

図 5

第 2 回目手術（活性化椎間板髄核細胞移植術）

X 線透視装置で観察しながら、局所麻酔下に固定隣接椎間板内に
活性化椎間板髄核細胞を移植する

第2回目手術

活性化された髄核細胞の移植



図 6

共培養直前の椎間板髄核細胞（4日間の単培養後）

髄核細胞（共培養直前）

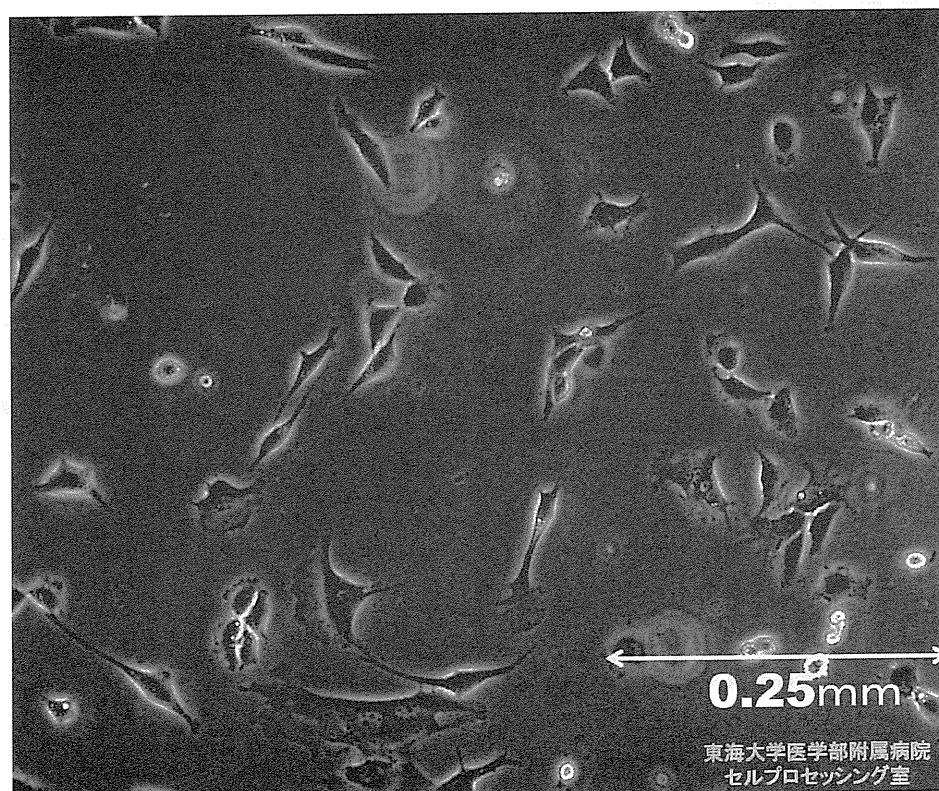


図7

共培養直前の骨髄間葉系幹細胞（4日間の単培養後）

骨髄間葉系幹細胞（共培養直前）

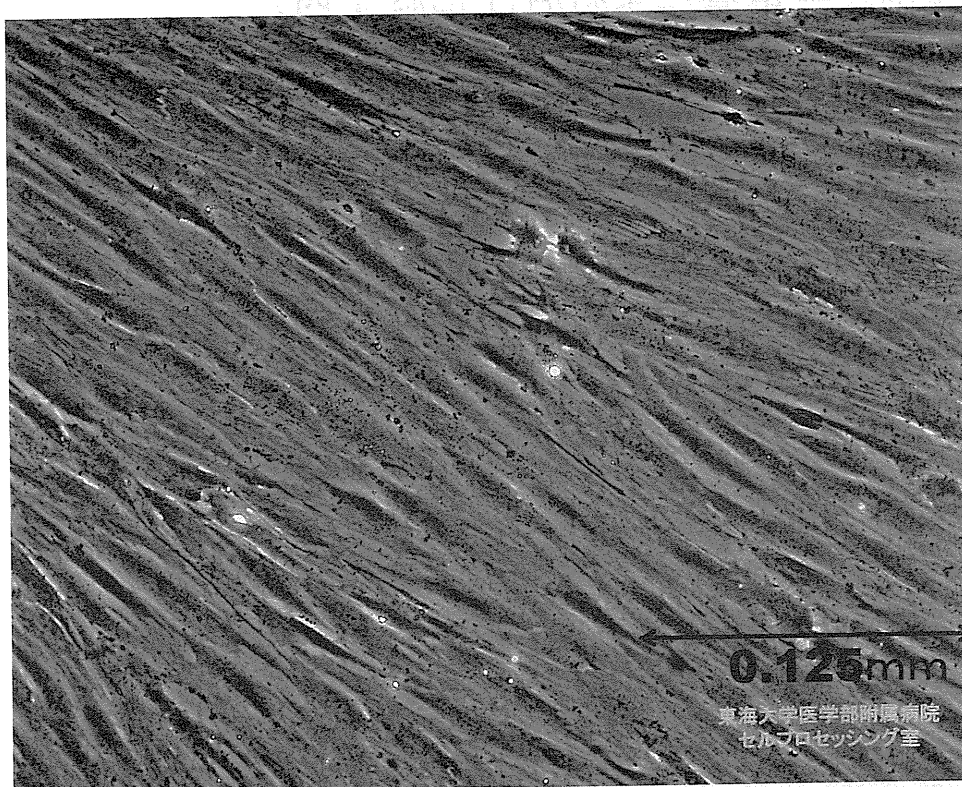
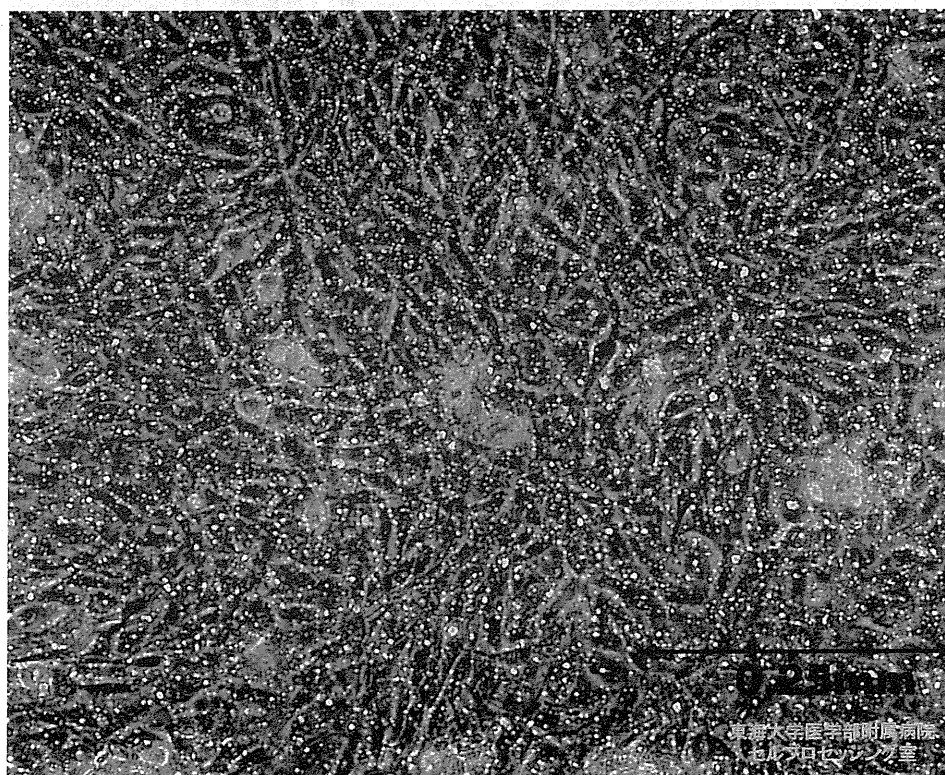


図 8

骨髓間葉系幹細胞との細胞間接着を伴う共培養（3日間）が終了した
活性化椎間板髄核細胞 細胞数の著しい増加が観察される

髄核細胞（共培養による活性化終了時）



ID	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10 *	11
	2009.02.10	2009.02.17	2009.04.21	2009.06.23	2009.07.07	2009.08.18	2010.03.02	2010.06.22	2010.08.10	2011.03.29	2011.09.20
検査項目											
HBV	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
HIV-1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
HTLV-1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Parvo.B19NS1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Parvo.B19VP2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
HSV	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
VZV	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CMV	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
EBV	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
HHV6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
HHV7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
HHV8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
HCV	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
HIV-1(RNA)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
HTLV-1(RNA)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
結果受け取り日	2009.02.18	2009.02.18	009.04.27	2009.07.06	2009.07.08	2009.08.19	2010.03.08	2010.06.24	2010.08.11	2011.04.30	2011.09.26
エンドキシン(比濁法)	0.004865EU/ml未満	0.00858EU/ml未満	0.004491EU/ml未満	0.003725EU/ml未満	0.00319EU/ml未満	0.002291EU/ml未満	0.004366EU/ml未満	0.004822EU/ml未満	0.004562EU/ml未満	0.006737EU/ml未満	0.007411EU/ml未満
結果受け取り日	2009.02.10	2009.02.18	2009.04.21	2009.06.26	2009.07.08	2009.08.18	2010.03.02	2010.06.22	2010.08.10	2010.03.29	2011.09.20
マイコプラズマ(RT-PCR)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
結果受け取り日	2009.02.10	2009.02.18	2009.04.21	2009.06.26	2009.07.08	2009.08.19	2010.03.03	2010.06.24	2010.08.11	201.04.11	2011.09.26
マイコプラズマ(nested-PCR)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
結果受け取り日	2009.03.12	2009.03.17	2009.05.21	2009.06.26	2009.07.08	2009.08.21	2010.03.05	2010.06.23	2010.08.11	2011.03.30	2011.09.22
マイコプラズマ(培養法)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
結果受け取り日	2009.03.12	2009.03.17	2009.05.21	2009.07.21	2009.08.04	2009.09.15	2010.03.30	2010.07.20	2010.09.08	2011.04.26	2011.10.18
細菌培養(好気性)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
細菌培養(嫌気性)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
結果受け取り日	2009.02.17	2009.02.25	2009.04.30	2009.07.01	2009.07.14	2009.09.01	2010.03.10	2010.06.30	2010.08.18	2011.04.06	2011.09.30

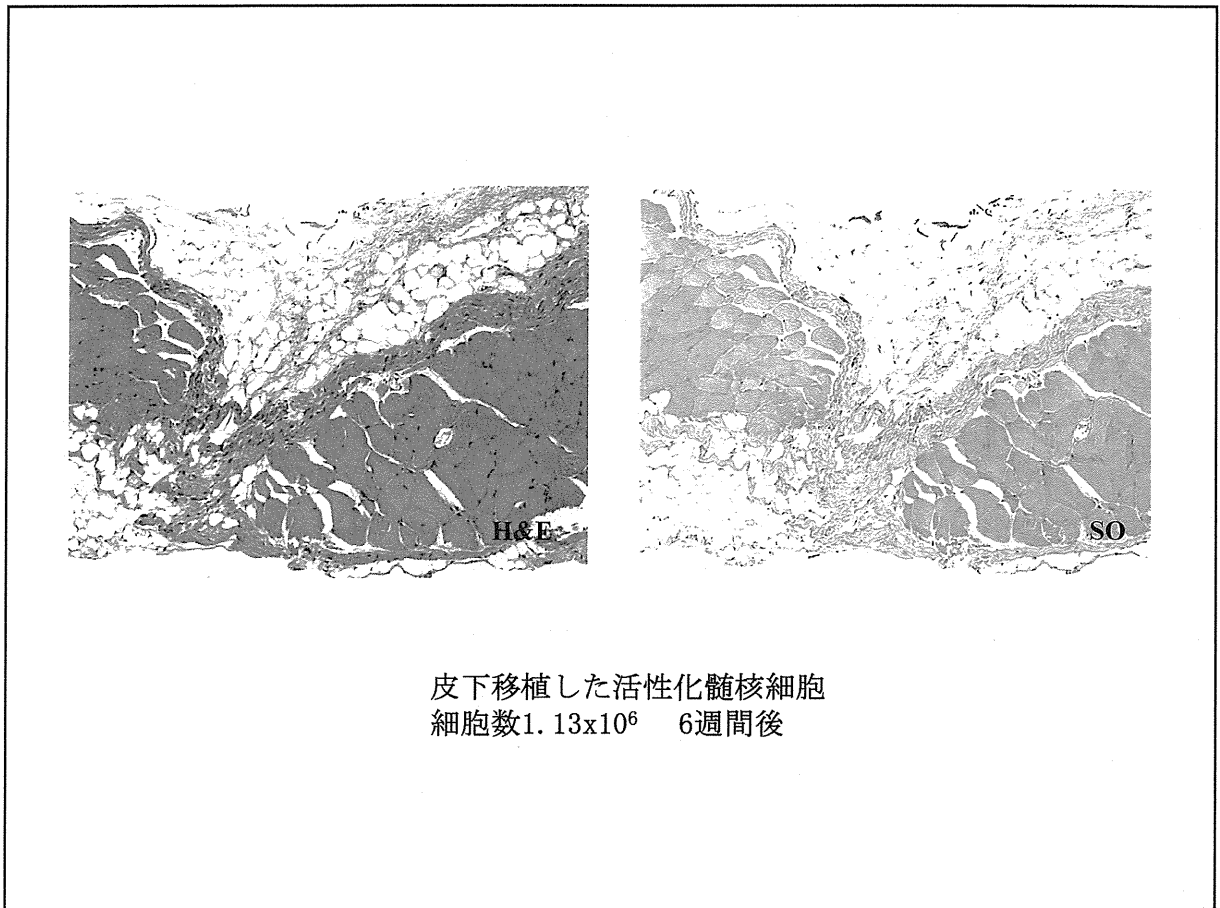
* Case 10

東日本大震災後の計画的停電の影響により培養期間中に短時間ながら停電があったため、患者への活性化髄核細胞の移植を中止した、

表1 髄核細胞活性化工程における品質管理のデータ

図9

超免疫不全NOGマウスの皮下に移植された活性化髓核細胞（6週後）
腫瘍形成は全く認められない。



資料：分担研究報告書

厚生労働科学研究費補助金(再生医療実用化研究事業)
「自家骨髄間葉系幹細胞により活性化された椎間板髄核細胞を用いた椎間板再生研究
における細胞、組織の安全性、品質確保に関する技術開発」
(資料：分担研究報告書-1)

分担研究課題「椎間板髄核細胞と骨髄間葉系幹細胞の管理（分離、調整）に関する研究」

研究分担者 加藤 俊一 東海大学医学部基盤診療学系再生医療科学・教授

研究協力者 中村 嘉彦 東海大学医学部付属病院セルプロセッシング室・技師

研究要旨：

東海大学医学部では整形外科持田讓治教授らのグループにより開発された椎間板再生技術を安全かつ効果的に臨床応用するために、学内のプロジェクト研究チームによる総合的な研究体制が構築され、当初の目標どおりの臨床研究を実施することができた。

本分担研究においては、適格性基準に合致し、本研究に参加する同意書が得られて椎間板髄核細胞の体外増殖培養が実施された 11 例における採取細胞数、培養後の細胞数、投与細胞数などについて検討したが、1 例において東日本大震災後の計画停電による影響で投与を中止したため、10 例において研究計画書どおりに完了することができた。

