

かし、DLIを行った2群(Whole群、CD4群)に関しては28日目の解剖の時点でのマウスの死亡は見られず、Log rank検定により有意な差が得られた。

また、DLIを行った2群では脱毛等のGVHD所見は認められず、マウス運動も正常であった。

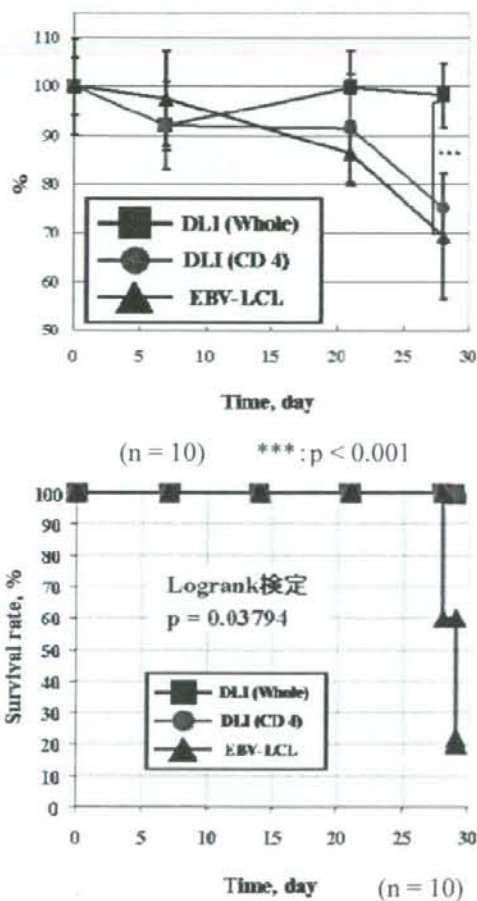


Fig. 5 マウス生存率の推移

3) DLI 抗腫瘍効果の検討

我々が樹立したEBV-LCLはCD23の

発現率が98.97%以上であり、白血化の指標としてCD23陽性細胞率を指標とした。

マウス末梢血中において、Control群ではCD23陽性率の上昇が見られ、DLIを行った2群では、活性化リンパ球の投与後CD23陽性率の減少が確認された(Fig. 6)。

また、臓器でのフローサイトメトリー解析においても、肝臓を除くその他の臓器で、DLIを行った群はControl群と比較してCD23陽性率を有意に減少させていることが確認できた。DLIの2群においてもCD4群と比較してWhole群の方がより有意にCD23陽性率を抑制することが確認された(Fig. 7)。

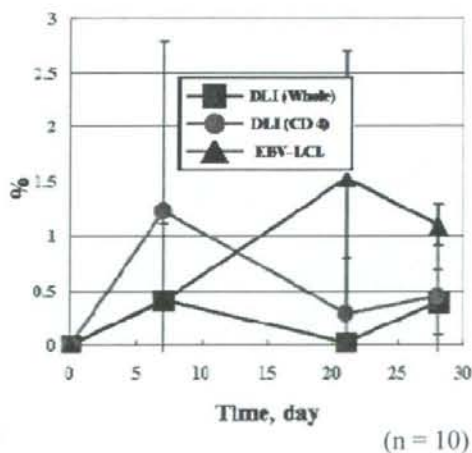
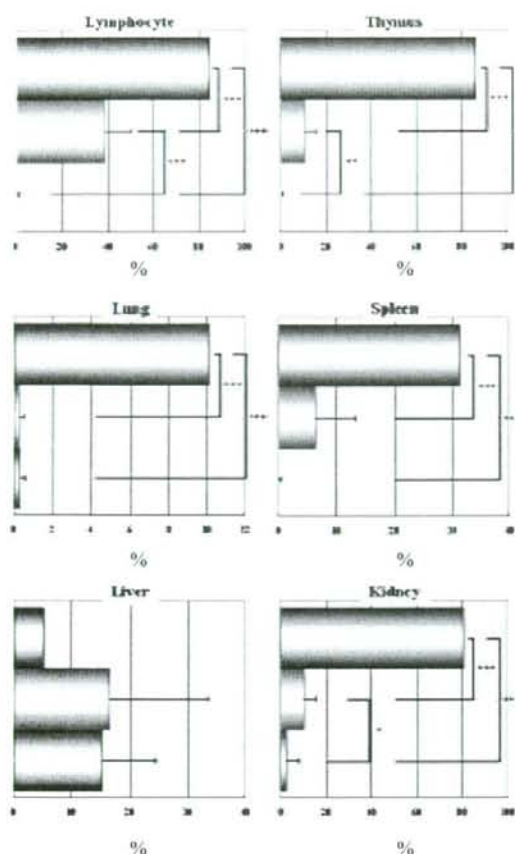


Fig. 6 マウス末梢血中
CD23陽性率の推移



(n = 8)

*: $p < 0.05$, **: $p < 0.005$, ***: $p < 0.001$



Fig. 7 マウス臓器中 CD 23 陽性率

また、DLIを行った群では Control 群と比較して腎臓の腫大が抑制されていた (Fig. 8)。

これらのことから、活性化 DLI により末梢血及び臓器において CD 23 陽性細胞は抑制されたと考えられ、活性化 DLI の抗腫瘍効果が示唆された。

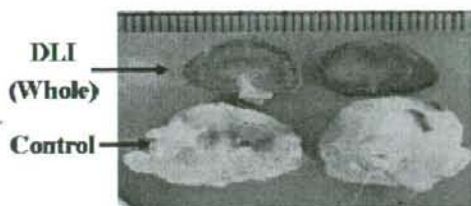


Fig. 8 マウス腎臓写真

4) マウス末梢血中ヒト T 細胞の検討

マウスへ輸注したヒト細胞の動向を検討するために、T 細胞マーカーとして CD 3 陽性細胞の推移を追跡した。

活性化リンパ球を輸注した直後(移植 1 週間後)の採血ではマウス末梢血中に CD 3 陽性細胞はほとんど認められなかったが、移植 3 週間後においては Whole 群で約 30%、CD 4 群では約 20%の陽性率を示した (Fig. 9)。その後 CD 3 陽性率は更に上昇し、移植 4 週間後には 40%以上の CD 3 陽性率を示した (Whole 群: 41.77%、CD 4 群: 53.48%)。

これより、マウス体内で CD 3 陽性細胞が増殖していることが確認された。

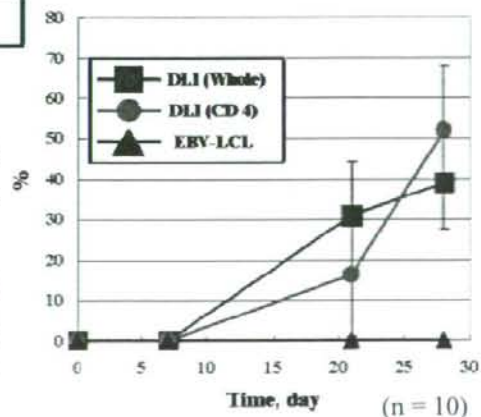


Fig. 9 マウス末梢血中 CD 3 陽性率の推移

また、CD 3 陽性細胞は臓器中にも認められ、臓器への CD 3 陽性細胞の浸潤が考えられた。

この増殖した T 細胞について解析を行った。

Fig. 10 に DLI を行った 2 群でのマウス末梢血中ヒト T 細胞及び活性化培養前のヒト T 細胞(Fresh)の表面抗原解析の結果を示す。

Whole 群、CD 4 群共に CD 8 陽性率が CD 4 陽性率を上回り、Fresh と比較しても CD 8 陽性率が上昇していた。特に CD 4 群では、輸注時約 1%であった CD 8 陽性細胞の急激な増殖が見られ、移植 4 週間後において CD 4 陽性細胞率を上回る結果が得られた。このことから、マウス体内で EBV-LCL に対する免疫応答が起こり、細胞障害性能を有する CD 8 陽性細胞の増殖が促進された可能性が考えられる。また、Whole 群の臓器において CD 23 陽性細胞の抑制が強かった (Fig. 7)のは、初期の CD 8 陽性細胞数が多く、細胞障害性能が CD 4 群と比較してより速く働いたためであると考えられた。Whole 群のみマウス体重が移植前と同等まで回復した (Fig. 4)ことから考えても CD 4 群と比較して Whole 群の方が EBV-LCL に対しての免疫応答が迅速であることが考えられた。

また、培養開始時に確認された CD 16 陽性細胞、CD56 陽性細胞及び CD 16 / CD 56 陽性細胞は DLI を行った 2 群で

はほとんど認められなかった。

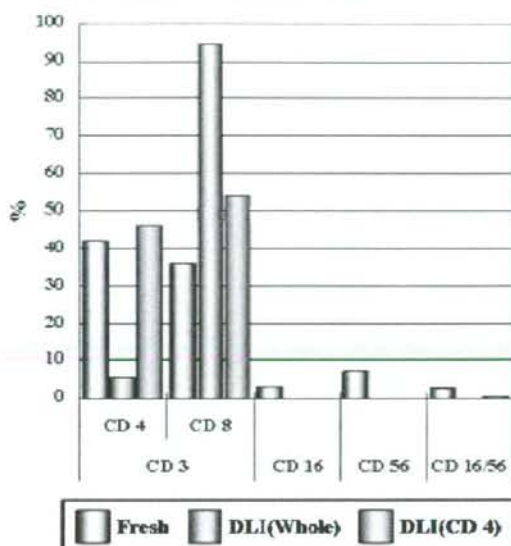


Fig. 10 ヒト細胞 subset 解析

次に我々は増殖したヒト T 細胞のエフェクター/メモリー分画の検討を行った (Fig. 11)。

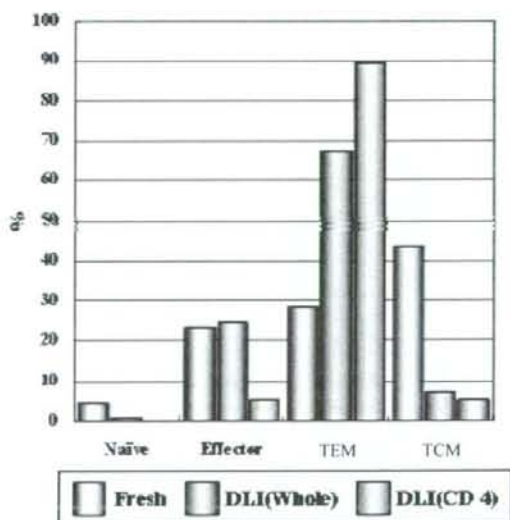


Fig. 11 ヒト T 細胞エフェクター/メモリー分画解析

DLIを行った2群ともエフェクターメモリーT細胞(TEM)を主とする細胞集団であり(Whole群:67.44%, CD4群:89.55%)、ナイーブT細胞(Naïve)はほとんど認められなかった(Whole群:0.66%, CD4群:0.07%)。また、その他にもエフェクターT細胞(Effector)、セントラルメモリーT細胞(TCM)の存在も確認された。これらのことから、輸注したT細胞がマウス体内で抗原を認識し、TCMからTEMへTEM及びNaïveからEffectorへと変化した可能性が考えられた。

これら増殖したヒトT細胞の活性化度をHLA-DRをマーカーとして解析した。

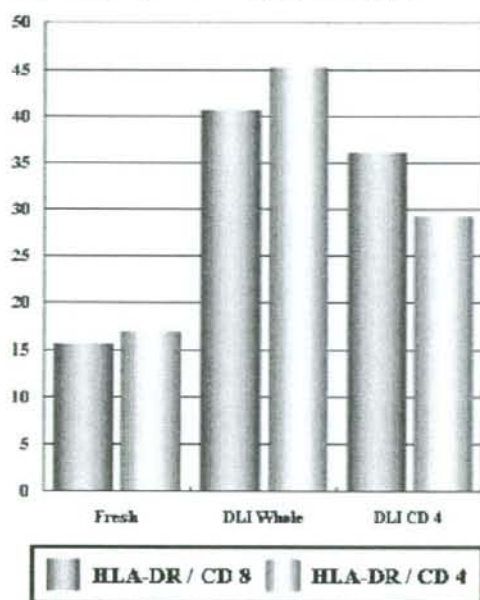


Fig. 12 HLA-DR 発現率

培養開始時と比較して Whole 群、CD4 群共に HLA-DR の発現率が上昇していた。群においては Whole 群が 40%前

後、CD4 群が 30%前後の発現を示しており、Whole 群 T 細胞の方が高かった (Fig. 12)。また、それぞれ CD4 陽性細胞、CD8 陽性細胞の間に顕著な差は認められず、ほぼ同等の発現率であった。これより、マウスへ輸注した細胞が EBV-LCL によって刺激を受け活性化し、その活性化度を維持していることが考えられた。

抗原を認識し、Effector へと変化した可能性が考えられたため、T 細胞レセプター(TCR)のレパトア解析を行い、TCR の発現の変化の検討を行った(Fig. 13)。

培養開始時と比較してマウス末梢血中ヒト T 細胞は異なる TCR レパトアの発現が確認され、Whole 群、CD4 群ともに同様の TCR レパトアの上昇が確認された(図中赤矢印)。また、どちらかの群でのみ発現率が上昇している TCR も確認された(図中青矢印)。

これらのことから、マウス体内で T 細胞が抗原に暴露され、それらの抗原に対応する TCR レパトアが増殖した可能性が示唆された。

以上のことから、今回、マウス体内で増殖した T 細胞が EBV-LCL に特異的な細胞障害性能を有している可能性が考えられたため、サイトカイン産生能の検討により機能解析を行った。

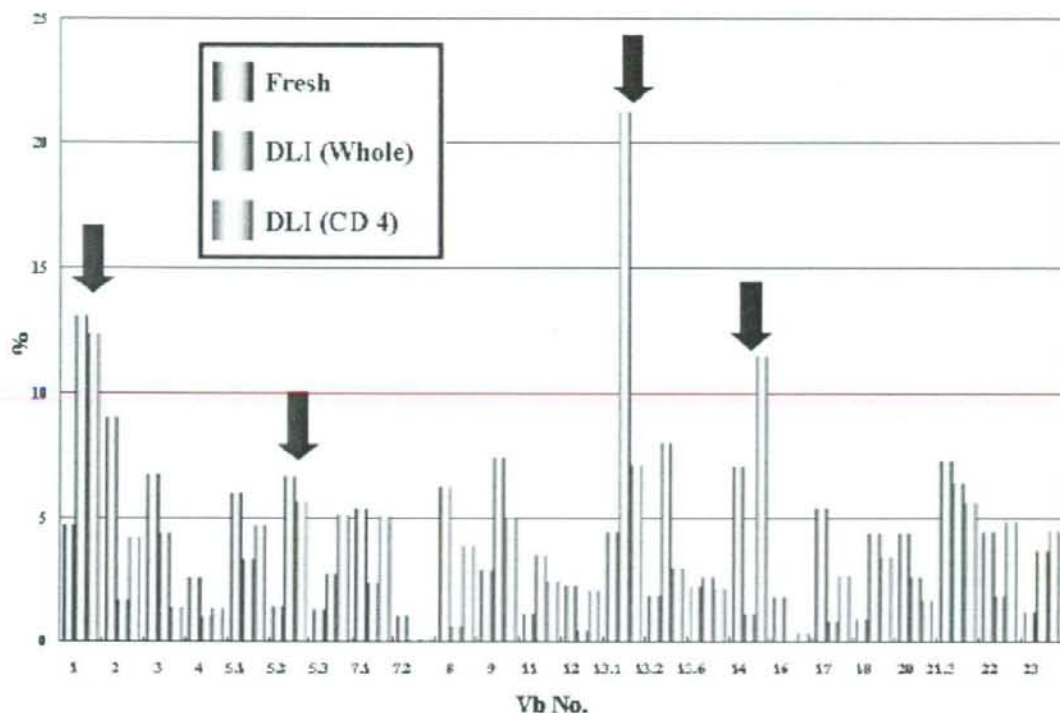


Fig. 13 ヒト T 細胞レセプターVβレパートアの発現率の変化

今回の検討では採取したヒト T 細胞を予め作製しておいた EBV-LCL Lysate と 4 時間共培養を行い、その後フローサイトメトリーにてサイトカイン産生能を解析した。

DLI を行った 2 群は培養開始時と比較して IFN- γ 、IL-2 といった Th-1 サイトカイン産生能の向上し EBV-LCL に対する反応が認められた。また、Whole 群においてのみ Perforin の産生が認められ、細胞障害性能を有していることが確認された (Fig. 14)。今回は IL-4 等の Th-2 サイトカインの解析を行えなかったため今後の検討が必要である。

サイトカイン産生能の検討により、増殖した T 細胞が EBV-LCL に特異的な細胞障害性 T 細胞 (CTL) である可能性が示唆された。

そこで、CTL であるかを確認するために EBV-LCL Lysate 刺激による ELISPOT アッセイ及び ATP アッセイを用いた EBV-LCL に対するサイトトキシックアッセイを行った。

ELISPOT アッセイでは採取したヒト T 細胞を EBV-LCL Lysate で刺激する群と未刺激の群とに分け、24 時間培養した後の IFN- γ の産生量を測定し、比較した。

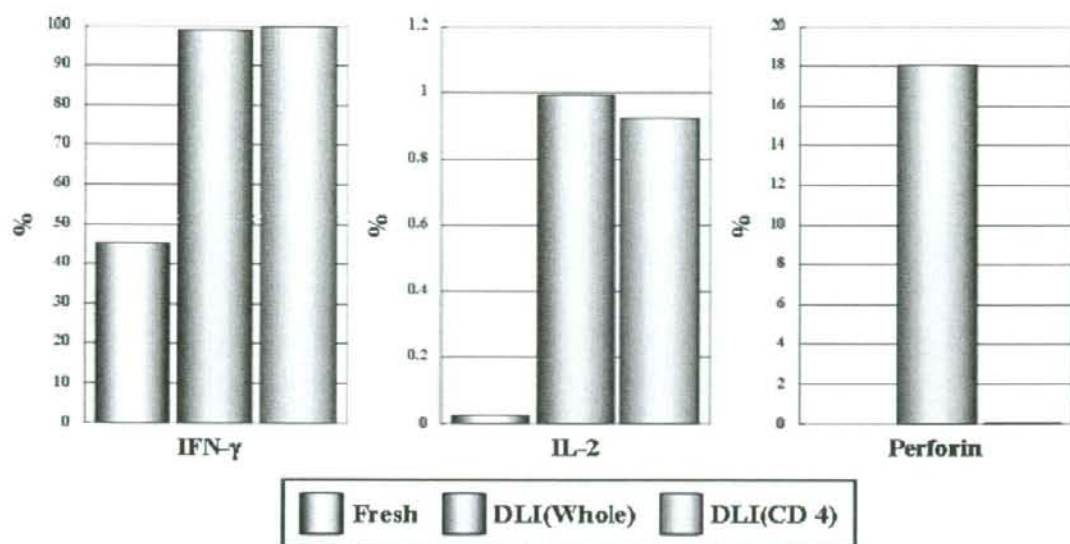


Fig. 14 サイトカイン産生能の検討

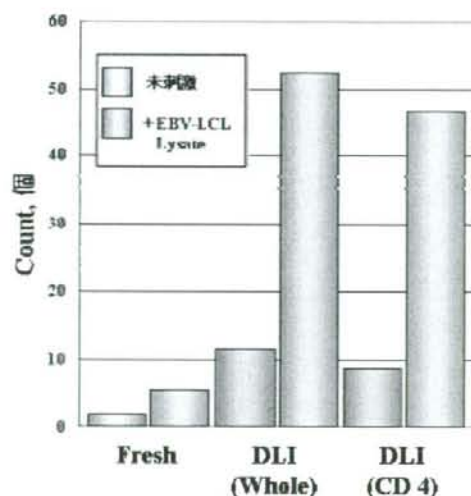


Fig. 15 Lysate 刺激による特異的 IFN- γ 産生量の変化

全ての群で Lysate 刺激により IFN- γ 産生量の増加が認められた。しかし、DLIを行った 2 群と培養開始時の細胞を比較すると、増加率に差が認められ

た。これより、マウス末梢血中から採取したヒト T 細胞の方が、より EBV-LCL Lysate に対する反応が高かったと考えられた。

サイトキシンアッセイは採取したヒト T 細胞と EBV-LCL を共培養し、24 時間後に ATP を測定することにより EBV-LCL の死滅率を解析した。

Fresh 群ではほとんど反応せず、ほぼ全ての EBV-LCL の生存が確認されたが、Whole 群及び CD 4 群では 90%以上の EBV-LCL の死滅が確認され、ヒト T 細胞による EBV-LCL への特異的な細胞障害が起こっていることが考えられた(Fig. 16)。

これらのことから、今回マウス体内で増殖したヒト T 細胞は EBV-LCL に特異的

な CTL である可能性が示唆された。

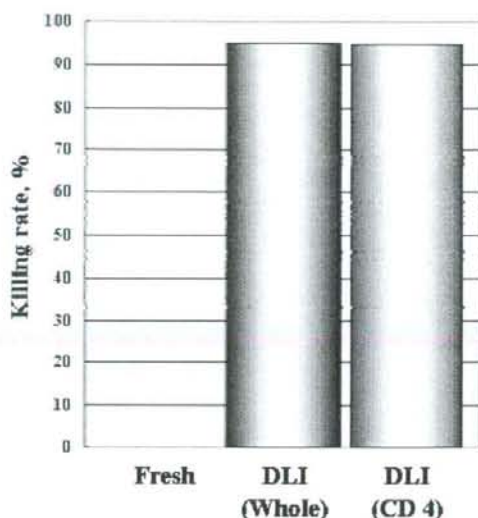


Fig. 16 共培養時の EBV-LCL 死滅率

D. 考察

我々が作製したモデルマウスを用いることにより、マウス体内で T 細胞を増幅させ、その性質及び動態について検討することが可能であった。

今回行った活性化 DLI では、マウス末梢血中の CD 23 陽性率を減少させ、臓器中においては有意な差を持って減少させることができた。これらは活性化 DLI による抗腫瘍効果の結果であると考えられ、DLI を行った群では移植 4 週間後の解剖時においてマウスの死亡は無く、全匹生存していた。このことから Whole 群、CD 4 群共に DLI による T 細胞の抗腫瘍効果が示唆された。

DLI を行った Whole 群、CD 4 群ではマウス体内での T 細胞の増幅が確認され、

増幅している細胞は主として CD 8 陽性細胞であった。また、これら増幅した T 細胞は活性化が維持されており、エフェクターメモリー T 細胞を主とする細胞集団であった。また、エフェクター T 細胞の存在も確認された。この細胞集団の TCR レパトアを解析したところ、Whole 群、CD 4 群ともに輸注前の細胞とは異なる特定の TCR の発現の上昇が確認され、マウス体内で抗原を認識し、それら抗原に対応する細胞が増幅した可能性が示唆された。

マウス体内で増殖したヒト T 細胞についてサイトカイン産生能の検討を行ったところ、サイトカイン産生能の上昇が確認された。このことから、EBV-LCL 特異的な T 細胞である可能性が考えられ、EBV-LCL に特異的な反応であるかどうかの検討を行った。

採取したヒト T 細胞は EBV-LCL の刺激に対して IFN- γ の産生量が増加し、Fresh と比較して高い反応を示した。また、サイトキニックアッセイにより、採取した T 細胞は EBV-LCL の約 90% を死滅させ細胞障害性能を示した。このことから、マウス体内で増殖したヒト T 細胞は EBV-LCL に特異的な CTL である可能性が示唆された。

以上のことから、成人末梢血を用いた auto の系での活性化 DLI において、マウス体内で増幅し、抗原を認識している細胞は CD 8 陽性細胞である可能性が示

唆された。更に、この増幅した細胞は細胞障害性 T 細胞である可能性があり、CD 8 陽性細胞が CTL となって作用していると考えられる。また、CD 4 陽性細胞は CD 8 陽性細胞が CTL となるのを誘導していることが示唆された。

F. 健康危険情報

特筆すべき事項なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

特筆すべき事項なし。

2. 学会発表

伊藤仁也、田中宏和、戸上勝仁、橋本尚子、森美奈子、永井雄也、井上大地、木村隆治、丸山京子、初山麻子、鹿村真之、高田のぞみ、高橋隆幸、永井謙一、中畑龍俊
「Ex vivo 増幅臍帯血移植を行った急性骨髄性白血病の 1 例」
第 31 回日本造血細胞移植学会総会
(2009, 26, 札幌)

H. 知的財産権の出願・登録状況

特筆すべき事項なし

分担研究報告書

7. 分子基盤に基づいた新規増幅法、分化誘導法の開発

転写因子による血液細胞の増殖、分化制御機構の解析

分担研究者:田中 宏和、金倉 謙

研究協力者:松村 到

(大阪大学大学院医学系研究科 血液・腫瘍内科学)

研究要旨

Wnt/ β -catenin シグナル経路は、造血細胞の未熟性維持に重要であることが示されているが、その機序については未だ不明な点が多い。本分担研究では昨年度までに内因性の β -catenin が造血幹/前駆細胞におけるサイトカイン存在下での増殖のみでなく、骨髄球系、及び赤芽球、巨核球への分化に必須の転写因子の活性を制御し、前駆細胞からの血球分化を調節している可能性を示してきた。本年度は異種移植の系を用いて、内因性の β -catenin の活性化が造血幹細胞の骨髄再建能に及ぼす影響について、さらには β -catenin による C/EBP α , GATA1 の活性制御における分子機構について詳細な検討を行なった。その結果 GSK-3 阻害剤による内因性の β -catenin の活性化によりヒト造血幹細胞の骨髄再建能が著明に抑制されること、また系統決定に重要な転写因子にエピジェネティックに作用することで、その分化の方向性が骨髄球系から赤芽球、巨核球系へと変化することを見出した。

今後はこれら転写因子の内的因子操作による至適な造血幹細胞増幅法、及び造血幹細胞からの系統特異的分化誘導法の開発に向け検討を行う予定である。

A. 研究目的

Wnt/ β -catenin シグナル経路は、ES 細胞や造血幹細胞の未熟性の維持に重要であることが報告されている。これまでに Wnt 精製蛋白や Wnt 発現ストローマ細胞との共培養系を用いて Wnt/ β -catenin 経路を活性化することで、マウス及びヒト造血幹細胞の自己複製能、多分化能が維持されることが報告されている。一方で活性型 β -catenin を造血幹細胞に強制発現させることにより、長期骨髄再建能が障害され、すべての血球分化が阻害されるとの相反する報告がなされており、Wnt/ β -catenin シグナルが造血幹細胞の未分化能、自己複製能を正にあるいは負どちらに制御しているのか、さらにはどのような分子機構により制御しているのかについては未だ解明されていない。

これまでに我々は造血幹/前駆細胞における内因性の β -catenin の機能を明らかにすることを目的として、造血幹/前駆細胞を GSK-3 阻害剤 (GSK3 Inhibitor IX(6-Bromoindirubin-3-oxime: BIO):選択的かつ可逆的な ATP 競合阻害剤として GSK3 に作用し(IC₅₀=5nM)、その活性を抑制することにより内因性の β -catenin を活性化する)で処理することにより、内因性の β -catenin を活性化した場合、その増殖、分化がどのように変化するのかについて検討を行い、GSK-3 阻害剤による内因性の β -catenin の活性化は、造血幹/前駆細胞におけるサイトカイン存在下での増殖のみでなく、系統決定に重要な転写因子に作用することにより、その分化に影響を与えていると考えられた。

本年度は引き続き異種移植の系を用いて、内因性の β -catenin の活性化が造血幹細胞の骨髄再建能に及ぼす影響について、さらには β -catenin による転写因子 C/EBP α 、GATA1 の活性制御における分子機構について詳細な検討を行なった。

B. 研究方法

1. 臍帯血より磁気ビーズ法にて CD34 陽性細胞を分離し、ヒト造血幹/前駆細胞(CB CD34+ hHSC/HPCs)を得た。臍帯血は兵庫さい帯血バンクより供与された実験用臍帯血を用いた。
2. CB CD34+ hHSC/HPCs をサイトカイン(SCF, FL, TPO, IL-6, sIL-6R)添加無血清培地 QBSF-60 (Quality Biological 社, MD) にて GSK-3 阻害剤存在下、非存在下(controlとして阻害剤の溶媒である DMSO を阻害剤と同量添加)で 12 日間培養した。培養により得られた各々の細胞を、致死量の放射線を照射した NOD/SCID マウスに移植(各 n=30)、限界希釈法により SRC(scid repopulating cell)を算出した。
3. 293T 細胞に C/EBP α 、GATA1 と CBP/p300 をリン酸カルシウム法により一過性に一定量導入し、活性型 β -catenin を共発現させた場合の C/EBP α 、GATA1 及び β -catenin と CBP/p300 各々との結合について *in vivo* binding assay により検討を行った。

(倫理面の配慮)

研究に用いた臍帯血は、インフォームドコ

ンセントのもとに母親から提供され、臍帯血提供機関(兵庫さい帯血バンク)及び先端医療センターにおいて倫理審査が済んでいるものを用いた。

C. 研究結果

1. 内因性の β -cateninの活性化が造血幹細胞の骨髄再建能に及ぼす影響

GSK-3阻害剤により内因性の β -cateninを活性化した場合におけるヒト臍帯血 CD34+細胞の骨髄再建能を評価するために、免疫不全マウスへの異種移植の系を用いて limiting dilution assayを行った。移植後6週のマウス骨髄におけるヒト細胞のキメラズムからSRC(scid repopulating cell)を算出した結果、阻害剤を添加しなかった場合、培養細胞8,452個に1個SRCが存在していたのに対し、阻害剤を添加した場合、45,503個に1個に減少していた。

2. β -cateninによるC/EBP α , GATA1の活性制御における分子機構

造血細胞の分化において、骨髄球系、及び赤巨核球系各々への系統決定に必須の転写因子C/EBP α , GATA-1は、転写のco-activatorであるヒストンアセチル化酵素CBP/p300とそれぞれ結合、複合体を形成することでその活性が制御されていることが知られている。そこでこれら複合体形成に β -cateninが及ぼす影響について、293T細胞を用いた *in vivo* binding assayを行った。

C/EBP α またはGATA1とCBP/p300とを一定量導入し、これに活性型 β -catenin

を共発現させた場合、C/EBP α とCBP/p300の結合は導入した活性型 β -cateninの濃度依存的に抑制され、 β -cateninとCBP/p300との結合が優位になったことから、 β -cateninはC/EBP α とCBP/p300との結合に競合に作用すると考えられた。一方GATA1とCBP/p300の結合にはほとんど変化が認められなかった。

D. 考察及び今後の展望

昨年度までの検討から、*in vitro*でのサイトカイン刺激によりヒトCD34陽性細胞がCD38-からCD38+へと分裂、成熟し、さらに増殖、分化していく過程において、内因性 β -cateninの活性化は未分化なCD38-細胞の分裂を抑制すると同時に、成熟したCD38+細胞の分化の方向性を骨髄球系から赤芽球、巨核球系へと変化させると考えられた。さらに本年度、異種移植の系を用いて培養細胞における骨髄再建能を検討した結果、内因性の β -catenin活性化により著明に骨髄再建能が低下することから、少なくとも我々が用いた系において、 β -cateninは造血幹細胞の未分化能、自己複製能を負に制御していると考えられた。

これまでにC/EBP α -/-マウス胎児肝の解析から、C/EBP α は骨髄球系、赤巨核球系共通前駆細胞CMPから各々の前駆細胞GMP, MEPへの系統決定に重要であり、骨髄球系特異的遺伝子の発現を正に、赤巨核球系特異的遺伝子の

発現を負に制御していることが報告されている(Blood, 107(11): 4308-16, 2006)。一方昨年度までの検討から、内因性の β -cateninの活性化により、マウス骨髄由来CMPからGMPへの分化が抑制され、MEPへの分化が促進されることから、 β -cateninによるC/EBP α の調節機構の存在が示唆された。今回の検討により、活性化型の β -cateninはC/EBP α と転写のco-activatorであるCBP/p300との結合に競合に作用することで、その転写活性を抑制しており、 β -cateninによる転写因子へのエピジェネティックな作用が見出された。

本分担研究では、合成ペプチドによる内的因子操作により、至適サイトカイン存在下でCB CD34+ hHSC/HPCsをより効率良く増幅可能であること、また巨核球系細胞に分化誘導可能であることを報告してきた。今回得た知見と併せ、合成ペプチドによる内的因子操作と種々阻害剤とを併用することにより、効率のよいかつ安全な造血幹細胞の増幅、及び系統特異的分化誘導が行える可能性があり、今後検討を行っていく予定である。

尚、本研究の成果は第50回米国血液学会総会において発表した。

E. 健康危惧情報

特になし

F. 研究発表

1. 論文発表

Fukushima K, Matsumura I, Ezoe S, Tokunaga M, Yasumi M, Satoh Y, Shibayama H, Tanaka H, Iwama A, Kanakura Y. FIP1L1-PDGFRalpha imposes eosinophil lineage commitment on hematopoietic stem/progenitor cells. J Biol Chem. in press.

Yokota T, Oritani K, Butz S, Kokame K, Kincade PW, Miyata T, Vestweber D, Kanakura Y. The endothelial antigen ESAM marks primitive hematopoietic progenitors throughout life in mice. Blood. in press.

Matsumura I, Mizuki M, Kanakura Y. Roles for deregulated receptor tyrosine kinases and their downstream signaling molecules in hematologic malignancies. Cancer Sci 99:479-485, 2008

Yokota T, Oritani K, Garrett KP, Kouro T, Nishida M, Takahashi I, Ichii M, Satoh Y, Kincade PW, Kanakura Y. Soluble Frizzled-related protein 1 is estrogen inducible in bone marrow stromal cells and suppresses the earliest events in lymphopoiesis. J Immunol 181:6061-72, 2008

Satoh Y, Matsumura I, Tanaka H, Ezoe S, Fukushima K, Tokunaga M, Yasumi M, Shibayama H, Mizuki M, Era T, Okuda T, Kanakura Y. AML1/RUNX1 works as a negative regulator of c-Mpl in hematopoietic stem cells. J Biol Chem 283:30045-30056, 2008

Shizusawa T, Shibayama H, Murata S, Saitoh Y, Sugimoto Y, Matsumura I, Ogawa H, Sugiyama H, Fukuhara S, Hino M, Kanamaru A, Yamauchi A, Aozasa K, Kanakura Y. The expression of anamorsin in diffuse large B cell lymphoma: Possible prognostic biomarker for low IPI patients. Leuk Lymphoma 49:113-121, 2008

Ichii M, Oritani K, Yokota T, Nishida M, Takahashi I, Shirogane T, Ezoe S, Saitoh N, Tanigawa R, Kincade PW, Kanakura Y. Regulation of human B lymphopoiesis by the transforming growth factor-beta superfamily

in a newly established coculture system using human mesenchymal stem cells as a supportive microenvironment. *Exp Hematol* 36:587-597, 2008

Isohashi K, Tatsumi M, Higuchi I, Inoue A, Nakajo K, Ishikawa J, Shimosegawa E, Kanakura Y, Nakamura H, Hatazawa J. 18F-FDG-PET in patients with malignant lymphoma having long-term follow-up: staging and restaging, and evaluation of treatment response and recurrence. *Ann Nucl Med* 22:795-802, 2008

