

図37. 成人急性白血病SR群(フル移植)

移植CD34陽性細胞数とEFS

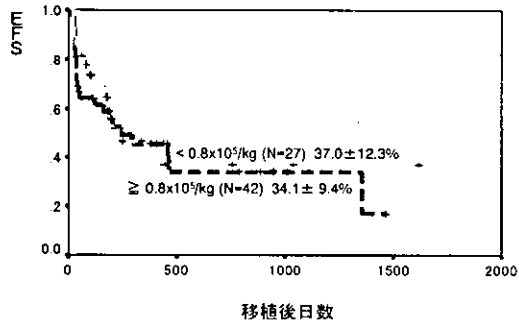


図38. 成人急性白血病HR群(フル移植)

移植細胞数とEFS

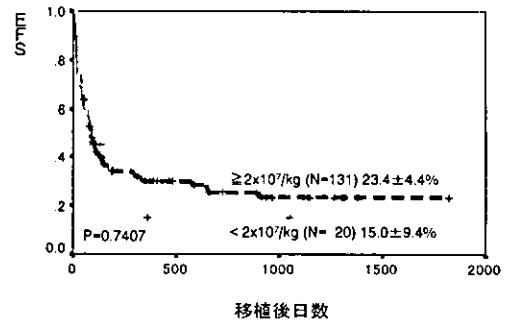


図39. 成人急性白血病HR群(フル移植)

移植CD34細胞数とEFS

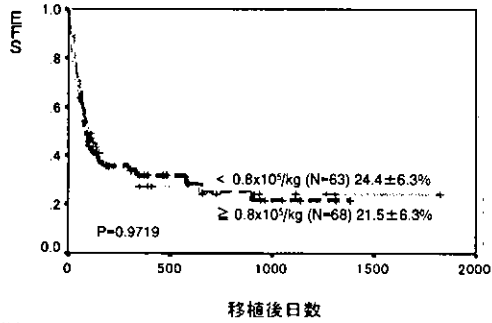
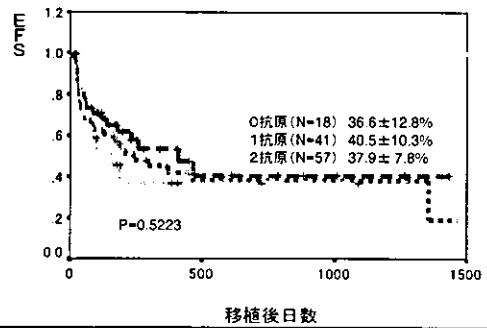


図40. 成人白血病SR群(初回移植)

GVH方向HLA不一致数とEFS



臍帯血移植の安全性に関する検討

分担研究者 小澤敬也 自治医科大学 医学部 内科学講座血液学部門 教授

研究要旨

臍帯血は臍帯血バンクから供給されるという特殊性から、将来的には「細胞医薬」として扱われる可能性がある。そこで、臍帯血移植の安全性に関するワーキンググループを設置し、臍帯血が医薬品として扱われるようになった場合を想定した上で、臍帯血の有効性ならびに安全性を担保するために必要な事項（医薬品としての臍帯血の定義）について検討した。また、日本さい帯血バンクネットワーク、欧米の臍帯血バンクおよび国際臍帯血バンク組織の実態、欧米各国政府による臍帯血の規制の現状に関して、調査を行った。その結果、日本の臍帯血バンクに現在保存されている臍帯血は、ほぼ安全性が保たれていると考えられるが、諸外国ではさらに高い安全性の基準が設けられようとしていることが判明した。国際ハーモナイゼーションの観点から、我が国の臍帯血もより高いレベルに目標をおくことが、細胞医薬品として扱われるような事態に備えて重要であろう。

A. 研究目的

我が国では臍帯血移植の成人患者への適応拡大と共に、移植数の急速な増大が見られている。一方、臍帯血は臍帯血バンクから供給されるという特殊性から、将来的には「細胞医薬」として扱われる可能性がある。そこで、医薬品（血液製剤）と比較して同等の安全性を確保するために必要な事項を検討し、臍帯血バンクが今後取り組むべき課題を明らかにすることを目的とした。そのため、国内外の状況を調査し、国内に保存されている臍帯血の安全性が保証されているか、また海外との格差がないか、国際化に対応出来るかについて調査した。

B. 研究方法

臍帯血移植の安全性に関するワーキンググループを表のように設置し、臍帯血が医薬品として扱われるようになった場合を想定した上で、臍帯血の有効性ならびに安全性を担保するために必要な事項について検討を行った。また、日本さい帯血バンクネットワーク、欧米の臍帯血

バンクおよび国際臍帯血バンク組織の実態、欧米各国政府による臍帯血の規制の現状に関して、各バンクならびに国際組織からデータを集めた。

（倫理面への配慮）

本研究は、倫理的な問題が生ずることはないと考えている。

<委員長>

小澤 敬也 自治医科大学医学部教授

<平成15年度委員>

岡田 義昭 国立感染症研 血液・安全性研究部第一室長
佐々木次雄 国立感染症研 細菌第二部第二室長
佐藤 典宏 北海道大学医学部附属病院輸血部副部長
高梨美乃子 東京都赤十字血液センター技術部研究第二課長
高橋 恒夫 東京大学医科学研究所客員教授
平井 耕作 日本赤十字社血液事業部参事

<平成16年度委員>

岡田 義昭 国立感染症研 血液・安全性研究部第一室長
神原 永子 日本赤十字社血液事業部参事
佐藤 典宏 北海道大学医学部附属病院輸血部副部長
鹿野 真弓 医薬品医療機器総合機構生物系審査部
高梨美乃子 東京都赤十字血液センター技術部研究第二課長
高橋 恒夫 東京大学医科学研究所客員教授
山口 一成 国立感染症研 血液・安全性研究部部長
山口 照英 国立医薬品食品衛生研究所
遺伝子細胞医薬部部長

C. 研究結果

- 1) 臍帯血の定義について：臍帯血の有効性を担保するための事項としては、性状、分量、生細胞数、造血幹細胞数（コロニー形成細胞数、CD34 陽性細胞数で代替する）、HLA 型、製造日などの記載が必要になる。また、臍帯血の安全性を担保するための事項としては、感染性微生物のチェック（HCV、HBV、HIV などに対する NAT、無菌試験、Quarantine、ドナーの間診など、現在の輸血用血液と同レベルの検査）が必要となる。
- 2) 定義を満たす臍帯血製造に関しては、「構造設備基準」ならびに「生物由来原料基準」の観点から具体的検査項目を決定する必要がある。例えば、ドナー選択基準、ドナー感染症等検査、造血幹細胞収集法、保存方法、汚染防止措置、工程内試験などが必要であると議論された。
- 3) 国内の臍帯血に関する規制状況：我が国の 11 の公的臍帯血バンクの実態を調査した。我が国では現在、日本さい帯血バンクネットワークにより、各臍帯血バンクの従うべき技術指針、各種基準書が策定されている。臍帯血の安全性については、臍帯血移植の実施のための技術指針ならびに基準書群（移植実施、衛生管理、採取、調製、保存管理、品質管理）により規定されている。臍帯血移植の予後に関わる細胞数の増加、CD34 の測定等、ネットワークの技術部会で検討され、随時最新の情報が得られている。根幹となる技術指針は作成時に国内外の状況を考慮して作成されているので、国際的に乖離しているところはあまりない。これら技術指針に対する各臍帯血バンクの対応状況については、バンクネットワークの事業評価委員会による評価、及びネットワークの指定した第三者評価機関による査察によって、毎年異なるテーマでのチェックが行われている。
- 4) 海外の規制状況：諸外国では、臍帯血の血液あるいは医薬品としての取り扱いが明確化されつつある。例えば、ドイツでは Paul-Ehrlich Institute が臍帯血を医薬品として認可し、国内の臍帯血バンクを査察している。他の国々では現

在は明確な取り決めはないものの、ドイツを例として同等のレベルまで臍帯血の品質保証が上げられていく可能性が高い。

米国においてはこれまで臍帯血移植は IND (Investigational New Drug) 外として進められてきたが、近い将来には規制がなされる可能性が高い。

いずれの場合も現状の臍帯血に関する品質保証がなされていることが必要であるが、現在国際的に用いられている基準としては、NETCORD、AABB のものがあり、それにしたがって国際査察がなされている。内容はほぼ同じであるが、機関によって査察のレベルが異なると考えられる。欧米における規制がこれらの国際ガイドラインを基盤にしてつくられると思われるが、実際にはさらに厳しい規制が課せられる可能性がある。

D. 考察

我が国では、臍帯血バンクの調査が過去に実施されたことはあるが、細胞医薬品としての観点から安全性の検討が行われたことはない。米国では、FDA において、臍帯血を医薬品として規制する方向で検討が進んでおり、国際ハーモナイゼーションの観点からも、我が国の体制を整備していく必要性が発生するものと予想される。本研究班（臍帯血移植の安全性に関するワーキンググループ）は、そのような事態に備え、予め諸問題を検討しておくのが狙いである。薬事法に基づく品目承認を臍帯血に与える場合には、規格及び試験方法、製造方法、効能効果・用法用量を示す必要がある。また、各臍帯血バンクは医薬品製造業の許可を得る必要性が発生し、細胞処理・保存施設は「医薬品製造工場」として営利事業を行うこととなり、ハード、ソフトの両面で医薬品 GMP に適合することを求められるようになるといった点が、今後の大きな課題になると思われる。現在は機関毎に異なる点があると思われる操作法の統一を図ることも必要になると考えられる。

臍帯血移植が拡大していることから、本研究班の議論を踏まえて、臍帯血が細胞医薬品としての規制がかけられた場合に必要となる臍帯血バンクの整備（設備や体制の改善策）を明らかにしていく必要がある。

E. 結論

今後大きな発展が予想される臍帯血移植において、臍帯血が医薬品として規制を受けるようになる可能性があり、有効性及び安全性の観点から考慮すべき事項を検討した。その結果、日本の臍帯血バンクに現在保存されている臍帯血は、ほぼ安全性が保たれていると考えられるが、諸外国の状況を見ると、さらに高い安全性の基準が設けられようとしている。国際ハーモナイゼーションの観点から、我が国の臍帯血もさらに基準の高いレベルに目標をおいて活動が続けていくことが、細胞医薬品として扱われるような事態に備えて重要であろう。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表（原著論文）

- 1) Ueda K, Hanazono Y, Shibata H, Ageyama N, Ueda Y, Ogata S, Tabata T, Nagashima T, Takatoku M, Kume A, Ikehara S, Taniwaki M, Terao K, Hasegawa M, and Ozawa K: High-level in vivo gene marking after gene-modified autologous hematopoietic stem cell transplantation without marrow conditioning in nonhuman primates. *Mol Ther* 10: 469-477, 2004.
- 2) Muroi K, Kawano-Yamamoto C, Nagashima T, Mori M, Ozawa K, Matsui K, Murakami Y, and Ikeda U: Analysis of hematopoietic progenitors in bone marrow from patients with peripheral artery disease. *Leuk Res* 28: 999-1000, 2004.
- 3) Hara T, Kume A, Hanazono Y,

Mizukami H, Okada T, Tsurumi H, Moriwaki H, Ueda Y, Hasegawa M, and Ozawa K: Expansion of genetically corrected neutrophils in chronic granulomatous disease mice by cotransferring a therapeutic gene and a selective amplifier gene. *Gene Ther* 11: 1370-1377, 2004.

4) Nagashima T, Ueda Y, Hanazono Y, Kume A, Shibata H, Ageyama N, Terao K, Ozawa K, and Hasegawa M: In vivo expansion of gene-modified hematopoietic cells by a novel selective amplifier gene utilizing the erythropoietin receptor as a molecular switch. *J Gene Med* 6: 22-31, 2004.

5) Itoh A, Okada T, Mizuguchi H, Hayakawa T, Mizukami H, Kume A, Takatoku M, Komatsu N, Hanazono Y, and Ozawa K: A soluble CAR-SCF fusion protein improves adenoviral vector-mediated gene transfer to c-Kit-positive hematopoietic cells. *J Gene Med* 5: 929-940, 2003.

6) Noborio K, Muroi K, Izumi T, Toshima M, Kawano-Yamamoto C, Otsuki T, Nagai T, Komatsu N, and Ozawa K: Massive immune hemolysis after non-myeloablative allogeneic peripheral blood stem cell transplantation with minor ABO-incompatibility. *Leuk Lymphoma* 44: 357-359, 2003.

7) Nagashima T, Ueda Y, Hanazono Y, Kume A, Shibata H, Ageyama N, Terao K, Ozawa K, and Hasegawa M: New selective amplifier genes containing c-Mpl for hematopoietic cell expansion. *Biochem Biophys Res Commun* 303: 170-176, 2003.

8) Kume A, Koremoto M, Xu R, Okada T, Mizukami H, Hanazono Y, Hasegawa M, and Ozawa K: In vivo expansion of transduced murine hematopoietic cells with a selective amplifier gene. *J Gene Med* 5: 175-181, 2003.

H. 知的財産権の出願・登録状況 特になし

研究課題 Ex vivo 増幅造血幹細胞の臨床応用に関する研究

分担研究者 中畑龍俊 京都大学大学院医学研究科・教授

研究要旨：ヒト造血幹細胞の *in vivo* 測定系を開発した。SCF、FL、TPO、IL-6/sIL-6R 複合体存在下で増幅した臍帯血造血幹細胞を用いた臨床研究のための基盤整備を行った。培養バッグおよびリコンビナントアルブミンを用いた無血清培地を開発した。新 GCP に準拠した臨床プロトコルを作成した。

A. 研究目的

体外増幅造血幹細胞を用いたより安全な移植医療の開発を目的として、臨床応用可能な、安全かつ有効なヒト造血幹細胞体外増幅法を開発し、その臨床展開をはかることを目的としている。

B. 研究方法

1) NOD/SCID マウス、NOD/SCID/ γ_c^+ マウス (NOG マウス) に種々の数のヒト臍帯血 CD34+細胞を移植し、移植後経時的に各種組織中のヒト細胞の存在をフローサイトメトリーで解析した。

2) ヒト臍帯血 CD34+細胞を各種サイトカイン存在下に液体培養し、造血幹細胞の増幅について検討した。

3) 安全な培養を行うため、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を検討した。

4) 無菌的に細胞を処理するための環境を細胞プロセッシングセンターを整備した。

5) GMP に沿った培養法の確立と品質管理法について検討した。

6) 前臨床試験として、増幅した臍帯血 CD34+細胞を用いて NOD/SCID マウス、NOG マウスに移植し、細胞動態、造血能を評価した。

7) GCP に準拠した臨床プロトコルを作成した。

C. 研究結果および考察

1) ヒト造血幹細胞の測定には NOD/SCID/ γ_c^+ マウスが最も優れていた。このマウスを用いることにより T 細胞、B 細胞、肥満細胞を含むすべてのヒト型血球を造血幹細胞から *in vivo* で誘導することが可能となった。

2) FP6、SCF、FL、TPO を組み合わせることにより、マウス骨髄を再構築できるヒト造血幹細胞(SRC)を4倍以上に増幅できることが明らかとなった。

3) GMP に準拠した培養法の確立
細菌の混入や動物由来の蛋白の混入を防ぐため、閉鎖系培養の確立と原材料からヒト、動物由来血清を排除した無血清培養法を確立し、現在の臍帯血バンクのシステムに則った移植が可能となった。

4) 無菌的に細胞を処理するための環境を整備するため、神戸先端医療センター内に GMP 基準に合致した cell processing center(CPC)を建設し

た。

5) GMP に沿った培養法の確立と品質管理法について検討し、標準作業手順書:SOPを作成した。

6) 前臨床試験として、増幅した臍帯血 CD34+細胞を用いて NOD/SCID マウス、NOG マウスに移植し、細胞動態、造血能を評価した。無血清で増幅した細胞はマウス体内で、T、B細胞を含む全ての血球系への分化能を保持している

7) 新 GCP に準拠した臨床プロトコルの作成

体外増幅された臍帯血幹細胞移植を臨床応用するため、規格試験として製造毎の品質管理規格項目を設定した。また臨床プロトコルの対象を急性骨髄性白血病患者として、主要評価項目を Ex vivo 増幅臍帯血移植の安全性と移植 CD34 陽性細胞数と生着日数に相関があるかどうかの Phase I/II 試験とした。また臨床研究実施計画書、同意説明文書、使用薬剤情報、症例報告書(CRF)、品質及び安全性に関する資料概要、製造管理基準書、品質管理基準書、製造衛生管理基準書、製造標準書などを作成し、平成 17 年 3 月 17 日に先端医療センター再生医療審査会(倫理委員会)で承認された。

D. 結論

ヒト造血幹細胞を増幅できることが示された。平成 17 年第 3 四半期より急性骨髄性白血病に対する Ex vivo 増幅臍帯血移植の Phase I/II Study を開始予定である。

E. 健康危害情報 なし

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Blood 101:2990-2995,2003.
- 2) Blood 102:873-880, 2003.
- 3) Bone Marrow Transplant. 31:1061-63,2003.
- 4) Exp. Hematol. 31:733-740,2003.
- 5) J Clin Microbiol. 41:4892-4893, 2003.
- 6) Cancer Cell 4:55-65, 2003.
- 7) Oncogene 22:9231-9242 (2003)
- 8) Blood 103:860-867,2004.
- 9) Development 131:1869-1879,2004.
- 10) J. Immunol. 172:4826-4833, 2004.
- 11) Blood 103:2299-2397, 2004.
- 12) Blood 103:4565-4572, 2004.
- 13) Human Mutat. 24:481-490,2004.
- 14) Arterioscl. Throm. Vas. 24:477-482, 2004.
- 15) FASEB J. 19:371-378, 2004.

- 16) Cell 119:1001-1012, 2004.
- 17) J. Immunol. 177:1325-1331, 2005.
- 18) Blood 105:1195-1197, 2005.
- 19) Blood 105:2324-2331, 2005.
- 20) J. Immunol. 174:3626-3632, 2005, 2005.
- 21) Int. J. Cancer 133:158-165, 2005.
- 22) Gastroenterology in press.
- 23) J. Biol. Chem. In press.

G. 知的財産権の出願・登録状況

特許取得：リコンビナントアルブミンを利用
した造血幹細胞用無血清培地と培
養法：特願 2004-13291

1. 実用新案登録 なし
2. その他 なし

III. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

1. Nishihira H, Kato K, Isoyama K, Takahashi TA, Kai S, Kato S, Takanashi M, Sato N, Sato H, Kitajima K, Naoe T, Saito H: The Japanese cord blood bank network experience with cord blood transplantation from unrelated donors for haematological malignancies: an evaluation of graft-versus-host disease prophylaxis. *Br J Haematol* 120(3):516-522, 2003.
2. Isoyama K, Ohnuma K, Kato K, Takahashi TA, Kai S, Kato S, Takanashi M, Sato N, Sato H, Kitajima K, Naoe T, Saito H, Nishihira H.: Cord Blood Transplantation from Unrelated Donors: A Preliminary Report from the Japanese Cord Blood Bank Network.. *Leukemia and Lymphoma* 44(3):429-438, 2003.
3. Hishida A, Yamamoto K, Kato C, Yokozawa T, Emi N, Tanimoto M, Saito H: Recovery of normal hematopoiesis after severe bone marrow aplasia induced by interferon- α in a patient with chronic myelogenous leukemia. *Int J Hematol* 77: 55-59, 2003.
4. Hishida A, Yamamoto K, Matsushita T, Tanimoto M, Saito H, Emi N.: Trisomy X in Philadelphia chromosome-negative cells during the course of Philadelphia chromosome-positive chronic myelocytic leukemia. *Cancer Genetics and Cytogenetics* 142: 83-85, 2003.
5. Nagai H, Li Y, Hatano S, Ohno T, Yuge M, Ito E, Utsumi M, Saito H, Kinoshita T.: Mutations and aberrant DNA methylation of the PROXI gene in hematologic malignancies. *Genes Chromosomes & Cancer* 38:13-21, 2003.
6. Watamoto K, Towatari M, Ozawa Y, Miyata Y, Okamoto M, Abe A, Naoe T, Saito H: Altered interaction of HADC5 and GATA-2 during MEL cell differentiation. *Oncogene* 22(57): 9176-9184, 2003.
7. Yamada Y, Oike Y, Ogawa H, Ito Y, Fujisawa H, Suda T, Takakura N.: Neuropilin-1 on hematopoietic cells as a source of vascular development. *Blood* 101:1801-1809, 2003
8. Nakajima M, Yuasa S, Ueno M, Takakura N, Koseki H, Shirasawa T. Abnormal blood vessel development in mice lacking presenilin-1. *Mech Dev* 120: 657-667, 2003.
9. Kimura T, Ito C, Watanabe S, Takahashi T, Ikawa M, Yomogida K, Ikeuchi M, Asada N, Fujita Y, Matsumiya K, Okuyama A, Okabe M, Toshimori K, Nakano T.: Mouse Germ Cell-Less as an essential component for nuclear integrity. *Mol Cell Biol* 23: 1304-15, 2003.
10. Suzuki A, Itami A, Ohishi M, Inoue T, Komazawa N, Senoo H, Sasaki T, Takeda J, Manabe M, Mak TW, Nakano T.:Keratinocyte-specific Pten deficiency results in epidermal hyperplasia, accelerated hair follicle morphogenesis and tumor formation. *Cancer Res* 63:674-81, 2003.

11. Suzuki A, Kaisho T, Ohishi M, Tsukio-Yamaguchi M, Tsubata T, Koni PA, Sasaki T, Mak TW, Nakano T:Critical roles of Pten in B cell homeostasis and immunoglobulin class switch recombination. *J Exp Med*: 197: 657-67, 2003.
12. Kimura T, Suzuki A, Fujita Y, Yomogida K, Lomeli H, Asada N, Ikeuchi M, Nagy A, Mak TW, Nakano T:Conditional loss of PTEN leads to testicular teratoma and enhances embryonic germ cell production. *Development* 130: 1691-1700, 2003.
13. Yasui K, Matsumoto K, Hirayama F, Tani Y, and Nakano T:Differences between peripheral and cord blood in the kinetics of lineage-restricted hematopoietic cells Implications for delayed platelet recovery following cord blood transplantation. *Stem Cells* 21:143-51, 2003.
14. Kishimoto H, Hamada K, Saunders M, Sasaki T, Nakano T, Mak TW and Suzuki A.: Physiological functions of PTEN in various tissues: analysis of the tissue specific PTEN mutant mice. *Cell Structure and Function* 28:11-21, 2003.
15. Ueno H, Sakita-Ishikawa M, Morikawa Y, Nakano T, Kitamura T, Saito M.: A stromal cell-derived membrane protein that supports hematopoietic stem cells. *Nature Immunol* 4:457-63, 2003.
16. Kitajima K, Tanaka M, Jie Z, Sakai-Ogawa E, Nakano T:In vitro differentiation of mouse embryonic stem cells to hematopoietic cells on an OP9 stromal cell monolayer. *Methods Enzymol* 365:72-82, 2003.
17. Eto K, Lewitt AL, Nakano T, Shattil SJ.: Development and analysis of megakaryocytes from murine embryonic stem cells. *Methods Enzymol* 365: 142-157, 2003.
18. Masuhara M, Nagao K, Nishikawa M, Kimura T, Nakano T:Enhanced degradation of MDM2 by a nuclear envelope component, mouse germ cell less. *Biochem Biophys Res Commun* 308: 927-32, 2003.
19. Nakano T:Hematopoietic stem cells: generation and manipulation. *Trends Immunol* 24: 589-594, 2003.
20. Payer B, Saitou M, Barton SC, Thresher R, Dixon JPC, Zahn D, Colledge WH, Carlton MBL, Nakano T, Surani MA: Stella is a maternal effect gene required for normal early development in mice. *Cur Biol* 13: 2110-2117, 2003.
21. Okamura D, Kimura T, Nakano T, Matsui Y.: Cadherin-mediated cell interaction regulate germ cell determination in mice. *Development* 130: 6423-6430, 2003.
22. Zheng Y, Watanabe N, Nagamura-Inoue T, Igura K, Nagayama H, Tojo A, Tanosaki R, Takaue Y, Okamoto S, Takahashi TA: Ex vivo manipulation of umbilical cord blood-derived hematopoietic stem/progenitor cells with recombinant human stem cell factor can up-regulate levels of homing-essential molecules to increase their

- transmigratory potential. *Exp Hematol* 31: 1237-1246, 2003.
23. Nagamura-Inoue T, Shioya M, Sugo M, Cui Y, Takahashi A, Tomita S, Zheng Y, Takada K, Kodo H, Asano S and Takahash TA: Wash-out of DMSO does not improve the speed of engraftment of cord blood transplantation: follow-up of 46 adult patients with units shipped from a single cord blood bank, Tokyo Cord Blood Bank. *Transfusion* 43: 1285-1294, 2003
 24. Nagayama H, Sato K, Morishita M, Uchimaru 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 TA, 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: 521-530, 2003
 25. Zhang X, Nakaoka T, Nishishita T, Watanabe N, Igura K, Shinomiya K, Takahashi TA, Yamashita N: Efficient Adeno-Associated Virus-Mediated Gene Expression in Human Placenta-Derived Mesenchymal Cells. *Microbiol. Immunol* 47: 109-116, 2003
 26. Kashiwakura I, Takahashi TA.: Basic fibroblast growth factor-stimulated ex vivo expansion of haematopoietic progenitor cells from human placental and umbilical cord blood. *Br J Haematol* 122: 479-88, 2003.
 27. Nishihira H, Kato K, Isoyama K, Takahashi TA, Kai S, Kato S, Takanashi M, Sato N, Sato H, Kitajima K, Naoe T, Saito H. The Japanese cord blood bank network experience with cord blood transplantation from unrelated donors for haematological malignancies: an evaluation of graft-versus-host disease prophylaxis. *Br J Haematol* 120: 516-522, 2003.
 28. 岩元潮、大石真人、高橋賢次、後藤三郎、高橋恒夫：国際臍帯血バンクネットワーク組織 NETCORD ウェブサイト登録のための東京臍帯血バンクコンピューターシステムの構築：日本輸血学会雑誌 49,559-564,2003
 29. 高田圭, 長村(井上)登紀子, 須郷美智子, 塩谷美夏, 高橋敦子, 崔硯, 平井雅子, 田口淳史, 渡辺信和, 高橋恒夫: 臍帯血バンクにおける ISO9002 品質保証システムの導入と運用, 日本輸血学会雑誌 49,473-479,2003
 30. Watamoto K, Towatari M, Ozawa Y, Miyata Y, Okamoto M, Abe A, Naoe T, Saito H.: Altered interaction of HDAC5 with GATA-1 during MEL cell differentiation. *Oncogene* 22: 9176-84, 2003.
 31. Kito M, Matsumoto K, Wada N, Sera K, Futatsugawa S, Naoe T, Nozawa Y, Akao Y.: Antitumor effect of arsenic trioxide in murine xenograft model. *Cancer Sci.* 94: 1010-4, 2003.

32. Matsuno N, Osato M, Yamashita N, Yanagida M, Nanri T, Fukushima T, Motoji T, Kusumoto S, Towatari M, Suzuki R, Naoe T, Nishii K, Shigesada K, Ohno R, Mitsuya H, Ito Y, Asou N.: Dual mutations in the AML1 and FLT3 genes are associated with leukemogenesis in acute myeloblastic leukemia of the M0 subtype. *Leukemia* 17(12): 2492-9, 2003.
33. Yanada M, Yamamoto K, Emi N, Naoe T, Suzuki R, Taji H, Iida H, Shimokawa T, Kohno A, Mizuta S, Maruyama F, Wakita A, Kitaori K, Yano K, Hamaguchi M, Hamajima N, Morishima Y, Kodera Y, Sao H, Morishita Y.: Cytomegalovirus antigenemia and outcome of patients treated with pre-emptive ganciclovir: retrospective analysis of 241 consecutive patients undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 32(8):801-7, 2003.
34. Kajiguchi T, Yamamoto K, Hossain K, Akhand AA, Nakashima I, Naoe T, Saito H, Emi N.: Sustained activation of c-jun-terminal kinase (JNK) is closely related to arsenic trioxide-induced apoptosis in an acute myeloid leukemia (M2)-derived cell line, NKM-1. *Leukemia* 17(11):2189-95, 2003.
35. Hirose Y, Kudo K, Kiyoi H, Hayashi Y, Naoe T, Kojima S.: Comprehensive analysis of gene alterations in acute megakaryoblastic leukemia of Down's syndrome. *Leukemia* 17(11):2250-2, 2003.
36. Minami Y, Yamamoto K, Kiyoi H, Ueda R, Saito H, Naoe T.: Different antiapoptotic pathways between wild-type and mutated FLT3: insights into therapeutic targets in leukemia. *Blood* 102(8):2969-75, 2003.
37. Ohbayashi K, Taniwaki M, Ninomiya M, Kiyoi H, Iida S, Ueda R, Naoe T.: A xeno-transplantable plasma cell leukemia line with a split translocation of the IgH gene. *Cancer Genet Cytogenet* 144(1):31-5, 2003.
38. Akatsuka Y, Nishida T, Kondo E, Miyazaki M, Taji H, Iida H, Tsujimura K, Yazaki M, Naoe T, Morishima Y, Kodera Y, Kuzushima K, Takahashi T.: Identification of a polymorphic gene, BCL2A1, encoding two novel hematopoietic lineage-specific minor histocompatibility antigens. *J Exp Med* 197(11):1489-500, 2003.
39. Isoyama K, Ohnuma K, Kato K, Takahashi TA, Kai S, Kato S, Takanashi M, Sato N, Sato H, Kitajima K, Naoe T, Saito H, Nishihira H: Japanese Cord Blood Bank Network. Cord blood transplantation from unrelated donors: a preliminary report from the Japanese Cord Blood Bank Network. *Leuk Lymphoma.* 44(3): 429-38, 2003.
40. Takeshita A, Shinjo K, Naito K, Matsui H, Shigeno K, Nakamura S, Horii T, Maekawa M, Kitamura K, Naoe T, Ohnishi K, Ohno R.: P-glycoprotein (P-gp) and multidrug resistance-associated protein 1 (MRP1) are induced by arsenic trioxide (As₂O₃), but