A. 研究目的

椎間板再生医療プロジェクトの中で、体外培養を行う椎間板髄核細胞と骨髄間葉系幹細胞の品質管理を行い、安全性と有効性を科学的に検証することを目的とした。

B. 研究方法

整形外科の持田讓治教授・酒井大輔講師を中心とするグループが椎間板の再生に関する基礎的研究を行い、骨髄間葉系細胞（MSC）と髄核細胞を隔膜共培養する形の細胞培養系を開発した。

平成 21 年 2 月～23 年 9 月までの期間に、適格性基準を満たし、本研究への参加同意が得られた 11 例において、椎間板髄核と骨髄の採取を行い、プロトコールに沿って自己髄核細胞の体外培養を行った。

なお、同意が得られて髄核細胞の体外培養が行われたものの、東日本大震災後の計画的停電の影響により培養期間中に短時間ながら停電があった症例では髄核細胞を自家移植できなかつたため、その症例におけるデータは参考データとした。

<倫理的事項>

本研究は国の定めるヒト幹細胞の臨床研究に該当することから、「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」（平成 18 年 7 月制定）に則り、また動物実験に関しては平成 17 年改正の動物愛護法に基づき適正な実験を行った。

C. 研究結果

1. 採取髄核量

採取された髄核の重量は 3.6～11.9g（平均 7.92g、中央値 8.25g）であった。（*非投与例 5.9g）

2. 培養前分散後髄核細胞数

採取された髄核を酵素処理にて分散し、得られた髄核細胞数は 0.71～3.42x10⁶ 個（平均 1.27、中央値 1.03）であった。（*0.33）

3. 培養前分散後髄核細胞生存率

上記髄核細胞の生存率（viability）は 71.9～92.5%（平均 85.3、中央値 86.7）であった。（*91.7%）

4. 培養 5 日目髄核細胞数

培養 5 日目の髄核細胞数は 1.25～4.88 x10⁶ 個（平均 2.29、中央値 2.00）であった。

(*1.00)

5. 培養5日目髄核細胞生細胞率
上記髄核細胞の生細胞率 (viability) は 84.6~94.9% (平均 90.7、中央値 91.5) であった。(*95.0%)
6. 培養5日目細胞増加率
培養5日目の髄核細胞の増加率は 1.34~3.29倍 (平均 2.29、中央値 2.01) であった。(*3.03)
7. 培養5日目骨髄間葉系細胞数
培養5日目の骨髄間葉系細胞数は $1.15 \sim 4.88 \times 10^6$ 個 (平均 2.24、中央値 2.07) であった。(*0.85)
8. 培養8日目髄核細胞数
培養8日目の髄核細胞数は $2.48 \sim 11.8 \times 10^6$ 個 (平均 4.78、中央値 3.19) であった。(*2.68)
9. 培養8日目髄核細胞生細胞率
培養8日目の髄核細胞の生細胞率は 90.6~99.0% (平均 96.1、中央値 96.6) であった。(*92.6%)
10. 培養8日目髄核細胞増加率
培養8日目の髄核細胞の増加率は 2.80~6.29倍 (平均 5.08、中央値 5.23) であった。(*8.12)
11. 保存細胞数
後日の検討用に冷凍保存された細胞数は $0.14 \sim 8.1 \times 10^6$ 個 (平均 2.36、中央値 1.49) であった。(*2.18)
12. 投与細胞数
10例のすべてにおいて 1.0×10^6 個の培養髄核細胞が投与された。

D. 結論

研究計画書に沿い GMP 基準に準じて実施している椎間板再生医療プロジェクトにおける細胞採取、処理、培養の結果について報告した。

11例のすべてにおいて計画書どおりの採取、処理、培養を行い、10例において投与を行うことができたが、1例で東日本大震災後の計画停電による影響で投与を中止した。

細胞の安全性や機能評価については他の分担研究者の報告に委ねるが、いずれも計画書どおりに実施することができている。

F. 健康危害情報

本研究による健康危害情報はなかった。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Oda M, Isoyama K, Ito E, Inoue M, Tsuchida M, Kigasawa H, Kato K, Kato S. Survival after cord blood transplantation from unrelated donor as a second hematopoietic stem cell transplantation for recurrent pediatric acute myeloid leukemia. *Int J Hematol.* 2009 Apr;89(3):374-82.
2. Yazaki M, Atsuta Y, Kato K, Kato S, Taniguchi S, Takahashi S, Ogawa H, Kouzai Y, Kobayashi T, Inoue M, Kobayashi R, Nagamura-Inoue T, Azuma H, Takanashi M, Kai S, Nakabayashi M, Saito H; Japan Cord Blood Bank Network. Incidence and risk factors of early bacterial infections after unrelated cord blood transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2009 Apr;15(4):439-46.
3. Isoyama K, Oda M, Kato K, Nagamura-Inoue T, Kai S, Kigasawa H, Kobayashi R, Mimaya J, Inoue M, Kikuchi A, Kato S. Long-term outcome of cord blood transplantation from unrelated donors as an initial transplantation procedure for children with AML in Japan. *Bone Marrow Transplant.* 2010 Jan;45(1):69-77.
4. Kudo K, Ohga S, Morimoto A, Ishida Y, Suzuki N, Hasegawa D, Nagatoshi Y, Kato S, Ishii E. Improved outcome of refractory Langerhans cell histiocytosis in children with hematopoietic stem cell transplantation in Japan. *Bone Marrow Transplant.* 2010 May;45(5):901-6.
5. Yagasaki H, Kojima S, Yabe H, Kato K, Kigasawa H, Sakamaki H, Tsuchida M, Kato S, Kawase T, Muramatsu H, Morishima Y, Kodera Y. Tacrolimus/Methotrexate versus cyclosporine/methotrexate as graft-versus-host disease prophylaxis in patients with severe aplastic anemia who received bone marrow transplantation from unrelated donors: results of matched pair analysis. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2009 Dec;15(12):1603-8.
6. Ohga S, Kudo K, Ishii E, Honjo S, Morimoto A, Osugi Y, Sawada A, Inoue M, Tabuchi K, Suzuki N, Ishida Y, Imashuku S, Kato S, Hara T. Hematopoietic stem cell transplantation for familial hemophagocytic lymphohistiocytosis and Epstein-Barr virus-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis in Japan. *Pediatr Blood Cancer.* 2010 Feb;54(2):299-306.
7. Yabe H, Koike T, Shimizu T, Ishiguro H, Morimoto T, Hyodo H, Akiba T, Kato S, Yabe M. Natural pregnancy and delivery after unrelated

