

200501099B

厚生労働科学研究費補助金
(医薬品医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業)

ヒト胚性幹細胞を利用した分化誘導培養による
人工血液の開発に関する研究

平成 16 年度～平成 17 年度 総合研究報告書

平成 18 (2006) 年 3 月

主任研究者 辻浩一郎
(東京大学医科学研究所 先端医療研究センター 細胞療法分野 助教授)

目 次

I. 総合研究報告書

ヒト胚性幹細胞を利用した分化誘導培養による人工血液に関する研究 辻浩一郎	1
(資料1) ヒト ES 細胞	19
(資料2) マウス胎仔肝由来ストローマ細胞	21
(資料3) マウス胎仔肝由来ストローマ細胞における Albumin および Desmin の発現	23
(資料4) マウス胎仔肝由来ストローマ細胞のフローサイトメトリー による解析	25
(資料5) マウス胎仔肝由来ストローマ細胞の共培養されたヒト ES 細胞	27
(資料6) ヒト ES 細胞とマウス胎仔肝由来ストローマ細胞の共培養に おける RT-PCR による解析	29
(資料7) ヒト ES 細胞とマウス胎仔肝由来ストローマ細胞の共培養中の 培養細胞のフローサイトメトリーによる検討 (培養 14 日目)	31
(資料8) マウス胎仔肝由来ストローマ細胞と共培養されたヒト ES 細胞 による血液細胞コロニー形成の解析	33
(資料9) マウス胎仔肝由来ストローマ細胞と共培養されたヒト ES 細胞 による血液細胞コロニー形成	35
(資料10) マウス胎仔肝由来ストローマ細胞と共培養されたヒト ES 細胞 による血液細胞コロニー形成	37
(資料11) ヒト ES 細胞由来赤血球	39
(資料12) ヒト ES 細胞由来混合コロニー中に含まれる赤血球における β グロビンの発現	41

II. 研究成果の刊行に関する一覧表	43
III. 研究成果の刊行物・別冊	51

I. 総合研究報告書

厚生労働科学研究費補助金
(医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業)
総括研究報告書

ヒト胚性幹細胞を利用した分化誘導培養による人工血液に関する研究

主任研究者 辻浩一郎 東京大学医科学研究所・先端医療研究センター・
細胞療法分野・助教授

研究要旨

安全な輸血用血液の安定供給に資することを目的として、半永久的に増殖可能なヒト ES 細胞から血液細胞への分化誘導法の開発を試みた。

1) ヒト ES 細胞は、胎生 14～15 日のマウス胎仔肝由来ストローマ細胞と共培養することにより、赤血球系前駆細胞、骨髄球系前駆細胞、さらには、複数の血液細胞に分化可能な多能性造血前駆細胞に分化誘導できた。これらのヒト ES 細胞由来の造血前駆細胞の多くは、成人血液と同じ二次造血を起源とし、成熟赤血球の産生も可能であったことより、輸血用血液の新たな供給源となることが期待される。

2) マウス胎仔肝由来のストローマ細胞には、少なくともヘパトサイトと内皮細胞が混在しており、それらの細胞の協同作用によりヒト ES 細胞は血液細胞に分化誘導されると推測された。今後、さらにマウス胎仔肝由来ストローマ細胞の characterization を進めることにより、ヒト ES 細胞から血液細胞への分化誘導を担っている分子を同定し、異種動物のストローマに依存しない、ヒト ES 細胞からの血液細胞産生法を確立していく必要がある。

分担研究者

A. 研究目的

河崎裕英 東京大学医科学研究所
附属病院小児細胞移植科
助手

現代医学の著しい進歩にもかかわらず、輸血医療は現在の医療においても不可欠な補助療法であり、その供給は今日もなお多くのドナーの善意に依

供給量の絶対的不足が社会問題となつて久しいが、これに加えて、現在の輸血用血液は不特定多数のドナーから採取されるため、種々の感染症の危険性等、その安全性についても大きな問題となっている。そのため、充分量の安全な輸血製剤の確保が社会的に強く求められている。

そこで、我々は、全ての組織細胞に分化可能な能力を保持しつつ、半永久的に増殖可能なヒト胚性幹細胞（ES細胞）に着目した。もし、ヒトES細胞から効率良く大量の成熟血球（赤血球、好中球、血小板）を分化誘導することが可能となれば、現在輸血事業において問題となっている多くの案件を解決することができる。特にこれらの輸血製剤はHLAに係らず使用できるため、必ずしも多数のヒトES細胞を用意する必要がなく、その過程でクローン胚が作製される危険性もない。したがって、倫理的に十分に考慮された条件下でのヒトES細胞の作製が可能となった現在、極めて実現可能な人工血液の産生法と考えられる。

我々は、ヒトES細胞を血液細胞へ分化誘導するためには、ヒトES細胞がたどるであろう胎生期造血を再現することが重要であると考えた。しかし、胎生期造血は、造血の場を次々かえながら、次第に発達していくことが知られており、そのこと自体、胎生期

造血の発達には、適した造血環境が極めて重要であることを示唆している。そこで我々は、ヒトES細胞から効率的に血液細胞を分化誘導するためには、胎生期の造血環境の中心的役割を担っているストローマを *in vitro* で再構築するのがよいのではないかと着想した。

当然のことながら、ヒト胎児組織からストローマ細胞を樹立することは、倫理的に許されないが、マウスのストローマ細胞には、ヒト造血細胞にも作用するものが多数存在する。そこで、マウス胎仔の造血組織よりストローマ細胞を樹立し、このストローマ細胞との共培養により、ヒトES細胞から効率的に血液細胞へ分化誘導できるのではないかと考えた。

マウスの胎生期造血は、卵黄嚢に発生し、胎生初期造血を担う一次造血と、その後の一生にわたる造血を支えることになる二次造血にわけられる。二次造血は、マウス胎仔の胎生10日のAGM (Aorta-Gonad-Mesonephros) 領域に発生し、その後、造血の場を胎仔肝に移し、爆発的に増幅した後、脾臓、骨髄へ移動し、それ以降の一生にわたる造血を担うことになる。

そこで、マウス胎仔肝からストローマ細胞を培養し、ヒトES細胞をこのストローマ細胞と共培養することにより、ヒトES細胞から造血細胞への

分化誘導を計画した。

B. 研究方法

1. マウス胎仔肝由来ストローマ細胞の培養

胎生 14.5-16.5 日のマウス胎仔肝から分離された細胞を付着培養し、ストローマ細胞の樹立し、以下の検討を行った。

① 形態学的観察

② 免疫細胞学的検討

α -fetoprotein (AFP)、アルブミンの発現の検討

③ フローサイトメトリーによる検討

Sca-1、CD13、CD31、CD34、CD49d、VE-カドヘリン (VE-Cad) の発現の検討

2. ヒト ES 細胞とマウス胎仔肝由来ストローマ細胞の共培養

マウス胎仔繊維芽細胞 (MEF: mouse embryonic fibroblast) で維持された未分化なヒト ES 細胞 (資料 1) を、樹立されたマウス胎仔肝由来ストローマ細胞と共培養し、その経時的変化を観察した。また、共培養系における造血細胞の産生を以下の方法で検討

した。

① RT-PCR

MEF で維持された未分化なヒト ES 細胞とマウス胎仔肝由来ストローマ細胞を共培養し、培養 0、3、5、13 日目の OCT-4、Brachury、AFP、Nestin、LMO-2、KDR、c-kit、GATA-2 の発現を解析した。

② フローサイトメトリー

MEF で維持された未分化なヒト ES 細胞とマウス胎仔肝由来ストローマ細胞を共培養し、培養 14 日目の培養細胞における CD34、CD31、CD38、CD45、CD126、CD130、c-Kit、glycophorin A (GPA) の発現を解析した。

③ コロニー形成法

ヒト ES 細胞とマウス胎仔肝由来ストローマ細胞の共培養中の細胞を、stem cell factor (SCF)、Flk2/Flt3 (FL)、interleukin (IL)-3、IL-6、granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF)、エリスロポエチン、トロンボポエチン存在下で、経時的にメチルセルロース培養し、ヒト血液細胞コロニー形成細胞の産生を検討した。形成されたヒト血液細胞コロニーについては、コロニー毎にサイトスピン標本を作製し、形態学的観察を行った。また、赤血球系コロ

ニーについては、 β グロビンを発現する赤血球の有無を、免疫染色により検討した。

3. 胎仔肝以外のマウス胎生期造血臓器 (AGM 領域および骨髄) 由来ストローマ細胞とマウス胎仔肝由来ストローマ細胞のヒト ES 細胞の分化に及ぼす影響の比較検討

胎生 11~12 日のマウス胎仔の AGM 領域、あるいは、胎生 18~19 日のマウス胎仔骨髄からストローマ細胞を樹立し、ヒト ES 細胞と共培養する。これらの共培養系における血液細胞の産生について、胎生 14~15 日のマウス胎仔肝由来ストローマ細胞との共培養と比較する。

4. マウス胎仔肝由来ストローマ細胞を継代し、cell line 化を試みる。

(倫理面への配慮)

本研究の遂行にあたっては、「ヒト ES 細胞の樹立および使用に関する指針」を遵守して実施された。なお、本研究の過程において、クローン胚が作製される危険性はない。

本研究計画は、東京大学バイオサイエンス委員会ヒト生殖・クローン専門委員会の承認を得た後、平成 14 年 12 月 20 日に文部科学省特定胚及びヒト ES 細胞研究専門委員会にて承認され

た。

C. 研究結果

1. ヒト ES 細胞の維持

ヒト ES 細胞は、マウス胎仔繊維芽細胞 (MEF: mouse embryonic fibroblast) との共培養により、比較的容易に未分化性を保持したまま、維持培養することが可能であった (資料 1)。

2. マウス胎仔肝由来ストローマ細胞の培養

胎生 14~15 日のマウス胎仔の胎仔肝から分離された細胞を付着培養することにより、ストローマ細胞を樹立することができた。

2. 樹立されたマウス胎仔肝由来ストローマ細胞の characterization

① 形態学的観察 (資料 2)

胎生 14~15 日のマウス胎仔肝由来のストローマ細胞は、形態学的には、大型の扁平な細胞と、紡錘形の細胞の、少なくとも 2 種類の細胞が存在すると推測された。

② 免疫細胞学的検討 (資料 3)

胎生 14~15 日のマウス胎仔肝由来のストローマ細胞の一部は、AFP やア

ルブミンを持ったヘパトサイトであると考えられた。

③ フローサイトメトリーによる検討 (資料 4)

胎生 14~15 日のマウス胎仔肝由来のストローマ細胞は、一部に Sca-1、CD13、CD31、CD34、CD49d、VE-Cad などの内皮細胞のマーカーを発現していた。

2. ヒト ES 細胞とマウス胎仔肝由来ストローマ細胞との共培養

① 共培養系の形態学的観察 (資料 5)

MEF で維持された未分化なヒト ES 細胞を、マウス胎仔肝由来ストローマ細胞と共培養すると、最初の培養 2~3 日の間は、ヒト ES 細胞は未分化な形態を維持しつつ増殖を続けたが、培養 3~5 日目頃より分化を開始した。特に、比較的小型の円形細胞は急速に増加、蓄積し、次第に膨隆するように増殖するようになった。培養 11~12 日目頃には、小型円形細胞を内包するような嚢胞状の cobble stone area (CSA) が出現し、その数は次第に増加した。

② 共培養中の培養細胞の RT-PCR による解析 (資料 6)

ヒト ES 細胞とマウス ES 細胞の共培養系において、培養 13 日目には、AFP、

Nestin、LMO-2、KDR、c-kit、GATA-2 の発現は認められたが、未分化な ES 細胞のマーカーである OCT-4、あるいは、未分化な内胚葉系細胞のマーカーである Brachury の発現は認められなかった。

③ 共培養中の培養細胞のフローサイトメトリーによる解析 (資料 7)

培養 14 日目のヒト ES 細胞とマウス ES 細胞の共培養系中には、ヒト CD34 を発現する細胞が $4.8 \pm 2.8\%$ ($n=6$) 存在した。その多くは、CD13、CD31 を発現していたが、一部の CD34+細胞は、CD45、c-Kit を発現していた。また、CD34-/GPA+細胞も認められた。

