

厚生労働科学研究費補助金

基礎研究成果の臨床応用推進研究事業

Health and Labour Sciences Research Grants,
Translational research, Ministry of Health, Labour and Welfare

Ex vivo 増幅臍帯血幹細胞を用いた
トランスレーショナルリサーチ

平成 15 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 中 畑 龍 俊

先端医療センター、再生医療研究部
京都大学大学院医学研究科発生発達医学講座

目次	
I 研究組織	1
II 平成15年度総括研究報告書 中畑 龍俊	2
III 平成15年度分担研究報告書	
1・GMPに準拠した培養の確立	
1-1 ex vivo増幅臍帯血の培養法の確立 逢坂 敦 鈴木 秀文	21
1-2 完全無血清培養法の確立 伊藤 仁也	26
2・GMPに準拠した培養のシステムの開発、基準整備	
2-1 Institutional GMP構想の必要性 前川 平	31
2-2 GMPに準拠した細胞製造のためのテイハイスの開発（1） －培養bagの開発 白敷 昭雄	42
2-3 GMPに準拠した細胞製造のためのテイハイスの開発（2） －取り換え防止CO2インキュヘータ、細胞カルテシステムの開発 西川 茂道	45
2-4 GMPに準拠した細胞製造のためのテイハイスの開発（3） －無菌閉鎖型細胞洗浄システムの開発 桜田 洋	60

3・品質管理の確立	
3-1 ex vivo増幅臍帯血の安全性試験（1） 逢坂 敦	69
3-2 ex vivo増幅臍帯血の安全性試験（2） 清水 則夫	74
3-3 品質試験-表面マーカーの検出- 佐藤 隆	77
3-4 NOD/SCID mouseを用いた品質試験 逢坂 敦	83
3-5 NOG mouseを用いた品質管理 平冢 俊男	86
4・新GCPに則った臨床プロトコルの作成 伊藤 仁也	90
5・造血幹細胞の自己複製能の機序解明に関する研究 金倉 謙 田中 弘和	95
IV 班会議記録合同研究カンファレンス	104
V リサーチ レンテント事業（基礎研究成果の臨床応用推進研究事業）に基づく 研究実績報告書	115
VI 研究成果の刊行に関する一覧表	140
VII 研究成果の刊行物 印刷物	145

はじめに

本報告書は厚生科学研究費補助金「基礎研究成果の臨床研究推進事業」の1つである「Ex vivo 増幅臍帯血幹細胞を用いたトランスレーショナルリサーチ」研究班における平成15年度の研究成果をまとめたものである。トランスレーショナルリサーチとは文字通り基礎研究成果を臨床応用するための架け橋にあたる研究であり、本研究においては、基礎研究で得られた造血幹細胞をサイトカインを用いて ex vivo で増幅する成果を実際の臍帯血移植に応用するまでの基盤整備を行うものである。

本研究は臍帯血を用いた再生医療・細胞治療に分類され、臨床応用にあたっては、整備すべき問題も山積みされているのが現状である。ちょうどこの研究班の発足と同時に薬事法が改正され、細胞治療製剤の定義が明らかになり、細胞を加工した製剤の臨床研究は薬事法に規定されることになった。また幹細胞研究のあり方に関しても厚生科学審議会がガイドライン作りを開始された。我々の研究はこういった社会的ニーズを受け、細胞治療をいかに安全に臨床応用するか具体的に示す先駆的研究に位置づけられると考えられ、再生医療の先導を行うことを目的としている。この目的を達成するため平成15年度は以下のテーマの分担研究を行い、臨床研究のための基盤整備を行った。

- I・GMPに準拠した培養法の確立
- II・GMPに準拠した培養のシステムの開発、基準整備
- III・品質管理法の確立
- IV・新GCPに準拠した臨床プロトコルの作成
- V・造血幹細胞の自己複製能の機序解明に関する研究

以上の計画のもとに平成15年度の中間報告書を作成したものであるが、関係者のご参考になれば幸いである。

平成16年3月 主任研究者 中畑 龍俊

I. 研究組織

平成 15 年度厚生科学研究「臍帯血造血幹細胞の ex vivo expansion の
トランスレクションリサーチ」研究班

研究組織

	氏名	所属
主任研究者	中畑 龍俊	先端医療センター再生医療研究部
分担研究者	前川 平	京都大学医学部附属病院輸血部
	令倉 謙	大阪大学大学院医学系研究科分子病態内科
	平冢 俊男	京都大学大学院医学研究科発達小児科
	清水 則夫	東京医科大学大学難治疾患研究所ウイルス感染学分野
	村上 雅義	先端医療センター臨床研究支援部
	永井 謙一	先端医療センター診療管理部
	伊藤 仁也	先端医療センター再生医療研究部
	田中 弘和	先端医療センター再生医療研究部
	逢坂 敦	キリンヒール株式会社
	佐藤 隆	日本ヘクトン・ティキンソン
	白敷 昭雄	ニプロ株式会社
	西川 茂道	和研薬株式会社
	桜田 洋	ヘモネティクスジャパン株式会社
研究協力者	平松 英文	京都大学大学院医学研究科発達小児科
	松村 倒	大阪大学大学院医学系研究科分子病態内科
	鈴木 秀文	キリンヒール株式会社
	小林 典孝	キリンヒール株式会社
	槻木 祐志	ニプロ株式会社
	松崎 正晴	日本ヘクトン・ティキンソン
	田中 聡	日本ヘクトン・ティキンソン
	廣瀬 弥保	日本ヘクトン・ティキンソン
	神谷 雅之	ヘモネティクスジャパン
	井田 卓見	ヘモネティクスジャパン
	橋本 尚子	先端医療センター再生医療研究部
	初山 麻子	先端医療センター再生医療研究部
	多田 典子	先端医療センター再生医療研究部
	丸山 京子	先端医療センター再生医療研究部
	高田 のそみ	先端医療センター再生医療研究部

Ⅱ. 平成 15 年度 総括研究報告書

厚生労働科学研究費補助金（基礎研究成果の臨床応用推進研究事業）

総括研究報告書

Ex vivo 増幅臍帯血幹細胞を用いたトランスレーショナルリサーチ

総括研究者 中畑 龍俊

（先端医療センター客員研究員、京都大学大学院発達小児科学教授）

研究要旨

基礎研究の成果から臍帯血の造血幹細胞を SCF FL, TPO, IL-6/sIL-6R を用いて増幅させることに成功した。本研究においては、これらの基礎研究の成果を実際の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行なうことを目的とする。このような細胞治療 再生治療を行なうにあたり、I GMP に準拠した培養法の確立 II 安全な細胞治療製剤の processing のための基盤整備 III 品質管理法・細胞評価系の確立 IV 新 GMP に準拠した臨床プロトコルの作成 V 臍帯血造血幹細胞の自己複製能、分化能の機序の解明などを総合的に研究する必要がある。本年度の成果として、実際の臍帯血バンクに保存された凍結臍帯血においてもその中に含まれる CD34 陽性細胞を約 30 倍に増幅できる閉鎖系、無血清培養法を確立してきたことに加え、このようにして増幅された細胞の安全性の評価を行なった。また免疫不全マウスを用いた in vivo での移植系による評価を行ない、サイトカインで増幅した臍帯血の有用性と安全性を示した。またセルフロセンクに必要な閉鎖系培養システムや取り違い防止のためのテハイスの開発においても成果をあげた。さらには造血幹細胞の自己複製能制御因子である HOX/PBX1 複合体に作用する合成ペプチドを用いることにより、造血幹細胞の自己複製能の制御が可能であることを示した。

分担研究者

中畑 龍俊	京都大学大学院 発達小児科教授 先端医療センター 客員研究員
前川 平	京都大学輸血部教授
金倉 讓	大阪大学分子病態内科教授
平冢 俊雄	京都大学発達小児科学 助教授
清水 則夫	東京医科歯科大学難治疾患 研究所ウイルス感染学助教 授
村上 雅義	先端医療センター臨床 研究支援部研究開発部長
永井 謙一	先端医療センター診療管理 部長
伊藤 仁也	先端医療センター再生 医療研究部主任研究員
田中 弘和	先端医療センター再生 医療研究部主任研究員
逢坂 敦	キリンヒール株式会社 主任研究員
佐藤 隆	日本ヘクトン ティキン ン ティレクター
白敷 照雄	ニフロ株式会社総合研究所 第6班研究開発部・部長代 行
西川 茂道	和研薬株式会社 (株) R&D 部・部長
桜田 洋	ヘモネティクスシャハン株 式会社 開発室長

A 研究目的

我々は臍帯血中にある造血幹細胞を造血幹細胞に発現するサイトカインのリセプターから SCF FL TPO, IL-6/sIL-6R を用いて効率よく増幅する方法を開発してきた。

この方法により、増幅される造血幹細胞はこれまでの報告と比較して、より未分化性を保ち、NOD/SCID マウスへの移植実験から 1 週間の培養により SCID マウス中で長期にヒト造血細胞を支持できる幹細胞を 1.3 倍増幅させることを示してきた。

また臍帯血移植は現在有効な移植方法として確立されてきたか、採取できる細胞数に限りがあるために生着不全が多い対象患者が制限されるなどの問題点も明らかになってきた。これらの問題点を解決するために体外増幅させた臍帯血幹細胞を移植に用いることか期待されている。我々は 基礎研究で得られた造血幹細胞の増幅技術を臨床に応用するために本研究を開始し、また始まったばかりの細胞治療 再生医療の基盤を整備しながら総合的に臨床研究を進めることを目的として、本研究をスタートさせた。

本年度は このような体外で加工した細胞治療製剤を臨床応用していくにあたり必要な品質管理基準の設定、安全件の確認、免疫不全マウスを用いた効果の検討を行ない 実際に臍帯血バンクに保存されている凍結された臍帯血を臨床応用可能なまで安全に増幅させられることかできるのかどうか 検討していく。また、

このような細胞加工を行なう最適な環境基準を作成し、セルプロセッシングセンターでの環境衛生試験を行なうことにより科学的に裏つけされた標準作業手順書を作成する。また、セルプロセッシングのための基盤整備には新たに閉鎖系培養を行なうための培養あるいは細胞洗浄に伴うデハイスの開発を目的にCO₂インキュベータの開発、無菌閉鎖系細胞洗浄装置の開発を加えた。臨床へ向けた取り組みとしては、今年度に発表された世界の他のグループでのex vivo expand 臍帯血移植成績を分析し、培養法を追試することにより基礎的解析を行なった。

B 研究方法

本研究を進めるにあたり以下の分担研究組織を組み研究にあたった。

I GMP に準拠した培養法の確立

平成 14 年 7 月に薬事法が改正され、細胞治療製剤が定義されるとともに GMP に準拠した製造を義務つけられた。この研究ではより安全な培養を行なうため、無血清培養法の開発、培養原材料の検討、効果的な細胞融解法、分離法の検討、閉鎖系培養システムの構築などの開発を行った。

平成 14 年度の成果から培養に用いる培地、試薬の選択、サイトカインの至適濃度の決定は終了した。本年度は実際の臍帯血バンクに凍結してある臍帯血を用いて細胞の解凍法の検討、Clinical grade での CD34 陽性細胞の選択法の確立、ハッ

グ培養による閉鎖系培養法の確立を行ない、実際の臨床試験に備えた培養法の通し運転を行なうことにより標準作業手順書の作成にあたった。また、新たな無血清培地を作成し、増幅される細胞の評価を行なった。

I GMP に準拠した培養システムの開発と Cell processing の基盤整備

医薬品 GMP においては、「薬局等構造設備規則」により製造を行う設備の規定などが詳細に規格化されている。これに対し、生物製剤においては、安全に細胞を加工するためのセルプロセッシングセンターの規格化はまだ行なわれていないのが現状である。本研究においては、科学的な観点からセルプロセッシングセンターでの培養操作に関する研究を行ない、安全な細胞製剤を作成する基準をつくることを目的にハード、ソフトの規格、検証を行なう。特に大学などの研究機関で行なういわゆる Institutional GMP の具体的な基準づくりを目指す。安全に細胞をプロセッシングするためのデハイスの開発としては、CO₂ インキュベータ、培養ハッグ、無菌閉鎖系細胞洗浄装置を開発し、実際の細胞を用いて評価を行なった。

II 加工細胞の品質管理法の確立

体外増幅された臍帯血幹細胞の安全性のための品質管理基準を作成するとともに、増幅された臍帯血幹細胞の造血能力を評価することは重要な課題である。加工細胞の品質および安全性を保証する指針としては、「ヒト又は動物由来成分を

原料として製造される医薬品等の品質及び安全性確保について」(医薬発第 1314 号、厚生省医薬安全局長通知)に必要な品質管理法の概要が示されており、我々はこれに従い安全性の検討を行なった。

効果を予測する試験としては、NOD/SCID マウスおよび NOG マウスを用いてサイトカインで増幅させた細胞の生着能の評価、体内分布、炎症、変性、癌化などの有無の検討を行なった。また、NOG マウスの移植実験においては、これまで検討することかてきなかった T 細胞系の再構築能を検討した。

IV 新 GCP に準拠した臨床プロトコルの作成

細胞治療はオーターメイト治療か中心となるため、効果および副作用の個体差が大きく、未だその評価を正確に行なう、臨床プロトコルの構築は研究途上であるといえる。これまでの海外での Ex vivo 増幅臍帯血を用いた臨床研究について、増幅に用いられている培養法を追試し、細胞形態、分化能、及び自己複製能など in vitro での比較を行なうことで、その効果と安全性の検討を行なった。

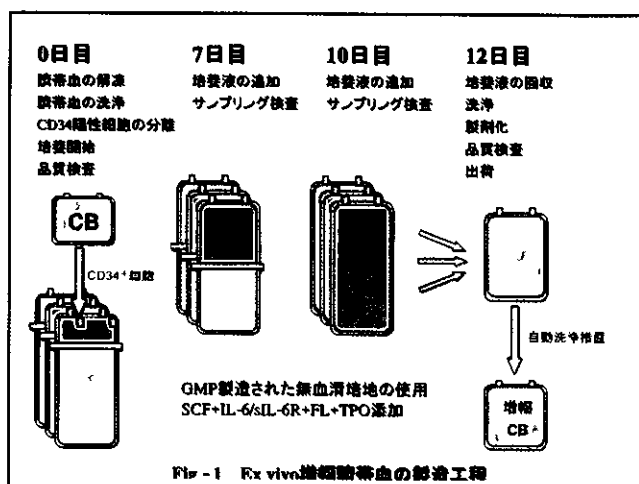
V 臍帯血造血幹細胞の自己複製能、分化能の機序の解明

造血幹細胞の自己複製因子である HOX 転写因子群とその調節因子である PBX1 との複合体は、造血幹細胞の増殖、分化に関する種々の遺伝子の発現を調節することか報告されている。今回我々は、内因性の HOX/PBX1 複合体の活性を変化させ得

る PBX1 との結合領域部分の HOX タンパクの decoy ペプチドを設計、合成し、ヒト臍帯血造血幹細胞に導入することにより、decoy ペプチドが造血幹細胞の自己複製能や多分化能に及ぼす影響について検討を行なった。

C 研究結果

I GMP に準拠した培養法の確立



我々は実際に臍帯血ハンクで凍結された凍結保存臍帯血を用いてサイトカインによる増幅培養法を確立した。その結果、12日間で総細胞数 100 倍、CD34 陽性細胞 30 倍増幅させる技術を確立した。無血清培地の開発では、リコンヒナントアルブミン、コレステロール、磷脂質、各種ビタミンを配合することにより、造血幹細胞を未分化のまま増幅培養できる培地を開発した。

II. GMP に準拠した培養システムの開発と Cell processing の基盤整備

GMP に準拠した Cell processing の基盤整備においては、先端医療センター、京

都大学内にセルフプロセスセンターを完成させたことに加え、安全な細胞を製造するための環境衛生基準書を作成した。

安全に細胞をプロセスするため、テハイス開発においては、培養ハックの開発、無菌細胞洗浄装置の開発、取り違い防止 CO₂ インキュベータ、細胞カルテシステムを新たに開発した。

培養ハックの開発はハックの素材により造血幹細胞の増幅効率や CD34 の発現に差が出ることを確認した。

無菌細胞洗浄装置は実際に培養した活性化リンパ球や造血幹細胞を洗浄し、最終製剤であるアルフミン添加生理食塩水に置き換える系を確立し、細胞のロスや細胞機能をそこねることなく、効率よくサイトカインや培養液を除去できることを確認した。取り違い防止 CO₂ インキュベータは電磁ロック式で多段扉型の機械を試作し、ハーコート管理にて細胞操作と連動し、ロックを解除させるシステムを構築した。

III 加工細胞の品質管理法の確立

サイトカインで増幅させた臍帯血の形態、表面抗原、サイトカイン産生能、染色体の数異常、転座などの構造異常、コロニー形成能を詳細に調べた。また、ヒト由来細胞であるため、安全に細胞培養を行なうためにはウイルス否定試験は不可欠であり、multiplex PCR 法を開発した。この方法では、短時間に少量の検体でウイルス否定試験が可能となった。IN VIVO

での増幅培養細胞の評価としては、NOD/SCID マウスを用いて生着能の評価の他、体内分布、炎症、変性、腫瘍化の有無などの安全性の評価を行なった。また NOD/SCID マウスに common γ chain の変異を導入し、NOD/SCID/ γ^c null マウス (NOG マウス) を作成し、ヒト造血幹細胞の活性測定系を確立した。このマウスでは従来評価できなかった T cell 系のヒト細胞の生着が認められ、移植後の免疫能の評価が可能になった。

VI 新 GCP に準拠した臨床プロトコルの作成

海外で先行している我々とは異なるサイトカインの組み合わせによる培養法を試して、IN VITRO での造血能の評価、品質の比較を行なった。また、NOD/SCID マウスへの移植系の比較により、SCF+TPO+FL+IL-6/sIL-6R の組み合わせで培養した臍帯血は有意に生着能力が優れていることを確認した。この試験により、すでに行なわれている臍帯血造血幹細胞の臍帯血造血幹細胞の体外増幅法と同等以上の効果と安全性は示せたと考え、臨床プロトコルの作成に着手した。

VII 臍帯血造血幹細胞の自己複製能、分化能の機序の解明

転写因子操作による臍帯血造血幹細胞の新たな体外増幅法として、合成ペプチドによる内的因子操作法の開発を行い、合成ペプチドが造血幹細胞の自己複製や多分化能に及ぼす影響について解析を行った。

in vitro 及び in vivo での解析の結果、HOX タンパクの decoy ペプチドは造血幹細胞において、HOX/PBX1 複合体の活性を変化させ、造血幹細胞の自己複製を亢進させる作用を有すると推測された。

合成ペプチド導入法は、従来の内的因子操作法である遺伝子導入法と比較して導入効率が高く、また導入細胞内で分解されるため、染色体レベルでの影響を与えないことから、より安全で有効な方法と考えられた。

D 考察と今後の展望

細胞治療および再生医療の実現のためには、本プロジェクトの分担研究で示したような様々な基盤整備が必要である。特に細胞治療製剤は生き物であるためできるだけ品質や細胞が均一になるよう培養の規格を設けなければ、効果の科学的検証や臨床試験の科学性は保たれない。本年度の研究成果本年度の研究成果から、このような規格の整備や臨床試験を行なうために必要な安全性の検証は行なえたと考えられる。

平成16年度はこれらの成果をもとに実際の臨床試験を計画し、増幅臍帯血による移植の有用性を示す予定である。

E 健康危険情報

特記すべきことはない。

F 研究発表

論文発表

- 1 Akizawa, Y, Nishiyama, C, Hasegawa, M, Maeda, K, Nakahata, T, Okumura, K, Ra, C, and Ogawa, H Regulation of human FcεRI beta chain gene expression by Oct-1 Int Immunol 15 549-556, 2003
- 2 Umeda K, Adachi S, Ishihara H, Higashi Y, Shiota M, Watanabe K, Hishizawa M, Ichinohe T, Kitoh T, Maruya E, Saji H, Uchiyama T, Nakahata T Successful T-cell-replete peripheral blood stem cell transplantation from HLA-haploidentical microchimeric mother to daughter with refractory acute lymphoblastic leukemia using reduced-intensity conditioning Bone Marrow Transplant 31 1061-1063, 2003
- 3 Hiramatsu H, Nishikomori R, Heike T, Ito M, Kobayashi K, Katamura K, Nakahata T Complete reconstitution of human lymphocytes from cord blood CD34+ cells using NOD/SCID/γ^c null mice model Blood 102 873-880, 2003
- 4 Yoshimoto M, Shinohara T, Heike

- T, Shiota M, Kanatsu-Shimohara M, Nakahata T Direct visualization of transplanted hematopoietic cell reconstitution in intact mouse organs indicated the presence of a niche *Exp Hematol* 31 733-740,2003
- 5 Ishida D, Kometani K, Yang H, Kakugawa K, Masuda K, Iwai K, Suzuki M, Itohara S, Nakahata T, Hiai H, Kawamoto H, Hattori M, Minato N Myeloproliferative stem cell disorders by dysregulated Rap1 activation in SPA-1-deficient mice *Cancer Cell* 4 55-65, 2003
- 6 Lin YW, Adachi S, Watanabe K, Umeda K, Nakahata T Serial Granulocyte transfusions as a treatment for sepsis due to multidrug-resistant pseudomonas aeruginosa in a neutropenic patient *J Clin Microbiol* 41 4892-4893, 2003
- 7 Imai T, Adachi S, Nishijo K, Ohgushi M, Okada M, Yasumi T, Watanabe K, Nishikomori R, Nakayama T, Yonehara S, Toguchida J, Nakahata T FR901228 induces tumor regression associated with induction of Fas ligand and activation of Fas signaling in human osteosarcoma cells *Oncogene* 22 9231-9242, 2003
- 8 Manabe A, Nakahata T Experiences on MDS and JMML from Japan Myelodysplastic and myeloproliferative disorders in children (eds Lopes L F & Hasle M) *Tecmedd*, pp 317-324, 2003
- 9 Heike T Nakahata T Stem cell plasticity in the hematopoietic system *Int Hematol* 79 7-14,2003
- 10 Yagasaki H, Oda T, Adachi D, Nakajima T, Nakahata T, Asano S, Yamashita T Two common founder mutations of the Fanconi anemia group G gene FANCG/XRCC in the Japanese population *Hum Mutat* 21 555 (DOI 10.1002/humu.9142), 2003
- 11 Matsubara H, Watanabe K, Sakai H, Chang H, Fujino H, Higashi Y, Kobayashi M, Adachi S, Seto S, Nakahata T Rapid improvement of paraplegia caused by epidural involvements of Burkitt's lymphoma with chemotherapy *Spine* 29 E4-6, 2004
- 12 Adachi S, Leoni M, Carson DA,

- Nakahata T Apoptosis induced by molecular targeting therapy in hematological malignancies *Acta Haematol* 111 107-123, 2004
- 13 Kambe N , Hiramatsu H , Shimonaka M , Fujino H , Nishikomori R , Heike T , Ito M , Kobayashi K , Ueyama Y , Matsuyoshi N , Miyachi Y , Nakahata T Development of both human connective tissue-type and mucosal-type mast cells in mice from hematopoietic stem cells with identical distribution pattern to human body *Blood* 103 860-867, 2004
- 14 Umeda K , Yoshimoto M , Heike T , Nakahata T Development of primitive and definitive hemayopoiesis from nonhuman primate embryonic stem cells in vitro 131 1869-1872,2004
- 15 Maekawa T Current good manufacturing practices (c GMP) controlled cell processing for the development of novel advanced cell and gene therapy Education program book pp 43 48, 2003 The 65th Annual meeting of Japanese Society of Hematology and The 45th Annual meeting of Japanese Society of Clinical Hematology
- 16 Nagayama, H Sato K Morishita, M , Uchimau K , Oyaizu, N , Inazawa T Yamasaki, T , Enomoto M Nakaoka, T Nakamura, T Maekawa T , Yamamoto A Shimada, S Saida, T Kawakami, Y , Asano S , Tani, K , Takahashi, T A and Yamashita, N Results of a phase I clinical study using autologous tumour lysate-pulsed monocyte derived mature dendritic cell vaccinations for stage IV malignant melanoma patients combined with low dose interleukin-2 *Melanoma Res* 13(5) 521-530 2003
- 17 Yoshimasu, T , Manabe, A , Ebihara Y Tanaka, R , Ooi, J , Iseki T Shirafuji N Maekawa, T Asano S Yoshikawa N Tsuji K MxA expression in patients with viral infection after allogeneic stem cell transplantation *Bone Marrow Transplant* 32(3) 313 316, 2003
- 18 Kuroda, J Kimura S , Kobayashi, Y , Jyoko N , Kamitsuji, Y , Murotani, Y Fukuda, W Akaogi T Hayashi, H Yoshikawa, T Maekawa T

- Variable manifestation in natural killer cell leukaemias *Clin Lab Haematol*, 25 239-245, 2003
- 19 Kimura, S Kuroda J Segawa, H , Sato K Nogawa M , Yuasa, T Ottmann O G , Maekawa T Anti-proliferative efficacy of the third generation bisphosphonate Zoledronic acid combined with other anti cancer drugs in leukemic cell lines *Int J Hematol*, 78 37-43, 2004
- 20 Kuroda, J Kimura S Segawa, H Sato K , Matsumoto S Nogawa M Yuasa T Kobayashi, Y Yoshikawa, T Ottmann, O G , Maekawa, T p53 independent anti leukemic effect of the nitrogen-containing bisphosphonate zoledronic acid (*Cancer Sci* in press 2004)
- 21 Matsumura I Tanaka H, Mizuki M, Sugahara H, Kanakura Y Molecular mechanisms of E2F1 and c Myc enhanced apoptosis *Recent Res Devel Mol Cell Biol* 2003 Jan 4 311-324
- 22 Mizuki M Ueda S, Matsumura I, Schwable J Ishiko J Serve H Kanakura Y Constitutive active receptor tyrosine kinase in hematological neoplasia *Recent Res Devel Mol Cell Biol* 2003 Jan, 4 85-100
- 23 Yamanishi H, Iyama S, Yamaguchi Y, Kanakura Y Iwatani Y Total iron binding capacity calculated from serum transferrin concentration or serum iron concentration and unsaturated iron binding capacity *Clin Chem* 2003 Jan, 49(1) 175-8
- 24 Kimura S Yamanishi H, Iyama S, Yamaguchi Y Kanakura Y Enzymatic assay for determination of bicarbonate ion in plasma using urea amidolyase *Clin Chim Acta* 2003 Feb, 328(1-2) 179-84
- 25 Hashimoto K, Matsumura I, Tsujimura T Kim DK, Ogiwara H, Ikeda H, Ueda S, Mizuki M, Sugahara H, Shibayama H, Kitamura Y, 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 Asp814Val

- mutation Blood 2003 Feb, 101(3) 1094-102
- 26 Kimura S, Iyama S, Yamaguchi Y, Kanakura Y. New enzymatic assay for serum urea nitrogen using urea amidolyase. *J Clin Lab Anal* 2003 Mar, 17(2) 52-6
- 27 Mizuki M, Schwable J, Steur C, Choudhary C, Agrawal S, Sargin B, Steffen B, Matsumura I, Kanakura Y, Bohmer FD, Muller-Tidow C, Berdel WE, Serve H. Suppression of myeloid transcription factors and induction of STAT response genes by AML-specific Flt3 mutations. *Blood* 2003 Apr 101(8) 3164-73
- 28 Zhang X, Machii T, Matsumura I, Ezoe S, Kawasaki A, Tanaka H, Ueda S, Sugahara H, Shibayama H, Mizuki M, Kanakura Y. Constitutively activated Rho guanosine triphosphatases regulate the growth and morphology of hairy cell leukemia cells. *Int J Hematol* 2003 Apr, 77(3) 263-73
- 29 Kawasaki A, Matsumura I, Kataoka Y, Takigawa E, Nakajima K, Kanakura Y. Opposing effects of PML and PML/RARalpha on STAT3 activity. *Blood* 2003 May, 101(9) 3668-73
- 30 Yamanishi H, Iyama S, Yamaguchi Y, Kanakura Y, Iwatani Y. Modification of the Colorimetric Assay for Serum Unsaturated Iron binding Capacity. *Clin Chem* 2003 Jun, 49(6) 1023-1025
- 31 Kabutomori O, Kanakura Y, Iwatani Y. Marked Decreases of Total and Immature Reticulocytes in Myelodysplastic Syndrome among Patients with Pancytopenia. *Acta Haematol* 2003 Jun 109(4) 212-213
- 32 Matsumura I, Tanaka H, Kanakura Y. E2F1 and c-Myc in cell growth and death. *Cell Cycle* 2003 Jul Aug, 2(4) 333-8
- 33 Kabutomori O, Kanakura Y, Iwatani Y. Incorrect measurement of leukocyte counts in post-bone marrow transplantation (P-BMT) patients. *Ann Hematol* 2003 Aug, 82(8) 529-30

- 34 Mizuki M, Ueda S, Matsumura I, Ishiko J, Schwable J, Serve H, Kanakura Y. Oncogenic receptor tyrosine kinase in leukemia. *Cell Mol Biol* 2003 Sep; 49(6) 907-22
- 35 Kataoka Y, Matsumura I, Ezoe S, Nakata S, Takigawa E, Sato Y, Kawasaki A, Yokota T, Nakajima K, Felsani A, Kanakura Y. Reciprocal inhibition between MyoD and STAT3 in the regulation of growth and differentiation of myoblasts. *J Biol Chem* 2003 Nov; 278(45) 44178-87
- 36 Ueda Y, Matsui M, Hayashi S, Yamaguchi Y, Kanakura Y. New homogeneous HDL-cholesterol assay without the influence of high TG sample using the selective detergent to lipoproteins. *J Clin Lab Anal* 2003 Nov 17(6) 201-8
- 37 Matsumura I, Ezoe S, Satoh Y, Tanaka H, Kanakura Y. Cell cycle regulation in hematopoietic stem cells. *Res Adv in Blood* 2003 Dec; 2 39-49
- 38 Ezoe S, Matsumura I, and Kanakura Y. Cell Cycle Regulation in Hematopoietic Stem/Progenitor Cells. *Cell Cycle*, in press
- 39 Shibayama H, Takai E, Matsumura I, Kouno M, Mori E, Kitamura Y, Takeda J, and Kanakura Y. Identification of a cytokine induced anti apoptotic molecule Anamorsin essential for definitive hematopoiesis. *J Exp Med*, in press
- 40 Mitsui T, Watanabe S, Taniguchi Y, Hanada S, Ebihara Y, Sato T, Heike T, Mitsuyama M, Nakahata T, Tsuji K. Impaired neutrophil maturation in truncated G-CSF receptor-transgenic mice. *Blood* 101 2990-2995, 2003
- 41 Kuroda J, Kimura S, Kobayashi Y, Yoshikawa T, Urasaki Y, Ueda T, Enjo F, Tokuda H, Ottmann O G, Maekawa T. The third-generation bisphosphonate zoledronate synergistically augments the anti Ph+ leukemia activity of imatinib mesylate. *Blood*, 102 2229-2235, 2003
- 1 前川 平 平成 14 年度厚生労働科学研究 (医薬安全総合研究事業) 「先端医療センター等における細胞治療再生治療開発のための GMP 準拠細胞

- プロセッシング指針の作成に関する研究 (総合研究報告書) (主任研究者 前川 平)、pp 454 2003 3
- 2 前川 平 先端医療開発に必要な GMP 準拠細胞プロセッシング— Institutional GMP 構築の要件— 臨床血液、45 32-38 2004
- 3 前川 平 細胞治療・再生治療開発に必要な GMP 準拠無菌的細胞プロセッシング— わか国の現状— 医学のあゆみ、205 (5) 361-366 2003
- 4 前川 平 細胞治療・再生治療などの先端治療開発に必要な GMP 準拠無菌的細胞— フロセッシング— 臨床医としての立場から— (PDA Journal of GMP and Validation in Japan) 5 21-27 2003
- 5 Maekawa, T GMP cell processing facilities in Japan— status quo— ISCT Telegraft 10 (1) 6 2003
- 6 前川 平 先端的細胞治療開発と GMP 準拠細胞プロセッシング 日本医師会雑誌 (印刷中、2004)
- 7 前川 平 細胞治療 再生治療などの先端治療開発に必要な GMP 準拠無菌的細胞プロセッシング 低温医学 (印刷中、2004)
- 8 前川 平 細胞治療・再生治療開発に必要な GMP 準拠細胞プロセッシング 日本内科学会雑誌 (印刷中、2004)
- 9 木村晋也、黒田純也、前川 平 Ras 関連蛋白 および BCR/ABL タフルフロロクによるフィラデルフィア 染色体陽性白血病の治療 炎症再生学会雑誌 (印刷中 2004)
- 10 万木紀美子、木村晋也、辻 博昭、丹羽紀夫、竹川良子 菱田理恵、等 井泰成、赤井洋子、湯浅 健、柏井三郎、佐原敏之、前川 平 京都大学病院における輸血検査 24 時間体制の構築過程から学んだこと 日本輸血学会雑誌、49 (5) 673-677 2003
- 11 辻博昭 丹羽紀夫、万木紀美子、湯浅 健、木村晋也、前川 平 生体肝移植と輸血、Modern Physician 23 1479-1483 2003
- 12 丹羽紀夫、湯浅 健 木村晋也、辻 博昭、万木紀美子、竹川良子、菱田理恵、赤井洋子、等 井泰成、江川裕人、田中紘 、河村朋子、横山繁樹、前川 平 京都大学における生体肝移植と輸血管理・輸血療法に関する検討 (第 1 報) (日本輸血学会雑誌、印刷中、2004)

- 13 伊藤仁也、中畑龍俊 臍帯血造血幹細胞の ex vivo 増幅 細胞 36(2), P48-51,2004
- 14 伊藤仁也 活性化リンパ球輸注療法 今日の移植 17(1) P89-98 2004
- 15 伊藤仁也、中畑龍俊 造血幹細胞の ex vivo 増幅 最新医学 57(1) P23-30 2002
- 16 伊藤仁也 培養 CD4 陽性 T 細胞による再発白血病の治療 分子細胞治療 1(3) P307-313 2002
- 4 前川 平 京都大学における生体肝移植と輸血 (公開講座)、第 27 回日本血液事業学会総会 (京都) 平成 15 年 9 月 19 日 (2003)
- 5 前川 平 血液型の話から先端医療開発まで 平成 15 年度献血功労表彰伝達式 (京都) 平成 15 年 10 月 7 日 (2003)
- 6 前川 平 先端医療開発に向けてー京都大学の挑戦ー、滋賀医科大学特別講義 (滋賀医科大学)、平成 15 年 10 月 17 日 (2003)

G 学会発表

- 1 前川 平 京都大学における分子標的治療と細胞治療の開発、第 3 回北陸造血細胞移植研究会 (金沢) 平成 15 年 6 月 21 日 (2003)
- 2 前川 平 京都大学における先端医療の開発、日本新薬東部創薬研究所講演会 (つくは市) 平成 15 年 6 月 27 日 (2003)
- 3 前川 平 先端医療開発に必要な GMP 準拠細胞プロセスシクター治療用細胞の品質及び安全性確保のためにー (教育講演) 第 65 回日本血液学会総会・第 45 回日本臨床血液学会総会 (大阪) 平成 15 年 8 月 28 日 (2003)
- 7 前川 平 わか国の先端医療開発に必要なインフラストラクチャーーあたらしい細胞治療、再生治療の発展のためにー、関西 T L O 技術情報クラブ 10 月例会、平成 15 年 10 月 21 日 (2003)
- 8 前川 平 輸血管理から先端医療開発へー京都大学の挑戦ー、第 11 回岐阜臨床輸血研究会 (岐阜) 平成 15 年 11 月 14 日 (2003)
- 9 前川 平 21 世紀の輸血医学と先端治療開発の接点ー京都大学の挑戦ー、平成 15 年度第 6 回院内学術講演会 (兵庫県成人病センター、明石市) 平成 16 年 1 月 16 日 (2004)