

社)でマウス ES 細胞またはマウス iPS 細胞を培養することにより、胚様体 (Embryoid body; EB) を形成させた。トリプシンで単細胞に解離した後に、Ad-HoxB4 または LacZ 発現 Ad ベクター、Ad-LacZ を 3,000 VP/cell の濃度で作用させた。Ad ベクターの作用後に OP9 細胞に播種し、サイトカイン含有培地 (SCF, 50ng/mL; Flt-3L, 50ng/mL; TPO, 10ng/mL; IL-3, 5ng/mL; IL-6, 5ng/mL、全て Peptotech 社) 中にて血液細胞を誘導した。

C. 研究結果

C-1. Ad-CXCL12 投与マウスにおける血液細胞の動態解析

健常成体において造血幹細胞は骨髄ニッチに存在し、G0 期を維持している。一方、癌化学療法時や放射線照射時等負荷時には、種々のサイトカインやケモカインが産生され、幹細胞は G1 期に入ると同時に末梢に遊離されてくることが知られており、この現象は骨髄動員とよばれる。骨髄動員には G-CSF や CXCL12 等の種々のサイトカインが関与しており、これらのサイトカインの骨髄中濃度により造血幹細胞が骨髄に留まるのか、あるいは末梢に遊離するのかが決まると考えられる。

本研究では、CXCL12 を Ad ベクターを用いてマウス生体に高発現させることによって、血液細胞の分化・動態に対しどのような影響がみとめられるのかについて検討した。用いた Ad ベクターは、従来の CMV プロモーターに比べ数倍から十数倍の活性を有し、CAG プロモーターと同等以上の活

性を有するイントロン A を付与した CMV プロモーターを用い、その下流に CXCL12 遺伝子を挿入した。CXCL12 発現 Ad ベクター (Ad-CXCL12) を C57BL/6 マウスに 5×10^{10} VP/mouse の濃度で静脈内投与したところ、5 日後において約 17 ng/ml の CXCL12 が血漿中にみとめられた。各組織の細胞数を測定したところ、コントロールとくらべて CXCL12 発現ベクターを投与したマウスでは、骨髄の細胞数は有意に減少するとともに、末梢血および脾臓の細胞数は有意に増加していた (Figure 1)。また、胸腺の細胞数には著差がなかった。次に、骨髄・脾臓・末梢血における各系列の細胞数をフローサイトメーターを用いて測定した (Figure 2)。その結果、骨髄では骨髄球系細胞数および B 細胞数の著明な減少がみとめられ、代わりに末梢血においてこれらの細胞数は増加していた。したがって、Ad-CXCL12 の投与により末梢血中の CXCL12 濃度が増加し、骨髄中の種々の血液細胞が末梢に遊離してくるものと推察された。

次に、各組織における血液前駆細胞数をコロニーアッセイにより測定した。骨髄、末梢血、脾臓の各組織を用いてコロニーアッセイを行った結果、骨髄の前駆細胞は CFU-GEMM を含む調べた全ての lineage について減少していた。また、末梢血および脾臓の前駆細胞は有意に増加していた。したがって、前述した骨髄での細胞数の減少、および末梢血・脾臓での細胞数の増加は前駆細胞数の変化によるものであることが明らかとなり、骨髄を遊離した前駆細胞が末梢血を經由して脾臓に生着している可能性

が示唆された (Figure 3)。骨髄での血液前駆細胞数の減少が認められたため、次に、マウスの造血幹細胞を含む画分とされている $c\text{-kit}^+\text{Sca-1}^+\text{lin}^-$ (KSL) 細胞の数を測定することにより、造血幹細胞数の変化を検討した。その結果、Ad-CXCL12 を投与したマウス骨髄の KSL 細胞数はコントロールと比較し約 1/4 にまで減少していた (Figure 4)。したがって、造血幹細胞を含む種々の血液前駆細胞が骨髄から遊離していることが明らかとなった。

CXCL12 は生理的に B 細胞分化に必須であることが遺伝子欠損マウスの解析により明らかとなっている。そこで、次に B 細胞系列の動態について解析を行った。Ad-CXCL12 投与後 5 日目の骨髄および脾臓における B 細胞数を調べた結果、骨髄では $\text{IgM}^+\text{B220}^+$ 成熟 B 細胞が有意に減少していた (Figure 5A)。一方、脾臓においては本来骨髄にしか存在しないはずの $\text{IgM}^+\text{B220}^+$ B 前駆細胞が増加しており、CXCL12 により、プロ B、プレ B といった B 前駆細胞も骨髄から遊離し、脾臓に生着している可能性が示唆された (Figure 5A)。また、Ad-CXCL12 の投与により脾臓において B 前駆細胞が増加していることは、IL-7 を用いたコロニーアッセイにおいても確認され (Figure 5B)、CXCL12 により骨髄から遊離した B 前駆細胞が脾臓に生着していることが示唆された。そこで次に、B 前駆細胞が実際に脾臓に生着しているかどうかを免疫抗体染色により解析した。その結果、Ad-CXCL12 を投与して 5 日後に脾臓において $\text{IgM}^+\text{IgD}^-\text{B220}^+$ の B 前駆細胞が確認された (Figure 5C)。一方、Ad-Luc 投与マウス

の脾臓では B 前駆細胞は検出されなかった。以上の結果から、Ad-CXCL12 投与により血漿 CXCL12 濃度を上昇させることで、脾臓に本来存在しないはずの B 前駆細胞が生着していることが示された。Ad-CXCL12 の投与により、脾細胞数が増大し、かつ脾臓に B 前駆細胞を含む血液前駆細胞が増加していたため、次に脾臓の構造を組織学的に観察した (Figure 5D)。ベクター投与後の脾臓を HE 染色にて観察した結果、コントロールとくらべて構造上は大きな差が認められず、正常であることを確認した。

B 細胞は抗原の刺激に応答して抗体を産生する細胞である。Ad-CXCL12 をマウス生体へ投与することにより B 細胞の動態が変化しているため、液性免疫に影響をおよぼしているかどうか検討した。Ad-CXCL12 投与 3 日後に T 細胞依存性 (TD) 抗原である chicken γ -globulin (CGG)、または T 細胞非依存性 (TI) 抗原である Ficoll を腹腔内投与し、その 2 週間後に抗体産生量を解析した。その結果、Ad-CXCL12 投与群は、Ad-Luc 投与群と比較し、CGG に対する IgM、IgG1 の抗体産生量が低下することが明らかとなった。一方で、Ficoll に対する抗体産生量はわずかではあるものの増加していた (Figure 6)。以上の結果から、Ad-CXCL12 投与により、B 前駆細胞の動態を変化させるだけでなく、B 細胞の抗体産生に関しても影響をおよぼすことが明らかとなった。

C-2. Ad-CXCL12 投与マウスにおける血液細胞の動態解析

これまでの結果から、Ad ベクターを用いて CXCL12 をマウス生体へ高発現させるこ

とにより、造血幹細胞を含む種々の血液前駆細胞が骨髄から遊離していることが明らかとなった。そこで次に、CXCL12 発現 Ad ベクター投与後に GFP トランスジェニック マウス由来の骨髄細胞を移植した際の移植率について解析を行った。なお、今回の検討では、レシピエント骨髄の造血幹細胞の空きニッチを維持するために、X 線照射は行わずに移植を行った。移植 20 週間後に骨髄細胞を回収して移植効率を解析した結果、Ad-CXCL12 投与マウスでは、Ad-Luc 投与群と比較し、レシピエント骨髄に GFP 陽性のドナー細胞が生着していることが明らかとなった (Figure 7)。一方、コントロール群では GFP 陽性細胞は検出できなかった。したがって、Ad-CXCL12 投与により形成された造血幹細胞ニッチに外来ドナー細胞が生着下ことが推察される。しかし、その移植効率は極めて低く、GFP 陽性細胞の割合は骨髄細胞中の 0.06%であった (Table 1)。したがって、CXCL12 を発現させただけでは移植率の向上は困難であることが示唆された。

C-2. VEGF による骨髄動員作用

CXCL12 以外にも、VEGF や Angiopoietin (Ang) -1 などのサイトカインも骨髄の造血幹/前駆細胞を骨髄ニッチから遊離させる作用を有している。そこで、VEGF 発現 Ad ベクター (Ad-VEGF) を作製し、 5×10^{10} VP/mouse の濃度でマウス静脈内投与したところ、約 100ng/mL の VEGF が血漿中に認められた (Figure 8)。そこで次に、Ad-VEGF 投与マウスにおける血液細胞の動態について検討した。Ad-VEGF 投与 5 日

後に骨髄細胞および PBMC 数を測定したところ、Ad-VEGF 投与マウスはコントロールである Ad-null 投与マウスと比較し、骨髄細胞数が有意に減少するとともに PBMC 数が有意に増加することが明らかとなった (Figure 9)。これまでに Ad-CXCL12 投与マウスの骨髄では、造血幹細胞を含む画分である KSL 細胞数が減少することを明らかにした。そこで VEGF も同様の作用を有しているか否か検討した。その結果、VEGF 投与マウスにおいても KSL 細胞は有意に減少することが明らかとなった (Figure 10A, 10B)。さらにコロニーアッセイにより骨髄細胞および PBMC における血液前駆細胞数を解析した結果、造血幹細胞や血液前駆細胞が形成する CFU-GEMM/CFU-Mix が骨髄細胞中において減少する一方で、PBMC においては有意に増加していた (Figure 10C)。以上の結果から、マウス生体内において血中 VEGF 濃度が上昇することにより、骨髄から造血幹細胞を含む血液前駆細胞が遊離し、末梢血へ動員されることが示された。また、興味深いことに、Ad-VEGF 投与マウスの末梢血中には Flt-1 (VEGFR1) 陽性細胞が増加していた (Figure 11)。Ad-CXCL12 投与マウスにおいては Flt-1 陽性細胞の増加はみとめられないことから (データ略)、VEGF と CXCL12 では動員する細胞の種類が異なっていることが示唆された。

C-3. マウス ES 細胞、iPS 細胞から血液細胞への誘導

多能性幹細胞である ES、iPS 細胞から誘導した血液細胞は、細胞組織加工医薬品のモデル細胞として利用可能であると考えら

れる。また、生体から樹立可能な iPS 細胞由来の血液細胞は移植におけるドナー細胞となり得るため、iPS 細胞から誘導した血液細胞を用いることにより、多様な in vivo 免疫原性評価系の構築に繋がると考えられる。そこで本研究ではマウス ES、iPS 細胞から血液細胞を誘導することを試みた。なお、これまでは HoxB4 遺伝子を ES 細胞へ恒常的に発現させることにより造血幹細胞を含む血液前駆細胞の誘導が行われてきたが、この遺伝子導入法では外来遺伝子が染色体に挿入されるために医療応用には適していない。そのため、本研究では一過性の遺伝子発現を示す Ad ベクターを用いて HoxB4 遺伝子を導入し、血液前駆細胞への分化誘導が可能かどうか検討した。まず、誘導した血液細胞数を計測したところ、HoxB4 遺伝子の導入によりその細胞数が有意に増加していることが明らかとなった (Figure 12A)。また、HoxB4 遺伝子導入細胞では、CD45 や c-kit、Sca-1 を発現する細胞も効率良く誘導できていることが示された (Figure 12B)。さらに、得られた細胞中の血液前駆細胞数をコロニーアッセイにより解析した結果、HoxB4 遺伝子導入群では、CFU-GEMM 数が有意に増加していることが明らかとなった (Figure 12C)。したがって、Ad ベクターを用いて ES、iPS 細胞へ HoxB4 遺伝子を導入することにより、効率良く造血幹細胞・血液前駆細胞を誘導可能であることが示された。

D. 考察

ヒト血液系を有したマウスを作製し、そ

のマウスを用いて医薬品（特に細胞組織加工医薬品）の免疫原性を評価する系を構築するには、ヒト造血幹細胞をマウスに効率良く生着させる技術の開発が重要である。本研究では、造血幹細胞の生存・増殖・生着に重要であることが知られているケモカイン CXCL12 やサイトカイン VEGF を Ad ベクターを用いてマウス体内で過剰発現させることにより、マウス自身の造血幹細胞を本来の生着場所（ニッチ）から遊離させ、ヒト造血幹細胞などの外来血液細胞を効率良く生着させることを目的として研究を行った。

Ad-CXCL12 をマウスに投与したところ、骨髄の細胞数が著明に減少し、末梢血・脾臓の細胞数が増加した (Figure 1)。Ad ベクターは静脈内投与後、主に肝臓で目的遺伝子を発現する。したがって、Ad-CXCL12 投与後、肝臓で発現された CXCL12 が循環血中に分泌され、血中 CXCL12 濃度が骨髄中 CXCL12 濃度を上回ったため、骨髄に生着していた血液細胞が遊離してきたものと考えられた。遊離してきた血液細胞種を詳細に解析した結果、骨髄球系細胞だけでなく、B 細胞などのリンパ球も含まれていることが明らかとなった (Figure 2)。さらに、わずかではあるが造血幹細胞を含む未分化な血液前駆細胞も同時に遊離してくることが示された。

そこで Ad-CXCL12 投与後に外来骨髄細胞を移植した場合の移植率について検討を行った。その結果、Ad-Luc 投与後に骨髄細胞を移植した群においては、外来造血幹細胞が生着しなかったのに対し、Ad-CXCL12 投与後に移植した群においてはドナー細胞

の生着がみとめられた (Table 1)。したがって、Ad-CXCL12 投与したマウスの骨髄では造血幹細胞の空きニッチが形成され、その結果、外来造血幹細胞が生着したものと考えられる。しかしながら、Ad-CXCL12 投与マウスにおける移植率 (キメリズム) は 0.06% と極めて低いものであったため、Ad-CXCL12 の単独投与では生着率向上は困難であることが推察される。今回は骨髄微小環境を維持するために X 線照射を行っていないことから、レシピエントマウスの血液細胞が残っており、そのために移植率が低くなったものと考えられる。したがって、Ad-CXCL12 投与した後に、さらに抗がん剤を投与することにより、骨髄から遊離したレシピエントの血液細胞を死滅させ、その後外来造血幹細胞を移植することで、生着率の向上に繋がることを期待される。

本研究ではさらに、VEGF 発現 Ad ベクターをマウス生体へ投与した際の血液細胞の動態についても解析を進めた。その結果、CXCL12 と同様に、骨髄から造血幹細胞を含む血液細胞が遊離し、末梢血へ動員されることが明らかとなった (Figure 10)。したがって、CXCL12 と同様に、VEGF は骨髄の造血幹細胞ニッチを形成させるのに有用であると考えられる。また、Ad-VEGF 投与時には、Ad-CXCL12 投与時とは異なり、Flt-1 陽性細胞が末梢血において増加することが示された (Figure 11)。Flt-1 陽性細胞中には骨髄再構築能を有する造血幹細胞も含まれていることが過去に報告されている (Hattori K. et al., 2002 Nat. Med.)。したがって、Ad-VEGF 投与により末梢血へ動員される Flk-1 陽性細胞中にも造血幹細胞が含

まれている可能性もあるため、今後、移植実験を行い、確認する必要がある。また、上述のように Ad-CXCL12 の単独投与では移植率を向上させることが困難であるため、Ad-CXCL12 と Ad-VEGF の共投与時の血液細胞の動態を解析するとともに、Ad-CXCL12 と Ad-VEGF を共投与したマウスに外来造血幹細胞を移植することにより、生着率が向上するか否か検討する必要がある。

ケモカインやサイトカイン発現 Ad ベクターを投与することにより造血幹細胞を含む多種の血液細胞が骨髄より遊離してることが明らかとなり、ヒト造血幹細胞などの外来造血幹細胞を骨髄ニッチに効率良く生着させることができる可能性が示された。しかしながら、前述のように、Ad-CXCL12 を投与した場合、抗体産生細胞である B 細胞も同時に末梢に遊離し、抗原刺激に対する抗体産生にも影響を及ぼしていることが示唆された (Figure 5, 6)。したがって、このモデルを用いて医薬品の抗原性を評価するには、遊離してきた内在性 B 細胞の影響も考慮する必要があるものと考えられる。

本研究では、ES、iPS 細胞由来血液細胞を細胞組織加工医薬品のモデルとして使用するため、ES、iPS 細胞から血液細胞への分化誘導法の開発も試みた。その結果、造血系サイトカインを作用させる従来の誘導法と比較し、Ad ベクターを用いて HoxB4 遺伝子を一過性に導入することにより、効率良く血液細胞を誘導可能であることが明らかとなった (Figure 12)。今後、実際に医薬品のモデルとなるか否か、移植することにより明らかになると思われる。

E. 結論

CXCL12 発現 Ad ベクターや VEGF 発現 Ad ベクターをマウスに投与することにより、造血幹細胞を含む種々の血液細胞が骨髓ニッチから遊離してくることが示された。また、移植率は低かったものの CXCL12 発現 Ad ベクターをマウスに投与した後に、外来骨髓細胞を移植することにより、ドナー細胞がレシピエントへ生着することが示された。本研究結果はヒト血液細胞を有するマウスを作製するうえで非常に有用な知見であると考えられる。今後、種々のサイトカイン・ケモカインと抗がん剤を併用する等、移植条件を最適化することにより、ヒト血液細胞を有するマウスの高効率作製法の開発に繋がるものと思われる。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Sakurai F, Nakamura SI, Akitomo K, Shibata H, Terao K, Kawabata K, Hayakawa T, Mizuguchi H. Adenovirus serotype 35 vector-mediated transduction following direct administration into organs of nonhuman primates. *Gene Ther.* **16**, 297-302 (2009)

2. Sakurai F, Nakamura S, Akitomo K, Shibata H, Terao K, Kawabata K, Hayakawa T, Mizuguchi H. Transduction properties of adenovirus serotype 35 vectors after intravenous administration into nonhuman primates. *Mol. Ther.*, **16**, 726-733 (2008)

3. Tashiro K., Inamura M., Kawabata K., Sakurai F., Yamanishi K., Mizuguchi H. Efficient adipocyte and osteoblast differentiation from mouse induced pluripotent stem cells by adenoviral transduction. *Stem Cells*, **27**, 1802-1811 (2009)

4. Tashiro K, Kondo A, Kawabata K, Sakurai H, Sakurai F, Yamanishi K, Hayakawa T, Mizuguchi H. Efficient osteoblast differentiation from mouse bone marrow stromal cells with polylysine-modified adenovirus vectors. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **379**, 127-132 (2009)

5. Tashiro K., Kawabata K., Inamura M., Takayama K., Furukawa N., Sakurai F., Katayama K., Hayakawa H., Furue Kusuda M., Mizuguchi H. Adenovirus vector-mediated efficient transduction into human embryonic and induced pluripotent stem cells. *Cell Reprogram.*, **12**, 501-507 (2010)

6. Inamura M., Kawabata K., Takayama K., Tashiro K., Sakurai F., Katayama K., Toyoda M., Akutsu H., Miyagawa Y., Okita H., Kiyokawa N., Umezawa A., Hayakawa T., Furue MK., Mizuguchi H. Efficient generation of hepatoblasts from human ES cells and iPS cells by transient overexpression of homeobox gene HEX. *Mol. Ther.* **19**, 400-407 (2011)

7. Kawabata K., Inamura M., Mizuguchi H. Efficient hepatic differentiation from human

iPS cells by gene transfer. *Liver Stem Cells: Methods and Protocols*, Humana Press, USA (part of the Springer publishing group), in press.

8. 川端健二、田代克久、水口裕之、iPS 細胞への遺伝子導入を用いた分化誘導の最適化、*薬学雑誌*、**130**、1527-1534 (2010)

2. 学会発表

1. Katsuhisa Tashiro, Kenji Kawabata, Asami Ino, Haruna Sakurai, Fuminori Sakurai, Hiroyuki Mizuguchi: Efficient Differentiation into Osteoblastic Lineage from Both Mouse Embryoid Bodies and Bone Marrow Stromal Cells by Adenovirus Vectors, 11th Annual Meeting of American Society of Gene Therapy, Boston, USA, 2008 年 5-6 月 (ポスター発表)

2. 田代克久、井野麻美、川端健二、櫻井晴奈、櫻井文教、水口裕之: 改良型アデノウイルスベクターを用いた骨芽細胞への高効率分化誘導法の開発. 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、神戸、2008 年 12 月 (ポスター発表)

3. Kenji Kawabata, Katsuhisa Tashiro, Mitsuru Inamura, Fuminori Sakurai, Hiroyuki Mizuguchi, Adenovirus vector-mediated differentiation into adipocytic and osteoblastic lineages from mouse induced pluripotent stem (iPS) cells. 12th Annual Meeting of American Society of Gene Therapy, San Diego, USA, 2009 年 5-6 月 (ポスター発表)

4. 稲村 充、川端 健二、櫻井 文教、形山 和史、林田 みどり、松村 紘子、古江一楠田美保、水口裕之、未分化ヒト ES 細胞から中内胚葉へのラミニンによる分化促進効果、日本組織培養学会第 82 回大会、栃木、2009 年 5 月 18-19 日 (口頭・ポスター発表)

5. 稲村 充、川端 健二、形山 和史、梅澤明弘、阿久津英憲、林田 みどり、松村 紘子、古江一楠田美保、水口裕之、ヒト ES 細胞や iPS 細胞からの内胚葉系細胞および肝細胞への分化誘導法の開発、第 16 回肝細胞研究会、山形、2009 年 6 月 26-27 日 (ポスター発表)

6. 田代 克久、稲村 充、川端 健二、櫻井 文教、水口 裕之、アデノウイルスベクターによるマウス iPS 細胞への高効率遺伝子導入法の確立と分化誘導への応用、第 25 回日本 DDS 学会学術集会、東京、2009 年 7 月 3-4 日 (ポスター発表)

7. Katsuhisa Tashiro, Mitsuru Inamura, Kenji Kawabata, Fuminori Sakurai, Hiroyuki Mizuguchi, Adipocyte and osteoblast differentiation from mouse induced pluripotent stem cells by efficient adenoviral transduction, 7th Annual Meeting of International Society of Stem Cell Research, Barcelona, Spain, 2009 年 7 月 (ポスター発表)

8. Mitsuru Inamura, Kenji Kawabata, Fuminori Sakurai, Kazufumi Katayama, Midori

Hayashida, Hiroko Matsumura, Miho Kusuda Furue, Hiroyuki Mizuguchi, Laminin promotes human embryonic stem cell differentiation into mesodendoderm, 7th Annual Meeting of International Society of Stem Cell Research, Barcelona, Spain, 2009年7月 (ポスター発表)

9. 川端 健二、田代 克久、水口 裕之、アデノウイルスベクターを用いた iPS 細胞への遺伝子導入の最適化と分化誘導、第 82 回日本生化学会大会、神戸、2009年10月21-24日 (シンポジウム、口頭発表)

10. 稲村 充、川端 健二、櫻井 文教、形山 和史、林田 みどり、松村 紘子、古江一楠田美保、水口裕之、未分化ヒト ES 細胞から中内胚葉へのラミニンによる分化促進効果、ファーマ・バイオフォーラム 2009 第 8 回、名古屋、2009年11月14-15日 (ポスター発表)

11. Katsuhisa Tashiro, Mitsuru Inamura, Norihisa Furukawa, Kenji Kawabata, Fuminori Sakurai, Miho Kusuda Furue, Hiroyuki Mizuguchi, Adenovirus vector-mediated efficient transduction into human induced pluripotent stem cells, 第 32 回日本分子生物学会年会、横浜、2009年12月9-12日 (ポスター発表)

12. 田代 克久、稲村 充、形山 和史、櫻井 文教、古江一楠田美保、川端 健二、水口 裕之、アデノウイルスベクターを用いた未分化ヒト ES/iPS 細胞への高効率遺

伝子導入、日本薬学会第 130 年会、岡山、2010年3月28-30日 (ポスター発表)

13. 野中昭希、田代克久、山口朋子、西川恵三、水口裕之、川端健二; 生体内 VEGF 過剰発現による造血幹細胞の動員効果、日本薬学会第 131 年会、静岡、2011年3月28-31日 (口頭発表)

14. 田代克久、大森美幸、櫻井文教、山口朋子、西川恵三、川端健二、水口裕之、HoxB4 遺伝子の一過性発現によるマウス ES/iPS 細胞から血液細胞への分化誘導、日本薬学会第 131 年会、静岡、2011年3月28-31日 (ポスター発表)

15. 川端健二、水口裕之、遺伝子導入を用いた iPS 細胞の肝細胞への高効率分化誘導法、第 10 回日本再生医療学会総会、東京、2011年3月1日-2日 招待講演

