

平成18年度

政策創薬総合研究  
重点研究報告書（Ⅱ）

平成18年度

政策創薬総合研究

重点研究報告書（Ⅱ）

# 目 次

KH51039	臍帯血移植患者へのドナーリンパ球輸注療法 (DLI) の実用化	藤原成悦 ……	589
KH51041	C型肝炎ウイルスの感染・複製系の確立とその応用による抗ウイルス療法の開発	脇田隆宇 ……	636
KH51042	個体特性に着目した食品成分の骨粗鬆症に対する予防効果に関する研究	石見佳子 ……	656
KH51043	食品からの食中毒起因菌の高感度迅速検出法の開発とリスクマネージメントへの応用	山本茂貴 ……	671
KH51044	食品添加物等の新機能性に関する研究	広瀬雅雄 ……	680
KH51045	新規ミスマッチDNA特異的修飾試薬を用いた全ゲノムからの既知および未知の生活習慣病関連遺伝子のSNPs検出システムの開発	池田康行 ……	691
KH51046	気管支喘息、慢性閉塞性肺疾患 (COPD) 重症化機序の分子細胞システムとしての理解に基づく新たな制御方法の確立に関する研究	松本健治 ……	707
KH51048	新しい粘膜アジュバントおよび粘膜ワクチンの開発に関する研究	長谷川秀樹 ……	720
KH51049	バイオテクノロジーによるワクチンの創製と改良技術の開発	松浦善治 ……	728
KH51050	可溶性ウイルス受容体等を利用した抗ウイルス剤の開発に関する研究	田口文広 ……	740
KH51051	ワクチン創生の新テクノロジーと新規ワクチンの開発	小島朝人 ……	761
KH51052	脂質輸送を制御する生活習慣病予防薬開発のための基礎的研究	最上知子 ……	772
KH51054	核酸封入ナノカプセルによるウイルス消毒薬、抗ウイルス薬の創薬に関する研究	武田直和 ……	783
KH51055	siRNA発現ライブラリーによる新興・再興感染症の原因ウイルスの複製に必須な遺伝子の検索および創薬への応用	森川 茂 ……	795
KH51057	血管新生の制御による虚血系疾患治療薬の開発に関する基礎的研究	新見伸吾 ……	814
KH51058	天然抗酸化剤を利用した創薬化学	福原 潔 ……	826
KH51102	内因性幹細胞の動員、生着、心筋分化による重症心不全・再生療法の確立	長谷川浩二 ……	836
KH61059	幹細胞等を用いた細胞組織医療機器の開発と評価技術の標準化	土屋利江 ……	839
KH61060	新しい修飾技術を用いた再生医療用生物由来素材の開発	岸田晶夫 ……	919
KH61061	霊長類ES細胞の無フィーダー、無血清培養を用いた新しい未分化維持増殖培養法と血液細胞分化制御系の開発	湯尾 明 ……	939
KH71063	臓器移植患者の小腸及び肝組織を用いた遺伝子機能解析に基づくテラーメイド免疫抑制療法の確立に関する研究	乾 賢一 ……	951
KH71064	ヒト細胞を供給源とした再生医療の早期実現化を目指す有効性、安全性の検証システムの確立	梅澤明弘 ……	966

KH71066	創薬基盤としての公共的ヒト組織バンクを中心とした肝組織・細胞の研究利用システムの構築	絵野沢 伸 ……	979
KH71068	ヒト型遺伝毒性試験系の開発とそのバリデーション	本間正充 ……	1000
KH71069	高機能保持ヒト肝細胞組込細胞チップとナノセンサーによる新薬開発における薬物動態・毒性を評価する新規バイオセンサーの開発	永森静志 ……	1021
KH71070	ケミカルゲノミクスによる難治固形癌に有効な主要抗癌剤の薬効貢献分子の探索と発見された分子を標的とする次世代抗癌剤の開発	西尾和人 ……	1042
KH71071	外科手術摘出ヒト組織を用いたオーダーメイド医療の研究と遺伝多型を考慮したヒト肝細胞の代謝研究への応用に関する研究	大野泰雄 ……	1054
KH72077	ヒト胎盤組織を用いた薬物の胎児移行性及び胎児毒性の定量的評価	澤田康文 ……	1070
KHB1201	タンパクリン酸化酵素SIKの糖・脂質代謝における役割と創薬標的評価系の開発	竹森 洋 ……	1080
KHB1202	家族性黄斑変性カニクイザルを用いた加齢黄斑変性の新規治療及び予防薬の開発	寺尾恵治 ……	1086
KHC1203	弱毒性ウイルスワクチンの品質向上、生産性向上に関する研究	大隈邦夫 ……	1090
KHC1204	チオレドキシシンなど抗酸化反応性活性酸素種処理分子の高発現を促す新しい健康増進医薬の開発	井上 達 ……	1096
KHC2206	腹膜癒着予防剤の開発と応用	土肥多恵子 ……	1106
KHD1205	ヒト乾燥羊膜の機能再生医療材料への実用化に関する研究	阿久津英憲 ……	1111
KHD2207	ヒト由来細胞・組織バンクの活用拡大のためのシステム構築と研究資源の高度化に関する研究	後藤雄一 ……	1115

## 霊長類ES細胞の無フィーダー、無血清培養を用いた新しい未分化維持増殖培養法と血液細胞分化制御系の開発

所属 国立国際医療センター研究所血液疾患研究部  
研究者 湯尾 明  
研究期間 平成16年4月～平成19年3月

**研究要旨** 霊長類胚性幹細胞 (embryonic stem cell (ES 細胞)) はその無限増殖能と多能性分化能とから再生医療における有望な材料と期待されているが、異種動物由来の成分 (マウス由来フィーダー細胞やウシ胎児血清) の混入を回避する方策が急務である。本研究では、主にカニクイザル ES 細胞を用いて、無血清無フィーダーで未分化状態と細胞増殖を維持することを目指すとともに、そこから無血清無フィーダー環境において血液細胞の分化誘導を行った。未分化維持継代培養に関しては、カニクイザル ES 細胞とヒト ES 細胞を用いて、無血清、無フィーダー、無サイトカインで長期維持が達成できた。また、新規合成化合物を用いたサル ES 細胞の長期維持も達成した。一方、血細胞分化に関しては、サル ES 細胞から無フィーダー無血清環境において血液細胞 (とりわけ好中球) を効率よく分化誘導させるための無フィーダー培養系が構築された。前半の胚様体などの細胞凝集塊形成に引き続き後半の無フィーダー平面培養に移行する培養システムで、浮遊細胞の9割が CD45 陽性血液細胞 (半数以上が未分化芽球、10-40% 成熟好中球) の状態で長期間維持でき、凍結融解も可能であった。

分担研究者

(1) 田辺製薬 (株) 先端医学研究所 近藤 靖

### A. 研究目的

安全で高品質な血液成分を医療材料として安定して供給することは現代医療における重要な課題であり、人工的に血液細胞成分 (特に好中球) を作成する技術の開発は国民の保健と福祉の向上につながる。胚性幹細胞 (embryonic stem cell (ES 細胞)) はその無限増殖能と多能性分化能とから再生医療における有望な材料と期待されている。すでにマウス ES 細胞から試験管内で成体組織の作成が報告され、昨今は、霊長類 ES 細胞の研究が注目されている。しかし、再生医療への応用のためには、異種動物細胞 (マウス由来フィーダー細胞) の混入を回避する方策が急務である。また、BSE 問題からも明白なようにウシ胎児血清成分の排除も重要である

本研究では、カニクイザル ES 細胞を用いて、無血清、無フィーダーで未分化状態を維持することと無フィーダーで血液細胞を分化誘導することを目指した。

### B. 研究方法

#### 1. 未分化維持増殖培養法

サル ES 細胞は、京都大学再生医科学研究所と田辺製薬で樹立された CMK6 株を用いた。

未分化サル ES 細胞の無血清、無フィーダー培養においては、無血清培地 (KSR 含有) の中で、放射線照射した ICR マウスの MEF をフィーダーとして継代した後に、無フィーダー培養に移行した。無フィーダー培養の場合の培養皿の表面コートはマトリゲルにより行った。

サル ES 細胞の無血清無フィーダー培養の条件は、Noggin と FGF 添加で行った。さらに、これらのサイトカインを全く添加しない条件にも挑戦した。

ヒト ES 細胞の未分化維持に関しては、樹立機関である京都大学再生医科学研究所から分配を受けた3株 (KhES-1、KhES-2、KhES-3) で検討を行った。ヒト ES 細胞の場合も、無血清培地 (KSR 含有) で培養した。フィーダーは ICR マウスの MEF を原則として放射線照射して用いたが、一部の実験において MMC 処理も行った。

未分化状態の評価は、形態、SSEA4 の発現、Oct3/4 の発現、Nanog の発現、アルカリホスファターゼ染色、等によって行った。多分化能の評価は、テラトーマ形成能によって行った。

また、新規合成低分子化合物のマウスおよびサ

ル ES 細胞に対する未分化維持効果の検定も行った。

## 2. 血液細胞分化誘導培養法

フィーダー細胞としては、OP9 細胞、C3H 10T 1/2 細胞、ヒト初代間葉系幹細胞をフィーダー細胞として用いた。

無フィーダー分化培養の新しい試みとして conditioned dish を作成して用いた。さらに、高品質の無フィーダー培養として、ゼラチンコートディッシュも検討した。

無フィーダー培養の 1 つとして重要な embryoid body (2 週間程度の長期の系) もしくは短期間 (3 - 7 日間) の細胞凝集塊の形成を行った。これらの系を行った後、細胞凝集塊をほぐさずに、無フィーダー培養系へ移行する手法を新たに試みた。

用いた手法は、前半の細胞凝集塊作成法によって大きく 4 種類に分類された。細胞凝集塊を hanging drop 法、96 穴プレート法で、Bhatia らの手法、当研究室独自の方法 (佐伯晃一研究員による) で行い、その後平面培養に移行した。後半の平面培養は、OP9 細胞との共培養、OP9 細胞の conditioned dish、ゼラチンコートディッシュ、マトリゲルコートディッシュ、ヒト初代間葉系幹細胞との共培養、10T 1/2 細胞との共培養、10T 1/2 細胞の conditioned dish、などであった。

サイトカイン、増殖因子は、分化誘導系によって、文献などを参考に異なるものを用いた。hanging drop 法による場合は、VEGF、BMP-4、SCF、FL、IL-3、IL-6 を用いた。96 穴プレート法による場合は、IGF2、VEGF、BMP-4、SCF、FL、IL-6 を用いた。Bhatia らの手法による場合は、BMP-4、SCF、FL、IL-3、IL-6、G-CSF を用いた。当研究室佐伯の手法による場合は、IGF2、VEGF、SCF、FL、TPO、G-CSF を用いた。

分化の判定は、形態、表面抗原、等によった。細胞の形態や同定は、ライトギムザ染色やその他の特殊染色 (ミエロペルオキシダーゼ染色、ナフチルプチレート染色、ナフトール ASD クロルアセテート染色、好中球アルカリフォスファターゼ染色) により行った。CD34、CD45 等の表面抗原は BD 社の FACSCalibur により行った。貪食能は、ラテックスビーズもしくはザイモザンの貪食により同定した。活性酸素産生能は、NBT 還元能により定量した。遊走能は、ケモタキセル (クラボウ社製) を用いて行い、遊走因子は FMLP、IL-8、LTB4 を用いた。造血コロニーアッセイは、市販のキットを用いて行った。

(倫理面への配慮)

本研究では患者検体は使用しないし、臨床研究もない。また、ヒトのクローンなどの生命倫理に抵触するような実験、研究はいっさい含まれない。動物実験を行う際には当機関の当該規定を責任を持って遵守する。ヒト ES 細胞研究を開始するにあたっては、研究者全員が生命倫理に関する十分な学習を行い、機関内倫理委員会 (「ヒト ES 細胞研究倫理審査委員会」) の審査を受け、平成 17 年 11 月 9 日に文部科学大臣の確認 (17 諸文科振第 734 号) を得た。さらにその後、研究者の追加削除、使用期間と使用の方法に関する変更についても平成 18 年 11 月 24 日に文部科学大臣の確認 (18 諸文科振第 743 号) を得た。

## C. 研究結果

### 1. 未分化維持増殖培養法

Thomson らの方法に準じて無血清無フィーダー培養を行った。すなわち、KSR 含有無血清培地の中で Noggin (500 ng/ml) と FGF (40 ng/ml) を添加して無フィーダー培養を行ったところ、長期にわたって安定した増殖と未分化維持が可能であった。40 継代以上培養可能であった。凍結保存後、再度融解し、安定した培養が可能であった。この様な無血清、無フィーダーでの未分化維持状態に有るサル ES を、ある種の培養条件に移行すると Noggin、FGF の添加も不要となり、長期にわたって安定した増殖と未分化維持が可能であった。40 継代以上培養可能であった。凍結保存後、再度融解し、安定した培養が可能であった。このように継代した未分化サル ES 細胞は、テラトーマ形成能を有していた。

次に、ヒト ES 細胞においても Thomson らの方法に準じて無フィーダー培養、すなわち、KSR 含有無血清培地の中で Noggin (500 ng/ml) と FGF (40 ng/ml) を添加して無フィーダー培養を行ったところ、安定した増殖と未分化維持が可能で、40 継代以上培養可能であった。さらに、ヒト ES 細胞においても無血清、無フィーダーで未分化維持状態に有る細胞を、ある種の培養条件に移行すると Noggin、FGF の添加も不要となり、長期にわたって安定した増殖と未分化維持が可能であった。25 継代以上培養可能であった。凍結保存後、再度融解し、安定した培養が可能であった。このように継代した未分化ヒト ES 細胞は、テラトーマ形成能を有していた。この成果は、用いたヒト ES 細胞のうちでの 2 株 (KhES-1、KhES-3) において達成されたが、KhES-2 においては困難であった。

ケミカルライブラリーから選んだ新規低分子合成化合物の未分化維持作用に関しては、まずマウス ES 細胞無フィーダー培養において未分化維持活性を有する数種類の化合物を見出し、次にサル ES 細胞無フィーダー培養においても、検討した 14 種類の化合物のうちで 7 種類の化合物において未分化維持活性を確認できた。

## 2. 分化誘導培養法

本研究において検討した手法は、培養前半の細胞凝集塊作成法によって大きく 4 種類に分類された。

前半の細胞凝集塊を hanging drop 法（数日間の短期）で行う系においては、後半の平面培養は、OP9 細胞との共培養、OP9 細胞の conditioned dish、10T 1/2 細胞の conditioned dish、ゼラチンコートディッシュ、マトリゲルコートディッシュ、を検討した。OP9 細胞との共培養、OP9 細胞の conditioned dish、10T 1/2 細胞の conditioned dish においては、細胞凝集塊形成に引き続き、平面培養を行うと、フラスコの底に接着した細胞凝集塊は次第に平坦となり周囲に広がり、細胞凝集塊が存在した中心付近から囊状の構造物が出現した。その囊状構造物の中には球状の細胞が充満していた。これらの細胞は 10-30% CD34 陽性であった。ゼラチンコートディッシュにおいては、さらに血球コロニー形成能陽性で好中球への分化も確認された。一方、マトリゲルコートディッシュにおいては、血球産生も認められたが、むしろ血管内皮細胞の分化誘導が優性であった。以上の系は通常 FCS 存在下で行ったが、一部の実験においては無血清でも分化誘導ができ、エステラーゼ染色陽性、ペルオキシダーゼ染色陽性の好中球が確認された。

前半の細胞凝集塊を 96 穴プレート法（2 週間程度の長期）で行う系においては、後半の平面培養は、ヒト初代間葉系幹細胞との共培養、10T 1/2 細胞との共培養、10T 1/2 細胞の conditioned dish、を検討した。この手法においては、無血清無フィーダー無サイトカイン培養で未分化維持したサル ES 細胞を用いるという利点があったが、CD34 陽性細胞の出現率や囊状構造物と球状細胞の出現が顕著ではなかった。ただし、ヒト初代間葉系幹細胞との共培養においては CD34 陽性細胞が著明に認められた。

前半の細胞凝集塊を Bhatia らの手法（2 週間程度の長期）で行う系においては、後半の平面培養は、10T 1/2 細胞の conditioned dish、ゼラチンコートディッシュ、を検討した。15 日間の胚様体形成に引き続き、平面培養を行うと、フラスコの底に接着した胚様体は次第に平坦となり周囲に

広がり、約 2 週間後には胚様体が存在した中心付近から囊状の構造物が出現した。その囊状構造物の中には球状の細胞が充満していた。その後の継代により、培養系には不定形の付着細胞と球状の浮遊細胞が混在する状態となった。球状の浮遊細胞は CD45 陽性（90%以上）であり血液細胞と考えられた。この血液細胞のライトギムザ染色形態は、半数以上が未分化な芽球の形態で、10-40% が成熟好中球の形態を示した。これらの好中球は、ミエロペルオキシダーゼ染色、ナフトール ASD クロロアセテート染色、好中球アルカリフォスファターゼ染色が陽性であり、成熟好中球と考えられた。また、貪食能、活性酸素産生能、遊走能も、いずれも陽性で、十分な機能を有する好中球と考えられた。この様な、未分化血球と成熟好中球の共存する培養系は 100 日間以上維持することが出来た。また、凍結融解後も、同様な状態を保つことが出来た。この手法においても、無血清無フィーダー無サイトカイン培養で未分化維持したサル ES 細胞を用いるという利点があった。

前半の細胞凝集塊を当研究室独自の方法（佐伯晃一研究員による）（数日間の短期）で行う系においては、後半の平面培養は、10T 1/2 細胞との共培養、10T 1/2 細胞の conditioned dish、を検討した。細胞凝集塊形成に引き続き、平面培養を行うと、フラスコの底に接着した細胞凝集塊は次第に平坦となり周囲に広がり、細胞凝集塊が存在した中心付近から囊状の構造物が出現した。その囊状構造物の中には球状の細胞が充満していた。これらの細胞は 30-60% CD34 陽性であった。球状細胞の 3 割が CD11 陽性の骨髄系細胞で、形態、エステラーゼ染色、ペルオキシダーゼ染色において好中球の存在を確認した。

## D. 考察

サルおよびヒト ES 細胞を用いて、確実に無血清無フィーダー未分化維持増殖培養が達成され、MEF の持ち込みを防ぐための分化培養に向けての準備が整った。しかも、サイトカインも不要となり、あるいは、安価な合成低分子化合物でも未分化維持活性が認められ、利便性と低コスト性が向上した。動物由来成分を排除する方向への大きな前進が認められ、将来的には、完全合成培地に向けてさらに検討を進めたい。

サル ES 細胞からの血液細胞の分化誘導を目的として、さまざまな手法を試み、重要な成果を上げることができた。分化誘導培養の前半を複数の手法による細胞凝集塊形成を行わせて、その後、後半は平面培養を行った。細胞凝集塊形成は、2 週間程度の長期による胚様体をほぼ形成している

と思われる手法と、数日間の短期による胚様体形成に至らないと思われる方法の2種類で、いずれの方法でも効率の良い分化誘導が可能であり、細胞凝集塊形成の期間は短くても良いと考えられた。いずれにしてもこの期間は浮遊培養でありフィーダー細胞は不要で、研究目的の重要要素である無フィーダー培養は達成できた。後半の平面培養に関しては、まず、基本に立ち返り OP9 という ES 細胞からの血球分化に定評のあるフィーダー細胞を用いて一定の結果を得て、次に、あまりフィーダー細胞として用いられていない 10T 1/2 細胞を検討して良好な成果を得た。次に、無フィーダーの一形式である conditioned dish (OP9、10T 1/2) を用いて分化誘導に成功し、最終的にはゼラチンをコートしたのみの完全無フィーダー血球分化誘導に成功した。

今回の手法においては、前半は細胞凝集塊形成で後半は平面培養である。細胞凝集塊形成のみで押しても、あるいは、初めから平面培養のみでも不十分で、この2つの手法がこの順序で組み合わせられたことが良好な結果を生むことにつながったものと想定される。また、前半で形成された細胞凝集塊をほぐすことなく後半の系に移行して、次第に無理なく、平坦な平面培養にできたことも成功の原因であると考えられる。前半で重要な初期分化のシグナルが惹起され、後半では分化と共に2次元的な増殖が惹起されたものと考えられる。

今回検討した幾つかの系においては数十%の比較的高い効率で好中球の誘導が確認され、霊長類の ES 細胞から、世界に先駆けて、成熟好中球の産生に成功した。このような成果は、現在、ヒト ES 細胞にも応用され、同様の注目すべき成果を生み出している。本委託課題を十分に達成した上で、ヒト ES 細胞にもつながる結果を出せたので、さらに臨床応用に津軽方向で研究を進めてゆきたい。

## E. 結論

カニクイザル ES 細胞のみならず、ヒト ES 細胞も一部用いて、無血清、無フィーダー、無サイトカイン培養という動物成分を排除した経済効率の優れた未分化維持増殖継代培養法の開発を進めることができた。一方、血球分化誘導に関しては、サル ES 細胞を用いて、前半の細胞凝集塊形成を経て後半の無フィーダー平面培養に移行する手法を開発した。浮遊細胞の9割が CD45 陽性血液細胞となり、うち半数以上が未分化な芽球の形態、10-40%が成熟機能を有する好中球であった。この培養系は長期間維持することができ、凍

結融解後も同様な状態を保つことが出来た。今後はヒト ES 細胞の系に応用してゆくことが重要である。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Asada M, Ohmi K, Delia D, Enosawa S, Suzuki S, Yuo A, Suzuki H, Mizutani S: Brap2 functions as a cytoplasmic retention protein for p21 during monocytic differentiation. *Mol Cell Biol* 24:8236-8243,2004.
2. Nakatsu M, Doshi M, Saeki K, Yuo A: Synergistic effects of dehydroepiandrosterone and retinoic acid on granulocytic differentiation of human promyelocytic NB4 cells. *Int J Hematol* 81:32-38,2005.
3. Yano T, Itoh Y, Kubota T, Sendo T, Koyama T, Fujita T, Saeki K, Yuo A, Oishi R: A prostacyclin analog prevents radiocontrast nephropathy via phosphorylation of cyclic AMP response element binding protein. *Am J Pathol* 166:1333-1342,2005.
4. Saeki K, Yasugi E, Okuma E, Breit SN, Nakamura M, Toda T, Kaburagi Y, Yuo A: Proteomic analysis on insulin signaling in human hematopoietic cells: identification of CLIC1 and SRp20 as novel downstream effectors of insulin. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 289:E419-E428,2005.
5. Horiuchi A, Yasugi E, Yuo A: Structural requirement of dolichyl phosphate as an apoptosis inducer. *J Oleo Science* 54:341-346,2005.
6. Kondo Y, Suzuki Y, Nito S: Human Embryonic Stem Cells. *Bio Industry* 22:10-16, 2005.
7. Takada T, Nemoto K-I, Yamashita A, Kato M, Kondo Y, Torii R. Efficient gene silencing and cell differentiation using siRNA in mouse and monkey ES cells, *Biochem Biophys Res Commun* 331:1039-1044,2005.
8. Yasugi E, Horiuchi A, Uemura I, Okuma E, Nakatsu M, Saeki K, Kamisaka Y, Kagechika H, Yasuda K, Yuo A: Peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  ligands

- stimulate myeloid differentiation and lipogenesis in the human leukemia NB4 cells. *Dev Growth Differ* 48:177-188,2006.
9. Doshi M, Koyanagi M, Nakahara M, Saeki K, Saeki K, Yuo A: Identification of human neutrophils during experimentally induced inflammation in mice transplanted with human umbilical cord blood CD34-positive cells. *Int J Hematol* 84:231-237,2006.
  10. Hatoya S, Torii R, Kondo Y, Okuno T, Kobayashi K, Wijewardana V, Kawate N, Tamada H, Sawada T, Kumagai D, Sugiura K, and Inaba T. Isolation and characterization of embryonic stem-like cells from canine blastocysts. *Mol Reprod Dev* 73:298-305,2006.
2. 学会発表
1. Kobayashi N, Saeki K, Yuo A: GM-CSF and IL-3 induce cell cycle progression through the synthesis of c-Myc protein by internal ribosome entry site-mediated translation via PI3K pathway in human factor-dependent leukemic cells. Cold Spring Harbor Laboratory Meetings, September 2004, Cold Spring Harbor, NY, USA.
  2. Yasugi E, Okuma E, Saeki K, Kaburagi Y, Nakamura M, Toda T, Yuo A: Proteome analysis on insulin signaling in human myeloblastic cells. 第77回日本生化学会大会、2004年10月、横浜。
  3. Asada M, Mizutani S, Yuo A, Suzuki H: BRAP2 relocalizes p21 in the cytoplasm during monocytic differentiation. 第76回日本生化学会大会、2004年10月、横浜。
  4. 道志 勝、小柳 真、伊藤 守、佐伯久美子、湯尾 明: マウス空気嚢炎モデルによるヒト臍帯血CD34陽性細胞由来の成熟好中球の同定。第67回日本血液学会・第47回日本臨床血液学会・合同総会。2005年9月、横浜。
  5. 中原正子、松山さと子、過足芳子、中村直子、佐伯晃一、佐伯久美子、湯尾 明: 霊長類(サル・ヒト)ES細胞からの無フィーダー培養による造血細胞・血管内皮細胞分化。日本分子生物学会2006フォーラム、2006年12月、名古屋。
  6. 佐伯晃一、米田麻子、中原正子、佐伯久美子、湯尾 明: 霊長類ES細胞から分化誘導した好中球の機能解析。日本分子生物学会2006フォーラム、2006年12月、名古屋。
  7. 中原正子、佐伯久美子、松山さと子、佐伯晃一、中村直子、過足芳子、近藤 靖、末盛博文、中辻憲夫、湯尾 明: カニクイザルおよびヒトES細胞からの無フィーダー培養による造血細胞。第6回日本再生医療学会総会、2007年3月、横浜。
  8. 中村直子、過足芳子、佐伯久美子、中原正子、佐伯晃一、松山さと子、湯尾 明: カニクイザルES細胞からの無フィーダー培養条件下における継代培養可能な血管内皮細胞への分化誘導。第6回日本再生医療学会総会、2007年3月、横浜。
  9. 佐伯晃一、米田麻子、中原正子、末盛博文、中辻憲夫、佐伯久美子、湯尾 明: ヒトES細胞から分化誘導した好中球の機能解析。第6回日本再生医療学会総会、2007年3月、横浜。
  10. Okuno T, Nakayama T, Inoue N, Suzuki Y, Kondo Y, Nito S: An Efficient and Xeno-free method for Neural Differentiation of Human Embryonic Stem Cells: The use of the Conditioned Medium from ES cell-derived Astrocytes. 4th Annual Meeting of the International Society for Stem Cell Research, Toronto, Canada, Jun, 2006.
  11. Konishi N, Yamamoto M, Miyabayashi T, Kobayashi K, Suzuki Y, Kondo Y, Nito S: A synthetic compound maintains pluripotency of monkey and human embryonic stem cells without feeders. 4th Annual Meeting of the International Society for Stem Cell Research, Toronto, Canada, Jun, 2006.
- H. 知的財産権の出願・登録状況
1. 特許取得  
 霊長類動物胚性幹細胞の培養及び継代方法、並びにその分化誘導方法  
 発明者: 湯尾 明、佐伯久美子、佐伯晃一、中原正子、中村直子、過足芳子、松山さと子、米田麻子  
 出願人: 国立国際医療センター、田辺製薬株式会社  
 特願2006-303929
  2. 実用新案登録  
 なし
  3. その他  
 なし

---

平成18年度  
政策創薬総合研究  
重点研究報告書(Ⅱ)

平成19年7月31日発行

発行 財団法人 ヒューマンサイエンス振興財団  
〒103-0001 東京都中央区日本橋小伝馬町13番4号  
共同ビル(小伝馬町駅前)4F  
電話 03(3663)8641 FAX 03(3663)0448

---

印刷 株式会社 ソーラン社