

201128005B

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～23 年度 総合研究報告書

研究代表者 中 畑 龍 俊

平成 24 (2012) 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～23 年度 総合研究報告書

研究代表者 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

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、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ティング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。

本研究班の目的は、疾患特異的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、平成21年度より平成23年度までの3年間を研究期間として研究班が組織された。

この3年間で、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180例以上から皮膚線維芽細胞を樹立し、iPS細胞のソースとした。また、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、好中球、気道上皮細胞などの分化系・培養系の構築や最適化を行った。さらに、疾患解析として、CINCA症候群、網膜色素変性症、筋萎縮性側索硬化症、多発性嚢胞腎などの患者由来のiPS細胞を用いて、分化した細胞の機能解析を行い、新たな生物学的・病理学的特徴を明らかにした。

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24年3月 主任研究者 中畑 龍俊

目 次

I. 総合研究報告	1
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 中畑 龍俊	
II. 研究組織	17
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	19
IV. 研究成果の刊行物・別刷	49

I. 総合研究報告書

総合研究報告書

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

研究代表者：中畑 龍俊
（京都大学 iPS 細胞研究所 特定拠点教授）

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 180 例以上から皮膚線維芽細胞を樹立し、iPS 細胞のソースとした。

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

<疾患解析> CINCA 症候群、網膜色素変性症、筋萎縮性側索硬化症、多発性嚢胞腎などの患者由来の iPS 細胞を用いて、分化した細胞の機能解析を行い、新たな生物学的・病理学的特徴を明らかにした。進行性骨化性線維異形成症などの疾患で、創薬スクリーニングを開始した。

<iPS 細胞の標準化> iPS 細胞の分化抵抗性に関する遺伝子群を明らかにした。

分担研究者

高橋 政代	理研 CDB・チームリーダー
高橋 淳	京都大学再生医科学研究所・准教授
戸口田淳也	京都大学再生医科学研究所・教授
高橋 良輔	京都大学脳病態生理学・教授
井上 治久	京都大学 iPS 細胞研究所・准教授
長船 健二	京都大学 iPS 細胞研究所・准教授
平家 俊男	京都大学発達小児科学・教授
中西 淳	武田薬品工業医薬研究本部・リサーチマネージャー
高橋 和利	京都大学 iPS 細胞研究所・講師
浅香 勲	京都大学 iPS 細胞研究所・特定准教授
三嶋 理晃	京都大学・呼吸器内科学・教授
斎藤 潤	京都大学 iPS 細胞研究所・特定拠点講師

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が画期的であり、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。

本研究の目的は、疾患特異的iPS細胞を用いて難治性疾患の病因、病態の解明、新たな治療法の開発を目指すと共にiPS細胞から各疾患で傷害されている各臓器の細胞に分化させる方法を共有化して班員以外の研究者や企業に提供し、我が国における研究基盤を確立することである。

文部科学省の事業などで樹立された疾患特異的iPS細胞を有効に活用するため、各疾患で傷害されている各臓器の細胞に分化させる方法を研究分担者間で共有し、共同研究の依頼に応じて標準化されたiPS細胞とそれに適合した分化系を速やかに供与し、班員以外の研究者、製薬企業と連携して創薬への応用を進める。

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(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。

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。

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、疾患特異的iPS細胞のソースとなる皮膚などの組織を採取する。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・エピソーマル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。iPS細胞の樹立は文部科学省の再生医療の実現化プロジェクトでも行うので、この事業で樹立されたiPS細胞も本研究に用いる。

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。

以下に、各分担研究における研究方法を示す。

【患者線維芽細胞の保存・疾患iPS細胞作製】

難治性疾患患者から書面で同意を得た後皮膚を採取し、10%のFBSを添加したDMEM培地を用いたアウトグロース法により線維芽細胞を作製し、難治性疾患患者の線維芽細胞株を収集した。得られた線維芽細胞株は、マイコプラズマ等の感染試験を実施し、陰性を確認した株のみを疾患特異的iPS細胞の材料として登録し、生存率を安定に維持するため、完全気相型液体窒素タンクに保管した。

他の分担研究者と共同して、樹立された一部の難治性疾患患者由来の線維芽細胞材料として、レトロウイルスベクター法またはEpisomal vector法により、iPS細胞株の樹立を行った。

【ヒトiPS細胞の標準化】

これまでに、ヒトiPS細胞の培養に適した培地、フィーダー細胞の選定を行ってきた。これらの高品質な培養系の下で、樹立維持されたiPS細胞とES細胞を直接比較することで、ヒト多能性幹細胞の標準化を試みた。具体的には、皮膚線維芽細胞、歯髄幹細胞、臍帯血由来細胞、末梢血由来単核細胞に対して、レトロウイルス、センダイウイルス、エピソーマルベクターを用いて初期化因子を導入しiPS細胞株を樹立した。これら50株のiPS細胞株と10株のES細胞株について、

遺伝子発現、メチル化 DNA および神経系への分化能を調べた。

【難治性骨軟骨疾患特異的 iPS 細胞作製と病態解明】

下記の疾患罹患者を対象として iPS 細胞を作成し、病態の解析を行った。

- 1) 後縦靭帯骨化症 (2 例)
- 2) 進行性骨化性線維異形成症(FOP) (4 例)
- 3) 骨形成不全症 (1 例)
- 4) 軟骨無形成症 (1 例)
- 5) CINCA 症候群 (2 例) (共同研究)

【網膜変性疾患 iPS 細胞作製、網膜細胞検証】

遺伝子診断にて原因遺伝子変異の判明している患者についてインフォームドコンセントを得た上で作製した網膜色素変性患者 iPS 細胞を網膜への分化誘導法 (SFEB 変法) を用いて視細胞に分化させ、各患者 iPS 細胞について視細胞への分化効率と経時変化を抗ロドプシン抗体を用いた染色にて確認。分化誘導した視細胞については、培養中にアポトーシスに陥る割合や各種ストレスマーカーの染色によってアポトーシスの機序を検討した。さらに患者 iPS 細胞由来の視細胞について、各種因子 (ビタミン A, C, E) を培地中に添加し変性を抑制するか、原因遺伝子変異によって異なるかを検討した。

【パーキンソン病疾患 iPS 細胞の解析】

インフォームドコンセントに基づいて孤発例パーキンソン病患者 15 名より皮膚組織を採取。線維芽細胞を増殖させ、iPS 細胞株の樹立を試みた。また、血球細胞からの iPS 細胞樹立も試みた。得られた iPS 細胞より、浮遊培養による神経分化誘導法を用いてドーパミン神経細胞を誘導。コントロールとして罹病歴のないヒト線維芽細胞からも iPS 細胞を樹立し、ドーパミン神経誘導効率を比較検討した。また、Glis1 遺伝子を用いたより効率のよい iPS 細胞樹立方法が報告されたので、この方法での iPS 細胞樹立を試みた。

【パーキンソン病関連特異的 iPS 細胞作製と解析】

iPS 細胞樹立のため、PD 患者由来皮膚線維芽細胞にウイルスまたはエピゾーマルベクターを用いて初期化誘導遺伝子を導入した。外因性初期化誘導遺伝子のサイレンシングは RT-PCR 法により確認した。ドーパミン神経への分化誘導には Serum-free floating culture of embryoid body-like aggregates 法を用いた。中脳黒質緻密帯ドーパミン神経マーカーおよび α シヌクレインの発現は免疫蛍光染色を用いて確認した。

【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】

複数の ALS 患者皮膚線維芽細胞より iPS 細胞を樹立し、脊髄運動ニューロンを分化誘導し、ミスフォールド化 SOD1 の蓄積を免疫組織学的に解析し、疾患再現

を行う。さらに、運動ニューロン変性加速作用を有する ALS アストロサイトを分化誘導し、マイクロアレイにより、遺伝子発現の比較等を行い、ALS に関連する分子パスウェイ・遺伝子を同定する。多くの発現遺伝子の中からより病態に関連する遺伝子を同定するために、ALS モデルマウスアストロサイトの遺伝子発現解析も行い、ヒト ALS・マウス ALS で共通に変動する遺伝子を同定する。

【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】

京都大学医学部附属病院および田附興風会医学研究所北野病院にて診療を受けている ADPKD7 例(うち 4 例は脳動脈瘤合併症例)および顕微鏡的多発血管炎 3 例の患者から同意取得後に皮膚生検を行う。そして、皮膚塊を培養し増殖させた線維芽細胞にレトロウイルスベクターによる初期化誘導 4 因子(OCT3/4, SOX2, KLF4, c-MYC)または 3 因子(c-MYC を除く)の遺伝子導入(Takahashi K, 2007)にて疾患特異的 iPS 細胞を樹立する。

さらに、樹立された iPS 細胞を、ADPKD の合併症の罹患細胞種である血管構成細胞 (内皮細胞と血管壁細胞)、顕微鏡的多発血管炎の病態関連細胞種である内皮細胞と好中球に試験管内で分化誘導することにより、病態を模倣する試験管内疾患モデルの作製を行う。

【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】

我々の研究室では過去にサル ES 細胞、マウス iPS 細胞を OP9 細胞との共培養系において赤血球に分化させることに成功した。今回我々は、この分化システムを応用し、ヒト iPS 細胞からの好中球分化系を新たに樹立した (Morishima et al J Cell Physiol. 2011)。しかし共培養系であること、血清を使用すること、分化効率が悪い等の問題があり、Feeder 細胞や血清を使用しない新たな好中球分化系を開発した。本法では未分化ヒト iPS 細胞を、マトリゲル®上で BMP4、VEGF、SCF、TPO、IL-3、G-CSF などと共に培養することで、好中球へと分化させた。さらに、先天性好中球不全症である HAX1 遺伝子異常症の患者より iPS 細胞を樹立し、疾患特異的 iPS 細胞から分化した好中球の機能評価を行った。

また、我々の研究室では過去にマウス ES および iPS 細胞から胚様体法によって効率的な骨格筋細胞誘導法を確立したが、今回それらの方法を応用し、ヒト ES および iPS 細胞から in vitro で骨格筋細胞を誘導する系を確立すると共に、長期にわたり免疫不全マウスに生着する前駆細胞が含まれることを示した。また遺伝性筋疾患として最も患者数の多いデュシャン型筋ジストロフィー (DMD) の患者より iPS 細胞を樹立した。

【創薬探索系への活用】

京都大学等で作製された疾患特異的 iPS 細胞を導入し、運動神経細胞への効率的な分化誘導法を化合物等

を用いて検討した。さらに、化合物評価に適したアッセイ系を構築するために、スループットが高く簡便な検出法、培養法について検討した。

ALS 患者由来の iPS 細胞 (A20415 株、A5411 株) および健康人由来の iPS 細胞 (253G1 株、201B7 株) を用い、それぞれから総タンパク質、ミトコンドリアタンパク質を調製し、発現タンパク質の差異を 2D-DIGE システムにより解析した。ミトコンドリア画分の精製は Mitochondria Isolation Kit, human (Miltenyi Biotec 社製) を使用した。

倫理面への配慮のため、患者の個人情報入手しない。また、武田薬品工業医薬研究本部研究倫理審査委員会にて審査、承認を受けて実験を実施した。

【呼吸器疾患特異的 iPS 細胞作製】

(1) 京大病院受診中の特発性肺線維症等の症例において、同意取得の上、外科的肺生検若しくは肺切除の際に、皮膚及び肺組織の検体を採取し、線維芽細胞を培養～保存、iPS 化を行った。リンパ脈管筋腫症(LAM)、Birt-Hogg-Dube 症候群(BHD)など、当院での患者集積が少ない疾患に関しては、適宜他院との連携の上検体採取の準備を行った。

(2) 非疾患の iPS 細胞を用い、肺細胞、特に肺胞上皮細胞への分化誘導法を検討した。分化誘導法が確立した時点で、疾患 iPS 細胞から肺細胞を分化誘導し、非疾患群との細胞フェノタイプの比較検討を行う。

【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】

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、レトロウイルスベクター・エピソームベクター法を用いてトランスジーンを導入し、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。

また、血球分化の正確な評価を行うため、フィーダー・血清を用いない血球分化系の開発も行った。さらに、疾患を横断的に理解するため、神経系や脂肪細胞への分化系を導入し、血球とこれらの細胞種との相互作用を検討する。

(倫理面への配慮)

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、個人情報の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：研究結果

【患者線維芽細胞の保存・疾患 iPS 細胞作成 (浅香勲)】平成 21 年度から 23 年度にかけて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、遺伝性 QT 延長症候群、ミトコンドリア病、進行性骨化性線維異形成症、中条一西村症候群、高安動脈炎、突発性難聴、ハンチントン病、モヤモヤ病等の約 50 種の難治性疾患を対象に、180 例以上から、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。

うち約 70 例分については、他の分担研究者と共同で、レトロウイルスベクター法および Episomal vector 法により Oct3/4, Sox2, Klf4 他初期化因子を導入し、疾患特異的 iPS 細胞をそれぞれ数～十数クローンずつ樹立した。

患者由来の線維芽細胞ならびに疾患特異的 iPS 細胞株は、専用の管理システムを構築し、各患者毎にステージや保存日等を区別して他管理している。

【ヒト iPS 細胞の標準化】

上記株における遺伝子発現をマイクロアレイで比較した結果、既報の ES 細胞と iPS 細胞で明確に異なるとされている遺伝子については有意差のあるものも存在するが、明確に区別しうるマーカーではないことがわかった。これについては DNA のメチル化状態も同様であった。次に、各細胞株の神経系への分化能を調べた結果、5 株の iPS 細胞において分化抵抗性が再現よく観察された。そこで、正常に分化する細胞株群と分化抵抗性株群に分けて、遺伝子発現を比較した結果、分化抵抗性株すべてにおいて正常株と比べて有意に高く発現する遺伝子が複数存在した。

【難治性骨軟骨疾患特異的 iPS 細胞作製と病態解明】

対象とした疾患のうち、FOP 由来細胞に関しては、正常 iPS 細胞との比較により *in vitro* での病態再現に成功し、阻害剤のスクリーニングを開始しており、既にいくつかの候補物質を同定した。また相同組換えによる変異修正細胞の樹立を試みている。CINCA 症候群に関しても、軟骨関連遺伝子の発現亢進を確認しており、責任遺伝子との関連性を解析中である。他の疾患由来 iPS 細胞に関しても同様に分化形質発現を指標に解析を進めている。

【網膜変性疾患 iPS 細胞作成、網膜細胞検証】

RP1、RP9、PRPH2 あるいは RHO 遺伝子のいずれかに変異をもつ網膜色素変性患者由来の iPS 細胞を作製し、その中から外来遺伝子のコピー数が最も少ない 3 ラインを選択し検討した。iPS 細胞から誘導した視細胞は、

ロドプシン遺伝子の発現や電気生理学的解析から桿体細胞であることが確認され、原因遺伝子によって分化誘導 120 日目のロドプシン陽性細胞率が異なり、正常 iPS 細胞では 150 日目のロドプシン陽性細胞率は 120 日目と比べて変化しなかったものの患者 iPS 細胞由来視細胞は 150 日目に大幅に減少した (図 1)。また、桿体細胞の変性機序は原因遺伝子によって異なり、RP9 遺伝子に変異がある場合は DNA の酸化が RHO 遺伝子に変異がある場合は小胞体へのストレスが変性の原因であることを示唆していた。また、培地中に α トコフェロールを添加した場合、RP9 の遺伝子変異のみ細胞生存率が向上することが明らかになり、 α トコフェロールは他の変異をもつ細胞には効果がなく、アスコルビン酸、 β カロテンはいずれの細胞にも効果を示さなかった。

また、これまでの遺伝子診断でストップコドン変異が原因となっている網膜色素変性患者の PTC などによる治療の可能性を探るため、ヒト線維芽細胞に患者の変異と同じ変異を持つ遺伝子をレトロウイルスで導入し、培地に PTC を投与することで、正常蛋白の発現増加が見られる事を確認した。今後、これらの原因遺伝子変異を持つ患者の iPS 細胞を作製し、Read through や Exon skip の効果を確認する。

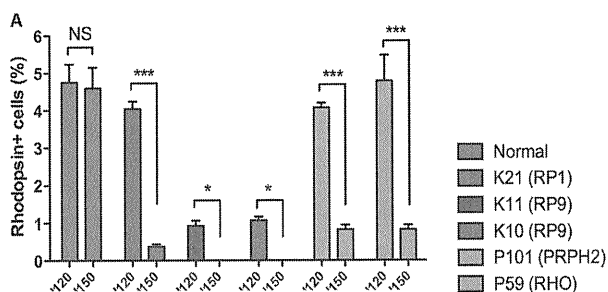


図 患者 iPS 細胞由来視細胞の割合と経時変化

【パーキンソン病疾患 iPS 細胞の解析】

15 名の患者のうち、2 名から皮膚組織および血液を採取した。Episomal vector を用い 6 遺伝子 (Oct3/4, Sox2, Klf4, L-Myc, Lin28, Sh-p53) を導入して iPS 細胞を樹立した。2 名とも、皮膚線維芽細胞からも血液細胞からも iPS 細胞の樹立が可能であった (合計で皮膚由来 6 株、血球由来 11 株)。これらの細胞から、浮遊培養による分化誘導法を用いて神経分化を試みたところ、これらのいずれからもドーパミン神経細胞誘導が可能であった。神経誘導効率は約 50%、そのうちのドーパミン神経細胞 (チロシン水酸化酵素陽性細胞) の割合は約 50% であり、健常者由来 iPS 細胞と有意差はみられなかった。また、軸索伸展にも差はみられなかった。

