

201231117A

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業）

希少疾患への治療応用を目指した臍帯および臍帯血
由来細胞の系統的資源化と
その応用に関する研究

平成24年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 長村（井上） 登紀子

平成25（2013）年 3月

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業）

希少疾患への治療応用を目指した臍帯および臍帯血
由来細胞の系統的資源化と
その応用に関する研究

平成24年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 長村（井上） 登紀子

平成25（2013）年 3月

平成 24 年度

臍帯血・臍帯由来 MSC の分離培養・凍結方法の確立とバンキングの研究 研究班名簿

区分	氏名	所属等
研究代表者	長村(井上)登紀子	東京大学医科学研究所附属病院 セルプロセッシング・輸血部
研究分担者	角田 肇	N T T 東日本関東病院・分娩部
研究分担者	東條 有伸	東京大学医科学研究所・先端医療研究センター・分子療法部
研究分担者	幸道 秀樹	献血供給事業団・東京臍帯血バンク部
研究分担者	麦島 秀雄	日本大学医学部・小児科
研究分担者	森尾友宏	東京医科歯科大学大学院・歯学総合研究科・発生発達病態分野
研究分担者	辻 浩一郎	東京大学医科学研究所 幹細胞治療センター・幹細胞プロセッシング分野
研究分担者	縣 秀樹	東京大学医科学研究所・先端医療研究センター・分子療法部
研究分担者	長村 文孝	東京大学医科学研究所・先端医療研究センター・先端医療開発推進分野

目 次

I. 総括研究報告	
希少疾患への治療応用を目指した臍帯および臍帯血由来細胞の系統的資源化と その応用に関する研究	1
長村（井上）登紀子（東京大学医科学研究所附属病院 セルプロセッシング・輸血部）	
資料 1. 臍帯血・臍帯採取・細胞処理保存・検査・出庫までのフローチャート	
II. 分担研究報告	
1. 臍帯血・臍帯由来 MSC の分離培養・凍結方法の確立とバンキングの研究	15
長村登紀子（東京大学医科学研究所附属病院 セルプロセッシング・輸血部）	
2. 臍帯血と臍帯の効率的採取方法の研究	26
角田 肇（N T T 東日本関東病院・分娩部）	
3. 臍帯由来間葉系幹細胞の免疫制御作用の研究	27
東條 有伸（東京大学医科学研究所・先端医療研究センター・分子療法部）	
4. 臍帯由来間葉系幹細胞を用いた脳室周囲白質軟化症・気管支肺異形成症の治療開発	32
森尾友宏（東京医科歯科大学大学院・歯学総合研究科・発生発達病態分野）	
5. 臍帯由来 MSC による臍帯血移植における生着促進効果	35
麦島 秀雄（日本大学医学部・小児科）	
6. 先天性骨形成不全症、軟骨無形成症に対する臍帯由来間葉系幹細胞を用いた 治療法の開発	37
辻 浩一郎（東京大学医科学研究所 幹細胞治療センター・幹細胞プロセッシング分野）	
7. 臍帯由来間葉系幹細胞(hCMSC)の骨分化能解析と骨系統疾患治療への 応用可能性検討	45
縣 秀樹（東京大学医科学研究所・先端医療研究センター・分子療法部）	
8. 臍帯血・臍帯の品質管理と搬送システムの確立	50
幸道 秀樹（献血供給事業団・東京臍帯血バンク部）	
9. 臍帯・臍帯血由来幹細胞臨床応用に必要な非臨床試験及び規制に関する研究	54
長村 文孝（東京大学医科学研究所・先端医療研究センター・先端医療開発推進分野）	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	59
IV. 資料	
1. 平成 24 年度第 1 回研究報告会	63
2. 平成 24 年度第 2 回研究報告会	79
3. 臍帯血・臍帯の製剤化に向けた工程概要	99
4. 臍帯血と臍帯採取に関する書類	103

I. 総括研究報告書

総括研究報告書

研究課題：希少疾患への治療応用を目指した臍帯および臍帯血由来細胞の系統的資源化と
その応用に関する研究

課題番号：H24 - 難治等(難) - 一般 - 016

研究代表者：長村登紀子 東京大学医科学研究所附属病院セルプロセッシング・輸血部

研究分担者：角田 肇 NTT東日本関東病院・分娩部

研究分担者：東條 有伸 東京大学医科学研究所・先端医療研究センター・分子療法部

研究分担者：幸道 秀樹 献血供給事業団・臍帯血バンキング（東京臍帯血バンク）

研究分担者：麦島 秀雄 日本大学医学部・小児科

研究分担者：森尾友宏 東京医科歯科大学大学院・歯学総合研究科・発生発達病態分野

研究分担者：辻 浩一郎 東京大学医科学研究所幹細胞治療センター

幹細胞プロセッシング分野

研究分担者：縣 秀樹 東京大学医科学研究所・先端医療研究センター・分子療法部

研究分担者：長村 文孝 東京大学医科学研究所・先端医療研究センター・

先端医療開発推進分野

研究要旨：本研究は、①希少・難治性疾患に対する細胞治療を目的として、*Off-the-shelf*の臍帯血と臍帯由来間葉系幹細胞(MSCs)の系統的資源化（バンキング）システムの構築と、②これらを治療に応用するために必要な性状解析と基礎研究の2点を主として研究した。

(1)系統的資源化；平成24年度は、臍帯由来MSCsの分離・培養方法と採取から凍結保存までの一連の検体管理システムについて検討した。その結果、臍帯血と臍帯の同時採取は可能であり、臍帯から動静脈を除去後、*explant*法にて細胞を分離培養し、1gから中央値 2×10^6 個の細胞が得られることが分かった。得られた臍帯由来MSCsは骨髄由来MSCsと同様に付着性を有し、 $CD73^+CD105^+HLA-Class I^+, HLA Class II^-CD45^-$ を呈した。臍帯血に関しては、自動分離装置SEPAXを用いた分離手順を確立した。また未だ非臨床ではあるが、ゲノム解析にも対応した同意書や付随情報・遡及可能な書式を確立した。今後は、品質評価に必要な項目を網羅し、最終的に細胞製剤化して*Off-the-shelf*の供給体制を構築する。臍帯および臍帯血は医療廃棄物として廃棄されていたものであり、採取の観点からは倫理的にも受け入れられ易く、先行して利用されている輸入骨髄由来MSCs製剤に替わる初の製剤化を進める。