- are not the main mechanism of As(2)O(3)-resistance in acute promyelocytic leukemia cells. *Leukemia* 7(3):648-50, 2003.
41. Nishihira H, Kato K, Isoyama K, Takahashi TA, Kai S, Kato S, Takanashi M, Sato N, Sato H, Kitajima K, Naoe T, Saito H.:The Japanese cord blood bank network experience with cord blood transplantation from unrelated donors for haematological malignancies: an evaluation of graft-versus-host disease prophylaxis. *Br J Haematol* 120(3):516-22, 2003.
 42. Luo JM, Yoshida H, Komura S, Ohishi N, Pan L, Shigeno K, Hanamura I, Miura K, Iida S, Ueda R, Naoe T, Akao Y, Ohno R, Ohnishi K.: Possible dominant-negative mutation of the SHIP gene in acute myeloid leukemia. *Leukemia* 17(1):1-8, 2003.
 43. Qui H, Fujimori Y, Kai S, Fujibayashi Y, Nishioka K and Hara H: Establishment of mouse fibroblast cell lines that promote ex vivo expansion of human cord blood CD34+ hematopoietic progenitors. *J Hematotherapy & Stem Cell Research* 12(1) :39~46, 2003.
 44. Nishioka K, Fujimori Y, Hashimoto-Tamaoki T, Kai S, Qui H, Kobayashi N, Tanaka N, Westerman KA, Leboulch P, Hara H: Immortalization of bone marrow -derived human mesenchymal stem cells by removable simian virus 40T antigen gene: Analysis of the ability to support expansion of cord blood hematopoietic progenitor cells. *International Journal of Oncology* 23: 925-932,2003.
 45. Tanaka H, Kai S, Yamaguchi M, Misawa M, Fujimori Y, Yamamoto M, Hara H: Analysis of natural killer (NK) cell activity and adhesion molecules on NK cells from umbilical cord blood. *Eur J Haematol* 71: 29-38,2003.
 46. Nagaya N, Kangawa K, Kanda M, Uematsu M, Horio T, Hukuyama N, Hino J, Harada-Dhiba M, Okumura H, Tabata Y, Mochizuki N, Chiba Y, Nishioka K, Miyatake K, Asahara T, Hara H, Mori H.: Hybrid cell-gene therapy for pulmonary hypertension based on phagocytosing action of endothelial progenitor cells. *Circulation*.108:889-895,2003.
 47. Wakae T, Takatsuka A, Mori A, Fujimori Y, Okamoto T, Hara H, Kakishita E.: Influence of Helicobacter pylori on platelets after bone marrow transplantation from unrelated donors. *Bone marrow Transplant* 31: 493-496,2003.
 48. Takatsuka H, Wakae T, Mori A, Okada M, Fujimori Y, Okamoto T, Kakishita E, Hara H. : Prognostic value of cyclic GMP in patients undergoing allogeneic bone marrow transplantation after conditioning with total body irradiation. *Bone Marrow Transplant* 31: 905-908, 2003.
 49. Yamaguchi N, Wakae T, Okada M, Fujimori Y, Okamoto T, Kakishita E, Hara H.: Idiopathic interstitial pneumonia following stem cell transplantation. *Clin Transplant* 17: 338-346, 2003.

50. Muguruma Y, Nakamura Y, Sato T, Matsuzawa H, Akatsuka A, Yahata T, Miyatake H, Ando K, Kato S, Hotta T.: In vivo and in vitro differentiation of myocytes from human bone marrow-derived multipotent progenitor cells. *Exp Hematol* 31: 1323-1330, 2003.
51. Yahata T, Ando K, Sato T, Nakamura Y, Muguruma Y, Kato S, Hotta T.: A highly sensitive strategy for scid-repopulating cell assay by direct injection of primitive human hematopoietic cells into NOD/SCID mice bone marrow. *Blood* 101: 2905-2913, 2003.
52. C.Ito, H.Sato, K.Ando, S.Watanabe, F.Yoshiba, K.Kishi, A.Furuya, K.Shitara, S.Sugimoto, H.Kohno, A.Hiraoka, & T.Hotta.: Serum stem cell growth factor (SCGF) for monitoring hematopoietic recovery following stem cell transplantation (SCT). *Bone Marrow Transplant* 32: 391-398, 2003.
53. Matsumura T, Kametani Y, Ando K, Hirano Y, Katano I, Ito R, Shiina M, Ito M, Motoyoshi K, Habu S. CD5+ B cells (B1 cells) develop predominantly in the spleen of NOD/SCID/gnull (NOG) mice transplanted with human umbilical cord blood, bone marrow and mobilized peripheral blood CD34+ cells. *Exp Hematol* 31: 789-797, 2003.
54. Hagihara M, Kato S, et al.: The in vitro generation of Ph1+ ALL-specific HLA-A24-restricted cytotoxic T lymphocytes using a synthetic 16 mer minor bcra-abl peptide. *Leuk Res* 27:253-7, 2003.
55. Hagihara M, Kato S, et al.: Increased frequency of CD3/8/56-positive umbilical cord blood T lymphocytes after allo-priming in vitro. *Ann Hematol* 82:166-70, 2003.
56. Gansuud B, Kato S, et al.: Umbilical cord blood dendritic cells are a rich source of soluble HLA-DR: synergistic effect of exosomes and dendritic cells on auto logous or allogeneic T-Cell proliferation. *Hum Immunol* 64:427-39, 2003.
57. Inoue H, Kato S, et al.: The kinetics of immune reconstitution after cord blood transplantation and selected CD34+ stem cell transplantation in children: comparison with bone marrow transplantation. *Int J Hematol* 77:399-407, 2003.
58. Ueda Y, Kato S, et al.: The effects of alphaGalCer-induced TCR Valpha24 Vbeta 11(+) natural killer T cells on NK cell cytotoxicity in umbilical cord blood. *Cancer Immunol Immunother* 52:625-31, 2003.
59. Yoshiba F, Kato S, et al.: Complete resolution of severe chronic active Epstein-Barr virus infection by cultured, activated donor T lymphocyte infusion after nonmyeloablative stem cells allografting. *Bone Marrow Transplant* 32:107-10, 2003.
60. Hagihara M, Kato S, et al.: Clinical effects of infusing anti- Epstein-Barr virus (EBV)-specific cytotoxic T-lymphocytes into patients with severe chronic active EBV infection. *Int J Hematol*. 78:62-8, 2003.
61. Tsuboi K, Kato S, et al.: Multivariate analysis of risk factors for hemorrhagic cystitis after

