

automatically lead to expansion of this lineage. Again, Blau et al reported a similar result. They discussed signal specificity of 3 different growth factor receptors (GCR, Mpl and Flt3) and found that only Mpl-mediated signal enhanced self-renewal of murine multipotential hematopoietic progenitors.<sup>20</sup> However, they also found that even Mpl-mediated signal preferentially lead to erythroid, and slightly less efficiently megakaryocytic, expansion in an *in vivo* setting.<sup>19</sup>

Thus, hematopoietic growth factor receptor signaling may not be free from lineage specificity and biased expansion. In this sense, one can utilize suitable growth signals depending upon target lineage and target disease. For instance, GCR-mediated expansion may be suitable for treatment of disorders involving granulocytes, such as chronic granulomatous disease; erythropoietin receptor-mediated expansion may be suitable for treatment of hemoglobinopathies. For lymphoid expansion, yet another signaling system may be suitable or required. A plausible candidate is IL-7 receptor (IL7R)-mediated signaling, since this is essential for early lymphoid development and IL7R expression is a hallmark of murine common lymphoid progenitors.<sup>21</sup> With consideration of differential specificity and efficacy, expansion of gene-modified hematopoietic cells with SAGs can be a realistic goal.

## **Acknowledgments**

We thank Dr. Y. Hakamata for technical assistance; Amgen for providing SCF; Ajinomoto for IL-6; Takara Shuzo for RetroNectin. This work was supported in part by the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology, the Ministry of Health, Labor and Welfare, and the Ichiro Kanehara Foundation, Japan.

## References

1. Richter J, Karlsson S. Clinical gene therapy in hematology: past and future. *Int J Hematol.* 2001;73:162-169.
2. Miller DG, Adam MA, Miller AD. Gene transfer by retrovirus vectors occurs only in cells that are actively replicating at the time of infection. *Mol Cell Biol.* 1990;10:4239-4242.
3. Orlic D, Girard LJ, Jordan CT, Anderson SM, Cline AP, Bodine DM. The level of mRNA encoding the amphotropic retrovirus receptor in mouse and human hematopoietic stem cells is low and correlates with the efficiency of retrovirus transduction. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1996;93:11097-11102.
4. Miyoshi H, Smith KA, Mosier DE, Verma IM, Torbett BE. Transduction of human CD34<sup>+</sup> cells that mediate long-term engraftment of NOD/SCID mice by HIV vectors. *Science.* 1999;283:682-686.
5. Moscow JA, Huang H, Carter C et al. Engraftment of *MDR1* and NeoR gene-transduced hematopoietic cells after breast cancer chemotherapy. *Blood.* 1999;94:52-61.
6. Mattioni T, Louvion J-L, Picard D: Regulation of protein activities by fusion to steroid binding domains. *Methods Cell Biol.* 43:335-352, 1994
7. Ito K, Ueda Y, Kokubun M et al. Development of a novel selective amplifier gene for controllable expansion of transduced hematopoietic cells. *Blood.* 1997;90:3884-3892.
8. Kitamura T, Onishi M, Kinoshita S, Shibuya A, Miyajima A, Nolan GP. Efficient screening of retroviral cDNA expression libraries. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1995;92:9146-9150.

9. Littlewood, TD, Hancock DC, Daniellian PS, Parker MG, Evan GI. A modified oestrogen receptor ligand-binding domain as an improved switch for the regulation of heterologous proteins. *Nucl Acids Res.* 1995;23:1686-1690.
10. Xu R, Kume A, Matsuda KM et al. A selective amplifier gene for tamoxifen-inducible expansion of hematopoietic cells. *J Gene Med.* 1999;1:236-244.
11. Hawley RG, Lieu FHL, Fong AZC, Hawley TS. Versatile retroviral vectors for potential use in gene therapy. *Gene Ther.* 1994;1:136-138.
12. Duke GM, Hoffman MA, Palmenberg AC. Sequence and structural elements that contribute to efficient encephalomyocarditis virus RNA translation. *J Virol.* 1992;66:1602-1609.
13. Kume A, Xu R, Ueda Y, Urabe M, Ozawa K. Long-term tracking of murine hematopoietic cells transduced with a bicistronic retrovirus containing CD24 and EGFP genes. *Gene Ther.* 2000;7:1193-1199.
14. Matsuda KM, Kume A, Ueda Y, Urabe M, Hasegawa M, Ozawa K. Development of a modified selective amplifier gene for hematopoietic stem cell gene therapy. *Gene Ther.* 1999;6:1038-1044.
15. Pear WS, Nolan GP, Scott ML, Baltimore D. Production of high-titer helper-free retroviruses by transient transfection. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1993;90:8392-8396.
16. Onodera M, Yachie A, Nelson DM, Welchlin H, Morgan RA, Blaese RM. A simple and reliable method for screening retroviral producer clones without selectable markers. *Hum Gene Ther.* 1997;8:1189-1194.
17. Hanenberg H, Xiao XL, Dilloo D, Hashino K, Kato I, Williams DA. Colocalization of retrovirus and target cells on specific fibronectin fragments increases genetic transduction of

mammalian cells. *Nat Med.* 1996;2:876-882.

18. Yasueda H, Nagase K, Hosoda A, Akiyama Y, Yamada K. High-level direct expression of semi-synthetic human interleukin-6 in *Escherichia coli* and production of N-terminus Met-free product. *Bio/Technology.* 1990;8:1036-1040.
19. Jin L, Zeng H, Chien S, Otto KG, Richard RE, Emery DW, Blau CA. *In vivo* selection using a cell-growth switch. *Nat Genet.* 2000;26:64-66.
20. Zeng H, Masuko M, Jin L, Neff T, Otto KG, Blau CA. Receptor specificity in the self-renewal and differentiation of primary multipotential hemopoietic cells. *Blood.* 2001;98:328-334.
21. Kondo M, Weissman IL, Akashi K. Identification of clonogenic common lymphoid progenitors in mouse bone marrow. *Cell.* 1997;91:661-672.

### **Titles and legends to figures**

Figure 1. Schematic diagram of chimeric receptor and vector construct. (Upper) A chimeric protein DY703FGCRTmR was a fusion of G-SCF receptor (GCR) and Tm binding domain (TmR). D(5-195), deletion of G-CSF binding site. TM, transmembrane domain. Y703F, amino acid substitution (Tyr703 to Phe) to minimize myeloid differentiation signal. G525R, amino acid substitution (Gly525 to Arg in estrogen receptor) to change ligand specificity. (Lower) Bicistronic retrovirus vector MSCV/DY703FGCRTmR-IRES-EGFP. LTR, long terminal repeat. IRES, internal ribosome entry site derived from encephalomyocarditis virus. EGFP, enhanced green fluorescent protein.

Figure 2. EGFP<sup>+</sup> cells in primary recipients. (A) EGFP<sup>+</sup> cells were counted before (Pre) and 2 weeks after (Post) Tm injection. (B) EGFP<sup>+</sup> cells in control mice were analyzed in parallel to Tm-challenged animals. (C) Time course of EGFP<sup>+</sup> frequency in Tm-challenged (circles) and control (squares) animals. Two months after BM transduction and transplantation, Tm was administered to a subset of recipients (arrow), and EGFP<sup>+</sup> cells were tracked. Bars represent standard deviation.