(2)基礎的研究；希少・難治性疾患を対象とした臍帯由来MSCsの有効性を、国内外の情報を収集すると共に新規手法を考案し実証を行った。平成24年度は、臍帯由来MSCsの幹細胞性、骨、神経系への再生能または修復能、免疫抑制能および細胞支持能について分担研究を進めた。臍帯由来MSCsの骨形成能は骨髄由来MSCsに比べ低く、分化に時間を要すが、培養初期段階で骨芽細胞の存在を確認できたことより、今後は臍帯由来MSCsに最適化した誘導法を検討する。難治性神経疾患モデルとして、子宮内感染症由来脳室周囲白質軟化症モデルをラット羊水腔内にLPS投与により作成し、さらに臍帯由来MSCs投与による症状の改善傾向を認め、有用と思われた。また免疫抑制作用に関しては、3rd partyにおいても臍帯由来MSCsはリンパ球混合試験でリンパ球の増殖抑制を認めたことから、難治性疾患に対する造血細胞移植後の移植片対宿主病(GVHD)あるいは自己免疫異常に基づく炎症性疾患への応用の可能性が示唆された。また臍帯血造血幹細胞(CD34⁺)とMSCsのマウスへの同時投与によってヒト造血細胞の生着促進が確認され、今後は臍帯血と臍帯由来MSCsの同時投与について検討を進めることとなった。

臍帯由来 MSC の治療対象となる可能性が高い疾患は、骨髄由来 MSCs 治療の対象とされている骨形成不全症や神経疾患、難治性疾患に対する造血細胞移植後の急性または慢性移植片対宿主病(GVHD)、クローン病あるいは膠原病のような自己免疫異常に基づく炎症性疾患で、既に海外では一部臨床試験が進められており、本研究班にて自己・同種の新規細胞ソースとしての臨床への道筋をつける。

A. 研究目的：

臍帯血は造血幹細胞ソースとして定着して移植実施数は年々増加し、2010年より年間1000例以上の移植が国内で行われている。また臍帯血は造血幹細胞のみならず、免疫担当細胞や組織幹細胞ソースとしても注目され、免疫不全や遺伝性代謝性疾患に使用されてきたが、近年では脳性小児麻痺患児への輸注が行われている。一方、臍帯は臍帯血同様胎児由来組織であり、我々は2009年に国内で初めてその構成組織であるワルトンジェリー、動脈および静脈から多くのMSCsを分離することが可能であり、それらは付着性、特徴的表面マーカー、骨・軟骨・脂肪への分化能を有していたと報告した(Ishige, Nagamura-Inoue et al, Int. J of Hematology, 90,261-9, 2009)。これまでの海外を中心とした報告によれば、臍帯由来MSCsは骨髄由来MSCs同様の付着性、3葉系への分化能、高増殖能、免疫制御効果、及び細胞支持機能を有し、テラトーマを形成しないという特徴がある。さらに骨髄由来MSCsよりも遺伝的にはES細胞に近く、分化能には指向性があることも報告されている。現在、海外ではMSCsのソースとして、骨髄、脂肪と並んで臍帯が挙げられており、広く利用されるソースとなりつつある。

臍帯は出産時に確実に採取することができ、自己および同種を対象とした再生医療・免疫制御細胞ソースとなりうる。すでに臍帯由来MSCsはヨーロッパ、アジアでは骨髄由来MSCsに代わる最も入手しやす

いMSCsソースとして、一部の臍帯血バンクではバンキングを開始しているが、骨髄由来MSCsに比し日本国内での認知は極端に遅れている。このため、骨髄由来MSCsは骨髄造血細胞の支持組織として長年の研究が進んでおり、詳細な基礎および臨床データがある一方で、臍帯由来MSCsの研究が始まったのは2000年以降であり、臍帯由来MSCsはES細胞に近い遺伝子発現を呈するが実際にはどの部位のどの細胞分画において多分化能が高いのか、分化能に一定の指向性はあるか、骨髄由来MSCsと同等の免疫抑制効果があるか、等多くの解明すべき問題として挙げることができる。

近年の基礎および臨床研究の結果から、骨髄由来MSCsの生体内での役割としてはMSCs自体の分化による再生能力よりも、組織傷害や炎症部位(がん病巣を含む)に集積し、その部位でサイトカイン等の分泌により組織修復促進ならびに抗炎症効果を示している可能性が注目されている。このため、臍帯由来MSCsも同様の効果を有している可能性がある一方、*in vitro*での基礎研究結果が必ずしも臨床応用時の生体内での役割と一致するものではない可能性もある。しかしながら、臍帯由来MSCsの有用性に注目する報告が自験例を含めて多くなされており、今後の臨床応用時により多くの患者に治療機会を提供するためにバンキング体制を整えておくことは、急務である。本事業の実施と臨床への実現性を確実にするために、先行する海外の規制情報の収集と解析を行い、国内規制状況と合わせて対応を行う必要がある。

本研究は、臍帯血・臍帯由来 MSCs の製剤化と系統的資源化（バンキング）に必要な技術基盤を確立し、基礎的研究を進めながらも早期に難治性疾患へ臨床応用を可能とする体制を整えることを目的とする。

B. 研究方法：

臍帯血および臍帯由来間葉系幹細胞 (MSCs) の系統的資源化（バンキング）システムの構築とその性状解析や応用に関する基礎的研究の2面から研究を行った。

① 臍帯血・臍帯の系統的資源化：

角田研究分担者は臍帯血・臍帯の採取手順および効率的採取体制について検討した。

長村研究代表者は臍帯由来 MSCs の分離方法の比較検討を行うとともに臍帯血の一部は SEPAX を用いた HES 法分離を行い、その手順を検討した。幸道研究分担者は、汎用性の高い臍帯血・臍帯由来 MSCs バンクの規模を検討するために東京臍帯血バンクの HLA ホモの出現頻度の解析と、東京臍帯血バンクから出庫した臍帯血の移植成績をまとめた。

長村（文孝）研究分担者は、FDA 及び EMA の法規・ガイドライン、審査資料、審査報告書等の公開資料や関連会議等からバンキング化・製剤化に必要な規制情報と非臨床試験の情報を取りまとめ、研究代表者及び分担研究者に情報提供を行い研究の遂行を支援した。

② 基礎的研究

研究代表者長村らは、臍帯由来 MSCs における ES 細胞マーカーの一つである stage-specific embryonic antigen (SSEA)-4 の発現の有無による表現系と分

化能の違いを検討した。

東條研究分担者らは臍帯由来 MSCs の免疫学的効果を検討するため、臍帯由来 MSCs をリンパ球混合試験 (Mixed lymphocyte reaction; MLR) により、リンパ球の増殖抑制効果を検討した。また抗腫瘍効果を検討する目的で臍帯血単核球からチロシンキナーゼ阻害剤であるダサチニブを用いて NK 細胞を選択的に増幅する系について検討した。

森尾研究分担者らは、神経系疾患のモデルとして臍帯由来 MSCs を脳室周囲白質軟化症のモデルマウスを作成し、臍帯由来 MSCs の投与にてその効果を検討した。

麦島研究分担者らは、臍帯血移植時の生着不全克服を目指して臍帯血 CD34+ と MSCs を同時投与し、生着率を比較した。

縣研究分担者は骨形成不全症に対する治療として、既に確立している骨髄由来 MSCs の骨分化の手法を応用し、アルカリフォスファターゼ染色を基に臍帯由来 MSCs の in vitro での骨誘導細胞の同定を行った。

辻分担研究者らは、胎児由来組織として胎盤由来 MSCs を用いてその表面マーカーと分化能を検討した。

（倫理面への配慮）

本研究は、東京大学医科学研究所および NTT 東日本関東病院 倫理審査委員会にて承認された研究課題「臍帯血と臍帯由来細胞の基礎的研究」にもとづいて実施した。分担研究者の個別研究に関しては、各分担研究者の所属機関の倫理審査承認のもと実施されている。

C. 結果および D. 考察

（1）臍帯血・臍帯の系統的資源化；

角田分担研究者は、臍帯血および臍帯採取の手順および採取体制を確立した。すなわち、帝王切開術症例を主なドナーとし、児出産後に胎盤と臍帯を受け取り、無菌的に臍帯血、臍帯の順で採取手順書を作成した。

幸道研究分担者らは 臍帯血バンクにおける HLA の頻度を検討し、汎用性の高い HLA-A, B, DR(血清表現型)が全てホモ型の臍帯血頻度は 1.4%程度であり、その表現型は国内調査頻度と同様の傾向であった。臍帯由来 MSCs は HLA-DR の発現は認めていない。この場合のホモの割合についても検討が必要と思われた。

長村文孝分担研究者は、国内外の再生医療に関する規制情報を専門家の意見収集を含めて収集・整理・検討した。また、製剤化に関して米国での臍帯血の生物製剤承認申請をモデルケースとして規制情報・関連文書を入手して検討した。

長村研究代表者は以上の臍帯血と臍帯の採取から臍帯由来 MSC の分離・培養・凍結手順を検討し、資料 1 に示すような一連のシステムを考案した。また臍帯血・臍帯採取から検体採取から凍結までを 2 次元コードで管理するシステムを構築した。また希少・難治性疾患患者の臍帯血・臍帯採取を行い、有疾患群として別に調製保存し、病態解析用のソースとして提供できる体制を構築した。未だ非臨床ではあるが、上記バンキングシステムと合わせて、平成 24 年度末に東大医科研ゲノム倫理審査委員会および採取施設での承認を得た。次年度より、教育等準備を整え検体ラベルシステムとともに実施開始する。

(2) 基礎的研究；

① 分離方法と表現型：

研究代表者長村らは、臍帯ワルトンジェリーを Explant またはコラゲナーゼにて細胞回収率を比較検討し、特に explant 法では菌感染以外はほぼ全例 MSCs の回収が可能であり、臍帯 1g 当たり中央値 2×10^6 程度の初期培養細胞が回収する工程を確立した。また、臍帯 MSCs のうち ES 細胞マーカーの一つである SSEA4 の発現意義はこれまで明らかにされていなかったが、SSEA4 の発現による表面マーカーの違いはなく、培養条件(FBS)によって影響を受けやすいことを明らかにし、幹細胞指標として用いるには注意が必要である(投稿中)。

②再生能：

縣研究分担者らは、臍帯由来 MSC は骨髄由来 MSC に比べて骨形成・分化に時間を要しながらも、骨芽細胞の存在も確認した。分化に時間を要する原因として臍帯由来 MSCs がより幼若である可能性が示唆され、分化誘導系の改良が必要と思われた。辻研究分担者らは、同様の胎児由来組織である胎盤由来 MSCs を用いて骨・軟骨への分化能を確認した。

森尾研究分担者・滝研究協力者らは難治性脳性小児麻痺の原因の一つである子宮内感染症に起因する脳室周囲白質軟化症のラットモデルに対し臍帯由来 MSC および上清を投与し、その有効性を明らかにした。平成 25 年度以降、その作用機序の解明と有効性・安全性を確立させる。

③免疫抑制能：

東條研究分担者らは臍帯ワルトンジェリー由来 MSCs に *in vitro* リンパ球混合反

応の系において標的リンパ球と接着することで免疫抑制能を発揮できることが確認でき、造血幹細胞移植後の免疫異常である移植片対宿主病(GVHD)や難治性免疫異常疾患に応用できる可能性が示唆された。特に悪性疾患ではない難治性疾患においては造血細胞移植後のGVHDは有害無益である。現在骨髓由来MSCsの臨床試験が進められているが、臍帯由来MSCsの品質保証されれば、早期に実施できるシーズと考えられた。

④細胞支持機能

麦島研究分担者、松本研究協力者らは、臍帯由来MSCsとの共培養系の前段階として脂肪由来MSCsを用いて、移植する造血幹細胞CD34+細胞を増幅する共培養系を確立した。また、東條分担研究者らは、臍帯由来MSCsにT/NK細胞の分化に重要なNotchリガンドのひとつDII-1が恒常的に発現していることを発見し、T/NK細胞の増幅に応用できる可能性が示唆された。

以上を基にして、臍帯血・臍帯由来MSCsの特性を検討しながら、前臨床試験による検証を経て臨床応用へとつなげていく。

臍帯血移植は、代謝性疾患や神経変性疾患等の造血系以外の希少・難治性疾患においても有効である疾患が複数存在するが、生着遅延、生着不全、移植後の感染症等の合併症が高頻度であるため、非悪性疾患では適応のハードルが高くなっている。親子間のHLAハプロ一致移植においては、移植後の難治性重症GVHDが重症化しやすい。また非造血系疾患への骨髓移植や臍帯血移植効果の一部はMSCs

によるものではないかと考えられている。

上記、検討結果から臍帯由来MSCsにおける多分化能や免疫制作用は従来の造血幹細胞移植や臓器移植とは異なる作用を有する新たな細胞資源として役立つ可能性がある。iPS細胞を利用した再生医療研究の進歩は目覚ましいが、遺伝子導入や残存幼若細胞による発がん等の危険性により、非腫瘍性疾患が圧倒的に多い難治性疾患では、臨床応用への課題となる。また、臓器移植法の改定により移植臓器の確保が比較的容易となったものの、全身性疾患である骨・軟骨疾患、代謝性疾患、神経変性疾患等の非腫瘍性疾患に対しては無効であることから、ドナーへの肉体的負担のない新たな細胞資源として臍帯由来MSCsの研究推進は重要と考えられる。また、難治性疾患児由来の臍帯血・臍帯が採取保存され、研究用として提供することができれば、病態解析及び臨床応用への研究に大いに資することとなる。

難治性疾患に対する、自家・他家の細胞を効率よく利用した細胞療法の開発は、治療の選択肢を大きく広げる可能性と安定的な供給の面から急務といえる。細胞療法では長期安全性の確認が必要であるが、国内の臍帯血と臍帯を利用できれば、輸入骨髓ドナー由来MSCsに比して品質管理行程が確認可能なこと、遡及調査が実施できることからも安全性が高いといえる。こうした国内での臨床目的のMSCsの調製・保存法等のノウハウの開発は、細胞調製機器あるいは自動化装置の開発等を可能とすることにもつながり、稀少疾患だけではなく、この技術は広く応用

可能であるため、関連業界の活性化も期待できる。アジア圏において、かつては日本の臍帯血バンクが臍帯血バンクの立ち上げ等に貢献してきた（AsiaCORD <http://www.asiacord.umin.jp/>）が、現在では中国、台湾、シンガポール、韓国の臍帯血バンクが充実し、国際品質規格(AABBや NetCORD/FACT)の査察も受けている状況である。このため、一部では、臍帯由来 MSCs のバンキングは、アジア圏のバンクが欧米よりリードしている。本研究の進展により、難治性疾患への治療の分野で日本のバンキングが再びリードできる可能性がある。

E. 結論

本研究の目的である臍帯血と臍帯の同時採取および細胞処理に関する検討は着実に進められている。基礎的研究では、臍帯由来 MSCs における分化能、免疫抑制能、細胞支持能の検討も確実に進められている。平成 25 年度は、骨髄由来 MSCs と同様に、臍帯由来 MSCs を細胞製剤として製剤化するために必要な検査、規格等について医薬品医療機器総合機構と薬事戦略相談を通じて相談していく。

F.健康危険情報 なし。

G. 研究発表:

1. 論文発表:

1. Nakasone H, Kanda J, Yano S, Atsuta Y, Ago H, Fukuda T, Kakihana K, Adachi T, Yujiri T, Taniguchi S, Taguchi J, Morishima Y, Nagamura T, Sakamaki H, Mori T, Murata M A case-control study of bronchiolitis obliterans syndrome following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation.; GVHD Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. *Transpl Int.* 2013 (印刷中)
2. Nakasone H, Kurosawa S, Yakushijin K, Taniguchi S, Murata M, Ikegame K, Kobayashi T, Eto T, Miyamura K, Sakamaki H, Morishima Y, Nagamura T, Suzuki R, Fukuda T. Impact of hepatitis C virus infection on clinical outcome in recipients after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Am J Hematol.* 2013 (印刷中)
3. Ishiyama K, Takami A, Kanda Y, Nakao S, Hidaka M, Maeda T, Naoe T, Taniguchi S, Kawa K, Nagamura T, Tabuchi K, Atsuta Y, Sakamaki H. Prognostic factors for acute myeloid leukemia patients with t(6;9)(p23;q34) who underwent an allogeneic hematopoietic stem cell transplant. *Leukemia.* 26,1416-9, 2012
4. Ishiyama K, Takami A, Kanda Y, Nakao S, Hidaka M, Maeda T, Naoe T, Taniguchi S, Kawa K, Nagamura T, Atsuta Y, Sakamaki H. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for acute myeloid leukemia with t(6;9)(p23;q34) dramatically improves the patient prognosis: a matched-pair analysis. *Leukemia.* 26,461-4, 2012
5. Atsuta Y, Kanda J, Takanashi M, Morishima Y, Taniguchi S, Takahashi S, Ogawa H, Ohashi K, Ohno Y, Onishi Y, Aotsuka N, Nagamura-Inoue T, Kato K, Kanda Y. Different effects of HLA disparity on transplant outcomes after

- single-unit cord blood transplantation between pediatric and adult patients with leukemia. *Haematologica*. 2013 Jan 24. (印刷中)
6. Ebihara Y, Takedani H, Ishige I, Nagamura-Inoue T, Wakitani S, Tojo A, Tsuji K. Feasibility of autologous bone marrow mesenchymal stem cells cultured with autologous serum for treatment of haemophilic arthropathy. *Haemophilia*. 19,e87-9,2013.
 7. Sakabe S, Takano R, Nagamura-Inoue T, Yamashita N, Nidom CA, Quynh Le MT, Iwatsuki-Horimoto K, Kawaoka Y. Differences in Cytokine Production in Human Macrophages and in Virulence in Mice Are Attributable to the Acidic Polymerase Protein of Highly Pathogenic Influenza A Virus Subtype H5N1. *J Infect Dis*. 207, 262-71, 2013
 8. Kanda J, Atsuta Y, Wake A, Ichinohe T, Takanashi M, Morishima Y, Taniguchi S, Takahashi S, Ogawa H, Ohashi K, Ohno Y, Aotsuka N, Onishi Y, Kato K, Nagamura-Inoue T, Kanda Y. Impact of the direction of HLA mismatch on transplant outcome in single unrelated cord blood transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.*, 19(2):247-54, 2012.
 9. Kurosawa S, Yakushijin K, Yamaguchi T, Atsuta Y, Nagamura-Inoue T, Akiyama H, Taniguchi S, Miyamura K, Takahashi S, Eto T, Ogawa H, Kurokawa M, Tanaka J, Kawa K, Kato K, Suzuki R, Morishima Y, Sakamaki H, Fukuda T. Changes in incidence and causes of non-relapse mortality after allogeneic hematopoietic cell transplantation in patients with acute leukemia/myelodysplastic syndrome: an analysis of the Japan Transplant Outcome Registry. *Bone Marrow Transplant*. In press, 2012
 10. Kanda J, Ichinohe T, Kato S, Uchida N, Terakura S, Fukuda T, Hidaka M, Ueda Y, Kondo T, Taniguchi S, Takahashi S, Nagamura-Inoue T, Tanaka J, Atsuta Y, Miyamura K, Kanda Y. Unrelated cord blood transplantation vs related transplantation with HLA 1-antigen mismatch in the graft-versus-host direction. *Leukemia*. 27,286-94, 2012
 11. 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*. 119, 2141-8. 2012
 12. Kobayashi S, Tian Y, Ohno N, Yuji K, Ishigaki T, Isobe M, Tsuda M, Oyaizu N, Watanabe E, Watanabe N, Tani K, Tojo A, Uchimar K. The CD3 versus CD7 Plot in Multicolor Flow Cytometry Reflects Progression of Disease Stage in Patients

- Infected with HTLV-I. PLoS One. 2013;8(1):e53728. doi: 10.1371/jour
13. Yamamoto S, Ebihara Y, Mochizuki S, Kawakita T, Kato S, Ooi J, Takahashi S, Tojo A, Yusa N, Furukawa Y, Oyaizu N, Watanabe J, Sato K, Kimura F, Tsuji K. Quantitative PCR detection of CEP110-FGFR1 fusion gene in a patient with 8p11 syndrome (letter to the editor). *Leuk Lymphoma*. 2013 Jan 18. [Epub ahead of print]
 14. Mae H, Ooi J, Takahashi S, Kato S, Kawakita T, Ebihara Y, Tsuji K, Nagamura F, Echizen H, Tojo A. Acute kidney injury after myeloablative cord blood transplantation in adults: the efficacy of strict monitoring of vancomycin serum trough concentrations. *Transplant Infectious Disease*. 2012 Dec 20. doi: 10.1111/tid.12038. [Epub ahead of print]
 15. Morimoto A, Shimazaki C, Takahashi S, Yoshikawa K, Nishimura R, Wakita H, Kobayashi Y, Kanegane H, Tojo A, Imamura T, Imashuku S; Japan LCH Study Group. Therapeutic outcome of multifocal Langerhans cell histiocytosis in adults treated with the Special C regimen formulated by the Japan LCH Study Group. *Int J Hematol*. 2012 Dec 16. [Epub ahead of print]
 16. Ebihara Y, Takedani H, Ishige I, Nagamura-Inoue T, Wakitani S, Tojo A, Tsuji K. Feasibility of autologous bone marrow mesenchymal stem cells cultured with autologous serum for treatment of hemophilic arthropathy. *Hemophilia*. 2012 Dec 4. doi: 10.1111/hae.12056. [Epub ahead of print]
 17. Chi HT, Ly BT, Kano Y, Tojo A, Watanabe T, Sato Y. ETV6-NTRK3 as a therapeutic target of small molecule inhibitor PKC412. *Biochem Biophys Res Commun*. 2012 Nov 3. doi: pii: S0006-291X(12)02079-7. 10.1016/j.bbrc.2012.10.087. [Epub ahead of print]
 18. Yamamoto S, Ebihara Y, Mochizuki S, Tsuda M, Yuji K, Uchamaru, Tojo A, Tsuji K. Acute Lymphoblastic Leukemia with t(1;19)(q23;p13)/TCF3 -PBX1 Fusion in an Adult Male with Down Syndrome. *Acta Haematol*. 128:242-243, 2012
 19. Oshima Y, Yuji K, Tojo A. Eltrombopag in refractory aplastic anemia. *New Engl J Med*. 367:1162-3, 2012
 20. Oshima Y, Tsukamoto H, Tojo A. Association of hepatitis B with antirheumatic drugs: a case-control study. *Mod Rheumatol*. 2012 Jul 18. [Epub ahead of print] PMID: 22802011
 21. Agata H, Yamazaki M, Uehara M, Hori A, Sumita Y, Tojo A, Kagami H. Characteristic differences among osteogenic cell populations of rat bone marrow stromal cells isolated from untreated, hemolyzed, or Ficoll-treated marrow. *Cytotherapy*. 14:791-801, 2012
 22. Hinohara K, Kobayashi S, Kanauchi H, Simizu S, Nishioka K, Tsuji E, Tada K, Umezawa K, Mori M, Ogawa T, Inoue J, Tojo A, Gotoh N. ErbB/NF- κ B signaling controls mammosphere formation in human breast cancer. *Proc Natl Acad Sci*

- USA. 109:6584-9, 2012
23. Usuki K, Tojo A, Maeda Y, Kobayashi Y, Matsuda A, Ohyashiki K, Nakaseko C, Kawaguchi T, Tanaka H, Miyamura K, Miyazaki Y, Okamoto S, Oritani K, Okada M, Usui N, Nagai T, Amagasaki T, Wanajo A, Naoe T. Efficacy and safety of nilotinib in Japanese patients with imatinib-resistant or -intolerant Ph⁺ CML or relapsed/refractory Ph⁺ ALL: a 36-month analysis of a phase I and II study. *Int J Hematol.* 95:409-19, 2012
 24. 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. Imatinibmesylate directly impairs class switch recombination through downregulation of AID. *Blood.* 119:3123-7, 2012
 25. Dong Y, Kobayashi S, Tian Y, Ozawa M, Hiramoto T, Izawa K, Bai Y, Soda Y, Sasaki E, Itoh T, Maru Y, Takahashi S, Uchimaru K, Oyaizu N, Tojo A, Kai C, Tani K. Leukemogenic fusion gene (p190 BCR-ABL) transduction into hematopoietic stem/progenitor cells in the common marmoset. *Open J Blood Dis.* 2:1-10, 2012
 26. Kawamata T, Tojo A. Helicobacter pylori-induced thrombocytosis clinically indistinguishable from essential thrombocythemia. *Leuk. Lymphoma.* 53: 1423-4, 2012
 27. Ebihara Y, Takahashi S, Mochizuki S, Kato S, Kawakita T, Ooi J, Yokoyama K, Nagamura F, Tojo A, Asano S, Tsuji K. Unrelated cord blood transplantation after myeloablative conditioning regimen in adolescent patients with hematologic malignancies: a single institute analysis. *Leuk Res.* 6:128-31, 2012
 28. Yamamoto S, Ebihara Y, Mochizuki S, Tsuda M, Yuji K, Uchimaru K, Tojo A, Tsuji K: Acute lymphoblastic leukemia with t(1;19)(q23;p13)/TCF3-PBX1 fusion in an adult male with Down syndrome. *ActaHaematol* 128: 242-243, 2012.
 29. Ebihara Y, Ma F, Tsuji K: Generation of red blood cells from human embryonic/induced pluripotent stem cells for blood transfusion. *Int J Hematol* 95: 610-616, 2012.
 30. Singh VK, Tsuji K, Sharma PB, Chandra R: Multidimensional role of CD34 protein in hematopoietic stem cell biology. *Int J Sci Tech Man*, in press.
 31. Mae H, Ooi J, Takahashi S, Kato S, Kawakita T, Ebihara Y, Tsuji K, Nagamura F, Echizen H, Tojo A: Acute kidney injury after myeloablative cord blood transplantation in adults: the efficacy of strict monitoring of vancomycin serum trough concentrations. *Trans Inf Dis*, in press.
 32. Hiramoto T, Ebihara Y, Mizoguchi Y, Nakamura K, Yamaguchi K, Ueno K, Nariai N, Mochizuki S, Yamamoto S, Nagasaki M, Furukawa Y, Tani K, Nakauchi H, Kobayashi M, Tsuji K: Wnt3a stimulates maturation of impaired neutrophils derived from

- severe congenital neutropenia-derived iPS cells. Proc Natl Acad Sci USA, in press.
33. Agata H. Isolation of bone marrow stromal cells: cellular composition is technique-dependent. *Regenerative Medicine and Tissue Engineering*, InTech - Open Access Publisher (Croatia), in press
 34. Matsuoka F, Takeuchi I, Agata H., Kagami H, Shiono H, Kiyota Y, Honda H, & Kato R. Morphology-based prediction of osteogenic differentiation potential of human mesenchymal stem cells. *Plos One*, in press
 35. Matsmoto K, Sumino K, Fukahori H, Kitaoka K, Kamibeppu K, Nagamura E. Stressor Scale for Clinical Research Coordinators: development and psychometric testing. *J Advan Nursing* 6:7; 1636-45, 2012
 36. Tanaka A, Okuyama T, Suzuki Y, Sakai N, Takakura H, Sawada T, Tanaka T, Otomo T, Ohashi T, Ishige-Wada M, Yabe H, Ohura T, Suzuki N, Kato K, Adachi S, Kobayashi R, Mugishima H., Kato S. Long-term efficacy of hematopoietic stem cell transplantation on brain involvement in patients with mucopolysaccharidosis type II: a nationwide survey in Japan. *Mol Genet Metab.* 107, 513-20, 2012
- 2.学会発表
(国内)
1. 長村登紀子 テクニカルセミナー 細胞処理の基本的操作と検査 第60回日本輸血・細胞治療学会総会 2012/5/25
 2. 何海萍, 長村登紀子, 東條有伸ら. Characterization of primitive markers in human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells 臍帯由来間葉系幹細胞における未熟細胞マーカーの解析 第74回日本血液学会学術集会総会 2012/10/19
 3. 山本由紀, 長村登紀子, 東條有伸ら. mTOR inhibitor の制御性T細胞の誘導増幅に及ぼす影響 The influence of mTOR inhibitor on inducible regulatory T cells 第74回日本血液学会学術集会総会 2012/10/20
 4. 幸道秀樹, 高橋敦子, 長村登紀子, 菅有紗, 笠根萌美, 星野茂角, 松本太郎, 麦島秀雄, 勝村秀樹 初回移植における生着率 The rate of engraftment in the first cord blood transplantation is higher than those in later. 第74回日本血液学会学術集会総会 2012/10/21
 5. 湯沢美紀, 尾上和夫, 山本由紀, 東條有伸, 長村(井上) 登紀子ら. 東大医科研における臍帯血移植時の解凍検査について 第134回日本輸血・細胞治療学会関東甲信越支部例会 2012/9/29
 6. 小林誠一郎, 東條有伸, 他. 口演 「CD7 vs CADM1 in FACS reflects multi-step oncogenesis of ATL and discriminates HTLV-1 infected cells」第74回日本血液学会学術集会総会2012/10/19
 7. 塚田端夫, 東條有伸, 他. ポスター 「リウマチ性多発筋肉痛症を合併したt(1;7)を伴う骨髄異形成症候群の一例」第74回日本血液学会学術集会総会 2012/10/19
 8. 何海萍, 長村登紀子, 東條有伸, 他. ポスター 「Characterization of stem cell

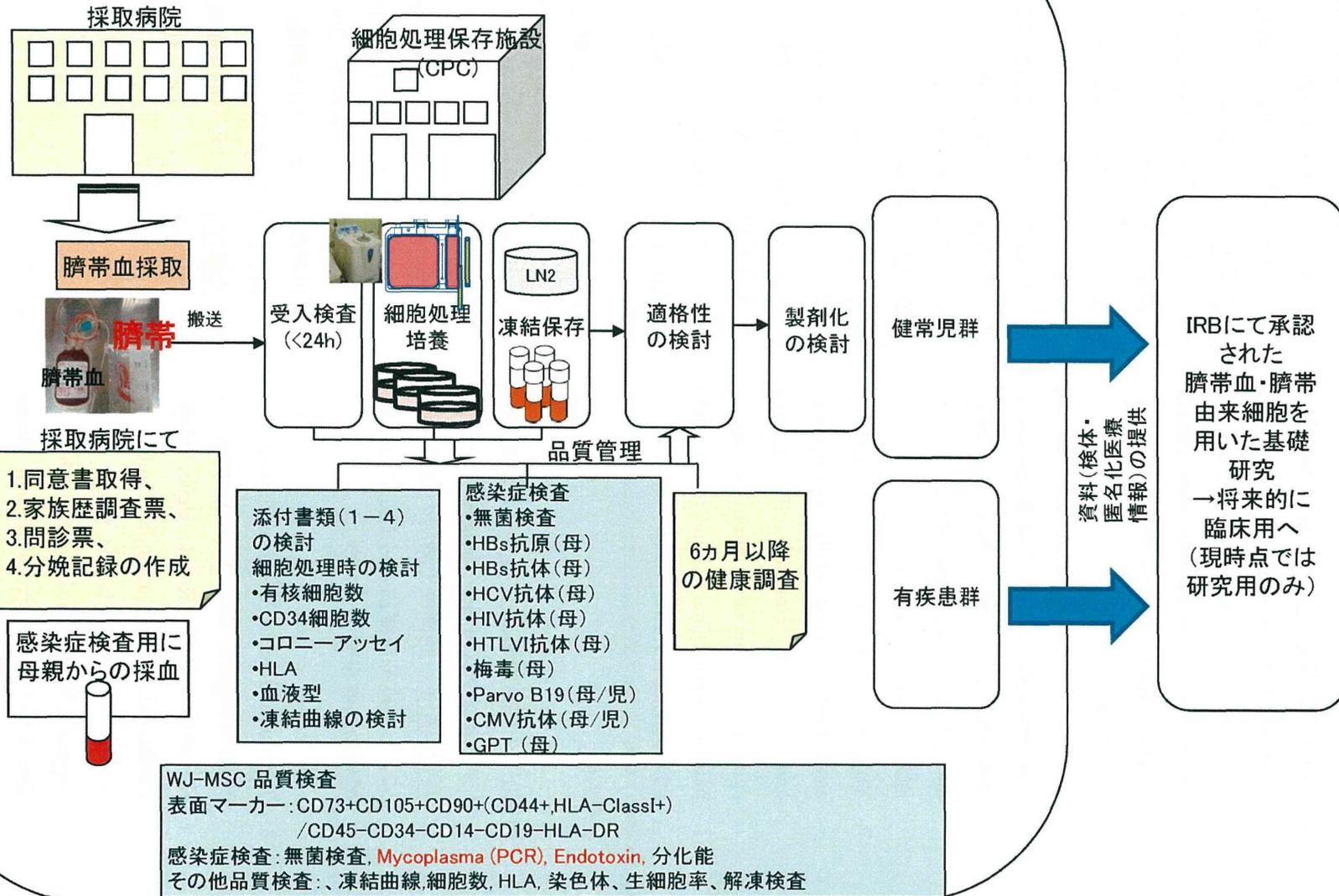
- in human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells」第74回日本血液学会学術集会総 2012/10/19
9. Chanda Bidisha、東條有伸、他.
「Impairment of T cell development in chronic myeloid leukemia, partial explanation by in vitro model」第74回日本血液学会学術集会総 2012/10/20
 10. 大野伸広、東條有伸、他.「CD3 と CD7 の展開による ATL 細胞の同定：急性型 ATL の治療反応性と TCR レパトア解析」第 74 回日本血液学会学術集会総 2012/10/20
 11. 本多泉、滝敦子、岩崎剣吾、小牧基浩、森田育男:ラット子宮内感染モデルを用いた新生児脳室周囲白質軟化症及び慢性肺疾患に対する臍帯由来間葉系幹細胞を用いた治療の検討、第 33 回日本炎症・再生医学会、福岡、2012 年 7 月 6 日
 12. 本多泉、滝敦子、森丘千夏子、杉江学、土井庄三郎、水谷修紀、宮坂尚幸：LPS 羊水腔内投与によるラット子宮内感染モデルを用いた研究 第 1 報：胎盤および新生児合併症の解析、第 48 回周産期・新生児医学会、大宮、2012 年 7 月 9 日
 13. 滝敦子、本多泉、森丘千夏子、杉江学、宮坂尚幸、土井庄三郎、水谷修紀：LPS 羊水腔内投与によるラット子宮内感染モデルと用いた研究：第 2 報：間葉系幹細胞を用いた治療法の開発、第 48 回周産期・新生児医学会、大宮、2012 年 7 月 8 日
 14. 小高美奈子、松本太郎、石毛美夏、辻孝、麦島秀雄：脱分化脂肪細胞(DFAT)の造血細胞生着促進効果に関する検討. 第 11 回日本再生医療学会総会、横浜、2012.
 15. 風間美奈子、松本太郎、石毛美夏、辻孝、麦島秀雄：脱分化脂肪細胞(DFAT)の臍帯血移植生着促進効果に関する検討. 第 33 回日本炎症・再生医学会、福岡、2012.
 16. 海老原康博、平本貴史、山本将平、望月慎史、辻浩一郎、溝口洋子、中村和洋、小林正夫.重症先天性好中球減少症患者由来の iPS 細胞の樹立とその解析：第 115 回日本小児科学会、福岡、2012.
 17. 平本貴史、海老原康博、馬峰、望月慎史、西濱夏海、花田佐智代、松坂恵美子、江藤浩之、中内啓光、辻浩一郎.重症先天性好中球減少症患者由来 iPS 細胞の遺伝子発現の検討. 重症先天性好中球減少症患者由来 iPS 細胞の樹立とその解析：第 2 報.第 33 回炎症再生医療学会、福岡、2012.
 18. 海老原康博、山本将平、望月慎史、辻浩一郎.同種骨髄移植後に発症した air leak syndrome の 2 例. 日本小児呼吸器疾患科学会、2012.
 19. Shohei Yamamoto, Yasuhiro Ebihara, Shinji Mochizuki, Kohichiro Tsuji.Refractory 8p11 myeloproliferative syndrome : a case report.第 74 回日本血液学会、京都、2012.
 20. Toshiro Kawakita, Seiko Kato, Jun Ooi, Satoshi Takahashi, Arinobu Tojo, Junichi Watanabe, Ken Sato, Fumihiko Kimura. 第 74 回日本血液学会、京都、2012.
 21. Masatoshi Sakurai, HiroyoshiKunimoto, Naohide Watanabe, Yumi Fukuchi, Ken Sadahira, Shinsuke Yuasa, Keiichi Fukuda, Satoshi, Yamazaki, HiromitsuNakauchi, Yasuhiro Ebihara, Kohichiro Tsuji, Etsuro Ito, Yuka Harada, Hironori Harada, Shinichiro Okamoto, Hideaki Nakajima.

- Impaired hematopoietic differentiation of iPSCs derived from a patient with FPD/AML.第74回日本血液学会、京都、2012.
22. Yuichiro Nakata, Takeshi Ueda, Norimasa Yamasaki, Akiko Nagamachi, Keiyo Takubo, Yasuhiro Ebihara, Toshiya Inaba, Masashi Sanada, Kohichiro Tsuji, Toshio Suda, Seishi Ogawa, Hiroaki Honda. Acquired expression of c-Cbl Q367P mutation induces myeloid cell proliferation. 第74回日本血液学会、京都、2012.
23. Akiko Nagamachi, Takeshi Ueda, Norimasa Yamasaki, Yasuhiro Ebihara, Masashi Sanada, Kohichiro Tsuji, Toshiya Inaba, Seishi Ogawa, Hiroaki Honda. A20, A20, a ubiquitin-modifying enzyme for NF-kappaB, plays an important role in normal hematopoiesis. 第74回日本血液学会、京都、2012.
24. 山本将平、海老原康博、望月慎史、辻浩一郎。治療抵抗性8q11骨髄増殖症候群の1例。第54回日本小児血液がん学会、横浜、2012.
25. 海老原康博、山本将平、望月慎史、河北敏郎、加藤せい子、大井淳、高橋聡、辻浩一郎同種骨髄移植後に発症したair leak syndromeの2例。第35回日本造血細胞移植学会、金沢、2013.
26. 大木桃代 長村文孝 他 臨床研究参加患者の心理状態と対応策の検討(1) 第25回日本健康心理学会年次大会 2012
27. 小室美子、長村文孝 他 東京大学におけるトランスレーショナルリサーチの支援強化領域の検討と支援強化に向けた体制整備 第2回レギュラトリーサイエンス学会 2012
- (海外)
1. Murata M., T. Nagamura-Inoue, and Suzuki R et al.. Clinical Factors Predicting the Response of Acute Graft-Versus-Host Disease to Corticosteroid Therapy 第54回米国血液学会 2012/12/9
2. Aoki K., Ishiyama K., Tokiko Nagamura, et al. Unfavorable Outcome of Single-Unit Umbilical Cord Blood Transplantation for Elderly Patients with Myelodysplastic Syndromes 第54回米国血液学会 2012/12/9
3. Hiramoto T, Ebihara Y, Mizoguchi Y, Nakamura K, Yamaguchi K, Ueno K, Nagasaki M, Furukawa Y, Tani K, Eto K, Nakauchi H, Kobayashi K, Tsuji K: Suppressed neutrophil development in hematopoiesis of induced pluripotent stem cells derived from a severe congenital neutropenia patient with ELA2 mutation. 10th Annual Meeting of International Society for Stem Cell Research, Yokohama, 2012.
4. Sakurai M, Kunimoto H, Fukuchi Y, Sadahira K, Yuasa S, Fukuda K, Yamazaki S, Nakauchi H, Ebihara Y, Tsuji K, Ito E, Harada Y, Harada H, Okamoto S, Nakajima H: Impaired hematopoietic differentiation of iPSCs derived from patients with FPD/AML. 54th Annual Meeting of American Society of Hematology, Atlanta,

- 2012.
5. Usuki N., Tojo A. et al. Sustained molecular response with maintenance dose of interferon alfa after imatinib discontinuation in patients with chronic myeloid leukemia 第54回米国血液学会 2012/12/8
 6. Kotani A., Tojo A. et al. Mir-126 and Mir-195-mediated control of B cell fate in leukemic and normal cells as a potential alternative for transcriptional factor」第54回米国血液学会 2012/12/8
 7. Yuji K., Tojo A. et al. Possible association between acute myelogenous leukemia and thrombopoietin receptor agonist in immune thrombocytopenia patients: a preliminary signal report. 第54回米国血液学会2012/12/10
- 3.その他、
- 専門医、一般医等医療従事者への情報提供
(シンポジウムの開催、講演等での発表)
1. 長村登紀子 制御性T細胞の誘導増幅による免疫抑制療法の可能性について 幹細胞治療研究フォーラム 2012/07/19
 2. Takafumi Hiramoto, Yasuhiro Ebihara, Yoko Mizoguchi, Kazuhiro Nakamura, Kiyoshi Yamaguchi, Kazuko Ueno, Shinji Mochizuki, Shohei Yamamoto, Emiko Matsuzaka, Sachiyo Hanada, Masao Nagasaki, Yoichi Furukawa, Kenzaburo Tani, Koji Eto, Hiromitsu Nakauchi, Masao Kobayashi, and Kohichiro Tsuji. 第12回東大生命科学シンポジウム、東京、2012.
 3. 辻浩一郎 再生医療概論：体性幹細胞、ES細胞、iPS細胞とは。再生医療における倫理講習会、東京、2013.
 4. 東條有伸 「CML分子標的治療のバイオマーカー」第14回下総血液研究会・特別講演 2012/01/28
東條有伸 「血液疾患を疑う症状と所見の見方～専門医との連携について」川崎市医師会主催講演会2012/05/15
 5. 東條有伸 「CML治療の今後を考える」第9回山梨臨床血液カンファレンス・特別講演2012/06/08
 6. 東條有伸 「CML治療の今後を考える」東葛・湾岸エリア下総血液ミーティング・特別講演 2012/11/09
 7. 東條有伸 「ダサチニブによって誘起されるT-LGL/NK細胞の増加について」盛岡CMLカンファレンス 2012/11/30
- 患者、家族、患者会や一般市民への情報提供
(シンポジウムの開催、講演等での発表、マスコミでの発表など)
1. 長村登紀子 造血幹細胞の病変と治療のための輸血について 公的骨髄バンクを支援する東京の会 2012/6/23
 2. 患者さんに役立つiPS細胞。市民医療懇談会、東京、2013.
 3. 東條有伸 「骨髄異形成症候群の病態と治療」再生つばさの会 札幌医療講演会 2012/09/01

資料1. 臍帯血・臍帯採取・細胞処理保存・検査・出庫までのフローチャート

臍帯血・臍帯由来細胞を臨床用・研究用に提供する資源化
(バンキング)システムの構築



Ⅱ. 分担研究報告