【パーキンソン病関連特異的 iPS 細胞作製と解析】

1) 健常ヒト由来 iPS 細胞をドーパミン神経へ分化誘導し、中脳黒質緻密帯ドーパミン神経マーカー陽性細胞を得た。一部のドーパミン神経細胞に α シヌクレイン (PD に特徴的な病理所見であるレビー小体の主要な

構成成分) が発現していることを確認した。

2) 本邦に特有の変異である I2020T 変異型 LRRK2 を有する遺伝性 PD 患者由来皮膚線維芽細胞から iPS 細胞を樹立した。この iPS 細胞は患者由来の I2020T 変異を持ち、かつ、正常核型が維持されていた。

3) 孤発性 PD 患者 2 名の皮膚線維芽細胞より iPS 細胞を樹立した。

4) 1 名の PINK1 変異を有する遺伝性 PD 患者皮膚線維芽細胞より iPS 細胞候補クローンを得た。

5) 前記 2)3)4) の患者以外に LRRK2 変異 (4 名) ・Parkin 変異 (2 名) を有する遺伝性 PD 患者および 10 名の孤発性 PD 患者より皮膚線維芽細胞を樹立した。現在、順次 iPS 細胞を樹立中である。

6) PD 患者の皮膚線維芽細胞および樹立した iPS 細胞の網羅的遺伝子解析のため、東京大学神経内科 (辻省次教授) との共同研究を開始した。

【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】

フィーダー細胞を用いない新たな好中球分化系では、培養開始約 25 日目には、従来の OP9 細胞を用いた方法と比較し 10 倍以上の数の好中球を得ることができた。また本法は無血清培養法であり、動物血清を用いた様々な問題を回避出来ると考えている。さらに、HAX1 遺伝子異常症の患者細胞由来の iPS 細胞を樹立し、疾患特異的 iPS 細胞を好中球に分化させ、正常 iPS 細胞から分化した好中球と比較することで疾患モデルの確立を試みた。

また、ヒト ES 細胞や iPS 細胞から *in vitro* で骨格筋細胞を誘導に成功した。国際的にもヒト iPS 細胞からの骨格筋分化の報告は未だなされおらず、iPS 細胞を用いた骨格筋研究における大きな一歩である。これらの細胞は *in vitro* で段階的に骨格筋マーカーを発現するのみならず、*in vivo* での長期にわたる骨格筋再生能を有することが示され、今後の骨格筋再生医療に大きな期待が持てる結果であった。さらに、DMD 患者由来 iPS 細胞を樹立し、現在その万能性や複製能について検証を行うと同時に、骨格筋への分化誘導を試みている。

【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】

複数の変異 SOD1 関連 ALS 患者皮膚線維芽細胞より iPS 細胞を樹立した。ALS iPS 細胞より分化誘導した運動ニューロンの一部は、ミスフォールド SOD1 に対する抗体によって染色され、ALS の病理表現型を再現した。アストロサイトマイクロアレイ解析にて、ALS 新規分子パスウェイ・発現上昇遺伝子を同定した。ALS 両者の解析において共通に変動する遺伝子を同定した。

【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】

7 例の ADPKD と 3 例の顕微鏡的多発血管炎の患者由来線維芽細胞から iPS 細胞株を樹立した。導入初期化

誘導因子の発現がサイレンスされ、かつ核型の正常な iPS 細胞株を選択し、1 症例につき 1 株をその後の研究に使用した。これらの iPS 細胞は、ヒト ES 細胞と同様の未分化状態マーカー遺伝子(OCT3/4, NANOG, SOX2, TR1-60, TRA1-81, SSEA4, ALP 等)を発現し、胚様体および奇形腫形成法にて三胚葉性の組織へ分化する多分化能を有していた。さらに、遺伝子発現プロファイルがヒト ES 細胞のものと同様で、OCT3/4, NANOG など未分化状態マーカー遺伝子のプロモーター領域が脱メチル化されていることも確認した。また、ADPKD7 例中 3 例において家系調査、連鎖解析、遺伝子配列解析を実施し、本疾患の約 85%の症例で異常を有することが報告されている PKD1 遺伝子座の変異を確定した。

そして、既報の分化誘導法(Homma K, 2010)を用いて ADPKD 特異的 iPS 細胞から同疾患の合併症の罹患細胞種である血管内皮細胞、血管壁細胞への試験管内での分化誘導を行った。次に、マイクロアレイを用いて ADPKD 特異的 iPS 細胞 7 株と健常日本人由来 iPS 細胞 3 株から分化誘導された血管内皮および壁細胞の遺伝子発現の比較解析を行った。21(7X3)通りの比較を行ったところ、ADPKD 内皮細胞で共通して 3 種の遺伝子の発現上昇が認められた。また、同様の比較解析を脳動脈瘤合併 ADPKD 特異的 iPS 細胞株 4 株と非合併 iPS 細胞株 3 株由来の血管細胞間での 12(4X3)通りで行ったところ、脳動脈瘤合併例の内皮細胞で 18 種、血管壁細胞で 7 種の発現上昇を認める遺伝子が同定された。現在、それらの同定された分子を用いた新規診断法開発や治療標的分子としての活用を検討している。

顕微鏡的多発血管炎特異的 iPS 細胞に関しては、ADPKD の場合と同一の血管構成細胞への分化誘導法および既報の好中球への分化誘導法(Niwa A, 2011)を適用して、同疾患の病態関連細胞種である血管内皮細胞および好中球への分化誘導が可能であることを確認した。現在、健常日本人 iPS 細胞由来の同細胞種との比較解析や疾患特異的 iPS 細胞由来の内皮細胞と好中球の共培養を用いた新規試験管内疾患モデルの開発研究を行っている。

【創薬探索系への活用】

京都大学から導入したヒト iPS 細胞株を用いて、維持培養、凍結保存などの基盤技術を確認し、ヒト iPS 細胞からの神経分化誘導法を検討した。iPS 細胞からニューロスフェアを形成させる方法に関して、化合物評価に適した条件を設定するために、培養条件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。また、化合物を活用して短期間でヒト iPS 細胞から神経前駆細胞を誘導する方法を設定した。この方法を用いて、ヒト iPS 細胞から運動神経前駆細胞を効率よく誘導する化合物、さらに運動神経の成熟化を促す化合物の探索を開始した。

ALS 患者由来 iPS 細胞の総タンパク質およびミトコンドリアタンパク質の発現を 2D-DIGE システムにより網羅的に解析し、正常 iPS 細胞と比較して ALS 患者由来 iPS 細胞において発現が変動するタンパク質を同定

した。ALS 患者由来の iPS 細胞 A20415 株および A5411 株に共通して発現が減少するミトコンドリアタンパク質は 12 種であった。これらの中には、酸化還元反応、レドックス制御に関わるタンパク質が多く含まれていた。その中で、Peroxisome 4 に着目し、病態との関連を検討中である。さらに、ALS 患者由来 iPS 細胞から運動神経細胞を分化誘導し、同様に総タンパク質およびミトコンドリアタンパク質の解析を実施中である。

【呼吸器疾患特異的 iPS 細胞作製】

(1) 本助成研究期間に、びまん性肺疾患 26 症例(うち LAM 1 例、BHD 1 例)、肺癌 10 症例(うち COPD 合併 2 例、気管支喘息合併 2 例)より同意を得て、肺及び皮膚検体を採取、線維芽細胞株を樹立～凍結保存した。そのうち間質性肺炎 3 例、肺癌 2 例において iPS 細胞株を樹立(いずれも肺及び皮膚の 2 検体より、計 10 検体)した。樹立した iPS 細胞株は transgene silencing の評価等で品質管理を行った。LAM, BHD 症候群に関しては、症例集積のある順天堂大学において倫理委員会の承認を得ており、現在同意取得待ちの段階である。(2) ES 細胞の既報に基づき、マウス及びヒト iPS 細胞より、SP-C (サーファクタント) 産生性の肺胞上皮細胞の誘導を確認した。また SP-C プロモータへの薬剤耐性遺伝子の導入により、ヒト iPS 細胞から SP-C 産生性細胞を選択的に誘導する方法を確立した。気道上皮細胞に関しても、気液界面法などを用い、iPS 細胞から誘導可能であることを確認した。

