

201023018B

厚生労働科学研究費補助金

免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業

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

平成 20～22 年度 総合研究報告書

主任研究者 中 畑 龍 俊

平成 23 (2011) 年 3 月

厚生労働科学研究費補助金

免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業

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

平成 20～22 年度 総合研究報告書

主任研究者 中畑龍俊

京都大学 iPS 細胞研究所  
臨床応用研究部門 疾患再現研究分野 特定拠点教授

## はじめに

本報告書は厚生労働科学研究費補助金「免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業」の一つである、「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」研究班における平成20年度から平成22年度の研究成果をまとめたものである。

1997年本邦において初めて実施された非血縁者間臍帯血移植は、日本臍帯血バンクネットワークの整備もあり、急激に増加し、今や骨髄移植にほぼ匹敵する数の移植が行われている。臍帯血移植が抱える問題点として、生着不全の頻度が高い、血球回復に時間がかかる、感染症の頻度が高いなどの欠点が当初から指摘され、それらの問題を回避するため臍帯血中の造血幹細胞を体外で増幅して移植することは移植医の一つの夢であった。

われわれはヒト造血幹細胞上に発現しているサイトカイン受容体を解析し、これらに対応するサイトカインである可溶性 IL-6 受容体(sIL-6R)/IL-6 複合体、SCF, FL, TPO を組み合わせた新しいヒト造血幹細胞の増幅法を開発し報告してきた。われわれの開発した培養法は従来報告されてきた方法に比べて格段に未分化なヒト細胞を増幅できることから、臨床応用が期待されてきた。

本研究班はこれまで基礎研究成果の臨床応用推進研究事業「*Ex vivo* 増幅臍帯血幹細胞を用いたトランスレーショナルリサーチ」、再生医療等研究事業「サイトカインによる増幅培養臍帯血による臍帯血移植の臨床試験」研究において、サイトカインを用いた臍帯血造血幹細胞の *ex vivo* 増幅という基礎研究の成果を臨床に応用すべく、GTP(Good Tissue Practice)に則った製造法の確立、品質管理法、品質保証法の確立、治療の安全性と有効性を検証しうる臨床プロトコルの作成、及び臨床研究実施体制の整備などを行ってきた。

平成18年4月1日より *ex vivo* 増幅臍帯血を用いた臨床研究「急性白血病等患者に対する同種臍帯血由来 *ex vivo* 増幅 CD34 陽性細胞移植に関する臨床第 I 相/前期第 II 相試験」を開始、平成20年第一例目に対して *ex vivo* 増幅臍帯血移植を実施した。この症例は、早期生着を認めたものの残念ながら感染を契機に急激に拒絶される経過を示した。本症例について増幅臍帯血中の各種サイトカインの測定など多くの詳細な検討を行ったが、拒絶に関係するような現象は検出できなかった。本例では、その後行った末梢血幹細胞移植でも同様に感染を契機に急激に拒絶に向かう経過を取ったことから、特殊な例であった可能性も否定できない。残念ながら、一つの臍帯血を二つに分け、一方を増幅後増幅しないものと一緒にして移植するというプロトコールの特殊性もあり、その後

の登録はなかったが、今回の経験は、今後、海外で始まっている複数移植と体外増幅移植を組み合わせた、より科学的に有効性を検証可能な臍帯血移植に発展していくことが期待される。

また、本研究班においてこれまで産学で取り組んできた完全無血清培地、培養バッグといった培養デバイスの製品化の試みも成功をおさめようとしている。今後、これらの成果は、臍帯血幹細胞の増幅のみならずさまざまな細胞療法、再生医療に応用されていくことであろう。

本報告書が関係者の参考になれば幸いである。

平成 23 年 3 月 主任研究者 中畑 龍俊

## 目 次

|                             |    |
|-----------------------------|----|
| I. 研究組織 .....               | 1  |
| II. 平成 20～22 年度総合研究報告 ..... | 3  |
| 中畑 龍俊                       |    |
| III. 班会議記録合同研究カンファレンス ..... | 59 |
| IV. 研究成果の刊行に関する一覧 .....     | 65 |
| V. 研究成果の刊行物・印刷物 .....       | 99 |

# I. 研究組織



平成 20～22 年度厚生科学研究費補助金

「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」研究班

研 究 組 織

|       | 氏 名    | 所 属                              |
|-------|--------|----------------------------------|
| 主任研究者 | 中畑 龍俊  | 京都大学 iPS 細胞研究所 臨床応用研究部門 疾患再現研究分野 |
| 分担研究者 | 前川 平   | 京都大学輸血細胞治療部                      |
|       | 金倉 譲   | 大阪大学大学院医学系 研究科血液・腫瘍内科学           |
|       | 平家 俊男  | 京都大学大学院医学研究科 発達小児科学              |
|       | 清水 則夫  | 東京医科歯科大学難治疾患研究所ウイルス治療学           |
|       | 千葉 滋   | 筑波大学大学院人間総合科学研究科                 |
|       | 伊藤 仁也  | 神鋼病院 血液病センター 細胞治療室               |
|       | 田中 宏和  | 大阪大学大学院医学系研究科血液・腫瘍内科             |
| 研究協力者 | 松村 到   | 近畿大学医学部血液内科                      |
|       | 長谷川 雄一 | 筑波大学大学院人間総合科学研究科                 |
|       | 橋本 尚子  | 先端医療センター細胞治療科                    |
|       | 初山 麻子  | 先端医療センター細胞管理室                    |
|       | 丸山 京子  | 先端医療センター細胞管理室                    |
|       | 高橋 隆幸  | 神鋼病院 血液病センター                     |
|       | 松下 章子  | 神戸市立医療センター中央市民病院免疫血液内科           |
|       | 田端 淑恵  | 神戸市立医療センター中央市民病院免疫血液内科           |
|       | 白数 昭雄  | ニプロ株式会社                          |
|       | 吉川 義洋  | ニプロ株式会社                          |
|       | 武田 和之  | ニプロ株式会社                          |
|       | 細井 裕之  | 和研薬株式会社                          |
|       | 西川 茂道  | 和研薬株式会社                          |
|       | 瀬尾 稔   | ヘモネティスクジャパン株式会社                  |
|       | 加藤 守孝  | ヘモネティスクジャパン株式会社                  |
|       | 松本 建   | 日水製薬株式会社                         |

## Ⅱ. 平成 20～22 年度 総合研究報告書



総合研究報告書

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

総括研究者：中畑 龍俊

（京都大学 iPS 細胞研究所 特定拠点教授）

**研究要旨**

本研究では、造血幹/前駆細胞の絶対数不足から生じる臍帯血移植の問題点（生着不全、造血回復遅延など）を解決するため、*ex vivo* 増幅臍帯血を臍帯血移植へ臨床応用し、その有効性及び安全性を証明すること、さらには *ex vivo* 増幅臍帯血移植を新たな医療として確立することを目的としている。本研究においては、以下の7つのテーマを設定し研究を続けた。I. *ex vivo* 増幅臍帯血移植の臨床研究、II. 新規培養法の効率、安全性の検証と cell processing におけるデバイスの開発、III. Cell processing における GMP の構築とガイドライン作成に関する研究、IV. 臍帯血移植後の免疫機構再構築に関する研究、V. 治療用細胞製剤の品質管理法・評価系の確立、VI. 臍帯血ドナーリンパ球輸注(DLI)に向けた基盤整備及び臨床研究、VII. 分子基盤に基づいた新規増幅法、分化誘導法の開発、VIII. 可溶性 Notch リガンド Delta1-Fc を用いて増幅した臍帯血造血前駆細胞の臨床研究について検討を行った。

*ex vivo* 増幅 CD34 陽性細胞移植を実際に行った臨床例で、拒絶が発生したため拒絶に関係するサイトカインの産生パターンを検討したが、増幅した細胞の移植に関与する事象は特定できなかった。この患者では、後に行った末梢血幹細胞を用いた移植において感染を契機に同様な拒絶が発生したことから、特殊な症例であった可能性も示唆され、今後の症例の集積が必要と考えられた。その他、本研究において、完全無血清培地の開発、閉鎖系培養法の確立をデバイス開発とともに進め、多くの成果が得られた。無菌試験やウイルス、マイコプラズマ否定試験の迅速かつ自動化を行い、バリデートし、品質管理の手順書を作成したことは今後の同種の研究においては大きな指標になると考えられる。次世代型の造血幹細胞の臨床応用に向けた治験が得られたことから、今後、新たな臍帯血移植への臨床応用が期待される。

## 総括研究者

中畑 龍俊 京都大学 iPS 細胞研究所  
臨床応用研究部門  
疾患再現研究分野  
特定拠点教授

## 分担研究者

前川 平 京都大学輸血細胞治療部  
教授

金倉 謙 大阪大学大学院医学系  
研究科血液・腫瘍内科学  
教授

平家 俊男 京都大学大学院医学研究科  
発達小児科学  
教授

清水 則夫 東京医科歯科大学難治疾患研  
究所ウイルス治療学  
准教授

伊藤 仁也 神鋼病院血液病センター  
細胞治療室

田中 宏和 大阪大学大学院医学研究科  
血液・腫瘍内科  
特任教授

千葉 滋 筑波大学大学院人間総合科学  
研究科  
教授

研究協力者

白数 照雄 ニプロ株式会社総合研究所  
人工臓器開発センター部長

西川 茂道 和研薬株式会社 (株)  
R&D 部部長

島津 光伸 株式会社三菱化学ビーマーセル  
研究開発部長

## A：研究目的

申請者らはこれまでサイトカインにより臍帯血CD34陽性細胞を体外増幅させる技術に関してのトランスレーショナルリサーチに取り組み、既存の増幅法と比較して有効かつ安全な細胞製剤の製造法、及び品質管理法を確立した。また、細胞治療製剤をGTP (Good Tissue Practice) に則って、作成するにはどのような規格を設け、どのような検査を行うことが適当なのか、示してきた。平成19年度から平成22年度にかけての3年間、申請者らは、細胞治療の実践を最大の目標にして、これまでの研究成果を応用、発展させる形で以下の3点を目標に研究を実施することを

目的とした。

1. 複数ユニットにおける増幅臍帯血移植の臨床研究を開始し、増幅臍帯血の意義を明確にすることにより、*ex vivo*増幅臍帯血移植を新たな治療法として確立すること
2. 移植後の再発や感染症に対する検査法、治療法の開発を行うことにより、移植成績の向上に貢献すること
3. 申請者らが開発した細胞プロセッシング法及び品質管理法の検証を行うことにより、各々における具体的なガイドラインを作成し、様々な移植細胞治療に応用、発展させることを目的に本研究班を組織した。

## B：研究方法

本研究では、研究の実施にあたっては基盤整備、応用研究を含めた以下の7テーマを他大学や企業との共同で研究を進めた。

### I. *ex vivo* 増幅臍帯血移植の臨床研究 (分担研究 伊藤 仁也、田中宏和)

#### I-1. 単一ユニット増幅臍帯血移植

先端医療センターにおいて現在実施中の「急性白血病患者に対する同種臍帯血由来 *ex vivo* 増幅 CD34 陽性細胞移植に関する臨床第 I 相/前期第 II 相試験」1年間の観察期間後、安全性及び有効性を検証する。

#### I-2. 複数ユニット増幅臍帯血移植

他の研究と並行する形で臨床プロトコルを作成し、*in vitro*/*in vivo* の細胞安全性試験 (前臨床試験) を行い、「ヒト幹細胞を用いた臨床研究に関する指針」に係る中央審査に向けたプロトコルを作成した。

### II. 新規培養法の効率、安全性の検証と cell processing におけるデバイスの開発 (分担研究 伊藤 仁也)

これまでの研究において我々は臍帯血造血幹細胞の完全無血清化に成功し、企業と共同で、無血清培地と培養バッグの開発を進めてきた。これにより、市販の培地より数倍 CD34 が増幅できるようになった。平成 21 年度内に新規デバイスを用いた培養により得られる細胞に関しての有効性、安全性を検証した。またできればこれらのデバイスの販売に向け、期間中に医療用具化に向けた申請を行う。

### III. Cell processing における GMP の構築とガイドライン作成に関する研究 (分担研究 前川 平)

アカデミアにおける細胞治療・再生治療開

発に必要な cell processing における製造環境、品質管理、製造組織などの点からヒトに投与する細胞治療の安全性をいかに担保できるか細胞医療の実際の問題点などを検討した。

#### IV. 臍帯血移植後の免疫機構再構築に関する研究

(分担研究 平家 俊男、清水 則夫)

増幅させた細胞から再構築されるT細胞およびB細胞系再構築能に関して、これまでに確立した NOD/SCID/ $\gamma_c^{null}$  マウス (NOG マウス) への異種間移植系を用いて T、B 細胞の分化やその機能、及び特異的抗体産生やCTLの誘導能を解析する。臨床研究においては、臍帯血移植後の免疫能を細胞表面抗原解析、サイトカイン産生能、T、B 細胞数やその機能、CD4+CD25+regulatory T細胞動態につき評価し、増幅臍帯血が免疫機構再構築に及ぼす影響につき解析する。また申請者らが開発した網羅的迅速ウイルス定量解析法により、約30種類のウイルスを経時的に測定し、免疫能の回復とウイルス感染症の関係を明らかにする。また、細菌、真菌の網羅的検査法の確立を試みた。

#### V. 治療用細胞製剤の品質管理法・評価系の確立

(分担研究 伊藤 仁也、清水 則夫、平家 俊男)

新たな製造工程に併せた品質管理法を確立するとともに、治療用細胞製剤の品質管理におけるガイドラインを作成する。また迅速かつ網羅的に細菌、真菌成分や液性因子等タンパクの定量解析が可能な系の開発に取り組む。

#### VI. 臍帯血ドナーリンパ球輸注(DLI)に向けた基盤整備及び臨床研究

(分担研究 伊藤 仁也)

培養法を確立後、臨床研究は多施設共同臨床試験とし、『臍帯血を用いる造血幹細胞移植技術の高度化と安全性確保に関する研究班』に引き継いだ。

#### VII. 分子基盤に基づいた新規増幅法、分化誘導法の開発

(分担研究 金倉 謙、田中 宏和)

分担研究者の金倉、田中らは、造血幹/前駆細胞の未分化性維持に関する転写因子や細胞内シグナル伝達分子について解析を行い、それらを人為的に操作することで造血

幹/前駆細胞を効率よくかつ安全に増幅、分化させる方法の開発に取り組んできた。細胞増殖にとって必須の金属である鉄に関しては、ほぼ100%の飽和状態で鉄を含む細胞培養用 holo トランスフェリンを一定量含有するよう調整し用いており、培養液中から細胞内への鉄すなわちトランスフェリンの取込みはそのレセプターであるトランスフェリンレセプター1(CD71)を介したエンドサイトーシスにより行われる。細胞内の鉄濃度は種々機構により極めて厳密にコントロールされている一方で、鉄過剰状態では鉄の取込み、利用、貯蔵という過程の中で細胞内小器官間を速やかに行き来する不安定な鉄のプール(labile iron pool, LIP)が生じていることが知られているがLIPの生理的意義や病態との関連は明らかではない。そこで本研究では至適培養条件を検討する一環として、マウス造血細胞を用いて遊離鉄負荷が造血に及ぼす影響についての *in vitro* で解析を行った。

#### VIII. 可溶性NotchリガンドDelta1-Fcを用いて増幅した臍帯血造血前駆細胞の臨床研究

(分担研究 千葉)

サイトカインに加えて Delta 1-Fc キメラ蛋白を用いて臍帯血由来CD133陽性細胞を増幅する方法を開発し、Clinical grade での培養試験を検討した。

#### C: 結果と考察

##### I. *ex vivo* 増幅臍帯血移植の臨床研究

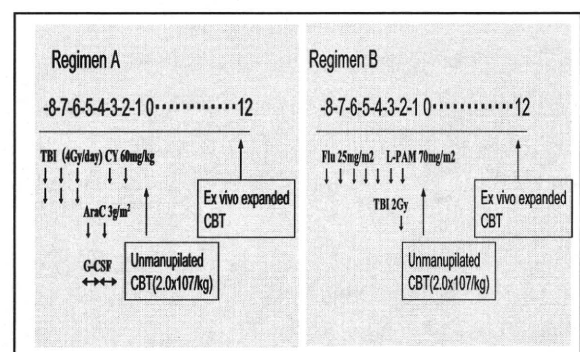
臨床プロトコル概要

対象疾患

- 1)急性骨髄性白血病
- 2)急性リンパ性白血病
- 3)骨髄異形成症候群
- 4)悪性リンパ腫

適確規準 (抜粋)

12歳~55歳のなかでPS 0~1、血縁ドナーがなく、臍帯血バンクで総細胞数が $3.0 \times 10^7/\text{kg}$ 以上で2 Loci mismatch 以内移植レジメン



## 解析項目、評価項目

### 1. 主要エンドポイント

1.1 移植後 100 日までの有害事象の発生頻度および程度

1.2 好中球生着日数

### 2. 副次エンドポイント

2.1 血小板生着日数, 赤血球生着日数

2.2 全生存期間、無再発生存期間

2.3 移植関連合併症死 (TRM) の頻度

2.4 輸注総細胞数、輸注 CD34 陽性細胞数

2.5 培養移植細胞幹細胞マーカー

2.6 培養移植コロニー形成細胞

2.7 治療完遂の有無

2.8 培養総細胞率、CD34 陽性細胞増幅率

2.9 移植後 100 日時点での免疫学的回復能

## 臨床試験登録状況

「急性白血病に対する Ex vivo 増幅臍帯血移植の Phase I/II 試験」には 2 例の登録があったが、1 例は拒絶を生じ、もう 1 例は移植前検査の際に甲状腺癌が発見されて非適格となった。独立モニタリング委員会、および倫理委員会は 1 例目で拒絶を生じたことを重大な有害事象と判断し、原因究明を行うまで、新たな登録を行うことを見送る決定がなされたため、本年度も引き続き、拒絶された機序をサイトカインの詳細な検討を行い考察した。

症例報告: 骨髄移植後再発 AML (M3) 例に対し、Ex vivo 増幅臍帯血移植を行った。12 日間培養した結果、CD34 陽性細胞として  $15.0 \times 10^5 / \text{kg}$  という大量 CD34 陽性細胞を移植することができた。(CD34 陽性細胞は 100.4 倍の増幅) Day16 に WBC > 1000 となり、Day 19 の骨髄所見でも Complete chimera が得られ、多数の赤芽球や巨核球までもが出現していたが、結局その後、急激に拒絶された。

レスキューのために行った、1st donor からの PBSCT においても早期に生着したが、臍帯血移植の時と同様敗血症を発症し、Day21 からは汎血球減少が進行した。

## サイトカイン測定

拒絶時の骨髄にはレシピエントタイプの活性化 T 細胞が浸潤していたが臍帯血あるいは 2nd PBSCT のグラフトに対する特異的細胞傷害性 T 細胞ではなかった。(Elispot assay) 臍帯血移植後 Day10 で Streptococcus mitis, 末梢血幹細胞後 Day10 には Staphylococcus epidermidis が検出され、その後

