

200936271A

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服 研究事業

疾患特異的 iPS 細胞を用いた難治性疾患の
画期的診断・治療法の開発に関する研究

平成21年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 中畑龍俊

平成22(2010)年3月

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服 研究事業

疾患特異的 iPS 細胞を用いた難治性疾患の
画期的診断・治療法の開発に関する研究

平成 21 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 中 畑 龍 俊

京都大学 物質-細胞統合システム拠点 iPS 細胞研究センター

医療応用技術開発部門 疾患解析学分野

はじめに

難治性疾患克服研究事業の対象となっている疾患はいずれも患者数が少なく研究が進みにくいことから、新たな画期的な診断、治療法の開発が求められている。

2007年に研究分担者の高橋和利、山中伸弥によって、世界で最初に報告されたヒト体細胞からの多能性幹細胞(iPS細胞)の誘導は様々な臨床応用が期待されている。iPS細胞は患者を含む特定の個人由来の多能性幹細胞として樹立できる点で画期的であり、患者から樹立されたiPS細胞(疾患特異的iPS細胞)を用いた疾患モデル作成、難治性疾患の病因・病態解析、創薬、治療法開発が期待される。一方で、今後ヒトES細胞/iPS細胞においてジーンターゲット法を用いて遺伝子改変が行われる時代の到来が予測される。我々は、京都大学iPS細胞研究所において、ヒトiPS細胞の樹立・維持方法の確立、品質改良に取り組んでいる。

本研究班は、本年度(平成21年度)より新たに結成されたものであるが、その目的は、疾患特異的iPS細胞、遺伝子改変ES/iPS細胞を用いて難治性疾患の病因、病態の解明、新たな治療の開発を目指すことである。疾患関連iPS細胞研究においては、これらの細胞を作成し解析する技術はもちろん、ES細胞などで培われた各種の細胞への分化系や、作成したiPS細胞の標準化技術の確立なども重要な要素である。これら様々な要素を結集し、できるだけ早く臨床に還元できる成果を得るために、本研究班が組織された。

本年度は、約半年という短い期間であったが、10種類程度の疾患から疾患特異的iPS細胞を樹立し、平行して各分担研究者が血液・神経・筋肉などへの分化系の構築を行うことができた。また、iPS細胞の標準化に向けた戦略も前進しており、全体として順調な成果を上げている。

今後は、iPS細胞を用いた、従来になかった新しい観点からの病態解析に踏み込み、診断・治療に向けた研究を進めていきたい。本報告書が関係者の参考になれば幸いである。

平成22年3月 主任研究者 中畑 龍俊

目 次

I. 研究組織	1
II. 平成 21 年度総括研究報告	3
中畑 龍俊	
III. 平成 21 年度分担研究報告	
1. 原発性免疫不全症候群・Fanconi 貧血・骨髄異形成症候群などの iPS 細胞作成及び解析	13
齋藤 潤	
2. 網膜変性疾患 iPS 細胞作成、網膜細胞検証	17
高橋 政代	
3. パーキンソン病疾患 iPS 細胞の解析	19
高橋 淳	
4. 難治性骨軟骨疾患特異的 iPS 細胞作製と病態解明	21
戸口田 淳也	
5. パーキンソン病関連特異的 iPS 細胞作製と解析	23
高橋 良輔	
6. ALS・アルツハイマー病・脊髄性筋萎縮症関連疾患特異的 iPS 細胞作製と解析	25
井上 治久	
7. 難治性腎疾患特異的 iPS 細胞を用いた新規試験管内疾患モデルの作製	27
長船 健二	
8. 原発性免疫不全症候群・拡張型心筋症・疾患特異的 iPS 細胞作成及び解析	29
平家 俊男	
9. 疾患特異的 iPS 細胞の創薬探索系への活用	33
中西 淳	
10. 疾患特異的 iPS 細胞の標準化	35
高橋 和利	
11. 患者線維芽細胞の保存・疾患 iPS 細胞バンク事業	37
浅香 勲	
IV. 班会議記録合同研究カンファレンス	39
V. 研究成果の刊行に関する一覧	41
VI. 研究成果の刊行物・印刷物	49

I. 研究組織

平成 21 年度厚生科学研究

「疾患特異的 iPS 細胞を用いた難治性疾患の
画期的診断・治療法の開発に関する研究」 研究班
研 究 組 織

	氏 名	所 属
主任研究者	中畑 龍俊	京都大学物質-細胞統合システム拠点 iPS 細胞研究センター
分担研究者	斎藤潤	京都大学物質-細胞統合システム拠点 iPS 細胞研究センター
	高橋政代	理化学研究所 発生再生科学総合研究センター
	高橋淳	京都大学 再生医科学研究所・iPS 細胞研究センター
	戸口田淳也	京都大学 再生医科学研究所・iPS 細胞研究センター
	高橋良輔	京都大学 医学研究科 神経内科学
	井上治久	京都大学物質-細胞統合システム拠点 iPS 細胞研究センター
	長船健二	京都大学物質-細胞統合システム拠点 iPS 細胞研究センター
	平家俊男	京都大学 医学研究科 発達小児科学
	中西淳	武田薬品工業 医薬研究本部 開拓研究所
	高橋和利	京都大学物質-細胞統合システム拠点 iPS 細胞研究センター
	浅香勲	京都大学物質-細胞統合システム拠点 iPS 細胞研究センター

II. 平成 21 年度 総括研究報告書

総括研究報告書

疾患特異的 iPS 細胞を用いた難治性疾患の
画期的診断・治療法の開発に関する研究

総括研究者：中畑 龍俊

（京都大学 物質-細胞統合システム拠点 iPS 細胞研究センター 特定拠点教授）

研究要旨

難治性疾患克服研究事業対象疾患の新たな画期的な診断、治療法の開発を疾患関連 iPS 細胞を用いて行うことを目的として、以下の研究を行った。

<疾患 iPS 細胞作成>原発性免疫不全症候群、網膜変性疾患、脊髄性筋萎縮症、脊髄小脳変性症、パーキンソン病、難治性骨軟骨疾患、多発性嚢胞腎などの疾患患者の繊維芽細胞から iPS 細胞を作成した。

<分化系の構築>網膜色素上皮細胞、ドパミン神経細胞、運動ニューロン、骨格筋細胞などの分化系・培養系の構築や最適化を行った。

<iPS 細胞の標準化>自己の繊維芽細胞をフィーダー細胞として利用する技術を確立した。

<創薬探索系への活用>化合物評価に適した条件を設定するために、神経分化誘導方法と分化マーカーの測定法を最適化してスループットを改善した。

A：研究目的

難治性疾患克服研究事業の対象となっている疾患はいずれも患者数が少なく研究が進みにくいことから、新たな画期的な診断、治療法の開発が求められている。

2007年に研究分担者の高橋和利、山中伸弥によって、ヒト体細胞から多能性幹細胞(iPS細胞)を誘導できることが示され、世界中に大きな衝撃を与えた(Takahashi K. Cell, 2007, 131:861)。iPS細胞は患者を含む特定の個人由来の多能性幹細胞として樹立できる点で画期的であり、患者から樹立されたiPS細胞(疾患特異的iPS細胞)を用いた難治性疾患の病態解析、創薬、治療法開発が期待される。一方で、今後ヒトES細胞/iPS細胞においてジーンターゲット法を用いて遺伝子改変が行われる時代の到来が予測される。

本研究目的は、疾患特異的iPS細胞、遺伝子改変ES/iPS細胞を用いて難治性疾患の病因、病態の解明、新たな治療の開発を目指すと共にこれら細胞のバンクを整備し、我が国における研究基盤を確立することである。

本研究を遂行するためには幹細胞樹立の標準化、適切な分化系の構築が必要であるため、平行してこれらの事業を行う。さらに企業との共同研究で、毒性試験系への応用、創薬活用を進める。

iPS細胞を用いた疾患の病態解析については、従来は*in vitro*で単一の疾患の表現型を再現することにとどまっております(Raya A. Nature. 2009:460:53, Ebert AD. Nature. 2009:457:277)、コントロールの設定、複数の疾患を組み合わせた横断的な解析、*in vivo*解析などは行われていない。そこで、発症年齢の異なる複数の神経変性疾患の疾患関連iPS細胞を用いたaging subtractionにより、各々の病態の関連を解明することをめざす。また、我々が開発したNOGマウスにiPS細胞から分化させた種々の細胞を移植することにより、*in vivo*での病態を明らかにする。

B：研究方法

難治性疾患克服研究事業の対象疾患患者から書面で同意を得た後皮膚などの組織を採取し、疾患特異的iPS細胞を樹立する。対象疾患は、脊髄性進行性筋萎縮症、筋萎縮性側索硬化症、脊髄小脳変性症、神経線維腫症I・II型、結節性硬化症、シャイ・ドレーガー症候群、多発性硬化症、パーキンソン病、ペルオキシソーム病、ライソゾーム病(、ミトコンドリア病、副腎酵素欠損症、後縦靭帯

骨化症、黄色靭帯骨化症、前縦靭帯骨化症、網膜色素変性症、加齢性黄斑変性症、再生不良性貧血、不応性貧血、多発性嚢胞腎、肥大型心筋症、拡張型心筋症、原発性免疫不全、自己炎症性疾患、サルコイドーシスなどとする。樹立手法はレトロウイルスベクター法を用いるが、適時樹立方法を改善する。樹立のソースとなる線維芽細胞などは、京都大学iPS細胞研究所共通基盤施設で保存する。iPS細胞は標準化を行い、適切なクローンを選別する。

ヒトES/iPS細胞のジーンターゲット法を行う。具体的には、疾患特異的iPS細胞の持つ変異遺伝子変異やその関連遺伝子の改変や、変異を導入したES細胞を作成し、シグナル解析や発現解析に用いる。

体細胞モザイクの患者から正常と変異クローンの疾患特異的iPS細胞を作成する。これにより遺伝的背景の多様性を最小限に抑え、今後の疾患特異的iPS細胞研究をデザインする上での指標となりうる解析手法を開発する。

発症年齢が異なるが表現型が近似する複数の神経変性疾患の患者由来の疾患関連iPS細胞を神経細胞に分化させ、発症に關与する分子機構の差異を解析し、年齢依存性の発症機構を解明する。疾患の発症時期を老年期以降にずらし、発症を未然に防ぐ治療を開発する。

分担研究者らにより、種々の細胞への分化系は確立されているが、さらに効率及び安全性を向上させる。

疾患特異的iPS細胞の供与や薬剤ライブラリの共用などについて、製薬会社と連携して創薬へのiPS細胞の応用を進める。

本研究は、疾患を有する患者さんから検体を頂きiPS細胞を作成して行う研究であるため、患者さんの同意・協力を必要とする研究である。また、作成するiPS細胞を用いた疾患解析においては、遺伝子解析が必須であり、個人情報取り扱いの配慮を必要とする研究である。この2点に対して、我々は、疾患特異的iPS細胞研究を行うにあたり、京都大学医学部医の倫理委員会に、ヒトを対象とした医学の研究および臨床応用実施申請書として「ヒト疾患特異的iPS細胞の作成とそれを用いた疾患解析に関する研究」およびヒト遺伝子解析申請書として「ヒト疾患特異的iPS細胞を用いた遺伝子解析研究」の2申請を行った。その後、京都大学医学部医の倫理委員会での審査を頂き、平成20年6月4日付けで、実施に関して承認を頂いた。今後の

研究においては、その内容を忠実に順守して行う。

C：結果

【原発性免疫不全症候群・Fanconi 貧血・骨髄異形成症候群などの iPS 細胞作成及び解析】

原発性免疫不全症候群のうち、CINCA 症候群、HAX1 異常症の iPS 細胞を作成した。CINCA 症候群については2例の体細胞モザイク患者から iPS 細胞を樹立し、変異型と正常型の2種類のクローンを複数得た。また、解析のため、造血分化系を構築し、分化させた単球・マクロファージの機能解析系を樹立した。現在患者由来クローンや対照細胞の解析を進めている。

【網膜変性疾患 iPS 細胞作成、網膜細胞検証】

原因遺伝子の機能が異なる様々な患者さんから iPS 細胞を樹立した(ロドプシン、RDS、RP1、RP9、RP11)。それぞれの患者から3株の iPS 細胞を選び、網膜細胞へと分化誘導したところ、すべての患者の iPS 細胞から色素を持った網膜色素上皮細胞が出現した。

【パーキンソン病疾患 iPS 細胞の解析】

パーキンソン病に対する iPS 細胞移植治療の実現化を将来の目的としてヒト iPS 細胞からのドーパミン神経細胞誘導条件を最適化に取り組み、無血清培地を用いた浮遊細胞系で BMP および TGF β 、Activin 阻害剤を加えることによって分化誘導効率が有意に上昇することを明らかにした。

【ALS・アルツハイマー病・脊髄性筋萎縮症関連疾患特異的 iPS 細胞作製と解析】

脊髄性筋萎縮症 2 例、脊髄小脳変性症 3 例より皮膚線維芽細胞を樹立した。ヒト iPS 細胞より、脊髄性筋萎縮症で変性する脊髄運動ニューロンへの分化誘導方法を確立した。

【パーキンソン病関連特異的 iPS 細胞作製と解析】

パーキンソン病（遺伝性 2 例、孤発性 11 例）の皮膚線維芽細胞を樹立した。1 名の遺伝性パーキンソン病患者由来 iPS 細胞候補クローンを樹立した。

【難治性骨軟骨疾患特異的 iPS 細胞作製と病態解明】

異所性骨化を呈する難治性疾患罹患者より

iPS 細胞を樹立した。樹立した iPS 細胞から間葉系幹細胞、更に靭帯・腱細胞を誘導し、in vitro 及び in vivo において骨化誘導実験を行い、正常個体から誘導した細胞と比較検討することで異所性骨化の分化機構を解明することを目指し、その基盤となる実験系を構築した。

【原発性免疫不全症候群・拡張型心筋症・疾患特異的 iPS 細胞作成及び解析】

マウス ES/iPS 細胞、ヒト ES/iPS 細胞を用いて、造血細胞、骨格筋細胞を作成する基盤技術を開発した。ヒト疾患研究において横たわる大きな障壁の1つとして、患者さんより病態の原因となる組織を頂くことの倫理的、物理的困難さにある。疾患特異的 iPS 細胞は、これらの困難さを解決してくれる大きな手段となる。しかし、効率的な疾患研究を遂行するには、ES 細胞、iPS 細胞から、目的とする組織を選択的に作成する基盤技術の開発が必須である。今回我々は、ヒト iPS 細胞より、造血細胞、骨格筋細胞を作成する基盤技術を開発した。

【疾患特異的 iPS 細胞作成（多発性嚢胞腎など）】

5 名の多発性嚢胞腎患者（3 名は脳動脈瘤合併かつ腎障害重症、2 名は軽症）から iPS 細胞株を樹立した。そして、未分化マーカーおよびトランスジーンの発現評価、胚様体、奇形腫形成による多分化能の評価をほぼ完了した。また、多発性嚢胞腎特異的 iPS 細胞から罹患臓器である血管内皮細胞、周皮細胞、胆管上皮細胞への試験管内での分化誘導を行い、フローサイトメトリーにて単離したこれらの細胞の遺伝子発現解析を開始した。

【患者線維芽細胞の保存・疾患 iPS 細胞作成】

今年度は、難治性疾患克服研究事業の対象となる疾患のうち脊髄性進行性筋萎縮症、筋萎縮性側索硬化症、脊髄小脳変性症、多発性硬化症、パーキンソン病、後縦靭帯骨化症、多発性嚢胞腎等の患者数例から十数例について、書面で同意を得た後皮膚を採取し、アウトグロース法により線維芽細胞を作成し、各検体十数本以上の凍結細胞ストックを作成した。

さらに、筋萎縮性側索硬化症、後縦靭帯骨化症、CINCA 症候群、多発性嚢胞腎等の線維芽細胞について、レトロウィルスベクター法により Oct3/4、Sox II、Klf4、cMyc の 4 遺伝子、または Oct3/4、Sox II、Klf4 の 3 遺伝子

を導入して疾患特異的 iPS 細胞をそれぞれ数クローンずつ樹立した。

【ヒト iPS 細胞の標準化】

ヒト iPS 細胞の標準化を目的として、ヒト iPS 細胞の樹立および維持において自己の細胞をフィーダー細胞として用いることができるか否かを検討した。結果、14 例中 11 例において自己の線維芽細胞をフィーダー細胞として利用することが可能であった。この結果は他人由来の成分を含まない培養系の確立に寄与すると考えられる。

【創薬探索系への活用】

ヒト iPS 細胞株を京都大学から導入し、維持培養、凍結保存などの基盤技術を確認した後、ヒト iPS 細胞から神経分化誘導を検討した。化合物評価に適した条件を設定するために、神経分化誘導方法と分化マーカーの測定法を最適化してスループットを改善した。創薬探索系のモデルとして、ドーパミン神経マーカー (TH) の発現を促進する物質の評価系を構築して検討を開始した。また、ヒト iPS 細胞からの運動神経の分化誘導法についても検討を開始した。

D : 考察

本年度は、分担研究者がそれぞれ課題に取り組み、10 種程度の疾患から数十以上の iPS クローンを作成した。これらの細胞についてはそれぞれ適切な性能を備えた iPS 細胞であるかの検討が必要であり、未分化マーカーの出現、形態、導入遺伝子のサイレンシング、分化能など様々な検討が各分担研究者によって行われている。

一方で、疾患関連 iPS 細胞研究においては iPS 細胞株以外の様々な要因が研究の成否を左右する。

樹立に適した状態で繊維芽細胞を維持すること、性質のよい iPS 細胞を維持する方法、解析に適した再現性のよい分化系の構築などは、疾患 iPS 細胞株を得ることと同様に極めて重要である。これらについても分担研究者によって、洗練化されており、今後の解析への応用が期待できる。

E : 結論

本年度は約半年という短い期間であったが、疾患関連 iPS 細胞を用いた病態解析・病因究明という大きな目標に向けて、順調に研究を開始することができた。引き続き来年度も研究に邁進し、病気に苦しむ患者さんの診

断・治療に貢献できる成果を求めてゆきたい。

F : 健康危険情報

なし

G : 研究発表

1. Watanabe M, Adachi S, Matsubara H, Imai T, Yui Y, Mizushima Y, Hiraumi Y, Watanabe K, Kamitsuji Y, Toyokuni S, Hosoi H, Sugimoto T, Toguchida J, Nakahata T: Induction of autophagy in malignant rhabdoid tumor cells by the histone deacetylase inhibitor FK228 through AIF translocation. *Int J Cancer*:124,55-67,2009
2. Matsubara H, Watanabe M, Imai T, Yui Y, Mizushima Y, Hiraumi Y, Kamitsuji Y, Watanabe K, Nishijo K, Toguchida J, Nakahata T, Adachi S.: Involvement of extracellular signal-regulated kinase activation in human osteosarcoma cell resistance to the histone deacetylase inhibitor FK228 [(1S,4S,7Z,10S,16E,21R)-7-ethylidene-4,2 1-bis(propan-2-yl)-2-oxa-12,13-dithia-5,8,20,23-tetraazabicyclo[8.7.6]tricos-16-ene-3,6,9,19,22-pentone]. *J Pharmacol Exp Ther.* 328(3):839-48, 2009.
3. Okafuji I, Nishikomori R, Kanazawa N, Kambe N, Fujisawa A, Yamazaki S, Saito M, Yoshioka T, Kawai T, Sakai H, Tanizaki H, Heike T, Miyachi Y, Nakahata T.: Role of the NOD2 genotype in the clinical phenotype of Blau syndrome and early-onset sarcoidosis. *Arthritis Rheum.* 60(1):242-50 2009.
4. Niwa A, Umeda K, Awaya T, Yui Y, Matsubara H, Hiramatsu H, Watanabe KI, Adachi S, Itoh T, Uemoto S, Nakahata T.: Successful autologous peripheral blood stem cell transplantation with a double-conditioning regimen for recurrent hepatoblastoma after liver transplantation. *Pediatr Transplant.* 13(2): 259-262, 2009.
5. Hiraumi Y, Iwai-Kanai E, Baba S, Yui Y, Kamitsuji Y, Mizushima Y, Matsubara H, Watanabe M, Watanabe KI, Toyokuni S, Matsubara H, Nakahata T, Adachi S.: Granulocyte colony-stimulating factor protects cardiac mitochondria in the early phase of cardiac injury. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 296:H823-H832,2009.
6. Chang H, Yoshimoto M, Umeda K, Iwasa T, Mizuno Y, Fukada SI, Yamamoto H, Motohashi N, Suzuki YM, Takeda S, Heike T, Nakahata T.: Generation of transplantable, functional satellite-like cells from mouse embryonic stem cells. *FASEB J.* 23:1907-1919,2009.
7. Fukushima-Shintani M, Suzuki KI, Iwatsuki Y, Abe M, Sugawara K, Hirayama F, Kawasaki T, Nakahata T.: AKR-501 (YM477) a novel orally-active thrombopoietin receptor agonist. *Eur J Haematol.* 82(4):247-254,2009.
8. Higashi A.Y., Ikawa T, Muramatsu M,

- Economides A.N., Niwa A, Okuda T, Murphy A.J., Rojas J, Heike T, Nakahata T, Kawamoto H, Kita T, Yanagita M.: Direct hematological toxicity and illegitimate chromosomal recombination caused by the systemic activation of CreER^{T2}. *J Immunol.* 182:5633-5640,2009.
9. Hasegawa D., Manabe A., Yagasaki H., Ohtsuka Y., Inoue M., Kikuchi A., Ohara A., Tsuchida M., Kojima S., Nakahata T.: Treatment of Childhood MDS Study Group Trial (MDS99). *Pediatr. Blood Cancer* 53:1011-1015,2009.
 10. Kato M, Sanada M, Kato I, Sato Y, Takita J, Takeuchi K, Niwa A, Chen Y, Nakazaki K, Nomoto J, Asakura Y, Muto S, Tamura A, Iio M, Akatsuka Y, Hayashi Y, Mori H, Igarashi T, Kurokawa M, Chiba S, Mori S, Ishikawa Y, Okamoto K, Tobinai K, Nakagama H, Nakahata T, Yoshino T, Kobayashi Y, Ogawa S: Frequent inactivation of A20 in B-cell lymphomas. *Nature* 459:712-716,2009.
 11. Niwa A., Umeda K., Chang H., Saito M., Okita K., Takahashi K., Nakagawa M., Yamanaka S., Nakahata T., Heike T: Orderly Hematopoietic Development of Induced Pluripotent Stem Cells via Flk-1⁺ Hemoangiogenic Progenitors. *J. Cell. Physiol.* 221:367-377, 2009.
 12. Miyara M., Yoshioka Y., Kitoh A., Shima T., Wing K., Niwa A., Perizot C., Taflin C., Heike T., Valeyre D., Mathian A., Nakahata T., Yamaguchi T., Nomura T., Ono M., Amoura Z., Gorochoff G., Sakaguchi S.: Functional delineation and differentiation dynamics of human CD4⁺ T cells expressing the FoxP3 transcription factor. *Immunity* 30:899-911,2009.
 13. Yokoo N., Baba S., Kaichi S., Niwa A., Mima T., Doi H., Yamanaka S., Nakahata T., Heike T.: The effects of cardioactive drugs on cardiomyocytes derived from human induced pluripotent stem cells. *Biochem. Biophys. Res. Com.* 387(3):482-488,2009..
 14. Kusunoki T, Morimoto T, Nishikomori R, Yasumi T, Heike T, Fujii T, Nakahata T.: Changing Prevalence and Severity of Childhood Allergic Diseases in Kyoto, Japan, from 1996 to 2006. *Allergol Int.* 58(4): 543-548, 2009.
 15. Kusunoki T, Morimoto T, Nishikomori R, Heike T, Fujii T, Nakahata T.: Allergic status of schoolchildren with food allergy to eggs, milk or wheat in infancy. *Pediatr Allergy Immunol.* 20(7):642-647,2009.
 16. Nie C, Sato K, Misawa N, Kitayama H, Fujino H, Hiramatsu H, Heike T, Nakahata T, Tanaka Y, Ito M, Koyanagi Y: Selective infection of CD(4)⁺ effector memory T lymphocytes leads to preferential depletion of memory T lymphocytes in R5 HIV-infected humanized NOD/SCID/IL-2R γ ^{null} mice. *Virology* 394: 64-72,2009.
 17. Suzuki N, Yumura-Yagi K, Yoshisa M, Hara J, Nishimura S, Kudoh T, Tawa A, Usami I, Tanizawa A, Hori H, Ito Y, Miyaji R, Oda M, Kato K, Hamamoto K, Osugi Y, Hashii Y, Nakahata T, Horibe K: Outcome of childhood acute lymphoblastic leukemia with induction failure treated by the Japan Association of Childhood Leukemia Study (JACLS) ALL F-protocol. *Pediatric Blood Cancer.* 54(1):71-78, 2010.
 18. Kato I, Umeda K., Awaya T., Yui Y., Niwa A., Fujino H., Matsubara H., Watanabe K., Heike T., Adachi N., Endo H., Mizukami T., Nunoi H., Nakahata T., Adachi S.: Successful treatment of refractory donor lymphocyte infusion-induced immune-mediated pancytopenia by Rituximab. *Pediatr Blood Cancer.* 54: 329-331, 2010.
 19. Sakai H, Ito S, Nishikomori R, Takaoka Y, Kawai T, Saito M, Okafuji I, Yasumi T, Heike T, Nakahata T : A case of early-onset sarcoidosis with a six-base deletion in the NOD2 gene. *Rheumatology (Oxford).* 49: 194-196, 2010.
 20. Ueno H, Blanck JP, Sidney J, Zurawski SM, Bourdery L, Bentebibel SE, Zurawski G, Nicewander D, Heike T, Nakahata T, Arai K, Arai N, Blankenship D, Sette A, Banchereaul J: Circulating CD4⁺ T cells Specific for H5 Hemagglutinin in Healthy Subjects. *J. Infectious Diseases* in press
 21. Mizuno Y., Chang H., Umeda K., Niwa A., Iwasa T., Awaya T., Fukada S., Hiroshi Yamamoto H., Yamanaka S., Nakahata T., Heike T.: Generation of skeletal muscle stem/progenitor cells from murine induced pluripotent stem cells. *FASEB J.* in press.
 22. Yoshimoto M, Heike T, Chang H, Kanatsu-Shinohara M, Baba S, Varnau JT, Shinohara T, Yoder MC, Nakahata T: Bone marrow engraftment but limited expansion of hematopoietic cells from multipotent germline stem cells derived from neonatal mouse testis. *Exp Hematol* in press
- 邦文
1. 丹羽明、中畑龍俊 : I. 造血幹細胞 1. iPS 細胞からの造血分化. *Annual Review 血液* 2009 : 1-8, 2009.
 2. 澤田明久、井上雅美、近藤統、木本富子、山田佳世、中山雅弘、桑江優子、西川正則、大川洋二、井田孔明、徳田桐子、眞部淳、土屋邦彦、奥山宏臣、窪田昭男、川原央好、長谷川利路、米田光宏、竹本理、山田淳二、川端秀彦、田村太資、木内恵子、平野慎也、宇野誠、竹下泰史、石原卓、岡村隆行、坂田尚己、水谷修紀、中畑龍俊、迫正廣、多和昭雄、尾路祐介、坪井昭博、小山真穂、岡芳弘、安井昌博、

- 杉山治夫、河敬世：小児がんに対する WT1 ペプチドによるワクチン療法. 日本小児がん学会雑誌 46(1) :6-16, 2009.
3. 深尾大輔、加藤格、梅田雄嗣、徳舛麻友、瓜生久美子、馬場志郎、松原央、渡邊健一郎、土井拓、足立壮一、中畑龍俊、水嶋康浩、片岡昭浩、若園吉裕：感染性心内膜炎合併後に安全に非血縁臍帯血移植を施行し得た乳児白血病の1例. 日本血液学会雑誌 23(2) :126-130, 4, 2009.
 4. 河井昌彦、中畑龍俊：プロトロンビン時間を重視した早期新生児の DIC 診断基準. 日本産婦人科・新生児血液学会誌 18(2) :85-90, 2009.
 5. 長井静世、依藤亨、土井拓、河井昌彦、百井亨、岡本晋弥、土井隆一郎、中本裕士、増江道哉、加古伸雄、岡本浩之、加藤英治、長沖優子、上本伸二、中畑龍俊：集学的アプローチにより腫瘍核出術をしえた局所型先天性高インスリン血症. 日本小児科学会雑誌 113(5) :838-842, 2009.
 6. 伊藤仁也、中畑龍俊：対外増幅造血細胞移植. 医学のあゆみ 229(9) :786-792, 2009.
 7. 徳舛麻友、松原央、瓜生久美子、加藤格、梅田雄嗣、渡邊健一郎、足立壮一、仲俣岳晴、中山富貴、坪山直生、戸口田淳也、中畑龍俊：京大病院にて治療を行なった6歳以下発症の骨肉腫4例の検討. 小児がん 46(2) :195-200, 2009.
 8. 堀部敬三、土田昌宏、鶴澤正仁、中畑龍俊：わが国の小児造血器腫瘍診療施設の実態. 日本小児科学会雑誌 113(1) :105-111, 2009.
 9. 中畑龍俊：さい帯血造血幹細胞の発見からさい帯血移植へ. 日本さい帯血バンクネットワーク設立10周年記念『そして明日から』26-27, 2009.
 10. 瓜生久美子、松原央、加藤格、徳舛麻友、梅田雄嗣、今井剛、渡邊健一郎、足立壮一、中畑龍俊：小児 T 細胞型急性リンパ性白血病に合併した groove 膜炎の1例. 日本小児血液学会誌 23(3) :209-212, 2009.
 11. 中畑龍俊：疾患特異的 iPS 細胞. 『学術の動向』 14(9) :78-83, 2009.
 12. 中畑龍俊：インフォームド・コンセント 2 — システムとしての対応. (特集 医療事故とリスクマネジメント) 小児科診療 72(10) :1793-1800, 2009.
 13. 中畑龍俊：疾患特異的 iPS 細胞. メディカル・サイエンス・ダイジェスト 10月臨時増刊号 35(12) :9-12, 2009
 14. 中畑龍俊：さまざまな幹細胞を用いた今後の再生医療. 血液フロンティア 19(11) :17-18, 2009.
 15. 中畑龍俊：疾患特異的 iPS 細胞の医療応用. 再生医療 8(4) :7, 2009.
 16. 河井昌彦、磯目賢一、三宅史子、岩永甲午郎、松倉崇、柴田実、丹羽房子、中畑龍俊：SGA児のメタボリック・シンドロームのリスクについての検討—SGA児の高血圧は幼児期から始まる？— 日本周産期・新生児医学会雑誌 45(4) :1274-1275, 2009.
- 学会発表
- 中畑龍俊：iPS 細胞などの幹細胞を用いたこれからの小児医療の可能性. 第1回日本小児科学会長野地方会、特別講演、6月7日、松本市、信州大学医学部附属病院
- 中畑龍俊：iPS 細胞を用いた今後の医療. 第19回日本小児リウマチ学会総会・学術集会、特別講演、10月2-4日(4日)、京都リサーチパーク、京都市
- 中畑龍俊：iPS 細胞産業化の課題に関する論点整理. BioJapan 2009~World Business Forum~、特別講演、10月9日パシフィコ横浜 横浜市(セッション『iPS 細胞産業化の課題—生命倫理、標準化の観点から』)
- 中畑龍俊：再生医療研究の現状と将来. 第14回静岡健康・長寿学術フォーラム 基調講演、10月2-4日(3日)、静岡県コンベンションアーツセンター 静岡市
- 中畑龍俊：iPS 細胞を用いたこれからの医療. 大阪大学医学部附属病院 iPS 細胞臨床研究センター開設記念シンポジウム~iPS 細胞研究の最前線と臨床応用に向けて~、基調講演、

12月16日、大阪大学銀杏会館、吹田市

中畑龍俊、遠藤文夫:再生医療の近未来とiPS細胞. 第112回日本小児科学会学術集会総合シンポジウム1,4月17日、奈良文化会館、奈良県奈良市

中畑龍俊:iPS細胞を用いた今後の医療の可能性. 第112回日本小児科学会学術集会総合シンポジウム1,4月17日、奈良文化会館、奈良県奈良市

依藤亨、川北理恵、野村安隆、河井昌彦、百井亨、長井静世、中畑龍俊:先天性高インスリン血症の遺伝子解析、第112回日本小児科学会学術集会分野別シンポジウム、4月17日、奈良文化会館、奈良県奈良市

才田聡、足立壮一、野村安隆、加藤竹雄、栗屋智就、森嶋達也、藤野寿典、松原央、渡邊健一郎、中畑龍俊:副腎白質ジストロフィーに骨髄非破壊的処置を用いて臍帯血移植を施行した2例. 第112回日本小児科学会学術集会分野別シンポジウム 4月17日 奈良文化会館 奈良県奈良市

-国際学会-

Tatsutoshi Nakahata: Clinical applications of various stem cells. The Fourth iCeMS International Symposium(Integrated Physical/Chemical Biology of The Cell: From Genes to Membrane Systems) May 27-29(28),2009 Hotel Fujita Kyoto

Tatsutoshi Nakahata: Future of regenerative medicine with various stem cell. Morning Symposium 3-2 Regenerative Medicine, The 9th World Congress on Inflammation July 6-10,2009 Keio Plaza Hotel, Tokyo

Tatsutoshi Nakahata: Future of regenerative medicine with various stem cell. Plenary Lecture, The 3rd International Symposium of Lysosomal Storage Diseases. Sep. 26-27,2009 Nagoya Noh Theater, Nagoya

Kato M, Sanada M, Kato I, Sato Y, Takita J, Kawahara R, Takeuchi K, Niwa A, Chen Y, Nakazaki K, Nomoto J, Asakura Y, Akatsuka Y, Hayashi Y, Igarashi T, Kurokawa M, Chiba S, Mori S, Ishikawa Y, Okamoto K, Tobinai K, Nakagama H, Nakahata T, Yoshino T, Kobayashi Y, Ogawa S,: Aberration of Genes Regulating NF Kappa B Pathway in B-Cell Malignant Lymphoma. 51st Annual Meeting of the AMERICAN SOCIETY of HEMATOLOGY, December5-8, 2009, New Orleans, Louisiana

Niwa A, Fujino H, Umeda K, Saida S, Adachi S, Ito M, Heike T, Nakahata T,: Blockage of SDF-1-CXCR4 Axis by AMD 3100 Can Be a

Novel Therapy for Acute Lymphoblastic Leukemia by Targeting the Extramedullary Sites of Leukemia Cells. 51st Annual Meeting of the AMERICAN SOCIETY of HEMATOLOGY, December5-8, 2009, New Orleans, Louisiana

Takeuchi M, Kimura S, Kuroda J, Ashihara E, Kawatani M, Osada H, Umezawa K, Yasui E, Imoto M, Tsuruo T, Yokota A, Tanaka R, Nagao R, Nakataha T, Fujiyama Y, Maekawa T,: Hypoxia-Adapted CML Cells Are More Primitive Population and Are Eradicated by Glyoxalase-1 Inhibitors. 51st Annual Meeting of the AMERICAN SOCIETY of HEMATOLOGY, December5-8, 2009, New Orleans, Louisiana

Niwa A, Fukatsu T, Umeda K, Kato I, Sakai H, Morishima T, Okita K, Yamanaka S, Heike T, Nakahata T,: Analyzing the Stepwise Developmental Pathway Form ES/IPS Cells to Functional Mature Erythrocytes. 51st Annual Meeting of the AMERICAN SOCIETY of HEMATOLOGY, December5-8, 2009, New Orleans, Louisiana

-国内学会- (一般演題)

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、中畑龍俊:Ex Vivo増幅臍帯血移植を行った旧姓骨髄性白血病の1例. 第31回日本造血細胞移植学会 2月5-6日(6日) 北海道厚生年金会館 北海道札幌市

森嶋達也、松原央、野村安隆、才田聡、新里亜紀、渡邊健一郎、足立壮一、森尾友宏、中畑龍俊:臍帯血移植後に一時的にdonor由来の芽球の出現をみた乳児白血病の再発例. 第31回日本造血細胞移植学会 2月5-6日(6日) 北海道厚生年金会館 北海道札幌市

才田聡、野村安隆、栗屋智就、森嶋達也、新里亜紀、梅田雄嗣、松原央、渡邊健一郎、足立壮一、中畑龍俊:副腎白質ジストロフィー進行例に骨髄非破壊的処置を用いて臍帯血移植を施行した2例. 第31回日本造血細胞移植学会 2月5-6日(6日) 北海道厚生年金会館 北海道札幌市

酒井秀政、水野隆久、西小森隆太、斎藤潤、八角高裕、平家俊男、小原収、荒川浩一、中畑龍俊:新規MVK変異による高IgD症候群が疑われる1家系~周期熱の鑑別におけるIgDの役割. 第112回日本小児科学会学術集会 4月17日 奈良文化会館 奈良県奈良市

浅井浩一、井澤和司、納富誠司郎、大野光洋、北村律子、矢野潤、加藤文英、菊池清、足立

壯一、中畑龍俊：骨髄移植後に合併した特発性器質化肺炎(BOP)にRSV感染の関与が推定されたDown症の1例。第112回日本小児科学会学術集会 4月17日 奈良文化会館 奈良県奈良市

酒井秀政、伊藤周作、西小森隆太、岡藤郁夫、河合朋樹、斎藤潤、八角高裕、平家俊男、中畑龍俊：NOD2遺伝子に6塩基欠失の変異を認めた若年性サルコイドーシスの一例。第112回日本小児科学会学術集会 4月17日 奈良文化会館 奈良県奈良市

栗屋美絵、馬場志郎、鶏内伸二、加藤竹雄、柴田実、後藤雄一、西野隆宏一三、依藤亨、土井拓、中畑龍俊：低身長精査で偶然発見されたダノン病の一男児例。第112回日本小児科学会学術集会 4月17日 奈良文化会館 奈良県奈良市

酒井秀政、西小森隆太、田中孝之、河合朋樹、斎藤潤、八角高裕、平家俊男、中畑龍俊：新規MVK変異による高IgD症候群が疑われる1家系～周期熱の鑑別におけるIgDの役割。第53回日本リウマチ学会総会・学術集会 4月23-26日 グランドプリンスホテル新高輪 東京都

才田聡、藤野寿典、甲原貴子、渡邊健一郎、田中篤志、松原央、足立壮一、中畑龍俊：胆道原発横紋筋肉腫の1例。第441回日本小児科学会京都地方会学術集会 5月16日 京都府立医科大学合同講義棟(図書館ホール) 京都市

河井昌彦、松倉崇、丹羽房子、中畑龍俊：早期新生児期のDICパラメーターの出生体重・日齢に伴う変化についての検討。第19回日本産婦人科・新生児血液学会 6月12-13日(12日) 北海道大学学術交流会館 札幌市

松倉崇、河井昌彦、丹羽房子、中畑龍俊：新生児管理における簡易PT測定装置(CoaguChek XS)の有用性に関する検討。第19回日本産婦人科・新生児血液学会 6月12-13日(12日) 北海道大学学術交流会館 札幌市

中畑龍俊：Future of regenerative medicine with various stem cell. The 9th World Congress on Inflammation(第9回国際炎症学会、第30回日本炎症・再生医学会合同開催) 2009年7月6-10日(9日) 新宿京王プラザホテル 東京

河井昌彦、磯目賢一、松倉崇、丹羽房子、中畑龍俊：SGA児とメタボリックシンドロームのリスクについての検討。第45回日本周産期・新生児医学会総会および学術集会 2009年7月12-14日(14日) 名古屋国際会議場 名古屋市

松倉崇、河井昌彦、磯目賢一、丹羽房子、中畑龍俊：新生児における簡易PT測定装置の有用性と重症出血傾向スクリーニングに関する検討。第45回日本周産期・新生児医学会総会および学術集会 2009年7月12-14日(14日) 名古屋国際会議場 名古屋市

横尾憲孝、土井拓、美馬隆宏、鶏内伸二、馬場志郎、土井孝浩、中畑龍俊：左室縮小術術後6年で再増悪した心不全に対し、除細動器付両心室ペースメーカー(CRT-D)植え込みを施行し症状の改善を得た、小児期発症二次性拡張型心筋症の1例。第45回日本小児循環器学会総会・学術集会 2009年7月15-17日 神戸国際会議場 神戸市

鶏内伸二、土井拓、横尾憲孝、美馬隆宏、馬場志郎、岡本晋弥、上本伸二、中畑龍俊：生体部分肝移植後、epoprostenol持続静注から離脱し得た門脈肺高血圧(PPHTN)の2例。第45回日本小児循環器学会総会・学術集会 2009年7月15-17日 神戸国際会議場 神戸市

加藤元博、真田昌、加藤格、佐藤康晴、竹内賢吾、丹羽明、野本順子、中釜斉、石川雄一、中畑龍俊、吉野正、小林幸夫、小川誠司：B細胞性悪性リンパ腫に対する網羅的ゲノム解析によるがん抑制遺伝子A20の同定。第68回日本癌学会学術総会 10月1-3日 パシフィコ横浜 横浜市

Motohiro Kato, Masashi Sanada, Itaru Kato, Yasuharu Sato, Junko Takita, Kengo Takeuchi, Akira Niwa, Yuyan Chen, Kumi Nakazaki, Junko Nomoto, Yoshitaka Asakura, Yasuhide Hayashi, Hiraku Mori, Takashi Igarashi, Mineo Kurokawa, Shigeru Chiba, Shigeo Mori, Yuichi Ishikawa, Koji Okamoto, Kensei Tobinai, Hitoshi Nakagama, Tatsutoshi Nakahata, Tadashi Yoshino, Yukio Kobayashi, Seishi Ogawa.: Frequent inactivation of A20 through gene mutation in B-cell lymphomas. 第71回日本血液学会学術集会 10月23-25日 国立京都国際会議場 京都市

加藤格、丹羽明、平家俊男、藤野寿典、才田聡、足立壮一、中畑龍俊：白血球細胞と髄外微小環境の解析。第71回日本血液学会学術集会 10月23-25日 国立京都国際会議場 京都市

丹羽明、深津智樹、梅田雄嗣、張璽、森嶋達也、才田聡、斎藤潤、沖田圭介、酒井宏水、山中伸弥、平家俊男、中畑龍俊：iPS細胞由来赤芽球系分化の経時的解析と成熟血球の機能評価。第71回日本血液学会学術集会 10月23-25日 国立京都国際会議場 京都市

才田聡、田中篤志、森嶋達也、藤野寿典、松原央、渡邊健一郎、足立壮一、中畑龍俊：高

リスク急性リンパ性白血球(ALL)に対する臍帯血移植の経験. 第71回日本血液学会学術集会 10月23-25日 国立京都国際会館 京都市

河田紗耶架、甲原貴子、阿部純也、才田聡、藤野寿典、渡邊健一郎、松原央、足立壮一、中畑龍俊、岡本晋弥、山内智香子、秋山祐一：胆道原発横紋筋肉腫の1例. 第25回日本小児がん学会 11月27-29日 東京ベイホテル東急

久保田優、永井亜矢子、小嶋千明、足立壮一、中畑龍俊、谷澤昭彦、宇佐美郁哉、濱畑啓吾、松原康策、若園吉裕：外来経過観察中の小児癌経験者の疲労度のアンケートによる調査－肥満度や生活習慣との関連. 第51回日本小児血液学会・第25回日本小児がん学会 11月27-29日 東京ベイホテル東急

才田聡、渡邊健一郎、野村安隆、八木英哉、納富誠司郎、森嶋達也、藤野寿典、松原央、足立壮一、中畑龍俊、荒川芳輝、岸陽：Anaplastic ependymoma の1歳女児例. 第31回近畿小児がん研究会 3月14日 大阪市 大阪市総合医療センター

才田聡、田中篤志、藤野寿典、松原央、渡邊健一郎、足立壮一、中畑龍俊：低毒性骨髄破壊的処置を用いて臍帯血移植を施行した進行期副腎白質ジストロフィーの2例. 第

17回近畿臍帯血幹細胞移植研究会 5月9日 大阪市 ホテルグランビア大阪

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 発明の名称：多能性幹細胞からの肥満細胞の製造方法

発明者：中畑龍俊、辻浩一郎、Feng MA

特許出願人：国立大学法人京都大学

米国仮出願日：2009年9月8日

米国仮出願番号：61/240,376

2. 発明の名称：多能性幹細胞から中胚葉細胞への分化誘導法

発明者：丹羽明、中畑龍俊、平家俊男

特許出願人：国立大学法人京都大学

米国仮出願日：2010年3月18日

米国仮出願番号：61/315,170

3. 特許出願（国内）

発明の名称：再発癌の予防または治療用医薬

発明者：加藤格、中畑龍俊

特許出願人：国立大学法人京都大学

出願日：2010年2月22日

出願番号：特願2010-36634

Ⅲ. 平成 21 年度 分担研究報告書

原発性免疫不全症候群・Fanconi 貧血・骨髄異形成症候群などの iPS 細胞作成及び解析

研究分担者 齋藤 潤（京都大学 物質-細胞統合システム拠点 iPS 細胞研究センター 特定拠点助教）

研究要旨

原発性免疫不全症候群のうち、CINCA 症候群、HAX1 異常症の iPS 細胞を作成した。CINCA 症候群については 2 例の体細胞モザイク患者から iPS 細胞を樹立し、変異型と正常型の 2 種類のクローンを複数得た。また、解析のため、造血分化系を構築し、分化させた単珠・マクロファージの機能解析系を樹立した。現在患者由来クローンや対照細胞の解析を進めており、病態再現とともに新たな知見が得られることが期待される。さらに、疾患解析のために必要な ES/iPS 細胞の遺伝子改変のためのウイルスベクターの構築を進めている。

A. 研究目的

血液・免疫系の細胞は非常に複雑なネットワークを生体内で構築しており、患者検体では治療の影響などのばらつきを廃して解析を行うことが通常困難である。また、分化異常症などの場合、マウスモデルとヒトで同じ遺伝子変異でも表現型が異なることがあるので、患者 iPS 細胞を血球系へ分化させて解析することは有用であると考えられる。

そこで、本研究では血球・免疫系の疾患の患者から iPS 細胞を樹立し、それを血球系へ分化させて表現型を再現し、解析を行って、疾患の本態に迫ることを目的とした。

B. 研究方法

京都大学医の倫理委員会に承認された研究計画書に従って、患者の同意を得、皮膚から繊維芽細胞株を樹立した。疾患関連 iPS 細胞の樹立は、通常のレトロウイルスベクター法を用いて 4 因子(cmyc, klf4, oxt3/4, sox2)を導入し、SNL フィーダー細胞上でクローニング・維持・ストックを行った。解析のためには ES/iPS 細胞の特定の遺伝子をノックアウト・

ノックインすることが望ましいため、遺伝子改変のためのベクターもデザインした。

平行して、血球分化系の構築を行った。

本研究を含む疾患特異的 iPS 細胞研究を行うにあたり、京都大学医学部医の倫理委員会に、ヒトを対象とした医学の研究および臨床応用実施申請書として「ヒト疾患特異的 iPS 細胞の作成とそれを用いた疾患解析に関する研究」およびヒト遺伝子解析申請書として「ヒト疾患特異的 iPS 細胞を用いた遺伝子解析研究」の 2 申請を行い、承認を頂いている。その内容を忠実に順守して研究を行っている。

C. 研究結果

免疫不全症のうち、自己炎症性症候群である CINCA 症候群 2 例、好中球減少症である HAX1 遺伝子異常症 1 例から疾患関連 iPS 細胞を樹立した。

また、重症複合型免疫不全症である細網異形成症（AK2 遺伝子異常症）2 例についても疾患関連 iPS 細胞を樹立中であり、現在進行中である。樹立した iPS 細胞株については、奇形種形成、トランスジーンサイレンシング、未分化マーカーの発現などを確認している。

並行してヒト ES 細胞、iPS 細胞の血液系細胞への分化系を確立した。OP9 フィーダー上で分化させた血球をさらに複数のサイトカインを培地に添加した状態で単球・マクロファージに分化させたところ、この細胞は刺激に応じて炎症性サイトカインを放出することが確認された。

また、血球系に関連するいくつかの遺伝子を改変するため、BAC を用いたターゲティングベクターを作成中であり、こちらも順調にベクターが構築されている。

以上のように H21 年度の研究は順調に目標を達成している。現在この系を用いて解析中であり、病態の再現が確認されたら、H22 年度以降にさらに詳細な検討を行う予定である。

D. 考察と今後の展望

疾患 iPS 細胞を用いた病態解析は、まだ始まったばかりの分野であり、その成果の解釈には慎重な評価が必要である。従来解析では得られなかった様々な利点があると考えられるが、信頼できる結果を得るためには、適切な対照疾患の設定、分化させた細胞の評価系の確立が必須であると考ええる。本年度はこの二つの目標の達成に注力し、一定の成果を得た。この成果を来年度に生かすために、引き続き精力的に研究を行いたい。

E. 研究発表

1. 論文発表

1: Kambe N, Nakamura Y, Saito M, Nishikomori R. The Inflammasome, an Innate Immunity Guardian, Participates in Skin Urticarial Reactions and Contact Hypersensitivity. *Allergol Int.* 2010 Feb 25;59(2). [Epub ahead of print]

2: Kawabata H, Murakami M, Nishikomori R, Saito M, Takaoka Y, Nanao K, Maezawa M. A Japanese case of familial Mediterranean fever with a MEFV gene mutation *Hokkaido Igaku Zasshi.* 2009 Nov;84(6):419-22.

3: Sakai H, Ito S, Nishikomori R, Takaoka Y, Kawai T, Saito M, Okafuji I, Yasumi T, Heike T, Nakahata T. A case of early-onset sarcoidosis with a six-base deletion in the NOD2 gene. *Rheumatology (Oxford).* 2010 Jan;49(1):194-6.

4: Niwa A, Umeda K, Chang H, Saito M, Okita K, Takahashi K, Nakagawa M, Yamanaka S, Nakahata T, Heike T. Orderly hematopoietic development of induced pluripotent stem cells via Flk-1(+) hemoangiogenic progenitors. *J Cell Physiol.* 2009 Nov;221(2):367-77.

5: Nakamura Y, Kambe N, Saito M, Nishikomori R, Kim YG, Murakami M, Núñez G, Matsue H. Mast cells mediate neutrophil recruitment and vascular leakage through the NLRP3 inflammasome in histamine-independent urticaria. *J Exp Med.* 2009 May 11;206(5):1037-46.

6: Okafuji I, Nishikomori R, Kanazawa N, Kambe N, Fujisawa A, Yamazaki S, Saito M, Yoshioka T, Kawai T, Sakai H, Tanizaki H, Heike T, Miyachi Y, Nakahata T. Role of the NOD2 genotype in the clinical phenotype of Blau syndrome and early-onset sarcoidosis. *Arthritis Rheum.* 2009 Jan;60(1):242-50.

2. 学会発表

● なし

F. 知的財産権の出願・登録状況 (予定も含む)

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし