

I. 総括研究報告書

厚生労働科学研究費補助金（B型肝炎創薬実用化研究事業）
（総括）研究報告書

ヒト/チンパンジー・マウスハイブリッド技術を利用した
B型肝炎ウイルス感染モデルマウスの開発

研究代表者 山村 研一 熊本大学生命資源研究・支援センター シニア教授

研究要旨

HBV感染可能で、かつヒトと同様の免疫応答によりB型肝炎を発症するマウスモデルの開発を目的とし、(1)基本となるヒトHLA class I 遺伝子(HHD)およびマウス(HHB)の入手と繁殖、(2)チンパンジー肝臓キメラマウス(CM)の作製、(3)ヒト肝臓置換マウス(HM)の作製、(4)HBV肝炎モデルの確立を行う。(1)については、ヒトの $\beta 2$ -microglobulin、HLA-A2.1のa1、a2、およびマウスa3ドメインを連結した遺伝子(HHD)、マウスのH-2 class Iを欠損し、代わりにHHDを持つマウス系統「Tg(HLA-A2.1-h $\beta 2$ m);H2-D^{B*/-};B2m^{-/-} (HHBと略)」を基本となるレシピエントマウスとし、このマウスからES細胞を樹立している。(1)については、多数のマウスを得るため体外受精の系を確立した。(2)については、新型のセンダイウイルスベクターを開発し、チンパンジーの血液細胞からのiPS(ciPS)細胞の樹立に成功した。樹立したciPSはT細胞由来で、網羅的遺伝子発現パターンはヒトESやiPSと類似していた。ciPSのHHD遺伝子の導入に成功した。レシピエントマウスとしてHhex欠損マウスを樹立した。肝臓欠損マウスを作製するためHhex遺伝子を破壊したES細胞(ES HHB:Hhex^{-/-})の樹立に成功した。(3)については、ヒトiPSを増殖させ、一方効率よく分化誘導する方法を確立した。ヒトiPS細胞へのHHD遺伝子導入に成功した。マウスの肝細胞を完全に死滅させるため、2つベクター、SAP-Cre-ERT2(SC)およびCAG-loxP-EGFP-loxP-DT-A(CD)を導入したHHB:SCCDマウスの樹立に成功した。第2のレシピエントマウスとしてのHHB:Fah^{-/-}マウスの樹立にも成功した。また、tamoxifenの経口投与方法および胎児の卵黄嚢血管からのヒト肝細胞の移植法を確立し、免疫応答正常で、肝臓ヒト化マウスの作製に成功した。(4)については、CMやHMにHBVを感染させることを想定し、B型肝炎ウイルス抗原、抗体などの各種血清学的検査、および炎症マーカーの測定法を確立した。また、iPSより分化誘導した肝前駆細胞において、HBVのリセプターとなるtaurocholate cotransporting polypeptide (NTCP)が発現していること、実際にHBV-NL株が感染できることを明らかにした。

研究分担者

- ・荒木喜美・熊本大学生命資源研究・支援センター・教授
- ・江良拓実・熊本大学発生医学研究所・教授
- ・佐々木裕・熊本大学生命科学研究部・教授

研究協力者

- ・明里宏文・京都大学霊長類研究所・教授
- ・李正花・熊本大学生命資源研究・支援センター・助教
- ・白木伸明・熊本大学発生医学研究所・助教
- ・渡邊丈久・熊本大学生命科学研究部・助教
- ・直江秀昭・熊本大学生命科学研究部・助教
- ・松本健・熊本大学生命資源研究・支援センター・

助教

- ・仁木大輔・熊本大学生命資源研究・支援センター・研究員
- ・アーマッド マザヘリー・熊本大学生命資源研究・支援センター・研究員
- ・藤江里美・熊本大学生命科学研究部・大学院生

A. 研究目的

HBVキャリアは本邦でも150万人存在し、治療抵抗性であるとともに10-20%に肝癌が発症することから、慢性B型肝炎発症機構の解析とそれに基づく新たな治療法の確立は急務である。そこで、HBV感染可能でヒトのクラスIシステムを持ち免

1. 基本となるヒトHLA class Iマウスの入手と繁殖

(1) ベクターHLA-A2.1($\alpha 1$ - $\alpha 2$ - $m\alpha 3$)-h $\beta 2m$ (HHD)を入手、配列確認

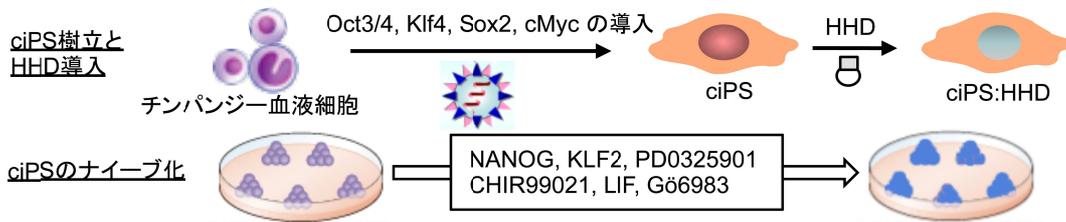


(2) Tg(HLA-A2.1($\alpha 1$ - $\alpha 2$ - $m\alpha 3$)-h $\beta 2m$);H2-D^{B-/-};B2m^{-/-}(HHB)入手、繁殖、ES細胞の樹立

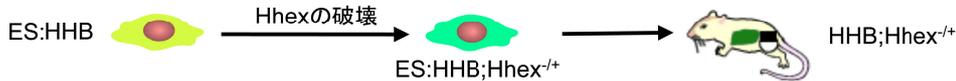


2. チンパンジー肝臓キメラマウスの作製

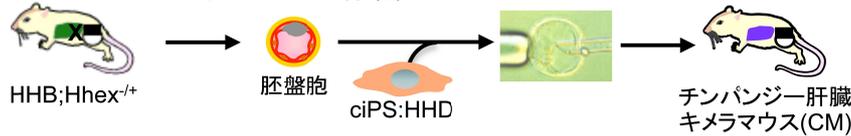
(1) チンパンジーiPS (ciPS)細胞の樹立、HHD遺伝子導入、ciPSのナイーブ化



(3) レシピエント(肝臓欠失/ヒトHLA)マウスの作製



(4) チンパンジーキメラマウスの作製

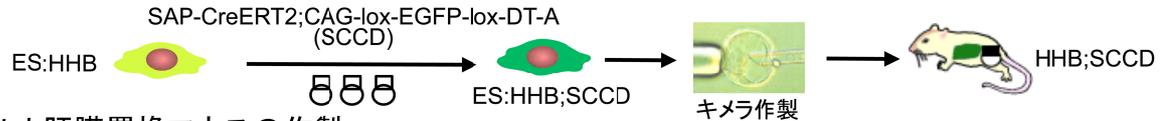


3. ヒト肝臓置換マウスの作製

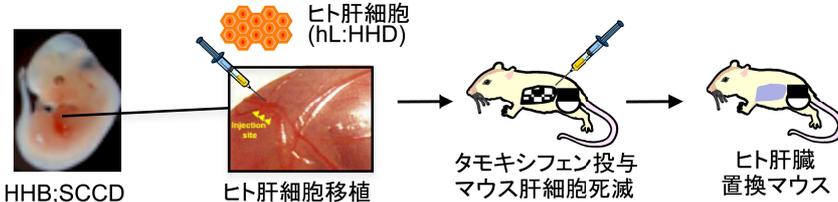
(1) ヒトiPS細胞へのHLA遺伝子導入と肝細胞への分化誘導



(2) レシピエントマウスの作製



(3) ヒト肝臓置換マウスの作製



4. HBV感染・肝炎モデルの樹立



疫応答が正常な感染マウスモデルを作製し、病態解析と治療法確立のための画期的なツールを開発することを目的とする。研究の全体像を図に示した。

B. 研究方法

HBV が感染可能で正常の免疫応答を持つマウスを作製することを目的とし、基本となるヒト HLA class I 遺伝子(HHD)およびマウス(HHB)の入手と繁殖、チンパンジー肝臓キメラマウスの作製、ヒト肝臓置換マウスの作製、HBV 肝炎モデルの確立を行う。それぞれの項目について平成 26 年度は、以下の研究を行う。

1. 基本となるヒト HLA class I 遺伝子(HHD)およびマウス(HHB)の入手と繁殖 (山村、荒木)

昨年度までに HHD 遺伝子および HHB マウスを入手し、ES:HHB 細胞も樹立しており、この項目は完了している。

2. チンパンジー肝臓キメラマウスの作製

(1) チンパンジー-iPS(ciPS)細胞の樹立、HHD 遺伝子導入、ciPS のナイーブ化 (江良)

1) チンパンジー-iPS 細胞の樹立 (江良) 新型 SeV の開発

昨年度までに通常のセグダイウイルスベクター (SeV)を用いて ciPS の樹立に成功している。体細胞から iPS 細胞の誘導効率を向上させ、樹立早期にウイルス除去を可能とする新型 SeV を開発するために、Sox2、KLF4、Oct3/4 の初期化因子が 1 つのウイルスベクター上にタンデムに並んだベクターを作製する。そして、iPS 細胞の誘導効率やウイルスの除去率等を調べる。

樹立した ciPS 細胞の起源の解析 (江良)

ciPS 細胞の起源が T リンパ球かどうかを、T リンパ球受容体 (TCR) の再構成が生じているかどうかで解析する。

ciPS 細胞の網羅的発現遺伝子の解析 (江良)

ヒト ES やヒト iPS における遺伝子発現パターンを比較するため、RNA を抽出後、DNA マイクロアレイを用いて発現遺伝子の網羅的解析を行なう。

2) 樹立した ciPS 細胞への HHD 導入 (江良) HHB マウスと同じヒト class I を発現させる

ため、樹立した ciPS 細胞へ HHD 遺伝子を導入する。

3) 樹立した iPS 細胞のナイーブ化 (江良)

マウス胚とのキメラ作製を行うためには、ciPS 細胞をよりマウス ES 細胞の状態に近づけることが必要である。この作業をナイーブ化と呼ぶ。最近発表された方法 (Cell, 158: 1254-1269, 2014)を参考にナイーブ化の条件を検討する。

(2) レシピエントマウスの作製 (荒木)

ナイーブ化したチンパンジー由来 iPS 細胞とマウス胚との間でキメラマウスを作製することで、チンパンジー細胞由来の肝細胞を持つマウスを作製するため、肝臓発生のマスター遺伝子である Hhex 欠損マウスを作製する。

(3) チンパンジーキメラマウスの作製 (荒木) 平成 27 年度の実施予定である。

3. ヒト肝臓置換マウスの作製

(1) ヒト iPS 細胞への HLA 遺伝子導入と肝細胞への分化誘導 (山村)

1) ヒト iPS から肝細胞への分化誘導 (山村)
昨年度までにヒト iPS から肝細胞への分化誘導方法を確立している。しかし、iPS 細胞の多分化能を失うことなく維持する方法や、その iPS 細胞からの成熟肝細胞への分化誘導法について、まだ開発の余地があるので、その開発を試みる。

2) ヒト iPS 細胞への HLA 遺伝子導入 (山村)

ヒト肝細胞を誘導するヒト iPS にも、この HHD 遺伝子を導入し iPS:HHD を作製する。これにより、胸腺で発現するヒトクラス I と移植予定のヒト肝細胞で同じ HHD が発現していることとなる。

(2) レシピエントマウスの作製 (山村、荒木)

1) ES:HHB 樹立 (荒木)

昨年度までに HHB マウスより ES 細胞の樹立に成功している。

2) HHB:SCCD マウス樹立 (荒木)

tamoxifen 投与時に、マウス肝細胞を死滅させるため、ES:HHB に SCCD を導入し、それを用いてマウス系統 (HHB:SCCD) の樹立を行う。SC:SAP-CreER^{T2} と CD:CAG-loxP-EGFP-loxP-DT はそれぞれ別の遺伝子である。

3) HHB:SCCD におけるマウス肝細胞死 (山村)
HHB:SCCD に tamoxifen を投与し、マウス肝細胞を死滅させることができるかどうかを解析する。

4) Fah 欠損マウスの樹立 (荒木)

Fumaryl acetoacetate hydrolase (Fah) 欠損ホモ個体は、NTBC を飲用させれば正常に生育するが、その飲用を止めると肝障害を発症することが知られている。このマウス系統もレシピエントとして樹立する。

(3) ヒト肝臓置換マウスの作製 (山村)

1) tamoxifen 投与法の確立 (山村)

早期にマウス肝細胞の死滅を起こすため、胎児期つまり妊娠マウスあるいは出生後から tamoxifen を投与することを考えている。この場合、通常の腹腔投与は望ましくない。そこで、経口投与法の開発を試みる。