IL-5, IL-6, IL-8, MCP-1, TNF- $\alpha$ , INF- $\gamma$  といった炎症性サイトカインが上昇し、拒絶に陥った。細胞移植後感染が生じるまではこれらのサイトカインに変動はなかった。

骨髄非破壊的前処置による臍帯血移植後の生着不全例の特徴について虎ノ門病院グループは、生着不全の一要因である hemophagocytic syndrome (HPS) 発症と移植後 day10 以降の IL-8, MCP-1 高値との相関、pre-engraftment immune reaction (PIR) 発症と移植後 day10 以降の IL-5, IL-8 高値との相関、さらには血流感染症と移植後 day10 以降の IL-6, IL-8 高値との相関を報告している。

本症例において上昇したサイトカインが造血幹細胞に与える影響を造血幹細胞の培養系で検討した結果、TNF- $\alpha$ , INF- $\gamma$  を添加した系では、CD34 陽性細胞は早期に Apoptosis を起こすこと、単球、マクロファージへの分化が進み、試験管内でも Apoptosis 細胞をマクロファージが貪食する現象が再現されることがわかった。

これらのサイトカインに刺激された活性化マクロファージ、活性化 T 細胞から TNF- $\alpha$ , INF- $\gamma$  がミトコンドリアが豊富で細胞回転が速い造血前駆細胞をミトコンドリア膜の Ca influx を増大させ、急激に Apoptosis に陥らせたと考えた。別の試験で ex vivo 増幅した臍帯血は、直接これらのサイトカインを産生していないことから Ex vivo 増幅臍帯血移植特有の現象ではなく、敗血症に伴う高サイトカイン血症が引き金となり、Apoptosis 誘導性のサイトカイン、ケモカインが産生され、拒絶に至ったと考えた。

## II. 新規培養法の効率、安全性の検証

本分担研究では、より効率で安全な培養法の確立を目的としてリコンビナントアルブミンを担体としたリボソームを用いた新規無血清培地ならびにポリオレフィン系フッ化処理培養バッグ (NIPRO 社製) の開発を行ってきた。新規無血清培地と培養バックを用いて現行の製造方法による製造試験を行った結果、総細胞数 1000 倍、CD34 陽性細胞数 100 倍と、現在使用している資材と比較して 2 倍以上の増幅効果が得られた。

実製造試験ならびに品質に関するデータを取得した。

その結果、培養日数はこれまでの 12 日間から 9 日に短縮してもこれまでと同等の造血能力を持つ細胞が約同数得ることができることがわかった。

得られた細胞の染色体異常などは伴わずに、

一定の安全性確保されると考えられた。

### III. Cell processing における GMP の構築とガイドライン作成に関する研究

ヒト細胞をもちいる新規治療法の開発は、通常の錠剤などとは異なった側面を持っており、そのために治療法としての開発過程において試行錯誤が続き、申請手続きにも長い期間が消費されているのがわが国の現状である。平成 18 年 9 月「ヒト幹細胞を用いた臨床研究に関する指針」が施行、さらに平成 22 年に改訂され、細胞プロセッシングによる細胞製剤の品質管理と安全性が強調されるようになった。細胞治療や再生治療は臨床研究の段階から治験へと進捗すべきで、本研究では細胞プロセッシングに stepwise approach の考え方（開発段階に応じた GMP (Good Manufacturing Practice)）を取り入れ、ハードのみならずソフトも含めたコンセプト (institutional GMP, iGMP) の必要性を提唱した。一方、2008 年 7 月 FDA は早期フェーズ I (探索的臨床試験) でもちいる IND の GMP 製造に関するガイドライン (“Guidance for Industry, CGMP Phase 1 Investigational Drugs”, Phase I GMP) を発表した。Phase I GMP はわれわれが従来から提唱してきた開発段階に応じた GMP、いわゆる iGMP の必要性和相通ずるものと考えられる。

### IV. 臍帯血移植後の免疫機構再構築に関する研究

分担研究者の平家らは既に臍帯血 CD34+細胞を免疫不全マウス NOD/SCID/ $\gamma_c^{null}$  移植し、末梢血、骨髄、脾臓、胸腺等におけるヒト血液細胞の出現を確認した。さらに、従来の免疫不全マウスでは認められないヒト T 細胞をも含むすべての系統への分化を確認した。また、sIL-6R を含むサイトカインの組み合わせを用いて増幅した細胞の幹細胞活性を、免疫不全マウス NOD/SCID/ $\gamma_c^{null}$  を用いて検討した。その結果、ヒト造血細胞の出現、胸腺等においてはヒト T 細胞の出現を確認し、ヒト造血幹細胞活性を評価するモデル系としての妥当性を確認した。出現する T 細胞、NK 細胞の機能成熟も、TCR レパトア解析、サイトカイン反応性、細胞障害性の観点より確認した。

しかし、このマウスには、依然として、大きな改善点が必要とされる。骨髄、脾臓において、成熟した B 細胞の出現が確認でき、末梢血液においては、ヒト IgM, IgG の存在が確認できるにもかかわらず、特異抗体産生は

確認できない点である。今後、ヒト組織適合性抗原を発現するマウス等の改良を試み、研究の展開を模索する必要がある。

また、末梢血に出現する T 細胞分画に、CD4+CD25+ regulatory T cell が存在することを見出した。今後、安全で効果的な造血幹細胞移植医療確立のため、ヒト regulatory T cell の発生機構を明らかとし、造血幹細胞移植に伴う種々免疫反応に及ぼす影響についても考察を進めている。

これらの問題点を解決するため、ヒト組織適合性抗原を発現する免疫不全マウス NOD/SCID/ $\gamma_c^{null}$  を用いた研究を模索している。

さらに、造血細胞のもつ分化可塑性が注目されているが、ヒト臍帯血移植 NOD/SCID/ $\gamma_c^{null}$  マウスを用いて、ヒト細胞由来肝細胞の出現を確認した。機能的にもヒトアルブミンの産生が免疫組織染色のみならず、血清中においても確認し、機能的にもヒト肝細胞が再生されていることを確認した。ヒト臍帯血由来造血幹細胞を用いた肝細胞再生を目指す基盤技術開発に向けた検討を進めている。

さらに、同マウスは、ヒト正常骨髄の機能評価に留まらず、白血病などの造血性疾患を再現できることをプレリミナリーの結果ではあるが確認しており、その病態解明、治療基盤の確立に向けた応用が期待され、一層の研究の展開が期待される。

### V. 治療用細胞製剤の品質管理法・評価系の確立

*Ex vivo* 増幅臍帯血移植を臨床応用化するにあたり、実際の製造工程に連動した品質管理試験体制の整備が必要である。本年度は先端医療センター内に細胞管理室 (室長 分担研究者 伊藤) を整備し、ウイルス否定試験、マイコプラズマ否定試験、エンドトキシン試験をバリデートして迅速に行えるよう整備した。また細胞膜の ATP 活性を鋭敏に定量することにより、細胞毒性試験、細胞傷害性試験を確立した。無菌試験に BacT/ALERT3D システムを導入し、バリデートした。

また、分担研究者の清水らは、再生医療・細胞治療を実用化するためには、培養工程を経た細胞製剤の安全性確保が極めて重要である観点から新しいウイルス、マイコプラズマ、真菌を迅速に detect できる試験系を開発した。

なかでも、生きた細胞組織を原材料とし滅菌操作を施せない特質上微生物汚染の検査は必須であり、簡便・高感度・安価な新しい



検査法の確立が求められている。

我々は、これまでにヒトに持続感染する様々なウイルスに対する新しい検査系の開発を行ってきたが、本研究では検査対象に肝炎ウイルス、真菌、細菌を追加するための研究開発を行い、HAV, HBV, HCV, HDV, HEV, HGV, TTV, AdV, EBV, CMV の同時検査系および、18SrRNA および 16SrRNA 遺伝子の共通領域を対象とした真菌および細菌のブロードレンジ検出系を加えた新しい検査系を作製した。

さらに、開発した検査系を実用化するために微生物検査試薬をキット化するための技術開発を行い、バッファー・酵素・プライマー・プローブを混合し-80℃保存することにより試薬MIXを長期間保存できる事を見出し、最大7回の凍結融解後でも性能が低下しない事を確認した。

現在、-80℃での長期保存後の保存安定性試験を継続している。

## VI. 臍帯血ドナーリンパ球輸注(DLI)に向けた基盤整備及び臨床研究

分担研究者の伊藤らは臍帯血 DLI に向け、安全性試験、効果検証のための前臨床試験（免疫不全マウスである NOD / Ltz / SCID マウスを用いて、ヒト腫瘍細胞とヒト免疫担当細胞の *in vivo* における免疫反応を見た）を終了させて、臨床プロトコルの作成を行った。

対象は臍帯血移植を行い、拒絶、再発、mix chimera から complete donor chimera への誘導など通常の DLI が必要な患者に対し、固相化 CD3 と IL-2 で培養した臍帯血活性化 T 細胞を投与するものである。

この臨床研究は臍帯血バンクとの連携が必要であるため、『臍帯血を用いる造血幹細胞移植技術の高度化と安全性確保に関する研究班』にて多施設共同臨床研究に移行する予定である。

## VII. 分子基盤に基づいた増幅法、分化誘導法の開発

分担研究者の金倉、田中らは、造血幹/前駆細胞の未分化性維持に関与する転写因子や細胞内シグナル伝達分子について解析を行い、それらを人為的に操作することで造血幹/前駆細胞を効率よくかつ安全に増幅、分化させる方法の開発に取り組んだ。

平成20年度は造血細胞の未熟性維持に重要

な Wnt/ $\beta$ -catenin シグナル経路について解析を行い、内因性の $\beta$ -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。

平成21年度は細胞増殖の基盤をなす細胞周期制御機構に着目し、細胞周期の進行に対して正に作用する decoy ペプチドを合成し造血幹/前駆細胞の増殖に及ぼす影響について解析を行った。その結果、細胞周期制御因子 CDK4 に対する膜透過型 decoy ペプチドは、臍帯血由来 CD34+陽性造血幹/前駆細胞に対してほぼ 100%の導入効率が得られ、導入直後も高い viability が保持されること、また導入量の調節が可能であり、その発現は7日間維持されていること、さらにより未分化な細胞において CDK4/INK4 複合体の活性を変化させ、細胞周期を亢進させることを見出した。

平成22年度は、至適培養条件を検討する一環として、遊離鉄負荷が造血に及ぼす影響について *in vitro* での解析を行い、急激な鉄負荷が正常造血細胞に対して、細胞内 ROS の蓄積、さらには ROS による p38MAPK の持続的活性化を介して未分化な細胞により強く細胞死を誘導すること、また赤血球系の分化異常など無効造血の病態形成に関与していること、一方で骨髄支持細胞においては、造血支持に重要な接着因子の発現やサイトカイン、ケモカインなどの発現変化もたらずことで造血を抑制することを見出した。

今後は転写因子、細胞周期制御因子の内的因子操作、及び培養条件を検討することで、至適な造血幹細胞増幅法、ならびに造血幹細胞からの系統特異的分化誘導法の開発を継続して行う予定である。

## VIII. 可溶性 Notch リガンド Delta1-Fc を用いて増幅した臍帯血造血前駆細胞の臨床研究

分担研究者の千葉らは、ヒト臍帯血 CD133 陽性細胞を可溶性 Notch リガンドである Delta1-Fc キメラ蛋白を固相化した条件で培養することにより、免疫不全マウスで長期間造血可能な造血幹細胞を増幅可能であることを証明した。

この成果に基づいて臨床試験を行うため、筑波大学附属病院内に設置された細胞プロセッシング・ファクトリー (CPF) での臨床試験用標準作業手順書の作成を行った。書類整備にあたり先端医療センターの協力を得

たことで、基本部分をなす製品標準書と製造管理・衛生管理・品質管理の3基準書において膨大な記載作業を伴うGMP関連書式の整備を比較的短期間に、筑波大学CPFでの使用に適した形式として行うことが可能となった。

また、実臨床試験に向けて凍結融解後に細胞を分離して培養を行う行程を想定した予備実験を遂行した。解凍後の臍帯血は極めて凝集を生じやすくその処理に工夫を要したが、作業環境を4℃付近の低温状態で維持し、抗CD133抗体との反応を希釈した状態で行うことで造血幹細胞を含む分画の回収率向上が図られることが分かった。

## E：まとめ

臨床研究の実施は1例目が生着不全を生じる有害事象が発生し、各種倫理委員会、独立モニタリング委員会から原因究明をできるだけ追求するよう、要望があり、本研究班では、投与細胞との因果関係や、生着不全のメカニズムを保存血清や細胞を用いたさまざまな試験により多方面の解析を行った。

その結果、臍帯血移植の場合には、pre-engraftment immune reaction(PIR)という非感染性アロ免疫反応が、生じることがあり、多彩なサイトカインが産生されることをつきとめた。特にキラーサイトカインと呼ばれる、TNF- $\alpha$ 、INF- $\gamma$ はex vivo増幅した造血前駆細胞をはじめ、分裂がさかんなドナー造血細胞のApoptosisを誘導することが、証明できた。これによる拒絶が今回拒絶された原因と考え、増幅した操作そのものが拒絶に結びついた可能性は少ない。

今後複数臍帯血移植の一方を増幅させ、一方を増幅させない試験を準備しているが、移植免疫担当細胞を強化させるため、CD34だけではなくすべての細胞を移植することに反映させたい。細胞治療製剤をアカデミアによるGMP製造への取り組みについては、品質管理法の自動化、製造施設の基準づくり、閉鎖系、無血清培養法の確立など成果をあげた。今後の再生医療、細胞治療への臨床応用に貢献するものと考ええる。

また造血幹細胞のex vivo増幅を通じた造血の分子メカニズムの解明を目的とした研究においては、造血幹細胞の分化、複製経路のシグナル伝達系の解析を通じ、次世代型の造血幹細胞のexpandへの道筋をつけることができたと考ええる。

## F：健康危険情報

Ex vivo増幅臍帯血移植時に拒絶を生じた。詳細な報告書は独立モニタリング委員会、臍帯血バンクネットワーク、厚生労働省に提出した。

## G：研究発表

### 1) 国内

2008

中畑龍俊：幹細胞の臨床応用とその課題. 日本臨床 66 (5) 831-840,2008

岩田あや、梅田雄嗣、丹羽明、由井理洋、平松英文、渡邊健一郎、足立壮一、中畑龍俊：ポリコナゾールを含めた抗真菌剤多剤併用療法が著効した骨髄移植後の重症アスペルギルス感染症の2症例. 日本小児血液学会雑誌 22 (1) : 28-33,2008

中畑龍俊：造血幹細胞. 進みつづける細胞移植治療の実際 上巻—再生医療の実現に向けた科学・技術と周辺要素の理解— (遺伝子医学MOOK別冊 メディカルドゥ) 60-66,2008

松永裕美、松村由美、宮地良樹、三富陽子、真鍋俊明、河野文彦、安部大輔、梅田雄嗣、足立壮一、中畑龍俊：骨髄移植後に生じたサイトメガロウイルス(CMV)肛門周囲潰瘍. 臨床皮膚科 62 : 11,2008

加藤格、梅田雄嗣、松原央、平松英文、渡邊健一郎、足立壮一、中畑龍俊：小児同種造血幹細胞移植症例に伴う腎障害の検討. 臨床血液 49 : 1530-1535. 11,2008

笠井泰成、前川平：本邦における安全な細胞療法の実施に向けて. 血液フロンティア、18(1): 69-73, 2008.

前川平：輸血. わかりやすい内科学(第三版)(井村裕夫 編集)、文光堂、東京、pp.297-302, 2008.

万木紀美子、前川平：輸血の実際. —臨床血液学、新たなエヴィデンスの実践に向けて— 総合臨床、57(4):752-759, 2008.

前川平、芦原英司、木村晋也：シグナル伝達系阻害剤. がんの分子標的治療(鶴尾隆 編集)、南山堂、東京 pp. 291-298, 2008.

前川平：造血幹細胞の凍結保存と輸注.

みんなに役立つ造血幹細胞移植の基礎と臨床 (神田善伸 編集)、医薬ジャーナル社、

前川 平、万木紀美子：遅発性溶血性輸血副作用 (delayed hemolytic transfusion reaction, DHTR)- 見逃されている臨床病態-。臨床血液、49(10):1306-1314, 2008.

笠井泰成、前川 平：細胞プロセッシングセンター。遺伝子 MOOK 「歩みつづける細胞移植療法の実践：再生医療の実現に向けた科学・技術と周辺要素の理解」、メディカルドゥ、大阪、pp.226-230, 2008

金倉 讓。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 讓。造血器腫瘍に対するファ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 讓。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 讓。慢性炎症と貧血。日本臨床 66:535-539, 2008

松村 到、金倉 讓。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 讓。CML の治療。総合臨床 57:287-288, 2008

松村 到、金倉 讓。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 讓。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 讓。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 讓。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

大阪、pp.206-213, 2008.

松村 到、金倉 讓。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 讓。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 讓。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 讓。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 讓。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 讓。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 讓。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

## 2009

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 : 1, 2009

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、真部淳、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 巻 1 号) 6-16, 2009

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(第23巻第2号)126-130, 4, 2009

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(第18巻2号)85-90, 2009

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, 5, 2009

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, 5, 2009

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, 5, 2009

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

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

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 膝炎の1例。日本小児血液学会誌23(3)：209-212, 6, 2009

中畑龍俊：疾患特異的 iPS 細胞。『学術の動向』14(9)：78-83, 2009

中畑龍俊：疾患特異的 iPS 細胞。『MSD 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

中畑龍俊：序 ～さまざまな幹細胞を用いた今後の再生医療～(特集：再生医療の現状と進歩～ES細胞, iPS細胞と体性幹細胞の臨床への応用～)。『血液フロンティア』19(11)：17-18, 2009

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

中畑龍俊：I. 総論 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

浅田大、松原央、加藤格、長田加寿子、瓜生久美子、徳舛麻友、梅田雄嗣、渡邊健一郎、足立壮一、岡本晋弥、上本伸二、中畑龍俊：人工肛門造設後の大量メトトレキサートにより急性腎不全をきたした1例。臨床血液(第50巻第11号)1607-1611, 2009年11月

八尾尚幸、前川 平：造血器腫瘍治療における輸血療法の適応は？。特集「支持療法・輸血」。EBM 血液疾患の治療2010-2011：493-497, 2009.

万木紀美子、前川 平：血液製剤。2) 輸血療法の実際。総合臨床 第58巻増刊号「今すぐに役立つ 輸液ガイドブック」、永井書店、大阪、58：390-398, 2009.

八尾尚幸、芦原英司、前川 平：支持療法—輸血・成分輸血、Epo, G-CSFなど—。特集「骨髄性白血病—病因・治療研究の進歩」。日本臨床 67(10)：1951-1957, 2009.

西川昭子、村山敏典、前川 平：産業界のためのガイダンス ヒトの細胞、組織、および細胞・組織製剤(HCT/P)に関する規制 小規模事業所の準拠ガイド。臨床評価36(Suppl XXVI)：183-196, 2009.

西川昭子、村山敏典、前川 平：産業界のためのガイダンス ヒトの細胞、組織、および細胞・組織製剤—(HCT/P)のドナーの適格性判断。臨床評価36(Suppl XXVI)：197-256, 2009.

西川昭子、村山敏典、前川 平：産業界のためのガイドランス 第I相研究新薬のためのCGMP (Guidance for Industry - CGMP for Phase 1 Investigational Drugs). 臨床評価36(Suppl XXVI): 257-273, 2009.

前川 平：開発段階に応じたGMP規制 (stepwise approach, フェーズ1 GMP) の重要性—アカデミアにおけるトランスレーショナルリサーチ推進のために—. 臨床評価36(Suppl XXVI): 274, 2009.

長船健二、平家俊男、山中伸弥：超高速シークエンサーを用いた幹細胞研究の今後の展開. 実験医学 27:26-31, 2009.

土井拓、馬場志郎、鶏内伸二、平家俊男：肝疾患に伴う肺循環異常. 小児科 50: 1587-1594, 2009

山本 紗也香 清水則夫 他 眼部帯状疱疹の涙液中の水痘・帯状疱疹ウイルス DNA 量 臨床眼科 2009: 63: 707-710.

金倉 讓. 発作性夜間血色素尿症の病態と治療. 日本内科学会雑誌 98: 275-280, 2009

金倉 讓. 造血器腫瘍治療薬の作用と治療効果. 日本検査血液学会雑誌 10:425-426, 2009

金倉 讓. 造血細胞の分子シグナルと疾患—チロシンキナーゼを中心として—. 分子細胞治療 8:411-419, 2009

金倉 讓. PNH の診断と治療. 臨床血液 50:145-152, 2009

松村 到. 急性骨髄性白血病の治療. 臨床血液 50:65-76, 2009

松村 到, 金倉 讓. 造血器腫瘍におけるmiRNAの異常とその役割. Annual Review 血液 2009 (高久文磨, 溝口秀昭, 小宮山淳, 坂田洋一, 金倉 讓編), 中外医学社, 東京, 2009, pp110-116

松村 到, 金倉 讓. 遺伝子発現からみた急性白血病の予後. 血液・腫瘍科 58:8-13, 2009

松村 到, 金倉 讓. 慢性好酸球性白血病/

好酸球増加症候群における染色体・遺伝子異常. 血液・腫瘍科 58:146-151, 2009

松村 到, 金倉 讓. 過剰鉄と造血—生体内自由鉄とのかかわりをさぐる. 分子細胞治療 8:26-31, 2009

松村 到, 金倉 讓. MPDに対する新たな治療戦略. 細胞 41:20-23, 2009

松村 到, 金倉 讓. 血液製剤の種類と適応. 総合臨床 58:385-389, 2009

松村 到, 金倉 讓. CMLに対する新規チロシンキナーゼ阻害薬. 総合臨床 58:1708-1712, 2009

松村 到, 金倉 讓. 分子遺伝学的完全寛解が得られた時点でイマチニブを減量・中止することは可能か? EBM 血液疾患の治療 2010-2011 (金倉 讓, 木崎昌弘, 鈴木律朗, 神田善伸編), 中外医学社, 東京, 2009, pp191-195

松村 到, 金倉 讓. 肥満細胞症. 血液フロンティア 19:37-46, 2009

松村 到, 金倉 讓. Imatinib 耐性・不耐容の慢性骨髄性白血病に対する治療. 血液疾患エキスパート (松村 到, 高橋 聡, 宮崎泰司編), 中外医学社, 東京, 2009, pp214-228

松村 到, 金倉 讓. 造血の分子機構. 内科学書 (小川 聡編), 中山書店, 東京, 2009, pp8-9

松村 到, 赤司浩一, 薄井紀子, 神田善伸, 宮崎泰司. 慢性骨髄性白血病治療の現状と病態に基づいた今後の治療. Trends in Hematological Malignancies 1:8-17, 2009

水木満佐央, 金倉 讓. 慢性骨髄性白血病. 入門腫瘍内科学 (日本臨床腫瘍学会監修, 『入門腫瘍内科学』編集委員会), 篠原出版新社, 東京, 2009, pp244-246

水木満佐央, 金倉 讓. 肥満細胞症. WHO 分類第4版による白血病・リンパ系腫瘍の病態学 (押味和夫監修, 木崎昌弘, 田丸淳一編), 中外医学社, 東京, 2009, pp47-55

織谷健司, 金倉 讓. Bリンパ球初期分化と



制御機構. 臨床免疫・アレルギー科  
51:66-71, 2009

織谷健司, 金倉 讓. ダサチニブ (スプリセル). 腫瘍内科 4:79-84, 2009

柴山浩彦, 金倉 讓. ヘアリーセル白血病 (HCL). 造血器腫瘍アトラス (阿部達生編), 日本医事新報社, 東京, 2009, pp309-313

横田貴史, 織谷健司, 金倉 讓. 新たな造血幹細胞マーカーESAM. 血液・腫瘍科 59:209-216, 2009

田中宏和, 松村 到, 金倉 讓. 白血病幹細胞研究の動向. Biotherapy 23:364-370, 2009

鹿村真之, 伊藤仁也, 大隈一興, 関根暉彬. リンパ球活性化培養中の細胞表面抗原の経時的変化. Biotherapy 23 257-262 2009

## 2010

中畑龍俊: 造血因子と臨床応用. 臨床検査 (第54巻第6号) 623-629, 2010年6月

中畑龍俊: iPS細胞と遺伝性疾患 (特集 臨床遺伝学の進歩と日常診療. 遺伝性疾患の新しい治療と今後期待される治療研究) 日本医師会雑誌 (第139巻第3号) 632-634, 2010年6月

河井昌彦, 三宅史子, 岩永甲午郎, 松倉崇, 丹羽房子, 中畑龍俊: 早期新生児期のDICパラメータの出生体重・日齢に伴う変化についての検討. 日本産婦人科・新生児血液学会誌 (第19巻第2号) 33-36, 2010年10月

村松裕子, 木村晋也, 一戸辰夫, 芦原英司, 石川隆之, 前川 平, 内山 卓: 造血幹細胞移植における血縁ドナーのための専門外来. 日本輸血細胞治療学会雑誌, 56(1):68-71, 2010.

芦原英司, 前川 平: 悪性腫瘍に対するsiRNA療法. 最新RNAと疾患研究2009. 第3章 RNA研究から臨床へ. 中村義一 編. メディカルドゥ, 大阪: pp139-146, 2010.

金倉 讓, 松村 到 第11章 血液疾患 (1. 総論, 2. 赤血球異常, 3. 白血球異常) 口腔

外科学 (白砂兼光, 古郷幹彦編), 医歯薬出版株式会社, 東京, 2010, pp430-447

金倉 讓 骨髄増殖性疾患の概念 臨床検査 54:227-233, 2010

金倉 讓 総論: 白血病治療の進歩 -特集に寄せて- BIO Clinica 25:16-17, 2010

西小森隆太, 八角高裕, 平家俊男: 自己炎症性疾患の最近の進歩. Frontiers in Rheumatology&Clinical Immunology . 4:49-51, 2010

山本紗也香, 杉田 直, 堀江真太郎, 清水則夫, 森尾友宏, 望月 學 角膜炎を伴わない単純ヘルペス ウイルス1型虹彩毛様体炎の3例 あたらしい眼科 2010; 27: 252-255.

永井謙一, 橋本尚子, 伊藤仁也, 松下章子, 下地園子, 木村隆治, 井上大地, 森美奈子, 永井雄也, 田淵淑江, 柳田宗之, 高橋隆幸 非血縁子通津伊移植後の再発に対する臍帯血移植後に, 第1ドナーリンパ球による移植片対白血病効果が認められたTリンパ芽球形リンパ腫 臨床血液 第51巻 第6号別冊 2010

## 学会発表

### 2008

Nakahata T.: Proliferation and Differentiation of Various Stem Cells in vitro and in vivo. Advances in Neuroblastoma Research 2008 (国際神経芽腫学会), 特別講演, May 21-24 (23) Makuhari Messe International Conference Hall Chiba

中畑龍俊: iPS細胞を用いた今後の医療の可能性. 第15回八幡平造血セミナー, 特別講演, 9月6日 盛岡市 盛岡グランドホテル

中畑龍俊: iPS細胞などの幹細胞を用いた医療の将来. 第30回信州血液懇話会, 特別講演, 9月20日 長野市 ホテルメトロポリタン長野

中畑龍俊: iPS細胞などの幹細胞を用いた今後の医療. 第14回未熟児新生児医療研究会, 特別講演, 10月4日 京都市 京都テルサ

中畑龍俊：iPS細胞などの幹細胞をもちいた今後の医療。第14回小児H-SCT研究会、特別講演、11月7日 東京都千代田区 山の上ホテル

中畑龍俊：マスト細胞研究の過去・現在・未来。第45回日本小児アレルギー学会、特別講演、12月13-14日(13日)横浜市 パシフィコ横浜会議センター

中畑龍俊：小児科領域における幹細胞を用いた再生医療の現状と将来。第54回広島県小児科医会総会、招待講演、1月14日 広島市 広島グランドインテリジェントホテル

中畑龍俊：iPS細胞などの幹細胞を用いた今後の医療の可能性。第56回日本ウイルス学会学術集会、教育講演、10月26-28日(27日)岡山市 岡山コンベンションセンター

中畑龍俊、伊藤仁也、田中宏和、永井謙一：ex vivo増幅造血幹細胞を利用した臍帯血移植。五研究班合同公開シンポジウム 1月27日 東京都文京区 東京医科歯科大学湯島キャンパス

加藤格、梅田雄嗣、瓜生久美子、徳舛麻友、松原央、渡邊健一郎、足立壮一、中畑龍俊、阪本靖介、岡本晋弥、江川裕人、上本伸二：生体肝移植後再発した肝芽腫に対して自己末梢血管細胞移植を施行した小児2症例の検討。第30回日本造血幹細胞移植学会 2月29-3月1日(1日)大阪市 大阪国際会議場

赤川美絵、納富誠司郎、栗屋智就、加藤竹雄、依藤亨、中畑龍俊：乳児型Pompe病に対してrhGAA療法を行った1例。第21回近畿小児科学会 3月16日 大阪市 大阪国際会議場

神田健志、甲原貴子、赤川美絵、酒井秀政、松倉崇、水本洋、丹羽房子、河井昌彦、中畑龍俊：肺アスペルギルス症に対してミカファンギンが奏功した新生児例。第21回近畿小児科学会 3月16日 大阪市 大阪国際会議場

浅田大、長田加寿子、深尾大輔、加藤格、松原央、梅田雄嗣、渡邊健一郎、足立壮一、中畑龍俊：生体肝移植後に発症したPTLD(Burkitt like lymphoma)。第21回近

畿小児科学会 3月16日 大阪市 大阪国際会議場

西小森隆太、齋藤潤、酒井秀政、河合朋樹、平家俊男、中畑龍俊：全身性自己炎症症候群の病態とマネジメント。第52回日本リウマチ学会総会 4月20-23日(23日)札幌市 札幌市教育文化会館

真部淳、土田昌宏、在家裕司、増永敦子、菅原幸子、吉見礼美、伊藤雅文、辻浩一郎、菊池陽、中畑龍俊：小児MDSのセントラルレビュー：453例の解析。第111回日本小児科学会学術集会 4月25-27日(26日) 東京都千代田区 東京国際フォーラム

大封智雄、馬場志郎、長井静世、土井拓、岡本晋弥、依藤亨、加古伸雄、増江道哉、中畑龍俊：PETと選択的Ca負荷試験で病変部同定し、最小切除範囲で治療した先天性高インスリン血症症例。第111回日本小児科学会学術集会 4月25-27日(26日) 東京都千代田区 東京国際フォーラム

赤川美絵、加藤格、梅田雄嗣、中畑龍俊：小児C型慢性肝炎に対するペグインターフェロン投与中に乾癬の増悪を認めた13歳女児例。第111回日本小児科学会学術集会 4月25-27日(26日) 東京都千代田区 東京国際フォーラム

由井理洋、足立壮一、渡部基信、水嶋康浩、平海良美、松原央、渡邊健一郎、中畑龍俊：トポイソメラーゼI阻害剤による骨肉腫細胞株の転移抑制効果。第111回日本小児科学会学術集会 東京4月25-27日(26日) 東京都千代田区 東京国際フォーラム

栗屋智就、加藤竹雄、濱本奈央、梅田雄嗣、平松英文、渡邊健一郎、足立壮一、中畑龍俊、重松陽介：骨髄非破壊的臍帯血により良好な経過を得ている副腎白質ジストロフィーの進行例。第111回日本小児科学会学術集会 4月25-27日(27日) 東京都千代田区 東京国際フォーラム

瓜生久美子、梅田雄嗣、加藤格、徳舛麻友、松原央、渡邊健一郎、足立壮一、中畑龍俊：青年期に複数回の大量化学療法を施行した再発肺細胞腫3症例の検討。第111回日本小児科学会学術集会 4月25-27日(27日) 東京都千代田区 東京国際フォーラム