Sasaki H, Hayakawa J, Terai Y, Kanemura M, Tanabe-Kimura A, Kamegai H, Seino-Noda H, Ezoe S, Matsumura I, Kanakura Y, Sakata M, Tasaka K, Ohmichi M. Difference between genomic actions of estrogen versus raloxifene in human ovarian cancer cell lines. *Oncogene* 27:2737-2745, 2008

金倉 譲. トランスレーショナルリサーチ. 分子細胞治療 7:93-94, 2008

松村 到, 金倉 譲. 造血器腫瘍に対するフェルネシルトランスフェラーゼ阻害剤の臨床応用. 造血器腫瘍の分子標的療法(黒川峰夫編), 医歯薬出版株式会社, 東京, 2008, pp95-100

松村 到, 金倉 譲. がん幹細胞を標的とした治療の可能性. 血液・腫瘍科 56:120-126, 2008

松村 到, 金倉 譲. 慢性炎症と貧血. 日本臨床 66:535-539, 2008

松村 到, 金倉 譲. 専門医の管理・治療が必要な疾患のガイドライン-白血病-. ガイドライン外来診療 2008 年版(泉 孝英編), 日経メディカル開発, 東京, 2008, pp404-406

松村 到, 金倉 譲. CML の治療. 総合臨床 57:287-288, 2008

松村 到, 金倉 譲. イマチニブ耐性・不耐容の慢性骨髄性白血病に対する治療戦略. 総合臨床 57:666-674, 2008

松村 到, 金倉 譲. MPD に対する分子標的療法. カレントセラピー 26:56-60, 2008

松村 到, 金倉 譲. 今後の分子標的療法候補薬. 骨髄異形成症候群(MDS)の基礎と臨床(朝長 万左男編), 医薬ジャーナル社, 東京, 2008, pp264-273

松村 到, 金倉 譲. 急性骨髄性白血病(AML)における白血病幹細胞. 医学のあゆみ 227:5-9, 2008

松村 到, 金倉 譲. 好酸球増加症に対するヒト化抗 IL-5 中和抗体 mepolizumab の治療効果. 内科 102:1021-1022, 2008

松村 到, 金倉 譲. 急性骨髄性白血病の分類と診断, 治療指針. 血液フロンティア 18:29-41, 2008

松村 到, 金倉 譲. Imatinib 耐性の原因と対策. 分子細胞治療 7:23-30, 2008

西村純一, 金倉 譲. 造血器疾患治療の新しい潮流. 発作性夜間血色素尿症の治療. *Mebio* 25:37-43, 2008

西村純一, 金倉 譲. 貧血 -最新の基礎と臨床- 基礎編 貧血の分子病態 -各論- 発作性夜間ヘモグロビン尿症(PNH). 日本臨床 66:490-496, 2008

西村純一, 金倉 譲. II. 血液・造血器疾患を深く学ぼう A. 赤血球系疾患 発作性夜間ヘモグロビン尿症. 講義録 血液・造血器疾患学(小澤敬也, 直江知樹, 坂田洋一編), メジカルビュー社, 東京, 2008, pp146-149

増田有美子, 野島順三, 岩谷良則, 末久悦次, 二日市良彰, 日高 洋, 金倉 譲. 全血法によるエンドトキシン誘発単球表面組織因子発現量の測定と臨床応用. 日本検査血液学会雑誌 9:23-30, 2008

2. 学会発表

Matsumura I

Effects of iron overload on hematopoiesis
The 8th International Porphyrin-Heme Symposium (2008.10.16-17, Shimane, Japan)

Ezoe S, Matsumura I, Kanakura Y
NAD-dependent histone deacetylase, SIRT1,
plays essential roles in the maintenance of
hematopoietic stem cells
International Society of Hematology World
Congress XXXII (2008.10.19-23, Bangkok,
Thailand)

Kanakura Y, Ohyashiki K, Shichishima T,
Okamoto S, Ando K, Ninomiya H,
Kawaguchi T, Nakao S, Nakakuma H,
Nishimura J, Kinoshita T, Bedrosian C,
Valentine ME, Ozawa K, Omine M
Safety and efficacy of the terminal
complement Inhibitor Eculizumab in
Japanese patients with paroxysmal nocturnal
hemoglobinuria: Aegis phase II clinical study
results
The American Society of Hematology 50th
Annual meeting (2008.12.6-9, San Francisco,
USA)

Yokota T, Oritani K, Butz S, Kokame K,
Kincade PW, Miyata T, Vestweber D,
Kanakura Y
The endothelial antigen ESAM marks
hematopoietic stem cells throughout life in
mice
The American Society of Hematology 50th
Annual meeting (2008.12.6-9, San Francisco,
USA)

Ezoe S, Matsumura I, Tanaka H, Satoh Y,
Yokota T, Oritani K, Kanakura Y
NAD-dependent histone deacetylase, SIRT1,
plays essential roles in the maintenance of
hematopoietic stem cells
The American Society of Hematology 50th
Annual meeting (2008.12.6-9, San Francisco,
USA)

Tadokoro S, Shiraga M, Kashiwagi H,
Kamae T, Akiyama M, Nakazawa T,
Kanakura Y, Tomiyama Y
A role for α -actinin in inside-out α IIb β 3
signaling
The American Society of Hematology 50th
Annual meeting (2008.12.6-9, San Francisco,

USA)

Tanaka H, Matsumura I, Satoh Y, Ezoe S,
Nakahata T, Kanakura Y
Wnt/ β -catenin pathway affects the cell-fate
decisions of hematopoietic stem/progenitor
cells modulating the epigenetic states of
various essential transcription factors
The American Society of Hematology 50th
Annual meeting (2008.12.6-9, San Francisco,
USA)

Satoh Y, Tanaka H, Yokota T, Ezoe S,
Oritani K, Kanakura Y
Roles for the AML1/RUNX1 point mutation
in the pathogenesis of MDS/AML
The American Society of Hematology 50th
Annual meeting (2008.12.6-9, San Francisco,
USA)

Murakami Y, Ohta R, Inoue N, Shichishima
T, Nishimura J, Kanakura Y, Kinoshita T
Expression of HMGA2 in blood cells from
patients with paroxysmal nocturnal
hemoglobinuria
The American Society of Hematology 50th
Annual meeting (2008.12.6-9, San Francisco,
USA)

小原尚恵, 柴山浩彦, 村田信介, 齋藤有
理, 杉本夕奈, 松村 到, 青笹克之, 金倉
護
びまん性大細胞型B細胞リンパ腫(DLBCL)
におけるアナモルシンの発現:アナモルシン
は低リスク症例において生物学的予後因子
となりうる
第 105 回日本内科学会総会・講演会
(2008.4.11-13, 東京)

秋山正夫, 柏木浩和, 東道公人, 田所誠
司, 金倉 護, 富山佳昭
抗 GPVI 抗体に起因すると思われる GPVI
欠損症の一例
第 56 回日本輸血・細胞治療学会総会
(2008.4.25-27, 福岡)

横田貴史, 織谷健司, 小亀浩市, 宮田敏行,
金倉 護
新規造血幹細胞表面マーカーESAM1 の同
定

第 6 回幹細胞シンポジウム (2008.5.16-17, 東京)

阪上美寿々, 政家寛明, 前田哲生, 氏家秀敏, 白鹿正通, 柴山浩彦, 石川 淳, 水木満佐央, 松村 到, 金倉 譲

Rituximab 併用療法が奏功した IgAκ 型多発性骨髄腫の一例

第 89 回近畿血液学地方会 (2008.6.21, 大阪, 堂前尚親)

金倉 譲

Physician Scientist

第 70 回日本血液学会総会 (2008.10.10-12, 京都)

白鹿正通, 釜江 剛, 中澤剛士, 秋山正夫, 田所誠司, 柏木浩和, 本田繁則, 富山佳昭,

金倉 譲

インテグリン $\alpha\text{IIb}\beta_3$ 機能における P2Y_{12} の役割 - $\alpha\text{IIb}\beta_3$ と rap1 活性化の同期性-

第 70 回日本血液学会総会 (2008.10.10-12, 京都)

川本晋一郎, 織谷健司, 横田貴史, 高橋功, 金倉 譲

NUP98-HOXA10 および Meis1 の共発現によるマウス ES 由来血液細胞の白血病化モデル

第 70 回日本血液学会総会 (2008.10.10-12, 京都)

白鹿正通, 釜江 剛, 中澤剛士, 秋山正夫, 田所誠司, 柏木浩和, 本田繁則, 富山佳昭,

金倉 譲

血小板インテグリンと Rap1 の機能における P2Y_{12} の役割

第 31 回日本血栓止血学会学術集会 (2008.11.20-22, 大阪)

秋山正夫, 柏木浩和, 東道公人, 諸井将明, 小島 寛, 中澤剛士, 田所誠司, 白鹿正通,

金倉 譲, 富山佳昭

ITP 合併 GPVI 欠損例の解析-GPVI 欠損発症メカニズムに関する検討

第 31 回日本血栓止血学会学術集会 (2008.11.20-22, 大阪)

村上良子, 太田里永子, 西村純一, 金倉 譲, 七島 勉, 井上徳光, 木下タロウ

発作性夜間血色素尿症患者における HMGA2 の発現について

第 31 回日本分子生物学会年会・第 81 回日本生化学会大会 合同大会 (2008.12.9-12, 神戸)

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特願なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

IV. 班会議・合同研究カンファレンス

平成 20 年度厚生労働科学研究費補助金
「新たな移植細胞療法に向けた造血幹細胞の
ex vivo 増幅技術の開発と応用」班会議事録

第 1 回合同研究カンファレンス

1. 日時 平成 20 年 7 月 15 日 (火) 14:00～16:00
2. 場所 先端医療センター臨床棟 4 階 研修室
3. データカンファレンス

演者	演題名
伊藤 仁也 先端医療センター 細胞管理室	『臨床研究に関する進捗状況』

第 2 回合同研究カンファレンス

1. 日時 平成 20 年 10 月 7 日 (火) 14:00～16:00
2. 場所 メルパルク京都 4 階研修室 2
3. データカンファレンス

演者	演題名
田中 宏和 先端医療センター 客員研究員	『製造試験について』
初山 麻子 先端医療センター 細胞管理室	『培養 Bag 及び培地の変更に伴う培養スケジュールの検討』
伊藤 仁也 先端医療センター 細胞管理室	『臨床試験の進捗状況』

第3回合同研究カンファレンス

1. 日時 平成20年11月11日(火) 14:00~16:00
2. 場所 先端医療センター臨床棟4階 研修室
3. データカンファレンス

演者	演題名
伊藤 仁也 先端医療センター 細胞管理室	『臨床研究に関する進捗状況』
丸山 京子 先端医療センター 細胞管理室	『実製造実施に向けた準備進捗状況』

第4回合同研究カンファレンス

1. 日時 平成20年12月16日(火) 14:00~16:00
2. 場所 メルパルク京都 4階研修室2
3. データカンファレンス

演者	演題名
清水 則夫 東京医科歯科大学	『リアルタイムPCR機を使用した ウイルス同時検出系の開発と応用』
伊藤 仁也 先端医療センター 細胞管理室	『次年度研究計画について』

第5回合同研究カンファレンス

1. 日時 平成21年2月10日(火) 14:00～16:00
2. 場所 先端医療センター臨床棟4階 研修室
3. データカンファレンス

演者	演題名
田中 宏和 大阪大学 血液・腫瘍内科	『海外における動向～第50回米国血液学会より』
伊藤 仁也 先端医療センター 細胞管理室	『厚労省臍帯血研究班研究報告～第2回合同班会議より』

増幅臍帯血移植臨床試験公開シンポジウム

1. 日時 平成21年3月13日(金) 18:00～18:40
「移植カンファレンス」
18:40～20:00
「臨床研究検討会」
2. 場所 先端医療センター臨床棟4階 研修室
3. データカンファレンス

演者	演題名
伊藤 仁也 先端医療センター 細胞管理室	新たな移植細胞療法に向けた造血幹細胞の ex vivo 増幅技術の開発と応用班

V. 研究成果の刊行に関する一覧表