④ 共培養中の培養細胞のコロニーアッセイによる解析

マウス胎仔肝由来ストローマ細胞、あるいは NEF で維持された未分化なヒト ES 細胞をメチルセルロース培養しても、ヒト血液細胞コロニーは形成されなかった (資料 8)。

未分化なヒト ES 細胞をマウス胎仔肝由来ストローマ細胞と共培養し、経時的に採取された培養細胞をコロニー培養しても、培養 10 日以前にはほとんど血液細胞コロニーは形成されなかった (資料 8)。しかし、培養 11~12 日以降の培養細胞では、多数の血液細胞コロニーが形成された (資料 9)。

形成されたコロニーを解析すると、顆粒球コロニー、マクロファージコロニー、顆粒球・マクロファージコロニー、赤血球コロニー、混合コロニー等、様々な血液細胞コロニーが形成されていた(資料 10)。

血液細胞コロニー形成細胞は、培養 12~15 日に最もよく産生されたが、培養 28 日でもなお産生が認められた。

個々の赤血球コロニー、混合コロニー中には、脱核した成熟赤血球も認められた(資料 11)。また、赤血球に発現されている β グロビンを免疫染色により検討してみると、ほとんどのコロニーにおいて、 β グロビンを発現する赤血球が観察された(資料 12)。このことは、本培養系で、ヒト ES 細胞から産生されるほとんどの赤血球系前駆細胞、および多能性造血前駆細胞は、二次造血を起源としていることを示している。

以上の結果より、マウス胎仔肝由来ストローマ細胞を用いた共培養系により、ヒト ES 細胞から、二次造血を起源とする多能性造血前駆細胞を含む種々の造血前駆細胞が分化誘導されたことと考えられた。

3. 胎仔肝以外のマウス胎生期造血臓器(AGM 領域および骨髄)由来ストローマ細胞とマウス胎仔肝由来ストローマ細胞のヒト ES 細胞の分化に及ぼす

影響の比較検討

胎生 11~12 日のマウス胎仔の AGM 領域、あるいは、胎生 18~19 日のマウス胎仔骨髄からも、ストローマ細胞の樹立は可能ではあったが、マウス AGM 領域からストローマ細胞を樹立することは、技術的に難しく、その維持も容易ではなかった。また、マウス AGM 領域から、大量のストローマ細胞を樹立することは困難であった。

ヒト ES 細胞を、マウス胎仔骨髄から樹立されたストローマ細胞と共培養しても、血液細胞への分化誘導はほとんど認められなかった。一方、AGM 領域由来のストローマ細胞は、胎仔肝由来のストローマ細胞とほぼ同等の分化誘導能を有していた。

4. マウス胎仔肝由来ストローマ細胞の cell line 化

胎生 14~15 日のマウス胎仔肝由来のストローマ細胞を継代することにより、数株の cell line を樹立することができたが、いずれの cell line と共培養しても、ヒト ES 細胞は血液細胞を産生することはできなかった。

D. 考察

胎生期造血においては、生物の一生を担うことになる二次造血は、胎児肝

胎生期造血においては、生物の一生を担うことになる二次造血は、胎児肝において、劇的に増幅する。このことは、未分化な造血細胞は、胎児肝という造血環境で、著明に分化・増殖することを示している。また、従来より、マウスストローマ細胞の多くは、ヒト造血細胞にも作用することが知られている。そこで、マウス胎仔肝から樹立されたストローマ細胞との共培養系により、ヒト ES 細胞を効率的に血液細胞に分化・増殖することを試みた。その結果、胎生 14~15 日のマウス胎仔肝よりストローマ細胞の樹立に成功した。

そこで、ヒト ES 細胞を、樹立されたマウス胎仔肝由来ストローマ細胞と共培養し、ヒト ES 細胞からの造血細胞の産生について検討した。

共培養中の培養細胞における RT-PCR の検討では、培養 13 日目には、未分化な ES 細胞のマーカである OCT-4 の発現は消失していた。このことは、未分化なヒト ES 細胞は、マウス胎仔肝由来ストローマ細胞との共培養により、次第に未分化性を失い、分化することを意味すると同時に、培養 14 日目以降の本培養系に、未分化な ES 細胞が残存している可能性は低いことを示している。