Figure 3. EGFP<sup>+</sup> cells in secondary recipients. (A) EGFP<sup>+</sup> cells were counted before (Pre) and 2 weeks after (Post) Tm injection. (B) EGFP<sup>+</sup> cells in control mice were analyzed in parallel to Tm-challenged animals. (C) Time course of EGFP<sup>+</sup> frequency in Tm-challenged (circles) and control (squares) animals. One month after BMT, Tm was administered to a subset of recipients (arrow), and EGFP<sup>+</sup> cells were tracked. Bars represent standard deviation.

Figure 4. EGFP<sup>+</sup> cells in different leukocyte subsets. Three months after Tm stimulation on secondary transplants, EGFP<sup>+</sup> cells were enumerated in granulocytes (Gr; Gr1<sup>high</sup>/Mac1<sup>+</sup>), monocytes (Mo; Gr1<sup>low-mid</sup>/Mac1<sup>+</sup>), CD4<sup>+</sup> T cells (CD4; CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>-</sup>), CD8<sup>+</sup> T cells (CD8; CD4<sup>-</sup>/CD8<sup>+</sup>), B cells (B; IgM<sup>+</sup>/B220<sup>+</sup>) and NK cells (NK; NK1.1<sup>+</sup>/TCRb<sup>-</sup>). Tied columns represent statistically different values ( $p < 0.05$  by Student's t-test).

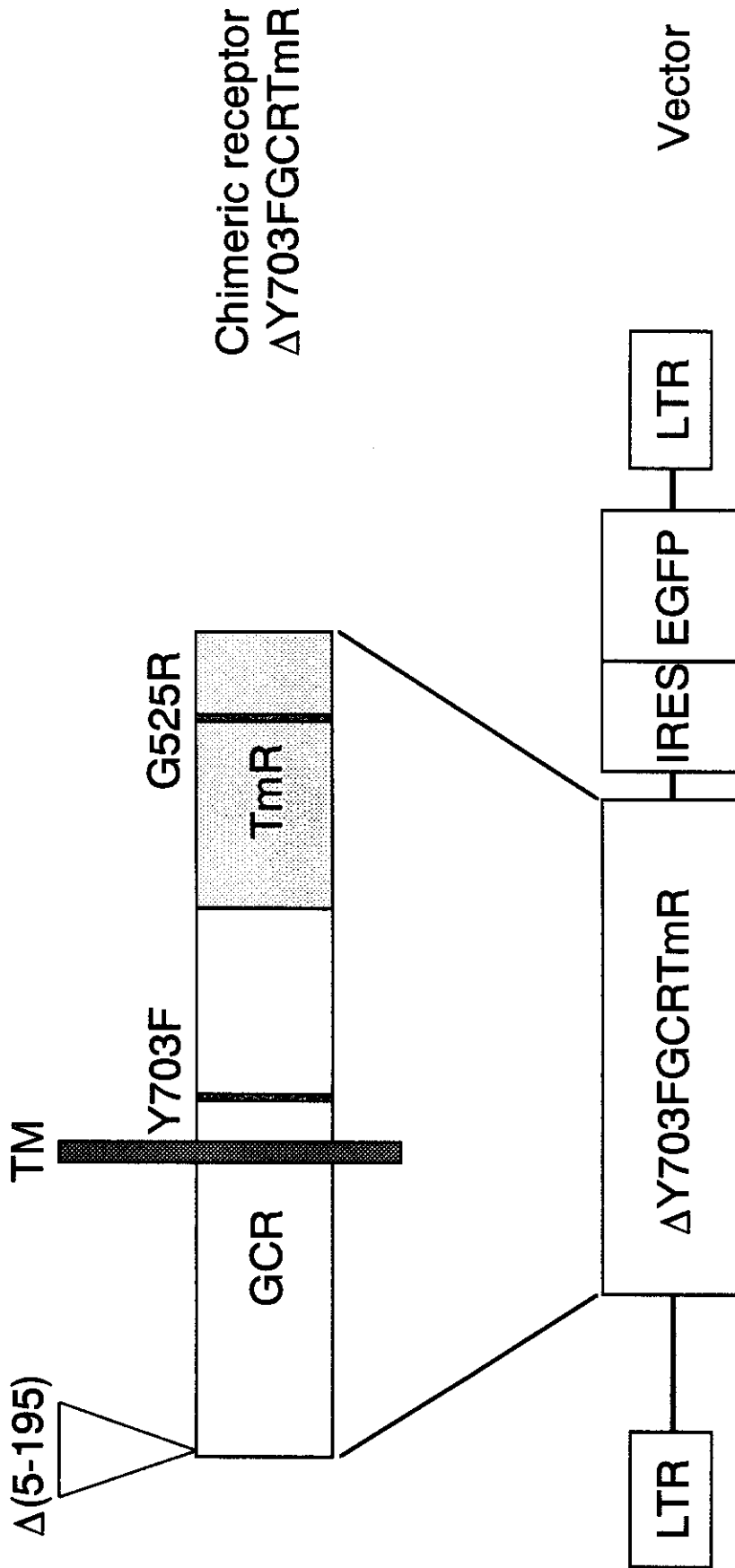


Figure 1

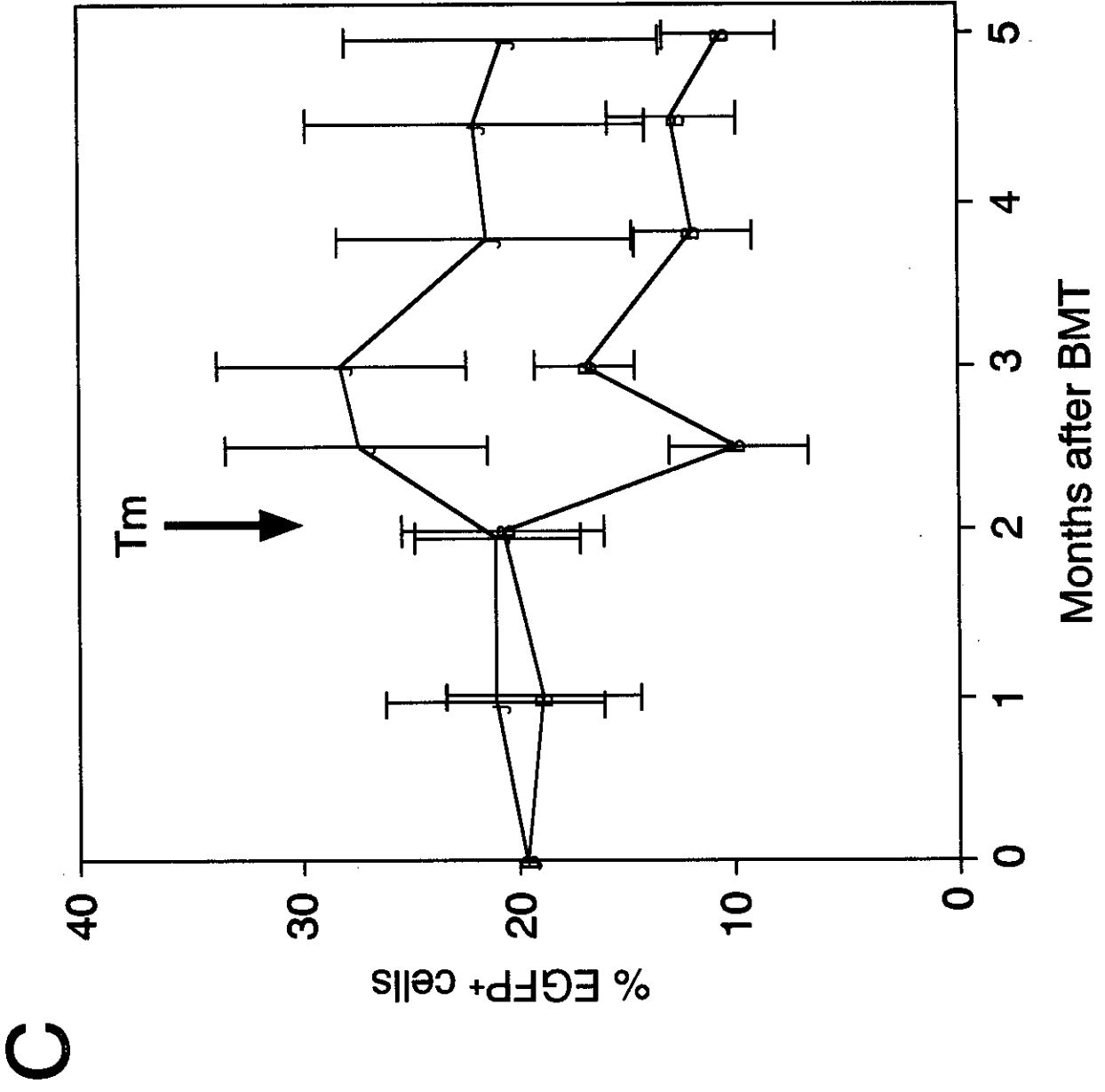
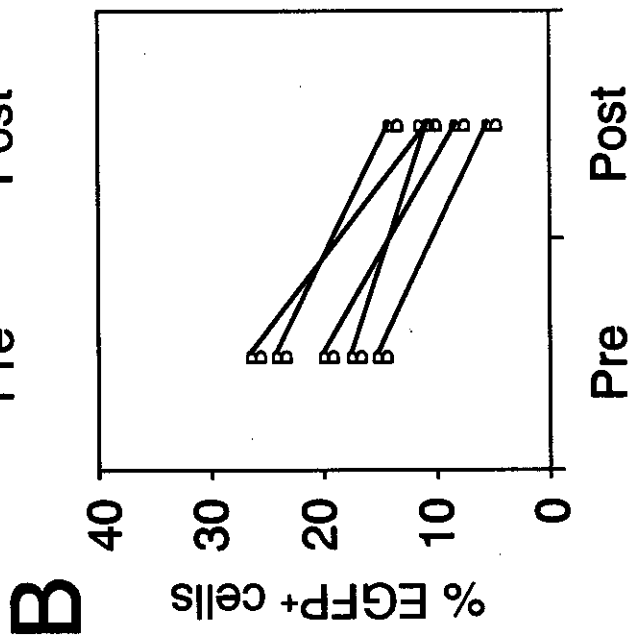
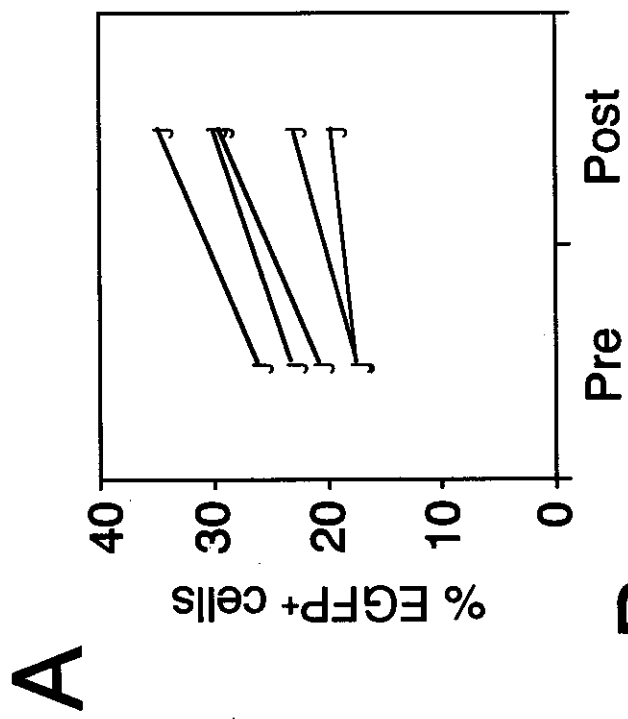


