

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）
総合分担研究報告書

Hirschsprung病類縁疾患： 「疾患特異的iPS細胞を用いた疾患解析と新規治療法開発の可能性」 に関する研究

研究分担者 中畑 龍俊 京都大学iPS細胞研究所 副所長・特定拠点教授

【研究要旨】

Hirschsprung病やHirschsprung病類縁疾患は、小児期からの消化器系の希少難治性疾患群であり、その原因については不明な点が多い。本分担研究においては、疾患の原因解明を目的として、疾患特異的iPS細胞を樹立し、疾患解析を行った。

今回我々は、Hirschsprung病患者末梢血より疾患特異的iPS細胞を樹立し、iPS細胞を神経堤細胞・さらには末梢神経およびグリア細胞へと分化誘導する分化系を確立した。

本研究によりHirschsprung病やHirschsprung病類縁疾患の病態像が明らかになり、新規治療法の開発につながれば、患者や家族に福音をもたらすのみならず、医学研究領域に本邦発の大きなインパクトを与えることが期待される。

研究協力者

桐野 浩輔

（京都大学iPS細胞研究所
大学院特別研究学生）

Hirschsprung病類縁疾患は、その希少性により原因を含めた疾患概念に関するコンセンサスが十分に得られていないが、一部ではHirschsprung病と類似した腸管神経系発生異常が原因として考えられている。

A．研究目的

Hirschsprung病およびHirschsprung病類縁疾患は、ともに小児期より腸管蠕動不全をきたす疾患である。

Hirschsprung病は、胎生期における腸管神経系の発生異常によって生じ、腸管神経系細胞の前駆細胞である神経堤細胞の機能異常が主な疾患原因と考えられている。モデルマウスにおける表現型がヒトでの表現型と異なること・胎生期にのみ存在するヒト神経堤細胞を実験材料として手に入れることが困難であることなどから、ヒトにおける疾患解析は進んでいない。

近年、疾患特異的iPS細胞を用いることで、多くの疾患で発生段階における細胞機能異常を再現することが可能となった。本分担研究は、京都大学iPS細胞研究所・臨床応用研究部門を中心として、Hirschsprung病およびHirschsprung病類縁疾患の疾患特異的iPS細胞を用いた疾患解析を行い、腸管神経系細胞の発生異常であるHirschsprung病の疾患モデルを作成し、病態や遺伝型と表現型の相関などに関する新たな知見を得ることを目的とする。

B．研究方法

- 1) Hirschsprung病家族例（父・娘、娘の方がより重症）と非罹患家族（母）よりインフォームドコンセントを得て末梢血を採取した。得られた末梢血より単核球を分離し、それぞれにOct3/4, Sox2, Klf4, L-Myc, Lin28, shp53の6つの遺伝子をエピソームベクターで導入し、iPS細胞の樹立を行った。
- 2) 原因遺伝子の抽出を目的とし、採取した末梢血よりゲノムDNAを抽出してエキソーム解析を行った。解析用ツールとして、参照配列へのマッピングにはBWA(Burrows-Wheeler Aligner)を、一塩基変異および欠失/挿入変異のコールにはGATK(The Genome Analysis Toolkit)を用いた。
- 3) ヒトiPS細胞をTGF- β 阻害薬を含む無血清培地を用いて分化誘導し、CD271およびCD49d陽性の神経堤細胞をFACSにより分離した。
- 4) 分離・濃縮したiPS細胞由来神経堤細胞を用いてsphereを作成、培養することで神経細胞・グリア細胞への分化能を確認した。
- 5) 神経堤細胞をレチノイン酸で刺激することでRETを発現誘導し、RETのリガンドであるGDNFを添加した培地で培養し遊走能を比較した。

