

17. 平家俊男、吉本桃子、塩田光隆、
中畑龍俊：造血組織に由来する筋幹
細胞の同定と生着に関する研究
平成 14 初年 12 月 4 日、5 日 厚生
労働省精神・神経疾患研究委託費
遺伝性筋疾患に対する分子治療の
基盤研究 班会議

—国際学会—

1. H. Hiramatsu, M Ito, K Kobayashi,
Y ueyama, T. Heike, T Nakahata:
A novel assay system for human
lympho-hematopoiesis using
NOD/SCID/common gamma chain
null (NOD/SCID/ γ C null) mouse.
The 29th world congress of the
Internal Society of Hematology,
2002
2. M. Yoshimoto, T. Heike, T.
Nakahata: Hematopoietic stem
cells can differentiate into
skeletal muscle. The 44th
annual meeting of the American
Society of Hematology, 2002.
3. H Hiramatsu, T Heike, K
Katamura, M Ito, Y Ueyama, T

Nakahata: Differential and
functional maturation of human
lymphocytes from hematopoietic
stem cells in NOD/SCID/ γ cnll
mouse. The 44th annual meeting
of the American Society of
Hematology, 2002.

4. M. Yoshimoto, T. Heike, T.
Nakahata: Direct visualization
of kinetics of transplanted
hematopoietic stem cells in
intact organs. The 44th annual
meeting of the American Society
of Hematology, 2002.

H. 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

厚生労働科学研究費補助金（基礎研究成果の臨床応用研究事業）

分担研究報告書

新 GCP に準拠した臨床プロトコルの作成

分担研究者：伊藤 仁也、村上 雅義、永井 謙一
（先端医療センター再生医療研究部、同臨床研究支援部同診療部）

研究要旨

Ex vivo 増幅造血幹細胞を用いた臍帯血移植の臨床研究を実践するためには、細胞療法というロットを形成しない製剤の特殊性や、個人の疾患特異性や免疫特性などの影響を受けやすいといった臨床研究の質に関わる問題が現存する。また、細胞製剤の規格の統一や臨床効果の評価を行い難いといった側面もあり、細胞療法の臨床プロトコルの設定は、従来の新 GCP に則った臨床研究をそのまま当てはめることは、困難である。平成 14 年度の本分担研究においては、これまで外国で行われた ex vivo 増幅造血幹細胞移植の臨床研究を検証し、より良い臨床プロトコルの作成を行うことを目的とし、サイトカインにより増幅された臍帯血幹細胞を用いての臨床研究のプロトコルの作成のたたき台を作成した。

A. 研究目的

Ex vivo 増幅造血幹細胞を用いた臍帯血移植の臨床研究において、臨床プロトコルの作成は最も重要な課題である。細胞治療においては、輸注する細胞製剤をオーダーメイド作成するため、加工する臍帯血によって増幅効率や免疫学的特性（HLA など）増幅される細胞のフェノタイプなどの規格を統一させることが困難である。また、細胞治療の特性として、個人の免疫原性の違いなどの影響を受けやすいため、副作用の出現様式、効果の判定も一元的な判定基準を設定しにくいといった特徴がある。本年度の本分担研究の目的として、海外で行われた造血幹細胞の ex vivo 増幅による移植の臨床研究を調査することにより、より安全に臨床研究が行えるよう、またより効果的に臨床効果の判定ができるよう臨床研究に向けたプロトコル作成の基盤を整備することとした。

B. 研究方法

これまで海外で行われた造血幹細胞の ex vivo expansion の臨床研究報告を調査することにより、適切な輸注細胞数、品質管理基準の設定、臨床試験のエンドポイントの設定、予想される副作用への対処、評価法の決定などを行い、臨床プロトコルに盛り込むべき内容を整理する。

C. 研究結果

Ex vivo 増幅した造血幹細胞を用いた臨床試験はまず自家移植において開始された。1995 年 Brugger らは、固形腫瘍の末梢血幹細胞を SCF, IL-3, IL-6, EPO, IL-1 β により 1 2 日間増幅し、化学療法後輸注した。増幅されていない末梢血幹細胞を輸注した場合と比較を行ったところ、血球の回復に有意な差は認められないと報告した。骨髓非破壊的な化学療法後に輸注したため、厳密には生着に及ぼす、増幅幹細胞の機能は不明である。1997 年、Holyoake らは骨髓破壊的な前処置後に Brugger らと同じサイトカインを用いて 8 日間培養した造血幹細胞を用いて自家移植を行った。4 例中 3 例が生着したと報告されているが、これらの報告は安全性が確認されたにすぎない。

第 II 相臨床試験としては、Stiff らが、19 例の乳癌患者に対し、培地還流系と stroma-dependent な培養システムである Astrom ReplicellTM を用い、EPO, FL, PIXY321 存在下で 1 2 日間培養した移植成績を報告している。平均 37ml (15.8 ml-87ml) の少量の自家骨髓由来の造血細胞を移植した結果、1000-1500ml の通常の自家骨髓移植を行った例と同等の成績であったとしている。また Reiffers らは多発性骨髄腫の患者に TPO, G-CSF, SCF の組み合

わせで自家末梢血を10日間培養したものを移植したところ顆粒球減少の期間が大幅に短縮できたと報告している。

一方、アロ移植においては ex vivo で増幅した臍帯血による移植が行われている。現在のところ安全性を確認するため、増幅しない臍帯血と増幅した臍帯血を混合して移植する方法がとられているが、いくつかの臨床試験が開始された。McNieceらは臍帯血より純化した CD34 陽性細胞を SCF, G-CSF, MGDF (TPO と同じ) を含む Amgen medium とよばれる培養液中で10日間培養し、37例の患者に移植した。輸注 CD34 陽性細胞数は平均 10.4×10^4 cell/kg であった。好中球の生着は中央値で28日(15-49日)で、早期死亡で評価不能例を除くと生着不全はなかった。血小板 >2000 までの期間は中央値106日(38-345日)であった。輸注 CD34 陽性細胞と生着の関係では、 5×10^4 /kg 以上で、より早期に生着が認められた。66.7%の患者で急性 GVHD が認められ、評価可能な患者のうち、74%に慢性 GVHD が認められた。最長3年以上ドナータイプの生着も確認されており、一定の安全性を示した。また Kurtzberg らは28例の患者に前出の Astrom Replicell™ システムで SCF, EPO, FL, PIXY321, を用い12日間培養した臍帯血を移植した。輸注

CD34 陽性細胞数は平均で 1.6×10^5 /kg であった。評価可能な26例中21例が生着し、好中球の生着の中央値は22日(13-40)であった。3例は42日までの間に生着しなく、2例は生着前に死亡した。また血小板 >50000 までの日数の中央値は71日(39-139)であった。79%の患者で急性 GVHD が認められた。

D. 考察及び今後の展望

以上文献学的考察と我々の基礎研究結果より、以下の目標値を設定した。

1) 輸注細胞数

これまでの報告による各グループによる培養方法と我々のグループによる培養方法、増幅される造血幹細胞の性質は異なるが、最低 5×10^5 /kg の CD34 陽性細胞を増幅することを目標とする。これには60kgの成人を安全に移植することを考えて15~20倍の増幅が必要である。培養日数により、造血幹細胞の数の増幅は可能であるが、質的变化が考えられ、NOD/SCID マウスへの培養日数を変えた CD34 陽性細胞の移植実験を行い、生着との相関を調べる必要がある。

2) エンドポイントと評価項目

臨床試験の primary endpoint として移植後40日までの好中球の生着と GVHD を含む、輸注後の副作用の有無を設定する。これは、移植の安全性を

考える上でも 40 日以上の観察期間を設けることは危険であるため、妥当な日数と考えられる。また 2nd endpoint として移植後 100 日での血小板数、赤血球数、白血球分画と慢性 GVHD、生存率を検討する。

3) 対象疾患と移植レジメン

これまでの臨床研究では対象疾患や移植レジメンが統一されておらず、厳密な意味での生着や GVHD の評価は難しいと判断された。

我々は対象疾患を造血腫瘍に絞る移植レジメン、GVHD 予防レジメンを統一する方向でプロトコルの作成を行う。

E. 研究発表

1. 論文発表

伊藤 仁也、中畑 龍俊. 造血幹細胞の ex vivo 増幅: 最新医学 57(1) 23-30, 2002. 1

2. 学会発表

特になし

H. 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

厚生労働科学研究費補助金（基礎研究成果の臨床応用研究事業）

分担研究報告書

造血幹細胞の自己複製機構の解明

分担研究者：田中 宏和、松村 到、金倉 譲
（地域結集型共同研究事業部、大阪大学大学院医学系研究科
分子病態内科学講座（血液・腫瘍内科学））

研究要旨

造血幹細胞は自己複製及び多分化能の維持を特徴とし、長期にわたって骨髄での造血を可能にする細胞である。造血幹細胞の自己複製、分化の決定は、サイトカインなどの外的因子及びシグナル伝達分子など内的因子によって制御されていると考えられているが、未だこれら因子による制御機構には不明な点も多い。

本分担研究において、HoxB4 や Notch など既知の造血幹細胞の自己複製因子をマウス造血幹細胞に遺伝子導入し検討した結果、これら因子を導入した細胞では、細胞周期を正に制御する c-Myc、E2F1 の発現が誘導、維持されていること、さらに c-Myc の活性をマウス造血幹細胞に誘導的に発現させた場合、表面形質上未分化で、かつ各系統の細胞に分化し得る細胞の増殖が認められたことから、HoxB4 や Notch による造血幹細胞の自己複製は、主として c-Myc、E2F1 などの細胞周期制御因子により制御されていると考えられた。一方で、これら内的因子の操作により増幅させた細胞内には、活性酸素種 (ROS) の過剰な蓄積が認められ、種々の刺激による細胞死に対する感受性亢進に関与していることが明らかとなった。

今後は、細胞周期制御因子による自己複製の制御機構をより詳細に解析すること、内的因子の操作に加え、活性酸素除去など外的な操作を加えることによって、より効率良くかつ安全なヒト造血幹細胞の体外増幅を試みることを計画している。

A. 研究目的

造血幹細胞は各種悪性腫瘍に対する移植術だけでなく、遺伝子治療や分野を越えた再生医療への応用が期待されている。現在造血幹細胞は骨髄や臍帯血から採取され利用されているが、量的な制限もあり十分に供給されているとは言い難い。我々はこれまでの基礎研究の集積から、この問題を解決する一つのアプローチとして、*ex vivo* で増幅させた臍帯血幹細胞を臍帯血移植に応用するトランスレーショナルリサーチを計画している。

造血幹細胞は自己複製及び多分化能の維持を特徴とし、長期にわたって骨髄での造血を可能にする細胞である。近年、造血幹細胞の自己複製、分化の決定は、外的及び内的な因子によって制御されていると考えられている。外的な因子としてはサイトカインからのシグナルや微小環境を構成するストローマ細胞からのシグナルなどが挙げられ、内的な因子としてはそれらシグナルを細胞内に伝達するシグナル伝達分子及び種々の遺伝子発現を制御する転写因子が挙げられる。これまでにこれらの外的及び内的な因子を操作することによるマウス、ヒトの造血幹細胞の体外増幅の試みが精力的に行われてきた。最近ではホメオボックス転写因子群の一つである HoxB4 をマウス造血幹細胞に導入した

場合、すべての血球系の再構築能を保持した造血幹細胞の約 40 倍の体外増幅が得られたことが報告されているが、未だこれら因子による制御機構には不明な点も多く、安全に体外増幅を行う際には、自己複製機構の詳細な解析、分子機構の解明が要求される。

そこで本分担研究では、上記トランスレーショナルリサーチの一環として、HoxB4 や Notch など既知の造血幹細胞の自己複製因子をマウス造血幹細胞に導入し、その分子機構についての解析を行った。

B. 研究方法

1. 細胞は 8-9 週齢の C57BL/6J マウスの骨髄細胞を採取し用いた。
2. 上記細胞を磁気ビーズ法により lineage⁻, Sca-1⁺ に分離しマウス造血幹細胞を得た。
3. 造血幹細胞を至適サイトカイン存在下で培養し、目的の遺伝子のレトロウイルス上清を添加し、感染させた。
4. 7 日間の薬剤選択ののち各種解析を行った。
5. 誘導的遺伝子発現系については後述する。

C. 研究結果

1. HoxB4, Notch の造血幹細胞の自己複製に及ぼす効果

マウス造血幹細胞に HoxB4 及び活性化型 Notch を遺伝子導入した場合、これまでの報告同様、培養 10 日目には、いずれの場合においても約 20 倍の造血幹細胞の増幅が認められた。この時各々の細胞の DNA content を FACS にて検討した結果、HoxB4 及び活性化型 Notch を導入した細胞では S 期、G2/M 期の割合が増加しており、細胞周期が亢進していることが明らかとなった。そこで G1-S 期移行に関与する種々の細胞周期制御因子の発現を RT-PCR 法により検討した結果、これらの細胞では G1-S 期移行を正に制御する c-Myc, E2F1 の発現が誘導され、これらの発現が維持されていることが明らかとなった。

様々な細胞の増殖、分化は細胞周期制御因子により厳密に制御されていることは周知の事実であり、造血幹細胞の自己複製、分化機構においても、細胞周期制御因子が重要な役割を担っていると考えられる。そこで次にマウス造血幹細胞に c-Myc の活性を誘導的に発現出来る系を確立し、c-Myc の自己複製に及ぼす影響について検討した。

2. マウス造血幹細胞における誘導的遺伝子発現系の確立

まず目的とする導入遺伝子と合成ステロイドである 4-hydroxytamoxifen (4-HT) に結合する変異型エストロゲンレセプター-ERT とのキメラ遺伝子を作製する。このキメラ遺伝子をレトロウイルスを用い細胞に導入した場合、培養液中に 4-HT を添加することで導入遺伝子の活性が誘導される。

この操作法の特徴としては、合成ステロイドの培養液中への添加、非添加によって遺伝子の活性を on あるいは off に出来ることが挙げられ、造血幹細胞において自己複製因子の活性を誘導しない場合には、正常に分化、成熟し、活性を誘導した場合には増幅が誘導されることになる。また変異型エストロゲンレセプター-ERT の基質特異性は極めて高く、生理的な濃度の 1000 倍以上のエストロゲンにも反応せず、さらに 4-hydroxytamoxifen はエストロゲン拮抗薬として用いられているタモキシフェンの自然代謝物であり臨床応用を考える上でも有用と考えられる。

3. c-Myc の造血幹細胞の自己複製に及ぼす効果

c-Myc と ERT とのキメラ分子 c-MycERT を導入した造血幹細胞では、4-HT 存在下で 2 週間の培養後に、約 20 倍の表面形質上未分化な細胞の増殖が認められた。さらに増幅させた細胞は *in vitro* のコロニーアッセイに

において、各系統の細胞に分化し得たことから、HoxB4 や Notch による造血幹細胞の自己複製は、主として c-Myc などの細胞周期制御因子により制御されていると考えられた。

4. 増幅造血幹細胞の特性についての検討

一般に、細胞周期の強制的な進行は、血清除去やサイトカイン除去などのアポトーシス誘導刺激に対する感受性を亢進させることが知られているが、その分子機構については不明な点が多い。今回の c-Myc の活性を誘導的に発現させ増幅した細胞や、同様に c-Myc や E2F1 を過剰発現させ細胞周期を強制的に進行させた細胞株を用いた検討から、これらの細胞では細胞内に過剰な活性酸素種 (reactive oxygen species: ROS) の蓄積が認められ、この ROS を抗酸化剤により処理し除去することによって種々アポトーシス誘導刺激に対する感受性の亢進が解除されたことから、細胞周期の強制的な進行によるアポトーシス感受性の亢進には ROS が関与していると考えられた。

D. 考察及び今後の展望

本分担研究において、HoxB4 や Notch など既知の内的因子による造血幹細胞の自己複製は、主として c-Myc、E2F1 などの細胞周期制御因子により制御

されていることが明らかとなった。一方で、これら内的因子の操作により増幅させた細胞内には ROS の過剰な蓄積が認められた。

近年、細胞内 ROS は細胞死を誘導するシグナル伝達分子として作用するだけでなく、過剰に長期間蓄積している場合には、直接的に遺伝子を傷害し、細胞の癌化を惹起することが報告されている。従って今後は、細胞周期制御因子による自己複製の制御機構をより詳細に解析するとともに、これら内的因子の操作に加え、活性酸素除去など外的な操作を加えることによって、より効率良くかつ安全なヒト造血幹細胞の体外増幅を試みる必要があると考えられた。

E. 研究発表

1. 論文発表

1. Ueda, S., Mizuki, M., Ikeda, H., Tsujimura, T., Matsumura, I., Nakano, K., Daino, H., Honda, Z., Sonoyama, J., Shibayama, H., Sugawara, H., Machii, T., and Kanakura, Y. Critical roles of c-kit tyrosine residues 567 and 719 in stem cell cell factor-induced chemotaxis : contribution of src family kinase and PI3-kinase on

- migration. *Blood* 99:3342-3349, 2002.
2. Tanaka, H., Matsumura, I., Ezoe, S., Sakamaki, T., Albanese, C., Machii, T., Pestell R.G., and Kanakura, Y.
E2F-1 and c-Myc potentiate apoptosis through inhibition NF- γ B that facilitates MnSOD-mediated ROS elimination. *Molecular Cell* 9:1017-1029, 2002.
 3. Fukuda, M., Kurosaki, W., Yanagihara, K., Kuratsune, H., and Sairenji, T. A mechanism in Epstein-Barr virus oncogenesis: inhibition of transforming growth factor-beta 1-mediated induction of MAPK/p21 by LMP1. *Virology*, 302:310-320, 2002.
 4. Ezoe, S., Matsumura, I., Gale, K., Ishihara, K., Minegishi, N., Machii, T., Kitamura, T., Yamamoto, M., Enver, T., and Kanakura, Y. GATA-2/estrogen receptor chimera regulates cytokine-dependent growth of hematopoiesis through accumulation of p21^{WAF1} and p27^{Kip1} proteins. *Blood* 100:3512-3520, 2002.
 5. Sonoyama, J., Matsumura, I., Ezoe, S., Satoh, Y., Zhang, X., Kataoka, Y., Takai, E., Mizuki, M., Machii, T., Wakao, H., and Kanakura, Y. Functional cooperation among Ras, STAT5 and PI3-K is required for full oncogenic activities of BCR/ABL in K562 cells. *J. Biol. Chem* 277: 8076-8082, 2002.
 6. Nishimura, Ji., Hirota, T., Kanakura, Y., Machii, T., Kageyama, T., Doi, S., Wada, H., Masaoka, T., Kanayama, Y., Fujii, H., Inoue, N., Kuwayama, M., Inoue, N., Ohishi, K., and Kinoshita, T. Long-term support of hematopoiesis by a single stem cell clone in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood* 99: 2748-2751, 2002.
 7. Nojima, J., Kuratsune, H., Suehisa, E., Kawasaki, T., Machii, T., Kitani, T., Iwatani, Y., and Kanakura, Y. Acquired activated protein C resistance associated with anti-protein S antibody as a strong risk factor for DVT in non-SLE

- risk factor for DVT in non-SLE patients.
 Thromb. Haemost. 88:716-722, 2002.
8. Nojima, J., Kuratsune, H., Suehisa, E., Kawasaki, T., Machii, T., Kitani, T., Iwatani, Y., and Kanakura, Y. Acquired activated protein C resistance is associated with the co-existence of anti-prothrombin antibodies and lupus anticoagulant activity in patients with systemic lupus erythematosus.
 Br. J. Haematol. 118:577-583, 2002.
9. Ueda, S., Ikeda, H., Mizuki, M., Ishiko, J., Matsumura, I., Tanaka, H., Shibayama, H., Sugahara, H., Takai, E., Zhang, X., Machii, T., and Kanakura, Y. Constitutive activation of c-kit by the juxtamembrane but not the catalytic domain mutations is inhibited selectively by tyrosine kinase inhibitors STI571 and AG1296. *Int. J. Hematol.* 76:427-435, 2002.
10. Matsumura, I. and Kanakura, Y. Molecular control of megakaryopoiesis and thrombopoiesis. *Int. J. Hematol.*, 75:473-483, 2002.
11. Yang, Q., Yamagata, K., Fukui, K., Cao, Y., Nanno, T., Iwahashi, H., Wang, H., Matsumura, I., Hanafusa, T., Bucala, R., Wollheim, C.B., Miyagawa, J., and Matsuzawa, Y. Hepatocyte nuclear factor-1 α modulates pancreatic beta-cell growth by regulating the expression of insulin-like growth factor-1 in INS-1 cells. *Diabetes*, 51:1785-1792, 2002.
12. Nanbu-Wakao, R., Morikawa, Y., Matsumura, I., Masuho, Y., Muramatsu, M.A., Senba, E., and Wakao, H. Stimulation of 3T3-L1 adipogenesis by signal transducer and activator of transcription 5. *Mol. Endocrinol.*, 16:1565-1576, 2002.
13. Kabutomori, O., Kanakura, Y., and Iwatani, Y. Movement of toxic granulation neutrophils and C-reactive protein in inflammatory processes. *Am. J. Med.* 112:595-

- 596, 2002.
14. Kabutomori, O., Kanakura, Y., and Iwatani, Y. Induction of toxic granulation in neutrophils by granulocyte colony-stimulating factor. *Eur. J. Haematol.* 69:187-188, 2002.
 15. Yamanishi, H., Iyama, S., Yamaguchi, Y., Kanakura, Y., and Iwatani, Y. Modification of fully automated total iron-binding capacity (TIBC) assay in serum and comparison with dimension TIBC method. *Clin. Chem.* 48:1565-1570, 2002.
 16. Yamanishi, H., Iyama, S., Yamaguchi, Y., Kanakura, Y., and Iwatani, Y. Relation between iron content of serum ferritin and clinical status factors extracted by factor analysis in patients with hyperferritinemia. *Clin. Biochem.* 35:523-529, 2002.
 17. Kuratsune, H., Yamaguti, K., Lindh, G., Evengard, B., Hagberg, G., Matsumura, K., Iwase, M., Onoe, H., Takahashi, M., Machii, T., Kanakura, Y., Kitani, T., Langstrom, B., and Watanabe, Y. Brain regions involved in fatigue sensation: reduced acetylcarnitine uptake into the brain. *Neuroimage* 17:1256-1265, 2002.
 18. Nishimura, J., Kanakura, Y., Ware, R. E., Shichishima, T., Nakakuma, H., Ninomiya, H., Hall, S., Kanamaru, A., Mizoguchi, H., Omine, M., Kinoshita, T., and Rosse, W. F. Serial analysis of clonal expansion in PNH by flow cytometry. In: *Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and related disorders -Molecular Aspects of Pathogenesis*, M., Omine, T., Kinoshita (Eds.), Springer, pp235-237, 2002.
 19. Nishimura, J., Kanakura, Y., Ware, R. E., Shichishima, T., Nakakuma, H., Ninomiya, H., Hall, S., Kanamaru, A., Mizoguchi, H., Omine, M., Kinoshita, T., and Rosse, W. F. The clinical course of PNH in the USA and in Japan. In: *Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and related disorders-Molecular Aspects of Pathogenesis*, M., Omine, T., Kinoshita (Eds.), Springer, pp239-241, 2002.

20. Hirota, T., Nishimura, J., Kanakura Y., Machii, T., Kuwayama, M., Ioue, N., Ohishi, K., and Kinoshita, T. Long-term support of human hematopoiesis by a single stem cell clone. In: Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and related disorders Molecular Aspects of Pathogenesis, M. Omine, T. Kinoshita (Eds.), Springer, pp243-246, 2002.
21. Nishimura, J., Ware, R. E., Burnette, A., Pendleton, A. L., Kitano, K., Hirota, T., Machii, T., Kitani, T., Smith, C. A., and Rosse, W. F. The hematopoietic defect in PNH is not due to defective stroma, but is due to defective progenitor cells. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*, 29:159-167, 2002.
22. Hashimoto, K., Matsumura, I., Tsujimura, T., Kim, D. K., Ogiwara, H., Ikeda, H., Ueda, S., Mizuki, M., Sugahara, H., Shibayama, H., Kitamura, Y., and Kanakura, Y. Necessity of tyrosine 719 and phosphatidylinositol 3'-kinase-mediated signal pathway in constitutive activation and oncogenic potential of c-kit receptor tyrosine kinase with the D814V mutation. *Blood* 101:1094-1102, 2003.
23. Yamanishi, H., Iyama, S., Yamaguchi, Y., Kanakura, Y., and Iwatani, Y. Total iron binding capacity calculated from serum transferrin concentration or serum iron concentration and unsaturated iron-binding capacity. *Clin. Chem.*, 49:175-178, 2003.
24. Kawasaki, A., Matsumura, I., Kataoka, Y., Takigawa, E., Nakajima, K. and Kanakura, Y. Opposing Effects of PML and PML/RAR γ on STAT3 activity. *Blood*, in press
25. Mizuki, M., Schwaeble, J., Steur, C., Choudhary, C., Agrawal, S., Sargin, B., Steffen, B., Matsumura, I., Kanakura, Y., Boehmer, F. D., Mueller-Tidow, C., Berdel, W. E., and Serve, H. Suppression of myeloid transcription factors and induction of STAT response

- genes by AML- specific Flt3 mutations. Blood, in press
26. Zhang, X., Machii, T., Matsumura, I., Ezoe, S., Kawasaki, A., Tanaka, H., Ueda, S., Sugahara, H., Shibayama, H., Mizuki, M., and Kanakura Y.
Constitutively activated Rho GTPases regulate the growth and morphology of hairy cell leukemia (HCL) cells. Int. J. Hematology, in press
27. Matsumura, I., Tanaka, H., Mizuki, M., Sugahara, H. and Kanakura, Y.
Molecular mechanisms of E2F1- and c-Myc-enhanced apoptosis. Rec. Res. Dev. in Mol. & Cell. Biol., in press
28. Matsumura, I., Tanaka, H., and Kanakura, Y. Roles for E2F1 and c-Myc in the regulation of cell growth and survival. Cell Cycle, in press
29. Ezoe, S., Matsumura, I., and Kanakura, Y. Roles for CDK inhibitors in hematopoietic system. Cell Cycle, in press
30. Matsumura, I., Ezoe, S., Mizuki, M., and Kanakura, Y. Roles for CDK inhibitors in the growth, differentiation and malignant transformation of hematopoietic cells. Res. Adv. in Blood, in press

IV. 合同研究カンファレンス

合同研究カンファレンス記録

第一回研究合同カンファレンス

期日：平成 15 年 1 月 16 日（木） 午後 6 時～9 時

会場：先端医療センター 医療機器棟 5 階 カンファレンスルーム

第二回研究合同カンファレンス

期日：平成 15 年 3 月 25 日（火） 午後 3 時～6 時

会場：先端医療センター 臨床棟 4 階 大会議室

V. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻名	ページ	出版年
Tatsutoshi Nakahata, Hano Toru	Cytokines Regulate Development of Human Mast Cells from Hematopoietic Progenitors	International Journal of HEMATOLOGY	75	350-356	2002
YASUHIRO EBIHARA, MIKA WADA, TAKAHIRO UEDA, MING-JIANG XU, ATSUSHI MANABE, RYUHEI TANAKA, MAMORU ITO, HIDEO MUGISHIMA, SHIGETAKA ASANO, TATSUTOSHI NAKAHATA, AND KOHICHIRO TSUJI	Reconstitution of human haematopoiesis in non-obese diabetic/severe combined immunodeficient mice by clonal cells expanded from single CD34 ⁺ CD38 ⁻ cells expressing Flk2/Flt-3	British Journal of Haematology	119	525-534	2002
Takashi Kusunoki, MD, PhD, Manabu Sugai, DDS, PhD, Tomoya Katakai, PhD, Yoshiki Omatsu, MS, Tomonori Iyoda, PhD, Kayo Inaba, PhD, Tatsutoshi Nakahata, MD, PhD, Akira Shimizu, MD, PhD, and Yoshifumi Yokota, MD, PhD	T _H 2 dominance and defective development of a CD8 ⁺ dendritic cell subset in Id2-deficient mice	Basic and clinical immunology	111	136-142	2003
Norio Suzuki, Osamu Ohneda, Satoru Takahashi, Masato Higuchi, Harumi Y Mukai, Tatsutoshi Nakahata, Shigehiko Imagawa, and Masayuki Yamamoto	Erythroid-specific expression of the erythropoietin receptor rescued its null mutant mice from lethality	BLOOD	7	2279-2287	2002
Keigo Hamahata, Masaru Kubota, Ikuya Utsami, Ying-Wei Lin, Ken Shimizu, Akira Morimoto, and Tatsutoshi Nakahata	Somatic cell mutation in pediatric patients undergoing allogeneic bone marrow transplantation	Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis	517	21-28	2002

柳田 誠・河合 弘行	細胞組織医薬品の品質及び安全性確保に関するレギュレーション	Medical Science Digest	28	287-290	2002
前川 平	細胞治療・再生治療開発のためのGMP準拠細胞プロセッシング —品質確保に必要なインフラストラクチャー—	臨床病理レビュー特 集	122	81-91	2002
Toshio Heike, Tatsutoshi Nakahata	Ex vivo expansion of hematopoietic stem cells by cytokines	Biochimica et Biophysica Acta	1592	313-321	2002
Mamoru Ito, Hidefumi Hiramatsu, Kimio Kobayashi, Kazutomo Suzue, Mariko Kawahata, Kyoji Hioki, Yoshito Ueyama, Yoshio Koyanagi, Kazuo Sugamura, Kohichiro Tsuyji, Toshio Heike, and Tatsutoshi Nakahata	null NOD/SCID/ γ c mouse: an excellent recipient mouse model for engraftment of human cells	BLOOD	100	3175-3182	2002
Hirokazu Tanaka, Itaru Matsumura, Sachiko Ezoe, Yusuke Satoh, Toshiyuki Sakamaki, Chris Albanese, Takashi Machii, Richard G.Pastell, and Yuzuru Kanakura	E2F1 and C-Myc Potentiate Apoptosis through Inhibition of NF- κ B Activity that Facilitates MnSOD-Mediated ROS Elimination	Molecular Cell	9	1017-1029	2002
Sachiko Ezoe, Itaru Matsumura, Soichi Nakata, Karin Gale, Katsuhiko Ishihara, Naoko Minegishi, Takashi Machii, Toshio Kitamura, Masayuki Yamamoto, Tariq Enver, and Yuzuru Kanakura	GATA-2/estrogen receptor chimera regulates cytokine--dependent growth of hematopoietic cells through accumulation of p21 ^{WAF1} and p27 ^{KIP1} proteins	BLOOD	100	3512-3520	2002
Shuji Ueda, Masao Mizuki, Hirokazu Ikeda, Tohru Tsujimura, Itaru Matsumura, Kazushi Nakano, Hanako Daino, Zen-ichiro Honda, Junko Sonoyama, Hirohiko Shibayama, Hiroyuki Sugahara, Takashi Machii, and Yuzuru Kanakura	Critical roles of c-Kit tyrosine residues 567 and 719 in stem cell factor-induced chemotaxis: contribution of src family kinase and P13-kinase on calcium mobilization and cell migration	BLOOD	99	3342-3349	2002

Itaru Matsumura, Yuzuru Kanakura	Molecular Control of Megakaryopoiesis and Thrombopoiesis	International Journal of HEMATOLOGY	75	473-483	2002
Junko Sonoyama, Itaru Matsumura, Sachiko Ezoe, Yusuke Satoh, Xian Zhang, Yoshihisa Kataoka, Emi Takai, Masao Mizuki, Takashi Machii, Hiroshi Wakao, and Yuzuru Kanakura	Functional Cooperation among Ras, STAT5, and Phosphatidylinositol 3-Kinase Is Required for Full Oncogenic Activities of BCR/ABL in K562 Cells	THE JOURNAL of BIOLOGICAL CHEMISTRY	277	8076- 8082	2002