Figure 2

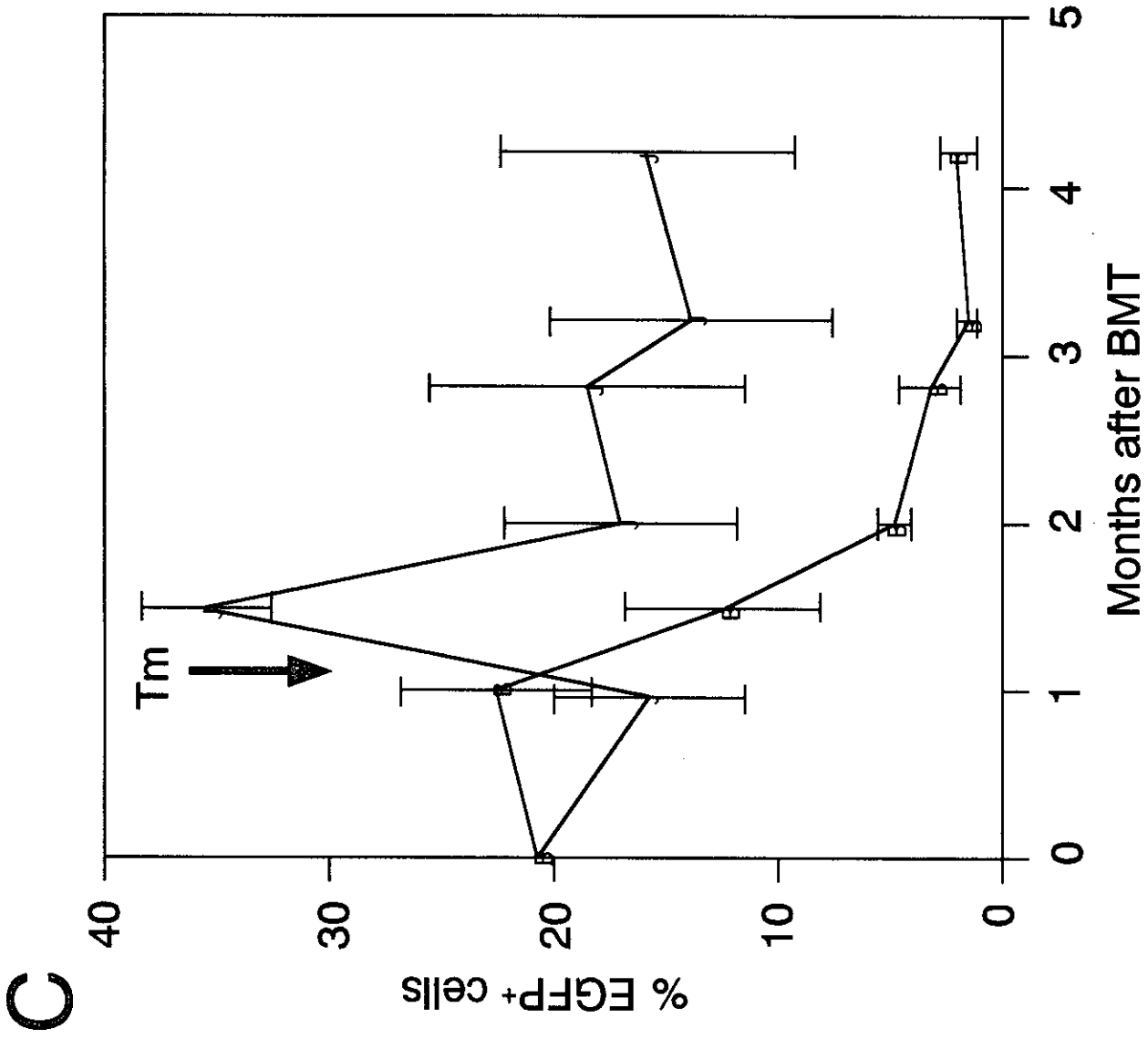
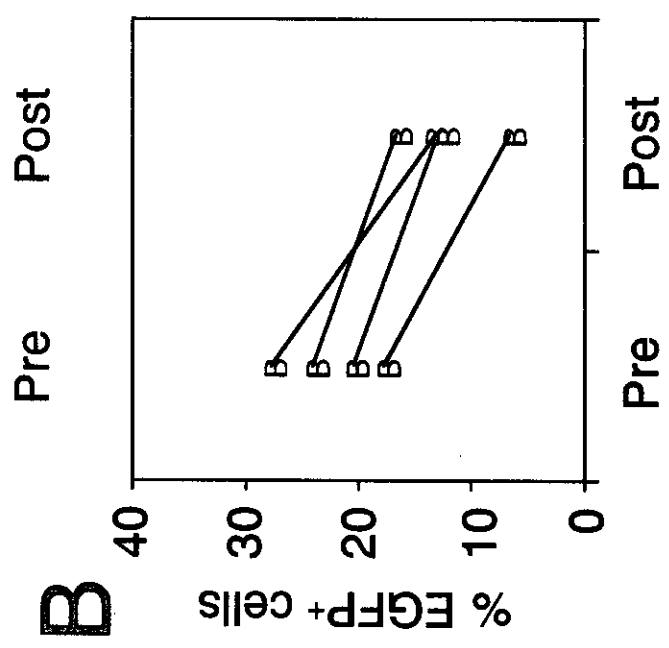
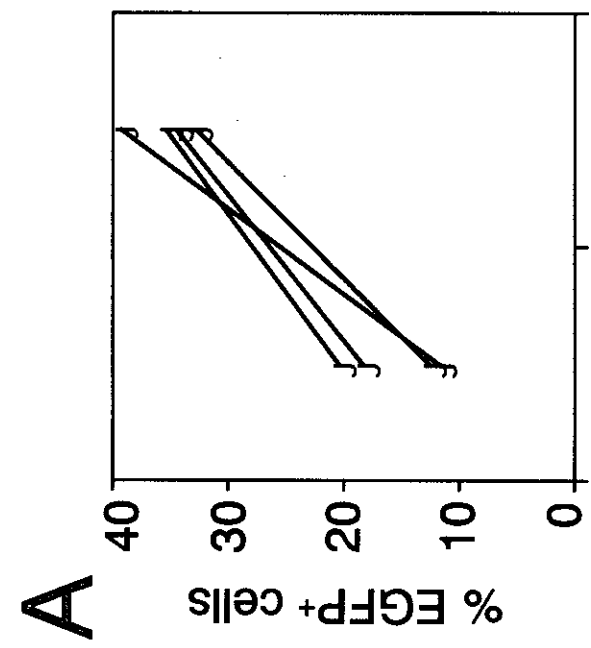


Figure 3



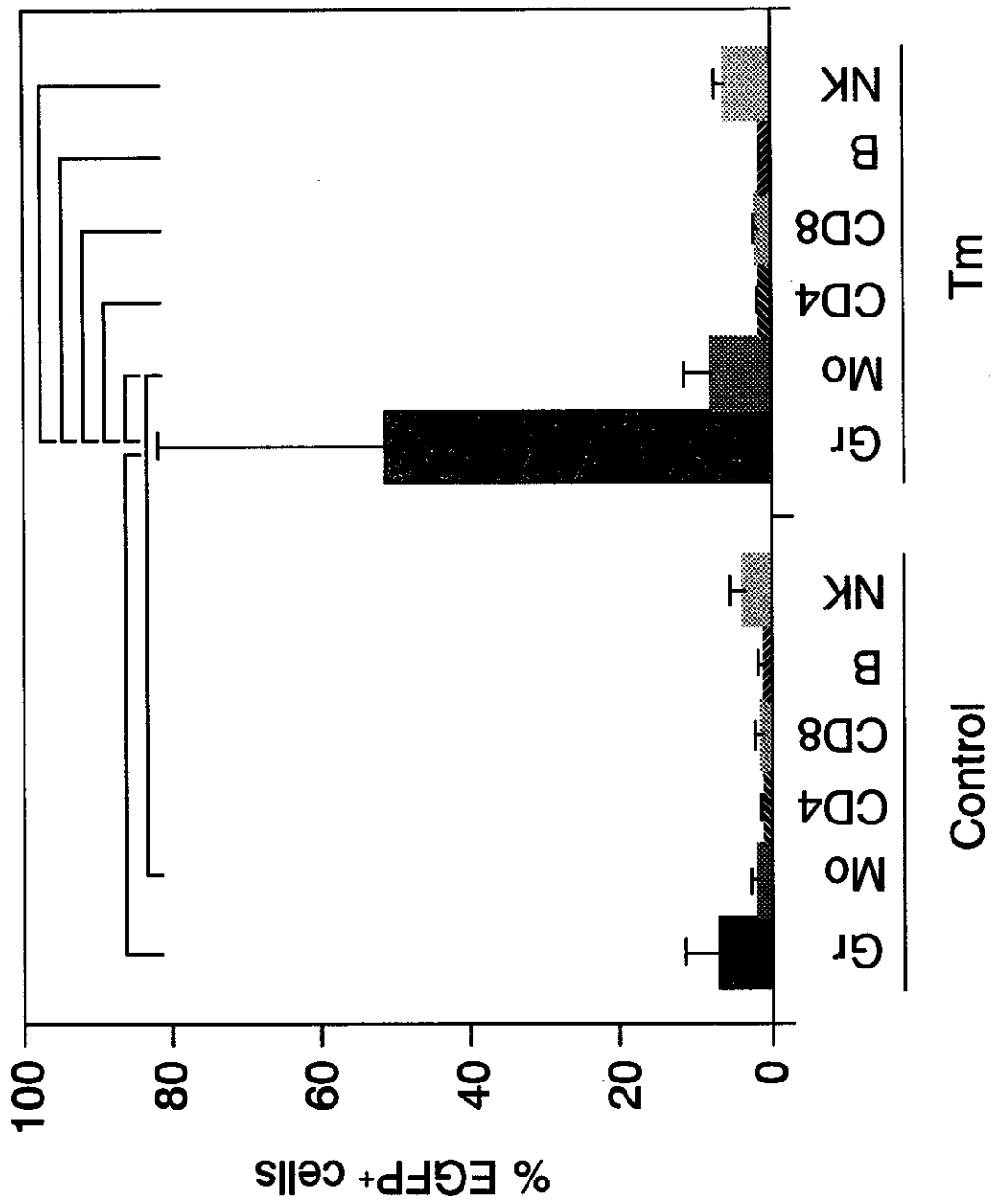


Figure 4

厚生科学研究費補助金（ヒトゲノム・再生医療等研究事業）  
分担研究報告書

造血幹細胞の採取・純化に関する研究

分担研究者 峯石 真 国立がんセンター中央病院 造血幹細胞移植病棟医長

**研究要旨** 動員・採取を繰り返すことによって体内での幹細胞増幅ともいべき大量末梢血幹細胞採取を行い免疫磁気ビーズの付いた抗 CD34 モノクローナル抗体を用いて無菌操作のもとに高い純度と高い効率で純化する。ついでこの細胞を患者に移植し臨床経過を追跡する。この研究により末梢血幹細胞からの CD34 陽性細胞の臨床規模での純化技術と CD34 陽性細胞の移植法を確立し、遺伝子導入された細胞の移植を行なう技術を準備する。