また、培養 14 日目のヒト ES 細胞と

マウス胎仔肝由来ストローマ細胞な共培養中には、ヒト ES 細胞から産生されたと考えられるヒト CD34 細胞が認められ、それらは内皮細胞のマーカばかりでなく、ヒト CD45 のような血液細胞マーカも発現していた。また、CD34-細胞の中には、GPA を発現する赤血球系細胞も認められた。

ヒト ES 細胞とマウス胎仔肝由来ストローマ細胞の共培養中の培養細胞のヒト血液細胞コロニー形成能を検討してみると、培養 10 日以前には、ヒト血液細胞コロニー形成細胞はほとんど認められなかったが、培養 11 日以降には種々のヒト血液細胞コロニー形成細胞が産生された。これらの中には、顆粒球コロニー形成細胞、マクロファージコロニー形成細胞、顆粒球・マクロファージコロニー形成細胞、赤血球コロニー形成細胞、混合コロニー形成細胞等、様々な血液細胞コロニー形成が含まれており、このことより、ヒト ES 細胞は、マウス胎仔肝由来ストローマ細胞との共培養系により、多能性造血前駆細胞を含む種々の造血前駆細胞に分化誘導されたと考えられる。

特に、赤血球コロニー、および混合コロニー中に含まれる赤血球の中には、脱核した成熟赤血球も認められ、大部分のコロニーが、 β グロビンを発現する赤血球を含んでいた。これらの

ことから、本培養系によりヒト ES 細胞から産生されたほとんどの赤血球系前駆細胞、および多能性造血前駆細胞は、二次造血を起源としていることが明らかとなった。しかし、胎生期の二次造血の造血前駆細胞の中には、hematogenic endothelial cell から直接産生されるものが存在することを考慮すると、これらの造血前駆細胞が、ヒト ES 細胞由来の造血幹細胞から分化したものではなく、中胚葉系細胞から直接発生した細胞である可能性も残されてはいる。

ただ、そうした造血前駆細胞の由来は別として、これらの前駆細胞のほとんどが、成人血液と同じく、二次造血を起源としているということは、本共培養系において分化誘導された血液細胞を、輸血用血液として使用可能であることを示唆している。また、本分化誘導法では、赤血球ばかりでなく、ほとんど全ての血液細胞も分化誘導された。その中に好中球も含まれており、これらの好中球を利用することにより、これまで、重症感染症に対する有用性がみとめられながら、ドナー確保が困難なために実施されてこなかった好中球輸注が可能となるかもしれない。

今後は、ヒト ES 細胞から産生された血液細胞が、輸血用血液として使用可能な機能を有しているかいなかを

検討していく必要がある。

マウス胎仔肝由来ストローマ細胞のヒト ES 細胞から血液細胞への分化誘導能を、マウス胎仔 AGM 領域あるいは骨髄由来ストローマ細胞と比較してみると、マウス胎仔 AGM 領域由来ストローマ細胞も、マウス胎仔肝由来ストローマ細胞とほぼ同等の能力を有していた。しかし、マウス胎仔 AGM 領域由来ストローマ細胞の樹立、維持は、マウス胎仔肝由来ストローマ細胞と比較して難しく、樹立されるストローマ細胞数も少ないため、大量の cell processing には、マウス胎仔肝ストローマ細胞の方がすぐれていると考えられた。

将来、マウス胎仔肝ストローマ細胞を用いた分化誘導法を臨床応用していくためには、その分化誘導能を担っている分子の同定と、これを用いた分化誘導法の確立が必須である。そこで、マウス胎仔肝由来ストローマ細胞を characterize するために、その cell line 化を試みた。しかし、ヒト ES 細胞から血液細胞への分化誘導能を保持したままの cell line 化はこんなであった。その理由としては、以下のようなことが考えられる。

1) ヒト ES 細胞から血液細胞への分化誘導を担うストローマ細胞は、胎生

期の特定の時期にのみ出現するため、長期培養することができない。

2) マウス胎仔肝由来のストローマ細胞上のヒト ES 細胞から血液細胞への分化誘導を担う分子は、一過性にしか発現しないため、長期培養の間に消失してしまう。

3) ヒト ES 細胞から血液細胞への分化誘導は、単一の細胞ではなく、2種類以上の細胞による協同作用によるため、クローニングされたストローマ細胞単独では、ヒト ES 細胞を血液細胞へ分化誘導できない。

実際、胎生 14~15 日のマウス胎仔肝由来ストローマ細胞は、形態学的観察では、少なくとも2種類の細胞が混在していると推測された。また、細胞免疫学的解析やフローサイトメトリーによる検討では、ヘパトサイトと内皮細胞が存在することが確認された。

E. 結論

1) ヒト ES 細胞を、胎生 14~15 日のマウス胎仔肝由来ストローマ細胞と共培養することにより、赤血球系前駆細胞、骨髄球系前駆細胞、さらには、複数の血液細胞に分化可能な多能性造血前駆細胞に分化誘導できた。これらのヒト ES 細胞由来の造血前駆細胞の多くは、成人血液と同じ二次造血を

起源とし、成熟赤血球の産生も可能であったことより、輸血用血液の新たな供給源となることが期待される。

2) マウス胎仔肝由来のストローマ細胞には、少なくともヘパトサイトと内皮細胞が混在しており、それらの細胞の協同作用によりヒト ES 細胞は血液細胞に分化誘導されると推測された。今後、さらにマウス胎仔肝由来ストローマ細胞の characterization を進めることにより、ヒト ES 細胞から血液細胞への分化誘導を担っている分子を同定し、異種動物のストローマに依存しない、ヒト ES 細胞からの血液細胞産生法を確立していく必要がある。

F. 健康危険情報

該当なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

(雑誌)

Human placenta-derived cells have mesenchymal stem/progenitor cell potential.

Fukuchi Y, Nakajima H, Sugiyama D,

Hirose I, Kitamura T, Tsuji K:
Stem Cells 22: 649-648, 2004.

Viral infections in juvenile
myelomonocytic leukemia: Prevalence
and clinical implications.

Manabe A, Yoshimasu T, Ebihara Y,
Yagasaki H, Wada M, Ishikawa K, Hara J,
Koike K, Moritake H, Park Y-D, Tsuji K,
Nakahata T:

J Pediatr Hematol Oncol 26: 636-641,
2004

Role of Dok-1 and Dok-2 in myeloid
homeostasis and suppression of leukemia.

Yasuda T, Shirakata M, Iwama A, Ishii
A, Ebihara Y, Osawa M, Honda K,
Shinohara H, Sudo K, Tsuji K, Nakauchi
H, Iwakura Y, Hirai H, Oda H,
Yamamoto T, Yamanashi Y:

J Exp Med 200: 1681-1687, 2004.

RAS-blocking bisphosphonate
zoledronic acid inhibits the abnormal
proliferation and differentiation of
juvenile myelomonocytic leukemia cells
in vitro.

Ohtsuka Y, Manabe A, Kawasaki H,
Hasegawa D, Zaike Y, Watanabe S,
Tanizawa T, Nakahata T, Tsuji K:

Blood 106: 3134-3141, 2005.

Definitive hematopoiesis from acetyl

LDL incorporating endothelial cells in
the mouse embryo.

Sugiyama D, Arai K, Tsuji K:

Stem Cells and Development 14:
687-696, 2005.

Methylation status of the *p15* and *p16*
genes in paediatric myelodysplastic
syndrome and juvenile myelomonocytic
leukaemia.

Hasegawa D, Manabe A, Kubota T,
Kawasaki H, Hirose I, Ohtsuka Y,
Tsuruta T, Ebihara Y, Goto Y, Zhao XY,
Sakashita K, Koike K, Isomura M,
Kojima S, Hoshika A, Tsuji K, Nakahata
T.

Br J Haematol 128: 805-812. 2005

Definitive hematopoiesis from
endothelial cells in mouse embryo: A
simple guidance.

Sugiyama D, Tsuji K:

Trends Cardiovas Med, in press.

Novel method for efficient production of
multipotential hematopoietic progenitors
from human embryonic stem cells.

Ma F, Wang D, Hanada S, Ebihara Y,
Kawasaki H, Zaike Y, Heike T,
Nakahata T, Tsuji K:

Blood, in press.

CD7/CD13 陽性急性分類不能型白血病.
長谷川大輔、真部淳、鶴田敏久、大塚
欣敏、海老原康博、河崎裕英、有瀧健
太郎、松浦恵子、星加明德、辻浩一郎：
日小血会誌 18：155-159, 2004.

後天性サイトメガロウイルス感染症
小児に合併した免疫学的血小板減少
性紫斑病.
河崎裕英、峰研治、野田幸弘、中野崇
秀：
日小血会誌 18：561-565, 2004.

ヒト胚性幹細胞からの血液産生と再
生医療
辻浩一郎：
日小血会誌 19：175-180, 2005.

造血幹細胞
辻浩一郎：
最新医学 60：1695-1700, 2005.

JMML に対するビスフォスフォネート
の効果
大塚欣敏、辻浩一郎：
血液・腫瘍科 52：97-103, 2006.

Embryonic stem cell の造血幹細胞移
植への応用
辻浩一郎：
今日の移植 19：51-58, 2006.

ヒト ES 細胞からの血液細胞の産生
辻浩一郎：
臨床血液、印刷中

末梢血幹細胞
辻浩一郎：
血液・腫瘍科、印刷中

がんの細胞療法
日本アフエレス学会雑誌、印刷中
(著書)

造血幹細胞並びにサイトカインの基
礎と応用.
辻浩一郎：
必携造血幹細胞移植—わが国のエビ
デンスを中心に—、小寺良尚、加藤俊
一編、
医学書院（東京）：21-34, 2004.

造血幹細胞.
辻浩一郎：
血液の辞典、平井久丸、押味和夫、坂
田洋一編、
朝倉書店（東京）：39-41, 2004.

造血幹細胞と血液の分化.
辻浩一郎：
血液細胞アトラス、三輪史朗、渡辺陽
之輔編、
文光堂（東京）：30-32, 2004.

小児白血病.

辻浩一郎 :

白血病はこわくない、
丸善 (東京) : 64-75, 2004.

遺伝子治療

辻浩一郎 :

よく理解できる子どものがん一診療
から看護ケアまで一、別所文雄、横森
欣司編、永井書店 (東京) : 印刷中

臍帯血と胎生期造血

辻浩一郎 :

臍帯血移植の基礎と臨床、浅野茂隆、
谷口克、中畑龍俊編、医学書院 (東
京) : 印刷中

幹細胞をめぐる現状と展望

辻浩一郎 :

Annual Review 呼吸器 2007、工藤翔二、
土屋了介、金沢実、大田健編、中外医
学社 (東京)、印刷中

2. 学会発表

(学会)

Bisphosphonate Zoledronic acid (ZOL)
inhibits the abnormal proliferation and
differentiation of juvenile
myelomonocytic leukemia (JMML) cells.
Ohtsuka Y, Manabe A, Kawasaki H,

Watanabe S, Zaike Y, Hasegawa D,
Miyazaki T, Tanizawa T, Nakahata T,
Tsuji K

46th Annual Meeting, American Society
of Hematology,
San Diego, December 4-7, 2004

The effect of prolactin on the
proliferation and differentiation of
erythroid progenitors from hematopoietic
stem cells in Diamond-Blackfan anemia.

Kawasaki H, Noda Y, Nakano T,
Kobayashi Y, Tsuji K:

9th Congress of the European
Hematology Association,
Geneva, June 10-13, 2004.

A novel method for the efficient
production of multipotential
hematopoietic progenitors from human
embryonic stem cells by co-culture with
murine fetal liver-derived stromal cells.

Ma F, Wang D, Hanada S, Kawasaki H,
Zaike Y, Heike T, Kitamura T, Nakahata
T, Tsuji K:

47th Annual Meeting, American Society
of Hematology,
Atlanta, December 10-13, 2005.

小児骨髄異形成症候群 (MDS) 及び若
年性骨髄単球性白血病 (JMML) にお
ける p15 メチル化の検討

長谷川大輔、真部淳、久保田健夫、河崎裕英、大塚欣敏、磯村万理子、小島勢二、辻浩一郎、中畑龍俊：

第46回日本血液学会
京都、2004年9月

若年性骨髄単球性白血病（JMML）におけるビスフォスフォネート製剤の検討

大塚欣敏、真部淳、長谷川大輔、河崎裕英、辻浩一郎：
第46回日本臨床血液学会
京都、2004年9月

非血縁者間同種骨髄移植後の再発に対してドナーリンパ球輸注（DLI）を行った3例

河崎裕英、大塚欣敏、長谷川大輔、鶴田敏久、真部淳、海老原康博、辻浩一郎：
第46回日本小児血液学会
京都、2004年11月

フィラデルフィア染色体陽性急性リンパ性白血病（Ph+ ALL）の治療：TCCSG L99-15

真部淳、河崎裕英、矢部普正、小原明、高橋浩之、生田孝一郎、斉藤友博、土田昌：
第46回日本小児血液学会
京都、2004年11月

非血縁者間同種骨髄移植後の再発に対するドナーリンパ球輸注（DLI）の臨床検討

河崎裕英、長谷川大輔、大塚欣敏、鶴田敏久、真部淳、海老原康博、辻浩一郎：

第108回日本小児科学会学術集会
東京、2005年4月

リンパ腫様肉芽腫症の1例

河崎裕英、内丸薫、高橋聡、東條有伸、辻浩一郎：
第47回日本臨床血液学会総会
横浜、2005年9月

JMMLにおける赤芽球系コロニー形成能の検討

長谷川大輔、真部淳、石川久実子、和田美夏、谷ヶ崎博、吉益哲、河崎裕英、海老原康博、中畑龍俊、辻浩一郎、
第47回日本臨床血液学会総会
横浜、2005年9月

若年性骨髄単球性白血病（JMML）における赤芽球系コロニー形成に対するビスフォスフォネート製剤の効果

大塚欣敏、浅野由美、金田由美、竹田洋樹、森田直子、長谷川大輔、河崎裕英、真部淳、辻浩一郎、谷澤隆邦：
第47回日本臨床血液学会総会
横浜、2005年9月

小児におけるリンパ腫様肉芽腫症
河崎裕英、辻浩一郎：
第 47 回日本小児血液学会総会
宇都宮、2005 年 11 月

(シンポジウム・ワークショップ)

A novel method for the efficient
production of multipotential
hematopoietic progenitors from human
embryonic stem cells by co-culture with
murine fetal liver-derived stromal cells.

Tsuji K:

12th East Asia Joint Symposium on
Biomedical Research.

Shao Xing, Nov 20-23, 2005.

A novel method for the efficient
production of multipotential
hematopoietic progenitors from human
embryonic stem cells by co-culture with
murine fetal liver-derived stromal cells.

Ma F, Wang D, Hanada S, Kawasaki H,
Zaike Y, Heike T, Kitamura T, Nakahata
T, Tsuji K:

International Symposium on Germ Cells,
Reprogramming and Embryonic Stem
Cells.

Kyoto, Nov 10-13, 2005.

ヒト ES 細胞から血液細胞への分化誘
導.

辻浩一郎

第 46 回日本小児血液学会シンポジウ
ム「小児血液研究の進歩」

2004 年 11 月

ヒト胚性幹細胞からの血液細胞の産
生.

辻浩一郎：

第 47 回日本臨床血液学会総会シンポ
ジウム「体性 (胚性) 幹細胞と再生医
療：現状と将来展望」

横浜、2005 年 9 月

造血幹細胞由来の繊維芽細胞とその
前駆細胞.

海老原康博、榊屋正浩、南口仁志、辻
浩一郎、小川真紀雄：

第 67 回日本血液学会総会ワークショ
ップ「造血幹細胞とその分化」

横浜、2005 年 9 月 17-19 日

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定
を含む)

1. 特許取得

米国プロビジュアル出願 (60/728,665)

Method of producing multipotential
hematopoietic progenitors.

Kohichiro Tsuji, Feng Ma:

平成 17 年 10 月 19 日

2. 実用新案登録
該当なし。

3. その他
該当なし。

(資料1) ヒトES細胞

