げられる。新たな人工気管の作製には、より生体親和性の高い、張力、ねじれなどに対する強さと柔軟さを兼ね備え、虚血・狭窄の問題を改善することが必要で、著者らは、羊膜上皮細胞を多孔質人工チ

ューブ内腔に培養したハイブリッド人工気管を用いることで、allograftとしての移植が可能でかつ、狭窄や感染に対し従来の人工気管よりも優れた特性を持つものを作製することを目的とし、形態変化を中心に検討している。まず3次元培養法のひとつである気相培養を行った。通常の培養プレート内に多孔性のセルローズ膜からなるインサートを置き、このセルローズ膜上、または膜上に type I コラーゲンを置いた後、羊膜上皮細胞を培養し、上皮細胞が confluent となった後、インサート上面の培養液を取り去り、以後は上皮細胞の表面が気体にさらされた状態で約3週間培養、多孔質チューブの内腔にサスペンドした羊膜上皮細胞

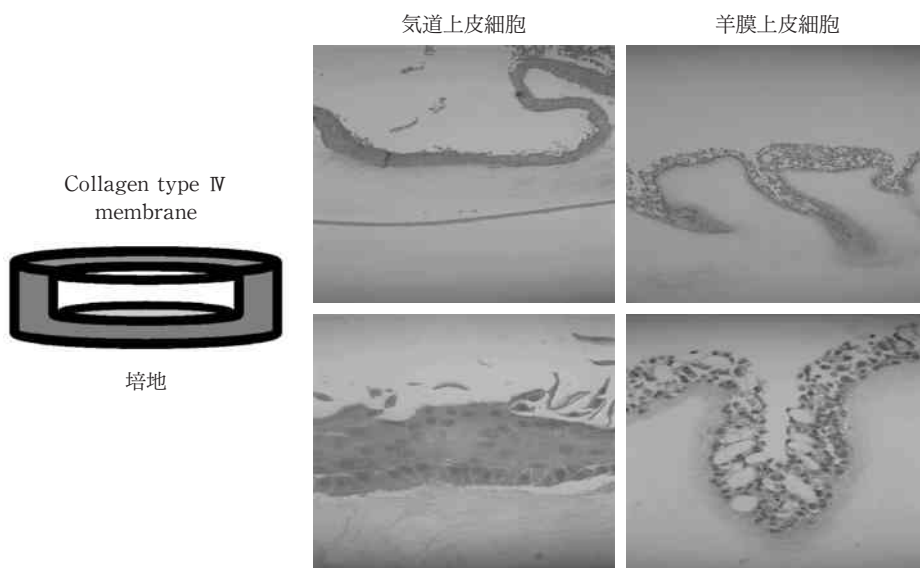
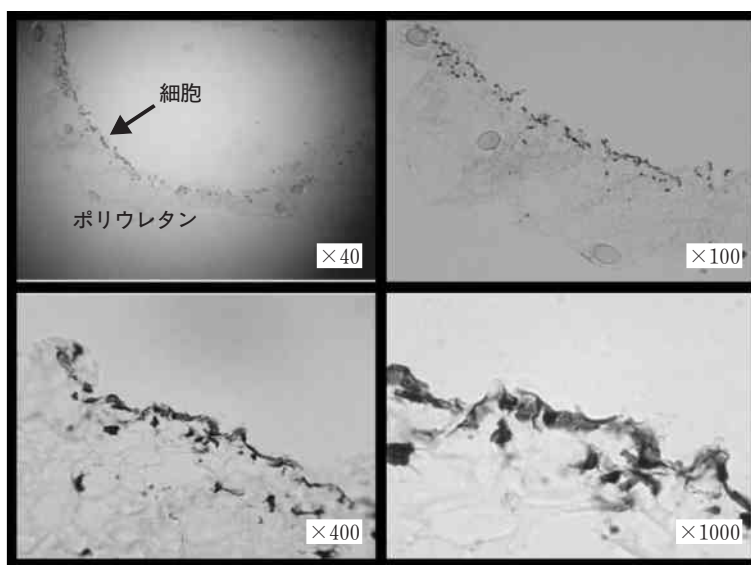


図9 羊膜上皮細胞の空気接触培養



細胞の MTT 染色

図10 ハイブリッドポリウレタン人工血管

を注入し、これを培養液中で培養した。Type I collagen gel またはセルロース膜上で気相培養した羊膜上皮細胞は各々生着し、さらに重層化するという結果が得られた (図9)。電子顕微鏡にて多数の微絨毛が、TEM (Transmission Electron Microscopy) にてデスモゾームの存在が確認された。これらはいずれも正常羊膜上皮細胞に見られる所見で、微絨毛に関しては無血清培地の方がより正常羊膜上皮に近い所見が得られた。次に、人工気管の素材として使用を検討している多孔質チューブ内腔に対する羊膜上皮細胞の生着の有無、程度を観察した。チューブ内腔へ1回だけ羊膜上皮細胞を注入すると、下面約1/2のみに細胞が生着することが分かったため、チューブの上下を入れ替え、二度の細胞の注入を行った。羊膜上皮細胞はチューブ内腔によく生着しており、多数の微絨毛が細胞表面に認められた (図10)。まとめると、ヒト羊膜上皮細胞は気相条件でも生育し、さらに重層化することが分かった。このような気相条件、またはチューブ内腔に液体培地内で培養した場合のいずれも、特に無血清培地で培養した場合において、正常羊膜上皮にみられる構造により近似した所見が得られた。以上より、人工チューブ内腔を正常ヒト羊膜上皮細胞で被覆したハイブリッド型人工気管作製の可能性が示唆された。人工気管内腔の肉芽形成による狭窄は上皮細胞による内腔の被覆により抑制されることが報告されているので、チューブ内腔に羊膜上皮細胞をあらかじめ培養することで気道狭窄の予防が可能となることが期待される。ヒト正常羊膜上皮細胞の持つ、allograft として一時的に生着可能、感染防御能を有するなどの特性は、これまで報告されている人工気管に比べ、有利に作用する可能性が考えられる。今後の検討が必要であるが、より正常羊膜上皮に近い構造をとっている場合にこのような有用性が発揮されるのではないかと考えている (安尾ほか, 未発表)。

VIII 終わりに

これらの結果は、羊膜細胞が脾および肝への分化能を有する細胞群を含むことを示唆する。従って、羊膜細胞のうちどのような細胞群が分化能を有するのかが検討する必要がある。それには、造血幹細胞研究の発展に大きく寄与した蛍光抗体法とフローサイトメトリーの活用が有効であると考えている。しかし、残念ながら羊膜中の幹細胞がどのような細胞表面抗原を発現しているのか、いまだ不明であり、まずはそのマーカーの同定が課題となる。筆者らのグループでは、今回の脾・肝への分化誘導に加え、様々な組織の細胞への分化誘導の可能性を模索しているため、内胚葉系に限らず、ES細胞やその他の多能性細胞で得られている情報を参考に、検討していきたい。

先日、マウスおよびラット骨髄中に (ほぼ) 全能性を示すと目される細胞 (Multipotent Adult Progenitor Cells/MAPCs) が存在し、その単離に成功したことが報告された²²⁾。この細胞が最も有用な細胞源のひとつになると期待されているが、臨床応用するためにはヒトMAPCs²³⁾²⁴⁾に関する知見の集積が必要である。近年、胚葉を越えた分化を示す幹細胞の発見が相次いでおり、移植幹細胞源の選択肢を増やすとともに、幹細胞研究に多大な情報をもたらしている。一般に成体より幼若個体の方が幹細胞の含有率が高いといわれている。よって筆者らは、新たな移植幹細胞源として、胎児組織、中でも産後廃棄される羊膜に着目し、検討を進めてきている。このような視点からの研究は萌芽的ではあるものの、すでに臍帯血や絨毛膜などで進められており、中には優れた知見の得られているものもある。これら胎児由来組織における幹細胞研究が、再生医療や幹細胞研究に大きな進歩をもたらしてくれることを期待せずにはいられない。

文 献

- 1) Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, Waknitz MA, Swiergiel JJ, Marshall VS, Jones JM : Embryonic stem cells derived from human blastocysts. *Science* 282 : 1145-1147, 1998
- 2) Clarke DL, Johansson CB, Wilbertz J, Veress B, Nilsson E, Karlstrom H, Lendahl U, Frisen J : Generalized potential of adult neural stem cells. *Science* 288 : 1660-1663, 2000
- 3) Krause DS, Theise ND, Collector MI, Henegariu O, Hwang S, Gardner R, Neutzel S, Sharkis SJ : Multi-organ, multi-lineage engraftment by a single bone marrow-derived stem cell. *Cell* 105 : 369-377, 2001
- 4) Stem Cells : Scientific Progress and Future Research Directions. Department of Health and Human Services. June 2001 : appendix A-8, 2001 (<http://www.nih.gov/news/stemcell/scireport.htm>)

- 5) Sakuragawa N, Tohyama J, Yamamoto H : Immunostaining of human amniotic epithelial cells : possible use as a transgene carrier in gene therapy for inborn errors of metabolism. *Cell Transplant* 4 : 343-346, 1995
- 6) Sakuragawa N, Tohyama J, Yamamoto H : Expression of fas ligand by human cytotrophoblasts : implication in placentation and fetal survival. *J Clin Endocrinol Metab* 81 : 3119-3122, 1996
- 7) Rooney IA, Morgan BP : Characterization of the membrane attack complex inhibitory protein CD59 antigen on human amniotic cells and in amniotic fluid. *Immunology* 76 : 541-547, 1992
- 8) Hao Y, Ma DH, Hwang DG, Kim WS, Zhang F : Identification of antiangiogenic and anti-inflammatory proteins in human amniotic membrane. *Cornea* 19 : 348-352, 2000
- 9) Kubo M, Sonoda Y, Muramatsu R, Usui M : Immunogenicity of human amniotic membrane in experimental xenotransplantation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 42 : 1539-1545, 2001
- 10) Ramiya VK, Maraist M, Arfors KE, Schatz DA, Peck AB, Cornelius JG : Reversal of insulin-dependent diabetes using islets generated in vitro from pancreatic stem cells. *Nat Med* 6 : 278-282, 2000
- 11) Bonner-Weir S, Taneja M, Weir GC, Tatarkiewicz K, Song KH, Sharma A, O'Neil JJ : In vitro cultivation of human islets from expanded ductal tissue. *Proc Natl Acad Sci USA* 97 : 7999-8004, 2000
- 12) Lumelsky N, Blondel O, Laeng P, Velasco I, Ravin R, McKay R : Differentiation of embryonic stem cells to insulin-secreting structures similar to pancreatic islets. *Science* 292 : 1389-1394, 2001
- 13) Wei JP, Zhang TS, Kawa S, Aizawa T, Ota M, Akaike T, Kato K, Konishi I, Nikaido T : Human amnion-isolated cells normalize blood glucose in streptozotocin-induced diabetic mice. *Cell Transplant*. 12 : 545-552, 2003
- 14) Habibullah CM, Syed IH, Qamar A, Taher-Uz Z : Human fetal hepatocyte transplantation in patients with fulminant hepatic failure. *Transplantation* 58 : 951-952, 1994
- 15) Strom SC, Fisher RA, Thompson MT, Sanyal AJ, Cole PE, Ham JM, Posner MP : Hepatocyte transplantation as a bridge to orthotopic liver transplantation in terminal liver failure. *Transplantation* 64 : 559-569, 1997
- 16) Grossman M, Rader DJ, Muller DW, Kolansky DM, Kozarsky K, Clark BJ 3rd, Stein EA, Lupien PJ, Brewer HB Jr, Raper SE : A pilot study of ex vivo gene therapy for homozygous familial hypercholesterolaemia. *Nature Med* 1 : 1148-1154, 1995
- 17) Fox IJ, Chowdhury JR, Kaufman SS, Goertzen TC, Chowdhury NR, Warkentin PI, Dorko K, Sauter BV, Strom SC : Treatment of the Crigler-Najjar syndrome type I with hepatocyte transplantation. *N Engl J Med* 338 : 1422-1426, 1998
- 18) Chinzei R, Tanaka Y, Shimizu-Saito K, Hara Y, Kakinuma S, Watanabe M, Teramoto K, Ariei S, Takase K, Sato C, Terada N, Teraoka H : Embryoid-body cells derived from a mouse embryonic stem cell line show differentiation into functional hepatocytes. *Hepatology* 36 : 22-29, 2002
- 19) Katayama S, Tatenno C, Asahara T, Yoshizato K : Size-dependent in vivo growth potential of adult rat hepatocytes. *Am J Pathol* 158 : 97-105, 2001
- 20) Ise H, Sugihara N, Negishi N, Nikaido T, Akaike T : Low asyialoglycoprotein receptor expression as markers for highly proliferative potential hepatocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 285 : 172-182, 2001
- 21) Lagasse E, Connors H, Al-Dhalimy M, Reitsma M, Dohse M, Osborne L, Wang X, Finegold M, Weissman IL, Grompe M : Purified hematopoietic stem cells can differentiate into hepatocytes in vivo. *Nat Med* 6 : 1229-1234, 2000
- 22) Jiang Y, Jahagirdar BN, Reinhardt RL, Schwartz RE, Keene CD, Ortiz-Gonzalez XR, Reyes M, Lenvik T, Lund T, Blackstad M, Du J, Aldrich S, Lisberg A, Low WC, Largaespada DA, Verfaillie CM : Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. *Nature* 418 : 41-49, 2002
- 23) Reyes M, Lund T, Lenvik T, Aguiar D, Koodie L, Verfaillie CM : Purification and ex vivo expansion of postnatal human marrow mesodermal progenitor cells. *Blood* 98 : 2615-2625, 2001
- 24) Schwartz RE, Reyes M, Koodie L, Jiang Y, Blackstad M, Lund T, Lenvik T, Johnson S, Hu WS, Verfaillie CM : Multipotent adult progenitor cells from bone marrow differentiate into functional hepatocyte-like cells. *J Clin Invest* 109 : 1291-1302, 2002

(H 15. 10. 3 受稿)