

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

骨髄成体幹細胞を用いた 形質転換心筋細胞の開発に関する研究

平成16年度 総括研究報告書

主任研究者 福田 恵 一

平成17(2005)年4月

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

骨髄成体幹細胞を用いた
形質転換心筋細胞の開発に関する研究

平成16年度 総括研究報告書

主任研究者 福田 恵一

平成17（2005）年4月

目 次

I. 総括研究報告書	
骨髄成体幹細胞を用いた形質転換心筋細胞の開発に関する研究	1
福 田 恵 一	
II. 分担研究報告書	
1. 急性心筋梗塞モデルにおける骨髄由来幹細胞の 心筋再生への関与に関する研究	8
中 谷 武 嗣	
2. 心筋細胞移植法の検討	12
安 藤 潔	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	15
IV. 研究成果の刊行物・別刷	21

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）
総括研究報告書

骨髄成体幹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	福田 恵一	慶應義塾大学医学部呼吸循環器内科 講師
研究協力者	久下康代、川口治子 富田雄一、藤田淳、 湯浅慎介、板橋裕史、	慶應義塾大学医学部呼吸循環器内科 慶應義塾大学医学部呼吸循環器内科

研究要旨

本年度の研究では骨髄移植モデルを用いた in vivo で心筋分化能を有する幹細胞の同定、肺高血圧時の肺血管リモデリングにおける骨髄幹細胞の関与に関する研究、心筋組織内の多能性幹細胞の多分化能、発生学的由来に関する研究、胚性幹細胞から心筋分化誘導因子の同定を行った。骨髄移植モデルマウスを用いた研究では心筋梗塞巣に骨髄から間葉系幹細胞が移動し、心筋細胞に分化すること、造血幹細胞は心筋梗塞巣では線維芽細胞に分化することを明らかにした。同様に肺高血圧症では肺血管のリモデリングの際に骨髄から幹細胞が動員され、血管構築に関与することを明らかにした。心筋組織内の多能性幹細胞は心筋細胞以外に神経細胞、神経膠細胞、平滑筋細胞に分化し、発生学的由来には神経堤由来であることを明らかにした。

【研究1】骨髄移植モデルを用いた in vivo で心筋分化能を有する幹細胞の同定：

A. 目的

骨髄細胞中の心筋細胞に分化可能な心筋細胞を明らかにするため、GFP 強発現マウスの造血幹細胞および間葉系幹細胞を分離して骨髄移植を行い、心筋梗塞の際に心筋細胞に分化可能な細胞を同定する。

B. 方法

GFP トランスジェニックマウスより全骨髄（造血幹細胞+間葉系幹細胞）あるいは単一造血幹細胞のみを選択し、致死量の放射線を照射した別のマウスに骨髄移植を行った。2ヶ月後に心筋梗塞を作成する。心筋梗塞作成2ヶ月後に共焦点レーザー顕微鏡を用いて GFP 陽性の心筋細胞を観察した。

C. 結果

造血幹細胞単独の移植群では GFP 陽性の心筋細胞は観察されなかった。造血幹細胞+間葉系幹細胞の移植群では GFP 陽性の心筋細胞が観察され、心筋分化能を有するのは間葉系幹細胞であることが推測された。骨髄幹細胞のうち、多能性を示すのは造血幹細胞であるのか、間葉系幹細胞であるのかという問題は近年の再生医学

のトピックの一つであった。本研究ではこれに答えを出したものである。

D. 考察

心筋梗塞巣を観察すると GFP 陽性の心筋細胞は間葉系幹細胞移植にのみ観察され、造血幹細胞移植群では心筋梗塞部位の線維芽細胞のみが GFP 陽性であった。

E. 結論

心筋細胞に分化可能な細胞は間葉系幹細胞であり、造血幹細胞には心筋分化能は認められなかった。

【研究2】肺高血圧時の肺血管リモデリングにおける骨髄幹細胞の関与に関する研究

A. 目的

肺高血圧は右心不全の主要な原因の一つであり、その発症には肺血管の肥厚、線維化が必須である。この肺血管の変化に骨髄幹細胞が関与しているか否かを明らかにする。

B. 方法

骨髄幹細胞の生体内多分化能を解析するため、GFP トランスジェニックマウスの骨髄移植を移植し、肺高血圧モデルラットの肺血管リモデリング時の骨髄幹細胞の

関与を解析した。

C. 結果

肺高血圧時の肺血管リモデリング時に骨髄由来の幹細胞は肺血管に移動し、肺血管周囲の平滑筋細胞、線維芽細胞に分化している様子が確認された。

D. 考察

これまで肺血管の肥厚は局所の平滑筋が増殖し、血管腔を狭小化すると考えられてきたが、本研究により肺血管肥厚の主因は骨髄幹細胞が局所に移動し、肺血管の平滑筋、線維芽細胞等の細胞に分化し、これが関与しているものであることが明らかとなった。

E. 結論

肺高血圧の主因である肺血管の肥厚線維化には骨髄幹細胞が深く関与している。

F. 健康危険情報

本年度はヒトの細胞を用いた実験やヒトに対する移植実験は行っておらず、健康上問題となる点は存在しない。

【研究3】 心筋組織内幹細胞の多分化能、発生学的由来の解析

A. 目的

心筋組織内に存在する多能性幹細胞を同定し、多分化能、発生学的由来を解析する。

B. 方法

SP 細胞および Neurosphere 法を用いて心筋内の間葉系幹細胞を単離し、その多分化能、表面抗原、活動電位、発生学的由来を解析した。

C. 結果

心筋内の組織幹細胞は心筋、平滑筋、神経、グリア細胞等に分化した。心筋細胞の発現する転写因子 (Nkx2.5, GATA4, MEF2C, HAND)、収縮蛋白 (ミオシン、アクチン等)、イオンチャネル等を発現し、自己収縮能を有していた。心筋内の組織幹細胞は神経堤由来の遺伝子発現 (Nestin, Musashi-1, p75) を呈していた。

D. 考察

心筋組織幹細胞は Nestin, Musashi-1, p75 を発現していることから神経堤由来であることが推測され、なおかつ多分化能を有することは神経堤幹細胞由来であることを示すものであると考えられた。

E. 結論

心筋組織幹細胞は多分化能を有し、発生学的には神経堤由来であった。

F. 健康危険情報

本年度はヒトの細胞を用いた実験やヒトに対する移植実験は行っておらず、健康上問題となる点は存在しない。

【研究4】 胚性幹細胞から心筋分化誘導因子の同定

A. 目的

骨髄間葉系幹細胞、胚性幹細胞から心筋細胞を特異的に分化誘導する因子の単離を試みた。

B. 方法

分化誘導因子の単離とその心筋分化能の増強効果を解析した。早期胚における発現部位、発現時期を明らかにするため、whole mount in situ hybridization とその組織切片の作製を行った。この因子で刺激をした際の細胞が cell autonomous に心筋細胞に分化するのか、non autonomous に分化するのかを明らかにするため、GFP で標識した胚性幹細胞をこの因子で刺激したものと標識していない非刺激胚性幹細胞を混在させ、心筋分化誘導を試みた。

C. 結果

Noggin は胚性幹細胞に対し、強い心筋分化能を有した。Noggin は cardiac crescent 形成時期に同部位の内胚葉側および近傍の中胚葉より分泌されており、late crescent stage では出ているが、linear heart tube 期には発現していないことが明らかとなった。Noggin の胚性幹細胞への作用は cell autonomous に働き、GFP で標識した細胞だけが心筋細胞に分化することが確認された。

D. 考察

Noggin は胚性幹細胞を神経細胞に分化誘導する因子として知られているが、あたりに心筋分化誘導因子であることも明らかとなった。

E. 結論

胚性幹細胞を心筋細胞に分化誘導する因子として Noggin を同定した

F. 健康危険情報

本年度はヒトの細胞を用いた実験やヒトに対する移植実験は行っておらず、健康上問題となる点は存在しない

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Shinsuke Yuasa, Uichi Koshimizu, Tomofumi Tanaka, Keiichi Sugimura, Yuji Itabashi, Masayoshi Kinoshita, Fumiyuki Hattori, Shin-ichi Fukami, Takuya Shimazaki, Hideyuki Okano, Satoshi Ogawa, Keiichi Fukuda. Transient and strong inhibition of BMP signals by Noggin induces cardiomyocyte differentiation in murine ES cells. *Nature Biotechnology* (in press), 2005
2. Shinsuke Yuasa, Keiichi Fukuda, Yuichi Tomita, Jun Fujita, Masaki Ieda, Satoko Tahara, Yuji Itabashi, Takashi Yagi, Haruko Kawaguchi, Yasuyo Hisaka, Satoshi Ogawa. Cardiomyocytes undergo cell division following myocardial infarction is a spatially and temporally restricted event in rats. *Mol Cell Biochem*. **259:177-181, 2004**
3. Yasuyo Hisaka, Keiichi Fukuda, Masaki Ieda, Kensuke Kimura, Isao Shibuya, Haruko Kawaguchi, Toshikazu Nakamura, Hidezo Mori, Koji Kimura, Naoto Fukuyama, Kenichiro Kosai, Satoshi Ogawa. Powerful and controllable angiogenesis by using gene-modified cells expressing human hepatocyte growth factor and thymidine kinase. *J Am Coll Cardiol* **43: 1915-1922, 2004**
4. Naomichi Hattori, Haruko Kawaguchi, Kiyoshi Ando, Eriko Kuwabara, Jun Fujita, Mitsushige Murata, Makoto Suematsu, Hidezo Mori, Keiichi Fukuda. Purified cardiomyocytes from bone marrow mesenchymal stem cells produce stable intracardiac grafts in mice. *Cardiovasc Res* **65:334-344, 2005**.
5. Masaki Ieda, Keiichi Fukuda, Kensuke Kimura, Yasuyo Hisaka, Haruko Kawaguchi, Kouji Shimoda, Eiko Takeshita, Hideyuki Okano, Yukiko Kurihara, Hiroki Kurihara, Junji Ishida, Akiyoshi Fukamizu, Linda Salamone, Howard J. Federoff, Satoshi Ogawa. Endothelin-1 regulates cardiac sympathetic nerve innervation in the rodent heart by controlling nerve growth factor expression. *J Clin Invest* **113: 1-10, 2004**
6. Eiichi Takahashi, Keiichi Fukuda, Shunichiro Miyoshi, Mitsushige Murata, Takahiro Kato, Makoto Ita, Tsutomu Tanabe, Satoshi Ogawa. LIF activates cardiac L-type Ca^{2+} channels via phosphorylation of serine 1829 of rabbit Cav1.2. *Circ Res*. **94:1242-1248, 2004**.
7. Keiichi Fukuda. Regenerative medicine for cardiomyocyte. *Jap Med Ass J*. **47: 328-332, 2004**.
8. Keiichi Fukuda. Application of mesenchymal stem cells for the regeneration of cardiomyocyte and its use for cell transplantation therapy. *Human Cell*. **13: 83-94, 2003**
9. Kawada H, Fujita J, Matsuzaki Y, Tsuma M, Miyatake H, Murguruma Y, Itabashi Y, Ogawa S, Hotta T, Okano H, Ando K, Fukuda K. Non-hematopoietic mesenchymal stem cells can be mobilized and differentiate into cardiomyocytes after myocardial infarction. *Blood* **104:3581-3587, 2004**
10. Yuji Itabashi, Shunichiro Miyoshi, Kojiro Tanimoto, Shinsuke Yuasa, Jun Fujita, Haruko Kawaguchi, Tatsuya Shimizu, Teruo Okano, Keiichi Fukuda, Satoshi Ogawa. A novel method for manufacturing cardiac cell-sheets using fibrin-polymer-coated dishes and its application for electrophysiological studies by optical mapping. *Artifi organs* **29:95-103, 2005**
11. Tamamori-Adachi M, Hayashida K, Nobori K, Kawaguchi J, Omizu C, Kamura T, Fukuda K, Ogawa S, Nakayama K, Kitajima S: Skp2 promotes cell proliferation of rat neonatal cardiomyocytes induced by nuclear expression of cyclin D1 and cdk4: Evidence for impaired degradation by skp2-dependent pathway. *J Biol Chem* **279:50429-36, 2004**
12. Kentaro Hayashida, Jun Fujita, Yoshiko Miyake, Hiroshi Kawada, Shinsuke Yuasa, Masatoyo Yoshioka, Keisuke Matsumura, Yuji Itabashi, Kiyoshi Ando, Satoshi Ogawa, Keiichi Fukuda. Bone marrow derived cells contribute to pulmonary vascular remodeling in hypoxia-induced pulmonary hypertension. *CHEST* (in press), 2005
13. Fukuda K. Current status of myocardial regeneration and cell transplantation. *Future Cardiology* (in press), 2005
14. Fukuda K. Lessons from GFP positive bone marrow stem cell transplantation: What is the origin of regenerated cardiomyocytes? *Clin Sci*. 2005 (in press).
15. Yuji Itabashi, Shunichiro Miyoshi, Shinsuke Yuasa, Jun Fujita, Tatsuya Shimizu, Teruo Okano, Keiichi Fukuda, Satoshi Ogawa. Analysis of the electrophysiological properties and arrhythmias in directly-contacted skeletal

- and cardiac muscle cell sheets. *Cardiovasc Res* (in press) 2005
16. Fukuda K, Regeneration of cardiomyocytes from bone marrow stem cells and application to cell transplantation therapy. *Stem Cell Therapy for Autoimmune Disease*, pp39-49, 2004, edited by Richard K. Burt and Alberto Marmont. (Landes Bioscience, USA)
 17. Masaki Ieda, Keiichi Fukuda. Endothelin-1 regulates cardiac sympathetic innervation in the rodent heart by controlling nerve growth factor expression. "Molecular mechanism of heart disease" edited by Yoichi Mizukami (in press) 2005.
 1. 福田恵一。先端医療シリーズ 28 心臓病 心臓病の最新医療『再生医学による心臓病治療』5-9、2004年、先端医療技術研究所。永井良三他編集。
 18. 福田恵一。『心筋幹細胞』予防医学事典。2005年。朝倉書店。松島綱治、酒井敏行、石川昌、稲寺秀邦編集。
 19. 林田健太郎、福田恵一。『循環器疾患における再生療法：心筋細胞の再生』*The Circulation Frontier* 2004年8巻1号18-25。
 20. 福田恵一。『骨髄幹細胞の再生心筋細胞の特徴と機能解析』*Jap J Electrocardiology* 2004年24巻 supplement3号、S3-3-14。
 21. 福田恵一。『心筋再生と細胞移植の現状』*循環器科*。2004年56巻4号、385-392。
 22. 福田恵一。『Melvin L. Marcus Young Investigator Awards in Cardiovascular Disease』*AHA ハイライト* 2004：2005年2月。
 23. 福田恵一。『G-CSF による骨髄筋前駆細胞の動員』*Medical Science Digest*。
 24. 藤田淳、福田恵一。『骨髄細胞からの心筋再生』*分子心血管病*。5巻3号、19-24、2004年。
 25. 真鍋知宏、福田恵一。『心筋細胞の新生、再生療法の現状と展望』*日本外科学会雑誌*。105巻8号、454-458、2004年。
 26. 川口治子、福田恵一。『心筋の細胞治療』*Cardiovascular Med-Surg* 6巻3号、51-58、2004年。
 27. 吉岡正豊、福田恵一。『心筋細胞の再生と応用』*G. I. Research* 12巻4号、67-74、2004年。
 28. 下地顕一郎、福田恵一。『心筋の再生』*分子リウマチ*。1巻4号、61-65、2004年。
 29. 林田健太郎、福田恵一。『幹細胞と心筋再生療法』*小児外科*。36巻11号、1345-1350、2004年。
 30. 板橋裕史、福田恵一。『間葉系幹細胞を用いた心筋再生』*血液フロンティア*。15巻2号、2005年。
 31. 田原聡子、福田恵一。『心筋培養とその応用』*心臓血管麻酔の進歩*。2005年4月。
 32. 福田恵一。『G-CSF による骨髄筋前駆細胞の動員』*Medical Science Digest*。31巻2号38-40、2005年。
 33. 福田恵一。『心筋再生と細胞移植の現状』*循環器科* 56巻385-392。2005年。
 34. 福田恵一。『Melvin Marcus Young Investigator Award in Cardiovascular Science』*AHA ハイライト* 2004：226-231。2005年3月。
 2. 学会発表
 1. Keiichi Fukuda. 『Lesson from GFP-transgenic mouse: What is the origin for regenerated cardiomyocytes.』 International Symposium for Heart Research in Europe. 6. 7. 2004. Dresden, Germany. (招聘講演)
 2. Keiichi Fukuda. 『Lesson from GFP-transgenic mouse: What is the origin for regenerated cardiomyocytes: What is the origin for regenerated cardiomyocytes.』 The 18th World Congress for International Society for Heart Research. 8.8.2004 Brisbane, Australia. (招聘講演)
 3. Keiichi Fukuda. 『Lesson from GFP-transgenic mouse: What is the origin for regenerated cardiomyocytes: What is the origin for regenerated cardiomyocytes.』 The 9th International Congress of Cardiothoracic and Vascular Anesthesia. 9.9.2004. Hotel Nikko Tokyo. Japan (招聘講演)
 4. Keiichi Fukuda. Non-hematopoietic mesenchymal stem cells can be mobilized and differentiate into cardiomyocytes after myocardial infarction. The 4th International Mesenchymal Stem Cell Meeting. New Orleans, USA. 2004. 10. 15 (招聘講演)
 5. Keiichi Fukuda. Non-hematopoietic mesenchymal stem cells can be mobilized and differentiate into cardiomyocytes after myocardial infarction. Myocardial Ischemia Symposium. "Cardiac Regeneration" Korea University, Seoul, Korea. 2004. 10. 29 (招聘講演)

6. Keiichi Fukuda. Non-hematopoietic mesenchymal stem cells can be mobilized and differentiate into cardiomyocytes after myocardial infarction. Forfront in nephrology Symposium. Karuizawa, Nagano. 2005. 1. 22 (招聘講演)
7. Kensuke Kimura, Keiichi Fukuda, Masaki Ieda, Haruko Kawaguchi, Kazuto Yamazaki, Satoshi Ogawa. Chamber specific augmentation of endothelin-1 by pulmonary hypertension induces overexpression of NGF and right ventricular hyperinnervation in vivo **American Heart Association. 76th Scientific Meeting.** 2004.11.7-10, New Orleans, LA, USA
8. Jun Fujita, Hiroshi Kawada, Kentaro Kinjo, Yumi Matsuzaki, Yuji Itabashi, Masatoyo Yoshioka, Shinsuke Yuasa, Kentaro Hayashida, Tomohiro Manabe, Keisuke Matsumura, Haruko Kawaguchi, Jin Endo, Masaki Ieda, Yasuyo Hisaka, Takashi Yagi, Hideaki Kanazawa, Mitsugu Yata, Kenichiro Shimoji, Mitsuyo Tsuma, Hiroko Miyatake, Yukari Muguruma, Hideyuki Okano, Tomomitsu Hotta, Kiyoshi Ando, Keiichi Fukuda. The origin of bone marrow-derived cardiomyocytes is nonhematopoietic: Possible contribution of mesenchymal stem cells. **American Heart Association. 76th Scientific Meeting.** 2004.11.7-10, New Orleans, LA, USA
9. Yuji Itabashi, Shunichiro Miyoshi, Haruko Kawaguchi, Yasuyo Hisaka, Jun Fujita, Shinsuke Yuasa, Masatoyo Yoshioka, Satoru Miyatake, Takashi Yagi, Kentaro Hayashida, Keisuke Matsumura, Yuko Togane, Hideaki Kanki, Masaki Ieda, Mitsushige Murata, Tomohiro Manabe, Akira Furuta, Kojiro Tanimoto, Keiichi Fukuda. A novel and simple method for manufacturing a myocardial cell sheet using polymerized fibrin-coated dishes. **American Heart Association. 76th Scientific Meeting.** 2004.11.7-10, New Orleans, LA, USA
10. Kentaro Hayashida, Jun Fujita, Yoshiko Miyake, Hiroshi Kawada, Shinsuke Yuasa, Masatoyo Yoshioka, Keisuke Matsumura, Yuji Itabashi, Kiyoshi Ando, Satoshi Ogawa, Keiichi Fukuda. Bone marrow-derived cell contribute to pulmonary vascular remodeling in hypoxia-induced pulmonary hypertension. **American Heart Association. 76th Scientific Meeting.** 2004.11.7-10, New Orleans, LA, USA
11. Masaki Ieda, Yasuyo Hisaka, Keiichi Fukuda, Satoshi Ogawa. Endothelin-1 regulates cardiac sympathetic innervation in the rodent heart by controlling nerve growth factor expression 第21回国際心臓研究学会(I SHR)日本部会総会 2004年11月23日 - 25日 甲府富士屋ホテル
12. Yuji Itabashi, Shunichiro Miyoshi, Tatsuya Shimizu, Keiichi Fukuda, Satoshi Ogawa. A New Method for Manufacturing Myocardial Cell Sheet Using Fibrin-Coated Dishes 第21回国際心臓研究学会(I SHR)日本部会総会 2004年11月23日 - 25日 甲府富士屋ホテル
13. 吉岡正豊, 潮見隆之, 岡田保典, 開祐司, 湯浅慎介, 松村圭祐, 遠藤仁, 鬼塚岳志, 福田恵一, 小川聡。「血管新生抑制因子 chondromodulin-1 の心臓における発現」第45回日本脈管学会 2004年10月28日 ロイトン札幌
14. 八木崇, 福田恵一, 藤田淳, 下地頭一郎, 遠藤仁, 松村圭祐, 林田健太郎, 吉岡正豊, 湯浅慎介, 金沢英明, 矢田税, 板橋裕史, 真鍋知宏, 家田真樹, 久下康代, 川口治子。「イヌ心筋梗塞モデルにおいて, G-CSF 投与は梗塞部血管再生, 細胞密度上昇を促進する」第45回日本脈管学会 2004年10月28日 ロイトン札幌
15. Shinsuke Yuasa, Keiichi Fukuda, Kenichiro Shimoji, Jin Endo, Keisuke Matsumura, Masatoyo Yoshioka, Takeshi Onitsuka, Mitsugu Yata, Hideaki Kanazawa, Hirota Yada, Takashi Yagi, Yuji Itabashi, Tomohiro Manabe, Jun Fujita, Mitsushige Murata, Masaki Ieda, Hideaki Kanki, Satoshi Miyatake, Fumiyuki Hattori, Satoshi Ogawa. A novel BTB/POZ protein, RhoBTB3, negatively regulates angiotensin \square induced-cardiac hypertrophy. 第69回日本循環器学会日本学術集会 2005年3月19-21日 パシフィコ横浜。
16. Yuichi Tomita, Keiichi Fukuda, Jun Fujita, Tomohiro Manabe, Haruko Kawaguchi, Masaki Ieda, Takashi Yagi, Kentaro Hayashida, Satoru Miyatake, Yasuyo Hisaka. Molecular characterization and pluripotency of the cardiac side population cells. 第69回日本循環器学会日本学術集会 2005年3月19-21日 パシフィコ横浜。
17. Jun Fujita, Keiichi Fukuda, Hiroshi Kawada, Kiyoshi Ando, Mitsuyo Tsuma, Masaki Ieda, Yuji Itabashi,

- Takashi Yagi, Tomohiro Manabe, Hideaki Kanazawa, Mitsugu Yata, Hirota Yada, Shinsuke Yuasa, Masayoshi Kinoshita, Kentaro Hayashida, Keisuke Matsumura, Masatoyo Yoshioka, Jin Endo, Yuko Togane, Satoshi Ogawa. Non-hematopoietic mesenchymal stem cells can be mobilized and differentiate into cardiomyocytes after myocardial infarction. 第 69 回日本循環器学会日本学術集会 2005 年 3 月 19-21 日 パシフィコ横浜。
18. Satoru Miyatake, Haruko Kawaguchi, Kikuyo Watanabe, Yoshihiro Ohmiya, Shingo Hori, Hideaki Kanki, Masaki Ieda, Mitsushige Murata, Shinsuke Yuasa, Gideaki Kanazawa, Hirota Yada, Mitsugu Yata, Masatoyo Yoshioka, Keisuke Matsumura, Keiichi Fukuda. Distinct regulation of two types of membrane-associated prostaglandin E synthase in rat cardiomyocytes. 第 69 回日本循環器学会日本学術集会 2005 年 3 月 19-21 日 パシフィコ横浜。
 19. Yuko Togane, Jun Fujita, Kazuo Terashima, Masaki Ieda, Yuji Itabashi, Takashi Yagi, Haruko Kawaguchi, Yasuyo Hisaka, Yasumichi Yamagishi, Shunsuke Kiuchi, Miwako Toyota, Junichi Yamazaki, Keiichi Fukuda. Omentummilky spot cells have potential to differentiate into cardiomyocytes. 第 69 回日本循環器学会日本学術集会 2005 年 3 月 19-21 日 パシフィコ横浜。
 20. Yuichi Tomita, Keiichi Fukuda, Jun Fujita, Tomohiro Manabe, Yuko Togane, Haruko Kawaguchi, Masaki Ieda, Takashi Yagi, Yasuyo Hisaka, Hideaki Kanazawa, Hirota Yada, Kentaro Hayashida. Cardiac side population-derived cardiosphere from rats migrated and differentiated into neural crest-derived cells in chicken embryo. 第 69 回日本循環器学会日本学術集会 2005 年 3 月 19-21 日 パシフィコ横浜。
 21. Kentaro Hayashida, Jun Fujita, Yoshiko Miyake, Hiroshi Kawada, Shinsuke Yuasa, Masatoyo Yoshioka, Keisuke Matsumura, Yuji Itabashi, Jin Endo, Masayoshi Kinoshita, Kiyoshi Ando, Satoshi Ogawa, Keiichi Fukuda. Bone marrow-derived cells contribute to pulmonary vascular remodeling in hypoxia-induced pulmonary hypertension. 第 69 回日本循環器学会日本学術集会 2005 年 3 月 19-21 日 パシフィコ横浜。
 22. Yoko Hagiwara, Shunichiro Miyoshi, Keiichi Fukuda, Mitsushige Murata, Eiichi Takahashi, Kouji Shimoda, Nobuhiro Nishiyama, Yukinori Ikegami, Toshio Hirano, Hideo Mitamura, Satoshi Ogawa. SHP2-mediated signaling cascade through Gp130 is essential for LIF-andIL6-dependent I_{CaL} increase in mouse. 第 69 回日本循環器学会日本学術集会 2005 年 3 月 19-21 日 パシフィコ横浜。
 23. 第 7 回日本組織工学会 2004 年 7 月 2 日 福田恵一。『再生臓器への交感神経支配形成のためのステップ：心臓における交感神経支配の形成機序の解明』東京砂防会館
 24. 第 8 回日本心不全学会 2004 年 10 月 1 日 福田恵一。岐阜市長良川国際会議場。『Non-hematopoietic mesenchymal stem cells could be mobilized and differentiate into cardiomyocyte after myocardial infarction』
 25. 第 78 回日本薬理学会年会シンポジウム Recent Advance in and perspective on tissue engineering. 『Non-hematopoietic mesenchymal stem cells could be mobilized and differentiate into cardiomyocyte after myocardial infarction』2005 年 3 月 22 日パシフィコ横浜。
 26. 第 69 回日本循環器学会 Recent Advance in and perspective on tissue engineering. 『Non-hematopoietic mesenchymal stem cells could be mobilized and differentiate into cardiomyocyte after myocardial infarction』2005 年 3 月 22 日パシフィコ横浜。
- H. 研究成果による特許権等の知的財産権の取得状況
1. 「虚血性疾患治療剤」国内 出願中 (特願 2003-078749; 平成 15 年 3 月 20 日)
 2. 「細胞シートを作製するための支持体をコーティングするための組成物、細胞シート作製用支持体及び細胞シートの製造方法」国内 出願中 (特願 2003-328340; 平成 15 年 9 月 19 日)
 3. 「幹細胞から心筋細胞を分化誘導する方法」国内 出願中 (特願 2003-032116; 平成 15 年 10 月 3 日)
 4. 「多能性幹細胞の増殖方法」国内 出願中 (特願 2004-1043428) 平成 16 年 3 月 23 日
 5. 「心筋細胞濃縮方法」国内出願中 平成 16 年 9 月

日

6. G-CSF を含む線維芽細胞動員剤および創傷治療剤
(PCT/JP2004/016290) 平成16年10月27日

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）
分担研究報告書

急性心筋梗塞モデルにおける骨髄由来幹細胞の心筋再生への関与に関する研究

分担研究者 中谷 武嗣 国立循環器病センター臓器移植部 部長

研究要旨

顆粒球コロニー刺激因子 (G-CSF) 投与は、骨髄細胞が梗塞心へ遊走し心筋細胞へ分化することを促進するが、その程度は不明である。そこで、心筋梗塞後の心筋細胞再生において骨髄細胞と非骨髄細胞の貢献度を検討した。C57BL/6 ラットに対して全身放射線照射を行ない、GFP ラットの骨髄細胞を尾静脈から移植した。4週間後に脾臓を摘出した。2週後に冠動脈の左前下行枝を結紮した。結紮3日前から結紮5日後まで、ヒト G-CSF を投与した。梗塞作成4週間後に犠牲死させ、摘出した心臓を組織学的に検討した。骨髄由来 (BM) と非骨髄由来 (n-BM) から分化した心筋細胞の比率をキメラ率で測定すると、54.6%であった。梗塞境界部において、TnI 陽性細胞、nestin 陽性細胞およびKi67 陽性細胞における骨髄由来 (BM) と非骨髄由来 (n-BM) の比率は各々、6.7%対 93.3%、2.4%対 97.6%、3.9%対 96.1%と有意に異なっていた。従って、骨髄は心筋梗塞モデル心臓において、再生された心筋細胞の供給源の一つではあるが、骨髄由来の細胞の貢献度は、非骨髄由来細胞に比べ非常に小さいものであった。

研究

A. 研究目的

顆粒球コロニー刺激因子 (G-CSF) 投与は、骨髄細胞が梗塞心へ遊走し心筋細胞へ分化することを促進することが確認されている。しかし、その程度については不明である。そこで、心筋梗塞後の心筋細胞再生において骨髄由来幹細胞の心筋再生への関与を明らかにするため、ラット急性心筋梗塞モデルにおいて心筋細胞再生での骨髄細胞と非骨髄細胞の貢献度を検討した。

B. 研究方法

C57BL/6 ラットに対して 900cGy 全身放射線照射を行ない、GFP ラットの骨髄細胞 (GFP-BMC: 1×10^6) を尾静脈から移植した。4週間後に脾臓を摘出した。2週後に冠動脈の左前下行枝を結紮した。結紮3日前から結紮5日後まで、ヒト G-CSF (200ug/kg/day, ip, 8日

間) を投与した。梗塞作成4週間後に犠牲死させ、摘出した心臓を組織学的に検討した。骨髄由来 (BM) と非骨髄由来 (n-BM) から分化した心筋細胞の比率は、キメラ率で測定した。

C. 研究結果

キメラ率は 54.6%であった。梗塞境界部では、全細胞数は $1000.3/\text{mm}^2$ で、骨髄由来の GFP-BMC は $103.3/\text{mm}^2$ であった。キメラ率を換算すると骨髄由来の TnI 陽性細胞は $23.9/\text{mm}^2$ 、nestin 陽性細胞は $12.9/\text{mm}^2$ 、Ki67 陽性細胞は $18.3/\text{mm}^2$ であった。従って、TnI 陽性細胞、nestin 陽性細胞および Ki67 陽性細胞における骨髄由来 (BM) と非骨髄由来 (n-BM) の比率は各々、6.7%対 93.3%、2.4%対 97.6%、3.9%対 96.1%と有意に異なっていた。

D. 考察

我々は、障害心において骨髄細胞が障害部位に遊走し心筋細胞へ分化することを確認してきた。最近、移植心臓においてレシピエント細胞が新たな心筋再生に関与していることが報告されている。また、G-CSF が心臓の障害部位への幹細胞の遊走を促進することも報告されている。しかし、障害心における心筋再生においてどの程度骨髄細胞が貢献しているかは明らかでなかった。今回の検討では、心筋梗塞境界部において骨髄細胞由来の心筋は6%であり、残りは非骨髄由来の細胞であり、残余心筋由来のものと考えられた。

E. 結論

骨髄は心筋梗塞モデル心臓において、再生された心筋細胞の供給源の一つであった。しかし、骨髄由来の細胞の貢献度は、非骨髄由来細胞に比べ非常に小さなものであった。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. 中谷武嗣：補助循環と心臓移植。CURRENT THERAPY 22:175-180, 2004
2. 中谷武嗣、花谷彰久：心臓移植療法のパラダイムシフト。治療 86:2147-2155, 2004
3. 知久正明、西上和宏、林 富貴雄、荻野 均、松田 均、湊谷謙司、佐々木啓明、中谷武嗣、田口明彦、宮田茂樹、亀井政孝、田中良一、盛 英三、宮武邦夫、友池仁暢：バージャー病の難治性潰瘍に対する骨髄細胞移植の治療効果。脈管学 44:191-197, 2004
4. 中谷武嗣、富田伸司：骨髄幹細胞の心筋細胞への分化。生体の科学 55:334-337, 2004
5. Fujii H, Tomita S, Nakatani T, Fukuhara S,

Hanatani A, Ohtsu Y, Ishida M, Yutani C, Miyatake K, Kitamura S. A novel application of myocardial contrast echocardiography to evaluate angiogenesis by autologous bone marrow cell transplantation in chronic ischemic pig model. *J Am Coll Cardiol* 43:1299-1305, 2004

6. Ishida M, Tomita S, Nakatani T, Fukuhara S, Hamamoto M, Nagaya N, Ohtsu Y, Suga M, Yutani C, Yagihara T, Yamada K and Kitamura S. Bone marrow mononuclear cell transplantation had beneficial effects on doxorubicin-induced cardiomyopathy. *J Heart Lung Transplant* 23:436-445, 2004

7. Hisashi Y, Tomita S, Nakatani T, Fukuhara S, Yutani C, Kitamura S. Granulocyte-colony stimulating factor enhanced the recruitment of bone marrow cells into the heart.: Time course evaluation of phenotypic differentiation in the doxorubicin-induced cardiomyopathic model. *Jpn J Thoracic Cardiovasc Surg.* 52:451-455, 2004.

8. Hamamoto Masaki, Tomita S, Nakatani T, Yutani C, Ymashiro S, Sueda T, Yagihara T, Kitamura S. Granulocyte-colony stimulating factor directly enhances proliferation of human troponin I-positive cells derived from idiopathic dilated cardiomyopathy through specific receptors. *J Heart Lung Transplant* 23:1430-1437, 2004

9. Fukuhara S, Tomita S, Nakatani T, Ohtsu Y, Ishida M, Yutani C, Kitamura S. G-CSF promote bone marrow cells to migrate into infarcted mice heart, and differentiate into cardiomyocytes. *Cell Transplantation* 13:741-748, 2004

10. Fukuhara S, Tomita S, Nakatani T, Yutani C, Kitamura S. Endogenous bone- marrow-derived stem cells contribute only a small proportion of

regenerated myocardium in the acute infarction model. *J Heart Lung Transplant*24:67-72,2005

2. 学会発表

1. 中谷武嗣、花谷彰久、庭屋和夫、小林順二郎、坂東 興、田鎖 治、中嶋博之、塚野真也、光武耕太郎、宮田茂樹、堀 由美子、本杉ふじえ、八木原俊克、宮武邦夫、北村惣一郎：心臓移植登録例における補助人工心臓による長期補助。第 22 回日本心臓移植研究会学術集会、福岡、2004. 2. 21
2. 中谷武嗣、富田伸司、福原慎也、石田理子、濱本正樹、藤井裕子、菅 理晴、由谷親夫、八木原俊克、北村惣一郎：重症心不全に対する幹細胞による心筋再生医療法の開発。第 3 回日本再生医療学会総会、シンポジウム、千葉、2004. 3. 23-25
3. 富田伸司、中谷武嗣、福原慎也、石田理子、濱本正樹、藤井裕子、久 容輔、大津義徳、菅 理晴、由谷親夫、八木原俊克、北村惣一郎：重症心不全に対する、外因性幹細胞による心筋再生療法の臨床応用へ向けて。サージカルフォーラム、第 104 回日本外科学会、大阪、2004. 4. 7-9.
4. 藤里俊哉、西岡 宏、吉田兼一、湊谷謙司、庭屋和夫、菅 理晴、中谷武嗣、北村惣一郎：生体組織の脱細胞化処理による再生型移植組織の開発。第 11 回日本臓器保存生物医学会総会、広島、2004. 5. 21-22
5. 花谷彰久、中谷武嗣、庭屋和夫、中嶋博之、田鎖 治、坂東 興、小林順二郎、駒村和雄、北風政史、宮武邦夫、北村惣一郎：内科医からみた LVAS を用いた重症心不全治療。日本定常流ポンプ研究会「人工心臓フォーラム」、フォーラム、東京、2004. 8. 27
6. 庭屋和夫、浦 敏郎、大田直孝、光武耕太

郎、宮田茂樹、八木原俊克、中谷武嗣、北村惣一郎：心臓弁組織提供における提供組織の研究転用の可能性について。シンポジウム、第 3 回日本組織移植学会・学術集会、横浜、2004. 8. 28

7. 酒井哲也、谷岡康喜、大河原弘達、松本逸平、藤野泰宏、鈴木康之、渡邊和誉、青木 大、田中秀治、増谷友紀、中谷武嗣、北村惣一郎、黒田嘉和：西日本における膝島移植のコーディネートシステムの問題点- 西日本組織移植ネットワークへの参加-。第 3 回日本組織移植学会・学術集会、横浜、2004. 8. 28

8. 渡邊和誉、青木 大、大河原弘達、増谷友紀、酒井哲也、中谷武嗣、北村惣一郎：西日本における組織移植ネットワークの設立について。第 3 回日本組織移植学会・学術集会、横浜、2004. 8. 28

9. 中谷武嗣、花谷彰久、庭屋和夫、小林順二郎、坂東 興、田鎖 治、中嶋博之、塚野真也、駒村和雄、八木原俊克、宮武邦夫、北村惣一郎：左心補助人工心臓を用いた重症心不全治療 -Bridge to Recovery-。シンポジウム、第 52 回日本心臓病学会学術集会、京都、2004. 9. 13-15

10. 岸田晶夫、藤里俊哉、吉田謙一、西岡 宏、沼田 智、湊谷謙司、庭屋和夫、菅 理晴、中谷武嗣、北村惣一郎：血行再建における人工臓器と再生医療。シンポジウム、第 42 回日本人工臓器学会大会、東京、2004. 10. 5-7

11. 湊谷謙司、藤里俊哉、山崎祥子、吉田謙一、西岡 宏、殷 猛、庭屋和夫、荻野 均、岸田晶夫、中谷武嗣、北村惣一郎：新しい脱細胞化処理を施したブタの下行大動脈同種移植実験の検討。第 42 回日本人工臓器学会大会、東京、2004. 10. 5-7

12. 藤里俊哉、吉田謙一、西岡 宏、沼田 智、

- 庭屋和夫、菅 理晴、岸田晶夫、中谷武嗣、北村惣一郎：ハイブリッド人工臓器の現況と未来。パネルディスカッション、第 42 回日本人工臓器学会大会、東京、2004. 10. 5-7
13. 湊谷謙司、藤里俊哉、山崎祥子、殷 猛、吉田謙一、西岡 宏、庭屋和夫、荻野 均、岸田晶夫、北村惣一郎：新しい脱細胞化処理を施したブタの下行大動脈同種移植実験の検討。第 43 回日本組織移植学会・学術集会 横浜、2004. 8. 28
14. 藤里俊哉、吉田謙一、西岡 宏、湊谷謙司、庭屋和夫、菅 理晴、岸田晶夫、中谷武嗣、北村惣一郎：再生型組織移植を目指した超高压印加脱細胞化ホモグラフト：パワーグラフト。第 43 回日本組織移植学会・学術集会横浜、2004. 8. 28
15. Bando K, Nakatani T, Hanatani A, Niwaya K, Kobayashi J, Tsukano S, Tagusari O, Nakajima H, Yagihara T, Miyatake K, Tomoike H and Kitamura S. Heart transplantation at National Cardiovascular Center: hopes and agonies. Plenary Session, **The 68th Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society**, Tokyo, 2004.3.27-29
16. Hanatani A, Kim C, Hashimura K, Nakatani S, Komamura K, Yasumura Y, Yamagishi M, Niwaya K, Kobayashi J, Bando K, Tagusari O, Kitakaze M, Kitamura S and Miyatake K.: Coronary flow reserve by transthoracic doppler ultrasound can detect noninvasively acute cardiac allograft rejection in heart transplant recipients. **The 68th Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society**, Tokyo, 2004.3.27-29
17. 湊谷謙司、藤里俊哉、吉田謙一、西岡 宏、庭屋和夫、荻野 均、岸田晶夫、中谷武嗣、北村惣一郎：脱細胞化処理したミニブタの下行大動脈同種移植実験の検討。第 57 回日本胸部外科学会定期学術集会、2004. 10. 20-22、札幌
18. 中谷武嗣、庭屋和夫、小林順二郎、坂東興、田鎖 治、中嶋博之、花谷彰久、塚野真也、宮武邦夫、八木原俊克、北村惣一郎：心臓移植待機および移植後患者管理の現状と今後の課題。シンポジウム、第 57 回日本胸部外科学会定期学術集会、2004. 10. 20-22、札幌
19. 菅 理晴、藤里俊哉、中谷武嗣、岸田晶夫、船本誠一、西岡 宏、角田卓哉、北村惣一郎：異種気管移植を可能とするための気管 Scaffold の開発 - 超高压処理による脱細胞化-。ポスター、第 57 回日本胸部外科学会定期学術集会、2004. 10. 20-22、札幌
20. 野木千賀子、岡 宏、澤田和也、藤里俊哉、岸田晶夫、森反俊幸、中谷武嗣、北村惣一郎：超高压処理による再生型組織移植を目的とした生体組織の脱細胞化。ポスター、第 18 回日本エム・イー学会、松山、2004. 11. 5
21. 館 義人、吉田謙一、殷 猛、山崎祥子、藤里俊哉、湊谷謙司、庭屋和夫、岸田晶夫、森反俊幸、中谷武嗣、北村惣一郎：脱細胞化生体組織による再生型同種組織移植。ポスター、第 18 回日本エム・イー学会、松山、2004. 11. 5
- 講演
1. Nakatani T: Clinical experience of mechanical support in Japan. **KSC/JCS Joint Symposium**, Jeju, Korea, 2004.4.15-17
2. Nakatani T: Toyobo pulsatile VAD. **2004 International Center for Medical Technologies Symposium**, Washington, U.S.A., 2004.6.19
- H. 知的所有権の取得状況 なし

心筋細胞移植法の検討

分担研究者 安藤 潔 東海大学医学部・助教授

研究要旨

造血幹細胞が心筋細胞に分化する可能性は否定されたが、骨髄内移植法を用いて同じく骨髄に存在する間葉系幹細胞が末梢に動員され、心筋修復に関与する可能性が示唆された。

A. 研究目的

われわれはヒト造血幹細胞を免疫不全マウスの骨髄内に直接移植することにより、効率の良い生着を得ることを報告し、骨髄内移植の有用性を明らかにした（Blood, 101, 2905-2913, 2003）。一方、造血幹細胞以外の骨髄幹細胞が神経、心筋、骨格筋、肝、消化管上皮など様々な系譜 lineage の細胞に分化することがマウスのみならずヒトでも報告されており注目を集めている。昨年度は単一造血幹細胞移植を利用して、心筋になる細胞が非造血細胞であることをクローンレベルで明らかにした。本年度はこれが間葉系幹細胞であることを骨髄内移植法を用いて明らかにする。

B. 研究方法

GFP transgenic mice の骨髄細胞から Hoechst 33342 を用いて side population (SP) 細胞を sorting し、さらに c-kit 陽性・Sca-1 陽性・各種血液細胞分化マーカー陰性の細胞 (KSL-SP 細胞) を single cell sorting した。これら 1 個の細胞の移植で、致死量放射線照射後のマウスの骨髄造血を再構築することができる。さらに、マウス骨髄間葉系幹細胞からクローニングして得られた細胞株 (CMG 細胞) に、ミトコンドリア 2v プロモーターのコントロール下に GFP を発現するように遺伝子操作をした。以上より得られた細胞を、それぞれ致死量放射線照射後の同系のレシブントマウスに移植した。移植は、レシブントマウスの頸骨の骨髄内に全身麻酔下で直接注入した。

C. 研究結果

(1) 単一造血幹細胞あるいは全骨髄細胞を移植して造血再構築したマウスで心筋梗塞作成後 G-CSF 投与し、心筋梗塞部位の組織学的解析を行った。ドナー由来繊維芽細胞は両群に認められたが、ドナー由来再生心筋は全骨髄細胞を移植したマウスのみ認められた。いずれの細胞も G-CSF 非投与群に比較して G-CSF 投与群で有意に増加していた。

(2) 間葉系幹細胞は経静脈投与では有意の生着が認められないことが知られている。間葉系幹細胞株を骨髄内移植したところ、有意の生着を認め、移植細胞は骨、脂肪などに分化した。

(3) ミオシン軽鎖遺伝子プロモーター下流に GFP 遺伝子を挿入した融合遺伝子を間葉系幹細胞株に導入したトランスフェクタントは、5 アザシチジンで処理すると心筋細胞特異的に GFP を発現することを確認した。この細胞を骨髄内移植したマウスに心筋梗塞作成後 G-CSF 投与し、心筋梗塞部位の組織学的解析を行ったところ、GFP 陽性の心筋細胞を同定した。

D. 考察

以上の実験より、心筋梗塞作成後 G-CSF 投与されたマウスの再生心筋は骨髄の間葉系幹細胞に由来することを確認した。梗塞部位の繊維芽細胞は造血幹細胞由来であることを確認した。またこれらの細胞は G-CSF 投与によ

り末梢に動員され、心筋虚血部位に生着することが確認された。同時に間葉系幹細胞においても骨髓内移植が有用であることが示された。今後は成体多能性幹細胞においても骨髓内移植の有用性を検討する予定である。

E. 結論

造血幹細胞が心筋細胞に分化する可能性は否定されたが、同じく骨髓に存在する間葉系幹細胞が末梢に動員され、心筋修復に関与する可能性が示唆された。

F. 健康危害情報 なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Nakajima H, Oki M, Ando K. CD8+ T-cell polyclonal lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol.* 22, 560-562, 2004
2. Sakai D, Mochida J, Yamamoto Y, Toh E, Iwashina T, Miyazaki T, Inokuchi S, Ando K, Hotta T. Immortalization of human nucleus pulposus cells by a recombinant SV40 adenovirus vector: Establishment of a novel cell line to study the human nucleus pulposus cells. *Spine* 29, 1515-1523, 2004
3. Nakajima H, Oki M, Matsukura S, Nakamura M, Tokunaga M, Ando K. Intraocular metastasis of testicular cancer. *J Clin Oncol.* 22, 1753-1755, 2004
4. Yahata T, Ando K, Miyatake H, Uno T, Sato T, Ito M, Kato S and Hotta T. Competitive repopulation assay from two cord blood units of CD34+ cells in NOD/SCID/ gnull mice. *Mol Ther* 10(5):882-891, 2004
5. Tsuboi K, Kawada H, Toh E, Tsuma M, Nakamura Y, Sato T, Ando K, Mochida J, Kato S, Hotta T. The potential and origin of hematopoietic population in human skeletal muscle. *Leukemia Res*, 29,317-324, 2005
6. Kawada H, Fujita J, Kinjo K, Matsuzaki Y, Tsuma M, Miyatake H, Muguruma Y, Tsuboi K, Itabashi Y, Ikeda Y, Ogawa S, Okano H, Hotta T, Ando K, Fukuda K.

Non-hematopoietic mesenchymal stem cells can be mobilized and differentiate into cardiomyocytes after myocardial infarction. *Blood* 104,3581-3587, 2004

7. Hattan N, Kawaguchi H, Ando K, Kuwabara E, Fujita J, Murata M, Suematsu M, Mori H, Fukuda K. Purified cardiomyocytes from bone marrow mesenchymal stem cells produce stable intracardiac grafts in mice. *Cardiovascular Research*, 65, 334-344, 2005
8. Hayashida K, Fujita J, Miyake Y, Kawada H, Ando K, Yagi T, Ogawa S and Fukuda K. Bone marrow-derived cells contribute to pulmonary vascular remodeling in hypoxia-induced pulmonary hypertension. *Chest*, in press, 2005
9. 安藤 潔、堀田知光：第 部 幹細胞、第 4 章 増幅臍帯血幹細胞の移植 現状と課題、「Annual Review 血液 2003」、高久史磨、他編、中外医学社、東京、26-35, 2003 年。
10. 安藤 潔：成体多能性幹細胞 「再生医学」Molecular Medicine 臨時増刊号、中山書店、39, 490-493, 2003 年
11. 安藤 潔：骨髓由来多能性幹細胞 -幹細胞リザーブとしての骨髓- 「再生医療へと動き始めた 幹細胞研究の最先端」実験医学増刊、羊土社、21, 1069-1073, 2003 年
12. 安藤 潔：成体多能性幹細胞 *BioClinica*、北隆館、18, 108-112, 2003 年
13. 安藤 潔：成体骨髓多能性幹細胞 *Medical Science Digest*、ニューサイエンス社、29, 342-343, 2003 年 8 月
14. 安藤 潔：造血幹細胞体外増幅-問題点と展望 2003- 最新医学、58, 2084-2090, 2003 年
15. 八幡崇、安藤 潔：骨髓内移植法の開発 血液・腫瘍科、科学評論社、5, 490-493, 2004 年
16. 安藤 潔：血液疾患診療と EBM

- Editorial EBM ジャーナル、中山書店、
5, 490-493, 2004
17. 安藤 潔、堀田知光：造血幹細胞の体外増幅と臨床応用 Cancer Frontier、
医薬ジャーナル社、6, 2084-2090, 2004年
 18. 六車ゆかり、川田浩志、安藤 潔：骨髄間葉系由来多能性幹細胞 (MAPC) による心筋・血管再生治療の可能性 循環器科、科学評論社、56, 426-431, 2004年

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
- その他 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
Keiichi Fukuda	Regeneration of cardiomyocytes from bone marrow stem cells and application to cell transplantation therapy.	edited by Richard K. Burt and Alberto Marmont	Stem Cell Therapy for Autoimmune Disease	Landes Bioscience	USA	2004	39-48
Masaki Ieda, Keiichi Fukuda.	Endothelin-1 regulates cardiac sympathetic innervation in the rodent heart by controlling nerve growth factor expression.	edited by Yoichi Mizukami	Molecular mechanism of heart disease		Japan	2005	(In Press)
福田恵一	再生医学による心臓病治療	永井良三 他	先端医療シリーズ28 心臓病 心臓病の最新医療	先端医療技術研究所	東京	2004	5-9
福田恵一	心筋幹細胞	松島綱治、 酒井敏行、 石川昌、 稲寺秀邦	予防医学事典	朝倉書店	東京	2005	in press
中谷武嗣	第10章 レジストリー	松田 暉	新版 経皮的 心肺補助法— PCPSの最前 線—	秀潤社	東京	2004	141-148

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Shinsuke Yuasa, Uichi Koshimizu, Tomofumi Tanaka, Keijiro Sugimura, Yuji Itabashi, Masayoshi Kinoshita, Fumiyuki Hattori, Shin-ichi Fukami, Takuya Shimazaki, Hideyuki Okano, Satoshi Ogawa, Keiichi Fukuda.	Transient and strong inhibition of BMP signals by Noggin induces cardiomyocyte differentiation in murine ES cells	Nature Biotechnology	in press		2005
Shinsuke Yuasa, Keiichi Fukuda, et al.	Cardiomyocytes undergo cells division following myocardial infarction is a spatially and temporally restricted event in rats.	Mol Cell Biochem	259	177-181	2004
Yasuyo Hisaka, Keiichi Fukuda, et al.	Powerful and controllable angiogenesis by using gene-modified cells expressing human hepatocyte growth factor and thymidine kinase.	J Am Coll Cardiol	43(10)	1915-1922	2004
Masaki Ieda, Keiichi Fukuda, et al.	Endothelin-1 regulates cardiac sympathetic nerve innervation in the rodent heart by controlling nerve growth factor expression.	J Clin Invest	113(6)	876-884	2004
Eiichi Takahashi, Keiichi Fukuda, et al.	LIF activates cardiac L-type Ca ²⁺ channels via phosphorylation of serine 1829 in the rabbit Cav1.2 subunit.	Circ Res	94(9)	1242-1248	2004

Naoichiro Hattan, Haruko Kawaguchi, Keiichi Fukuda, et al.	Purified cardiomyocytes from bone marrow mesenchymal stem cells produce stable intracardiac grafts in mice.	Cardiovasc Res	65	334-344	2005
Keiichi Fukuda	Regenerative medicine for cardiomyocytes.	Jap Med Ass J.	47(7)	328-332	2004
Hiroshi Kawada, Jun Fujita, Keiichi Fukuda, et al.	Non-hematopoietic mesenchymal stem cells can be mobilized and differentiate into cardiomyocytes after myocardial infarction.	Blood	104(12)	3581-3587	2004
Mimi Tamamori-Adachi, Kentarō Hayashida, Keiichi Fukuda, et al.	Down-regulation of p27 ^{Kip1} promotes cell proliferation of rat neonatal cardiomyocytes induced by nuclear expression of cyclin D1 and CDK4.	J Biol Chem	279(48)	50429- 50436	2004
Yuji Itabashi, Keiichi Fukuda, et al.	A new method for manufacturing cardiac cell-sheets using fibrin-coated dishes and its electrophysiological studies by optical mapping.	Artifi organs	29(2)	95-103	2005
Kentarō Hayashida, Keiichi Fukuda, et al.	Bone marrow derived cells contribute to pulmonary vascular remodeling in hypoxia-induced pulmonary hypertension.	CHEST	in press		2005