**A. 研究目的**

造血細胞遺伝子治療のターゲットとしての幹細胞の純化は遺伝子導入効率を上げるうえで欠かせない。ここでは臨床的な幹細胞遺伝子治療の前段階として実用可能な大量 CD34 陽性細胞採取・純化および移植の技術を確立することを目的とする。

**B. 研究方法**

動員・採取を繰り返すことによって体内での幹細胞増幅ともいべき大量末梢血幹細胞採取を行い免疫磁気ビーズの付いた抗 CD34 モノクローナル抗体を用いて無菌操作のもとに高い純度と高い効率で純化する。ついでこの細胞を患者に移植し臨床経過を追跡する。この研究により末梢血幹細胞からの CD34 陽性細胞の臨床規模での純化技術と CD34 陽性細胞の移植法を確立し、遺伝子導入された細胞の移植を行なう技術を準備する。

**(倫理面への配慮)**

末梢血幹細胞採取および CD34 陽性細胞純化は施設の倫理委員会またはそれに準ずる組織によって認可されたプロトコールに拠った。

**C. 研究結果**

大量末梢血幹細胞採取及び CD34 陽性細胞純化技術の検討を行った。大量採取・純化(純化後で  $6 \times 10^6$  CD34 cells/kg 以上) を安定して行なった。純化後の CD34 細胞の純度は 94 パーセント以上、CD34 細胞の回収率は 70% 以上であった。純化操作によっても幹細胞の生着力は保持された。弱い前処置によって CD34 陽性細胞を移植する方法を検討した。

**D. 考察**

免疫磁気ビーズ法は CD34 純化の実用的な方法であり、純化の手順も簡略であり短時間で施行可能であり純化された

CD34 細胞の純度、回収率とも従来の方法を上回る。

#### E. 結論

免疫磁気ビーズ法による CD34 陽性細胞純化法は臨床的に有用なレベルの造血幹細胞の純化を短時間に施行可能とした。この方法は臨床的遺伝子導入の標的細胞を準備するのに有用である。

#### F. 健康危険情報

特になし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Suenaga K, Kanda Y, Niiya H, Nakai K, Saito T, Saito A, Ohnishi M, Takeuchi T, Tanosaki R, Makimoto A, Miyawaki S, Ohnishi T, Kanai S, Tobinai K, Takaue Y, Mineishi S: Successful application of non-myeloablative transplantation for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Exp Hematol* 2001;29:639-642
- 2) Saito T, Nakamura F, Kanda Y, Tanosaki R, Takaue Y, Mineishi S. Reduced intensity regimen for a second mismatched transplant. *Haematologica* 2001;86:780-781
- 3) Niiya H, Kanda Y, Saito T, Ohnishi T, Kanai S, Kaano Y, Kamijo K, Iizuka A, Yakushijin K, Ueda K, Chizuka A, Iijima K, Ohnishi M, Nakai K, Makimoto A, Tanosaki R, Tobinai K, Wakasugi H, Takaue Y, Mineishi S. Early full donor myeloid chimerism after reduced-intensity stem cell transplantation using a combination of fludarabine and busulfan. *Haematologica*.

2001;86:1071-1074

- 4) Mineishi S, Takaue Y, Kanda Y, Tanosaki R, Kobayashi M, Chiba S, et al. Haploidentical hematopoietic stem cell transplantation for high-risk leukemia and MDS patients: Japanese experience using CliniMACS. *Blood* 2000;98(11):385b

## 造血障害の病態解析

分担研究者 山下孝之 東京大学医科学研究所 ゲノム情報応用診断 助教授

**研究要旨** Fanconi(FA)貧血蛋白 FANCA の構造・機能相関を理解するために、患者由来の 20 種類の変異蛋白を FANCA(-)細胞に発現させて機能解析した。変異蛋白は MMC 感受性の補正の程度により 3 群に分けられた。FA 分子経路の活性化は MMC 感受性の補正とよく相関した。

### A. 研究目的

FANCA の構造機能相関を理解するために、種々の変異蛋白を発現させた細胞において表現型と FA 分子経路を解析した。

### B. 研究方法

患者で報告のある変異蛋白を site-directed mutagenesis 法で作成し FANCA(-)細胞に発現させ、MMC 感受性と FA 分子経路の再構成を解析した。

(倫理面への配慮)

臨床研究を実施する場合は、被験者の人権に配慮し、被験者に対する不利益や危険性を出来る限り排除すると共に、インフォームドコンセントをきちんと取得した。

### C. 研究結果と考察

1. MMC 感受性：20 個の変異蛋白のうち 5 個は野生型と同様に MMC 感受性を補正し(I群)、11 個は補正せず(II 群)、4 個は中程度に補正した (III 群)。
2. FA 分子経路：I 群は野生型蛋白と同様に強く FANCC と相互作用したが、II 群の相互作用は弱かった。III 群は両群の中間の相互作用を示した。これに対して、FANCG との相互作用はどの群も同様であった。また、FANCA のリン酸化、FANCD2 のユビキチン化も野生型

=I 群>III 群>II 群の順に強く見られた。II 群の変異体は FA 分子経路をわずかに活性化した。  
3. 細胞内局在：I 群はすべて野生型蛋白と同様に核移行したが、II 群と III 群の大部分は核移行が障害された。例外的に、R1055L と L817P は核に移行した。測定が新しい診断法となりうる事が判明した。

### D. 結論

今回の結果は、II 群と III 群の変異蛋白の機能障害を明らかにした。I 群は、過剰発現により機能が增強されている可能性があるが、良性 polymorphism の可能性も考えられる。各蛋白による FA 分子経路の活性化と MMC 感受性が密接に相関することは、この分子経路が細胞表現型において重要であることを強く示唆する。この中で、R1055L と L817P は、リン酸化、FA 複合体の形成、核内機能と核移行が分離できることを示す変異体として興味深い。

II 群の変異蛋白は MMC 感受性を補正しなかったが、FA 分子経路のわずかな活性化能を示した。これは、null mutation の homozygote が、変異蛋白を産生する mutation を持つ患者よりも重症の臨床表現型を示す理由を一部説明すると考えられる。

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

- 1) Yagasaki H, Adachi D, Oda T, Garcia-Higuera I, Tetteh N, D'Andrea AD, Futaki M, Asano S, Yamashita T. : A cytoplasmic serine protein kinase binds and may regulate the Fanconi anemia protein FANCA. *Blood*. 2001;98:3650-3657.
- 2) Oda T, Muramatsu MA, Isogai T, Masuho Y, Asano S, Yamashita T.: HSH2: a novel SH2 domain-containing adapter protein involved in tyrosine kinase signaling in hematopoietic cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 16: 1078-1086, 2001.
- 3) Yamashita T, Nakahata T.: Current knowledge on the pathophysiology of Fanconi anemia: from genes to phenotypes. *Int. J. Hematol.* 74: 33-41, 2001.
- 4) D Adachi A, T Oda, Yagasaki H, Nakasato K, Taniguchi T, D'Andrea A, Asano S, Yamashita T : Different activation of the Fanconi anemia pathway by patient-derived FANCA mutants. *Blood*. 2001;98:215a

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得           なし
2. 実用新案登録   なし
3. その他            なし

厚生科学研究費補助金（ヒトゲノム・再生医療等研究事業）  
分担研究報告書

サルを用いた造血幹細胞移植モデルの作成

分担研究者 寺尾恵治（国立感染症研究所・筑波霊長類センター・センター長）

研究要旨

本研究ではカニクイザル（体重 2～3Kg）を対象として、分化制御遺伝子を導入した造血幹細胞移植による細胞治療の安全性と有効性を評価することを最終目的としている。今年度は、末梢動員造血幹細胞移植（PBSCT）技術の確立を目的として、カニクイザルより大型のアカゲザル（体重 4～8Kg）を用いて、1) 体重 2～3Kg のカニクイザルへ小児用アフエレーシス装置（Baxter）を適用するための改良法、2) サイトカインによる末梢動員法、3) アフエレーシス実施中の個体管理法、4) アフエレーシス回収産物の性状を検討し以下の結果を得た。

1) 体重 2～3Kg のカニクイザルの全血量は 200～230ml と推測されることから、Baxter 社の小児用アフエレーシス装置の流路系を短絡し、体外循環血液量を 130ml から 70ml に減少させた。

2) 改良型アフエレーシス装置を用いて全血量の約 3 倍の血液量を体外循環させたが、その過程で定期的にヘマトクリット値と血小板数を測定し、要に応じてポンプスピードを調整した。これにより、アフエレーシス回収細胞中への赤血球および血小板の混入を最小限に押さえることが可能となり、供試した 5 頭で著しい貧血や血小板減少などの障害は生じなかった。

3) 体外循環前に G-CSF を 5 日間連続投与することにより、アフエレーシス回収細胞中に CD34 陽性細胞、CFU が濃縮されたことから、本法によりサルを用いた PBSCT 実施に必要な数の末梢動員幹細胞が回収できると判断した。

A. 研究目的

本プロジェクトでは造血機能障害疾患の新規治療法として、種々の治療遺伝子や細胞分化制御遺伝子を導入した骨髄幹細胞移植による細胞治療のプロトコルの安全性と有効性を霊長類を用いて評価することを目的としている。造血幹細胞を標的とした遺伝子治療や細胞治療に用いる造血幹細胞のソースは骨髄から直接採取した幹細胞を用いる場合（骨髄移植）と、末梢に動員した

幹細胞を用いる場合（末梢動員幹細胞移植）とがあるが、人への応用を考慮した場合には後者が適していると考えられる。今年度は、サルを用いた末梢動員幹細胞移植技術の確立を目的として、サイトカインでの末梢動員法およびアフエレーシスによる末梢動員幹細胞濃縮法を検討した。アフエレーシスによる末梢動員幹細胞の回収過程では、体外循環させる血液量が多いことから、体重 2～3Kg のカニクイザルに小児用の

アフエレーシス装置を直接適用することは不可能である。そこで今年度は、カニクイザルに適用可能なシステムの構築を目的として、まず安全性に配慮してより大型のアカゲザルを用いてアフエレーシスによる末梢動員幹細胞回収法を検討した。

## B. 研究方法

### 1) 小児用アフエレーシス装置の改良：

図1に示すように、市販の小児用アフエレーシス装置（Baxter, CS3000）の Shunt chamber 経由ラインを遮断し、チューブを短絡するとともに Draw Line および Inlet Line のチューブ径を内径 5mmφから 2mmφに変更して体外循環血液量を 130ml から 70ml に減少させた。

### 2) 末梢動員幹細胞回収法の検討：

5頭のアカゲザル雄（5歳以上、体重 4.2～7.4Kg）からアフエレーシス実施の3週間前に 60～90ml の末梢を採取し ACD 液と混合して 4℃ に保存した（貯血）。G-CSF を 5日間連続で皮下投与した後、アフエレーシスにより末梢動員幹細胞を採取した。サルを isoflurane の吸入麻酔下で固定し、大腿動脈に挿入したカテーテルをアフエレーシス装置の Draw line に接続し、装置の Inlet line を伏在静脈に挿入したカテーテルと結合した。アフエレーシス開始直前に装置の流路系を貯血自己血で充填し、サルに 100U/Kg のヘパリンを静脈内投与した。アフエレーシスによる血液の体外循環は 10～12ml/分の流速でおこない、最終的に推定全血量の 2～3 倍量の血液を処理した。アフエレーシス実施中に処理血液量が 50ml を越えるごとにヘマトクリット値と血小板数を測定し、要に応じて流速を微調整した。

### 3) アフエレーシス回収細胞の処理と性

状：

アフエレーシスにより最終的に得られた回収細胞を ACK で溶血処理し、有核細胞を得た。全有核細胞を抗ヒト CD34 抗体（Clone563）で染色し、FACS 解析により単核球数と CD34 陽性細胞数を計測した。また全有核細胞について常法に従ってコロニーアッセイをおこない、Colony Forming Unit (CFU) を計測した。それぞれの細胞回収率は体重で補正して表示した。

（倫理面への配慮）

筑波霊長類センターでのサルの実験は、国立感染症研究所「動物実験ガイドライン」および筑波霊長類センター「サル類での実験遂行指針」を遵守して行った。

## C. 研究結果及び考察

図1に体外循環血液量の減少を目的として小児用アフエレーシス装置を改良した模式図を示す。主な改良点は、Shunt Chamber への流路系を遮断したこと、余分な流路ラインを短絡したこと、Draw Line と Inlet Line のチューブ径を内径 5mmφから 2mmφに交換したことである。これらの改良により、改良前に 130ml であった体外循環血液量を 70ml までに減少させることに成功した。この体外循環量は全血量 200ml 前後のカニクイザル（体重 2～3Kg）に適用可能な量といえる。

アフエレーシス装置作動中に流速が要因と考えられる赤血球および血小板が白血球とともに遠心除去される危険性を防止するため、処理血液量が 50ml を越える毎（5分前後）に、ヘマトクリット値と血小板数を測定し、要に応じて流速を微調整する方法を採用した。その結果、図2に示すように、アフエレーシス終了後の赤血球数および血

血小板数の減少は最小限に押さえられ、アフエレーシス実施中に定期的に流速を微調整することにより白血球分画への赤血球および血小板の混入が最小限にとどまることが実証された。今回実施した5頭の実験では供試動物に重度の貧血や血小板減少は認められず、装置の作動性にも問題はなかった。

表1に今回5頭のアフエレーシスで回収した全有核細胞数、単核細胞数、CD34陽性細胞数およびCFUのそれぞれ平均を示す。CD34陽性細胞の平均(3頭)は $23.3 \times 10^6/\text{Kg}$  ( $\approx 1.2 \times 10^8/\text{頭}$ )と幹細胞移植実験に充分適応可能なレベルであり、CFUには個体差はあるものの、一頭あたり $5 \times 10^7$ 以上の前駆細胞の回収は可能と判断した。

現在、本法をカニクイザルに適用した実験を継続中であるが、これまでにカニクイザルにおいても良好な成績が得られつつある。これらの結果から、今回確立したアフエレーシスによる末梢動員幹細胞回収法により、造血幹細胞移植に必要な細胞の回収が可能となったと判断した。

#### D. 結論

治療遺伝子および分化制御遺伝子を導入した骨髄幹細胞移植による細胞治療の安全性と有効性を評価する目的で、アフエレーシスによる末梢動員幹細胞回収法を検討した。体外循環血液量の減少を目的とした装置の改良と、アフエレーシス実施中のヘマトクリット値および血小板の定期的モニターにより、赤血球および血小板の混入の少ないアフエレーシス産物を回収できる方法を確認した。本法により、サルを用いて末梢動員幹細胞を標的とした造血幹細胞自家移植技術の実施が可能となった。

#### E. 健康危険情報

本研究で、特に有害事象や不都合は観察されていない。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

HANAZONO, Y., TERAU, K. and OZAWA, K. (2001) Gene transfer into nonhuman primate hematopoietic stem cells: implication for gene therapy. STEM CELLS, 19: 12-23

寺尾恵治 (2001) 霊長類を用いた遺伝子治療研究の最前線、pp146-155、谷憲三郎、浅野茂隆編「新臨床医のための分子医学シリーズ「遺伝子治療の新展開-ベクター開発と臨床応用の最前線-」羊土社、東京

AGEYAMA, N., SHIBATA, H., NARITA, H., HANARI, K., KHONO, A., ONO, F., YOSHIKAWA, Y. and TERAU, K. (2001) Specific gravity of whole blood and total blood volume in nonhuman primates. CONTEMPORARY TOPICS IN LABORATORY ANIMAL SCIENCE, 40:33-5.

OSADA, N., HIDA, M., TANUMA, R., ISEKI, K., HIRATA, M., SUTO, Y., HIRAI, M., TERAU, K., SUZUKI, Y., SUGANO, S. and HASHIMOTO, K. (2001). Assignment of 118 novel cDNAs of cynomolgus monkey brain to human chromosome. GENE, 275: 31-37

MURAMATSU, S., FUJIMOTO, K., IKEGUCHI, K., SHIZUMA, N., KAWASAKI, K., ONO, F., SHEN, Y., WANG, L., MIZUKAMI, H., KUME, A., MATSUMURA, M., NAGATSU, I., URANO, F., ICHINOSE, H., NAGATSU, T., TERAU, K., NAKANO, I



and OZAWA, K. (2002), Behavioral recovery in primate model of Parkinson's disease by triple transduction of striatal cells with adeno-associate viral vectors expressing dopamine-synthesizing enzymes. HUMAN GENE THERAPY, 13: 345-354.

## 2. 学会発表

Hanazono, Y., Nagashima, T., Shibata, H., Ageyama, N., Asano, T., Ueda, Y., Kume, A., Terao, K., Hasegawa, M. and Ozawa, K. In vivo expansion of gene-modified hematopoietic cells with retroviral vectors expressing the selective amplifier gene in a nonhuman primate model. The Forth Annual Meeting of American Society of Gene Therapy, May 30-Jun 3, 2001, Seattle.

Muramatsu, S., Fujimoto, K., Ikeguchi, K., Shizuma, N., Kawasaki, K., Ono, F., Shen, Y., Wang, L., Mizukami, H., Kume, A., Matsumura, M., Nagatsu, I., Urano, F., Ichinose, H., Terao, K., Nakano, I and Ozawa, K. Behavioral Recovery in Primate Models of Parkinson's Disease by Gene Therapy using Adeno-Associated Virus Vectors Expressing Dopamine-Synthesizing Enzymes. The Forth Annual Meeting of American Society of Gene Therapy, May 30-Jun 3, 2001, Seattle.

Hanazono, Y., Nagashima, T., Asano, T., Shibata, H., Ageyama, N., Ueda, Y., Kume, A., Terao, K., Hasegawa, M. and Ozawa, K. In vivo selective expansion of retrovirally transduced hematopoietic cells in the setting of a clinically applicable nonhuman primate transplantation protocol. The 7th Annual Meeting of the Japanese Society of Gene Therapy, July 5-7, 2001, Tokyo.

Muramatsu, S., Fujimoto, K., Ikeguchi, K., Shizuma, N., Kawasaki, K., Ono, F., Shen, Y., Wang, L., Mizukami, H., Kume, A., Matsumura, M., Nagatsu, I., Ichinose, H., Nagatsu, T., Terao, K., Nakano, I. and Ozawa, K. Behavioral Recovery in a Primate Model of Parkinson's Disease by triple transduction of striatal cells with AAV vectors Expressing Dopamine-Synthesizing Enzymes. The 7th Annual Meeting of the Japanese Society of Gene Therapy, July 5-7, 2001, Tokyo.

Nagashima, T., Ueda, Y., Hanazono, Y., Kume, A., Shibata, H., Ageyama, N., Komatsu, N., Terao, K., Ozawa, K. and Hasegawa, M. A new design of selective amplifier genes with an erythropoietin receptor-based molecular switch for controlled expansion of gene-modified hematopoietic cells. The 7th Annual Meeting of the Japanese Society of Gene Therapy, July 5-7, 2001, Tokyo.

清水裕子、寺尾恵治、石田貴文、マカク延命細胞にみられた p53 遺伝子異常、第 17 回日本霊長類学会、2001 年 7 月 12 日～15 日、京都

柴田宏昭、花園 豊、長島建之、揚山直英、浅野隆之、上田泰次、久米晃啓、加藤郁之進、長谷川護、小澤敬也、寺尾恵治、吉川泰弘、レトロウイルスベクターを用いたカニクイザル造血幹細胞への遺伝子導入、第 17 回日本霊長類学会、2001 年 7 月 12 日～15 日、京都

坂手龍一、肥田宗友、菅野純夫、橋本雄之、早坂郁夫、寺尾恵治、平井百樹、霊長類遺伝子データベース、第 17 回日本霊長類学会、2001 年 7 月 12 日～15 日、京都

肥田宗友、坂手龍一、鈴木 穰、菅野純夫、五條堀孝、橋本雄之、寺尾恵治、平井百樹、

ヒトとカニクイザル mRNA5'領域の比較、  
第 17 回日本霊長類学会、2001 年 7 月 12 日～15 日、京都

花園 豊、長島建之、浅野隆之、柴田宏昭、揚山直英、上田泰次、久米晃啓、寺尾恵治、長谷川護、小澤敬也、造血幹細胞遺伝子治療の霊長類モデルにおける遺伝子導入細胞の体内増幅、

第 60 回日本癌学会、2001 年 9 月 26 日～28 日、横浜

TERAO,K. Development of nonhuman primate models for evaluating safety and efficacy of gene therapy. The 2nd International Primate Symposium. November

16, 2001, Seoul, Korea.

Ueda,Y., Nagashima,T., Hanazono,Y., Shibata,H., Kume,A., Terao,K., Komatsu,N., Ozawa,K. and Hasegawa,M. Efficient Expansion Of Hematopoietic Cells By A Novel Selective Amplifier Gene, EPO-MPL. 43rd Annual Meeting of American Society of Hematology, December 7-11, 2001, Orlando, Florida, USA

Ozawa,K., Hanazono,Y., Kume,A., Nagashima,T., Ueda,Y., Terao,K. and Hasegawa,M. SAGs (Selective Amplifier Genes) for in vivo expansion of transduced cells in hematopoietic stem cell gene therapy. 3rd Stem cell gene therapy conference, Rockville MD, March 21-23, 2002

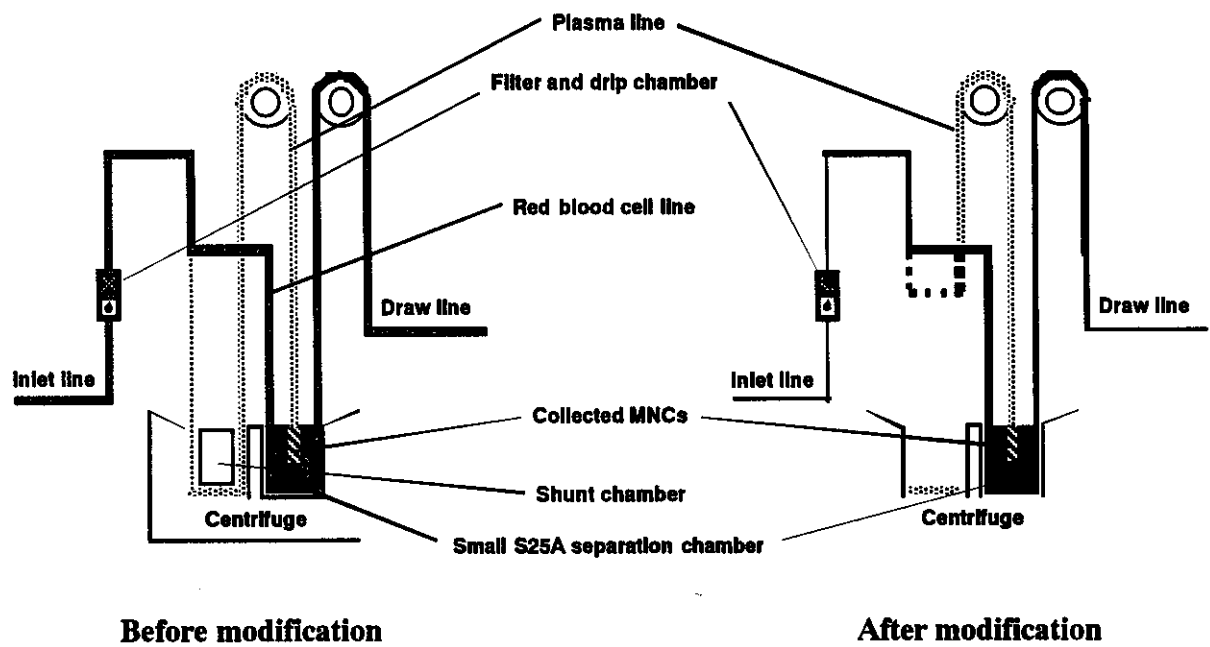


図 1、体外循環血液量の減少を目的としたアフェレーシス装置の改良

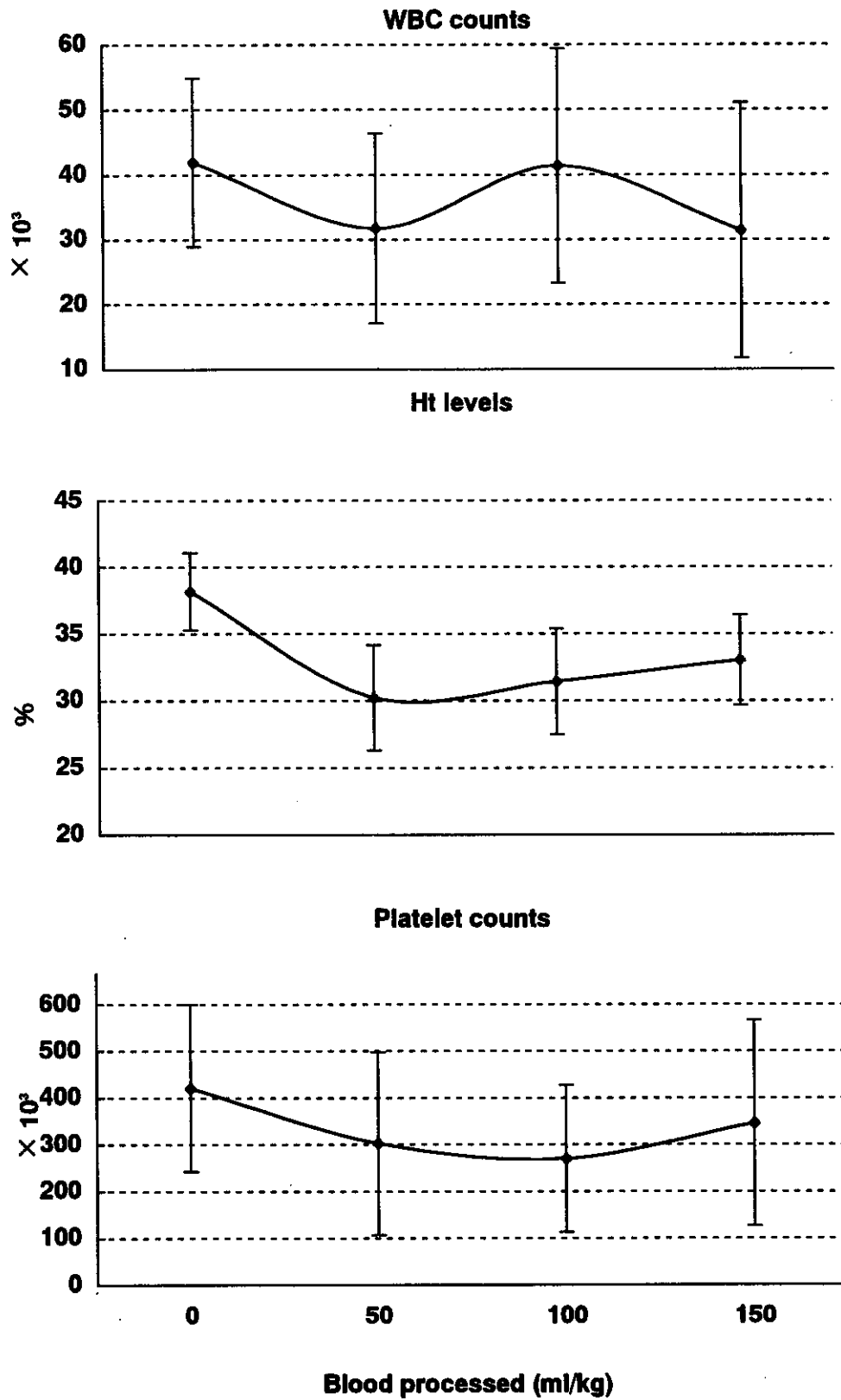


図2 : アフェレーシス実施中の血液細胞数の変化