2) ヒト肝細胞移植法 (山村)

肝細胞を移植するより良い方法を開発することを目指し、胎児期の卵黄囊血管から細胞を移植する方法は昨年度完成した。そこで、ヒト肝細胞及び hiPS より分化誘導した肝細胞 hHep を移植し、肝臓ヒト化マウスを作製できるかどうかを検討する。

4. HBV 感染・肝炎モデルの樹立 (佐々木)

(1) HBV 感染の条件の検討 (佐々木)

キメラマウスに肝炎ウイルスを感染させるために必要な条件を具体的に検討する。

(2) HBV 感染状態の解析 (佐々木)

HBV の感染状態を解析するために必要な実験系を確立する。

(3) HBV の iPS 細胞への感染 (山村、佐々木)

キメラマウス作成に先行し、iPS 細胞から分化させた肝細胞に HBV が感染可能か検証する。

(4) HBV-cccDNA の発現制御メカニズムの解析 (佐々木)

HBV-cccDNA の発現制御メカニズムに関与すると思われるエピジェネティクス関連因子についての解析を行う。

(倫理面への配慮)

本研究ではインフォームド・コンセント等の同意については該当しない。ヒト iPS 細胞は市販の

ヒト線維芽細胞より樹立したものが、すでに理化学研究所バイオリソースセンターから配布している株を用いる。ヒト iPS 細胞の樹立とそれを用いた肝細胞への分化研究ならびにマウスへの移植研究についてはすでに所属機関の倫理委員会にて承認済みである。

実験動物に対する動物愛護上の配慮に関して、チンパンジーからの iPS 細胞作製は末梢血液を採取して行うために、当該機関である京都大学霊長類研究所の倫理審査委員会での承認を得て行った。採血の方法は通常にチンパンジーから採血している方法に準じる。チンパンジー個体そのものは、この実験では用いる必要はないので、このことに関する倫理委員会での申請は必要がない。

マウス動物実験については、所属機関の委員会での承認されており、機関内の指針を遵守し行う。

C. 研究結果

1. 基本となるヒト HLA class I 遺伝子 (HHD) およびマウス (HHB) の入手と繁殖 (山村、荒木)

HHD および HHb は入手済みである。HHB マウスは、自然交配では繁殖が悪いので、体外受精の方法を確立した。

2. チンパンジー肝臓キメラマウスの作製

(1) チンパンジー iPS (ciPS) 細胞の樹立、HHD 遺伝子導入、ciPS のナイーブ化 (江良)

1) チンパンジー iPS 細胞の樹立 (江良)
新型 SeV の開発

Sox2、KLF4、Oct3/4 の 3 つの初期化因子をタンデムにつないだセンダイウイルスベクターを作成した。このベクターを使い、4% という高効率で iPS を作製することができた。この新型 SeV は温度感受性があるミュータントで 38 度では増殖できない。そこでコロニーを分離後すぐに培養温度を 37 度から 38 度に変更することにより、80% 以上の高い割合でウイルスを除去することができた。

樹立した ciPS 細胞の起源の解析 (江良)

T リンパ球受容体 (TCR) の再構成が生じているかどうかで解析する。樹立したすべての ciPS 細胞で、TCR の再構成バンドが検出されたので、樹立した ciPS 細胞はすべて末梢血液に存在する T リンパ球由来であることが

わかった。

ciPS 細胞の網羅的発現遺伝子の解析 (江良)

ciPS 細胞は、Principle Component Analysis (PCA) およびクラスター解析において、ヒトの ES 細胞、ヒト iPS 細胞のデータの近傍にマッピングされた。このことは、作製した ciPS 細胞がヒトの ES 細胞や iPS 細胞に近い、すなわち分化状態が一步進んだプライムタイプの多能性幹細胞 (胚の epiblast に類似する細胞) であることを示唆している。

2) 樹立した ciPS 細胞への HHD 導入 (江良)

HHD 遺伝子が導入された ciPS 細胞クローンの樹立に成功した。

3) 樹立した iPS 細胞のナイーブ化 (江良)

平成 25 年度に発表された方法 (Nature, 504:282-286, 2013) を数回施行したが、全く ciPS 細胞コロニーを得ることができなかった。そこで、平成 26 年度 Cell 誌に報告された Takashima らの方法 (Cell, 158: 1254-1269, 2014) の追試を行なっている。

(2) レシピエントマウスの作製 (荒木)

HHB ES 細胞と CRISPR/Cas9 法を用い、肝臓発生のマスター遺伝子である Hhex 欠損マウスの作製に成功した。

(3) チンパンジーキメラマウスの作製 (荒木)

平成 27 年度に実施予定である。

3. ヒト肝臓置換マウスの作製 (山村、荒木)

(1) ヒト iPS 細胞への HLA 遺伝子導入と肝細胞への分化誘導

1) ヒト iPS から肝細胞への分化誘導 (山村)

ヒト iPS 細胞では、多分化能を維持するために高い濃度の methionine とその代謝産物である S-adenosylmethionine を必要とすること、この methionine が低下すると、分化は促進されることを明らかにした。また、synthetic nanofiber を用いると、分化誘導を促進することを明らかにした。

2) ヒト iPS 細胞への HLA 遺伝子導入 (山村)

HHD の検出には Anti-HLA-A2 mAb (clone BB7.2) を使用できることがわかった。HHD を iPS にエレクトロポレーションすることにより、iPS:HHD の樹立に成功した。

(2) レシピエントマウスの作製 (山村)

1) ES:HHD 樹立 (荒木)

昨年度までに HHD マウスより ES 細胞の樹立成功している。

2) HHD:SCCD マウス樹立 (荒木)

ES:HHD に SCCD を導入し、6 系統 (HHD:SCCD) の樹立を行った。

3) HHD:SCCD におけるマウス肝細胞死 (山村)

樹立した 6 系統のうち、1 系統において、tamoxifen 投与により劇症肝炎が生じ、マウスが全例死亡することがわかり、任意の時期にマウス肝細胞を死滅させることのできる系統樹立に成功した。

4) Fah 欠損マウスの樹立 (荒木)

ES HHD および CRISPR/Cas9 法を用い、Fah 欠損マウスの樹立に成功した。

(3) ヒト肝臓置換マウスの作製 (山村)

1) tamoxifen 投与方法の確立 (山村)

tamoxifen 0.1g を粉末餌 200g によく混ぜ、Y 式マウス用粉末給餌器を用いて投与することにより、効率よく CreERT2 が核内に移行し、通常の腹腔内投与とほぼ同じかよりよい効率で、loxP 間の組換えを起こすことを確認した。したがって、経口投与方法を確立した。

2) ヒト肝細胞移植法 (山村)

胎児期の卵黄嚢血管から、ヒト肝細胞及び hiPS より分化誘導した肝細胞 hHep を移植し、肝臓ヒト化マウスを作製する方法を確立した。

3) ヒト肝臓置換マウスの作製

上記の 1) と 2) の技術を用い、免疫応答正常で、ヒト肝臓置換マウスの作製に成功した。

4. HBV 感染・肝炎モデルの樹立 (佐々木)

(1) HBV 感染の条件の検討 (佐々木)

文献的な考察から、マウス 1 体当たり $1 \times 10^5 \sim 10^6$ copy の投与で感染が成立しうると考えられる。

(2) HBV 感染状態の解析 (佐々木)

実臨床において、ELISA 法による HBs の定量、qPCR 法による HBV-DNA の定量等行っており、これらを用いてその判定を行うこととした。

(3) HBV の iPS 細胞への感染 (佐々木)

iPS 由来肝芽様細胞において HBV の感染に

必要な taurocholate cotrans -porting polypeptide (NTCP)が発現していることを確認した。また、HBV に luciferase 遺伝子を組み込んだ HBV-NL 株(下遠野先生より供与)が iPS 由来肝芽様細胞に感染することを確認した。

(4) HBV-cccDNA の発現制御メカニズムの解析 (佐々木)

HBV-DNA 内にエピジェネティックな調節機構の key 分子の一つである CTCF の結合が予想される配列が存在することを見出した。このことから HBV-cccDNA からの転写活性の制御に CTCF が関与していることが示唆された。

D. 考察

1. チンパンジー肝臓キメラマウスの作製

ciPS 細胞に関しては、樹立および HHD の導入に成功し、残された問題は、ナイーブ化だけとなった。マウス ES や iPS の分化状態は、胚盤胞の内部細胞塊と同じで、キメラ形成能と生殖系列への伝達率が極めて良く、naïve state にあると言われている。一方、ciPS やヒト iPS は、分化状態が一步進んで円筒胚の epiblast と同様で、primed state にあると言われている。このままではキメラ形成能が極めて低い。このため、primed state から naïve state にする必要がある。すでに naïve 化の方法はいくつか報告されており、その中でも高島らの方法は再現性が高いと考えられており、この方法を用いて行う予定である。naïve 化されれば、すでに作製済みの HHB:Hhex^{-/-}マウスの胚との間でキメラ作製を行う予定である。HHB:Hhex^{-/-}マウスでは、肝臓が全く形成されないので、その部分を ciPS 由来の細胞が分化誘導され、肝臓形成を行うことを期待している。

2. ヒト肝臓置換マウスの作製

ヒト iPS 細胞からの肝細胞の分化誘導、HHD 遺伝子の導入法については完了した。また、HHB:SCCD マウスも樹立に成功している。そして、ヒト肝臓置換マウスについても、卵黄嚢血管経路でヒト肝細胞移植すれば、免疫応答が正常かつヒト化したマウスにおいて、ヒト肝臓置換マウスを作製できることを明らかにした。現在、ヒト肝細胞による高置換率のヒト肝臓置換マウスを得る

ため、tamoxifen 等の投与時期の決定を行っているところである。今後の課題は、HBV を感染させ、HBV の抗原を標的とした肝炎が発症するかどうかである。このためには、細胞障害性 T 細胞が、胎児期にヒトクラス I 抗原で教育されている必要があるが、HHB を使用しており、この点は問題がないと考えている。

3. レシピエントマウスの供給体制

HHB マウスは、もともと自然交配による繁殖があまりうまくいっていない。そこで、精子表面よりコレステロール分子を引き抜く活性の高い精子前培養液(FIRTIUP)と卵子の透明帯を薄くする効果のある体外受精用培地(CARD medium)を用いたところ、体外受精により高い受精率を得ることが出来た。これにより、レシピエントマウスの供給体制についても目処が立った。

E. 結論

チンパンジー肝臓キメラマウスの作製については、ciPS のナイーブ化とそれを用いたキメラ作製を残すのみとなり、予定どおり研究計画を達成した。

ヒト肝臓置換マウスの作製については、ヒト肝細胞による高置換率のヒト肝臓置換マウスの作製の直前まで研究は進行し、予定どおり計画を達成した。

今後、HBV 感染・肝炎モデルの樹立を行う予定である。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- (1) Yamazoe, T., Shiraki, N. and Kume, S. Hepatic differentiation from murine and human iPS cells using nanofiber scaffolds. *Methods Mol. Biol.* Nov 20. 2014 (Doi なし).
- (2) Shiraki, N., Shiraki, Y., Tsuyama, T., Obata, F., Miura, M., Nagae, G., Aburatani, H., Kume, K., Endo, F. and Kume, S. Methionine metabolism regulates

maintenance and differentiation of human pluripotent stem cells. *Cell Metab.* 19:780-794, 2014 (Doi: 10.1016/j.cmet.2014.03.017).

- (3) Mu, Y., Jin, S., Shen, J., Sugano, A., Takaoka, Y., Qiang, L., Imbimbo, B.P., Yamamura, K. and Li, Z. *CHF5074 (CSP-1103) stabilizes human transthyretin in mice humanized at the transthyretin and retinol-binding protein loci.* *FEBS Lett.* 589: 849-856, 2015. (Doi:10.1016/j.febslet.2015.02.020)
- (4) Nakagawa, Y., Yamamoto, T., Suzuki, K., Araki, K., Takeda, N., Ohmuraya, M. and Sakuma, T. Screening methods to identify TALEN-mediated knockout mice. *Exp. Anim.* 63: 79-84, 2014.
- (5) Fujie Y, Fusaki N, Katayama T, Hamasaki M, Soejima Y, Soga M, Ban H, Hasegawa M, Yamashita S, Kimura S, Suzuki S, Matsuzawa T, Akari H and Era T. New type of Sendai virus vector provides transgene-free iPS cells derived from chimpanzee blood. *PLoS One.* 9 :e113052, 2014. (Doi: 10.1371/journal.pone.0113052)
- (6) Nagaoka, K., Hino, S., Sakamoto, A., Anan, K., Takase, R., Umehara, T., Yokoyama, S., Sasaki, Y. and Nakao, M. Lysine-specific demethylase 2 suppresses lipid influx and metabolism in hepatic Cells. *Mol. Cell Biol.* 35: 1068-1080, 2015. (Doi: 10.1128/MCB.01404-14)

2. 学会発表

- (1) 山村研一: ヒト疾患モデルを用いた病因・病態解析と治療法の検証: 第 61 回日本実験動物学会総会、北海道(札幌コンベンションセンター) 2014 年 5 月 16 日
- (2) Nobuaki Shiraki, Yasuko Shiraki., Tomonori Tsuyama, Fumiaki Obata, Masayuki Miura, Genta Nagae, Hiroyuki Aburatani, Kazuhiko Kume, Fumio Endo, and Shoen Kume, Methionine metabolism regulates maintenance and differentiation of human pluripotent stem cells、第 12 回幹細胞シンポジウム。九州大学医学部 百年講堂, 2014 年 5 月 31 日.
- (3) 白木伸明, 白木恭子, 津山友徳, 小幡史明, 三浦正幸, 永江玄太, 油谷浩幸, 桑和彦, 遠藤文夫, 桑昭苑、ヒト多能性幹細胞におけるメチオニン代謝の役割、日本アミノ酸学会 第 8 回学術大会。(東京農業大学(世田谷キャンパス)), 2014 年 10 月 9 日
- (4) 山村研一: ヒト iPS を活用した肝臓ヒト化マウスの作製と応用, 日本人類遺伝学会第 59 回大会シンポジウム, 東京(タワーホール船堀), 2014 年 11 月 22 日
- (5) 白木伸明、ヒト多能性幹細胞におけるメチオニン代謝の役割、第 18 回アミノ酸セミナー、東京、2014 年 7 月 4 日
- (6) 白木伸明、白木恭子、津山友徳、小幡史明、三浦正幸、永江玄太、油谷浩幸、桑和彦、遠藤文夫、桑昭苑。ヒト多能性幹細胞の未分化能維持および分化におけるメチオニン代謝の役割、第 37 回日本分子生物学会年会、パシフィコ横浜、2014 年 11 月 26 日
- (7) 白木伸明、ヒト ES/iPS 細胞の内胚葉分化における細胞外環境の役割、第 2 回細胞凝集研究会、福岡、2014 年 12 月 6 日
- (8) 荒木喜美, 牟田真由美, 仙波 圭, 竹田直樹, 仁木大輔, 松本 健, 武田伊世, 山村研一, 大村谷昌樹, 荒木正健: CRISPR/Cas9 による 2 本鎖切断・1 本鎖切断を利用した場合のマウス ES 細胞における相同組換え効率の比較, 第 37 回日本分子生物学会年会, 2014.11.25-11.27, 神奈川県(パシフィコ横浜)
- (9) Soga M, Hamasaki M, Yoneda K, Nakamura K, Matsuo M, Irie T, Endo F and Era T. Establishment of disease model using induced pluripotent stem cells derived from Niemann-Pick disease type C INTERNATIONAL SOCIETY FOR STEM CELL RESERCH 12th annual meeting. Vancouver, June 18th, 2014.
- (10) 江良択実 骨・代謝性疾患由来 iPS 細胞を使

った疾患モデルと治療薬開発 第 35 回日本
炎症・再生医学会年会 教育講演 2014 年 7
月 2 日 沖縄

- (11) 江良択実 iPS 細胞研究の進展 難治性疾患
由来 iPS 細胞の樹立、解析とそのバンク化 .
第 87 回日本生化学会大会シンポジウム 疾
患 iPS 細胞 2014 年 10 月 15 日京都
- (12) 江良択実 iPS 細胞を使った難病研究 第
27 回日本動物実験代替法学会大会シンポジ
ウム ヒト iPS 細胞を用いた創薬研究の新た
な展開 2014 年 12 月 7 日横浜
- (13) 藤江康光、房木ノエミ、片山朋彦、浜崎誠、
副島由美、曾我美南、伴浩志、長谷川護、山
下賢、木村重美、鈴木沙織、松沢哲郎、明里

宏文、江良択実 新型センダイウイルスを用
いたチンパンジー血液由来 iPS 細胞の作製
第 14 回日本再生医療学会総会 一般口演
2015 年 3 月 21 日 横浜

H . 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。)

- 1. 特許取得
なし
- 2. 実用新案登録
なし
- 3. その他
なし