

## バイオ人工細胞・臓器の開発による糖尿病その他の疾患の治療に関する研究

分担代表者 宮川周士 大阪大学大学院医学系研究科・小児成育外科 准教授

### 要旨

目的は医療用バイオ人工細胞・臓器の開発である。主眼をバイオ人工膵島とし、その細胞供給用の遺伝子改変ブタの作出をめざした。超急性拒絶反応を止める主軸となる複数の補体制御因子をhybrid化した分子を作成し、これをブタ細胞で発現を確かめた。また同時に、HLA-Eを高発現する変異分子も作成し、動物個体(マウス)での発現とブタ胚盤胞形成試験の結果よりブタへの遺伝子導入可能と判断した。

今後、GalT/cytidine monophosphate-N-acetylneuraminic acid hydroxylase (CMAH)ダブルKOブタ個体作出後の胎児繊維芽細胞を用い、あるいはこのin vitro KOの胎児繊維芽細胞を用い、導入予定の遺伝子を高発現させ、その核を移植する方法が考えられた。

### 研究協力者

大阪大学大学院医学系研究科

上野豪久(助教) 前田章(研究員)  
河村拓司(院生) 王 丹丹(院生)  
高間勇一(医員) 山本志野(研究員)  
南條明子(研究員) 乾中智佳子(研究員)

ホモが産まれた。我々は既に何種類かの特許を所有し、この分野での極めて独自の異種移植用ブタを開発する事を目指している。

糖尿病患者へのこのバイオ人工膵島を足がかりに、劇症肝炎治療へバイオ人工肝臓、透析患者にバイオ人工腎臓を供給できる。また、移植医療を抜本的に変えることができ、国民の医療福祉に絶大な貢献をもたらす事を目的とする。

### A. 研究目的

目的は、医療用バイオ人工細胞・臓器の開発である。主眼をバイオ人工膵島とし、その細胞供給用の遺伝子改変ブタの作出をめざす。現有する異種抗原-Galをknockout(KO)したブタに、他の補体制御因子、抗凝固因子、細胞性免疫制御分子やレトロウイルス制御用遺伝子を導入し、臨床応用可能な膵島細胞の供給源となるブタを作出する。将来的に糖尿病患者へのこのバイオ人工膵島を足がかりに、劇症肝炎治療へバイオ人工肝臓、透析患者にバイオ人工腎臓の供給を目指す。またこの医療用ブタの開発により、移植医療を抜本的に変えることができ、国民の医療福祉に絶大な貢献をもたらす事を目的とする。

我々は、H8年度よりトランジェニックブタ(DAF+糖転移酵素GnT-III)の作成に取りかかり、この線維芽細胞を使ってα-Gal抗原のKOに成功し2006年末

### B. 研究方法

1. 遺伝子の選択。現在、世界で遺伝子改変ブタ作製に関係する分子は、

- \* 補体制御因子----C1-INH, MCP(CD46), DAF(CD55), CD59.
- \* 糖転移酵素----GnT-III, α-1,2FT, Endo-β-galC.
- \* 凝固系(抗凝固因子)---TFPI, Thrombomodulin(TM), CD39.
- \* NK細胞制御--HLA-G, HLA-E.
- \* Macrophage制御--CD47.
- \* T細胞制御--CTLA4-Ig, FasL, TRAIL, CII TA.
- \* 保存----Hemoxygenase-1.
- \* 内在性ブタレトロウイルス(PERV)のKO.

\* H-D抗原の遺伝子(cytidine monophosphate-N-acetylneuraminic acid hydroxylase : CMAH)のKO  
、等である。

今回のprojectでは、まずは、GalをKOしたブタをbaseに下線を引いた分子を発現したブタの作出を目指す。

## 2. 遺伝子構築

Promoterの選定では、現在世界で使われているpromoterは一般的に、CMVやRSVのウイルスpromoter、Chick  $\beta$  actin(pCAGGS)、human EF-1 $\alpha$ 、human mouse H2k、あるいはrat insulin II or pig Insulin promoterである。加えて、導入gene本来のpromoterである。豚島での遺伝子発現は、一般的にinsulin promoterが確実と思われるが、他の臓器での発現が望めない欠点がある。一方、pCAGGSはユビキタスに発現するが、一部の報告では豚島での発現が弱いとされている。今回はより重要と思われるCTDMをinsuline promoterで、HLA-EをpCAGGSで発現させることにした。EnhancerにはCMVのenhancerを使用した。

諸外国のブタ作出方法はヒトの遺伝子=cDNAやgenomeを1つ1つ導入し、高発現の系統を樹立し、交配により重ね合わせる方法である。また、最近はIRESに換え2Aシステムを用い、2-3の分子を繋いで一度に発現させる方法も一部で始められている。

我々は高発現を得るのに、cDNAのcodonを改変しブタで至適なものとする方法を取る。Codon変換に関しては、各分子のアミノ酸配列を崩さず、ブタで最も頻度の高いt-RNAに合わせたDNA配列に組み替える方法である。これまでにDAFをcodon変換しin vitro, in vivo(マウス)での強発現を確認している。

\* 各分子の機能ドメインを、同分子、別の分子間で繋いだ多重化分子(hybrid)を作製し、この人工cDNAをブタに遺伝子導入する方法をとる。<CTDM> DAFの機能ドメインに関しては、SCR2-3が補体のclassical pathwayを制御し、SCR2-4がalternative pathwayを制御する事が判明しているため、SCR2-4を使った。同じく、MCPの場合も、補体制御機能が有るSCR2-4を使った。

さらに、C1-INHに関しては、アミノ酸配列の1-99は補体制御機能とは関係しないので、この部分を取り除いた構造を作出した。

Thrombomodulinに関しては、直接抗凝固機能に関与するEGF4-6とEGF3の一部を選んだ。

また、CTDMのThrombomodulin部分に関しては、直接抗凝固機能に関与するEGF4-6とEGF3の一部を選んだが、Thrombinの結合にはEGF3の部分のさらに12個のアミノ酸の必要と判断し、あとでこれを加えた<NCTDM>。

\* HLA-Ev(147)(147番目のSをCに変更する事により高発現が見込まれる)にIRESでhuman  $\beta$ 2mを繋ぎ合わせた<HLA-E\*>。また新たに、これらを2Aで繋ぎ合わせた<HLA-Ev>。

\* CMAHのsiRNA法によるKDを試みた。

\* PERVのKDも試みた。

ブタを使ったバイオ人工細胞・臓器での大きな難題はブタPERVの存在である。siRNAによるKDが効果を現す事を既にin vitroで確かめている。

H-1 promoterにpol部分のsiRNA(#1)を組み込む。又、U6 promoterも用意し、他の部分のsiRNA(#2)を組み込む。

## 3. In vitroでの発現確認

ブタの血管内皮細胞(PEC)及び繊維芽細胞で検定する。導入方法は、lipid法(リポフェクトアミン、等)あるいは電気ショック法を用いた。

## 4. 更なる遺伝子の検索。

この間、将来を見据えて、マクロファージ/樹上細胞(DC)を制御できる新たな遺伝子を検索するとともに、 $\alpha$ -GalとH-D抗原以外の新たな糖鎖抗原を作り出す原因遺伝子を検索する。

・ブタ血管内皮に対するヒト・マクロファージ/DCによる障害を制御する分子を検定した。

・ブタとヒトのisletsの糖鎖構造を中心に3次元HPLC法及び質量分析(MALDI-TOF-MS)にて検索。

・CRISPR法の適応。

CRISPR(Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats)/Cas(CRISPR

Associated) システムでのブタCMAH遺伝子のKO siteを検索した。

#### (倫理面への配慮)

実験動物に対する動物愛護上の配慮に関しては、大阪大学および明治大学の動物実験委員会を通過した上でおこなっている。

検定その他に使うブタは麻酔時に注射の痛みを伴うが、その後覚醒する事無く安楽死させている。

### C. 結果

#### 1. 作製した遺伝子構築。

##### \* 補体制御 + $\alpha$

C1-INH - DAF - DAF <C1DD>-----  
pCAGGS(chick  $\beta$  actin + CMV enhancer)/C1DD

C1-INH - Thrombomodulin - DAF - MCP  
<CTDM> ---pCAGGS/CTDM 及び pCPI(pig  
insulin promoter + CMV enhancer)/CTDM

\* NK細胞制御 HLA-Ev(147)+human $\beta$ 2m---pCAGGS/HLA-Ev(147)-IRES-h $\beta$ 2m <HLA-E\*>-- pCPI/HLA-E\*

\* 糖鎖抗原の制御 H-D 抗原=pigCMAH の  
siRNA---H1/siRNA-pCMAH

\* PERVの制御 PERVのKD---H1/siRNA-PERV(pol#  
1)

#### 2. 新規に作製した遺伝子構築。

##### \* NCTDM < 補体制御 + $\alpha$ >

C1-INH - Thrombomodulin - DAF - MCP  
<NCTDM> ---pCAGGS/NCTDM 及び pCPI(pig  
insulin promoter + CMV enhancer)/NCTDM---  
--昨年の CTDM を改良した

\* NK細胞制御 pCAGGS/HLA-Ev(147)-2A-h $\beta$ 2m <HLA-Ev>-- pCPI/HLA-Ev

\* PERVの制御 PERVのKD--U6/siRNA-PERV(pol#  
2)

#### 3. 細胞での発現確認

これらの遺伝子をブタの血管内皮細胞に導入し、FACSで発現を確認した。

#### 4. 新規遺伝子の検索：

末梢血単核球よりの単球をGM-CSF+LPSで誘導した活性化マクロファージはブタ血管内皮細胞 (SEC) に対し強い細胞傷害活性を示したが、HLA-E および 2,6-ST遺伝子の導入により、SECはマクロファージ誘導細胞傷害から著明に免れた。

ブタisletsには、ヒトisletsに見られない硫酸化糖が多数見受けられ、現在抗原性との関連を検索中である。

CRISPR法の確立。 設定したCMAH(ex7)の off-target siteとしては、検索ではN=14で全て0であった。現在、Exon7のbestのtarget siteを決定し、ブタ細胞で効果を検証した。

### D. 考察

作製したhybrid遺伝子構築に関しては、的を得た分子が、改良の上出来上がったと考えている。in vitroでの発現の確認を終え、動物個体 (マウス) での発現を確かめている。顕微受精法 (ICSI法) によりブタ個体の作出を試み失敗に終わったが、胚盤胞形成試験で高効率であったため、経験的に遺伝子導入可能と判断した。

あくまで最終的には、 $\alpha$ -Gal+CMAH-ダブルKO-ブタに、これらのhybrid遺伝子を発現させる事が目標なので、検定としては十分ではないが一応終了して、次のステップに進んだ。つまり、既存のlineを整理して -Gal-KOブタのlineを使って、CMAHをKOしたブタ(ダブルKO-ブタ)の繊維芽細胞に検定済の新奇 hybrid遺伝子を高発現させ、それを核移植する方針である。

また、新たなKO目的の遺伝子あるいは導入遺伝子の検討として、HLA-Eの導入がNK細胞だけでなくマクロファージに対して、既に有効性が報告されているCD47以上の抑制効果が確認できた。また 2,6-STの遺伝子導入もマクロファージの細胞傷害活性を著明に抑制することが明らかとなった。さらに、糖鎖抗原の解析から担当遺伝子を検索する一歩として硫酸転移酵素が考えられたことも大きな収穫である。

## E. 結論

1年目、2年目と通じて、ICSI法での遺伝子導入を試みたが流産した。このため、新たな課題であるCHAHをKOしたブタの胎児を確立し、その繊維芽細胞に導入予定の遺伝子を高発現させ、さらに核移植する方法が考えられた。

一方、既存のhomozygous GalT-KOブタの正常性・生存性を改善でき、さらに Galに次ぐ糖鎖抗原であるH-D抗原のKOに目処がたった。加えて、マクロファージに対して有効な遺伝子が判明し、新たな糖鎖抗原の検索にも目処がたった。

## F. 健康危険情報

特に無し

## G. 研究発表

### < 論文発表 >

- Ikeda K, Yamamoto A, Nanjo A, Inuinaka C, Takama Y, Ueno T, Fukuzawa M, Nakano K, Matsunari H, Nagashima H, Miyagawa S. A cloning of cytidine monophospho-N-acetylneuraminic acid hydroxylase from porcine endothelial cells. *Transplant Proc.* 2012;44:1136-8.
- Nakatsu S, Takama Y, Ueno T, Inuinaka C, Takeishi S, Kondo A, Okitsu T, Nagashima H, Fukuzawa M, Miyagawa S. A study of the glycoantigens of neonatal porcine islet-like cell clusters (NPCC) using a lectin microarray. *Transplant Proc.* 2012;44:1134-5.
- Shuji Miyagawa, Yuichi Takama, Hiroshi Nagashima, Takehisa Ueno and Masahiro Fukuzawa. Carbohydrate antigens. *Curr Opin Organ Transplant.* 2012; 17: 174-9.
- Shuji Miyagawa, Akira Maeda, Shunsaku Takeishi, Takehisa Ueno, Noriaki Usui, Shinichi Matsumoto, Teru Okitsu, Masafumi Goto, Hiroshi Nagashima. A Lectin array analysis for wild-type and GalT-KO pig islets, compared with humans. *Surgery Today* 2013;43:1439-47.
- Aki Yamamoto, Kosuke Ikeda, Dandan Wang, Shino Nakatsu, Yuichi Takama, Takehisa Ueno, Hiroshi Nagashima, Akihiro Kondo, Masahiro Fukuzawa and Shuji Miyagawa. Trial using pig cells with the H-D antigen knocked down. *Surgery Today.* 2013;43:782-6.
- Akira Maeda, Takehisa Ueno, Shino Nakatsu, Dandan Wang, Noriaki Usui, Shunsaku Takeishi, Teru Okitsu, Masafumi Goto, Hiroshi Nagashima, Shuji Miyagawa. A lectin microarray study of glycoantigens in neonatal porcine islet-like cell clusters (NPCC). *J Surgical Research.* 183:412-8, 2013.
- Akira Maeda, Takuji Kawamura, Takehisa Ueno, Noriaki Usui, Hiroshi Eguchi, Shuji Miyagawa. The suppression of inflammatory macrophage-mediated cytotoxicity and proinflammatory cytokine production by transgenic expression of HLA-E. *Transplant Immunology.* 29:76-81, 2013
- Shuji Miyagawa, Akira Maeda, Takuji Kawamura, Takehisa Ueno, Noriaki Usui, Sachiko Kondo, Shinichi Matsumoto, Teru Okitsu, Masafumi Goto, Hiroshi Nagashima. A comparison of the main structures of N-glycans of porcine islets with those from humans. *Glycobiology.* 2014, 24, 25-38.
- Akira Maeda, Takuji Kawamura, Dandan Wang, Takehisa Ueno, Noriaki Usui, Shuji Miyagawa. Monocytic suppressor cells derived from human peripheral blood suppress xenogenic immune reaction. *Xenotransplantation.* In press.
- Akira Maeda, Takuji Kawamura, Kengo Nakahata, Takehisa Ueno, Noriaki Usui, Hiroshi Eguchi, Shuji Miyagawa. Regulation of macrophage-mediated xenocytotoxicity by overexpression of alpha 2,6-sialyltransferase in swine endothelial cells. *Transplant Proc.* In press.
- Yamamoto A, Ikeda K, Wang D, Nakatsu S, Takama Y, Ueno T, Nagashima H, Kondo A, Fukuzawa M, Miyagawa S: Trial using pig cells with the H-D antigen knocked down. *Surg Today* 43:782-6. DOI: 10.1007/s00595-012-0274-x, 2013.

12. Maeda A, Ueno T, Nakatsu S, Wang DD, Usui N, Takeishi S, Okitsu T, Goto M, Nagashima H, Miyagawa S: A lectin microarray study of glycoantigens in neonatal porcine islet-like cell clusters. *Journal of Surgical Research* , 183:412-418, DOI 10.1016/j.jss.2012.12.037, 2013.

< 国際学会 >

1. Kosuke Ikeda, Akiko Nanjyo, Hiroaki Kashiwada, Yuichi Takama, Takehisa Ueno, Masahiro Fukuzawa, Kazuaki Nakano, Hitomi Matsunari, Hiroshi Nagashima, Shuji Miyagawa. A cloning of cytidine monophospho-N-acetylneuraminic acid (CMP-NeuAc) hydroxylase from porcine endothelial cells. 12th Congress of the Asian Society of Transplantation, 2011. Sep 25th-28th , Seoul, Korea.
2. Akiko Nanjyo, Aki Yamamoto, Hiroaki Kashiwada, Kosuke Ikeda, Yuichi Takama, Takehisa Ueno, Masahiro Fukuzawa, Akihiro Kondo, Hiroshi Nagashima, Shuji Miyagawa. Trial of knockdown for the H-D antigen of pig cells. 12th Congress of the Asian Society of Transplantation, 2011. Sep 25th-28th, Seoul, Korea.
3. Hiroaki Kashiwada, Akiko Nanjyo, Shino Nakatsu, Shunsaku Takeishi, Yuichi Takama, Akihiro Kondo, Teru Okitsu, Hiroshi Nagashima, Masahiro Fukuzawa, Shuji Miyagawa. A study of the glycoantigens of neonatal porcine islet-like cell clusters using a lectin microarray. 12th Congress of the Asian Society of Transplantation, 2011. Sep 25th-28th, Seoul, Korea.
4. Hiroaki Kashiwada, Akiko Nanjyo, Shino Nakatsu, Yuichi Takama, Teru Okitsu, Hiroshi Nagashima, Masahiro Fukuzawa, Shuji Miyagawa. In comparison with APIs, NICCs are very rich in a 2,6Neu5NAc, and reduced Fucose/Core Fucose & high-mannose form, and Lactosamine & Core 1 forms are upregulated, instead, in 5 day cultures. The 11th Congress of International Congress for Xenotransplantation (Joint Conference with CST), 23-26 October, 2011, Miami, USA.
5. Wang D, Maeda A, Ueno T, Takama Y, Fukuzawa M, Matsumoto S, Okitsu T, Goto M, Kondo K, Nagashima H, Miyagawa S. Adult pig islets, rich in the high-mannose form compared with humans, were slightly up-regulated, and alpha-linked GalNAc was reduced by Gal-knockout. The 24<sup>th</sup> International Congress of the Transplantation Society. 2012. July 15-19, Berlin.
6. Akira Maeda, Takuji Kawamura, Dandan Wang, Takehisa Ueno, Noriaki Usui and Shuji Miyagawa. Monocytic suppressor cells derived from peripheral blood suppress CTL lysis in xenotransplantation. Seoul Forum on Xenotransplantation. 2012. Nov. 3, Seoul.
7. Dandan Wang, Akira Maeda, Takuji Kawamura, Takehisa Ueno, Noriaki Usui, Shinichi Matsumoto, Teru Okitsu, Masafumi Goto, Hiroshi Nagashima, Shuji Miyagawa. The main structures of N-glycans of porcine islets. The 13<sup>th</sup> Congress of the Asian Society of Transplantation (CAST) Sep2-6, In Kyoto
8. Akira Maeda, Takuji Kawamura, Takehisa Ueno, Noriaki Usui, Shuji Miyagawa. Regulation of macrophage-mediated xenocytotoxicity by overexpression of alpha 2,6-sialyltransferase in swine endothelial cells. The 13<sup>th</sup> Congress of the Asian Society of Transplantation (CAST) Sep2-6, In Kyoto
9. Akira Maeda, Takuji Kawamura, Takehisa Ueno, Noriaki Usui, Shuji Miyagawa. Monocytic suppressor cells derived from human peripheral blood suppress xenogenic NK lysis. The 13<sup>th</sup> Congress of the Asian Society of Transplantation (CAST) Sep2-6, In Kyoto
10. Akira Maeda, Takuji Kawamura, Takehisa Ueno, Noriaki Usui, Hiroshi Eguchi, Shuji Miyagawa. Poly I:C-activated monocytic suppressor cells suppress xenogenic cytotoxicity via IDO-

- dependent mechanisms. The 12<sup>th</sup> International Xenotransplantation Association. Nov 10-13 in Osaka.
11. Akira Maeda, Takuji Kawamura, Takehisa Ueno, Noriaki Usui, Hiroshi Eguchi, Shuji Miyagawa. The suppression of inflammatory macrophage-mediated cytotoxicity and proinflammatory cytokine production by transgenic expression of HLA-E. The 12<sup>th</sup> International Xenotransplantation Association. Nov 10-13 in Osaka.
  12. Dandan Wang, Akira Maeda, Takuji Kawamura, Takehisa Ueno, Noriaki Usui, Hiroshi Eguchi, Shuji Miyagawa. Regulation of macrophage-mediated xenocytotoxicity by overexpression of alpha 2,6-sialyltransferase in swine endothelial cells. The 12<sup>th</sup> International Xenotransplantation Association. Nov 10-13 in Osaka.
  13. Shuji Miyagawa, Akira Maeda, Dandan Wang, Takuji Kawamura, Takehisa Ueno, Noriaki Usui, Hiroshi Eguchi, Shinichi Matsumoto, Teru Okitsu, Masafumi Goto, Hiroshi Nagashima. The adult porcine islets preparation contained several glycans that were not detected in human islets. The 12<sup>th</sup> International Xenotransplantation Association. Nov 10-13 in Osaka.
  14. Dandan Wang, Akira Maeda, Takuji Kawamura, Kengo Nakahata, Takehisa Ueno, Noriaki Usui, Hiroshi Nagashima, Shuji Miyagawa. The structures of N-glycans of neonatal porcine islet-like cell clusters. The 12<sup>th</sup> International Xenotransplantation Association. Nov 10-13 in Osaka.

< 招待講演・国際学会 >

1. Shuji Miyagawa. Complements in transplantation. 12th Congress of the Asian Society of Transplantation, 2011. Sep 25th-28th, Seoul, Korea.
2. Shuji Miyagawa A study for glyco antigens in porcine islets. Seoul Forum on Xenotransplantation. 2012. Nov. 3, Seoul, Korea.

3. Shuji Miyagawa A feature of glyco-antigen in porcine islets. 2012 CABX Workshop and International Symposium. Transgenic Animals and its Application. Dec.2-4, Seogwipo, Jeju, Korea.
4. Shuji Miyagawa. The study for the antigenicity in pig to human xenotransplantation. First Korean Xenotransplantation Association Symposium. 2013. Jun 28. In Seoul.

< 国内学会 >

1. 宮川周士、南條明子、柏田紘明、福沢正洋、武石俊作、興津 輝、長嶋比呂志、松本慎一。Gal-knockout ブタ関連の膵島の糖鎖抗原の解析。日本移植学会（47） 仙台 2011.10月5-6日。
2. 高間勇一、柏田紘明、南條明子、中津志野、王 丹丹、福沢正洋、宮川周士、長嶋比呂志。ブタ CMAH 遺伝子制御による抗原性の変化の検討。日本移植学会（47） 仙台 2011.10月5-6日
3. 宮川周士・王 丹丹・高間勇一・上野豪久・福沢正洋、長嶋比呂志。異種移植ブタ開発研究の流れ。日本異種移植研究会、広島 2011.12月10日
4. 王 丹丹、高間勇一、上野豪久、武石俊作、福沢正洋、宮川周士、興津 輝、松本慎一、中野和明、松成ひとみ、長嶋比呂志。Gal-knockout ブタ関連の膵島の糖鎖抗原の解析日本異種移植研究会、広島 2011.12月10日
5. 王 丹丹、高間勇一、上野豪久、南條明子、乾中智佳子、福沢正洋、武石俊作、宮川周士、興津輝、長嶋比呂志。新生児ブタ膵島の糖鎖について。日本異種移植研究会、広島 2011.12月10日
6. 王 丹丹、高間勇一、上野豪久、福沢正洋、宮川周士、興津 輝、松本慎一、後藤昌史、長嶋比呂志。ブタ膵島の糖鎖抗原について。膵・膵島移植研究会旭川 2011.3月9-10日
7. 前田晃、王 丹丹、野上有里子、上野豪久、臼井規朗、宮川周士。末梢血単核球より得られた monocytic suppressor cells による異種移植拒絶反応抑制効果の検討。日本移植学会（48） 2012.名古屋 9月20-21日

8. 宮川周士、前田晃、野上有里子、王 丹丹、上野豪久、臼井規朗、興津 輝、後藤昌史、松本慎一、長嶋比呂志. プタとヒト臍島の糖鎖抗原の差異について. 日本移植学会 (48) 2012. 名古屋 9月20-21日
9. 前田晃. Poly I:C activated monocyte suppressor cells suppress CTL lysis in xenotransplantation via mechanisms independent of iNOS and arginase-1. 日本免疫学会 (41) 神戸、2012. 12月5-7日
10. 前田 晃、王 丹丹、野上有里子、上野豪久、臼井規朗、宮川周士. Poly-IC活性化monocytic suppressor cellsによる異種抗原特異的CTL抑制効果の検討. 日本異種移植研究会(15)、京都 2012. 12月8日
11. 宮川周士、前田晃、王 丹丹、上野豪久、臼井規朗、興津 輝、後藤昌史、松本慎一、明治大長嶋比呂志. 臍島の糖鎖構造についての検討. 日本異種移植研究会(15)、京都 2012. 12月8日
12. 宮川周士、前田 晃、河村拓司、中畠賢吾、上野豪久、臼井規朗、伊川正人、岡部 勝、長嶋比呂志. 臨床移植用遺伝子改変ブタ. 補体シンポジウム (50), 旭川 2013. 7月5-6日
13. 前田 晃、河村拓史、上野豪久、臼井規朗、江口 寛、宮川周士. ヒトHLA-E遺伝子強制発現によるマクロファージ性細胞傷害の抑制効果の検討. 日本移植学会 (49) 京都 2013. 年9月5-7日
14. 宮川周士、王 丹丹、前田晃、江口寛、上野豪久、臼井規朗、後藤昌史、松本慎一、長嶋比呂志. プタ臍島の硫酸化糖の抗原性について. 日本移植学会 (49) 京都 2013. 年9月5-7日
15. Akira Maeda, Takuji Kawamura, Kengo Nakahata, Takehisa Ueno, Noriaki Usui, Hiroshi Eguchi, Shuji Miyagawa. Transgenic expression of HLA-E and CD33 suppresses macrophage-mediated cytotoxicity and pro-inflammatory cytokine. 日本異種移植研究会(16)、大阪 H25年11月10日
16. Akira Maeda, Takuji Kawamura, Kengo Nakahata, Takehisa Ueno, Noriaki Usui, Hiroshi Eguchi, Shuji Miyagawa. Transgenic expression of HLA-E and

CD33 suppresses macrophage-mediated cytotoxicity and pro-inflammatory cytokine. 日本異種移植研究会(16)、大阪 H25年11月10日

#### <招待講演・国内>

1. 宮川周士. バイオ人工細胞・臓器の世界の現況. 第2回公開シンポジウム-先進医用ブタの開発と前臨床研究拠点形成プロジェクト 鹿児島 2012. 3月22日
2. 宮川周士、前田晃、江口寛、長嶋比呂志. 異種移植の現況. 日本移植学会 (49) 京都 2013. 9月5-7日

G . 知的所有権の取得状況  
特に無し。