- bone marrow transplantation using fludarabine-based regimen in a Fanconi anemia patient. *Int J Hematol.* 2010 Mar;91(2):350-1.
8. Oshima K, Hanada R, Kobayashi R, Kato K, Nagatoshi Y, Tabuchi K, Kato S; for the Hematopoietic Stem Cell Transplantation Committee of the Japanese Society of Pediatric Hematology. Hematopoietic stem cell transplantation in patients with severe congenital neutropenia: An analysis of 18 Japanese cases. *Pediatr Transplant.* 2010 Aug;14(5):657-63.
 9. Yabe H, Yabe M, Koike T, Shimizu T, Morimoto T, Kato S. Rapid improvement of life-threatening capillary leak syndrome after stem cell transplantation by bevacizumab. *Blood.* 2010 Apr 1;115(13):2723-4.
 10. Hishizawa M, Kanda J, Utsunomiya A, Taniguchi S, Eto T, Moriuchi Y, Tanosaki R, Kawano F, Miyazaki Y, Masuda M, Nagafuji K, Hara M, Takanashi M, Kai S, Atsuta Y, Suzuki R, Kawase T, Matsuo K, Nagamura-Inoue T, Kato S, Sakamaki H, Morishima Y, Okamura J, Ichinohe T, Uchiyama T. Transplantation of allogeneic hematopoietic stem cells for adult T-cell leukemia: a nationwide retrospective study. *Blood.* 2010 Aug 26, 116(8):1369-76.
 11. Tomita Y, Yasuda Y, Hyodo H, Koike T, Shimizu T, Morimoto T, Hattori K, Matsumoto M, Inoue H, Yabe H, Yabe M, Shinohara O, Kojima S, Minemura T, Kato S. High incidence of fatty liver and insulin resistance in long-term adult survivors of childhood stem cell transplant. *Bone Marrow Transplant.* 2011 Mar;46(3):416-25.
 12. Takanashi M, Atsuta Y, Fujiwara K, Kodo H, Kai S, Sato H, Kohsaki M, Azuma H, Tanaka H, Ogawa A, Nakajima K, Kato S. The impact of anti-HLA antibodies on unrelated cord blood transplantations. *Blood.* 2010 Oct 14;116(15):2839-46.
 13. Masuda H, Alev C, Akimaru H, Ito R, Shizuno T, Kobori M, Horii M, Ishihara T, Isobe K, Isozaki M, Itoh J, Itoh Y, Okada Y, McIntyre BA, Kato S, Asahra t. Methodological development of a clonogenic assay to determine progenitor cell potential. *Circ Res.* 2011 Jun 24;109(1):20-37.
 14. 渡辺修大、足立壮一、堀部敬三、永利義久、加藤剛二、田渕 健、吉見礼美、加藤俊一、矢部普正. 日本小児白血病リンパ腫研究グループ(JPLSG)SCT 委員会 小児急性骨髄性白血病第一寛解期での HLA 一致同胞間骨髄移植における GVHD 予防 (MTX 単独 vs. CyA 群) の比較 *日本小児血液学会雑誌* 2010;24(1) : 32-36.
 15. Yabe M, Morimoto T, Shimizu T, Arakawa S, Kato S, Yabe H. Therapy-related myelodysplastic syndrome of recipient origin in a juvenile myelomonocytic leukemia patient 17 years after allogeneic BMT. *Bone Marrow Transplant.* 2011 Jul;46(7):1023-5.
 16. Yabe M, Shimizu T, Morimoto T, Koike T, Takakura H, Suganuma E, Sugiyama N, Kato S, Yabe H. Alternative donor marrow transplantation in children with aplastic anemia using low-dose irradiation and fludarabine-based conditioning. *Bone Marrow Transplant.* 2011 Aug;46(8):1148-50.
 17. Morio T, Atsuta Y, Tomizawa D, Nagamura-Inoue T, Kato K, Ariga T, Kawa K, Koike K, Tauchi H, Kajiwara M, Hara T, Kato S. Outcome of unrelated umbilical cord blood transplantation in 88 patients with primary immunodeficiency in Japan. *Brit J Haematol.* 2011 Aug; 154(3):363-72.
 18. Kato K, Yoshimi A, Ito E, Oki K, Hara J, Nagatoshi Y, Kikuchi A, Kobayashi R, Nagamura-Inoue T, Kai S, Azuma H, Takanashi M, Isoyama K, Kato S; for the Japan Cord Blood Bank Network. Cord Blood Transplantation from Unrelated Donors for Children with Acute Lymphoblastic Leukemia in Japan: The Impact of Methotrexate on Clinical Outcomes. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2011 Dec; 17(12):1814-21.
 19. Yahata T, Takanashi T, Muguruma Y, Ibrahim AA, Matsuzawa H, Uno T, Sheng Y, Onizuka M, Ito M, Kato S, Ando K. Accumulation of oxidative DNA damage restricts the self-renewal capacity of human hematopoietic stem cells. *Blood.* 2011 Sep 15; 118(11):2941-50.
 20. Yagasaki H, Kojima S, Yabe H, Kato K, Kigasawa H, Sakamaki H, Tsuchida M, Kato S, Kawase T, Morishima Y, Koderu Y; Japan Marrow Donor Program. Acceptable HLA-mismatching in unrelated donor bone marrow transplantation for patients with acquired severe aplastic anemia. *Blood.* 2011 Sep 15;118(11):3186-90..
 21. Kawaguchi AT, Aokawa J, Yamada Y, Yoshida F, Kato S, Kametani Y. Effect of

- Liposome-Encapsulated Hemoglobin on Antigen-Presenting Cells in Mice. *Artif Organs*. 2011 Jul 25. doi: 10.1111/j.1525-1594.
22. Okada M, Yoshihara S, Taniguchi K, Kaida K, Ikegame K, Kato R, Tamaki H, Inoue T, Soma T, Kai S, Kato S, Ogawa H. Intrabone Marrow Transplantation of Unwashed Cord Blood Using Reduced-Intensity Conditioning Treatment: A Phase I Study. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2011 Aug 23. [Epub ahead of print]
 23. Atsuta Y, Morishima Y, Suzuki R, Nagamura-Inoue T, Taniguchi S, Takahashi S, Kai S, Sakamaki H, Kouzai Y, Kobayashi N, Fukuda T, Azuma H, Takanashi M, Mori T, Tsuchida M, Kawase T, Kawa K, Kodera Y, Kato S; for the Japan Marrow Donor Program and the Japan Cord Blood Bank Network. Comparison of Unrelated Cord Blood Transplantation and HLA-Mismatched Unrelated Bone Marrow Transplantation for Adults with Leukemia. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2011 Oct 18. [Epub ahead of print]
 24. Asano T, Kogawa K, Morimoto A, Ishida Y, Suzuki N, Ohga S, Kudo K, Ohta S, Wakiguchi H, Tabuchi K, Kato S, Ishii E. Hemophagocytic lymphohistiocytosis after hematopoietic stem cell transplantation in children: A nationwide survey in Japan. *Pediatr Blood Cancer*. 2011 Oct 28. doi: 10.1002/pbc.23384. [Epub ahead of print]
 25. Koike T, Yanagimachi N, Ishiguro H, Yabe H, Yabe M, Morimoto T, Shimizu T, Takakura H, Kato S. High Incidence of Radiation-Induced Cavernous Hemangioma in Long-Term Survivors Who Underwent Hematopoietic Stem Cell Transplantation with Radiation Therapy during Childhood or Adolescence. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2011 Dec 23. [Epub ahead of print]
 26. Kanda J, Hishizawa M, Utsunomiya A, Taniguchi S, Eto T, Moriuchi Y, Tanosaki R, Kawano F, Miyazaki Y, Masuda M, Nagafuji K, Hara M, Takanashi M, Kai S, Atsuta Y, Suzuki R, Kawase T, Matsuo K, Nagamura-Inoue T, Kato S, Sakamaki H, Morishima Y, Okamura J, Ichinohe T, Uchiyama T. Impact of graft-versus-host disease on outcomes after allogeneic hematopoietic cell transplantation for adult T-cell leukemia: a retrospective cohort study. *Blood*. 2012 Jan 10. [Epub ahead of print]
 27. Hyodo H, Ishiguro H, Tomita Y, Takakura H, Koike T, Shimizu T, Morimoto T, Yabe H, Yabe M, Kojima S, Shiraishi K, Minemura T, Kato S. Decreased serum testosterone levels in long-term adult survivors with fatty liver after childhood stem cell transplant. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2012 Jan 14 [Epub ahead of print]
 28. Matsumura T, Kami M, Yamaguchi T, Yuji K, Kusumi E, Taniguchi S, Takahashi S, Okada M, Sakamaki H, Azuma H, Takanashi M, Kodo H, Kai S, Inoue-Nagamura T, Kato K, Kato S. Allogeneic cord blood transplantation for adult acute lymphoblastic leukemia: retrospective survey involving 256 patients in Japan. *Allogeneic cord blood transplantation for adult acute lymphoblastic leukemia: retrospective survey involving 256 patients in Japan. Leukemia*. 2012 Jan 17. doi: 10.1038/leu.2012.11. [Epub ahead of print]
 29. Yabe M, Shimizu T, Morimoto T, Koike T, Takakura H, Tsukamoto H, Muroi K, Oshima K, Asami K, Takata M, Yamashita T, Kato S, Yabe H. Matched sibling donor stem cell transplantation for Fanconi anemia patients with T-cell somatic mosaicism. *Pediatr Transplant*. 2012 Mar 8. doi: 10.1111/j.1399-3046.2012.01669.x. [Epub ahead of print]
2. 著書
 1. よくわかる造血細胞移植コーディネート. 医薬ジャーナル社 2010 pp1-2 (編集)
 2. よくわかる小児の造血細胞移植 医薬ジャーナル社 2010 (監修および共著)
 3. 加藤俊一. 造血細胞移植. 衛藤義勝編: ライソゾーム病. 診断と治療社、東京、pp93-99, 2011.
 4. 加藤俊一. ムコ多糖症に対する造血幹細胞移植の現状と課題(骨髄、臍帯血、末梢血). 折居忠夫編: ムコ多糖症 UPDATE. イーエヌメディアックス、東京、p p 212-218, 2011.
 3. 学会発表
 1. Kamiya S, Yonezawa H, Woo T, Kurata S, Zaman C, Hanawa T, Kato S, Osaki T. Biofilm formation by *Helicobacter pylori* and its pathogenesis.

- 33rd International Congress on Microbial Ecology and Disease. Sep. 6-10, 2010, Athen, Greece.
2. Kato S. Cord blood banking and cord blood transplantation in children in Japan. 22nd International Congress of Pediatrics. Oct.14-18, 2010, Tehran, Iran.
 3. Koike T, Yanagimachi N, Yabe H, Yabe M, Morimoto T, Shimizu T, Ishiguro H, Takakura H, Kato S. High incidence of radiation induced cavernous hemangioma in long term survivors who underwent BMT with radiation therapy during childhood or adolescence. 2011 BMT Tandem Meeting. Feb. 17-21, 2011, Honolulu, USA.
 4. Koike T, Yabe H, Morimoto T, Shimizu T, Koike T, Takakura H, Kato S and Yabe M. Recovery of gonadal function after allogeneic stem cell transplantation for Fanconi anemia. 22nd Annual Fanconi Anemia Research Fund and Scientific Symposium. Oct. 2010, USA.
 5. Yabe H, Morimoto T, Shimizu T, Koike T, Takakura H, Kato S and Yabe M. Long-term follow-up after unrelated bone marrow transplantation in a patient with dyskeratosis congenita. 22nd Annual Fanconi Anemia Research Fund Scientific Symposium. Oct. 2010, USA.
 6. Yabe H, Yabe M, Kato S, Koike T, Takakura H, Hyodo H, Tomita Y, Ishiguro H, Shimizu T, Morimoto T and Akiba T. Recovery of gonadal function after allogeneic stem cell transplantation for aplastic anemia. 第72回日本血液学会総会、2010年9月、横浜.
 7. 加藤俊一. 造血幹細胞移植の現状と展望. 第28回日本医学会総会. 東京. 2011. 4.
 8. Kato S, et al. High incidence of radiation-induced cavernous hemangioma (RICH) in long-term survivors who underwent blood and marrow transplantation (BMT) in childhood. ES LCCC2011, Amsterdam, Sept, 2011.
 9. Kato S, et al. Early and quantitative assay to detect HHV-6 viremia and evaluation of cellular response specific against HHV-6 after hematopoietic stem cell transplantation. The Joint Meeting of The XVIIth International Symposium on Gnotobiology and The XXXIVth Congress of the Society for Microbial Ecology and Disease, Yokohama, Nov, 2011.
- H. 知的財産権の出願・登録状況
1. 特許取得 なし
 2. 実用新案登録 なし
 3. その他 なし

厚生労働科学研究費補助金（再生医療実用化研究事業）
「自家骨髄間葉系幹細胞により活性化された椎間板髄核細胞を用いた椎間板再生研究
における細胞、組織の安全性、品質確保に関する技術開発」
(資料：分担研究報告書-2)

分担研究課題：椎間板再生臨床研究に寄与するデータベース構築に関する研究

研究分担者 小林 広幸 東海大学医学部基盤診療学系臨床薬理学・教授

研究要旨：

椎間板再生臨床研究における細胞、組織の安全性確保に役立つデータベースとして web データ収集システムである REDCap (Research Electronic Data Capture)の開発を進めた。開発段階において、外部と遮断された仮想ネットワーク上で臨床研究コーディネータに試用させて各種機能の確認し、本格的な運用に備えてセキュリティ管理についても検討した。

A. 研究目的

質の高い臨床研究を実施する上で、データ管理が重要である。臨床研究においてデータ管理の関わりは、臨床研究の計画時から計画書作成への参画、調査票の作成、データのコード化や入力方法の検討、データベースの設計・管理、解析のためのデータセットの作成、など多岐に渡る。本研究では、椎間板再生臨床研究における細胞、組織の安全性確保に寄与するデータベースの構築を目指す。

B. 研究方法

東海大学と Vanderbilt 大学と共同開発を進めている REDCap (Research Electronic Data Capture) は、臨床研究に特化した web データ収集システムで、このシステム1つで多くの臨床研究に対応できる。データ入力時の即時データチェック機能や、ダブルエントリーシステム、外れ値のチェックを含めたデータクリーナ機能、SAS・R・STATA・SPSS といった主要な統計ソフトパッケージに対応した形式でデータを出力など、臨床研究をスムーズに進めるための機能を持っている。このシステムを椎間板再生臨床研究用に最適化する。さらに、このような web データ収集システムが椎間板再生臨床研究で活用できるかどうか、外部と遮断された仮想ネットワーク上で臨床研究コーディネータに試用させて各種機能の確認し、本格的な運用に備えてセキュリティ管理についても検討する。

(倫理面への配慮)

実際の臨床研究データは個人情報を連結可能匿名化し、対応表は研究代表者が施錠された保管庫で管理している。

C. 研究結果

REDCap システムを椎間板再生臨床研究用に最適化した。最適化された REDCap システムを実際に臨床研究のコーディネータに携わっている CRC に試用させて各種機能の検討を行った。具体的には、個人情報を除き匿名化された臨床情報のコピーを REDCap システムに入力し、以下の機能を確認した。

- ・ ID と Password を付与した複数人による同時入力、ダブルエントリーによる整合性チェック機構、外れ値のチェックを含めたデータクリーナ機能、データ出力、基本的な統計解析への利用。
- ・ データベースのアクセス制限では、ログイン時のユーザー名とパスワードでの制限はもちろん、ユーザーごとに権限の設定、各機能の使用や、データの入力閲覧に制限が掛けられることを確認。
- ・ 生年月日や受診年月日など個人情報が含まれている場合には、ユーザーによって、個人情報をダウンロードできないといった設定も可能であることを確認。

D. 考察

年月日の情報は、自動的にインターバルに変換することも可能である。その他に、登録した症例に対してアクセス制限も可能で、将来の多施設共同研究などで他の施設のデータにアクセスさせないといった設定も可能である。今後、本格的な運用におけるセキュリティ管理では、ソフトウェアのセキュリティに加えて、ファイアウォールやバックアップといった、サーバーに対するセキュリティも重要である。

REDCap のメリットとして、1. ほぼ無料ですぐに web データ収集システムが導入できる、2. 導入すれば、多くの臨床研究をサポートできる、3. 試験終了後、シームレスに統計解析が出来る、などが挙げられる。一方、デメリットとして、1. サーバーの購入、管理が必要、2. ユーザーに対するサポート・教育が必要、3. セキュリティはサーバーの管理方法次第、などが挙げられる。

E. 結論

REDCap は、椎間板再生臨床研究における細胞、組織の安全性確保に寄与するデータベースとして、セキュリティを確保した上で運用することが可能である。

G. 研究発表

1. 論文発表 なし
2. 学会発表

1. 小林広幸. REDCap コンソーシアムプロジェクト-国際共同開発型臨床研究 EDC システム-, 第 29 回医療情報学連合大会、2009 年 11 月 21 日。
医療情報とその社会的共有、日本記号学会第 29 回大会「いのちとからだのコミュニケーション-医療と記号学との対話」、2009 年 5 月 17 日。
2. 小林広幸. データベース構築の意義と課題、第 36 回日本熱傷学会総会、2010 年 6 月 4 日。
3. 小林広幸. 教育講演・臨床研究における多変量解析の活用、第 36 回日本熱傷学会総会、2010 年 6 月 4 日。
4. 小林広幸. 招待講演・臨床研究における多変量解析の構築、日本麻酔科学会第 57 回学術集会、2010 年 6 月 3 日。
5. 小林広幸. ランチョンセミナー・臨床研究の枠組みと進め方、第 25 回日本整形外科学会基礎学術集会、2010 年 10 月 15 日。

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

厚生労働科学研究費補助金（再生医療実用化研究事業）
「自家骨髄間葉系幹細胞により活性化された椎間板髄核細胞を用いた椎間板再生研究
における細胞、組織の安全性、品質確保に関する技術開発」
（資料：分担研究報告書-3）

分担研究課題：ヒト骨髄未分化細胞の細胞処理研究と、その技術応用研究

研究分担者 浅原孝之 東海大学医学部基盤診療学系再生医療科学・教授

研究要旨： 21、22年度において、ヒト末梢血、骨髄、臍帯血に含まれる純化血管幹細胞の生体外無血清分化増幅培養法を開発し、本培養による血管再生能、組織機能修復能の増強を確認した。この技法を基盤にして、23年度は、成体末梢血中の非純化血管幹細胞（単核球）生体外無血清分化増幅培養を行い、培養前非純化血管幹細胞（培養前単核球）に比較して培養後単核球の血管再生能の増強作用を確認した。これは、自家骨髄間葉系幹細胞との共培養による髄核細胞活性化共培養法の無血清培養化への技術的基盤概念を提供する。

A. 研究目的

純化血管幹細胞、非純化細胞（単核球）の生体外増幅培養法による細胞活性化の比較を行い、共培養髄核細胞活性化における無血清培養化への技術的基盤概念の確立を目指す。

B. 方法及びC. 結果

21-22年度；臍帯血単核球を採取し、抗体磁気ビーズ法により、純化血管幹細胞（CD133 陽性細胞）、を増殖因子添加無血清培養（VEGF, IL-6, SCF, TPO, Flt-3 ligand）を用いて7日間培養を行うと、純化血管幹細胞からの分化型血管前駆細胞の増幅が、非培養純化血管幹細胞に比較して増加した。また、ラット心筋梗塞モデルに移植したところ、培養純化血管幹細胞移植群において、虚血心筋組織機能の回復効果が有意に移植細胞数依存性に増強した。

23年度；さらに、前年度までに開発した、上記の純化血管幹細胞の無血清分化増幅培養法を基盤にして、末梢血非純化血管幹細胞（単核球）の血管幹細胞無血清分化増幅培養法の開発を行った。単核球では0.3倍程度に細胞数が減少した。しかしながら、血管幹細胞の分化動態解析法（コロニー形成アッセイ）による検討の結果、培養前非純化血管幹細胞（単核球）に比較して培養後単核球のコロニー形成能が20-30倍に上昇した。

また、*in vivo* 虚血モデルへの移植実験による血管再生能の血流評価では、培養前単核球に比較して、有意に培養後単核球の血流改善効果、虚血下肢組織機能改善効果が認められた。

D. 考察

当該研究では、基礎的動物モデル研究では間葉系幹細胞培養及び共培養においてウシ血清を用い、また臨床応用段階で患者自己血清を用いており、基礎的データ及び臨床応用データにおける整合性及び移植治療効果の安定化を考慮すると培養系の無血清化が必要と考えられる。そこで非純化血管幹細胞（単核球）の生体外増幅培養法における無血清培養基礎技術の当該研究の培養系への応用による無血清化培養による細胞活性化が可能と考えられる。組織幹細胞としての血管幹細胞、髄核幹細胞等、分化増幅培養による培養分化前駆細胞の組織修復機能の増強効果の機序解明研究及び培養による幹細胞分化／組織修復能活性化の最適化研究への発展が期待される。

F. 健康危険情報 特記なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Masuda H, Shizuno T, Asahara T. Development of Serum-Free Quality and Quantity Control Culture of Colony Forming Endothelial Progenitor Cell Expansion for Vasculogenesis. *Stem Cells Translational Medicine*. 2012 in press.
2. Masuda H, Kato S, Asahara T. Methodological development of a clonogenic assay to determine endothelial progenitor cell potential. *Circ Res*. 2011;109(1):20-37.
3. Asahara T, Kawamoto A, Masuda H. Concise review: Circulating endothelial progenitor

cells for vascular medicine. *Stem Cells*. 2011;29(11):1650-1655.

4. Ii M, Takeshita K, Asahara T, Losordo DW. Notch signaling regulates endothelial progenitor cell activity during recovery from arterial injury in hypercholesterolemic mice. *Circulation*. 2010;121(9):1104-1112.

5. Matsumoto T, Asahara T. Lnk-dependent axis of SCF-cKit signal for osteogenesis in bone fracture healing. *J Exp Med*. 2010; 207(10): 2207-2223.

6. Kwon SM, Masuda H, Nakagawa Y, Takaki S, Asahara T. Pivotal role of lnk adaptor protein in endothelial progenitor cell biology for vascular regeneration. *Circ Res*. 2009;104(8):969-977.

7. Tanaka R, Masuda H, Asahara T, Miyasaka M, et al. The Biological Activity of Circulating Endothelial Progenitor Cell (EPC) is the Putative Key Factor to Determine the Efficacy of Autologous G-CSF mobilized EPC Therapy for Diabetic Patients with Chronic Non Healing Ulcer. *Plast Reconstr Surg*. 120:59. 2009.

8. Duc M Vu, Masuda H, Asahara T et al, CD133+Endothelial progenitor cells as a potential cell source for a bioartificial glomerulus. *Tissue engineering*, 2009; 15(10):3173-3182.

9. 浅原孝之 (編者)、再生医療シリーズ、血管再生治療、診断と治療社、2012、1.11

10. 増田治史、浅原孝之、「血管老化からみた Stem cell aging, 酸化ストレスと血管内皮前駆細胞の老化」、*メディカルサイエンスダイジェスト*、ニューサイエンス社、第 36 巻、136 号、p614-617、2010 年 1 月。

11. 増田治史、浅原孝之、「血管内皮前駆細胞」、*循環器科*、p447-452. 2009.
(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

2. 学会発表

1. 浅原孝之. Endothelial Progenitor Cells for Vasculogenesis. ANGIOGENESIS: PRESENT AND FUTURE in ROMANIA. 2009.3

2. 浅原孝之. Bone marrow derived vascular progenitor cells for organ regeneration. European Cells & Materials Conference. 2009.6.29

3. 浅原孝之. 心血管再生治療の現状と未来.

第 2 回 Vascular Medicine 研究会.2009.7.24

4. 浅原孝之. Endothelial Progenitor Cells for Vasculogenesis. Angiogenesis Fundamental and Clinical Perspectives (Amsterdam) .2009.10.8

5. 浅原孝之. 幹細胞生物学の血管医学への応用.第 50 回日本脈管学会総会 (東京) . 2009.10.30

6. 浅原孝之. 血管内皮前駆細胞を用いた再生医療.第 39 回日本創傷治癒学会 (東京) .2009.12.8~9

7. 浅原孝之. Vascular Regeneration for Organogenesis. CNIC (Centro Nacional de Investigaciones Cardio vasculares) in Madrid.2010.2.11

8.浅原孝之. プレナリーセッション Cell and Gene Therapy Endothelial Progenitor Cells for Vasculogenesis .ISBT (International Society Blood Transfusion) in Berlin. 2010.6.25~2010.6.28

9.浅原孝之. Stem Cell Therapy in Peripheral Artery Disease (PAD). 6th Congress of Asia Pacific Society on Thrombosis and Haemostasis (Bali).2010.10.15

10. 浅原孝之. Endothelial Progenitor Cells for Vascular Medicine. 3rd International Collaborative Symposium on Stem Cell Research (ソウル) . 20011.4.29~30

11. 浅原孝之. Endothelial Progenitor Cells for Vascular Medicine.Lisbon-Summer meeting (リスボン) .2011.7.1~3

12. 浅原孝之. Endothelial Progenitor Cells for Medicine.American Heart Association Scientific Sessions 2011. 2011.11.16

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得 特記なし。
2. 実用新案登録 特記なし。
3. その他 特記なし

厚生労働科学研究費補助金（再生医療実用化研究事業）
「自家骨髄間葉系幹細胞により活性化された椎間板髄核細胞を用いた椎間板再生研究
における細胞、組織の安全性、品質確保に関する技術開発」

（資料：分担研究報告書-4）

分担研究課題：椎間板髄核細胞と骨髄間葉系幹細胞の管理（品質管理）に関する研究
研究分担者 安藤 潔 東海大学医学部内科学系血液・腫瘍内科学・教授

研究要旨：臨床応用された 10 例の活性化髄核細胞の安全性を評価するために、最終産物の感染症検査（各種ウイルス、マイコプラズマ、細菌）、細胞生存率、細胞数を評価した。

A. 研究目的

本研究の目的は、自家骨髄間葉系幹細胞と椎間板髄核細胞を共培養して髄核細胞を活性化した後患者椎間板に移入することにより、椎間板変性を防止することである。

自家移植ではあるが、培養期間中の感染、細胞の変化が移植結果に影響する可能性があり、移植直前の細胞の安全性評価が重要な課題である。本研究課題では、そのための標準手順書を作成し、それに則り実際の臨床例に関して安全性を評価することを目的とする。

B. 研究方法

DNA ウィルス（HBV, ParvovirusB19NS1, ParvovirusB19VP2, HSV, VZV, CMV, EBV, HHV6, HHV7, HHV8）は最終産物より抽出した DNA, RNA ウィルス（HCV, HIV-1, HTLV-1）は最終産物より抽出した RNA 由来 cDNA を template として PCR によりウィルス検出を行った。またマイコプラズマについても PCR 法を併用した。マイコプラズマは更に培養法により確認を行った。細菌は培養液の好気性培養、嫌気性培養により検出した。

C. 研究結果と D. 考察

結果は次ページの表で示す。11 症例の安全性検査を行った。症例 10 は東日本大震災後の電力事情から、投与に至らなかった。培養

期間中に DNA ウィルス（HBV, Parvovirus B19NS1, ParvovirusB19VP2, HSV, VZV, CMV, EBV, HHV6, HHV7, HHV8）, RNA ウィルス（HCV, HIV-1, HTLV-1）、マイコプラズマ、細菌の感染は検出されなかった。また培養後の細胞増幅率は 4.5-6.3 倍であり、細胞生存率は 90.6-98.0%であった。

E. 結論

以上の結果から、本研究における細胞プロセス工程は無菌的に安定した結果を得られることが確認された。

F. 健康危害情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Harkensee C, Oka A, Onizuka M, Middleton PG, Inoko H, Hirayasu K, Yabe T, Nakaoka H, Gennery AR, Ando K, Morishima Y. Single Nucleotide Polymorphisms and outcome risk in unrelated mismatched Haematopoietic Stem Cell Transplantation: An exploration study. Blood, in press, 2012
- 2) Shirasugi Y, Ando K, Miyazaki K, Tomiyama Y, Iwato K, Okamoto S, Kurokawa M, Kirito K, Hashino S, Ninomiya H, Mori S, Yonemura Y, Usuki K, Wei H, Lizambri R. An Open-Label Extension Study Evaluating the

- Safety and Efficacy of up to 3.5 years of Romiplostim in Thrombocytopenic Japanese Patients with Immune Thrombocytopenic Purpura (ITP) *Int J Hematol*, in press, 2012
- 3) Matsushita H, Nakamura N, Tanaka Y, Ohgiya D, Tanaka Y, Damdinsuren A, Ogawa Y, Ando K, Miyachi H. Clinical and pathological features of B-cell non-Hodgkin lymphomas lacking surface expression of immunoglobulin light chains. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, in press, 2012
- 4) Ogura M, Hatake K, Ando K, Tobinai K, Tokushige K, Ono C, Ishibashi T, Vandendries E. Phase I Study of Anti-CD22 Immunoconjugate Inotuzumab Ozogamicin Plus Rituximab in Relapsed/Refractory B-cell Non-Hodgkin Lymphoma. *Cancer Science*, in press, 2012
- 5) Kawamata T, Jun L, Sato T, Tanaka M, Nagaoka H, Agata Y, Toyoshima T, Yokoyama K, Oyaizu N, Nakamura N, Ando K, Tojo A, Kotani A. Imatinib mesylate directly impairs class switch recombination through downregulation of AID: its potential efficacy as an AID suppressor. *Blood*, in press, 2012
- 6) Watanabe T, Morishima Y, Shibata T, Maseki N, Kinoshita T, Suzuki T, Yamaguchi M, Ando K, Ogura M, Taniwaki M, Uike N, Takeuchi K, Nawano S, Terauchi T, Tsukasaki K, Hotta T, and Tobinai K. Phase II/III Study of Rituximab Plus Cyclophosphamide, Doxorubicin, Vincristine and Prednisolone (R-CHOP) Compared to Two-Week R-CHOP in Untreated Indolent B-Cell Non-Hodgkin Lymphoma: Japan Clinical Oncology Group (JCOG) 0203 Trial. *J Clin Oncol*. 29, 3990-3998, 2011
- 7) Shirasugi Y, Ando K, Miyazaki K, Tomiyama Y, Okamoto S, Kurokawa M, Kirito K, Yonemura Y, Mori S, Usuki K, Iwato K, Hashino S, Wei H, Lizambri R. Romiplostim for the treatment of chronic immune thrombocytopenia in adult Japanese patients: a double-blind, randomized clinical trial. *Int J Hematol*, 94, 71-80, 2011
- 8) Uchida T, Ogawa Y, Kobayashi Y, Ishikawa T, Ohashi H, Hata T, Usui N, Taniwaki M, Ohnishi K, Akiyama H, Ozawa K, Ohyashiki K, Okamoto S, Tomita A, Nakao S, Tobinai K, Ogura M, Ando K, and Hotta T. Phase I/II study of azacitidine in Japanese patients with myelodysplastic syndromes. *Cancer Sci*, 102, 1680-1686, 2011
- 9) Kobayashi Y, Sakamaki H, Fujisawa S, Ando K, Yamamoto K, Okada M, Ishizawa K, Nagai T, Miyawaki S, Motoji T, Usui N, Iida S, Taniwaki M, Uoshima N, Seriu T, Ohno R. Lack of non-hematological cross intolerance of dasatinib to imatinib in imatinib-intolerant patients with Philadelphia chromosome positive chronic myeloid leukemia or acute lymphatic leukemia: a retrospective safety analysis. *Int J Hematol* 93,745-749, 2011
- 10) Tsuboi K, Yokozawa T, Sakura T, Watanabe T, Fujisawa S, Yamauchi T, Uike N, Ando K, Kihara R, Tobinai K, Asou H, Hotta T, and Miyawaki S. A Phase I study to assess the safety, pharmacokinetics and efficacy of barasertib (AZD1152), an Aurora B kinase inhibitor, in Japanese patients with advanced acute myeloid leukemia. *Leukemia Res*. 35, 1384-1389, 2011
- 11) Ogura M, Ando K, Taniwaki M, Watanabe T, Uchida T, Ohmachi K, Matsumoto Y, Tobinai K. A Feasibility and Pharmacokinetic Study of Bendamustine Hydrochloride in Combination With Rituximab in Relapsed or Refractory Aggressive B-Cell Non-Hodgkin Lymphoma. *Cancer Sci*. 102, 1687-1692, 2011
- 12) Suzuki Y, Inokuchi S, Takazawa K, Umezawa K, Saito T, Kidokoro M, Tanaka M, Matsuzawa H, Inoue S, Tuchiya I, Ando K. Introduction of human b-defensin-3 into cultured human keratinocytes and fibroblasts by infection of a recombinant adenovirus vector. *Burns* 37, 109-116, 2011
- 13) Yahata T, Takanashi T, Muguruma Y, Matsuzawa H, Uno T, Sheng Y, Onizuka M, Ito M, Kato S, Ando K. Accumulation of oxidative DNA damage restricts the self-renewal capacity of human hematopoietic stem cells. *Blood* 118,2941-2950, 2011
- 14) Kanakura Y, Ohyashiki K, Shichishima T, Okamoto S, Ando K, Ninomiya H, Kawaguchi T,

- Nakao S, Nakakuma H, Nishimura J, Kinoshita T, Bedrosian CL, Valentine ME, Khursigara G, Ozawa K, Omine M. Safety and Efficacy of the Terminal Complement Inhibitor Eculizumab in Japanese Patients with Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria: The AEGIS Clinical Trial. *Int J Hematol*, 93, 36-46, 2011
- 15) Chou T, Tobinai K, Uike N, Asakawa T, Saito I, Fukuda H, Mizoroki F, Ando K, Iida S, Ueda R, Tsukasaki K, Hotta T, and other members of the Lymphoma Study Group (LSG) of Japan Clinical Oncology Group (JCOG), Japan. Melphalan-Prednisone and Vincristine-Doxorubicin-Dexamethasone Chemotherapy Followed by Prednisone/Interferon Maintenance Therapy for Multiple Myeloma: Japan Clinical Oncology Group Study, JCOG0112. *JCO* 47, 586-589, 2011
- 16) Muguruma Y, Matsushita H, Yahata T, Yumino S, Tanaka Y, Miyachi H, Ogawa Y, Kawada H, Ito M and Ando K. Establishment of xenograft model of human myelodysplastic syndromes. *Hematologica*, 96, 543-554, 2011
- 17) Nakagawa Y, Suzuki K, Hirose T, Chou T, Fujisawa S, Kida M, Usuki K, Ishida Y, Taniguchi S, Kouzai Y, Tomoyasu S, Miyazaki K, Higashihara M, Ando K, Aoki S, Arai A, Akiyama N, Hatake K, Okamoto S, Dan K, Ohyashiki K, Urabe A. Clinical efficacy and safety of biapenem for febrile neutropenia in patients with underlying hematopoietic diseases: a multi-institutional study. *J Infect Chemother*. 17, 58-67, 2011
- 18) Onizuka M, Kunii N, Toyosaki M, Machida S, Ohgiya D, Ogawa Y, Kawada H, Inoko H, Ando K. Cytochrome P450 genetic polymorphisms influence the serum concentration of calcineurin inhibitors in allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients. *Bone Marrow Transplant*. 46, 1113-1117, 2011
- 19) Tobinai K, Ogura M, Maruyama D, Uchida T, Uike N, Choi I, Ishizawa K, Itoh K, Ando K, Taniwaki M, Shimada N, Kobayashi K. Phase I and pharmacokinetic study of everolimus (RAD001) in patients with relapsed or refractory non-Hodgkin lymphoma. *Int J Hematol* 92, 563-570, 2010
- 20) Ogura M, Uchida T, Taniwaki M, Ando K, Watanabe T, Kasai M, Matsumoto Y, Ogawa Y, Ohmachi K, Yokoyama H, and Tobinai K. A phase I and pharmacokinetic study of bendamustine hydrochloride in relapsed or refractory indolent B-cell non-Hodgkin lymphoma and mantle cell lymphoma. *Cancer Science* 101, 2054-2058, 2010
- 21) Ohmachi K, Ando K, Ogura M, Uchida T, Itoh K, Kubota N, Ishizawa K, Yamamoto J, Watanabe T, Uike N, Choi I, Terui Y, Usuki K, Nagai H, Uoshima N, and Tobinai K. Bendamustine Is Highly Effective for Relapsed or Refractory Indolent B-Cell Non-Hodgkin Lymphoma (B-NHL) and Mantle Cell Lymphoma (MCL): Final Results of a Japanese Multicenter Phase II Study. *Cancer Science* 101, 2059-2064, 2010
- 22) Kojima M, Nakamura N, Ohgiya D, Tokunaka M, Kikuchi Y, Sato E, Oshimi K, Fujiwara S, Mano H, Murase T, Koike T, Tsunoda S, Matsumoto T, Marutsuka K, Hashimoto Y, Ane M, Ando K. Characteristics of CD5-positive splenic marginal zone B-cell lymphoma with leukemic manifestation; Clinical, flow cytometry, and histopathological findings of 11 cases. *J Clin Exp Hematol*. 50, 107-112, 2010
- 23) Kojima M, Nakamura N, Ohgiya D, Tokunaka M, Kikuchi Y, Sato E, Oshimi K, Fujiwara S, Mano H, Murase T, Koike T, Tsunoda S, Matsumoto T, Marutsuka K, Hashimoto Y, Ane M, Ando K. Characteristics of CD5-positive splenic marginal zone B-cell lymphoma with leukemic manifestation; Clinical, flow cytometry, and histopathological findings of 11 cases. *J Clin Exp Hematol*. 50, 107-112, 2010
- 24) Sakamaki H, Ishizawa K, Taniwaki M, Fujisawa S, Morishima Y, Tobinai K, Okada M, Ando K, Usui N, Miyawaki S, Utsunomiya A, Uoshima N, Nagai T, Naoe T, Motoji T, Jinnai I, Tanimoto N, Miyazaki Y, Ohnishi K, Iida S, Okamoto S, Seriu T, Ohno R. Phase 1/2 clinical study of dasatinib in Japanese patients with

chronic myeloid leukemia or Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia. *Int J Hematol.* 89, 332-341, 2009

25) Hatanaka K, Nakamura N, Kojima M, Ando K, Irie S, Bunno M, Nakamine H, Uekusa T. Methotrexate-associated lymphoproliferative disorders mimicking angioimmunoblastic T-cell lymphoma. *Pathology Research and Practice.* 206,9-13,2009

26) Matsushita H, Masukawa A, Arakawa S, Ogawa Y, Asai S, Yabe M, Ando K, Miyachi H. Persistence of derivative chromosome 22 after achieving a major molecular response in chronic myelogenous leukemia with a cryptic *BCR-ABL1* fusion gene. *Int J Hematol.* 90,623-625,2009

27) Tobinai K, Ishizawa K, Ogura M, Morishima Y, Ando K, Taniwaki M, Watanabe T, Yamamoto J, Uchida T, Nakata M, Terauchi T, Nawano S, Matsusako M, Hayashi M, Hotta T. Phase II study of oral fludarabine in combination with rituximab for relapsed indolent B-cell non-Hodgkin lymphoma. *Cancer Sci.* 100, 1951-1956, 2009

28) Shirasugi Y, Ando K, Hashino S, Nagasawa T, Kurata Y, Kishimoto Y, Iwato K, Sonehara T, Ohtsu T, Berger D. A phase II, open-label, sequential-cohort, dose-escalation study of romiplostim in Japanese patients with chronic immune thrombocytopenic purpura. *Int J Hematol.* 90, 157-165, 2009

29) Matsushita H, Yamamoto M, Tsuboi K, Masukawa A, Arakawa S, Asai S, Ogawa Y, Ando K, Miyachi H. A novel aberrant form of e13a2 *BCR-ABL1* transcript in chronic myelogenous leukemia undetectable with the standardized real-time quantitative polymerase chain reaction from the Europe Against Cancer Program. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 47, 885-887, 2009

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし