

厚生労働科学研究研究費補助金

医薬安全総合研究事業

造血幹細胞からの成熟赤血球、血小板誘導システム構築に関する研究

平成14年度 総括研究報告書

主任研究者 平家 俊男

平成15年(2003年)3月

## 目次

I.	総括研究報告	-----	1
造血幹細胞からの成熟赤血球、血小板誘導システム構築に関する研究			
II.	研究成果の刊行に関する一覧表	-----	13
III.	研究成果の刊行物・別冊	-----	14

厚生労働科学研究研究費補助金（医薬安全総合研究事業）

総括研究報告書

造血幹細胞からの成熟赤血球、血小板誘導システム構築に関する研究

主任研究者 平家 俊男 京都大学医学研究科発達小児科学助教授

### 研究要旨

造血幹細胞は、骨髄、末梢血、臍帯血から採取され、種々の悪性腫瘍、血液免疫疾患、遺伝性疾患の根本的治療法として確立している。一方、医療現場からは、この造血幹細胞移植の必要性とともに、従来よりの分化型造血細胞である赤血球、血小板輸注の需要も益々増加の一途をたどっている。現在、このような血液製剤の確保は、国民の善意の献血に依存しており、その確保に困難を伴う。また、感染症等の事故の発生の危険も伴う。これらの問題を解決するため安全で安定した血液製剤の供給が切望され、その1つの方法として幹細胞よりの分化誘導による血液製剤の開発が有望視されている。しかし、造血幹細胞より脱核赤血球や血小板の形成は、*in vitro* の系では十分には認められない。このため、成熟赤血球、血小板の作成を目的として、その機構の解明を行うと共に、臨床応用可能な効率よい成熟赤血球、血小板作成を目指す。中でも、血小板作成に重点をおき、その開発に努める。また、その目的のため、GMP基準にのったシステムを構築する。

研究協力者氏名・所属機関名及び所属機関における職名

田中 竜平・国立がんセンター研究部・研究員

中畑 龍俊・京都大学医学研究科・教授

足立 壮一・京都大学医学研究科・助手

渡邊健一郎・京都大学医学研究科・助手

### A. 研究目的

この研究は、*in vitro* において造血幹細胞より脱核赤血球、血小板を形成させる基盤技術の開発を行ない、安定した血液用製剤の供給が行えるシステムの確立を目的とする。現在の

血液製剤は、国民の献血という善意に基づいて成り立っている。そのため、必要な血液製剤を、必要時、必要量供給するという安定供給システムが必ずしも十分には機能していない。例えば、血液型のみならず組織主要適合抗原を一致させることは血小板に対する自己抗体産生を防ぎ、効果的な血小板輸血には必須な事項であるが、現在のシステムでは個人に特化した血小板を確保することは不可能に近い。また、肝炎ウイルス等病原体の混入を完全に防止することはできず、輸血後肝炎の発症等不幸な転帰をとるケースも散見される。このような問題点を克服するために血液製剤としてに要求される要件は、1) 血液型、組織主要適合抗原において最適の選択ができる、2) 病原体等の混入がない、3) 必要時、必要量が確保される の3項目に集約される。この条件を満たすには、血液製剤を計画的に生産するシステムの開発、構築が必須である。造血幹細胞は自己複製能と多分化能を有する細胞である。造血幹細胞の自己複製を *ex vivo* で行い造血幹細胞移植に用いることにより、ドナーの負担、危険性をなくし、多様な造血幹細胞移植に対応しようとの試みはさかんになされている。同時に、造血幹細胞のもう一つの性質である多分化能

に注目して成熟赤血球、血小板を生成し、医療に応用することは、造血幹細胞の増幅と同様、医療現場に多大な恩恵をもたらす。しかし、臨床応用可能な大量の成熟赤血球、血小板を *ex vivo* で作成する効率よいシステムの開発は十分にはなされていない。同時に、臨床応用に可能な品質管理といった面からのアプローチも十分にはなされたいない。本研究ではこれらの問題点を明らかにし、上記の最適、安全、安定という3要素を兼ね備える血液製剤の開発を行うことを目的とする。

## B. 研究方法

### (1) *in vitro* におけるヒト造血細胞分化のアッセイ系の確立

造血細胞の分化能の検定は、従来半固形培地であるメチルセルロースを用いた培養系で検定されてきた。今回この培養系を基に、メチルセルロースに替わってコラーゲン液を含む培地で培養する方法を確立した。この方法により、形成された分化細胞を2次元で固定し染色することが可能となった。この方法により、詳細な巨核球、血小板の判定が、染色等を組み合わせて詳細に行うことが可能となった。さらに、CD41, CD42,

CD61 などの細胞表面抗原を用いる FACS による方法を組み合わせることにより、より詳細な解析が行えることが期待される。

#### (2) cell line を用いた血小板成熟に係わる分子の同定

一時培養系に存在する細胞は様々な種類の細胞より構成され、分子生物学的検索を行なうには困難を伴う。それに対し cell line は均一な細胞であり、分子の同定などの解析には適している。赤血球、血小板系に分化するヒト cell line として K562, HEL, CMK などが知られている。我々は今回血小板産生細胞に効率よく分化する産生未熟巨核球細胞株 YMP91 を作成した。また YMP91 を基に、成熟度の異なる細胞亜株を樹立した。これらの細胞において、終末分化に寄与する分子の解析を行ない、候補分子については、正常ヒト造血細胞においても検討する

#### (3) NOD/SCID マウスにおいてヒト造血幹細胞移植による成熟ヒト血小板の形成

免疫不全マウスと糖尿病マウスの交配により得られた NOD/SCID マウスにおいては、放射線照射の上ヒト造血幹細胞移植を行なうことにより、ヒト赤芽球、白血球、血小板の出現

が確認できる。今後この系において、上記の方法により同定した分子の機能を、in vivo にて検討し、より多くの成熟血小板を産生するシグナルの同定を行なう。また、さらに、IL-2 レセプターの common gamma chain の変異を付加することにより、さらなる免疫機能を障害した NOD/SCID $\gamma_c^{\text{null}}$  マウスを作製した。今後、このマウスにおいても、ヒト造血幹細胞の生着について検討を加える。

#### (4) 体外増幅ヒト造血幹細胞を用いた成熟ヒト血小板の作成

我々は、sIL-6R/IL-6, SCF, TPO, FL ligand も用いて臍帯血造血幹細胞の体外増幅を行なった。また、増幅された細胞を用いて、NOD/SCID マウス、NOD/SCID $\gamma_c^{\text{null}}$  マウスの骨髄が再構築することも確認した。このシステムを用い、(2)、(3) で同定された分子を用いて体外で、成熟巨核球の作成、血小板の作成を行い、その機能を in vivo にて検討する。また、上記分子を直接ヒト造血幹細胞移植 NOD/SCID マウス、NOD/SCID $\gamma_c^{\text{null}}$  マウスに投与し、有効な成熟血小板増加を達成できるか検討する。

#### (5) 体外増幅ヒト造血幹細胞より作成した成熟ヒト血小板の機能解析、安

## 全性解析

作成した成熟ヒト赤血球、血小板が、その機能を十分に発現するか否かを検討する。上記と同様に、NOD/SCIDマウス、NOD/SCID/ $\gamma_c^{-/-}$ マウスに、作成した細胞を輸注し、機能性について検討し、臨床応用に適合する製剤の開発を目指す。また、同時に、その安全性についても検討を加える。

## (6)GMP 基準を満たす大量培養法の確立

臨床応用を前提とした成熟赤血球、血小板の作成には、少量のフラスコで培養するシステムとは異なった視点からのアプローチが必要である。病原微生物等の混入を防ぐ為、閉鎖系システムを使った培養系の開発などがあげられる。また、使用する凍結臍帯血の融解後の生細胞の確保などにも留意する必要がある。これらの問題に対して、解決をはかる。

## (倫理面への配慮)

臍帯血提供に協力していただいたボランティアに対するインフォームドコンセントは書面とする。また、作成した分化型造血細胞輸注に関しては、学内倫理審査委員会での慎重な審議、許可をへてベッドサイドでの応用を目指す。また、実験動物使用に関しては、動物実験施設での講習

を受講し、動物愛護の面よりの配慮を行なう。

## C. 研究結果

Bに述べた研究方法に準拠して記述する。

(1) in vitro におけるヒト造血細胞分化のアッセイ系の確立、

(3)NOD/SCID マウスにおいてヒト造血幹細胞移植による成熟ヒト血小板の形成、

(5)体外増幅ヒト造血幹細胞より作成した成熟ヒト血小板の機能解析、安全性解析、

を目的として、A) 評価システムの確立

(2) cell line を用いた血小板成熟に係わる分子の同定、

(4)体外増幅ヒト造血幹細胞を用いた成熟ヒト血小板の作成

を目的として、B) 有効な成熟赤血球、血小板作成の作成方法の開発

(6)GMP 基準を満たす大量培養法の確立

を目的として、C) 臨床応用に向けた試み、を検討した。

A) 評価システムの確立としての (1) in vitro におけるヒト造血細胞分化の

アッセイ系の確立として、コラーゲンゲルを用いた血液細胞コロニー作成法の開発は昨年度の段階で確立した。Stem Cell Technologies 社の MegaCult-C を用い、スライドグラス上に重層したコラーゲンゲルの中でコロニー作成した。プロトコールに従い、フィルターカードに培養液を吸着させた後、スライドグラス上に密着したコロニーを固定、染色することによりその判定を行なうシステムの開発を行った。さらに、巨核球の分化段階は、細胞表面抗原である CD41, CD42, CD61 を用いて検討が可能である。これらの解析を用いて、より詳細な分化段階の評価システムを設定した。また、(3)NOD/SCID マウスにおいてヒト造血幹細胞移植による成熟ヒト血小板の形成を試みるため、ヒト臍帯血 CD34+ 細胞を NOD/SCID マウス移植し、ヒト血小板の出現について検討を行った。NOD/SCID マウスには若干の NK 細胞が残存するため、移植ヒト造血細胞の生着率が低い。抗アジアロ GM1 抗体を投与することにより NK 細胞活性を顕著に障害することにより移植ヒト造血細胞の生着率の向上をみた。さらに、このマウスの末梢血、骨髄を検索することにより、ヒト CD41b 陽性細胞、ヒト血小板の出現を確認した。また、さらなる免疫障

害を付加した NOD/SCID/ $\gamma_c^{-/-}$  マウスにおいては、抗アジアロ GM1 抗体処理をすることなくヒト造血細胞の出現を確認した。NOD/SCID/ $\gamma_c^{-/-}$  マウスにおける、重大な利点は、I) NOD/SCID マウスに比し、少量のヒト造血幹細胞の移植により高いキメラ率で、より多くのマウスへの生着が達成できること、II) 従来のマウスモデルにおいては確認できなかったヒト T 細胞の出現が確認されたこと、が上げられる。これらの結果により、マウスの個体を用いて、ヒト造血細胞の検索が可能であることが判明した。さらに、これらのマウスにヒト thrombopoietin を投与することにより、末梢血中においてヒト血小板の増加を観察した。これらの結果は、ヒト造血幹細胞を移植した免疫不全マウスを用いることにより、サイトカイン反応性をも考慮したヒト血小板の産生を観察できることを示唆し、新規の因子をも含めた生体内でのヒト血小板産生制御の試みが可能となった。

B)有効な成熟血小板作成の作成方法の開発として、(2) cell line を用いた血小板成熟に係わる分子の同定のため、適切な細胞株の作成を行った。赤血球、血小板系に分化するヒト cell line として K562, HEL, CMK などが

知られている。さらに、今回我々は、ヒト巨核芽球性白血病細胞株 YMP91 を作成した。YMP91 は急性巨核芽球性白血病患児の末梢血芽球より樹立された増殖因子依存性細胞株である。また、親株 YMP91 より限界希釈法にて4種類の亜株を樹立した。これらの細胞株はいずれも血小板関連抗原 CD41/61 陽性であるが、その分化度において相違を認め、未熟な細胞株からより成熟度を増した細胞株に至る様相を呈する。また、(4)体外増幅ヒト造血幹細胞を用いた成熟ヒト血小板の作成を目的として、従来ヒト造血幹細胞増幅のため行ってきたヒト IL-6/sIL-6R を含むサイトカインとの組み合わせについて再検討を行った。その結果、ヒト造血幹細胞の増幅に加えて、各系統へのコミットメントを誘導するサイトカインを組み合わせることにより、前駆細胞の増幅、ついで成熟造血細胞の増幅が可能であることを明らかにした。造血幹細胞の増幅によりまず未熟造血細胞を増幅し、その後分化型血球の増幅を行うという2段階にわたる方法が、有効であることが示唆された。血小板形成において、thrombopoietin が重要な役割を果たすことが知られている。しかし、thrombopoietin のみでは、必ずしも満足のいく増幅、成熟は達成できず、さらに未知の因子

が関与することが推測されている。前述のように、我々はヒト巨核芽球性白血病細胞株 YMP91 より限界希釈法にて分化度の異なる4種類の亜株を樹立した。これらの細胞株に発現する因子を解析し、巨核球成熟な関与する因子の同定を試みるとともに、その機能についても検討を加える予定である。

C)臨床応用に向けた大量培養システムとして、凍結保存してある臍帯血 CD34 陽性細胞を用いたヒト血小板の作成が最も実行可能な計画であると思われる。現在臍帯血移植においては、凍結臍帯血を融解後直ちに生体に投与している。今回、我々は、これらの細胞を融解後、*ex vivo* で処理を行うことで成熟型赤血球、血小板の生成を目指す。融解後の細胞の性状についての検討はほとんどなされていない。効率よい血小板の生成のためには、サイトカイン等を用いた増幅率の向上とともに、その元となる細胞の品質の確保が重要な問題となる。つまり、融解後の細胞は往々にして生存率の低下を来す。さらに、*ex vivo* での成熟造血細胞作製のためには、さらなる細胞の処理が必要である。このような細胞に様々な処理を加えることは、細胞の生存率に影響を与えることが推測され、生存率



が維持されるシステムの開発が必要である。また、我々の試みにおいては、融解後の細胞には死細胞が多く含まれ、それに由来する集合塊によっても細胞の回収率が低下することが判明した。今回、我々は、融解後の細胞の死細胞の減少および死細胞による回収率の低下を防ぐため、ヒトアルブミン、dextran, Dnase 等の試薬を加えることにより改善を試み、生細胞の効率よい CD34 陽性細胞回収システムの開発を見出した。さらに検討を重ね、より有効なシステムの開発に努める。また、ヒトへの臨床応用を目的とする場合、厳密な安全性に対する評価を行う必要があるそのため、閉鎖系バッグを用いることにより、病原微生物の混入の機会を排除することが必要である。現在ガス透過性なども測定しながら、評価を行っている。また、狂牛病感染の危険性をさけるため、牛血清を用いない無血清培地を用いた増幅システムの開発を行っている。

#### D. 考察

##### A) 評価システムの確立として、

- (1) in vitro におけるヒト造血細胞分化のアッセイ系の確立、
- (3) NOD/SCID マウスにおいてヒト造血幹細胞移植による成熟ヒト血小板の形成

をおこなった。コラーゲンをを用いた in vitro におけるヒト造血細胞分化のアッセイ系の確立により、より正確な分化段階の評価が可能となった。我々の研究目的は、成熟した血小板の作成であるため、FACS を用いた CD41, CD42, CD61 などの細胞表面抗原解析を含めて、有用なツールとなることが期待される。また、NOD/SCID マウスにおいてヒト造血幹細胞移植により分化したヒト造血細胞が出現することを確認した。さらに、NOD/SCID $\gamma_c^{-/-}$  マウスにおいては、さらに効率よいヒト造血細胞の生着を認めるとともに、従来のマウスでは確認されないヒト T 細胞の出現を確認した。作成したヒト造血細胞の生体内における評価のためには、ヒト造血細胞を効率よく受け入れるモデル動物の開発が不可欠である。これらの結果は、NOD/SCID マウスおよび NOD/SCID $\gamma_c^{-/-}$  マウスは、ヒト造血細胞の生体内における評価を行うモデルマウスとして適当と思われる、増幅ヒト造血幹細胞のクオリティーチェックの手段として、非常に有効な手段となる。今後、(5)体外増幅ヒト造血幹細胞より作成した成熟ヒト血小板の機能解析に応用可能と思われる。さらに、安全性確認のためにも、有用なツールとなる。

## B)有効な成熟血小板作成の作成方法の開発

(2) cell line を用いた赤血球、血小板成熟に係わる分子の同定、を試みる。そのため、親株としてのヒト巨核芽球性白血病細胞株 YMP91 を元に、様々な成熟段階に位置する巨核芽球細胞亜株を分離した。これらの細胞株の利点は、薬剤等で誘導する分化系と比較して、生体内で作動する機構により成熟過程が遂行されている可能性が期待される点である。今後、この細胞株を用いて DNA チップ等により分化特異的に作動する分子の同定を行う予定である。また、(4)体外増幅ヒト造血幹細胞を用いた成熟ヒト血小板の作成のためには、従来ヒト造血幹細胞増幅のため行ってきたヒト IL-6/sIL-6R を含むサイトカインの組み合わせに加えて、各系統に特化するサイトカインを組み合わせることにより、各系統にコミットメントした前駆細胞の増幅が可能であることを明らかにした。今後、サイトカインの組み合わせを検討し、特化した細胞の分化制御を行うことにより、より有効な成熟赤血球、血小板形成を試みる。例えば、サイトカインの組み合わせを、増幅期、分化期に応じて適正化し、2段階方式のサイトカインの組み合わせを用いて増幅期、分化期に合わせた

組み合わせを使用することも、1方策と思われる。さらに、(2)で同定した分子を応用することにより、効率よい成熟血小板の作製も試みる。

C)臨床応用に向けた試みとして、凍結臍帯血を融解後の細胞の性状に関する検討を行った。効率よい成熟型赤血球、血小板の生成のためには、サイトカイン等を用いた増幅率の向上とともに、その元となる細胞の品質の確保が重要な問題点となるためである。凍結融解後の細胞を遠心、精製等の処理すると、予想以上の生細胞の減少を来すことが判明した。今後、大量培養に向けた細胞の品質管理や GMP 基準をみたすためのバッグ等を用いた閉鎖系の培養システムの開発等を検討する。また、牛血清を含まない無血清培地を用いた増幅系の開発も行う。

## E. 結論

造血幹細胞からの成熟赤血球、血小板誘導システム構築に関し、検討を行った。アッセイ方法に関しては、今回の研究にてほぼ確立されたものと思われる。今後、より成熟度の高い血小板の生成システムを確立し、臨床応用を前提とした動物蛋白質を含まない培養液を用いた細胞培養、

また感染防止等の安全性の面より閉鎖系を用いた系の開発を開始を目指す。

#### F. 健康危険情報

この研究に関して、国民の生命、健康に重大な影響を及ぼすと考えられる事項は含まれない。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Nakahata T, Toru H : Cytokines Regulate Development of Human Mast Cells from Hematopoietic Progenitors. *Int J of Hematology* 75(4):350-356, 2002.2.
2. Manabe A, Okamura J, Yumura-Yagi K, Akiyama Y, Sako M, Uchiyama H, Kojima S, Koike K, Saito T and Nakahata T, for the MDS Committee of the Japanese Society of Pediatric Hematology : Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for 27 children with juvenile myelomonocytic leukemia diagnosed based on the criteria of the International JMML Working Group. *Leukemia*. 16:645-649, 2002.3.
3. Kato T, Hattori H, Nagato M, Kiuchi T, Uemoto S, Nakahata T, Tanaka K : Subclinical central pontine myelinolysis following liver transplantation. *Brain & Development* 24 : 179-182, 2002.4
4. Uematsu A, Yorifuji T, Muroi J, Kawai M, Mamada M, Kaji M,

- Yamanaka C, Momoi T, Nakahata T : Parental Origin of Normal X Chromosomes in Turner Syndrome Patients With Various Karyotypes : Implications for the Mechanism Leading to Generation of a 45, X Karyotype. *American Journal of Medical Genetics* 111:134-139, 2002.
5. Hamahata K, Kubota M, Usami I, Lin Y-W, Shimizu K, Morimoto A, Nakahata T : Somatic cell mutation in pediatric patients undergoing allogeneic bone marrow transplantation. *Mutation Research*, 517:21-28, 2002.
  6. Suzuki N, Ohneda O, Takahashi S, Higuchi M, Mukai H, Nakahata T, Imagawa S, Yamamoto M : Erythroid-specific expression of the erythropoietin receptor rescued its null mutant mice from lethality. *Blood* 100(7) : 2279-2288, 2002.
  7. Heike, T., and Nakahata, T.: Ex vivo expansion of hematopoietic stem cells by cytokines. *Biochim Biophys Acta* 1592:313-312, 2002.
  8. Ito, M., Kobayashi, K., Suzue, K., Kawahata, M., Hioki, K., Ueyama, Y., Koyanagi, Y., Sugamura, K., Tsuji, K., Hiramatsu, H., Heike, T., Nakahata, T.: NOD/SCID gnull mouse: An excellent recipient mouse model for engraftment of human cells. *Blood* 100:3175-3182, 2002.9.
  9. Ishibashi, H., Hihara, S., Takahashi, M., Heike, T., Yokota, T., and Iriki,

- A.: Tool-use learning induces BDNF expression in a selective portion of monkey anterior parietal cortex. *Molecular Brain Research* 102: 110-112, 2002
10. Ishibashi, H., Hihara, S., Takahashi, M., Heike, T., Yokota, T., and Iriki, A. : Tool-use learning selectively induces expression of brain-derived neurotrophic factor, its receptor trkB, and neurotrophin 3 in the intraparietal multisensory cortex of monkeys. *Cognitive Brain Research* 14: 3-9, 2002
  11. Yamanaka Y, Hamazaki Y, Sato Y., Ito K, Watanabe K, Heike T, Nakahata T, Nakamura Y: Maturation sequence of neuroblastoma revealed by molecular analysis on cDNA microarrays. *Int J Oncol* 21:803-807, 2002
2. 学会発表
- 国内学会—
1. 長谷川浩二、和田啓道、平井希俊、平家俊男、中畑龍俊：シンポジウム、心筋の発生、アポトーシス、再生のプロセス、第66回日本循環器学会学術集会、2002
  2. 平家俊男：臨床応用に向けたヒト造血幹細胞の体外増幅について、静岡県立こども病院 院内候講習会、2002
  3. 平家俊男：Ex vivo 造血幹細胞増幅の臨床応用にむけて、第10回関西分子医学研究会、平成14年2月16日
  4. 平松英文、鈴木健一、平家俊男、中畑龍俊、伊藤守：NOD/SCID/ $\gamma$ <sup>NULL</sup> マウスを用いたヒト造血幹細胞の測定系の開発. 第43回日本臨床血液学会総会 2001年11月13-15日(13日) 神戸市
  5. 平家俊男、平松英文、中畑龍俊男：ヒト造血幹細胞の体外増幅とその臨床応用 第105回日本小児科学会学術集会
  6. 平家俊男：ヒト造血幹細胞の体外増幅とその臨床応用 第8回遺伝子診療セミナー、平成14年9月10日
  7. 平家俊男、中畑龍俊：造血幹細胞を用いた再生医療 第23回日本炎症・再生医学会、平成14年7月2日—3日
  8. 平家俊男：ヒト造血幹細胞の体外増幅とその臨床応用 2<sup>nd</sup> cardiovascular protection Club、平成14年10月26日
  9. 和田啓道、平井希俊、長谷川浩二、飯田みどり、平家俊男、中畑龍俊：p300によるGATA-4のアセチル化は心筋細胞分化に重要である 平成14年 第1回日本再生医療

学会総会

10. 長門雅子、平家俊男、加藤竹雄、飯田みどり、吉本桃子、西小森隆太、中畑龍俊：細胞表面マーカーを用いた神経幹細胞同定の試み  
平成14年 第105回日本小児科学会学術集会
11. 吉本桃子、平家俊男、中畑龍俊：血液幹細胞の骨格筋における可視的・経時的変遷 平成14年 第1回日本再生医療学会総会
12. 平家 俊男：再生医学、平成14年8月9日、平成14年度医学部オープンキャンパス
11. 吉本桃子、平家俊男、中畑龍俊：骨格筋における造血幹細胞の動態  
平成14年9月12—15日 第64回日本血液学会
14. 平松英文、西小森隆太、平家俊男、山上義人、伊藤守、中畑龍俊：NOD.SCID/gcnuu マウスモデルにおけるヒト造血及び免疫系再構築の検討 平成14年9月12—15日 第64回日本血液学会
13. 中畑龍俊、平松英文、平家俊男、伊藤守：NOD/SCID/gcnull マウスを使ったヒト免疫系の再構築の検討 平成14年11月18日 第22回日本血液幹細胞シンポジウム
14. 八角高裕、片村憲司、目黒敬章、西小森隆太、平家俊男、中畑龍俊：

マウス樹状細胞(DC)サブセットによる免疫応答の誘導とその調節  
平成14年11月28—30日  
第52回日本アレルギー学会

15. 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/ $\gamma$ C null) mouse. The 29<sup>th</sup> 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 44<sup>th</sup> 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/ $\gamma$ cnnull mouse. The 44<sup>th</sup> 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 44<sup>th</sup> 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

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Ito M et al	NOD/SCID $\gamma_c^{null}$ mouse : an excellent recipient mouse model for engraftment of human cells	Blood	100	3175-3182	2002
Heike T et al	Ex vivo expansion of hematopoietic stem cells by cytokines	Biochimica et Biophysica Acta	1992	313-321	2002
Ebihara Y et al	Reconstitution of human haematopoiesis in non-obese diabetic/severe combined immunodeficient mice by clonal cells expanded from single CD34 <sup>+</sup> CD38 <sup>-</sup> cells expressing Flk2/Flt3	British Journal of Haematology	119	525-534	2002
Nakahata T et al	Development of human mast cells	Adv. Immunol			In press
Nakahata T. et al	Ex vivo expansion of human primitive hemopoietic progenitors	Stem Cells			In press
Hiramatsu H. et al	Complete reconstitution of human lymphocytes from cord blood CD34 <sup>+</sup> cells using the NOD/SCID/ $\gamma_c^{null}$ mice model	Blood			In press

20021051

以降は雑誌/図書に掲載された論文となりますので、  
P.13の「研究成果の刊行に関する一覧表」をご参照ください。