- hemato-poietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 32:903-7, 2003.
62. Ueda Y, Kato S, et al.: Frequencies of dendritic cells (myeloid DC and plasmacytoid DC) and their ratio reduced in pregnant women: comparison with umbilical cord blood and normal healthy adults. *Hum Immunol* 64:1144-51, 2003.
 63. Muguruma Y, Kato S, et al.: In vivo and in vitro differentiation of myocytes from human bone marrow-derived multipotent progenitor cells. *Exp Hematol* 31:1323-30, 2003.
 64. Yasuda Y, Yabe H, Kato S, et al.: Comparison of PCR-amplified JC virus control region sequences from multiple brain regions in PML. *Neurology* 61(11):1617-9, 2003.
 65. Itoh A, Okada T, Mizuguchi H, Hayakawa T, Mizukami H, Kume A, Takatoku M, Komatsu N, Hanazono Y, and Ozawa K: A soluble CAR-SCF fusion protein improves adenoviral vector-mediated gene transfer to c-Kit-positive hematopoietic cells. *J Gene Med* 5: 929-940, 2003.
 66. Asano T, Ageyama N, Takeuchi K, Momoeda M, Kitano Y, Sasaki K, Ueda Y, Suzuki Y, Kondo Y, Torii R, Hasegawa M, Ookawara S, Harii K, Terao K, Ozawa K, and Hanazono Y: Engraftment and tumor formation after allogeneic in utero transplantation of primate embryonic stem cells. *Transplantation* 76: 1061-1067, 2003.
 67. Shibata H, Hanazono Y, Ageyama N, Nagashima T, Ueda Y, Hasegawa M, Ozawa K, Yoshikawa Y, and Terao K: Collection and analysis of hematopoietic progenitor cells from cynomolgus macaques (*Macaca fascicularis*): Assessment of cross-reacting monoclonal antibodies. *Am J Primatol* 61: 3-12, 2003.
 68. Mori M, Uchida M, Watanabe T, Kirito K, Hatake K, Ozawa K, and Komatsu N: Activation of extracellular signal-regulated kinases ERK1 and ERK2 induces Bcl-xL up-regulation via inhibition of caspase activities in erythropoietin signaling. *J Cell Physiol* 195: 290-297, 2003.
 69. Noborio K, Muroi K, Izumi T, Toshima M, Kawano-Yamamoto C, Otsuki T, Nagai T, Komatsu N, and Ozawa K: Massive immune hemolysis after non-myeloablative allogeneic peripheral blood stem cell transplantation with minor ABO-incompatibility. *Leuk. Lymphoma* 44: 357-359, 2003.
 70. Nagashima T, Ueda Y, Hanazono Y, Kume A, Shibata H, Ageyama N, Terao K, Ozawa K, and Hasegawa M: New selective amplifier genes containing c-Mpl for hematopoietic cell expansion. *Biochem Biophys Res Commun* 303: 170-176, 2003.
 71. Kume A, Koremoto M, Xu R, Okada T, Mizukami H, Hanazono Y, Hasegawa M, and Ozawa K: In vivo expansion of transduced murine hematopoietic cells with a selective amplifier gene. *J Gene Med* 5: 175-181, 2003.
 72. Kami M, Hamaki T, Miyakoshi S, Murashige N, Kanda Y, Tanosaki R, Takaue Y,

- Taniguchi S, Hirai H, Ozawa K, and Kasai M: Allogeneic haematopoietic stem cell transplantation for the treatment of adult T-cell leukaemia/lymphoma. *Br J Haematol* 120: 304-309, 2003.
73. Komatsu N, Watanabe T, Uchida M, Mori M, Kirito K, Kikuchi S, Liu Q, Tauchi T, Miyazawa K, Endo H, Nagai T, and Ozawa K: A member of Forkhead transcription factor FKHRL1 is a downstream effector of STI571-induced cell cycle arrest in BCR-ABL expressing cells. *J Biol Chem* 278: 6411-6419, 2003.
74. Mitsui T, Watanabe S., Hanada S., Ebihara Y., Sato T., Nakahata T., Tsuji K.: Impaired neutrophil maturation in truncated G-CSF receptor transgenic mice. *Blood* 101:2990-2995,2003.
75. 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.
76. Yoshimoto M., Shinohara T., Heike T., Shiota M., Kanatsu-Shinohara M., Nakahata T.: Direct visualization of transplanted hematopoietic cell reconstitution in intact mouse organs indicate the presence of a niche. *Exp Hematol.* 31:733-740,2003.
77. Imai T, Adachi S, Nishijo K, Ohgushi M, Okada M, Yasumi T, Watanabe K, Nishikomori R, Nakayama T, Yonehara S, Toguchida J and 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.
78. Heike T. Nakahata T.: Stem cell plasticity in the hematopoietic system. *Int Hematol.* 79:7-14,2003.
79. Hayakawa F, Towatari M, Ozawa Y, Tomita A, Privalsky ML, Saito H: Functional regulation of GATA-2 by acetylation. *J Leukocyte Biol* 75:529-540,2004.
80. Asano H, Murate T, Naoe T, Saito H: Stamatoyannopoulos G. Molecular cloning and characterization of ZFF29: a protein containing a unique Cys2His2 zinc-finger motif. *Biochem J* 384: 647-653, 2004.
81. Kuramochi-Miyagawa K, Kimura T, Ijiri T, Asada N, Fujita Y, Ikawa M, Isobe T, Iwai N, Okabe M, Deng W, Lin H, Matsuda Y, Nakano T: *mili*, a mammalian member of *piwi* family gene, is essential for spermatogenesis. *Development* 131: 839-849, 2004
82. Suzuki A, Sasaki T, Mak TW, Nakano T: Functional analysis of the tumour suppressor gene PTEN in murine B cells and keratinocytes. *Biochemical Journal* 32: 362-365, 2004.
83. Horie Y, Suzuki A, Kataoka E, Sasaki T, Hamada K, Sasaki J, Mizuno K, Hasegawa G, Kishimoto H, Iizuka M, Naito M, Enomoto K, Watanabe S, Mak TW, Nakano T: Hepatocyte-specific Pten deficiency results in steatohepatitis and hepatocellular

- carcinomas. *J Clin Invest* 113: 1774-1783, 2004
84. Tsuzuki S, Kitajima K, Nakano T, Glasow A, Zelent A, Enver T: Crosstalk between retinoic acid signaling and transcription factor GATA-2. *Mol Cell Biol* 24: 6824-6836, 2004
85. Komazawa N, Suzuki A, Sano S, Horie K, Matsuura N, Mak TW, Nakano T, Takeda J, Kondoh G: Tumorigenesis facilitated by Pten deficiency in the skin: Evidence of p53-Pten complex formation on the initiation phase. *Cancer Sci* 95: 639-43, 2004
86. Okada Y, Matsuura E, Tozuka Z, Nagai R, Watanabe A, Matsumoto K, Yasui K, Jackman RW, Nakano T, Doi T: Upstream stimulatory factor stimulates transcription through the E-box motif in the PF4 gene in megakaryocytes. *Blood* 104:2027-2034, 2004
87. Komazawa N, Matsuda M, Kondoh G, Mizunoya W, Iwaki M, Takagi T, Sumikawa Y, Inoue K, Suzuki A, Mak TW, Nakano T, Fushiki T, Takeda J, Shimomura I.: Enhanced insulin sensitivity, energy expenditure and thermogenesis in adipose-specific Pten suppression in mice. *Nat Med* 10:1208-15, 2004
88. Tanaka T, Zheng J, Kitajima K, Kita K, Yoshikawa H, Nakano T: Differentiation Status Dependent Function of FOG-1. *Genes to Cells* 9:1213-26, 2004
89. Igura K., Zhang X., Takahashi K., Mitsuru A., Yamaguchi S., Takahashi TA. Isolation and characterization of mesenchymal progenitor cells from chorionic villi of human placenta. *Cytotherapy* 6: 543 - 553, 2004.
90. Takahashi K., Igura K., Zhang X., Mitsuru A., Takahashi AT. Effects of osteogenic induction on mesenchymal cells from fetal and maternal part of human placenta. *Cell Transplantation* 13: 337-341, 2004.
91. Nagamura-Inoue T., Mori Y., Zheng, Y., Watanabe N., Takahashi, TA. Differential expansion of umbilical cord blood mononuclear cell derived natural killer cells dependent on the dose of Interleukin 15 with Flt3L. *Exp Hematology* 32: 202-209, 2004.
92. Yamamoto K, Kondo T, Suzuki S, Izawa H, Kobayashi M, Emi N, Komori K, Naoe T, Takamatsu J, Murohara T.: Molecular evaluation of endothelial progenitor cells in patients with ischemic limbs: therapeutic effect by stem cell transplantation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 24: 192-6, 2004.
93. Yanada M, Emi N, Naoe T, Sakamaki H, Takahashi S, Hirabayashi N, Hiraoka A, Kanda Y, Tanosaki R, Okamoto S, Iwato K, Atsuta Y, Hamajima N, Tanimoto M, Kato S.: Tacrolimus instead of cyclosporine used for prophylaxis against graft-versus-host disease improves outcome after hematopoietic stem cell transplantation from unrelated donors, but not from HLA-identical sibling donors: a nationwide survey conducted in Japan. *Bone Marrow Transplant* 34: 331-7, 2004

94. Yanada M, Emi N, Naoe T, Sakamaki H, Iseki T, Hirabayashi N, Karasuno T, Chiba S, Atsuta Y, Hamajima N, Takahashi S, Kato S.: Allogeneic myeloablative transplantation for patients aged 50 years and over. *Bone Marrow Transplant* 34: 29-35, 2004.
95. 陳明修、藤盛好啓、大倉伸彦、甲斐俊朗、原 宏 : ヒト間葉系細胞との共培養によるヒト臍帯血由来巨核球系前駆細胞の体外増幅。兵医大医会誌 2929-38,2004.
96. Imado T, Iwasaki T, Kuroiwa T, Sano H, Hara H : Effect of FK506 on donor T-cell functions that are responsible for graft-versus-host disease and graft-versus-leukemia effect. *Transplantation* 77: 391-398, 2004.
97. Itoi H, Fujimori Y, Tsutsui H, Matsui K, Hada T, Kakishita E, Okamura H, Hara H, Nakanishi K. : Differential upregulation of interleukin-18 receptor α chain between CD4+ and CD8+ T cells during acute graft-versus-host disease in mice. *J Interferon & Cytokine Research* 24: 291-296, 2004.
98. Imado T, Iwasai T, Kataoka Y, Kuroiwa T, Hara H, Fujimoto J, Sano H, : Hepatocyte growth factor preserves graft-versus-leukemia effect and T-cell reconstitution after marrow transplantation. *Blood* 104(5): 1542-1549, 2004.
99. 三澤真人 : 移植前にメシル酸イマチニブを投与し臍帯血移植を施行した慢性骨髄性白血病症例、慢性骨髄性白血病治療症例集、医薬ジャーナル社、2004年。
100. 甲斐俊朗 : 成人のための臍帯血バンクー成人の臍帯血移植の試み、血液成分治療、細胞療法の夜明けから臨床医療への応用、廣田豊、原宏編、p108-126、医薬ジャーナル社、2004
101. 甲斐俊朗 : 成人のための臍帯血バンクー成人の臍帯血移植の試み、分担執筆 p108-115、血液成分治療、細胞療法の夜明けから臨床医療への応用 (廣田 豊、原 宏編)、医薬ジャーナル社、大阪、2004.10.25.
102. 甲斐俊朗 : 非血縁者間の臍帯血移植、日本医事新報、No.4167, p105, 2004.
103. Hayashi T, Kobayashi H, Miyachi H, Ohshima T, Ujiye T, Kawase M, Hotta T, Takemura Y: A competitive nucleic acid sequence-based amplification assay for the quantification of human MDR1 transcript in leukemia cells. *Clinica Chimica Acta* 342: 115-126, 2004
104. Takenaka T, Itoh K, Suzuki T, Utsunomiya A, Matsuda S, Chou T, Sai T, Sano M, Konda S, Ohno T, Mikuni C, Deura K, Yamada T, Mizotogi F, Nagoshi H, Tomonaga M, Hotta T, Kawano K, Tsushita K, Hirano M, Shimoyama M, for the LymphomaStudy Group of the Japan Clinical Oncology Group: Phase III Study of Ranimustine, Cyclophosphamide, Vincristine, Melphalan, and Prednisolone (MCNU-COP/MP) versus Modified COP/MP in Multiple Myeloma: A Japan Clinical Oncology Group Study, JCOG 9301. *International Journal of Hematology* 79(2): 165-173, 2004
105. Tobinai K, Igarashi T, Itoh K, Kobayashi Y, Taniwaki M, Ogura M, Kinoshita T, Hotta T,