16. 川端健二、高効率遺伝子導入法によるヒト iPS 細胞の肝分化誘導法の開発、スーパー特区フォーラム in 大阪、大阪、2011年1月26日 招待講演

17. Katsuhisa Tashiro, Miyuki Omori, Tomoko Yamaguchi, Keizo Nishikawa, Fuminori Sakurai, Kenji Kawabata, Hiroyuki Mizuguchi, Induction of hematopoietic differentiation from mouse embryonic and induced pluripotent stem cells by transient HoxB4 transduction., 第 33 回日本分子生物学会年会・第 83 回日本生化学会大会合同大会 (BMB2010)、神戸、2010年12月7-10日 (ポスター発表)

18. 田代克久、川端健二、櫻井文教、水口裕之、幹細胞の分化誘導系におけるアデノウイルスベクターの有用性、第60回日本薬学会近畿支部総会・大会、大阪、2010年10月30日（口頭発表）

19. 川端健二、iPS細胞の分化誘導系を用いた創薬への可能性、第89回彩都バイオサイエンスセミナー、大阪、2010年10月14日招待講演

20. 川端健二、遺伝子導入を用いたiPS細胞の高効率分化誘導法、遺伝子デリバリー研究会第10回夏期セミナー、滋賀、2010年9月1-2日 招待講演

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

名称：幹細胞から肝細胞への分化誘導方法

出願番号：特願 2009-247342

出願日：2009/10/28

出願人：財団法人ヒューマンサイエンス振興財団

発明者：水口裕之、川端健二、稲村充、古江美保

2. 実用新案登録

該当事項なし

3. その他

該当事項なし

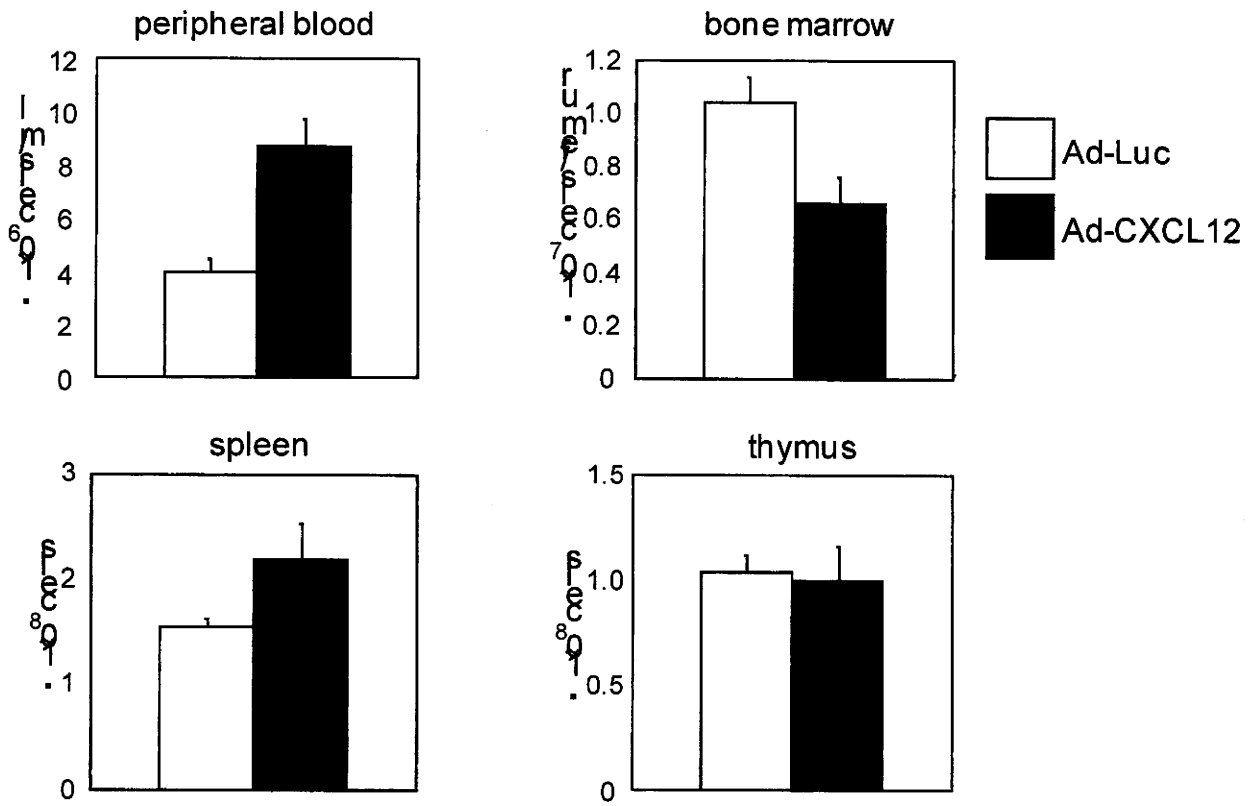


Fig.1 Cell number of each tissue 5 days after intravenous injection of Ad-CXCL12.

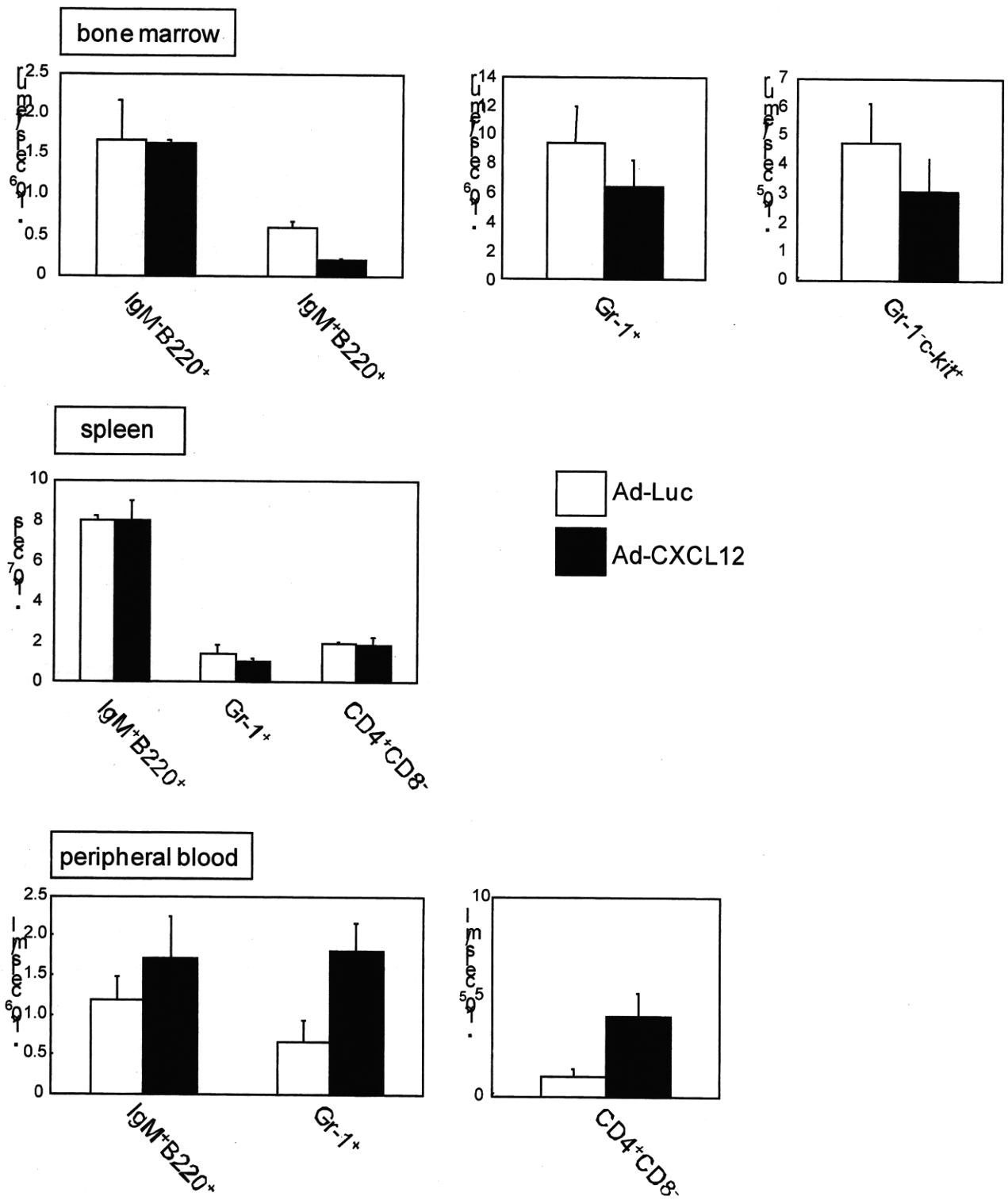


Fig. 2 Cell number of each lineage in tissues 5 days after intravenous injection of Ad-CXCL12.

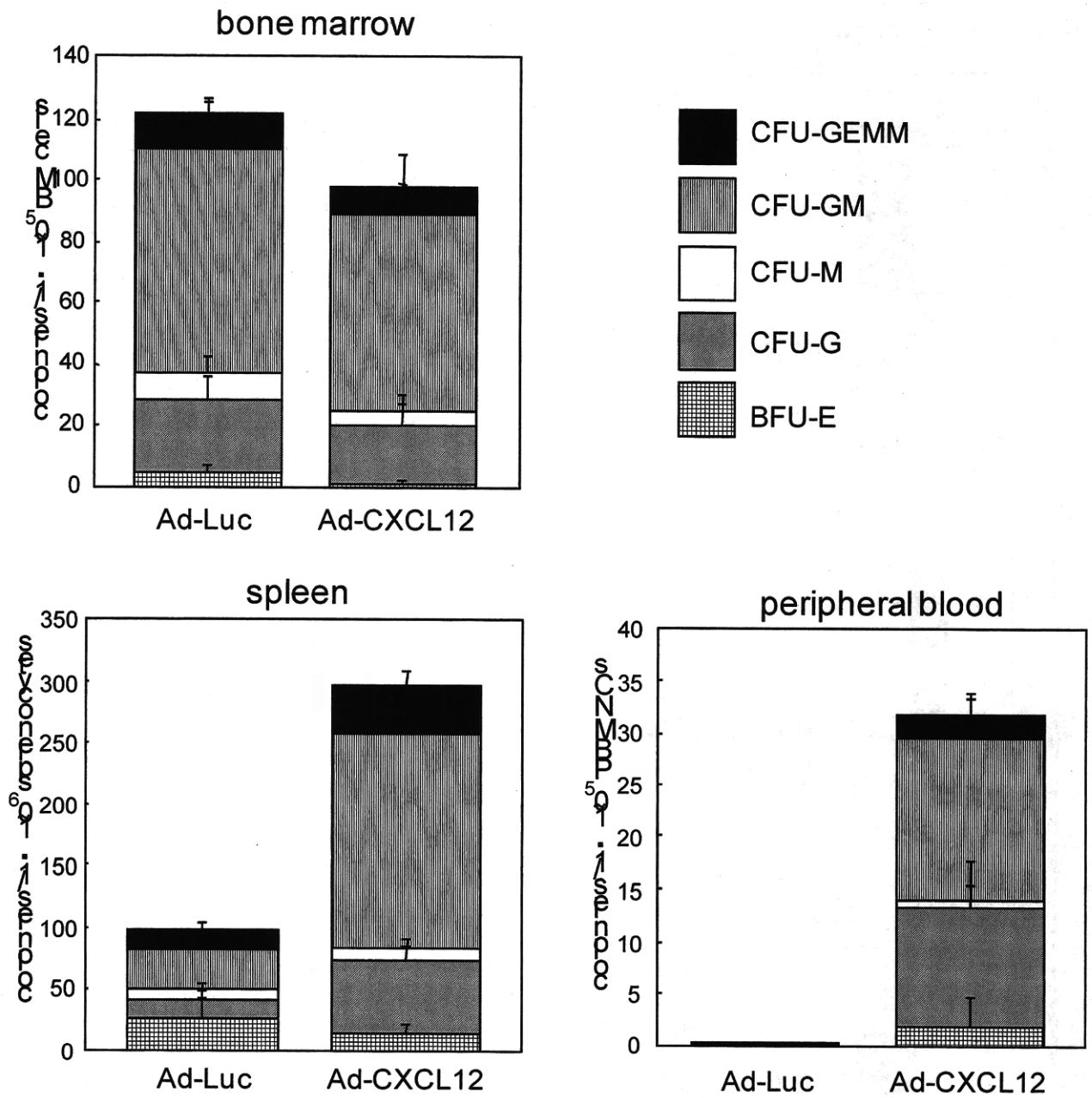


Fig. 3 Mobilization of hematopoietic progenitor cells from the bone marrow to peripheral tissues 5 days after injection of Ad-CXCL12.

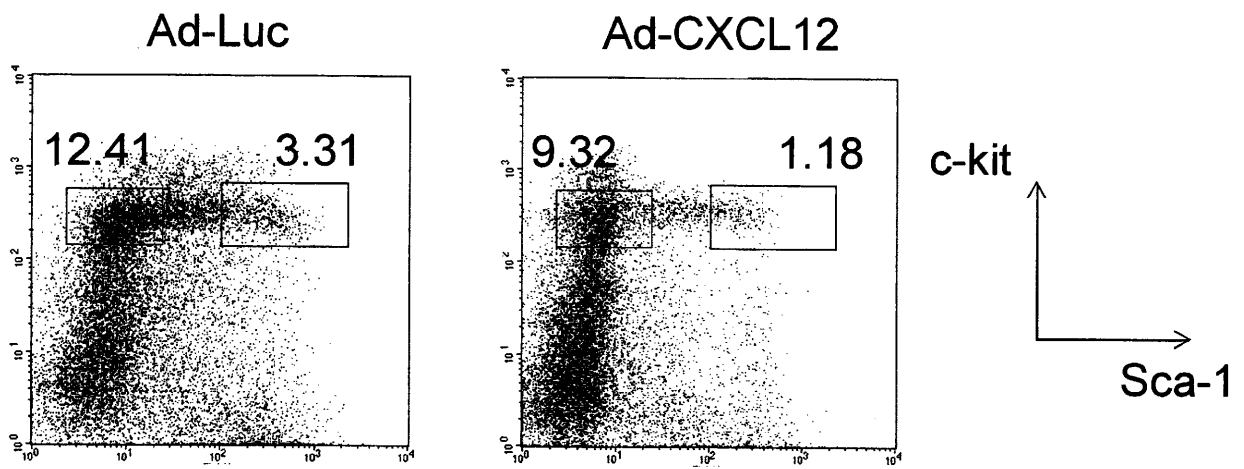


Fig. 4 Mobilization of hematopoietic stem cells from the bone marrow 5 days after injection of Ad-CXCL12.

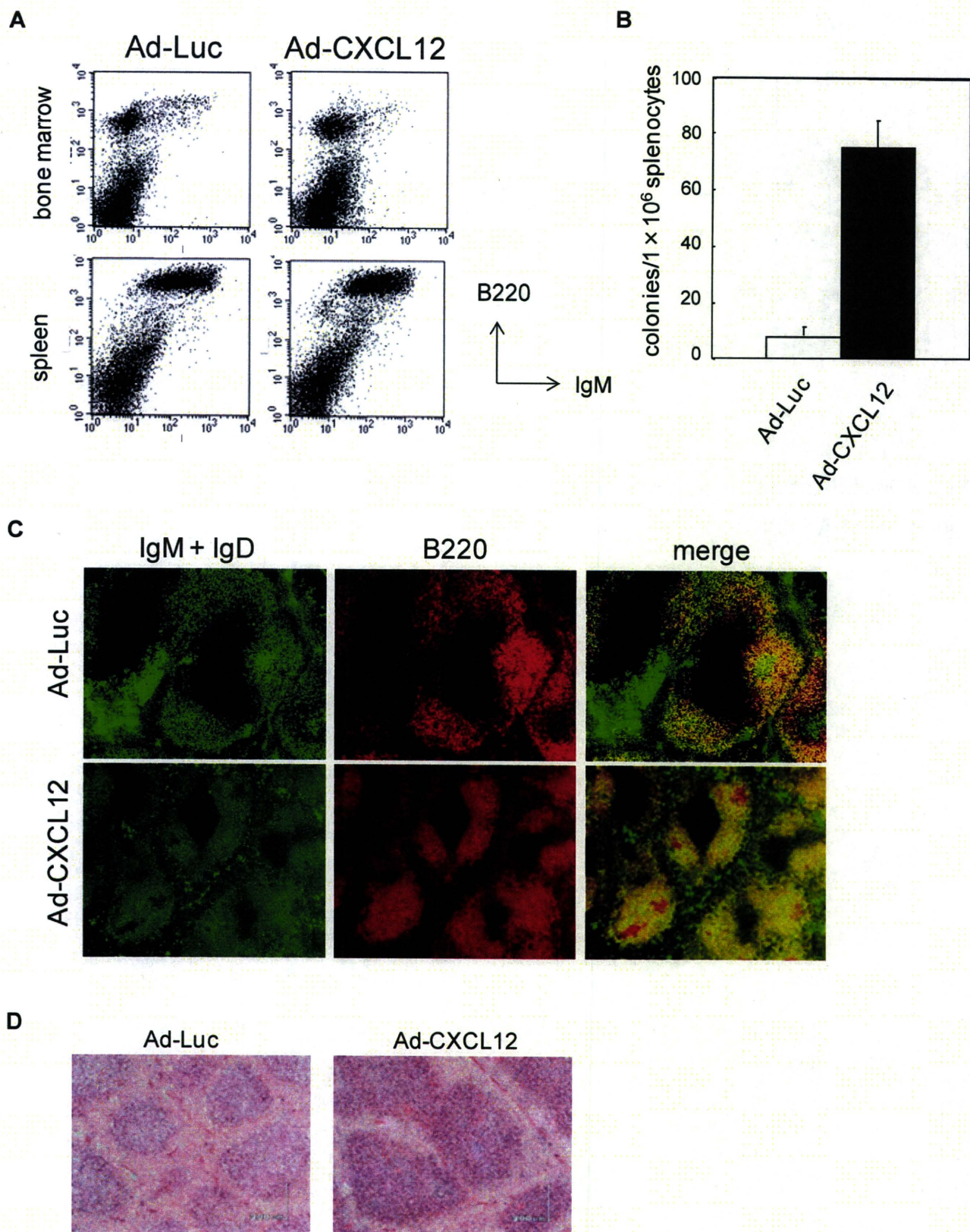


Fig. 5 Mobilization of B cell progenitors from the bone marrow 5 days after injection of Ad-CXCL12.

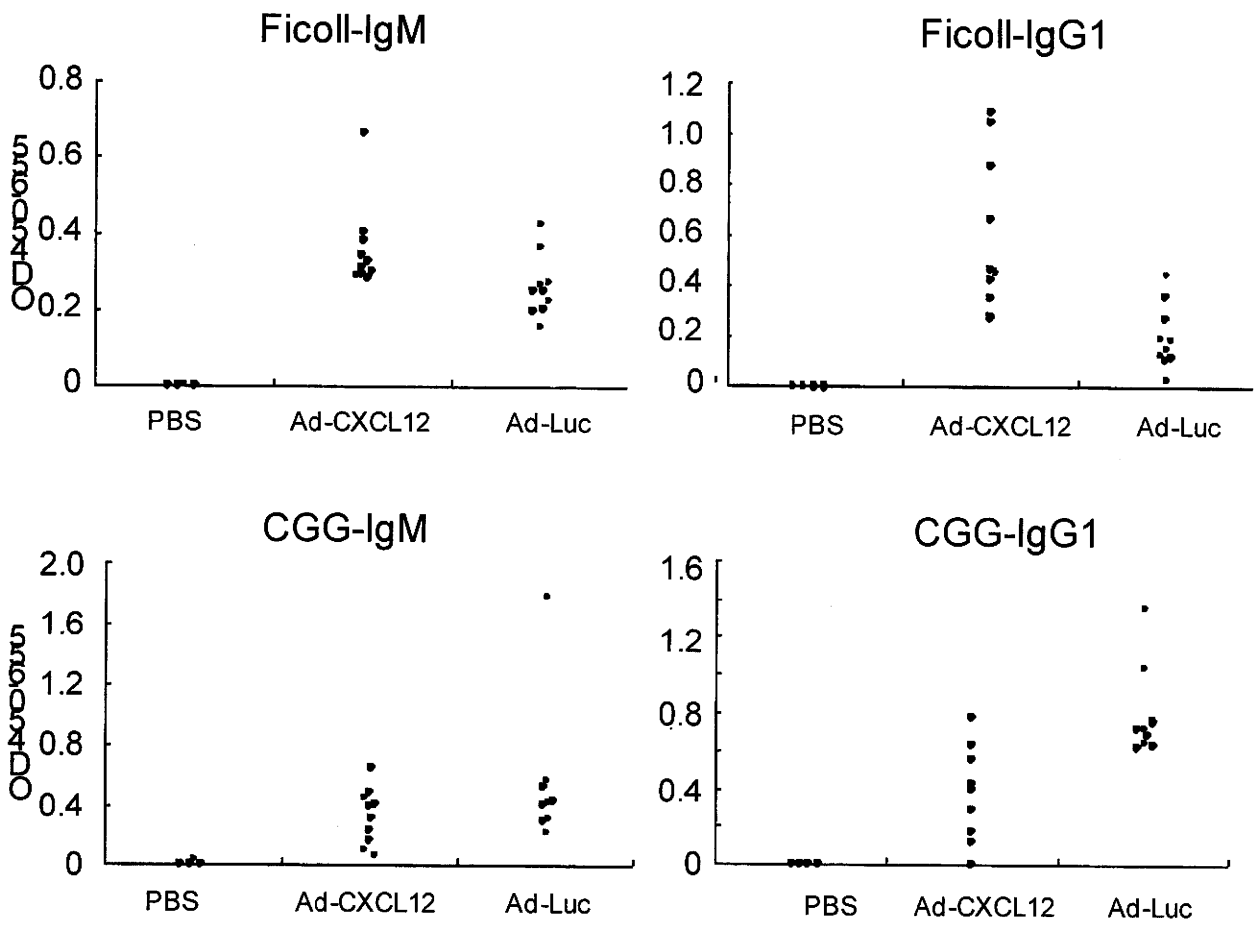


Fig. 6 The effect of Ad-CXCL12 on the antibody production.

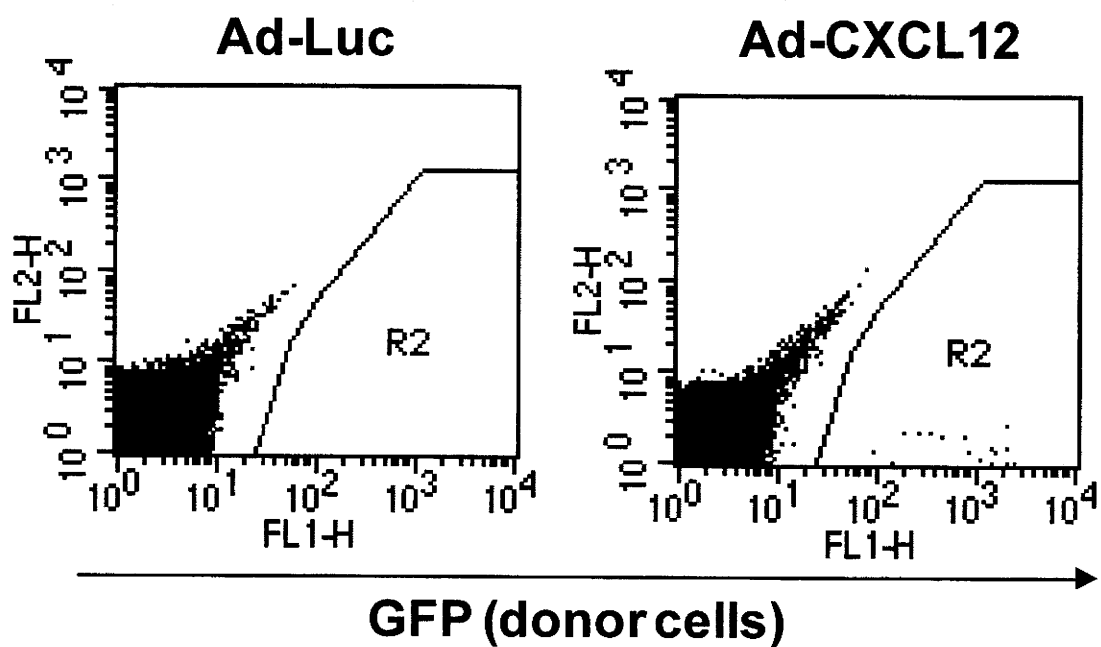


Fig. 7 GFP-expressing cells in bone marrow cells derived from Ad-CXCL12-injected mice before transplantation. R2 indicates GFP-expressing donor cells.

Table 1 Summary of transplantation study

	The number of mice which donor cells were detected	Chimerism
Ad-Luc	0/8	0%
Ad-CXCL12	7/12	0.06%

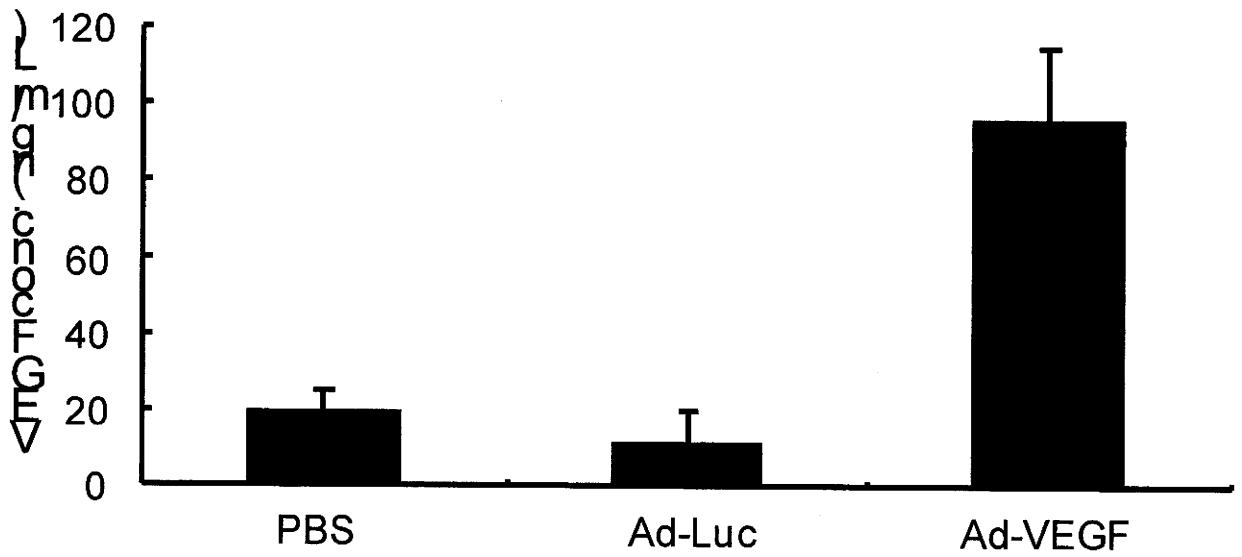


Fig. 8 Serum levels of VEGF.

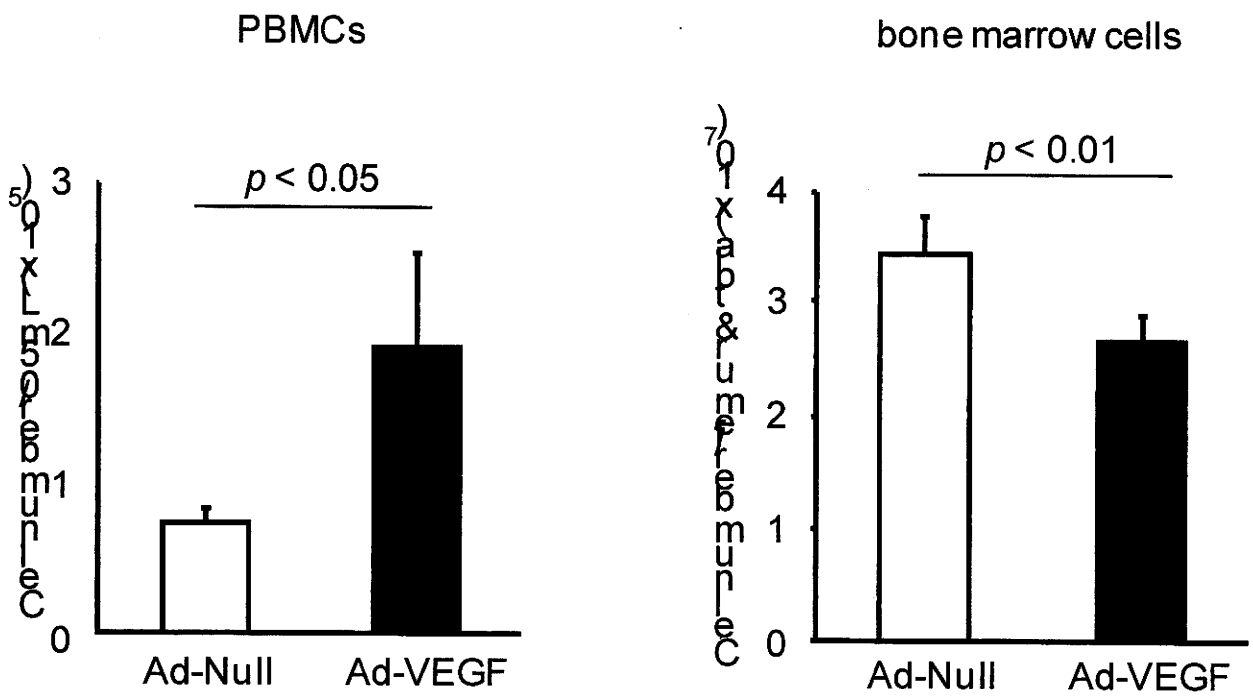


Fig.9 Cell number of PBMCs and bone marrow cells 5 days after intravenous injection of Ad-CXCL12.

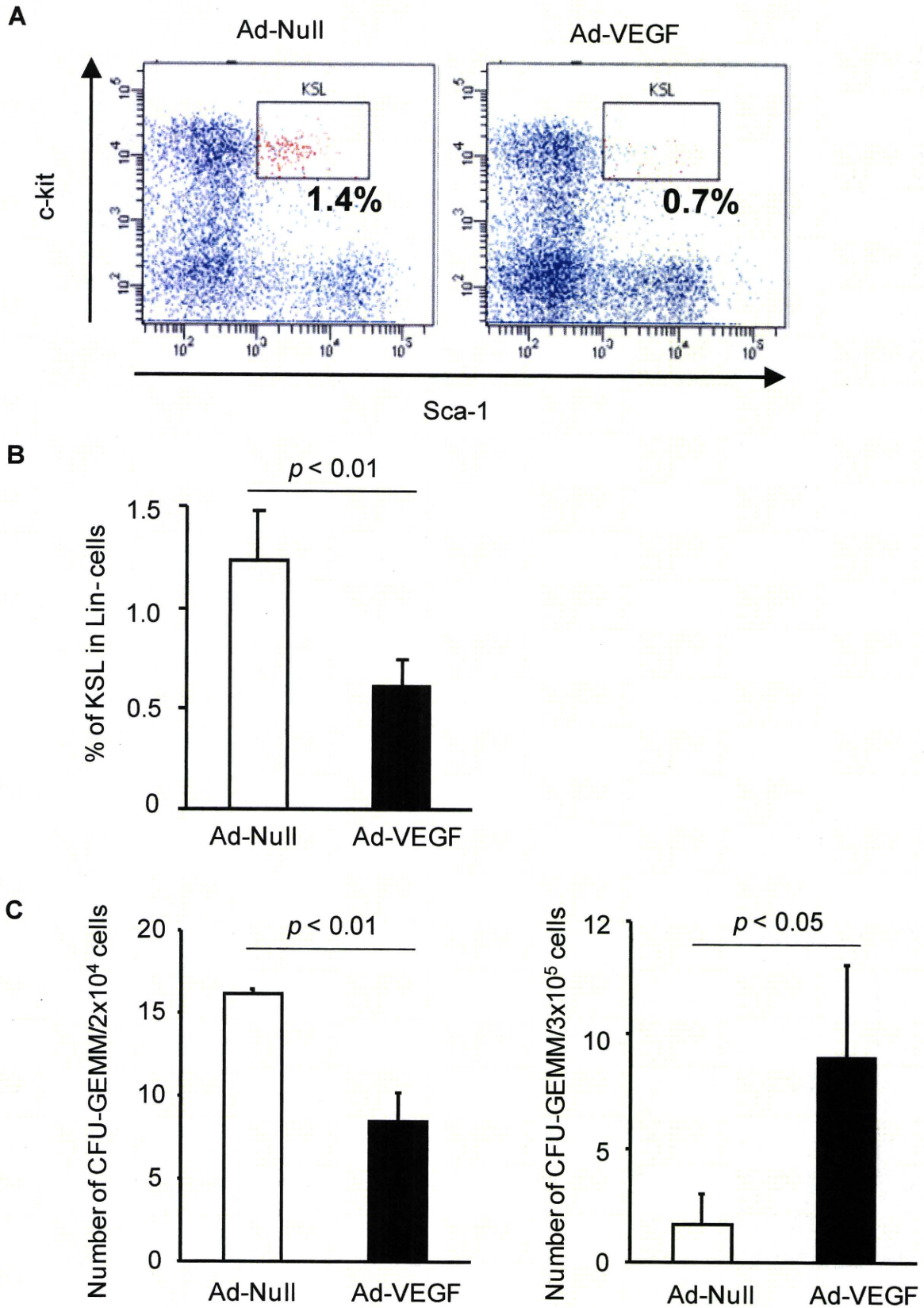


Fig.10 Effect of VEGF on hematopoietic stem/progenitor cell mobilization.

(C) left, bone marrow cells; right, PBMCs.

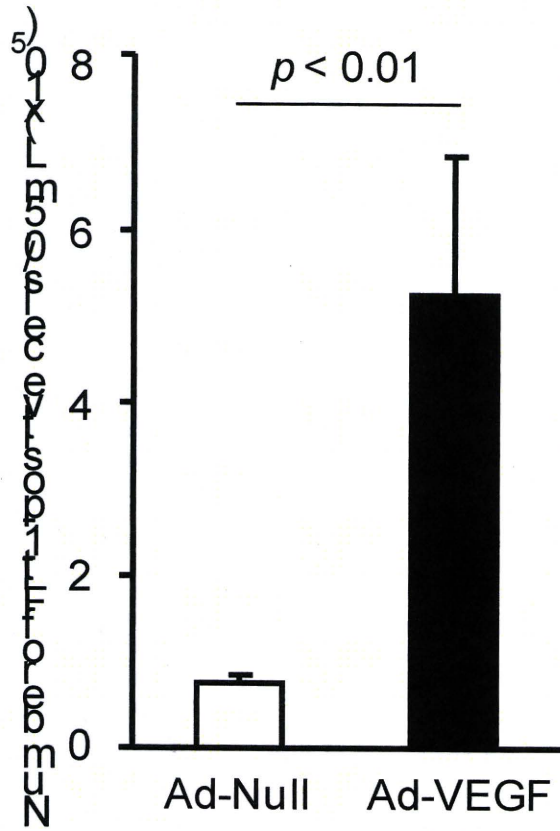
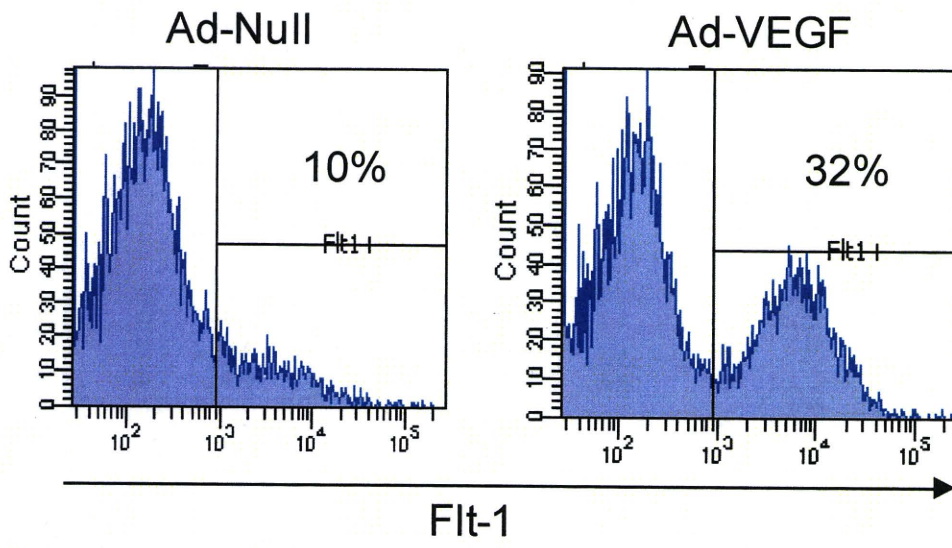


Fig.11 Elevation of Flt-1-positive cells in PBMCs in Ad-VEGF-injected mice.

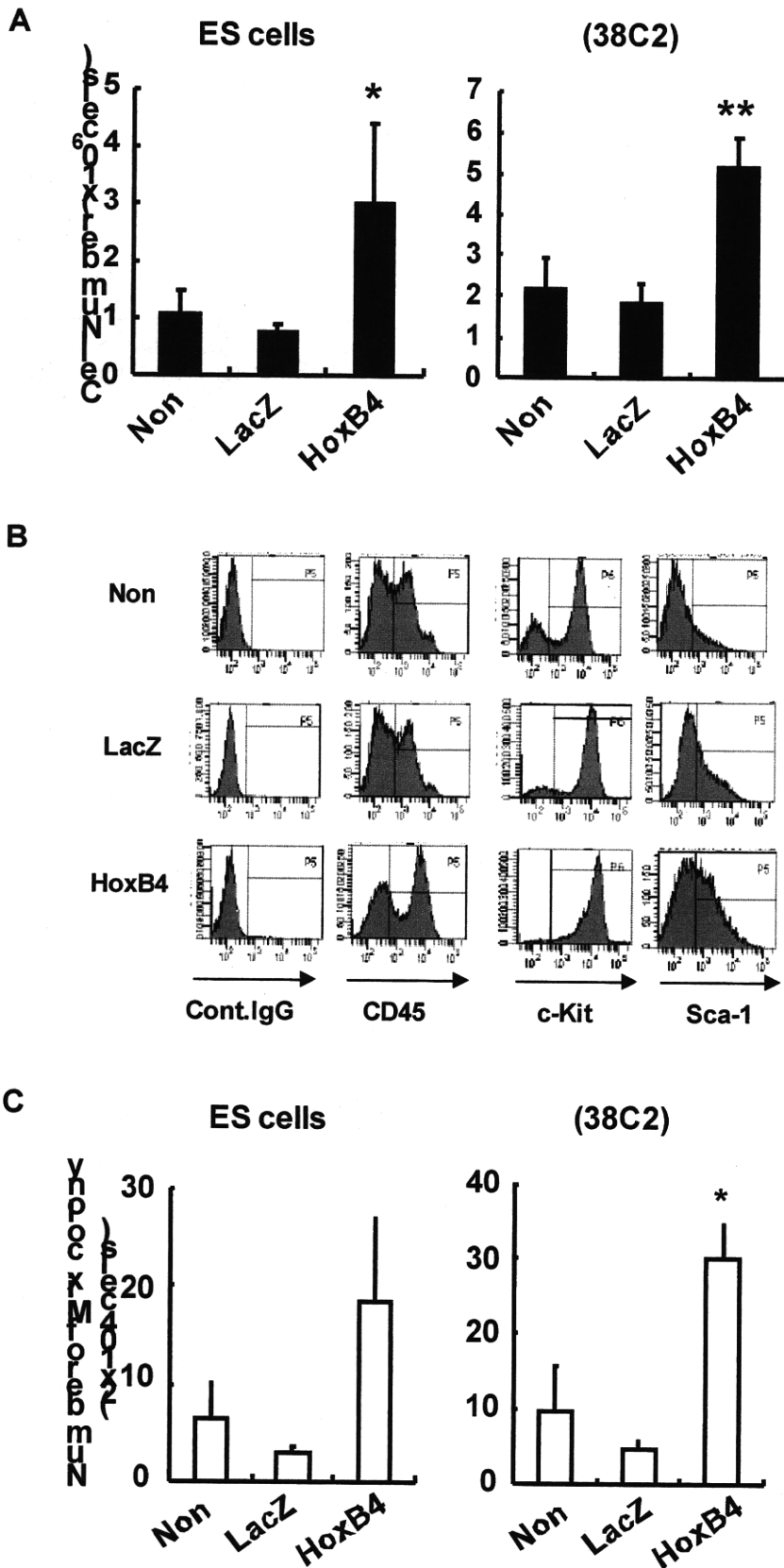


Fig. 12 Transient HoxB4 transduction augments the generation of hematopoietic cells from mouse ES and iPS cells.