【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】

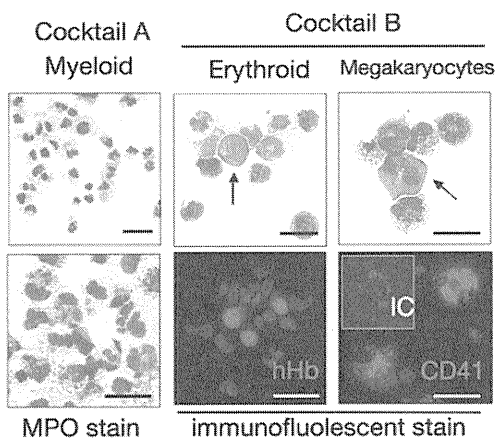
我々は、従来の方法のように血清やフィーダーを使用しない、新しい血球分化系を開発した。この系は簡便であり、かつ再現性が高く、骨髄球・赤芽球・巨核球への分化を行うことができた(図)。

また、免疫不全症・造血不全症・小児神経疾患例などから、患者家族を含めて 29 例の対象者から iPS 細胞を樹立した。

このうち、自己炎症性症候群であるモザイク型 CINCA 症候群 2 例においては、体細胞モザイクの患者から正常型と遺伝子変異型のクローンを樹立し、その性質を詳細に比較した。変異型クローンでは、炎症性サイトカインである IL-1 β が高値であり、様々な既知の阻害剤によって阻害可能であったことから、創薬スクリーニングに有用な系が確立されたと考えている。

骨髄不全症である細網異形成症、Fanconi 貧血においては、iPS 細胞の樹立は非常に困難であったが、一時的に遺伝子を補充することによって、iPS 細胞の樹立に成功した。現在これらの iPS 細胞の血球分化能を解析中である。

以上のように H21-23 年度の研究は順調に目標を達成している。いくつかの疾患では病態再現が達成されたので、さらに病態解析と創薬スクリーニングを行っていく予定である。



図：フィーダーフリー血球分化系

D：考察

【総括】本研究班では、難治性疾患を対象として疾患 iPS 細胞樹立のための線維芽細胞を収集し、結果として非常に多くの試料を得ることができた。また、iPS 細胞の評価も進められており、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。

分担研究者がそれぞれ課題に取り組み、多くの疾患で実際の病態解析からさらに創薬へと研究が順調に進捗している。従来手法では解明しえなかった、様々な解析結果が明らかになってきており、病態の理解・治療薬開発に向けて、研究を進めてゆきたい。本研究班内での分化系や iPS 細胞のやり取りが活発に行われ、研究班全体として研究が当初の予定を上回って順調に進捗した。

【患者線維芽細胞の保存・疾患 iPS 細胞作成】

樹立した難治性疾患患者由来の線維芽細胞株においては、いずれもマイコプラズマ感染は確認されず、他の微生物の発生も見られなかった。また、一部の線維芽細胞株から iPS 細胞も樹立できていることから、皮膚の採取方法および線維芽細胞株の樹立方法は、アウトグロース法で問題ないと考えられる。

【iPS 細胞の標準化】

本研究の結果は、ES 細胞と iPS 細胞が少なくとも遺伝子発現、DNA メチル化、分化能力において明確に区別される、すなわちどちらかが劣るということはないことを示している。一方で、ごく一部の iPS 細胞は何かの原因で分化抵抗性を獲得していた。しかし、これは本研究で見出した遺伝子の発現を調べることで除去することが可能である。

【難治性骨軟骨疾患特異的 iPS 細胞作製と病態解明】

いくつかの分化誘導法を検討した結果、疾患由来 iPS 細胞と健常者由来 iPS 細胞の分化能の比較のために、それぞれの病態に適した方法を用いることが重要であることが判明した。そのため各分化段階を示すマーカー遺伝子を導入した複数の細胞株を樹立することが必

要であると考えられ、計画を進めている。

【網膜変性疾患 iPS 細胞作成、網膜細胞検証】

患者由来 iPS 細胞から誘導した桿体細胞は培養過程で変性する傾向が見られ、同じ患者由来の iPS 細胞から誘導した錐体細胞や双極細胞ではそのような変性は見られなかった。また、各種ビタミンの視細胞抑制効果は、変異遺伝子によって異なった。

【パーキンソン病疾患 iPS 細胞の解析】

孤発例パーキンソン病患者由来 iPS 細胞から誘導したドーパミン神経細胞については過去に 2 本 (5 名) の報告があるが、in vitro の結果では健常者由来 iPS 細胞と特に差は認められておらず、ラットモデルへの移植においては行動改善が確認されている。我々の結果でも、今のところそれを裏付ける結果となっている。もし、孤発例患者由来 iPS 細胞からドーパミン神経として機能しうる細胞が誘導可能であれば自家移植が可能ということになる。細胞移植治療の実現に向けてさらに多くの患者由来 iPS 細胞の検討及びモデル動物移植後の長期間の観察が必要である。

【パーキンソン病関連特異的 iPS 細胞作製と解析】

健常ヒト由来 iPS 細胞を PD で特異的に障害される中脳黒質緻密帯ドーパミン神経に分化誘導することに成功し、 α シヌクレインが正常パターンで発現していることを確認した。今後この手法を用いて孤発性および遺伝性 PD 患者由来 iPS 細胞を分化誘導し、PD 発症に寄与するとされる酸化ストレスなど種々のストレス下でのドーパミン神経細胞死や α シヌクレインの凝集の有無などを評価することにより、PD 患者由来 iPS 細胞およびドーパミン神経細胞に特異的な表現型を解析できるものとする。またこれらの表現型解析結果と前記の網羅的遺伝子解析結果とを比較検討し、PD の発症・進展に寄与する因子などを探索する予定である。さらにこれらの表現型解析方法は将来的に新規創薬に応用できるものと期待される。

【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】

同定した ALS 新規分子パスウェイ、遺伝子産物が ALS 治療標的となる可能性がある。現段階で、疾患とコントロールの違いは同定しつつあるが、個別の患者の違いの同定には至っていない。個々の患者の解析によって、発症年齢・罹病期間などの臨床情報と合わせて、病態緩和因子同定の可能性がある。今後、同定した因子の検証方法、多くの因子の中からの同定方法自体を他のデータベース上のマイクロアレイ情報や、他のモデルとの比較が必要かもしれない。

【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】

本研究では、ヒト iPS 細胞樹立のオリジナルの方法

であるレトロウイルスベクターを用いた4因子または3因子の遺伝子導入(Takahashi K, 2007)を用いて、ADPKD および顕微鏡的多発血管炎症例から疾患特異的 iPS 細胞の樹立を行った。この結果は、ADPKD の原因遺伝子である PKD1 や顕微鏡的多発血管炎症の遺伝的要因が iPS 細胞の樹立および維持の過程に必須でないことを示唆する。

また、ADPKD 特異的 iPS 細胞は、同疾患に高頻度に合併する脳動脈瘤など血管病変の罹患細胞種に分化誘導可能であった。そして、その疾患特異的 iPS 細胞由来の血管細胞から複数の病態関連分子を同定可能であった。本疾患の主徴である腎嚢胞に対するマウスなどの動物モデルは複数開発されているが、血管病変を解析できる動物モデルは存在しておらず、本研究で確立した血管細胞モデルは ADPKD の血管合併症を解析する上で有用なツールになるものと考えられる。さらに、本研究の成果は、難治性疾患の患者由来 iPS 細胞を用いた疾患モデル作製研究(disease modeling)の有用性を示すものであり、これまで適切な疾患モデルが存在せず治療法開発が進まなかった難治性疾患の研究の進展に寄与することが期待される。

また、顕微鏡的多発血管炎特異的 iPS 細胞もその病態関連細胞種である血管内皮および好中球に分化誘導可能であった。同疾患に対する動物モデルはほとんど存在しないため、今後 iPS 細胞由来の細胞種を用いた新規の試験管内疾患モデルの開発が期待される。

【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】

今回、好中球分化誘導系として確立した方法は、簡便で短時間に効率よく成熟好中球を得ることができるため、複数クローンを扱う必要がある疾患特異的 iPS 細胞を用いた疾患解析には非常に有用である。

骨格筋分化誘導においては新たにヒト ES および iPS 細胞の *in vitro* での分化誘導法を確立し、疾患研究および再生医療への基盤研究を進める上で重要な進捗となった。今後はそれらの方法を用いて DMD 患者由来 iPS 細胞との比較検討や、移植可能な骨格筋幹/前駆細胞の単離などの研究を進めてゆく必要がある。

【創薬探索系への活用】

ヒト iPS 細胞から誘導したニューロスフェアは長期の維持培養が可能で凍結保存も可能なことから、実用的な創薬評価に適していると考えられた。また、化合物により短期間で神経前駆細胞を誘導する方法は、簡便でマルチプレートの使用が可能なスループットの高い方法であるため、化合物探索に適している。ALS 患者由来 iPS 細胞および運動神経細胞において同定された発現変動タンパク質について検証実験を進め、病態に関係する創薬標的を同定し、薬剤探索につなげる。

【呼吸器疾患特異的 iPS 細胞作製】

難治性呼吸器疾患の病態解明のため、疾患 iPS 細胞を樹立し、iPS 細胞から肺細胞への分化誘導法を開発を

行った。

稀少疾患が対象であるため、研究期間内に想定したすべての疾患に関して十分な検体を得ることは不可能であったが、特定の疾患に関しては、研究遂行に足る疾患 iPS 細胞樹立まで達成することができた。

肺細胞への分化法は、ES 細胞の手法を参考に進め、内胚葉系共通の低い分化効率の問題は残るが、予定した肺胞上皮・気道上皮への分化を確認し得た。

【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】

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られる。複数の疾患で iPS 細胞の病態再現を行うことができたが、この成果を次年度以降に生かすために、引き続き精力的に研究を行いたい。

E：結論

疾患関連 iPS 細胞を用いた研究はまだ始まったばかりであるが、本研究班では非常に多くの試料を収集するとともに、病態解析・病因究明という大きな目標に向けて、順調に研究が進行している。標準化に関する研究では、iPS 細胞はその分化能力において、ES 細胞と比較して劣ることはないことが判明し、iPS 細胞を利用した疾患研究の信頼性が担保された。また、各種の疾患 iPS 細胞から、個別化医療に有用である可能性も示されている。今後も研究に邁進し、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：研究発表

1. 論文発表 英文

- 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):242-250, 2009.
- Chang H., Yoshimoto M., Umeda K., Iwasa T., Mizuno Y., Fukada SI., Yamamoto H., Motohashi N., Suzuki Y.M., Takeda S., Heike T., Nakahata T.: Generation of transplantable, functional satellite-like cells from mouse embryonic stem cells. *FASEB J.* 23:1907-1919, 2009.
- Higashi A.Y., Ikawa T., Muramatsu M., Economides

- A.N., Niwa A., Okuda T., Murphy AJ., 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.
4. 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.
 5. 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.
 6. 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.
 7. 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., Gorochov G., Sakaguchi S.: Functional delineation and differentiation dynamics of human CD4⁺ T cells expressing the FoxP3 transcription factor. *Immunity* 30:899-911, 2009.
 8. Yoshimoto M., Heike T., Chang H., Kanatsu-Shinohara M., Baba S., Varnau J.T., Shinohara T., Yoder M.C., Nakahata T.: Bone marrow engraftment but limited expansion of hematopoietic cells from multipotent germline stem cells derived from neonatal mouse testis. *Exp Hematol* 37:1400-1410, 2009.
 9. Hirami Y., Osakada F., Takahashi K., Okita K., Yamanaka S., Ikeda H., Yoshimura N., Takahashi M; Generation of retinal cells from mouse and human induced pluripotent stem cells. *Neurosci Lett.* 2009 458:126-131
 10. Osakada F, Ikeda H, Sasai Y, Takahashi M; Stepwise differentiation of pluripotent stem cells into retinal cells. *Nature Protocols.*2009 4(6):811-824
 11. Otsuka S, Aoyama T, Furu M, Ito K, Jin Y, Nasu A, Fukiage K, Kohno Y, Maruyama T, Kanaji T, Nishiura A, Sugihara H, Fujimura S, Otsuka T, Nakamura T, Toguchida J.: PGE2 signal via EP2 receptors evoked by a selective agonist enhances regeneration of injured articular cartilage. *Osteoarthritis Cartilage.* 2009 Apr 17(4): 529-38.
 12. Lau F, Ahfeldt T, Osafune K, Akutsu H, Cowan CA; Induced pluripotent stem (iPS) cells: an up-to-the-minute review. *F1000 Biol. Rep.* 2009; 1: 84.
 13. Oga T, Matsuoka T, Yao C, Nonomura K, Kitaoka S, Sakata D, Kita Y, Tanizawa K, Taguchi Y, Chin K, Mishima M, Shimizu T, Narumiya S. Prostaglandin F(2alpha) receptor signaling facilitates bleomycin-induced pulmonary fibrosis independently of transforming growth factor-beta. *Nat Med.* 2009 Dec;15(12):1426-30. Epub 2009 Nov 29.
 14. 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.
 15. Kubota M., Adachi S., Usami I., Okada M., Kitou T., Shiota M., Taniguchi Y., Tanizawa A., Nanbu M., Hamahata K., Fujino H., Matsubara K., Wakazono Y., Nakahata T.: Characterization of chronic idiopathic thrombocytopenic purpura in Japanese children: a retrospective multi-center study. *Int. J. Hematol.* 91:252-257,2010.
 16. 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.* 24:2245-2253, 2010.
 17. Kuroda Y., Kitada M., Wakao S., Nishikawa K., Tanimura Y., Makinoshima H., Goda M., Akashi H., Inutsuka A., Niwa A., Nabeshima Y., Nakahata T., Nabeshima Y., Fujiyoshi Y., Dezawa M.: Muse cells – unique multipotent cells in human mesenchymal cell populations. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 107:8639-8643, 2010.
 18. Matsuda K., Taira C., Sakashita K., Saito S., Yanagisawa MT., Yanagisawa R., Yozo Nakazawa Y., Shiohara M., Fukushima K., Oda M., Honda T., Nakahata T., Koike K.: Long-term survival after non-intensive chemotherapy in some juvenile

- myelomonocytic leukemia patients with *CBL* mutations, and the possible presence of normal individuals with the mutations. *Blood* 115:5429-5431, 2010.
19. Matsuse D., Kitada M., Kohama M., Nishikawa K., Makinoshima H., Wakao S., Fujiyoshi Y., Heike T., Nakahata T., Akutsu H., Umezawa A., Harigae H., Kita J., Dezawa M.: Human umbilical cord-derived mesenchymal stromal cells differentiate into functional Schwann cells that sustain peripheral nerve regeneration. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 69:973-985, 2010.
 20. Kumada T., Yamanaka Y., Kitano A., Shibata M., Awaya T., Kato T., Okawa K., Abe T., Oshima N., Nakahata T., Heike T.: Ttyh1, a Ca²⁺-binding protein localized to the endoplasmic reticulum, is required for early embryonic development. *Develop. Dynam.* 239:2233-2245, 2010.
 21. Kaichi S., Hasegawa K., Takaya T., Yokoo N., Mima T., Kawamura T., Morimoto T., Baba S., Doi H., Yamanaka S., Nakahata T., Heike T.: Cell line-dependent differentiation of induced pluripotent stem cells into cardiomyocytes in mice. *Cardiovascular Res.* 88(2): 314-323, 2010.
 22. Iwasa T., Baba S., Doi H., Kaichi S., Yokoo N., Mima T., Kanatsu-Shinohara M., Shinohara T., Nakahata T., Heike T.: Neonatal mouse testis-derived multipotent germline stem cells improve the cardiac function of acute ischemic heart mouse model. *Biochem. Biophys. Res. Com.* 400:27-33, 2010.
 23. Ito K, Aoyama T, Fukiage K, Otsuka S, Furu M, Jin Y, Nasu A, Ueda M, Kasai Y, Ashihara E, Kimura S, Maekawa T, Kobayashi A, Yoshida S, Niwa H, Otsuka T, Nakamura T, Toguchida J.: A novel method to isolate mesenchymal stem cells from bone marrow in a closed system using a device made by non-woven fabric. *Tissue Eng Part C Methods.* 2010 Feb 16(1): 81-91.
 24. Matsui H, Ito H, Taniguchi Y, Takeda S, Takahashi R. Ammonium chloride and tunicamycin are novel toxins for dopaminergic neurons and induced Parkinson's disease-like phenotypes in medaka fish, *J Neurochem*, 115:1150-60. 2010
 25. Matsui H, Ito H, Taniguchi Y, Takeda S, Takahashi R. Ammonium chloride and tunicamycin are novel toxins for dopaminergic neurons and induced Parkinson's disease-like phenotypes in medaka fish, *J Neurochem*, 115:1150-60. 2010
 26. Egawa N, Yamamoto K, Inoue H, Hikawa R, Nishi K, Mori K, Takahashi R. The endoplasmic reticulum stress sensor, ATF6 α , protects against neurotoxin-induced dopaminergic neuronal death, *J Biol Chem*, 286:7947-57. 2010
 27. Inoue H. Neurodegenerative disease-specific induced pluripotent stem cell research. *Experimental cell Research.* 2010; 316(16): 2560-2564.
 28. Osafune K; *In vitro* regeneration of kidney from pluripotent stem cells. *Exp. Cell Res.* 2010 Oct 1; 316(16): 2571-7.
 29. Haruna A, Muro S, Nakano Y, Ohara T, Hoshino Y, Ogawa E, Hirai T, Niimi A, Nishimura K, Chin K, Mishima M. CT scan findings of emphysema predict mortality in COPD. *Chest.* 2010 Sep;138(3):635-40.
 30. Morishima T., Watanabe K., Niwa A., Fujino H., Matsubara H., Adachi S., Suemori H., Nakahata T., Heike T.: Neutrophil differentiation from human-induced pluripotent stem cells. *J. Cell. Physiol.* 226(5):1283-1291, 2011.
 31. Heike T., Saito M., Nishikomori R., Yasumi T., Nakahata T.: Autoinflammatory diseases-a new entity of inflammation. *Inflammation and Regeneration* 31:125-136, 2011.
 32. Yamanaka Y., Kitano A., Takao K., Prasansuklab A., Mushiroda T., Yamazaki K., Kumada T., Shibata M., Takaoka Y., Awaya T., Kato T., Nakahata T., Heike T.: Inactivation of fibroblast growth factor binding protein 3 causes anxiety-related behaviors. *Mol. Cell. Neurosci.* 46:200-212, 2011.
 33. Kamio T., Ito E., Ohara A., Kosaka Y., Tsuchida M., Yagasaki H., Mugishima H., Yabe H., Morimoto A., Ohga S., Muramatsu H., Hama A., Kaneko T., Nagasawa M., Kikuta A., Osugi Y., Bessho F., Nakahata T., Tsukimoto I., Kojima S.: Relapse of aplastic anemia in children after immunosuppressive therapy: a report from the Japan Childhood Aplastic Anemia Study Group. *Haematologica* 96: 814-819, 2011.
 34. Yoshida N., Yagasaki H., Hama A., Takahashi Y., Kosaka Y., Kobayashi R., Yabe H., Kaneko T., Tsuchida M., Ohara A., Nakahata T., Kojima S.: Predicting response to immunosuppressive therapy in childhood aplastic anemia. *Haematologica* 96: 771-774, 2011.
 35. Kawagoe S., Higuchi T., Xing-Li M., Shimada Y., Dhimizu H., Fukuda T., Chang H., Nakahata T., Fukada S., Ida H., Ohashi T., Eto Y.: Generation of induced pluripotent stem (iPS) cells derived from a murine model of Pompe disease and differentiation

- of Pompe-iPS cells into skeletal muscle cells. *Mol. Genet. Metab.* 104: 123-128, 2011 Sep-Oct. doi:10.1016/j.ymgme.2011.05.020.
36. Niwa A., Heike T., Umeda K., Oshima K., Kato I., Sakai H., Suemori H., Nakahata T., Saito M.: A novel serum-free monolayer culture for orderly hematopoietic differentiation of human pluripotent cells via mesodermal progenitors. *PloS ONE* 2011;6(7):e22261.
 37. Murata Y., Yasumi T., Shirakawa R., Izawa K., Sakai H., Abe J., Tanaka N., Kawai T., Oshima K., Saito M., Nishikomori R., Ohara O., Ishii E., Nakahata T., Horiuchi H., Heike T.: Rapid diagnosis of familial hemophagocytic lymphohistiocytosis type 3 (FHL3) by flow cytometric detection of intraplatelet Munc 13-4 protein. *Blood* 118: 1225-1230, 2011.
 38. Yahata N., Asai M., Kitaoka S., Takahashi K., Asaka I., Hioki H., Kaneko T., Maruyama K., Saido T.C., Nakahata T., Asada T., Yamanaka S., Iwata N., Inoue H.: Anti-Ab Drug Screening Platform Using Human iPS Cell-Derived Neurons for the Treatment of Alzheimer's Disease. *PLoS ONE* 2011;6(9):e25788. Sep
 39. Kato I, Niwa A, Heike T, Fujino H, Saito MK, Umeda K., Hiramatsu H., Ito M., Morita M., Nishinaka Y., Adachi S., Ishikawa F., Tatsutoshi Nakahata T.: Identification of Hepatic Niche Harboring Human Acute Lymphoblastic Leukemic Cells via the SDF-1/CXCR4 Axis. *PLoS ONE* 2011; 6(11): e27042. doi:10.1371/journal.pone.0027042
 40. Tanaka N., Nishikomori R., Saito M., Izawa K., Sakuma M., Morimoto T., Kambe N., Watanabe S., Oshima K., Ohara O., Goldbach-Mansky R., Aksentijevich I., Arostegui J.I., Yague Jm Joost F., van Gijn M.E., SaintBasile G., Pontillo A., Kawai T., Yasumi T., Nakahata T., Horiuchi H., Heike T.: High incidence of NLRP3 somatic mosaicism in chronic infantile neurological cutaneous and articular syndrome patients; the results of an international multicenter collaborative study. *Arthritis Rheum.* 63:3625-3632,2011.
 41. Jin ZB, Okamoto S, Osakada F, Homma K, Assawachananont J, Hirami Y, Iwata T, Takahashi M; Modeling Pathogenesis of Retinal Degeneration Using Patient-derived Induced Pluripotent Stem Cells *Plos One*.2011;6(2):e17084
 42. Nishigaki T, Teramura Y, Nasu A, Takada K, Toguchida J, Iwata H. Highly efficient cryopreservation of human induced pluripotent stem cells using a dimethyl sulfoxide-free solution. *Int J Dev Biol.* 2011 55(3): 305-11.
 43. Murakami G, Inoue H, Tsukita K, Asai Y, Amagai Y, Aiba K, Shimogawa H, Uesugi M, Nakatsuji N, Takahashi R; Chemical library screening identifies a small molecule that downregulates SOD1 transcription for drugs to treat ALS, *J Biomol Screen,* 16:405-14. 2011
 44. Inoue H, Yamanaka S. The Use of Induced Pluripotent Stem Cells in Drug development. *Clinical Pharmacology & Therapeutics.* 2011; 89(5): 655-661.
 45. Fujiwara, M., Yan, P., Otsuji, T.G., Narazaki, G., Uosaki, H., Fukushima, H., Kuwahara, K., Harada, M., Matsuda, H., Matsuoka, S., Okita, K., Takahashi, K., Nakagawa, M., Ikeda, T., Sakata, R., Mummery, C.L., Nakatsuji, N., Yamanaka, S., Nakao, K., Yamashita, J.K.. "Induction and enhancement of cardiac cell differentiation from mouse and human induced pluripotent stem cells with cyclosporin-a." *PLoS ONE* 6, e16734, 2011.
 46. Yahata N, Asai M, Kitaoka S, Takahashi K, Asaka I, Hioki H, Kaneko T, Maruyama K, Saido T.C, Nakahata T, Asada T, Yamanaka S, Iwata N, Inoue H: Anti-A β drug screening platform using human iPS cell-derived neurons for the treatment of Alzheimer's disease. *PLoS One.* 2011; 6(9): e25788.
 47. Tanabe N, Muro S, Hirai T, Oguma T, Terada K, Marumo S, Kinose D, Ogawa E, Hoshino Y, Mishima M. Impact of exacerbations on emphysema progression in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med.* 2011 Jun 15;183(12):1653-9.
 48. Hiejima E., Komatsu H., Takeda Y., Sogo T., Inui A., Okafuji I., Nishikomori R., Nakahata T., Fujisawa T.: Acute liver failure in young children with systemic-onset juvenile idiopathic arthritis without macrophage activation syndrome: Report of two cases. *J. Pediatr. Child Health.* in press.
 49. Sakai H., Okafuji I., Nishikomori R., Abe J., Izawa K., Kambe N., Yasumi T., Nakahata T., Heike T.: The CD40-CD40L axis and INF-g play critical roles in Langerhans giant cell formation. *Int. Immunol.* In press.
 50. Kitaoka S, Kondoh H, Inoue H. Induced Pluripotent Stem Cell Technology for the Study of Neurodegenerative Diseases. *Induced Stem Cells,* chapter 5, Nova Science Publishers Inc, New York [In Press].

邦文

1. 中畑龍俊：疾患特異的 iPS 細胞. 『学術の動向』 14(9):78-83, 2009.
 2. 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.
 3. 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 139(3):632-634, 2010.
 4. 中畑龍俊：iPS 細胞は長寿へ導く夢のタイムマシンである (特集 02 カラダを再生する画期的な細胞の誕生). Back Up 30:8-12, 2011.
 5. 中畑龍俊：小児医療をめぐる最先端医学 iPS 細胞を用いた今後の医療. (特集 小児医療の最先端—これからの新たな展望—) 東京小児科医会報 29 (3) :26-33, 2011.
 6. 中畑龍俊：iPS 細胞の臨床応用の展望. BIO Clinica 26 (9):16-17 2011.
 7. 中畑龍俊：疾患特異的 iPS 細胞を用いた遺伝子治療・個別化医療. 小児科 52 (12) :1743-1749, 2011.
 8. 長船健二；iPS 細胞を用いた腎臓再生と新規腎疾患モデルの作製、医学のあゆみ (医歯薬出版) 2011;236(13): 1191-2.
2. 学会発表
1. 中畑龍俊：特別講演、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 2009 年 10 月 2-4 日 (4 日) 京都市リサーチパーク 京都市
 2. 中畑龍俊：特別講演、iPS 細胞産業化の課題に関する論点整理. BioJapan 2009～World Business Forum～ 2009 年 10 月 9 日 パシフィコ横浜 横浜市
 3. 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 2009 年 4 月 17 日 奈良文化会館 奈良県奈良市
 4. 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 2009 年 4 月 17 日 奈良文化会館 奈良県奈良市
 5. 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, December 5-8, 2009, New Orleans, Louisiana (Poster)
 6. 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 2009 年 2 月 5-6 日 (6 日) 北海道厚生年金会館 北海道札幌市
 7. 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 2009 年 4 月 17 日 奈良文化会館 奈良県奈良市
 8. 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：NOD 2 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 2009 年 4 月 17 日 奈良文化会館 奈良県奈良市
 9. 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 2009 年 4 月 23-26 日 グランドプリンスホテル新高輪 東京都
 10. 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
 11. 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 2009 年 10 月 23-25 日 国立京都国際会館 京都市
 12. 中畑龍俊：Future of regenerative medicine with various stem cells. The 3rd International Symposium of Lysosomal Storage Diseases(第 13 回国際ライゾーム病シンポジウム) 2009 年 9 月 26-27 日 名古屋能楽堂 名古屋市
 13. Kikuchi, T., Morizane, A., Doi, D., Takahashi, J.: Feeder-free and chemically-defined culture method to induce neural cells from human ES and iPS cells:

- Poster session 808.10: Society for Neuroscience 39th Annual Meeting, October 17-21, 2009. Chicago, IL, USA.
14. 浅香 勲：疾患特異的 iPS の樹立と標準化への課題；第 22 回日本動物実験代替法学会シンポジウム 2「ES, iPS 細胞を用いた代替法研究」：2009 年 11 月 14 日，大阪
 15. 中畑龍俊：特別講演：iPS 細胞を用いた今後の医療。第 47 回日本小児神経学会近畿地方会 2010 年 2 月 13 日 ピアザ淡海 大津市
 16. 中畑龍俊：特別講演：疾患特異的 iPS 細胞を用いた今後の医療。第 12 回外科分子細胞治療研究会 2010 年 4 月 8 日 名古屋国際会議場 名古屋市
 17. 中畑龍俊：教育講演：小児における再生医療の展望。第 113 回日本小児科学会学術集会 2010 年 4 月 23-25 日 (23 日) 盛岡市民文化ホール、盛岡市
 18. 中畑龍俊：教育講演：Various clinical applications of human induced pluripotent stem cells(iPS cells). 第 16 回日本遺伝子治療学会学術集会
 19. 2010 年 7 月 1-3 日 (3 日) 栃木県総合文化センター、宇都宮市
 20. 中畑龍俊：教育講演：iPS を用いた今後の医療。第 24 回日本手術看護学会年次大会 2010 年 9 月 17 日-18 日 (17 日) 国立京都国際会館、京都市
 21. 中畑龍俊：教育講演：iPS 細胞の臨床展開。第 31 回日本臨床薬理学会年会 2010 年 12 月 1-3 日 (1 日) 国立京都国際会館、京都市
 22. 中畑龍俊、伊藤守：再生医療の基礎研究に有用なヒト化動物。第 57 回日本実験動物学会総会 シンポジウム 3 (テーマ：再生医療の幕を開く動物実験) 5 月 12-14 日 (14 日) 京都テルサ、京都市
 23. Mizoguchi Y, Tsumura M, Okada S, Sakai H, Nishikomori R, Yasunaga S, Ohtsubo M, Murata T, Obata H, Yasumi T, Heike T, Nakahata T, Takihara Y, Kobayashi M: A novel Mutation K673R in STAT1 impaired the STAT1 signal transduction in a dominant-Negative manner identified in a Japanese boy with MSMD. 52nd Annual Meeting of the AMERICAN SOCIETY OF HEMATOLOGY, December 4-7, 2010, Orlando, Florida (ポスター)
 24. 丹羽明、齋藤潤、加藤格、大嶋宏一、百瀬大、高橋和利、末盛博文、中辻憲夫、山中伸弥、平家俊男、中畑龍俊：ヒト ES/iPS 細胞からの試験管内造血系を用いた分化過程の解析。第 9 回日本再生医療学会総会 2010 年 3 月 18-19 日 (19 日) 広島国際会議場 広島市
 25. 中畑龍俊：疾患特異的 iPS 細胞を用いた今後の医療。第 47 回日本臨床分子医学会学術集会 2010 年 4 月 10-11 日 (11 日) 東京国際フォーラム 東京都
 26. 中畑龍俊：Derivation of Engraftable Myogenic Precursors from Murine ES/iPS cells and Generation of Disease-specific iPS cells from Patients with Duchenne Muscular dystrophy(DMD) and Other Diseases. 51st Annual Meeting of the Japanese Society of Neurology(第 51 回日本神経学会総会) Symposium 7(The Forefront of Regenerative Medicine Research) 2010 年 5 月 20-22 日 (22 日) 東京国際フォーラム、東京
 27. 中畑龍俊：iPS 細胞と疾患モデル細胞。(ミニシンポジウム 1：血液免疫関連疾患と iPS 細胞) 第 31 回日本炎症・再生医学会 2010 年 8 月 5-6 日 (5 日) 京王プラザホテル、東京
 28. 西小森隆太、田中尚子、井澤和司、酒井秀政、村田祐樹、横山宏司、阿部純也、田中孝之、齋藤潤、河合朋樹、八角高裕、中畑龍俊、平家俊男：抗 IL-1 療法 (ワークショップ 2：サイトカインを標的とした病態制御の可能性) 第 31 回日本炎症・再生医学会 2010 年 8 月 5-6 日 (5 日) 京王プラザホテル、東京
 29. 粟屋智就、張璽、水野雄太、丹羽明、加藤竹雄、深田宗一郎、山元弘、山中伸弥、中畑龍俊、平家俊男：マウス胚性幹細胞および誘導多能性幹細胞からの骨格筋幹/前駆細胞の誘導と移植効果 (ワークショップ 7：組織幹細胞による臓器再生) 第 31 回日本炎症・再生医学会 2010 年 8 月 5-6 日 (5 日) 京王プラザホテル、東京
 30. 丹羽明、齋藤潤、加藤格、大嶋宏一、末盛博文、平家俊男、中畑龍俊：ヒト ES/iPS 細胞からの in vitro 二次元無血清造血誘導における、分化過程の経時的解析 (ポスター) 第 31 回日本炎症・再生医学会 2010 年 8 月 5-6 日 京王プラザホテル、東京
 31. Tatsuya Morishima, Ken-Ichiro Watanabe, Akira Niwa, Hisanori Fujino, Souichi Adachi, Tatsutoshi Nakahata: Neutrophil differentiation from human induced pluripotent stem(iPS) cells for disease investigation. 第 72 回日本血液学会学術集会 2010 年 9 月 24-26 日 パシフィコ横浜、横浜市
 32. Akira Niwa, Toshio Heike, Katsutsugu Umeda, Koichi Ohima, Itaru Kato, Hirofumi Suemori, Megumu Saito, Tatsutoshi Nakahata: Tracing the developmental route from human ESC/iPSCs to blood via mesoderm in

- Serum-free 2D culture. (口演) 第72回日本血液学会学術集会 2010年9月24-26日 パシフィコ横浜、横浜市
33. Nao Yoshida, Shinsuke Hirabayashi, Yuji Zaike, Masahiro Tsuchida, Ayami Yoshimi, Atsuko Masunaga, Masahumi Ito, Yoshitoshi Otsuka, Seiji Kojima, Kenichi Koike, Tatsutoshi Nakahata, Atsushi Manabe: A prospective registration of 75 children with juvenile myelomonocytic leukemia. (口演) 第72回日本血液学会学術集会 2010年9月24-26日 パシフィコ横浜、横浜市
 34. Miyuki Tsumura, Satoshi Okada, Hidemasa Sakai, Ryuta Nishikomori, Yoko Mizoguchi, Shin'ichiro Yasunaga, Motoaki Ohtsubo, Toshio Heike, Tatsutoshi Nakahata, Yoshihiro Takihara, Masao Kobayashi: Identification of novel mutation in STAT1 and molecular pathogenesis of MSMD. (口演) 第72回日本血液学会学術集会 2010年9月24-26日 パシフィコ横浜、横浜市
 35. ZB.Jin, S.Okamoto, M.Takahashi ; Invitro Induction of Retinitis Pigmentosa-Specific Photoreceptor Cells From patient-Derived Induced Pluripotent Stem Cells: ARVO Annual meeting, May 2-6, 2010. Florida, USA
 36. Nasu, A., Kato, T., Tamaki, S., Hayakawa, K., Mitsui, H., Sato, S., Kobayashi, K., Aoyama, T., Takahashi, K., Yamanaka, S., Toguchida, J.: Comparison of human iPSCs generated with cells derived from a single donor but from different tissue origins. 8th ISSCR, June 17, 2010. San Francisco, CA, USA.
 37. Komatsu K, Inoue H, Kondo T, Kitaoka S, Ichisaka T, Takahashi K, Yamanaka S, Takahashi R : stablishment of iPS cells from amyotrophic lateral sclerosis model mice. The 33rd Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society, Kobe, Japan (2010.9.2)
 38. 菊地哲広、森実飛鳥、土井大輔、尾上浩隆、林 拓也、川崎俊之、宮本 享、高橋 淳:パーキンソン病モデルサルに対するヒト iPS 細胞由来ドーパミン神経移植;社団法人日本脳神経外科学会第 69 回学術総会,2010.10.27-29,福岡
 39. 安達啓子、中村恒史、浅見麻乃、岡田洋平、岡野栄之、中西 淳 : iPS 細胞由来ヒト神経細胞を用いた創薬評価系の構築 ; 第 33 回日本神経科学会、第 53 回日本神経化学会、第 20 回日本神経回路学会 の合同大会, 2010 年 9 月 2 日~4 日, 神戸.
 40. 八幡直樹、井上治久、北岡志保、月田香代子、近藤孝之、江川齊宏、浅香勲、高橋和利、中畑龍俊、川勝忍、高橋良輔、朝田隆、山中伸弥 : 若年性アルツハイマー病患者由来 iPS 細胞の樹立・解析 ; 第 51 回日本神経学会総会, 2010 年 5 月 22 日, 東京
 41. 中畑龍俊 : 特別講演 : iPS 細胞を用いた今後の医療. 第 60 回日本医学検査学会 2011 年 6 月 5 日 東京国際フォーラム、東京
 42. 中畑龍俊 : 特別講演 : 小児疾患における iPS 細胞の応用. 第 53 回日本小児血液・がん学会学術集会 2011 年 11 月 25~27 日 (25 日) ベイシア文化ホール、前橋市
 43. 中畑龍俊 : iPS 細胞を用いた今後の医療. 第 60 回日本医学検査学会 (市民公開講座) 2011 年 6 月 6 日 東京国際フォーラム、東京
 44. 中畑龍俊 : 教育講演 : 疾患特異的 iPS 細胞を用いた今後の医療. 第 28 回日本医学会総会 2011 年 9 月 17-18 日 (18 日) 東京国際展示場、東京
 45. 中畑龍俊、伊藤守 : 再生医療の基礎研究に有用なヒト化動物. 第 57 回日本実験動物学会総会 シンポジウム 3 (テーマ : 再生医療の幕を開く動物実験) 2011 年 5 月 14 日 京都テルサ、京都
 46. Tatsutoshi Nakahata: Various clinical applications of human induced pluripotent stem cells. (Keynote Lecture) 2011 International Symposium on Recent Advances in Pluripotent Stem Cells & 7th Annual Meeting of Taiwan Society for Stem Cell Research 2011 年 10 月 1 日 Taipei Medical University (Taiwan)
 47. 粟屋智就、加藤竹雄、柴田実、中畑龍俊、平家俊男 : ヒト ES/iPS 細胞から骨格筋への分化誘導と筋疾患への応用. 第 114 回日本小児科学会学術集会 2011 年 8 月 12-14 日 (13 日) (口演) グランドプリンスホテル新高輪、東京
 48. 田中孝之、斎藤潤、西小森隆太、平家俊男、中畑龍俊 : 患者特異的 iPS 細胞を用いた CINCA 症候群体細胞モザイクでの病態の再現と解析. 第 114 回日本小児科学会学術集会 2011 年 8 月 12-14 日 (14 日) (口演) グランドプリンスホテル新高輪、東京
 49. 酒井秀政、岡藤郁夫、西小森隆太、阿部純也、八角高裕、中畑龍俊、平家俊男 : Langhans 型巨細胞の形成には CD40-CD40L シグナルが必須である. 第 114 回日本小児科学会学術集会 2011 年 8 月 12-14 日 (13 日) (ポスター) グランドプリンスホテル新高輪、東京
 50. 田中尚子、井澤和司、斎藤潤、作間未織、大嶋宏一、小原収、西小森隆太、森本剛、中畑龍俊、平家俊男 : NLRP3 体細胞モザイクは CINCA 症候群の 25%以上に認められる. 第 114 回日本小児科学会学術集会 2011 年 8 月 12-14 日 (13 日) (ポスター) グランドプリンスホテル新高輪、東京
 51. Daisuke Hasegawa, Xiaojuan Chen, Shinsuke Hirabayashi, Shizuka Watanabe, Yuhji Zaike, Masahiro Tsuchida, Atsuko Masunaga, Ayami Yoshimi, Asahito Hama, Seiji Kojima, Masafumi Ito, Yasushi Ishida, Tatsutoshi Nakahata, Atsushi Manabe: Refractory Cytopenia of Childhood(RCC):A prospective study using a central review by the JSPH. 第 73 回日本血液学会学術集会 2011 年 10 月 14-16 日 (14 日) 名古屋国際会議場、名古屋市
 52. Miyuki Tsumura, Satoshi Okada, Hidetoshi Sakai,

Ryuta Nishikomori, Shin'ichiro Yasunaga, Motoaki Ohtsubo, Toshio Heike, Tatsutoshi Nakahata, Yoshihiro Takihara, Masao Kobayashi: Identification of a novel type of AD-STAT1 deficiency with mutations in the SH2 domain. 第73回日本血液学会学術集会 2011年10月14-16日(15日) 名古屋国際会議場、名古屋市

53. Takahashi M; Utilization of iPS cells for retinal degenerative medicine: ARVO International Society for Ocular Cell Biology 2011.September.7-10 2011. Vancouver, Canada
54. Kondo T, Inoue H, Minakawa E, Koshiba Y, Washida K, Egawa N, Takahashi K, Nakahata T, Yamanaka S, Takahashi R: Generation of disease-specific induced pluripotent stem cells from sporadic Parkinson's disease patients: The 34rd Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society, Yokohama, Japan (2011.9.15)
55. Kazutoshi Takahashi, Koji Tabnabe, Aki Okada and Shinya Yamanaka. AKT relates to c-MYC in the promotion of reprogramming. 9th International society of stem cell research. 2011年6月、カナダ・トロント
56. 井上治久：iPS細胞作製技術を用いた神経変性疾患の研究。日本老年精神医学会, 2011年6月16日, 東京
57. 長船健二：iPS細胞技術を用いた肝臓再生医療の開発；第28回日本医学会総会, 2011年4月8日, 東京。
58. 長船健二：iPS細胞技術を用いた慢性腎臓病・糖尿病・肝不全に対する再生医療開発に向けた研究；第84回日本内分泌学会学術総会, 2011年4月22日, 神戸

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

発明の名称：インフラマソームの活性を抑える薬剤をスクリーニングする方法

発明者：Tatsutoshi Nakahata
Megumu Saito
Takayuki Tanaka

特許出願人：京都大学

米国仮出願日：2010年11月18日

米国仮出願番号：61/415, 102

発明の名称：多能性幹細胞からの好酸球の製造方法

発明者：Tatsutoshi Nakahata
Kohichiro Tsuji
Feng Ma
Hirohisa Saito
Kenji Matsumoto

特許出願人：京都大学

米国仮出願日：2010年12月3日

米国仮出願番号：61/419, 496

発明の名称：多能性幹細胞からの樹状細胞への分化誘導法

発明者：Tatsutoshi Nakahata

Megumu Saito

Akira Niwa

Masakatsu Yanagimachi

特許出願人：京都大学

米国仮出願日：2011年2月23日

米国仮出願番号：61/445, 856

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし