

機関番号：32689

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20570063

研究課題名(和文) 赤血球産生における造血巣の組織形態的な特性と分子相互作用

研究課題名(英文) Hematopoietic tissue environment and molecular interactions in erythropoiesis

研究代表者

加藤 尚志 (KATO TAKASHI)

早稲田大学・教育・総合科学学術院・教授

研究者番号：80350388

研究成果の概要(和文)：哺乳類エリスロポエチン(EPO)とその受容体(EPOR)の相同分子が両生類アフリカツメガエル成体肝臓に発現する。ツメガエル EPO と哺乳類 EPO との配列相同性は38%と低い。そこで両生類で初めて *in vitro* 赤芽球コロニー形成アッセイを確立し、EPO-EPOR 系がツメガエルの肝臓で赤血球造血を傍分泌刺激する機能を持ち、また、両生類造血組織における赤血球前駆細胞の存在を初めて証明した。貧血血清中には EPO 活性が存在した。低温環境下では新生赤血球の血液循環移行が抑制されて貧血が誘導された。ツメガエルは造血制御・生理を解析するためのすぐれたモデルとなる。

研究成果の概要(英文)：In African clawed frog, *Xenopus laevis*, mammalian homologues of erythropoietin (EPO) and its receptor (EPOR) express in the adult liver. *Xenopus* EPO had only 38% identity with mammalian EPO protein. By establishing a colony assay for the first time in amphibian, we were able not only to demonstrate the presence of erythroid progenitors in the liver capable of forming erythroid colonies but also the specific function of *Xenopus* EPO and the presence of EPO in anemic serum. Under conditions of hypothermic anemia, new erythrocytes were retained in the liver. This is the first study to describe the direct evidences in a physiological animal model to investigate the erythroid progenitor in amphibian hematopoietic tissues.

交付決定額

(金額単位:円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2009年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
総計	3,700,000	1,110,000	4,810,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学－形態・構造

キーワード：比較内分泌

1. 研究開始当初の背景

動物の赤血球、白血球、血小板(栓球)は、それぞれ特異的な機能や形態をもつ細胞であるが、いずれも自己複製能と多分化能をもつ造血幹細胞(血液幹細胞)から派生し、増殖、分化を経て成熟する。成熟途上の血球前駆細胞は、1) 血球産生臓器である造血巣の微小組織環境で細胞間相互作用を受け(Suda ら, Trends Immunol. 26(8):426. 2005)、また、2) 特定の分

化段階で各血球系統(造血系譜, 血球系譜)に特異的に作用する造血因子(サイトカイン)、すなわち赤血球産生因子エリスロポエチン(EPO)、顆粒球コロニー刺激因子 G-CSF、栓球産生因子トロンボポエチン(TPO)などと結合する膜受容体を発現し、内分泌性ないし傍分泌性の作用を受ける(Kaushansky, N Engl J Med. 354(19):2034, 2006)。血球前駆細胞はこのような過程を経て成熟したのちに、血液循環に移行

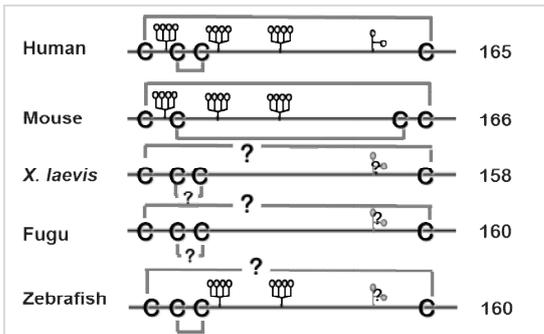


図1. *x/EPO*と他生物種EPOの構造の比較
数字は構成アミノ酸残基数, Cys 残基(C), N結合型糖鎖, O結合型糖鎖をそれぞれの配列上に示す。
[Kosaka-Nogawa *et al.* Exp. Hematol., 2010]

する。1)と2)は、造血因子や移植医療のヒト臨床応用が背景となり、主にヒトやマウスを対象にして研究が発展した。その結果、世界的に膨大な知見がもたらされている。しかし造血幹細胞の性質や、血球の最終分化に必要な臓器・組織環境の特性など、多くの未解明の課題が残されている。造血組織(造血器, 造血巣)は、発生が進むにつれて移動する。たとえばヒトやマウスの造血巣は、卵黄嚢から肝臓, 脾臓へ、さらには出生後に骨髄造血に移行する。従って、造血微小環境や造血幹細胞, 血球前駆細胞のそれぞれの特性は質的にダイナミックに変化すると考えられるが詳細は不明である。分化段階が異なる血球前駆細胞の局在分布が造血巣でどう規定されるのかについても不明である。

我々は、ヒトやマウスだけではなく、様々な動物の血球を観察し、造血を比較解析することによって、基礎生物学や、ヒト臨床応用に繋がる未知制御系の発見の機会があると考えた。そして研究対象を無尾両生類アフリカツメガエル(*Xenopus laevis*; ツメガエル)の成体における赤血球造血に設定した。本研究の着手までの過去5年間、ツメガエルの造血因子や造血因子受容体, 血球特異的マーカー等の遺伝子の同定や単離, 構造決定を進め、現代生物学的手法を展開する準備を進めた。まずツメガエル EPO受容体(*x/EPO*)遺伝子を単離, 同定し、生物学的機能を調べた(Aizawa *et al.* J. Biochem., 2005)。次いでツメガエル EPO(*x/EPO*)の遺伝子クローニングを進めた。元来、造血因子の発現量が極めて少ないため困難を極めたが、*X. laevis*の近縁種ネットイツメガエル *X. tropicalis*のゲノム情報を利用し、EPO候補分として*x/EPO*に漸く達した。哺乳類ヒトEPOには*in vivo*活性発揮に不可欠のN結合型糖鎖が付加される。しかし驚くべきことに、ツメガエルEPOにはN結合型糖鎖が欠失していること(図1)、哺乳類EPOとのアミノ酸配列一致率は30%以下であることから、果たして*x/EPO*は、ツメガエルにおいても赤血球造血を担う造血因子のオルソログであるのか、結論が得られていなかった。ツメガエル成体では、EPO, EPO受容体とも肝臓で発現すること、EPOには糖鎖付加がないため血中半減期

が極めて短いと考えられたこと、組織検索では赤血球系細胞は肝臓に分布すること、を考え併せ、「ツメガエル成体の赤血球産生は、肝臓内のEPOの傍分泌刺激による」という仮説を得るに至った。その場合、肝臓組織環境がどのように赤血球造血環境を与えるのか、造血微小環境の追求のモデルとして興味を掻き立てられた。本研究では、これらの課題に取り組むためには、赤芽球形成能を解析するための*in vitro/in vivo*活性測定法を確立し、造血組織における前駆細胞の検出を経て、EPO-EPOR系の存在様式と、赤血球産生制御系の分子特性、造血組織特性を調べる必要があった。

2. 研究の目的

本研究の最終的な目標は、いろいろな生物の血球産生(造血)の姿を比較して調べ、造血器官(造血器, 造血巣ともいう)と血球細胞の機能, 形態, 特性や、血球産生の分子基盤を明らかにすること、さらに末梢血球数の維持と調節に関わる未知の制御機構を探索し、脊椎動物における血球産生の総合的な理解と、新たな科学的概念を獲得することである。

本研究期間では、ツメガエル成体の造血巣(主に肝臓)において、赤血球前駆細胞が成熟し血液循環に移行過程におけるEPO-EPOR系の関与と、その特性を明らかにする。

3. 研究の方法

全ての動物実験は、予め早稲田大学実験動物委員会の審査, 認可を受けた。また、全ての遺伝子組換え実験は、早稲田大学組換えDNA実験委員会の審査, 認可を受けて実施した。

(1) 動物

ツメガエル(*X. laevis*)は、野生型は大内一夫生物教材より、純系J系統は栃内新博士(北海道大大学院理学部)より供与、あるいはワタナベ増殖より購入、ネットイツメガエル *X. tropicalis*は、ナショナルバイオリソースプロジェクト(NBRP, 広島大学大学院理学研究科附属両生類研究施設)より分与を受けた。抗体作製のためのウサギと、マウスは日本クレアより購入した。入手した動物は必要に応じて適切な環境(基本: 12L:12D, 22°C)で飼育, 実験した。

(2) 血球関連分子の取得

主要造血因子とその受容体, 細胞増殖・分化・分化マーカーなどの鍵分子群の同定と遺伝子クローニングの多くの場合は、既知配列を公開データベースから取得するか、あるいは *X. tropicalis*のゲノムデータベースの*in silico*解析を経て、RACE法(Rapid Amplification of cDNA Ends: RACE)により対象とする遺伝子断片から未知領域の伸長反応を行い、翻訳領域を全て、あるいは目的によっては部分配列のcDNAをクローニングした。

遺伝子組換え体は、常法により、大腸菌あるいはCOS-1細胞, HEK293細胞を発現宿主とし

て遺伝子導入を行い、組換え体の粗精製あるいは純化標品を得た。

(2) 遺伝子発現解析

ツメガエルの成体臓器(脳, 肺, 筋肉, 心臓, 血液, 肝臓, 脾臓, 腎臓, 胃, 腸, 卵巣, 精巣, 変態直後の肝臓など)より, フェノールーグアニジンイソチオシアネート試薬を用いて全 RNA を抽出した。Dnase I 処理後の RNA はオリゴ dT プライマーにより逆転写し cDNA とした。各組織における xEPO mRNA の発現量は, 適当な遺伝子を内部標準に選択し RT-PCR とリアルタイム RT-PCR 法で測定した。PCR 増幅反応産物の DNA は, 3%アガロースゲル電気泳動後, 核酸染色した。定量的リアルタイム RT-PCR の内部標準遺伝子には組織間で発現量に差の少ない ribosomal protein L13A (RPL13A) を用いた。リアルタイム PCR のプライマーは, ゲノムを鋳型とした増幅を防ぐために, イントロン間で設計した。プライマー設計では, プライマーダイマーを形成しないこと, フォワードプライマーとリバースプライマーの Tm 値に差がないこと, プライマー自体がヘアピン構造を取らないこと等を確認し, ゲル電気泳動で単一の PCR 増幅産物のバンドが得られる反応条件を採用した。

その他, 組織切片上の遺伝子の検出 (in situ hybridization) 及び組織免疫染色は, 常法に従って実施した。

(3) in vitro 赤芽球コロニーアッセイ

哺乳類以外の in vitro コロニーアッセイ法は確立されておらず, ツメガエル血球系細胞の培養系の確立を試みた。半固形培地の選択と浸透圧の検討, 血清, 刺激因子, 播種細胞の種類と播種細胞数, 培養容器の大きさや種類, 培養の体積, 温度, 日数, 細胞を採取する動物の齢と状態など, 多岐にわたって検討した。最終的に, 成体肝臓あるいは脾臓より細胞を採取し, 図 4 の方法が確立した。

(4) サイトカイン依存性細胞増殖試験

遺伝子組換え EPO や, ツメガエル成体より採取した血液試料, あるいはこれらの存在下, 抗 xEPO 抗体の検定試験などでは, マウス白血病細胞株 (FDCP 細胞) にサイトカイン受容体遺伝子を発現させ, 細胞増殖を MTS 法などの常法で測定した。

(5) そのほか

遠心細胞標本の作製, May-Grünwald Giemsa 染色等, 化学染色標本による細胞形態観察, 自動血球計数装置による末梢血諸パラメータの測定, フローサイトメリーによる細胞解析, 共焦点レーザー顕微鏡による蛍光免疫染色像などは, 基本的に常法に従った。得られた解析結果は, それぞれ適切な統計処理によって有意差検定した。以上の方法の詳細は, Aizawa *et al.* J. Biochem., 2005; Kosaka-Nogawa *et al.* Exp. Hematol., 2010; Kosaka-Nogawa *et al.* J. Exp. Biol., 2011 に記載してある。

4. 研究成果

(1) x/EPO の発現

x/EPOR をマウス顆粒球系前駆細胞株 FDCP-2 で恒常的に強制発現させ, COS-1 細胞発現組換え x/EPO を添加したところ, x/EPO 濃度依存的な細胞増殖が確認され, x/EPO が x/EPOR のリガンドとして作用することが示された。また, x/EPOR 発現 FDCP-2 細胞は, ヒト EPO 添加によって増殖した。従って, x/EPO は EPOR と結合して赤血球前駆細胞の増殖を刺激すること, 哺乳類と両生類の EPO 分子はアミノ酸配列相同性が低いにも関わらず, 生物活性は交差すること示した (Kosaka-Nogawa *et al.* Exp. Hematol., 2010)。x/EPO は肺, 肝臓, 脾臓で発現する。フェニルヒドラジン投与により溶血性貧血を誘導した個体における EPO の発現変化を調べ図 2 の結果を得た。

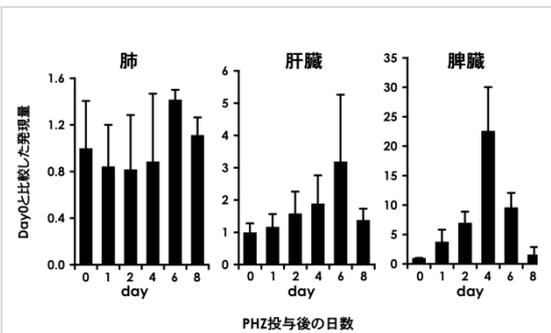


図 2. PHZ 誘導貧血における xEPO mRNA 発現の変化

x/EPO を高発現する肺では, EPO mRNA の有意な発現変化が見られない。この解釈は今後の課題となる。貧血期には EPO の発現は肝臓で 5 倍, 脾臓で 25 倍に亢進したが, いずれも統計的に有意な変化ではない。ツメガエルには, 哺乳類のように数百倍から数千倍に mRNA の発現が亢進するような発現制御系が存在しない可能性が示唆された。 [Kosaka-Nogawa *et al.* Exp. Hematol., 2010]

以上より, ツメガエルにおいても, 哺乳類と同様に EPO—EPOR 系による赤血球造血と末梢赤血球数調節を担うシステムの存在を証明した。次に主要赤血球造血器である肝臓において, 構成細胞を分離し, x/EPO と x/EPOR の発現局在に関する解析結果を得た (図 3)。

これらの結果, EPO は肝臓内で傍分泌性に EPOR を発現する赤血球前駆細胞に作用して赤血球造血を刺激するという仮説が裏付けられた。そこで肝臓の EPOR 発現赤血球前駆細胞の

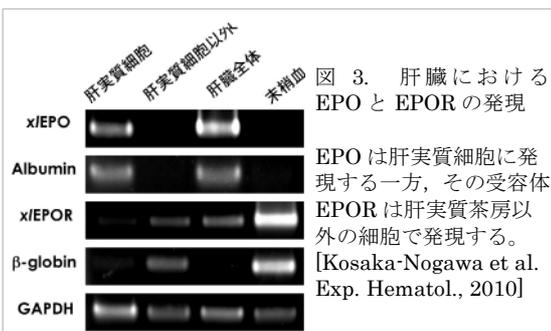


図 3. 肝臓における EPO と EPOR の発現

EPO は肝実質細胞に発現する一方, その受容体 EPOR は肝実質細胞以外の細胞で発現する。 [Kosaka-Nogawa *et al.* Exp. Hematol., 2010]

存在を *in vitro* 赤芽球コロニーアッセイを確立して検証した。試行錯誤の後、図4に示すアッセイを確立し、肝臓に由来し、組換え *x/EPO* の作用を受けて細胞増殖と赤芽球分化を起こす赤血球前駆細胞が存在すること、貧血ツメガエルの血清中に同様の活性があり、抗 *x/EPO* ペプチド抗体の添加で中和されることを示した。

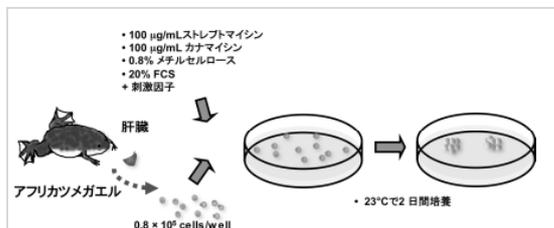


図4. *in vitro* 赤芽球コロニーアッセイ

ツメガエル肝臓細胞懸濁液を調製し、抗生物質、メチルセルロース、FCS、刺激因子と共に細胞培養皿に播種する。23°Cで2日間培養し、形成された16細胞以上から構成される細胞塊(コロニー)の形態観察と、コロニー数の計測を行なった。大腸菌発現組換え *x/EPO* の場合、最終濃度2ng/mLで赤芽球コロニーが出現した。[Kosaka-Nogawa *et al.* J. Exp. Biol., 2011]

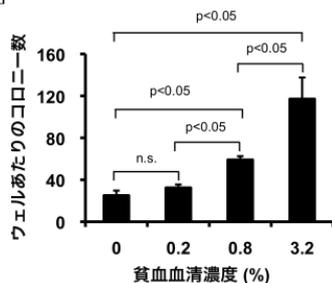


図5 貧血血清中のEPO活性

in vitro 赤芽球コロニーアッセイにより、貧血ツメガエル血清添加で赤芽球コロニーが出現し、PHZ投与後4日目の血清で最大値となった。添加量に依存したコロニー数の増加は指数関数的であることから、コロニー形成が添加因子のみに依存していないことが示唆された。[Kosaka-Nogawa *et al.* J. Exp. Biol., 2011]

EPO刺激で赤芽球を形成する能力をもつ赤血球前駆細胞は、脾臓にも存在した。しかし出現したコロニーを構成する血球系譜が混在した。従って、肝臓や脾臓では、EPOR発現細胞の分化段階は異なり、造血巣の組織環境が異なることが示唆された。そこで、肝臓における血球前駆細胞の組織局在を肝組織の電子顕微鏡像で観察し、肝微小環境を確認した(図6)。

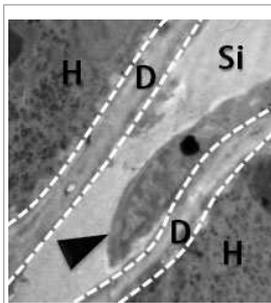


図6. 肝臓の電子顕微鏡像 血液灌流後の成体肝臓の類洞(Si)に、EPOR発現赤血球前駆細胞(▼)が接着する。肝実質細胞(H)からのEPO傍分泌や、細胞接着系の微小造血環境が想定できる。(奥井ら、国際実験血液学会, 2010; 投稿準備中)

以上の一連の結果より、ツメガエル成体の肝臓における赤血球造血様式について、図7にまとめることができた。

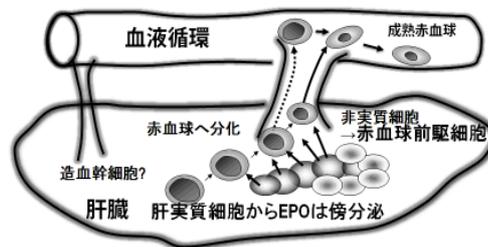


図3 ツメガエル成体の肝臓における赤血球造血成体肝臓の微小環境下、EPOは傍分泌によりEPO受容体発現赤血球前駆細胞CFU-eに作用する。赤血球産生の場合であると同時に、寿命を迎えた赤血球の破壊の場ともなる[Aizawa *et al.* J Biochem., 2005; Nogawa-Kosaka *et al.* Exp Hematol., 2010]. ツメガエルCFU-eコロニー培養法が哺乳類以外で初めて確立し、肝臓の赤血球造血を直接検証した[Nogawa-Kosaka *et al.* J. Exp. Biol. 2011]. 末梢血球数が低温環境で著減するが、新生赤血球の肝臓から血管への移行抑制が機序の一つにある(前川ら、国際実験血液学会, 2008 [学会賞受賞]; 論文投稿準備中)。

ヒトやマウスに代表される霊長類とげっ歯類の他に、鳥類(特にニワトリ)、魚類(特にゼブラフィッシュ)、尾索動物(カタユウレイボヤ等)などの生物で、血球産生の解析例が報告されてきた。しかし進化上重要な位置にある両生類の血球産生(造血)に関する実験的報告は稀で、限られていた。本研究は、現代の実験血液学的手法を導入し、両生類における赤血球造血を初めて解析した研究である。ツメガエルの血球産生は、一個体内で血球系譜別に造血巣が使い分けられている。基礎生物学上の研究意義のみならず、哺乳類造血研究を通じて未だに謎とされている個体発生に伴う造血巣の移動の仕組みや、血球最終分化の場の特性(組織・臓器環境)を追求するための研究対象として、ツメガエルは将来展開が期待できる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

1. Nogawa-Kosaka N, Sugai T, Nagasawa K, Tanizakia Y, Meguro M, Aizawa Y, Maekawa S, Adachi M, Kuroki R, Kato T. Identification of erythroid progenitors induced by erythropoietic activity in *Xenopus laevis*. J Exp Biol. 2011 Mar 15;214(Pt 6):921-927.[査読有]
2. Nogawa-Kosaka N, Hirose T, Kosaka N, Aizawa Y, Nagasawa K, Uehara N, Miyazaki H, Komatsu N, Kato T. Structural and biological properties of erythropoietin in *Xenopus laevis*. Exp Hematol. 2010 May;38:363-372. DOI:

- 10.1016/j.exphem.2010.02.009. [査読有]
3. Yamamoto Y, Kosaka N, Tanaka M, Koizumi F, Kanai Y, Mizutani T, Murakami Y, Kuroda M, Miyajima A, Kato T, Ochiya T. MicroRNA-500 as a potential diagnostic marker for hepatocellular carcinoma. *Biomarkers*. 2009 Nov;14(7):529-538. [査読有]
 4. Kosaka N, Sugiura K, Yamamoto Y, Yoshioka Y, Miyazaki H, Komatsu N, Ochiya T, Kato T. Identification of erythropoietin-induced microRNAs in hematopoietic cells during erythroid differentiation. *British J. Haematol*. 2008, May. 142(2):293-300. [査読有]

[雑誌論文] (計 1 件)

1. 吉岡祐亮, 小坂展慶, 加藤尚志, 落谷孝広. がん微小環境にかかわる miRNA の意義. (特集)miRNA の生理学的意義と病理. 分子細胞治療. 第 8 巻 5 号 343-349 頁 先端医学社刊, 2009 年 10 月

[学会発表] (計 65 件)

(シンポジウム)

1. 小坂(野川)菜美, 前川峻, 永澤和道, 家村仁美, 奥井武仁, 加藤尚志. 両生類造血に学ぶ～アフリカツメガエル血球産生のダイナミクス～. 第日本比較免疫学会第 21 回学術集会, シンポジウム「リンパ球の起源と分化」, 神奈川, 日本大学生物資源科学部, 2009 年 8 月 5 日
2. Kato T. An Exploration Approach to Clarifying Distinctive Properties of Cytokine Structures That Determine Hematopoietic Lineage Specificity. VI) Structure and Function of Directed to the Drug Targets (II), International Forum 2009 on Protein Structure Determination and Applications; Foundation of Advanced Technology Institute. Mar 9, 2009, Riccotti, Tokai, Ibaraki, Japan.
3. 加藤尚志. 造血研究の展開～血球産生機構の多様性を探る. 第 146 回日本獣医学会学術集会, 獣医生理学・生化学教育懇談 基調講演, 宮崎シーガイア, 2008 年 9 月 24 日

(一般発表)

1. Tanizaki Y, Tahara A, Kinoshita S, Yamauchi M, Mizue M, Nagasawa K, Ishida-Iwata T, Obuchi-Shimoji M, Nogawa-Kosaka N, Kato T. Proliferation and Differentiation of Thrombocyte Progenitors In the Liver and the Spleen In *Xenopus Laevis* Under the Stimulation of Thrombopoietin. Poster Board I-992, Abstract 2012, 52nd Annual Meeting of the

American Society of Hematology, Orlando, Florida, USA. Dec 4, 2010

2. 奥井武仁, 別府実穂, 神保杏林. 前川峻, 山本雄介, 加藤尚志. 成体アフリカツメガエル肝臓における赤血球前駆細胞の局在と貧血応答. 第 72 回日本血液学会学術集会, 一般口演 OS-3-16, 「赤血球造血」, 横浜パシフィコ, 2010 年 9 月 24 日
3. 谷崎祐太, 田原彩香, 目黒瑞枝, 永澤和道, 山内志毅, 木下紗也香, 前川峻, 石田(岩田)貴子, 小淵(下地)美弥子, 加藤尚志. トロンボポエチン様分子の刺激に応答するアフリカツメガエル栓球前駆細胞の性質. 第 72 回日本血液学会学術集会, 一般口演 OS-1-53, 「血小板産生・活性化」, 横浜パシフィコ, 2010 年 9 月 24 日
4. 前川峻, 家村仁美, 倉持裕子, 小坂(野川)菜美, 會沢洋一, 加藤尚志. 低温曝露ツメガエルにおける肝臓での赤血球破壊とヘム分解酵素発現量の増大. 第 81 回日本動物学会大会 口演番号:1C1145, 内分泌, 東京大学駒場, 2010 年 9 月 25 日.
5. 木下紗也香, 谷崎祐太, 田原彩香, 前川峻, 松田悠, 恩田信, 永井豊, 加藤尚志. クリジンオレンジ染色によるアフリカツメガエル血球単離法の検討. 第 81 回日本動物学会大会 口演番号:3H1615, 形態・細胞, 東京大学駒場, 2010 年 9 月 25 日.
6. Tahara A, Tanizaki Y, Okui T, Meguro M, Kinoshita S, Maekawa S, Yamauchi M, Obuchi-Shimoji M, Ishida-Iwata T, Nagai Y, Kuroki R, Kato T. Characterization of *Xenopus laevis* thrombocytic cells stimulated by thrombopoietin in liquid culture. 39th Annual Scientific Meeting of ISEH-Society for Hematology and Stem Cells. Abstract 109, Poster 084, Melbourne, Australia, Sep 15-18, 2010.
7. Okui T, Beppu M, Mano Y, Kohama S, Maekawa S, Yamamoto Y, Kato T. The production and destruction of erythrocytes in the liver of *Xenopus laevis*. 39th Annual Scientific Meeting of ISEH-Society for Hematology and Stem Cells. Abstract 140, Poster 0375, 2010, Melbourne, Australia, Sep 15-18, 2010.
8. Nagasawa K, Beppu M, Miyazaki H, Komatsu N, Kato T. Biological properties of N-glycosylated *Xenopus laevis* erythropoietin in comparison with the native form. 39th Annual Scientific Meeting of ISEH-Society for Hematology and Stem Cells. Abstract 141, Poster 087, Melbourne, Australia, Sep 15-18, 2010.
9. Onda N, Onodera H, Kato T, Ishida K, Mano Y, Nagasawa K, Akatsuka R, Maeno M, Kato T. Lipopolysaccharide

- administration in adult African clawed frog as an animal model for leukocytosis. 39th Annual Scientific Meeting of ISEH-Society for Hematology and Stem Cells. Abstract 142, Poster 088, Melbourne, Australia, Sep 15-18, 2010.
10. 目黒瑞枝, 安達基泰, 岡崎伸生, 玉田太郎, 黒木良太, 加藤尚志. アフリカツメガエルエリスロポエチンのX線結晶構造解析. 演題番号(ポスター, 抄録口演): 2P-004, 第10回蛋白質科学会年会, 札幌, 2010年6月16日
 11. 廣瀬崇行, 永澤和道, 奥井武仁, 加藤友啓, 須貝龍久, 小坂(野川)菜美, 加藤尚志. アフリカツメガエルエリスロポエチン遺伝子の定量的発現解析法の最適化. 演題番号 P26. 第62回日本動物学会関東支部大会, 筑波大学, 2010年3月13日
 12. 池田磨希, 石田貴子, 須貝龍久, 吉岡祐亮, 加藤尚志. 可変領域に c-myc 配列が挿入されたハイブリドーマ抗体遺伝子の再構成と修復発現 (Reconstruction of c-myc translocated Immunoglobulin gamma gene). 演題番号 4P-837. バイオテクノロジー (Biotechnology). 第82回日本生化学会大会, 神戸, 2009年10月14日
 13. 別府実穂, 奥井武仁, 小坂-野川菜美, 會沢洋一, 加藤尚志. アフリカツメガエルにおける赤血球系細胞の免疫染色と細胞蛋白質変動の検出. (Immunocytological analysis of erythrocytic cells to clarify their differentiation in African clawed frog, *Xenopus laevis*) 演題番号 3H1115 (内分泌). 第80回日本動物学会大会, 静岡グランシップ, 2009年9月19日
 14. Iemura H, Kuramochi Y, Maekawa S, Nogawa-Kosaka N, Aizawa Y, Kato T. A new anemic model for African crowed frog, *Xenopus laevis* induced by low-temperature. Abstract No. 079. 37th Annual Scientific Meetingm, International Society for Hematology and Stem Cells. Boston, Massachusetts, USA. 2008, July 9, 2008. [The Top Five Posters Award]
 15. Maekawa S, Kuramochi Y, Iemura H, Nogawa-Kosaka N, Nishikawa H, Aizawa Y, Kato T. Chronic anemia induced by low-temperature is caused by impaired erythrocyte traffic from liver to peripherai vesicles in African crowed frog, *Xenopus laevis*. Abstract No. 078. 37th Annual Scientific Meetingm, International Society for Hematology and Stem Cells. Boston, Massachusetts, USA. 2008, July 9, 2008. [The Top Five Posters Award]
 16. 松田悠, 前川峻, 古川翔介, 加藤友啓, 小野寺秀和, 恩田信洋, 竹内崇裕, 小林拓司,

岡野俊行, 加藤尚志. アフリカツメガエル末梢血球の化学染色と血算. 演題番号 P55. 第61回日本動物学会関東支部大会, 埼玉大学, 2009年3月20日

17. 吉岡祐亮, 小坂展慶, 山本雄介, 杉浦圭一, 落谷孝広, 小松則夫, 宮崎洋, 加藤尚志. ヒト巨核芽球性白血病細胞株 UT-7 における非翻訳 RNA の一種 miR-210 の発現制御. 演題番号 PS-2-161, 腫瘍細胞/骨髄系・その他-分化制御/シグナル. 第70回日本血液学会総会, 京都国際会館, 2008年10月11日
18. 前川峻, 倉持裕子, 小坂(野川)菜美, 家村仁美, 西川裕展, 會沢洋一, 加藤尚志. 低温環境におけるアフリカツメガエルの慢性貧血とその生理機序の検討. 演題番号 PS-2-1, 造血・血球機能-赤血球. 第70回日本血液学会総会, 京都国際会館, 2008年10月11日
19. 須貝龍久, 前川峻, 永澤和道, 小坂(野川)菜美, 前田康隆, 山崎俊介, 會沢洋一, 加藤尚志. アフリカツメガエル血清中に含まれる赤血球造血刺激因子の性質. 演題番号 2H1100 [遺伝/内分泌]. 日本動物学会第79回大会, 福岡, 2008年9月6日

他に, 日本動物学会大会, 日本動物学会関東支部会, 日本生化学会大会, 日本分子生物学会大会, 日本比較内分泌悦学会, 日本血液学会, 米国血液学会, 国際実験血液学会における発表が46件

[図書] (計0件)

[その他]

ホームページ URL:

<http://www.f.waseda.jp/tkato/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

加藤 尚志 (KATO TAKASHI)

早稲田大学・教育・総合科学学術院・教授

研究者番号: 80350388

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし