

厚生労働科学研究費補助金

ヒトゲノム・再生医療等研究事業

骨髄細胞を用いた形質転換心筋細胞の開発に
関する研究 (H15-再生-007)

平成 15 年度～平成 16 年度 総合研究報告書

主任研究者 小室 一成

平成 17 (2005) 年 3 月

目 次

I. 総合研究報告書	
骨髓細胞を用いた形質転換心筋細胞の開発に関する研究-----	1
小室 一成	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表-----	14
III. 研究成果の刊行物・別刷-----	27

骨髄細胞を用いた形質転換心筋細胞の開発に関する研究

主任研究者 小室 一成 千葉大学大学院医学研究院循環病態医科学教授

研究要旨

TERT、E6、E7、および Bmi-1 を遺伝子導入することにより寿命を延長したヒト骨髄間葉系幹細胞を用いて *in vitro* と *in vivo* において心筋に分化するかどうかを検討した。GFP で標識した各種細胞を心筋への分化誘導後、抗心筋トロポニン抗体で評価した。またそれらの細胞をマウスへ移植後、免疫組織科学的な検討を行った結果、寿命延長したヒト骨髄間葉系幹細胞は心筋に分化し得ることが明らかとなった。また、骨髄以外の間葉系幹細胞においても、同様の手法を用いて、心筋への分化能を検討した。ストローマ細胞は P19CL6 細胞を心筋細胞に分化させる因子を分泌しているが、DNA chip による解析によりその因子の一つを同定した。血清成分比率を可能な限り低下させた、臨床応用可能な完全ヒト型幹細胞培地を開発した。抗 SSEA-4 モノクローナル抗体によるヒトおよびマウス EC 細胞株の解析の結果、SSEA-4 エピトープが糖タンパクとして接着に関わる蛋白上に発現していることが明らかになった。

分担研究者

梅澤明弘 国立成育医療センター成育医療研究部長

藤本純一郎 国立成育医療センター研究所副所長

A. 研究目的

心筋梗塞や心筋症による重症心不全に対する根本治療には、脳死患者よりの生体心移植以外存在しないが、ドナー不足は社会問題となっていることは周知である。したがって、心筋再生療法は心不全・心筋梗塞の新しい治療法として注目されている。本研究において、①ヒト骨髄間葉系幹細胞を *in vitro* で心筋細胞へ形質転換させる方法の開発とそれを誘導する分子の単離、② *in vivo* で骨髄細胞が心臓へ遊走し、心筋細胞へ形質転換する分子機序の解明、③ヒト骨髄間葉系幹細胞をモデルとした完全ヒト型培養システムの開発と幹細胞

の規格化の 3 点を目的とした。分担研究者である梅澤らによりマウスの骨髄間葉系幹細胞株が脱メチル化剤により心筋細胞に形質転換することが示されたが、この手法は容易に不死化するマウス骨髄細胞でのみしか成功しておらず、また脱メチル化剤による発癌も危惧される。そこで我々はまず①遺伝子導入またはその他の方法によるヒト骨髄間葉系幹細胞の不死化ないし寿命延長を目指し、*in vitro*、*in vivo* で心筋細胞への形質転換を試みた。申請者である小室はストローマ細胞が ES 細胞や P19CL6 細胞を心筋に分化させることを確認した。今回我々は、P19CL6 細胞ないし骨髄細胞を用いて、ストローマ細胞に由来する心筋誘導分子の精製、単離を目標とした。次に②であるが、最近未分化な細胞を骨髄より末梢血中に動員する作用をもつ G-CSF 等の投与により梗塞後の心臓リモデリングが抑制

されると報告された。申請者の検討においても G-CSF により梗塞後リモデリングが抑制されたが、骨髄細胞が心筋細胞に形質転換する割合は低く、G-CSF の効果は骨髄細胞が心筋細胞に形質転換したためではないと考えられる。一方申請者は SDF-1 が骨髄細胞の心臓への動員に関与していることや LIF により心筋細胞に形質転換する骨髄細胞が増加することを見出している。そこで、梗塞心における骨髄細胞やケモカインやサイトカインの心機能改善における役割および機序を明らかにすることを目的とした。③であるが、ヒト骨髄間葉系幹細胞で得られた成果は、他のヒト幹細胞への応用を図ることが可能であり、再生医療を安全に実施するための共通技術として広い分野で貢献できる。

B. 研究方法

1) 心筋誘導因子の解明

ストローマ細胞である OP9、PA6 細胞の培養液中には、ES 細胞や P19CL6 細胞を心筋細胞に形質転換させる因子が存在する。ES 細胞、P19CL6、ヒト骨髄間葉系幹細胞を、OP9 または PA6 細胞培養上清内で培養して自律拍動、心筋収縮蛋白の発現により最も高率に心筋細胞に形質転換するものを選択した。次に、培養上清中に存在する心筋細胞分化誘導因子を発現クローニングまたは DNA Chip により同定を試みた。また、心筋細胞分化誘導因子蛋白をゲル濾過法やイオン交換クロマトグラフィー法などにより精製を試みた。

2) 骨髄細胞の心筋細胞へ形質転換する分子機序の解明

梗塞心では骨髄細胞が遊走し、心筋細胞に形質転換することから、梗塞心から骨髄細胞を心臓に誘導する分子が出ていると想定される。実際、梗塞心の抽出液中に骨髄細胞の遊走を促進させる物質が存在することを観察している。骨髄細胞を心臓に動員する因子について、梗塞心で発現の増加しているケモカインやサイトカインについて DNA chip を用いて同定する。次にそれに対する中和抗体、阻害分子を投与し、それらの

分子の役割を解明する。G-CSF は心筋梗塞後のリモデリングを抑制するが、その際も骨髄細胞から心筋細胞に形質転換する細胞数の増加はない。G-CSF による梗塞後リモデリング改善の分子機序を解析する。

3) ヒト間葉系細胞の寿命延長と心筋分化誘導

TERT、E6、E7、および Bmi-1 を遺伝子導入することにより寿命を延長したヒト骨髄間葉系幹細胞を用いて in vitro と in vivo において心筋に分化するかどうかを検討した。ヒト骨髄間葉系細胞を限外希釈法でサブクローニングをして得られた細胞に、レトロウィルスを用いて TERT、E6、E7、および Bmi-1 を遺伝子導入した。得られたヒト寿命延長骨髄間葉系幹細胞を GFP で標識し、マウス胎児心筋細胞と共培養することで心筋へ分化させ、さらに免疫組織化学を用いて抗心筋トロポニン抗体で評価した。また、免疫不全マウスの心筋にヒト寿命延長骨髄間葉系幹細胞を注射し、心筋への分化を免疫組織化学により評価した。

4) 心筋細胞への分化能を有する細胞の単離

ヒトの子宮内膜細胞または月経血由来細胞を単離した後に、ウシ等の血清を 5~20% 添加した、 α -MEM (α -minimum essential medium)、DMEM (Dulbecco's modified Eagle's medium)、DMEM/F-12、IMDM(Isocove's modified Dulbecco's medium)等の細胞培養液内で、33~37℃、5~10%の二酸化炭素ガスで満たした孵卵器で培養した。これらの細胞をマウスの胎児心筋細胞と共培養、DNA の脱メチル化剤処理による分化誘導、胎児の心臓発生領域で発現している因子または胎児の心臓発生段階において心筋細胞への分化に働く因子による分化誘導、心筋細胞への分化能を有する細胞または該細胞から分化した心筋細胞の培養上清による分化誘導などの方法により、心筋細胞へ分化する能力があるか心筋特異的遺伝子、蛋白の発現、活動電位を指標として検討した。

5) 完全ヒト型幹細胞培養法の確立

遺伝子導入により寿命を延長したヒト間葉系幹細胞を用い、培地組成、増殖因子、細胞増殖動態などにつ

いて有効な成分・濃度を検討し、至適化を行った。具体的には、間葉系幹細胞を 24 穴プレートに播種し、各組成を添加した後、4～5 日培養後の WST-1 による細胞量並びに顕微鏡観察による細胞形態を評価した。骨髄より細胞を採取し、至適化した培地と従来培地（10%血清含有培地）でそれぞれ継代培養を行い、それぞれの細胞増殖動態を比較検討した。また、ヒト骨髄由来間葉系幹細胞を 10%牛胎児血清含有 DMEM（従来培地）と完全ヒト型幹細胞培地で継代培養を行い、30 日以上継代した細胞について細胞表面マーカーの発現を検討した。

6) 幹細胞における分子発現に関する検討

ヒト EC 細胞株 NCR-G3, マウス EC 細胞株 F9 を用いて、抗 SSEA-4 抗体である Raft. 2 抗体の NCR-G3, F9 における発現、各種の接着分子の発現を検討した。

（倫理面への配慮）

本研究では、ヒト由来細胞および実験動物を用いた研究が予定されている。機関の外部委員を含めた倫理審査委員会において生命倫理、安全管理を厳重に審査する。倫理委員会の承認かつ実施施設の長の許可を得て、全ての研究を遂行する。国立成育医療センター研究所においては、ヒト間葉系細胞の培養に関し、研究面において既に倫理審査を受け、承認を受けている（国立成育医療センター研究所、受付番号 25、26 及び 27、平成 15 年 1 月承認、受付番号 49、平成 15 年 10 月承認、受付番号 55、平成 15 年 11 月承認）。

実験動物を用いる研究については、千葉大学並びに国立成育医療センター研究所動物実験指針に準拠して（動物実験委員会に現在・申請済み）研究を実施する。特に実験は、動物愛護と動物福祉の観点から動物使用は、目的に合致した最小限にとどめる。またその際の手技は、麻酔等手段により苦痛を与えない配慮をおこなう。実験者は、管理者と相互協力のもと適切な環境のもと飼育管理を行う。

C. 研究結果

1) 心筋誘導因子の解明

ES 細胞、P19CL6、ヒト骨髄間葉系幹細胞を、OP9 または PA6 細胞培養上清内で培養した結果、OP9 細胞の培養液の心筋分化誘導効率がよいことが明らかになった。また、OP9 の全長 DNA より発現ベクターライブラリーを作成し、P19CL6 細胞に cDNA を導入し、P19CL6 細胞の心筋細胞への分化効率を自律拍動の有無、心筋蛋白、遺伝子の発現をもとに検討した結果、心筋への分化を促進する cDNA ライブラリが存在することが明らかになった。OP9 細胞の DNA chip 解析の結果から、OP9 細胞に多く発現している分泌蛋白について解析し、P19CL6 細胞を高率に心筋細胞に分化させる因子を同定した。

2) 骨髄細胞の心筋細胞へ形質転換する分子機序の解明

心筋梗塞組織では G-CSF 受容体の発現増加と Stat3 のリン酸化が認められたが、G-CSF 投与により梗塞後早期から Stat3 のリン酸化が認められた。Dominant negative Stat3-発現マウスと野生型マウスの比較により、G-CSF 投与による梗塞面積、左室拡張末期径、短縮率、左室拡張末期圧の改善、アポトーシス抑制、毛細血管数増加効果は G-CSF を介する JAK-Stat シグナルが関与していることが明らかになった。

3) ヒト間葉系細胞の寿命延長と心筋分化誘導

ヒト骨髄間質細胞を限外希釈法でサブクローニングし、レトロウィルスを用いて TERT、E6、E7、または Bmi-1 を遺伝子導入した。遺伝子を導入した組み合わせにより、4 種類の細胞を得た。寿命を延長したヒト骨髄間質幹細胞に GFP 遺伝子を組み込んだアデノウィルスを感染させることで細胞を標識し、脱メチル化剤である 5-azacytizine 処理した後にマウス胎児心筋細胞と共培養した。GFP 陽性細胞は共培養 2 日後に筋管細胞様に延長し、3 日後には GFP 陽性の横紋構造を有する細胞が拍動する像が認められ、トロポニン I を発現していた。また、ヒト心房性ナトリウム利尿ホルモ

ン (h ANP)、心筋特異的転写因子である Csx、およびミオシン軽鎖の発現も認められた。分化心筋細胞の活動電位は、共培養 7 日目では、膜電位が浅い胎児型の心筋細胞様であり、不規則なリズムを示したが、3 週間の培養により、膜電位は深く、リズムは規則的になり、培養を継続することによって、より成熟した心筋細胞に分化することが証明された。

GFP 陽性ヒト骨髄間質細胞と Lac-Z 陽性マウス心筋細胞の共培養を行ったが、GFP およびトロポニン I 陽性の分化誘導細胞は Lac-Z を発現していなかった。また、コラーゲンフィルムを挟んで、マウス心筋細胞とヒト骨髄間質細胞を培養した際も、GFP 陽性細胞中にトロポニン I 陽性の細胞を認めた。2 つの結果より、ヒト分化心筋細胞はマウス心筋細胞と細胞融合していないと考えられた。

骨髄以外にも、胃大網組織、陰茎皮下組織、胎盤組織、臍帯血、子宮内膜などに、間葉系幹細胞が存在することが知られている。骨髄間葉系幹細胞と同様の手法でこれら細胞の心筋への分化能を検討した結果、幾つかのサブクローンにおいて、90%以上の細胞が心筋へと分化することが確認された。

4) 心筋細胞への分化能を有する細胞の単離

ヒト月経血およびヒト子宮内膜由来細胞にレトロウイルスベクターを用いて不死化遺伝子を導入し、さらに、レトロウイルスベクター LXS-16E7、LXSH-hTERT および MSCVpuro-16E6SDD151 を導入してヒト子宮内膜由来不死化細胞株を得た。このヒト子宮内膜由来不死化細胞株にアデノウイルスにより GFP を発現させた後に、未処理または 5-aza-C 処理後に、マウス胎児由来心筋細胞と共培養した。1 週間マウス胎児由来心筋細胞と共培養を行った後に、抗ヒト CD59 抗体を用いて磁気マイクロビーズを用いてヒト由来の細胞のみ回収して、細胞内抗原でヒト心筋特異的なタンパク質である Troponin I に対する抗体を用いて染色を行った。その結果、マウス胎児由来心筋細胞と共培養した条件では、5-aza-C 処理した 2 種のヒト子宮内膜

由来不死化細胞株は、ほぼ 100%、従来心筋誘導に不可欠と考えられていた 5-aza-C の処理をしなかった 2 種のヒト子宮内膜由来不死化細胞株においても約 80% の Troponin I 陽性率を示した。また、コラーゲンフィルムを挟んだ培養法により、分化心筋細胞が細胞融合によるものではないことを確認した。ヒト子宮内膜由来不死化細胞株由来心筋細胞は、心筋細胞特異的な遺伝子として、ナトリウム利尿ペプチドである ANP および BNP、筋肉収縮を調節するタンパク質である Troponin T および Troponin I、アクチンである cardiac actin、ミオシン軽鎖である MLC-2a、心筋細胞特異的転写因子である Csx、GATA4 の mRNA が発現していることが観察され、収縮蛋白による横紋構造を呈した。電気的結合を示すコネクシン 43 は分化心筋細胞間に発現し、作業心筋型および、洞結節細胞型の活動電位を示した。

ヒト子宮内膜由来不死化細胞株には、心筋細胞特異的遺伝子 mRNA が、共培養する前から発現していることが観察された。不死化による遺伝子導入によって、間葉系細胞の性質自体が変化しないことから、このような心筋先祖細胞と呼べるような間葉系幹細胞が子宮内膜には多量に存在している可能性が示唆された。

5) 完全ヒト型幹細胞培養法の確立

寿命延長したヒト骨髄間質細胞株 UEET-12 を用いて、MEM 系、HAM 系或いはこれらの改変・混合培地など約 30 種類の基礎培地から低血清下で良好な増殖性を示す培地を選定した。ついで、入手可能な既知の増殖因子 (十数種類) について増殖性を検討した。その結果、UEET-12 については PDGF が極めて良好な、更に EGF、bFGF、LIF についても良好な増殖性を示した。より充分な増殖を得る為、PDGF に他の増殖因子を組み合わせる場合も検討した。その結果、LIF 或いは VEGF の添加により相乗的効果が認められた。これら増殖因子に対する反応性は細胞のクローン間で共通する傾向はあるものの、最適な増殖因子、及びその組合せは異なった。よって、最終的な増殖因子の最適化は複数のクローンでの成績

を総合的に評価した。

更に、ホルモン、脂質など約20種類の成分を評価・至適化することで改良培地を得た。このようにして得られた改良培地では従来培地と異なり無血清化でも10%血清存在化と同等の増殖性を示した。ただし継代培養に供した場合、無血清下では著しい接着性の低下が認められた。接着性の低下はフラスコ表面をファイブロネクチンコートすることで緩和しうるが、十分な接着性を回復するに至らなかった。ただし、1%程度の低濃度の血清を加えることで接着機能の低下を抑制することができた。そこで、最終的に1%の血清成分を含む改良培地組成を確立した。

ヒト間葉系幹細胞を従来の10%牛血清含有培地と本改良培地で継代培養したのちFACSにより細胞表面マーカーの発現を調べたが相違は認められなかった。また、ヒト骨髄液を等量に分け、10%牛血清含有培地と本改良培地で分離培養を行ったところ、本改良培地では培養初期において多数のクローン増殖が認められ、増殖能が高く、14日間の培養で10%牛血清含有培地より約100倍量の細胞数を得ることができた。

6) 幹細胞における分子発現に関する検討

ヒトEC細胞株NCR-G3について、レチノール酸による分化誘導系での各種細胞の骨格発現様式の変化を共焦点レーザー顕微鏡により検討した結果、アクチン(Actin)結合タンパクであるファスチン(Fascin)が分化に伴って他の細胞接着分子とは全く異なる局在を示すこと、分化がさらに進むに従って、消失することが明らかとなった。SSEA-4エピトープを認識するRaft.2抗体のNCR-G3およびマウスEC細胞株F9における発現を検討したところ、糖蛋白の糖鎖としてSSEA-4エピトープが存在すること、蛋白は特定の接着分子受容体であることを二次元電気泳動法、シアル酸除去法、トフマス解析等の方法で明らかにした。

D. 考察

ストローマ細胞は支持細胞として分泌因子、接着因

子、マトリックスを産生し、細胞の分化制御、誘導に関与している。Teratcarcinoma由来のP9CL6細胞はDMSOにより高率に心筋細胞へ分化するが、その機序は明らかではない。現在我々がスクリーニングしているストローマ細胞由来の心筋誘導因子が同定されれば、心筋細胞への分化の分子機序の解明に大きく前進すると思われる。細胞が他の細胞の形質を獲得する機序にtransdifferentiationと細胞融合が存在する。我々は、GFP陽性のヒト骨髄間葉系細胞とLac-Z陽性マウス心筋細胞を共培養したが、GFPおよびトロポニンI陽性の分化誘導細胞はLac-Zを発現しておらず、ヒト骨髄間葉系細胞はマウス心筋細胞との細胞融合ではなく、transdifferentiationにより分化していると考えられた。また、子宮内膜細胞をはじめとして、骨髄以外のさまざまな臓器に存在する間葉系幹細胞が、高率に心筋に分化する能力を有していることが判明した。したがって、不特定多数の若年者から容易に採取できる体細胞を用いて、無痛性で、繰り返し、大量に採取出来、あらゆるHLAに対応した細胞バンクシステムを形成する事が可能と考えられる。無血清化には至らなかったが、1%血清及び増殖因子(ヒト型組替え体)、ヒト由来蛋白質を含む改良培地を確立した。本培地は血清成分を自己血清に代替することで完全ヒト型合成培地とすることができる。これにより本件研究の目標である「臨床試験に適応できる安全な培地」を提供することが可能である。患者から採取可能な自己血清の量的限界を考慮すると、血清成分を1%に低下させることは、10~20%量の患者自己血清を含有する培地と比較して、その有用性は明らかである。また、優れた増殖性を示す点は培養期間を短縮する上で有利である。

本研究では間葉系幹細胞のクローンにより最適な増殖因子が必要なことを明らかにした。ある分化特性を有する細胞だけを選択的に増殖させるクローン選択培地が作製できる可能性がある。また、分裂回数に限界がある初代細胞においては大量の細胞を得る為には細

胞寿命をのばすことが必要である。細胞寿命には活性酸素や浸透圧などの培養ストレスが関与している。より大量の細胞を得る為には今後はこれら培養ストレスを除去する検討が必要である。

ヒトおよびマウス EC 細胞での分子発現解析から SSEA-4 糖鎖エピトープが接着分子関連蛋白上に発現しているという興味深い結果を得た。この意義はまだ明らかではないが、基質との接着性が幹細胞の未分化性維持と関わる可能性があることより興味深い。

E. 結論

ストローマ細胞は心筋分化誘導因子を発現していた。また、寿命延長したヒト骨髄間葉系細胞は心筋細胞に分化することが *in vitro*、*in vivo* の実験から明らかになった。ヒト骨髄間質細胞においては CD34⁻、CD90⁺、CD105⁺、CD117⁻の細胞群は、少なくとも心筋分化能を有する細胞であると考えられる。また、骨髄間質細胞以外にも、心筋への分化能を有する間葉系幹細胞が存在することを確認した。ヒト間葉系幹細胞に対して優れた増殖性を示す低血清ヒト型合成培地を確立した。

F. 研究発表

1. 論文発表

- (1) Yamashita, J., Kita, S., Iwamoto, T., Ogata, M., Takaoka, M., Tazawa, N., Nishikawa, M., Wakimoto, K., Shigekawa, M., Komuro, I., and Matsumura, Y. Attenuation of Ischemia/Reperfusion-Induced Renal Injury in Mice Deficient in Na⁺/Ca²⁺ Exchanger. *J Pharma Experimental Therapeutic* 304:284-293, 2003.
- (2) Fan, C., Duhagon, M.A., Oberti, C., Chen, S., Hiroi, Y., Komuro, I., Duhagon, P.I., Canessa, R., Wang, Q. Novel TBX5 mutations and molecular mechanism for Holt-Oram syndrome. *J Med Genet* 40:e29, 2003.
- (3) Funabashi N, Komiyama N, Komuro I. Multiple cystic aneurysms in aortitis demonstrated by three dimensional volume rendering images of multislice computed

tomography. *Heart*: 89:257, 2003.

- (4) Funabashi, N., Komiyama, N., Yanagawa, N., Mayama, T., Yoshida, K., Komuro, I. Coronary artery patency after metallic stent implantation evaluated by multislice computed tomography. *Circulation*:107:147-148, 2003.
- (5) Koizumi .T., Miyazaki, A., Komiyama, N., Sun, K., Nakasato, T., Masuda, Y., Komuro, I. Improvement of left ventricular dysfunction during exercise by walking in patients with successful percutaneous coronary intervention for acute myocardial infarction. *Circ J* 67:233-237, 2003.
- (6) Yao, A., Kohmoto, O., Oyama, T., Sugishita, Y., Shimizu, T., Harada, K., Matsui, H., Komuro, I., Nagai, R., Matsuo, H., Serizawa, T., Maruyama, T., Takahashi, T. Characteristic effects of alpha1-beta1, 2- adrenergic blocking agent, carvedilol, on [Ca²⁺]_i in ventricular myocytes compared with those of timolol and atenolol. *Circ J* 67:83-90, 2003.
- (7) Minamino, T., Miyauchi, H., Yoshida, T., Komuro, I. Endothelial cell senescence in human atherosclerosis: role of telomeres in endothelial dysfunction *J Cardiol.* 41:39-40, 2003.
- (8) Funabashi, N., Komiyama, N., Komuro, I. Patency of coronary artery lumen surrounded by metallic stent evaluated by three dimensional volume rendering images using ECG gated multislice computed tomography. *Heart* 89:388, 2003.
- (9) Iijima, Y., Nagai, T., Mizukami, M., Matsuura, K., Ogura, T., Wada, T., Akazawa, H., Takano H., Nakaya, H., Komuro, I. Beating is necessary for transdifferentiation of skeletal muscle-derived cells into cardiomyocytes. *FASEB J* 17:1361-1363, 2003.
- (10) Kudoh, S., Akazawa, H., Takano, H., Zou, Y., Toko, H., Nagai, T., Komuro, I. Stretch-modulation of second messengers: effects on cardiomyocyte ion transport. *Prog Biophys Mol Biol* 82:57-66, 2003.
- (11) Akazawa, H., Komuro, I. Too much Csx/Nkx2-5 is as

bad as too little? *J Mol Cell Cardiol* 35 :227-229, 2003.

(12) Kayaba, Y., Nakamura, A., Kasuya, Y., Ohuchi, T., Yanagisawa, M., Komuro, I., Fukuda, Kuwaki, T. Attenuated defence response and low basal blood pressure in orexin knockout mice. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 285:R581-R593, 2003.

(13) Nagai, T., Tanaka-Ishikawa, M., Aikawa, R., Ishihara, H., Zhu, W., Yazaki, Y., Nagai, R., Komuro I. Cdc42 plays a critical role in assembly of sarcomere units series of cardiac myocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 305:806-810, 2003.

(14) Funabashi, N., Toyozaki, T., Matsumoto, Y., Yonezawa, M., Yonagawa, N., Yoshida, D., Komuro, I. Images in cardiovascular medicine. Myocardial fibrosis in fabry disease demonstrated by multislice computed tomography: comparison with biopsy findings. *Circulation* 107:2519-2520, 2003.

(15) Wakimoto, K., Fujimura, H., Iwamoto, T., Oka, T., Kobayashi, K., Kita, S., Kudouh, S., Kuro-o, M., Nabeshima, Y., Shigekawa, M., Imai, Y., Komuro, I. $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger-deficient mice have disorganized myofibrils and swollen mitochondria in cardiomyocytes. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol* 135:9-15, 2003.

(16) Sato, M., Moroi, K., Nishiyama, M., Zhou, J., Usui, H., Kasuya, Y., Fukuda, M., Kohara, Y., Komuro, I., Kimura, S., Characterization of a novel *C. elegans* RGS protein with a C2 domain:evidence for direct association between C2 domain and Galphaq subunit. *Life Sci* 73:917-932, 2003

(17) Funabashi, N., Komiyama, N., Komuro, I. Images in cardiology. Fibromuscular dysplasia in renovascular hypertension demonstrated by multislice CT: comparison with conventional angiogram and intravascular ultrasound. *Heart* 89:639, 2003.

(18) Kuroda, N., Kobayashi, Y., Desai, K., Costantini, C., Kobayashi, M., Komuro, I. Impact of change in the price of percutaneous coronary intervention devices on medical

expenses. *Circ J* 67:576-578, 2003.

(19) Takano, H., Hasegawa, H., Nagai, T and Komuro, I. The role of PPAR γ -dependent pathway in the development of cardiac hypertrophy. *Drugs of Today* 39:347-357, 2003.

(20) Zou, Y., Takano, H., Mizukami, M., Akazawa, H., Qin, Y., Toko, H., Sakamoto, M., Minamino, T, Nagai, T., Komuro I. Leukemia Inhibitory Factor Enhances Survival of Cardiomyocytes and Induces Regeneration of Myocardium After Myocardial Infarction. *Circulation* 108:748-753, 2003.

(21) Hasegawa, H., Yamamoto, R., Takano, H., Mizukami, M., Asakawa, M., Nagai, T., Komuro, I. 3-Hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors prevent the development of cardiac hypertrophy and heart failure in rats. *J Mol Cell Cardiol* 35:953-960, 2003.

(22) Funabashi, N., Yoshida, K., Komuro, I. Thinned myocardial fibrosis with thrombus in the dilated form of hypertrophic cardiomyopathy demonstrated by multislice computed tomography. *Heart* 89:858, 2003.

(23) Funabashi, N., Teramoto, K., Komuro, I. Patency of multiple coronary artery bypass grafts demonstrated by multislice CT. *Heart* 89:818, 2003.

(24) Minamino, T., Komuro, I. The role of telomerase activation in the regulation of vascular smooth muscle cell proliferation. *Drug News Perspect* 16:211-216, 2003.

(25) Funabashi, N., Ito, K., Komuro, I. Multi-vessel dissections in Marfan syndrome demonstrated by multislice computed tomography. *Heart* 89 :1146, 2003.

(26) Funabashi, N., Yonezawa, M., Iesaka, Y., Umekita, H., Yanagawa, N., Matsumoto, Y., Yoshida, K., Komuro, I. Complications of pulmonary vein isolation by catheter ablation evaluated by ECG-gated multislice computed tomography. *Heart Vessels* 18:220-223, 2003.

(27) Minamino, T., Yoshida, T., Tateno, K., Miyauchi, H., Zou, Y., Toko, H., Komuro, I. Ras induces vascular smooth muscle cell senescence and inflammation in Human

atherosclerosis. *Circulation* 108: 2264-2269, 2003.

(28) Cohen-Barak, O., Yi, Z., Hagiwara, N., Monzen, K., Komuro, I., Brilliant, M.H. Sox6 regulation of cardiac myocyte development. *Nucleic Acids Res* 31:5941-5948, 2003.

(29) Kuroda, N., Kobayashi, Y., Mintz, G.S., Komuro, I. Images in cardiovascular medicine. Multiple ruptured plaques: serial intravascular ultrasound examinations. *Circulation* 4: 131e-132e, 2003.

(30) Funabashi, N., Misumi, K., Ohnishi, H., Watanabe, M., Suzuki, Y., Imai, N., Yoshida, K., Komuro, I. Endoluminal perspective volume rendering of coronary arteries using electron-beam computed tomography. *Circ J* 67: 1064-1067, 2003.

(31) Zou, Y., Zhu, W., Sakamoto, M., Qin, Y., Akazawa, H., Toko, H., Mizukami, M., Takeda, N., Minamino, T., Takano, H., Nagai, T., Nakai, A., Komuro, I. Heat shock transcription factor 1 protects cardiomyocytes from ischemia/reperfusion injury. *Circulation* 108: 3024-3030, 2003.

(32) Naito, A.T., Tominaga, A., Oyamada, M., Oyamada, Y., Shiraishi, I., Monzen, K., Komuro, I., Takamatsu, T. Early stage-specific inhibitions of cardiomyocyte differentiation and expression of Csx/Nkx-2.5 and GATA-4 by phosphatidylinositol 3-kinase inhibitor LY294002. *Exp Cell Res* 291:56-69, 2003.

(33) Tsuchiya, K., Mori, T., Chen, G., Ushida, T., Tateishi, T., Matsuno, T., Sakamoto, M., and Akihiro Umezawa, A.: A custom-shaping system for bone regeneration by seeding marrow stromal cells onto a web-like biodegradable hybrid sheet. *Cell Tissue Res*, in press.

(34) Takeda, Y., Mori, T., Imabayashi, H., Kiyono, T., Gojo, S., Miyoshi, S., Ita, M., Segawa, K., Ogawa, S., Sakamoto, M., Nakamura, S., Umezawa, A.: Can the life-span of human marrow stromal cells be prolonged by bmi-1, E6, E7, and/or telomerase without affecting cardiomyogenic

differentiation?, *J Gene Med*, in press.

(35) Sharov, A. A., Piao, Y., Matoba, R., Dudekula, D. B., Qian, Y., VanBuren, V., Falco, G., Martin, P. R., Stagg, C. A., Bassey, U. C., Wang, Y., Carter, M. G., Hamatani, T., Aiba, K., Akutsu, H., Sharova, L., Tanaka, T. S., Kimber, W. L., Yoshikawa, T., Jaradat, S. A., Pantano, S., Nagaraja, R., Boheler, K. R., Taub, D., Hodes, R. J., Longo, D. L., Schlessinger, D., Keller, J., Klotz, E., Kelsoe, G., Umezawa, A., Vescovi, A. L., Rossant, J., Kunath, T., Hogan, B. L. M., Curci, A., D'Urso, M., Kelso, J., Hide, W., and Ko, M. S. H.: Transcriptome analysis of mouse stem cells and early embryos, *PLoS Biology*, 1(3): 410-419 2003.

(36) Imabayashi, H., Mori, T., Gojo, S., Kiyono, T., Sugiyama, T., Irie, R., Isogai, T., Hata, J., Toyama, Y., and Umezawa, A.: Redifferentiation of dedifferentiated chondrocytes and chondrogenesis of human bone marrow stromal cells via chondrosphere formation with expression profiling by large-scale cDNA analysis. *Exp Cell Res*, 288: 35-50, 2003.

(37) Gojo, S., Gojo, N., Takeda, Y., Mori, T., Abe, H., Kyo, S., Hata, J., and Umezawa, A.: In vivo Cardiovasculogenesis by Direct Injection of Isolated Adult Mesenchymal Stem Cells. *Exp Cell Res*, 288: 51-59, 2003.

(38) Allan, E. H., Ho, P.W., Umezawa, A., Hata, J., Makishima, F., Gillespie, M. T., Martin, T. J.: Differentiation potential of a mouse bone marrow stromal cell line. *J Cell Biochem.*, 90(1):158-169, 2003.

(39) Shindo K, Kawashima N, Sakamoto K, Yamaguchi A, Umezawa A, Takagi M, Katsube K, Suda H.: Osteogenic differentiation of the mesenchymal progenitor cells, Kusa is suppressed by notch signaling. *Exp Cell Res*, 290(2):370-80, 2003.

(40) Matsushita, K., Okita, H., Suzuki, A., Shimoda, K., Fukuma, M., Yamada, T., Urano, F., Honda, T., Sano, M., Iwanaga, S., Ogawa, S., Hata, J., and Umezawa, A.: Islet cell hyperplasia in transgenic mice overexpressing EAT/mcl-

- 1, a bcl-2 related gene. *Mol Cell Endocr.* 203 105-116, 2003.
- (41) Yoneda S, Itoh D, Kuroda S, Kondo H, Umezawa A, Ohya K, Ohyama T, Kasugai S. The effects of enamel matrix derivative (EMD) on osteoblastic cells in culture and bone regeneration in a rat skull defect. *J Periodontal Res.* 38(3):333-342, 2003.
- (42) Fukuma, M., Okita, H., Hata, J., and Umezawa, A.: Up-regulation of Id2, an oncogenic helix-loop-helix protein, is mediated by the chimeric EWS/ets protein in Ewing sarcoma. *Oncogene*, 22(1): 1-9, 2003.
- (43) Ochi, K., Chen, G., Ushida, T., Gojo, S., Segawa, K., Tai, H., Ueno, K., Ohkawa, H., Mori, T., Toyama, Y., Hata, J-i., and Umezawa, A.: The use of isolated mature osteoblasts in abundance acts as desired-shaped bone regeneration in combination with a modified poly DL-lactic-co-glycolic acid (PLGA)-collagen sponge. *J. Cell. Physiol.* 194:45-53, 2003
- (44) Shibata R, Takata A, Hashiguchi A, Umezawa A, Yamada T, Hata J : Responsiveness of chemotherapy based on the histological type and WT1 mutation in bilateral Wilms tumor. *Pathology international*, 53: 214-220, 2003
- (45) Shibata, R., Umezawa, A., Takehara, K., Aoki, D., Nozawa, S., Hata, J.: Primary carcinosarcoma of the vagina, *Pathol Int.*, 53:106-110, 2003
- (46) 梅澤明弘：神経幹細胞の供給源 骨髄一骨芽細胞、神経疾患の再生医療－その現状と将来、*Clinical Neuroscience*, 21(10): 1127-1130, 2003.
- (47) 梅澤明弘：再生医療の展望 1. 細胞移植による再生医療、*日本内科学会誌* 第92巻 第9号 平成15年9月10日 1758-1762。
- (48) 森泰昌、今林英明、梅澤明弘：再生医学と幹細胞－成体幹細胞、*日医雑誌*、129(3): 307-312, 2003。
- (49) 植谷宏平、松野丈夫、梅澤明弘：間葉系幹細胞、*日本医学会新聞* (2523), 2003年2月17日。
- (50) 梅澤明弘：組織幹細胞と生殖細胞の再生医療、*慶應医学部新聞* (615), 2003。
- (51) 竹田征治、梅澤明弘：筋ジストロフィーに対する再生医療、*医学のあゆみ*、204(3): 179-182, 2003。
- (52) Taguchi T, Kiyokawa N, Mimori K, Suzuki T, Sekino T, Nakajima H, Saito M, Katagiri-U Y, Matsuo N, Matsuo Y, Karasuyama H and Fujimoto J. Pre-BCR-mediated signal inhibits CD24-induced apoptosis in human pre-B cells. *J-Immunol*, 2003; 170(1):252-260.
- (53) Mori T, Kiyokawa N, Shimada H, Miyauchi J and Fujimoto J. Anaplastic large cell lymphoma in Japanese children: Retrospective analysis of 34 patients diagnosed at the National Research Institute for Child Health and Development.. *Br-J-Haematol*, 2003 Apr;121(1):94-6.
- (54) Mimori K, Kiyokawa N, Taguchi T, Suzuki T, Sekino T, Nakajima H, Saito M, Katagiri-U Y, Isoyama K, Yamada K, Matsuo Y and Fujimoto J. Co-stimulatory signals distinctively affect CD20- and B-cell-antigen-receptor-mediated apoptosis in Burkitt's lymphoma/leukemia cells. *Leukemia*, 2003 Jun;17(6):1164-74.
- (55) Furusawa T, Hosoe M, Ohkoshi K, Takahashi S, Kiyokawa N, Fujimoto J, Amemiya H, Suzuki S, Tokunaga T. Catalytic RAG1 mutants obstruct V(D)J recombination in vitro and in vivo. *Mol Immunol* 2003 May;39(14):871-8.
- (56) Ohkoshi K, Takahashi S, Koyama S, Akagi S, Adachi N, Furusawa T, Fujimoto J, Takeda K, Kubo M, Izaike Y, and Tokunaga T. In vitro oocyte culture and somatic cell nuclear transfer used to produce a live-born cloned goat. *Cloning-Stem-Cells*. 2003;5(2):109-15.
- (57) Ohtsuka, M., Takano, H., Suzuki, M., Zou, Y., Akazawa, H., Tamagawa, M., Wakimoto, K., Nakaya, H., Komuro, I. Role of Na⁺-Ca²⁺ exchanger in myocardial ischemia/reperfusion injury: evaluation using a heterozygous Na⁺-Ca²⁺ exchanger knockout mouse model. *Biochem Biophys Res Commun* 314: 849-853, 2004.
- (58) Miyauchi, H., Minamino, T., Tateno, K., Kunieda, T., Toko, H., Komuro, I. Akt negatively regulates the in

- vitro lifespan of human endothelial cells via a p53/p21-dependent pathway. *EMBO J* 23: 212-220, 2004.
- (59) Matsuura, K., Nagai, T., Nishigaki, N., Oyama, T., Nishi, J., Wada, H., Sano, M., Toko, H., Akazawa, H., Sato, T., Nakaya, H., Kasanuki, H., Komuro, I. Adult cardiac Sca-1 positive cells differentiate into beating cardiomyocytes. *J Biol Chem* 279:11384-11391, 2004.
- (60) Ohsawa, Y., Toko, H., Katsura, M., Morimoto, K., Yamada, H., Ichikawa, Y., Murakami, T., Ohkuma, S., Komuro, I., Sunada, Y. Overexpression of P104L mutant caveolin-3 in mice develops hypertrophic cardiomyopathy with enhanced contractility in association with increased endothelial nitric oxide synthase activity. *Hum Mol Genet* 13: 151-157, 2004.
- (61) Funabashi, N., Sekine, T., Komuro, I. Patency of the left subclavian artery following implantation of stent graft to rectify a stenosis, as demonstrated by multislice computed tomography. *Heart* 90:362, 2004.
- (62) Minamino, T., Miyauchi, H., Tateno, K., Kunieda, T., Komuro, I. Akt-induced Cellular Senescence: Implication for Human Disease. *Cell Cycle* 3:449-451, 2004.
- (63) Ohtsuka, M., Takano, H., Zou, Y., Toko, H., Akazawa, H., Qin, Y., Suzuki, M., Hasegawa, H., Nakaya, H., Komuro, I. Cytokine therapy prevents left ventricular remodeling and dysfunction after myocardial infarction through neovascularization. *FASEB J* 18:851-853, 2004.
- (64) Toko, H., Zou, Y., Minamino, T., Sakamoto, M., Sano, M., Harada, M., Nagai, T., Sugaya, T., Terasaki, F., Kitaura, Y., Komuro, I. Angiotensin II Type 1a Receptor Is Involved in Cell Infiltration, Cytokine Production, and Neovascularization in Infarcted Myocardium. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 24:664-670, 2004.
- (65) Minamino, T., Miyauchi, H., Yoshida, T., Tateno, K., Kunieda, T., Komuro, I. Vascular cell senescence and vascular aging. *J Mol Cell Cardiol* 36:175-183, 2004.
- (66) Akazawa, H., Kudoh, S., Mochizuki, N., Takekoshi, N., Takano, H., Nagai, T., Komuro, I. A novel LIM protein Cal promotes cardiac differentiation by association with CSX/NKX2-5. *J Cell Biol* 164:395-405, 2004
- (67) Kasai, H., Yao, A., Oyama, T., Hasegawa, H., Akazawa, H., Toko, H., Nagai, T., Kinugawa K, Kohmoto, O., Maruyama, K., Takahashi, T., Nagai, R., Miyawaki, A., Komuro, I. Direct measurement of Ca²⁺ concentration in the SR of living cardiac myocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 314:1014-1020, 2004.
- (68) Zou, Y., Akazawa, H., Qin, Y., Sano, M., Takano, H., Minamino, T., Makita, N., Iwanaga, K., Zhu, W., Kudoh, S., Toko, H., Tamura, K., Kihara, M., Nagai, T., Fukamizu, A., Umemura, S., Iiri, T., Fujita, T., Komuro, I. Mechanical stress activates angiotensin II type 1 receptor without the involvement of angiotensin II. *Nat Cell Biol* 6:499-506, 2004.
- (69) Ogihara, T., Asano, T., Katagiri, H., Sakoda, H., Anai M., Shojima, N., Ono, H., Fujishiro, M., Kushiya, A., Fukushima, Y., Kikuchi, M., Noguchi, N., Aburatani, H., Gotoh, Y., Komuro, I., Fujita, T. Oxidative stress induces insulin resistance by activating the nuclear factor-kappaB pathway and disrupting normal subcellular distribution of phosphatidylinositol 3-kinase. *Diabetologia* 47:794-805, 2004.
- (70) Takano, H., Hasegawa, H., Zou, Y. and Komuro, I. Pleiotropic Actions of PPAR Activators Thiazolidinediones in Cardiovascular Diseases. *Current Pharmaceutical Design* 10:2779-2786, 2004.
- (71) Minamino, T., Miyauchi, H., Yoshida, T., Tateno, K., Komuro, I. The role of vascular cell senescence in atherosclerosis: antisenescence as a novel therapeutic strategy for vascular aging. *Curr Vasc Pharmacol* 2:141-148, 2004.
- (72) Funabashi, N., Ishida, A., Yoshida, K., Komuro, I. Images in cardiovascular medicine. Double aortic arch with

- a compressed trachea demonstrated by multislice computed tomography. *Circulation* 110:e68-e69, 2004.
- (73) Hayashi, D., Kudoh, S., Shiojima, I., Zou, Y., Harada, K., Shimoyama, M., Imai, Y., Monzen, K., Yamazaki, T., Yazaki, Y., Nagai, R., Komuro, I. Atrial natriuretic peptide inhibits cardiomyocyte hypertrophy through mitogen-activated protein kinase phosphatase-1. *Biochem Biophys Res Commun* 322:310-319, 2004.
- (74) Teramoto K, Daimon M, Hasegawa R, Toyoda T, Sekine T, Kawata T, Yoshida K, Komuro I. Acute effect of oral vitamin C on coronary circulation in young healthy smokers. *Am Heart J*: 148:300-305, 2004.
- (75) Funabashi, N., Kobayashi, Y., Kudo, M., Asano, M., Teramoto, K., Komuro, I., Rubin, G.D. New method of measuring coronary diameter by electron-beam computed tomographic angiography using adjusted thresholds determined by calibration with aortic opacity. *Circ J* 68:769-777, 2004.
- (76) Akazawa, H., Komazaki, S., Shimomura, H., Terasaki, F., Zou, Y., Takano, H., Nagai, T., Komuro I. Diphtheria toxin-induced autophagic cardiomyocyte death plays a pathogenic role in mouse model of heart failure. *J Biol Chem* 279:41095-41103, 2004.
- (77) Ikeda Y, Imai Y, Kumagai H, Nosaka T, Morikawa Y, Hisaoka T, Manabe I, Maemura K, Nakaoka T, Imamura T, Miyazono K, Komuro I. Nagai R, Kitamura T. Vascular smooth muscle cells, modulates the arterial response to injury in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101:10732-10737, 2004.
- (78) Yamamoto, M., Komiyama, N., Koizumi, T., Nameki, M., Yamamoto, Y., Toyoda, T., Okuno, T., Tateno, K., Sano, K., Himi, T., Kuriyama, N., Namikawa, S., Yokoyama, M., Komuro, I. Usefulness of rapid quantitative measurement of myoglobin and troponin T in early diagnosis of acute myocardial infarction. *Circ J* 68:639-644, 2004.
- (79) Toyoda, T., Akasaka, T., Watanabe, N., Akiyama, M., Neishi, Y., Kume, T., Komuro, I., Yoshida K. Evaluation of abnormal motion of interventricular septum after coronary artery bypass grafting operation: assessment by ultrasonic strain rate imaging. *J Am Soc Echocardiogr* 17:711-716, 2004
- (80) Matsuura, K., Wada, H., Nagai, T., Iijima, Y., Minmino, T., Sano, M., Akazawa, H., Molckentin J.D, Kasanuki, H., and Komuro, I. Cardiomyocytes fuse with surrounding non-cardiomyocytes and re-enter the cell cycle. *J Cell Biol* 167:351-363, 2004.
- (81) Naito, A.T., Minamino, T., Tateno, K., Nagai, T., Komuro, I. Steroid-responsive thromboangiitis obliterans. *Lancet* 364:1098, 2004.
- (82) Komuro, I., Ohtsuka, M. Forefront of Na⁺/Ca²⁺ exchanger studies: role of Na⁺/Ca²⁺ exchanger-lessons from knockout mice. *J Pharmacol Sci* 96:23-26, 2004.
- (83) Toyoda, T., Baba, H., Akasaka, T., Akiyama, M., Neishi, Y., Tomita, J., Sukmawan, R., Koyama, Y., Watanabe, N., Tamano, S., Shinomura, R., Komuro, I., Yoshida, K. Assessment of regional myocardial strain by a novel automated tracking system from digital image files. *J Am Soc Echocardiogr* 17:1234-1238, 2004.
- (84) Iwanaga, K., Takano, H., Ohtsuka, M., Hasegawa, H., Zou, Y., Qin, Y., Odaka, K., Hiroshima, K., Tadokoro, H., Komuro, I. Effects of G-CSF on cardiac remodeling after acute myocardial infarction in swine. *Biochem Biophys Res Commun* 325:1353-1359, 2004.
- (85) Iwamoto, T., Kita, S., Zhang, J., Blaustein, M.P., Arai, Y., Yoshida, S., Wakimoto, K., Komuro, I., Katsuragi, T. Salt-sensitive hypertension is triggered by Ca²⁺ entry via Na⁺/Ca²⁺ exchanger type-1 in vascular smooth muscle. *Nat Med* 10:1193-1199, 2004.
- (86) Harada, M., Qin, Y., Takano, H., Minamino, T., Zou, Y., Toko, H., Ohtsuka, M., Matsuura, K., Sano, M., Nishi, J.,

Akazawa, H., Kunieda, T., Zhu, W., Hasegawa, H., Kunisada, K., Nagai, T., Nakaya, H., Yamauchi-Takahara, K., Komuro, I. G-CSF prevents cardiac

Remodeling after myocardial infarction by activating Jak/Stat in cardiomyocytes. *Nat Med*11:305-311, 2005.

(87) Tsuchiya, K., Mori, T., Chen, G., Ushida, T., Tateishi, T., Matsuno, T., Sakamoto, M., and Umezawa, A.: Custom-shaping system for bone regeneration by seeding marrow stromal cells onto a web-like biodegradable hybrid sheet. *Cell Tissue Res*, 316: 141-153, 2004

(88) Oikawa, K., Ohbayashi, T., Kiyono, T., Nishi, H., Isaka, K., Umezawa, A., Kuroda, M., and Mukai, K.: Expression of a Novel Human Gene, Human Wings Apart-Like (hWAPL), Is Associated with Cervical Carcinogenesis and Tumor Progression. *Cancer Res*, 64: 3545-3549, 2004

(89) Takeda, Y., Mori, T., Imabayashi, H., Kiyono, T., Gojo, S., Miyoshi, S., Ita, M., Segawa, K., Ogawa, S., Sakamoto, M., Nakamura, S., Umezawa, A.: Can the life-span of human marrow stromal cells be prolonged by bmi-1, E6, E7, and/or telomerase without affecting cardiomyogenic differentiation?", *J Gene Med*, 6:833-845, 2004

(90) Higuchi, A., Hamamura, A., Shindo, Y., Kitamura, H., Yoon, B-O., Mori, T., Uyama, T., and Umezawa, A.: Photon-modulated changes of cell attachments on poly(spiropyran-co-methylmethacrylate) membranes, *Biomacromolecules*, in press.

2. 学会発表

(1) 小室一成：「循環器における再生医療の位置付け」日本心臓血管外科学会、札幌、平成 15 年 5 月 14 日。

(2) 小室一成：「心臓再生の可能性」第 24 回日本循環制御医学会総会、大阪、平成 15 年 5 月 16 日～17 日。

(3) Komuro I. The Fourth Oulu Symposium Advances in Molecular and Cellular Biology of Vasoactive Factors, Angiotensin II and cardiac hypertrophy, June 4-9, 2003, Finland.

(4) Komuro I. XXV Annual Meeting of the International

Society for Heart Research (ISHR), Oxidative stress and development of cardiac hypertrophy, June 28-July 30, 2003, USA.

(5) 小室一成：「Cardiovascular continuum：心血管疾患と RA 系」第 51 回日本心臓病学会学術集会、東京、平成 15 年 9 月 8 日～9 日。

(6) Komuro I. Mini-Symposium The Biology of Cardiac Injury and Regeneration, A novel mechanisms of AT1 activation and regeneration of the heart, Nov 13-16, 2003, USA.

(7) 小室一成：「心、血管系の再生医学」第 56 回日本胸部外科学会総会、東京、平成 15 年 11 月 20 日。

(8) Umezawa, A.: Cellular synchronization during the cardiomyogenic differentiation of human marrow stromal cells. The Second International Symposium on Molecular Synchronization for Design of New Materials System., Yokohama, Japan, July 18, 2003

(9) Umezawa, A.: In vivo and in vitro cardiomyogenesis of human marrow stromal cells with a prolonged life span by BMI-1, E6, E7 and/or telomerase, Tenth N.A.T. Meeting, Stem cells and Transplantation, NANTES, France, June 19-20, 2003

(10) 片桐洋子, 竹野内寿美, 田口智子, 清河信敬, 藤本純一郎. 新たに樹立した単クローン性抗体 Raft1 を用いた GTP タンパク β 鎖の細胞内局在の検討. 第 92 回日本病理学会総会, 福岡, 4 月 23-25 日, 2003.

(11) 田口智子, 清河信敬, 鈴木恭子, 中島敏治, 齋藤博久, 藤本純一郎. 網羅的遺伝子発現解析による小児 B 前駆細胞性急逝リンパ芽球性白血病の特性の検討. 第 62 回日本癌学会総会, 名古屋, 9 月 25-27 日 2003.

(12) Komuro I. Expert Workshop Asia Pacific Novel Aspects of Endothelial Dysfunction. (January 12-15, 2004, Singapore, China) Introduction of Telomere Restores Endothelial Dysfunction Associated with Aging.

(13) 小室一成：第 68 回日本循環器学会総会・学術集会ランチョンセミナー(平成 16 年 3 月 27 日～29 日、

東京) 学術集会ランチョンセミナー「Inverse agonistとしてのARB」

(14) 小室一成：第 65 回冠循環器談話会(平成 16 年 3 月 28 日、東京)「心筋障害と心不全」

(15) 小室一成：日本内科学会北陸支部主催第 32 回生涯教育講演会(平成 16 年 6 月 6 日、石川)「心不全治療の新たな展望」

(16) 日本心臓病学会アドバンスコース・ランチョンセミナー(平成 16 年 6 月 20 日、東京)「Cardiovascular continuumにおけるARBの有用性～Inverse Agonistの可能性～」

(17) 第 77 回日本内分泌学会ランチョンセミナー(平成 16 年 6 月 24 日、京都)「心臓におけるアルドステロンの作用機構」

(18) 第 80 回日本獣医循環器学会学術集会(平成 16 年 6 月 27 日、東京)「心臓の発生と再生」

(19) Komuro I. 2004 International Society for Heart Research World Congress. (August 6-11, 2004, Brisbane, Australia) A novel mechanism of AT1 activation.

(20) 第 52 回日本心臓病学会学術集会(平成 16 年 9 月 14 日、京都)「心臓障害における AT1 受容体の役割とその新しい活性化機構」

(21) 第 52 回日本心臓病学会学術集会ファイアースイド・シンポジウム(平成 16 年 9 月 14 日、京都)「21 世紀における慢性心不全治療の新展開」

(22) Komuro I. The La-Jolla-Capri (Rome)-Research Conference. (October 1-3, 2004, Capri, Italy) G-CSF prevents left ventricular remodeling after myocardial infarction.

(23) 第 32 回日本救急医学会総会・ランチョンセミナー(平成 16 年 10 月 27 日、千葉)「慢性心不全治療法の進歩と将来展望」

(24) 第 8 回日本心血管内分泌代謝学会学術総会・ランチョンセミナー(平成 16 年 11 月 25 日、宮崎)「THE VALUE Study」

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

小室 一成

(1) 心筋梗塞および心不全の治療薬、特願 2002-260665、平成 14 年 9 月 5 日(申請中)

(2) 標識化テネイシン C モノクローナル抗体、特願 2003-004959、平成 15 年 1 月 10 日(申請中)

(3) 細胞移植療法後の予後改善剤、特願 2004-13354、平成 16 年 1 月 21 日(申請中)

梅澤 明弘

1) 「心筋形成能のある成体骨髄由来細胞」国内(第 372826 号、平成 11 年 12 月 28 日)

「心筋細胞への分化能を有する成体骨髄由来細胞」国際(PCT/JP00/001148、平成 13 年 2 月 28 日)

「心筋細胞への分化能を有する骨髄由来細胞」国際(PCT/JP00/07741、平成 13 年 11 月 2 日)

「心筋細胞への分化能を有する細胞」国際(PCT/JP00/09323、平成 13 年 12 月 27 日)

出願人：協和醗酵株式会社

2) 「骨の再生方法」

発明者：梅澤明弘、秦順一、立石哲也、牛田多加志、陳国平

出願日：第 251365 号、平成 13 年 8 月 22 日

出願人：梅澤明弘、牛田多加志、独立行政法人産業技術総合研究所

3) 「間葉系細胞から膵β細胞を形成する方法」

発明者：梅澤明弘、伊澤良兼

出願日：平成 14 年 4 月 17 日

出願番号 特願 2002-115201、

出願人：大塚製薬株式会社

2. 実用新案登録 該当なし

3. その他 該当なし

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
小室一成	分子生物学、発生工学から考えた病態生理		心不全の New Concept	中外医学社	東京	2003	1-150

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表雑誌名	巻号	ページ	出版年
Yamashita J, Komuro I, et al.	Attenuation of Ischemia/ Reperfusion-Induced Renal Injury in Mice Deficient in Na ⁺ /Ca ²⁺ Exchanger.	J Pharma Experimental Therapeutic	304	284-293	2003
Funabashi N, Komuro I, et al.	Multiple cystic aneurysms in aortitis demonstrated by three dimensional volume rendering images of multislice computed tomography.	Heart	89	257	2003
Funabashi N, Komuro I, et al.	Coronary artery patency after metallic stent implantation evaluated by multislice computed tomography.	Circulation	107	147-148	2003
Koizumi T, Komuro I, et al.	Improvement of left ventricular dysfunction during exercise by walking in patients with successful percutaneous coronary intervention for acute myocardial infarction.	Circ J	67	233-237	2003

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表雑誌名	巻号	ページ	出版年
Yao A, Komuro I, et al.	Characteristic effects of alpha1-beta1, 2- adrenergic blocking agent, carvedilol, on [Ca ²⁺] _i in ventricular myocytes compared with those of timolol and atenolol.	Circ J	67	83-90	2003
Iijima Y, Komuro I, et al.	Beating is necessary for transdifferentiation of skeletal muscle-derived cells into cardiomyocytes.	FASEB J	17	1361-1363	2003
Kudou S, Komuro I, et al.	Stretch-modulation of second messengers:effects on cardiomyocyte ion transport.	Prog Biophys Mol Biol	82	57-66	2003
Akazawa H, Komuro I,	Too much Csx/Nkx2-5 is as bad as too little?	J Mol Cell Cardiol	35	227-229	2003
Kayaba Y, Komuro I, et al.	Attenuated defence response and low basal blood pressure in orexin knockout mice.	Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol	285	R581-R593	2003
Akazawa H, Komuro I.	Roles of cardiac transcription factors in cardiac hypertrophy.	Circ Res	92	1079-1088	2003
Nagai T, Komuro I, et al.	Cdc42 plays a critical role in assembly of sarcomere units series of cardiac myocytes.	Biochem Biophys Res Commun	306	806-810	2003

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表雑誌名	巻号	ページ	出版年
Funabashi N, Komuro I, et al.	Myocardial fibrosis in fabry disease demonstrated by multislice computed tomography: comparison with biopsy findings.	Circulation	107	2519-2520	2003
Wakimoto K, Komuro I, et al.	Na ⁺ /Ca ²⁺ exchanger-deficient mice have disorganized myofibrils and swollen mitochondria in cardiomyocytes.	Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol	135	9-15	2003
Sato M, Komuro I, et al.	Characterization of a novel C. elegans RGS protein with a C2 domain:evidence for direct association between C2 domain and Galphaq subunit.	Life Sci	73	917-932	2003
Funabashi N, Komuro I, et al.	Fibromuscular dysplasia in renovascular hypertension demonstrated by multislice CT: comparison with conventional angiogram and intravascular ultrasound.	Heart	89	639	2003
Kuroda N, Komuro I, et al.	Impact of change in the price of percutaneous coronary intervention devices on medical expenses.	Circ J	67	576-578	2003
Takano H, Komuro I, et al.	The role of PPAR γ - dependent pathway in the development of cardiac hypertrophy.	Drugs of Today	39	347-357	2003
Zou Y, Komuro I, et al.	Leukemia Inhibitory Factor Enhances Survival of Cardiomyocytes and Induces Regeneration of Myocardium After Myocardial Infarction.	Circulation	108	748-853	2003

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表雑誌名	巻号	ページ	出版年
Hasegawa H, Komuro I, et al.	3-Hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors prevent the development of cardiac hypertrophy and heart failure in rats.	J Mol Cell Cardiol	35	953-960	2003
Minamino T, Komuro I.	The role of telomerase activation in the regulation of vascular smooth muscle cell proliferation.	Drugs News Perspect	16	211-216	2003
Funabashi N, Komuro I, et al.	Complications of pulmonary vein isolation by catheter ablation evaluated by ECG- gated multislice computed tomography.	Heart Vessels	18	220-233	2003
Minamino T, Komuro I, et	Ras induces vascular smooth muscle cell senescence and inflammation in Human atherosclerosis.	Circulation	108	2264-2269	2003
Cohen-Barak O, Komuro I, et al.	Sox6 regulation of cardiac myocyte development.	Nucleic Acids Res	31	5941-5948	2003
Funabashi N, Komuro I, et al.	Endoluminal perspective volume rendering of coronary arteries using electron-beam computed tomography.	Circ J	67	1064-1067	2003
Zou Y, Komuro I, et al.	Heat shock transcription factor 1 protects cardiomyocytes from ischemia/reperfusion injury.	Circulation	108	3024-3030	2003

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表雑誌名	巻号	ページ	出版年
Naito A, Komuro I, et al.	Early stage-specific inhibitions of cardiomyocyte differentiation and expression of Csx/Nkx-2.5 and GATA-4 by phosphatidylinositol 3-kinase inhibitor LY294002.	Exp Cell Res	291	56-69	2003
Sharov,A.A	Transcriptome analysis of mouse stem cells and early embryos.	PLoS Biology	1	410-419	2003
Imabayashi, H.	Redifferentiation of dedifferentiated chondrocytes and chondrogenesis of human bone marrow stromal cells via chondrosphere formation with expression profiling by large-scale cDNA analysis.	Exp Cell Res	288	35-50	2003
Gojo ,S	In vivo Cardiovasculogenesis by Direct Injection of Isolated Adult Mesenchymal Stem Cells.	Exp Cell Res	288	51-59	2003
Allan,E.H.	Differentiation potential of a mouse bone marrow stromal cell line.	J Cell Biochem	90・1	158-169	2003
Shindo,K	Osteogenic differentiation of the mesenchymal progenitor cells, Kusa is suppressed by notch signaling.	Exp Cell Res	290・2	370-80	2003
Matsushita, K.	Islet cell hyperplasia in transgenic mice overexpressing EAT/mcl-1, a bcl-2 related gene.	Mol Cell Endocr.	203	105-116	2003
Yoneda S	The effects of enamel matrix derivative (EMD) on osteoblastic cells in culture and bone regeneration in a rat skull defect.	J Periodontal Res	38・3	333-42	2003