（倫理面への配慮）

本研究は、九州大学病院および京都大学の臨床研究・遺伝子解析研究に関する倫理委員会の承認を得て開始された。

また、すべての試料は書面にてインフォームドコンセントを得て収集された。

C. 研究結果

- 1) 患者2名(70-HSR: 娘, 71-HSR: 父)および非罹患家族1名(72-NOR: 母)より採取した末

梢血よりLymphoprepを用いて単核球を分離し、Oct3/4, Sox2, Klf4, L-Myc, Lin28, shp53の6つの遺伝子を導入した。遺伝子導入にはエレクトロポレーション法を用いた。SNL feeder細胞上で4週間培養を行い、iPS細胞を得た(図1)。得られたiPS細胞は、未分化細胞マーカーの発現およびtransgeneのsilencingを確認した。

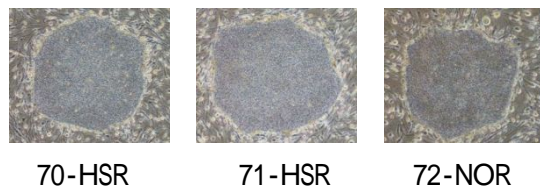


図1. 樹立したiPS細胞

- 2) 採取した末梢血よりゲノムDNAを抽出し、エキソーム解析を行った。過去に論文での報告のあるRET遺伝子のヘテロ接合ナンセンス変異(c.C538T:p.R180X)が罹患患者である父・娘に同定された。同定された変異を、ゲノムDNAをPCRで増幅後に直接シーケンス法にて再解析した(図2)。

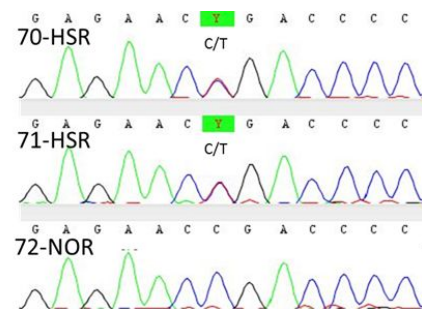


図2. 同定されたRET遺伝子の変異

- 3) 樹立したiPS細胞をTGF- β 阻害剤(SB431542)を含む無血清培地を用いて7日間分化誘導した。神経堤細胞を含む細胞集団をフローサイトメトリーを用いて解析し、神経堤細胞マーカーであるCD271陽性、CD49d陽性の細胞を認め、この細胞をFACSにより分離することができた。免疫染色により

神経堤細胞マーカーであるNestinおよびAP2の発現を確認した(図3)。分化効率(CD49d陽性細胞の割合)は疾患および健常人の間で差を認めなかった(図4)。

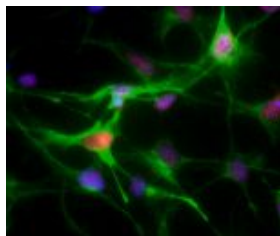


図3. 分化誘導した神経堤細胞
Nestin:緑,AP2 :赤,DAPI:青

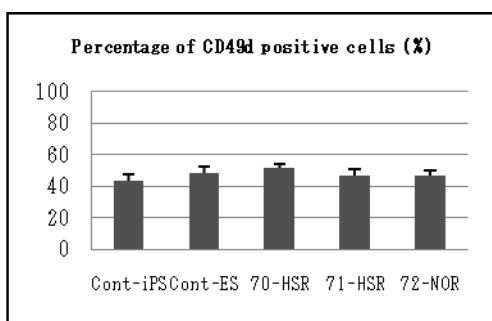


図4. 神経堤細胞の分化誘導効率

- 4) iPS細胞より分化誘導した神経堤細胞を、神経栄養因子(GDNF, BDNF, NGF)を添加した無血清培地で培養し、末梢神経およびグリア細胞を誘導した。免疫染色により末梢神経マーカーであるPeripherinおよびTuj1、グリア細胞マーカーであるGFAPの発現を確認した(図5)。

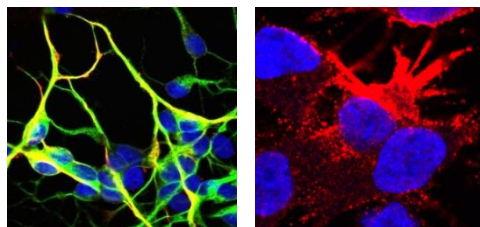


図5. 末梢神経細胞およびグリア細胞
左:末梢神経細胞 Tuj1:緑,Peripherin:赤,DAPI:青
右:グリア細胞 GFPA:赤,DAPI:青

- 5) 神経堤細胞をレチノイン酸(all-trans型)で

48時間刺激し、RETの発現誘導を行った(図6)。このRET陽性神経堤細胞を用いて遊走能解析を行った。RETのリガンドであるGDNFを添加することにより、神経堤細胞の遊走が促進された(図7)。

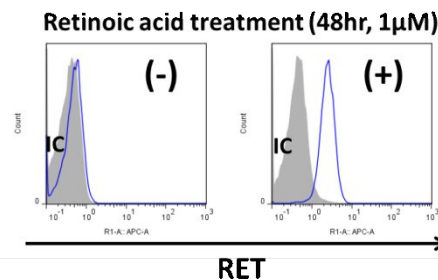
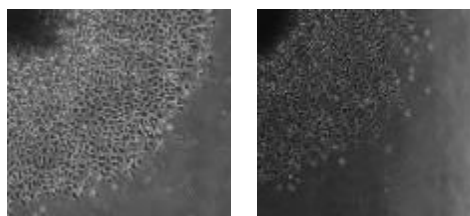
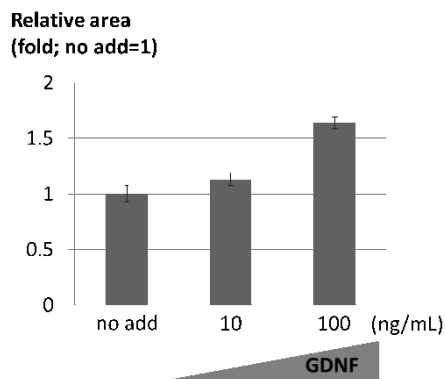


図6. 神経堤細胞のRET発現誘導



GDNF添加なし GDNF100ng/mL添加
図7. RET陽性神経堤細胞の遊走能解析

D. 考察

Hirschsprung病およびHirschsprung病類縁疾患の病態解明を目指した研究を行うにあたり、疾患原因に関する知見がある程度集積しているHirschsprung病の解析を優先することとし、上述のように疾患特異的iPS細胞を樹立した。また、ヒトiPS細胞を比較的短期間で神経堤細胞を分化誘導し、分離することが可能となった。

これまでに神経堤細胞の分化能および遊走能を評価する解析系を立ち上げたが、今後はこれらの解析系を用いて疾患とコントロールiPS由来神経堤細胞の機能評価・比較検討を行っていく。

また今回は表現促進現象を有する家族例（父より娘が重症）から細胞検体の採取を行った。この家族例において父子に共通するRET遺伝子の変異が同定されたが、表現促進現象にはこれとは別に何らかのmodifierの存在が示唆される。今後予定している細胞機能解析と網羅的遺伝子解析(エキソーム解析)を総合することで、従来の家系解析や連鎖解析では解明することの出来なかった「遺伝型と表現型の相関」を明らかにすることが期待される。

E . 結論

疾患特異的iPS細胞を用いることにより、これまで困難であったヒト神経堤細胞の機能異常を解析することが可能となった。神経堤細胞に由来する腸管神経系の発生、および腸管神経系の発生異常に起因するHirschsprung病やHirschsprung病類縁疾患といった疾患の病態については不明な点が多い。本研究はこれらの疾患原因を解明する糸口になると考えた。

F . 研究発表

・学術雑誌等での発表

1. 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.* 24(1):5-15,2012.
2. Izawa K., Hijikata A., Tanaka N., Kawai T., Saito M.K., Goldbach-Mansky R., Aksentijevich I., Yasumi T., Nakahata T., Heike T., Nishikomori R., Ohara O.: Detection of base substitution-type somatic mosaicism of the NLRP3 gene with >99.9% statistical confidence by massively parallel sequencing. *DNA Res.* 19(2):143-152,2012..
3. Morishima T., Nomura A., Saida S., Watanabe K., Yagi H., Matsumoto M., Fujimura Y., Heike T., Nakahata T., Adachi S.: Pediatric idiopathic TTP diagnosed with decreased ADAMTS13 activity. *Pediatr. Int.* 54(3):422-3, 2012.
4. Tsuchiya A., Imai M., Kamimura H., Takamura M., Yamagiwa S., Sugiyama T., Nomoto M., Heike T., Nagasawa T., Nakahata T., Aoyagi Y.: Increased susceptibility to severe chronic liver damage in CXCR4 conditional knock-out mice. *Dig. Dis. Sci.* 57(11):2892-2900, 2012. DOI 10.1007/s10620-012-2239-8, 2012.
5. 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* 48(3):E122-5,2012.
6. Kawai T., Nishikomori R., Izawa K., Murata Y., Tanaka N., Sakai H., Saito M., Yasumi T., Takaoka Y., Nakahata T., Mizukami T., Nunoi H., Kiyohara Y., Yoden A., Mutara T., Sasaki S., Ito E., Akutagawa H., Kawai T., Imai C., Okada S., Kobayashi M., Heike T.: Frequent somatic mosaicism of NEMO in T cells of patients with X-linked anhidrotic ectodermal dysplasia and immunodeficiency. *Blood* 119(23):5458-66,2012.
7. Tsumura M., Okada S., Sakai H., Yasunaga S., Ohtsubo M., Murata T., Obata H., Yasumi

- T., Kong X., Abhyankar A., Heike T., Nakahata T., Nishikomori R., Al-Muhsen S., Boisson-Dupuis S., Casanova J., AlZahrani M., Shehri MA., ElGhazali G., Takihara Y., Kobayashi M.: Dominant-negative STAT1 SH2 domain mutations in unrelated patients with Mendelian susceptibility to mycobacterial disease. *Human Mutation* 33(9):1377-87, 2012. doi: 10.1002/humu.22113, 2012 Sep
8. Kikuchi A., Hasegawa D., Ohtsuka Y., Hamamoto K., Kojima S., Okamura J., Nakahata T., Manabe A.: Outcome of children with Refractory Anaemia with Excess of Blast (RAEB) and RAEB in Transformation (RAEB-T) in the Japanese MDS99 study. *Brit. J. Haematol.* 158(5):657-661, 2012. 06/2012; DOI:10.1111/j.1365-2141.2012.09210.x
 9. Tanaka T., Takahashi K., Yamane M., Tomida S., Nakamura S., Oshima K., Niwa A., Nishikomori R., Kambe N., Hara H., Mitsuyama M., Morone N., Heuse J.E., Yamamoto T., Watanabe A., Sato-Otsubo A., Ozawa S., Asaka I., Heike T., Yamanaka S., Nakahata T., Saito M.K.: Induced pluripotent stem cells from CINCA syndrome patients as a model for dissecting somatic mosaicism and drug discovery. *Blood* 120(6):1299-308, 2012.
 10. Egawa N., Kitaoka S., Tsukita K., Naitoh M., Takahashi K., Yamamoto T., Adachi F., Kondo T., Okita K., Asaka I., Aoi T., Watanabe A., Yamada Y., Morizane A., Takahashi J., Ayaki T., Ito H., Yoshikawa K., Yamawaki S., Suzuki S., Watanabe D., Hioki H., Kaneko T., Makioka K., Okamoto K., Takuma H., Tamaoka A., Hasegawa K., Nonaka T., Hasegawa M., Kawata A., Yoshida M., Nakahata T., Takahashi R., Marchetto M.C., Gage F.H., Yamanaka S., Inoue H.: Drug screening for ALS using patient-specific induced pluripotent stem cells. *SciTransl Med.* 1;4(145):145ra104, 2012 Aug
 11. Kawai T., Saito M., Nishikomori R., Yasumi T., Izawa K., Murakami T., Okamoto N., Mori Y., Nakagawa N., Imai K., Nonoyama S., Wada T., Yatie A., Oomori K., Nakahata T., Heike T.: Multiple reversions of an IL2RG mutation restore combined immunodeficiency patient. *J. Clin. Immunol.* 32(4):690-7, 2012.
 12. Nakazawa Y., Saito S., Yanagisawa R., Suzuki T., Toshiro Ito T., Ishida F., Muramatsu H., Matsumoto K., Kato K., Ishida H., Umeda K., Souichi Adachi S., Nakahata T., Koike K.: Recipient seropositivity for adenovirus type 11 is highly predictive of the development of hemorrhagic cystitis after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* in press.
 13. Yanagimachi MD, Niwa A, Tanaka T, Ozaki F, Nishimoto S, Murata Y, Yasumi T, Ito J, Tomida S, Oshima K, Asaka I, Goto H, Heike T, Nakahata T, Saito MK: Robust and highly-efficient differentiation of functional monocytic cells from human pluripotent stem cells under serum- and feeder cell- free conditions. *PLoS ONE.* 4/3/ 2013; 8(4): e59243.
 14. Kondo T., Asai M., Tsukita K., Kutoku Y., Ohsawa Y., Sunada Y., Imamura K., Egawa N., Yahata N., Okita K., Takahashi K., Asaka I., Aoi T., Watanabe A., Watanabe K., Kadoya C., Nakano R., Watanabe D., Maruyama K., Hori O., Hibino S., Choshi T., Nakahata T., Hioki H., Kaneko T., Naitoh M., Yoshikawa K., Yamawaki S., Suzuki S., Hata R., Ueno S., Seki T., Kobayashi K., Toda T., Murakami K.,

- Irie K., Klein W.K., Mori H., Asada T., Takahashi R., Iwata N., Yamanaka S., Inoue H.: Modeling Alzheimer's disease using iPSCs reveals stress phenotypes associated with intracellular A and differential drug responsiveness. *Cell Stem Cell* 12(4):487-496. 2013.
15. Morishima T, Watanabe KI, Niwa A, Hirai H, Saida S, Tanaka T, Kato I, Umeda K, Hiramatsu H, Saito MK, Matsubara K, Adachi S, Kobayashi M, Nakahata T, Heike T. Genetic correction of HAX1 in induced pluripotent stem cells from a patient with severe congenital neutropenia improves defective granulopoiesis. *Haematologica*. 2013 Aug.23.98: doi 10.3324/haematol.2013.083873
16. Egawa N., Kitaoka S., Tsukita K., Naitoh M., Takahashi K., Yamamoto T., Adachi F., Kondo T., Okita K., Asaka I., Aoi T., Watanabe A., Yamada Y., Morizane A., Takahashi J., Ayaki T., Ito H., Yoshikawa K., Yamawaki S., Suzuki S., Watanabe D., Hioki H., Kaneko T., Makioka K., Okamoto K., Takuma H., Tamaoka A., Hasegawa K., Nonaka T., Hasegawa M., Kawata A., Yoshida M., Nakahata T., Takahashi R., Marchetto M.C., Gage F.H., Yamanaka S., Inoue H.: Response to Comment on "Drug Screening for ALS Using Patient-Specific Induced Pluripotent Stem Cells". *Science Transl. Med.* 06/2013; 5(188):188lr2. DOI:10.1126/scitranslmed.3005697
17. 中畑龍俊：総論 再生医療の進歩（再生医療の進歩）．小児科診療（Vol.75 No.1）57-63，2012年1月（特集 最先端医療の進歩 - 臓器移植・再生医療・遺伝子治療）．
18. 中畑龍俊：白血病治療の進歩と今後の展望．日本小児血液・がん学会雑誌（第49巻1・2号，2012）．
19. 中畑龍俊，丹羽明：幹細胞増幅，第10章 内科疾患と再生医療，カラー版内科学，門脇孝，永井良三（総編集），p447-450，2012，西村書店，東京
20. 斎藤潤，中畑龍俊：疾患特異的 iPS細胞．再生医療12(1):19-29，2013．
21. 中畑龍俊：総論疾患iPS細胞の樹立と臨床病態解析への応用．*Medical Science Digest(MSD)* 39 (11)：4(504)-6(506) 2013．
- ・学会等での講演、発表
- 特別講演、招待講演、招請講演、教育講演
1. 中畑龍俊：特別講演，iPS細胞研究の今，その可能性と将来展望．第115回日本小児科学学術集会 2012年4月20-22日（20日）福岡国際会議場 福岡市
2. 中畑龍俊：招待講演，iPS細胞を用いたこれからの小児医療の可能性．旭川小児科医学会講演会 2012年5月15日 旭川ロワジュールホテル
3. 中畑龍俊：招請講演，iPS細胞研究の進展．第59回日本臨床検査医学会学術集会 2012年11月29日～12月2日（11/30）国立京都国際会館
4. 中畑龍俊：教育講演，小児患者におけるiPS細胞の応用．第49回日本小児アレルギー学会 2012年9月15-16日（16日）大阪国際会議場中畑龍俊：特別講演，iPS細胞研究が切り開く未来の医療．日本学術会議公開学術講演会「未来社会を築く生命科学と医療のフロンティア」2013年8月3日 京都大学薬学部記念講堂
5. 中畑龍俊：特別講演，iPS細胞の小児医療への応用．第38回東日本小児科学会 2013

年11月23日 大宮ソニックシティ（さいたま市）

6. 中畑龍俊：教育講演，iPS細胞の臨床応用．第55回日本小児血液・がん学会学術集会．2013年11月29日-12月1日（30日）ヒルトン福岡シーホーク

国際学会

7. Yanagimachi M, Niwa A, Tanaka T, Oshima K, Saito M, Nakahata T: Differentiation of monocytic lineage cells from human iPS cells by using a serum and feeder free culture method. 10th Annual Meeting of International Society for Stem Cell Research (ISSCR), June 13-16, 2012, Pacifico Yokohama, Yokohama, Japan.
8. Niwa, Akira, Saito, Megumu, Oshima, Koichi, Yanagimachi, Masakatsu, Tanaka, Takayuki, Kato, Itaru, Nakahata T, Tatsutoshi: Human ESC/iPSC-Derived mesenchymal stroma can support hematopoietic progenitors. 10th Annual Meeting of International Society for Stem Cell Research (ISSCR), June 13-16, 2012, Pacifico Yokohama, Yokohama, Japan.
9. Morishima T, Watanabe K, Niwa A, Tanaka T, Saida S, Kato I, Umeda K, Hiramatsu H, Matsubara K, Adachi S, Nakahata T, Heike T: Induced pluripotent stem cell model of severe congenital neutropenia with HAX1 gene deficiency. 10th Annual Meeting of International Society for Stem Cell Research (ISSCR), June 13-16, 2012, Pacifico Yokohama, Yokohama, Japan.
10. Yokoyama K, Ikeya M, Nasu A, Tanaka T, Saito M, Umeda K, Nishikomori R, Nakahata T, Heike T, Toguchida J: Understanding the pathology of the arthropathy in chronic infantile neurological cutaneous and articular syndrome by using iPS cells technology. 10th Annual Meeting of International Society for Stem Cell Research (ISSCR), June 13-16, 2012, Pacifico Yokohama, Yokohama, Japan.
11. Tanaka T, Saito MK., Takahashi K, Yamanaka S, Nakahata T: Induced pluripotent stem cells from CINCA syndrome patients as a model for dissecting somatic mosaicism and drug discovery. 10th Annual Meeting of International Society for Stem Cell Research (ISSCR), June 13-16, 2012, Pacifico Yokohama, Yokohama, Japan.
12. Manabe A, Kikuchi A, Kojima S, Tsuchida M, Hayashi Y, Koike K, Ohara A, Ishii E, Komada Y, Nakahata T: Long-term follow-up of more than 545 children with myelodysplastic syndrome (MDS) and myeloproliferative neoplasms (MPN). VI International Symposium on Myelodysplastic Syndromes and Bone Marrow Failures in Childhood, November 7-9, 2012, Prague
13. Honda Y, Tsuchida M, Masunaga A, Yoshimi A, Kojima S, Ito M, Kikuchi A, Nakahata T, Manabe A: Clinic characteristics of 23 children with juvenile myelomonocytic leukemia who developed blast crisis: MDS Committee of LSPHO. VI International Symposium on Myelodysplastic Syndromes and Bone Marrow Failures in Childhood, November 7-9, 2012, Prague
14. Hasegawa D, Chen X-j, Hirabayashi S, Ishida Y, Watanabe S, Zaïke Y, Tsuchida M, Masunaga A, Yoshimi A, Hama A, Kojima S, Ito M, Nakahata T, Manabe A: Treatment outcome of 67 cases with refractory cytopenia of childhood (RCC): A Prospective Registration

- Through The Japanese Society of Pediatric Hematology/Oncology(JSPHO). VI International Symposium on Myelodysplastic Syndromes and Bone Marrow Failures in Childhood, November 7-9, 2012, Prague
15. Suzuki N., Hira A., Niwa A., Matsuo K., Takata M., Yabe M., Nakahata T., Saito M.: Mesodermal development from reprogrammed Fanconi anemia cells is affected by ALDH2 enzymatic activity. 11th Annual Meeting of international Society for Stem Cell Research (ISSCR). 7/12-7/15, Boston, MA, USA.
 16. Yoshida M., Kitaoka S., Yamane M., Tsukita K., Inoue H., Saito M., Nakahata T.: Spinal moter neurons generated from induced pluripotent stem cells derived from spinal muscular atrophy patients failed to cluster acetylcholine receptors at the neuromuscular junctions. 11th Annual Meeting of international Society for Stem Cell Research (ISSCR). 7/12-7/15, Boston, MA, USA.
- 国内学会（一般演題）
15. 中畑龍俊：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。（重点研究成果発表）平成23年度厚生労働省難治性疾患克服研究推進事業研究成果発表会「再生医療技術及び遺伝子治療技術の難治性疾患治療への応用」2012年1月14日 大阪国際会議場
 16. 井澤和司，土方敦司，西小森隆太，小原収，田中尚子，河合朋樹，八角高裕，齋藤潤，中畑龍俊，平家俊男：次世代シーケンサーによるNLRP3体制モザイクの診断．第115回日本小児科学会学術集会 2012年4月20-22日（21日）福岡国際会議場 福岡市（口演）
 17. 石田宏之，今井耕輔，本間健一，田村真一，今村俊彦，齋藤潤，大嶋宏一，伊藤雅文，中畑龍俊，野々山恵章：白血球減少，骨髓異形成とリンパ浮腫を呈するGATA-2異常．第115回日本小児科学会学術集会 2012年4月20-22日（21日）福岡国際会議場 福岡市（口演）
 18. 川村晃久，十河孝浩，上辻麻子，加藤格，長谷川浩二，戎家美紀，西田栄介，中畑龍俊：表面マーカーによる初期化成功予測因子の解析．第33回日本炎症・再生医学会 2012年7月5-6日（5日）ホテル日航福岡
 19. 川村晃久，十河孝浩，尾野亘，加藤格，長谷川浩二，中畑龍俊：初期化誘導過程で出現する心筋前駆様細胞を用いた安全かつ効率的な心筋再生療法の確立．第33回日本炎症・再生医学会 2012年7月5-6日（5日）ホテル日航福岡
 20. 井澤和司，西小森隆太，吉岡耕平，齋藤潤，中畑龍俊，平家俊男：CINCA症候群におけるNLRP3体細胞モザイク変異．第33回日本炎症・再生医学会 2012年7月5-6日（5日）ホテル日航福岡
 21. 本田裕子，土田昌宏，増永敦子，吉見礼美，小島勢二，伊藤雅文，菊池陽，中畑龍俊，真部淳：経過中に急性転化したJMML23例の検討；MDS委員会のデータベースから（口演）第54回日本小児血液・がん学会学術集会 2012年11月30-12月2日（11/30）パシフィコ横浜会議センター
 22. 才田聡，渡邊健一郎，佐藤亜以子，照井君典，吉田健一，奥野友介，土岐力，王汝南，白石友一，宮野悟，加藤格，森嶋達也，梅田雄嗣，平松英文，藤野寿典，足立壮一，丹羽明，中畑龍俊，伊藤悦朗，小川誠司，平家俊男：NOGマウスを用いたTAMの病態解析（口演）第54回日本小児

- 血液・がん学会学術集会 2012年11月30-12月2日(12/2)パシフィコ横浜会議センター
23. Hasegawa D, Chen X-j, Hirabayashi S, Ishida Y, Watanabe S, Zaïke Y, Tsuchida M, Masunaga A, Yoshimi A, Hama A, Kojima S, Ito M, Nakahata T, Manabe A: Treatment outcome of refractory cytopenia of childhood (RCC):A prospective registration through the Japanese Society of Pediatric Hematology/Oncology(JSPHO) between 1999 and 2008. (ワ-クショツプ) 第54回日本小児血液・がん学会学術集会 2012年11月30-12月2日(12/2)パシフィコ横浜会議センター
24. Yagasaki H, Shichino H, Ohara A, Kudo K, Tsuchida M, Kobayashi R, Ito E, Watanabe K, Kikuchi A, Morimoto A, Yabe H, Ohga S, Nakahata T, Kojima S on behalf of Japanese Childhood Aplastic Anemia Study Group: Outcome of Immunosuppressive therapy in children with fulminant aplastic anemia. (ワ-クショツプ) 第54回日本小児血液・がん学会学術集会 2012年11月30-12月2日(12/2)パシフィコ横浜会議センター
25. 柳町昌克, 丹羽明, 田中孝之, 村田祐樹, 八角高裕, 金澤伸雄, 平家俊男, 中畑龍俊, 齋藤潤: iPS細胞から単球・樹状細胞の分化誘導と疾患iPS細胞研究への応用. 第5回自己炎症疾患研究会 2012年7月6日 福岡朝日ビル
- ・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. 中畑龍俊: 患者さんから樹立するiPS細胞を用いた今後の小児医療. 第8回医学生・若手医師のための小児科診療最前線 2012年6月23日 北野病院5F(きたのホール)
 2. 中畑龍俊: iPS細胞を用いた今後の医療の可能性. 第23回小児科血液セミナー2012年7月19日 広島大学病院
 3. 中畑龍俊: iPS細胞を用いた今後の医療の可能性. 第7回信州肝胆膵外科先端医療研究会 2012年11月17日 ホテルブエナビスタ(松本市)
 4. 中畑龍俊: 患者さんから作成するiPS細胞を用いた今後の医療. 第6回高知県血液・細胞治療研究会 2012年12月15日 高知大学医学部附属病院臨床講義棟(南国市)
- ・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. 中畑龍俊: 小児の難治性血液疾患とiPS細胞. 再生つばさの会大阪医療講演会/相談会 2012年3月10日 エルおおさか(大阪府立労働センター)
 2. 中畑龍俊: 難治性血液疾患とiPS細胞. 再生つばさの会(再生不良性貧血, 骨髄異形成症候群, 発作性夜間ヘモグロビン素尿症患者・家族の会)「横浜医療講演会」2012年9月8日 神奈川県総合薬事保健センター
 3. 中畑龍俊: iPS細胞の今とこれから. 第一回市民公開講座「iPS細胞こんにちは! ~さい帯血は生命のお母さん~」2012年11月29日 よみうりホール(東京)
- G. 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