

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 3 日現在

機関番号：82406

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2012

課題番号：22780274

研究課題名（和文） 外来遺伝子の強力で持続的な肝臓特異的発現を促す遺伝子導入システムの開発と応用

研究課題名（英文） Development and application of a method for efficient gene transfer of non-viral DNA targeted to murine liver

研究代表者

中村 伸吾（NAKAMURA SHINGO）

防衛医科大学校・医学教育部医学科専門課程・助教

研究者番号：00505323

研究成果の概要（和文）：

本研究は、ハイドロダイナミクス遺伝子導入法（HGD）でマウスへ導入したプラスミド DNA 由来の目的遺伝子を、既存の HGD による導入よりも高効率で発現させ、且つその発現を肝臓に限定させることを目指した研究である。検討の結果、HGD にポリエチレンイミン (PEI) 系の試薬を併用することで肝臓での遺伝子発現効率が向上することが判った。また、Cre-*loxP*系を利用した、*loxP*配列の組換えに起因する遺伝子発現の切り替えが肝臓特異的に起こるシステムを構築し、これによって目的遺伝子を肝臓に限定して発現誘導させることができた。

研究成果の概要（英文）：

In this study, we attempted to improve hydrodynamics-based gene delivery (HGD) to achieve a highly efficient gene delivery that is targeted to the murine liver and tested whether the liver-specific expression of a gene of interest is possible. We demonstrated that upon performing HGD, mixing of plasmid DNA with polyethylenimine (PEI)-based reagent yielded best transfection efficiency in hepatocytes. With this improved technique, we succeeded in performing Cre-*loxP*-mediated gene switching in liver and to show lines of direct evidence for liver specific transgene expression.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,200,000	0	1,200,000
2011 年度	900,000	0	900,000
2012 年度	600,000	0	600,000
年度			
年度			
総計	2,700,000	0	2,700,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：畜産学・獣医学・応用獣医学

キーワード：遺伝子導入、遺伝子発現制御、疾患モデル、組織特異性、非ウイルスベクター

### 1. 研究開始当初の背景

生体組織への遺伝子導入には、ベクター調製の簡便さや副作用の懸念の低さから非ウイルスベクターの使用例が増えている。例えば、静脈を介する遺伝子導入方法は簡便であり、ユビキタスで強力なプロモーターで制御

された目的遺伝子の導入実験などが行われてきた。これらの実験で遺伝子の機能や疾患メカニズムに迫る多くの知見が得られた。しかし、遺伝子発現の継続性、強弱の制御などを含む導入方法に関する研究はあまり進捗していない。

肝臓を標的とした遺伝子導入の試みは歴史的に古く、様々なグループから報告が行われている。1999年に報告されたハイドロダイナミクス遺伝子導入法 (hydrodynamics-based gene delivery system、以下「HGD」) は裸のプラスミドDNAを大量の緩衝液と共に素早く一気に血中へ投じる簡便な方法であり、現在においても最も効率が良くとされる肝臓への遺伝子導入方法である。しかしながら、全身投与故に遺伝子発現は肝臓優性で生じ、厳密な肝臓特異性は保証されていない。HGDで肝臓特異的な遺伝子発現を達成するためには、肝臓特異的なプロモーターで制御されたプラスミドDNAを使用すれば良いが、組織(肝臓)特異的なプロモーターの多くは遺伝子の転写活性が弱く、一般的に研究で使用されている強い遺伝子転写活性を持つプロモーターでの実験系と比べると、弱い遺伝子発現しか得られない。また、遺伝子導入効率の良いHGDといえども、プラスミドDNAによる遺伝子導入であるために遺伝子の発現は短期間で終わる。それ故に、HGDは厳密な肝臓特異性と遺伝子の長期発現を必要としない研究、例えば、遺伝子機能探索の研究などで重宝されてきた。

もし仮に、HGDが持っている簡便性と遺伝子導入効率の良さが保たれたまま、導入遺伝子の肝臓特異的な強発現が達成され、さらには、その遺伝子の持続発現が達成されたならば、その成果は外来性のプラスミドDNAを用いた肝臓における様々な研究に広がりをもたらし、肝再生研究などの基盤技術の確立に繋がるものと期待できた。

## 2. 研究の目的

本研究では、従来のHGDのアプローチを取りながら、しかし、肝臓特異的で強力かつ持続的に目的遺伝子を発現させることを可能とする新しい *in vivo* 遺伝子導入システムの構築を目指した。まず、HGDと市販の遺伝子導入試薬を組み合わせることで、従来よりも効率良く肝臓で遺伝子発現を達成させることが出来るか調べた(改良型HGD)。次いで、改良型HGDで導入したプラスミドDNAを肝臓に限定して発現させるシステムと長期間持続発現させるシステムの構築を目指した。最後に、これらの研究成果を用いた具体的な応用事例として、細胞破壊遺伝子の導入による肝疾患モデルマウスの作製を試みた。

## 3. 研究の方法

### (1) 市販遺伝子導入試薬を利用した改良型HGDに関する検討

強くユビキタスなプロモーターであるCAGプロモーターの制御下で、蛍光遺伝子

(enhanced green fluorescent protein; EGFP) と発光遺伝子 (luciferase; luc) が同時に発現するベクター (pCEIL; CAG promoter + EGFP + IRES + luc) を構築して、HGDでマウスへ遺伝子導入した。導入翌日に剖検して主要臓器(脳、心臓、肺、肝臓、腎臓、膵臓、脾臓、小腸、腹筋)を採材し、EGFPの蛍光観察による定性的解析と組織抽出物の luc 活性測定による定量的解析を行った。

まず、通常HGDでマウスへpCEILを導入し、ベクターの投与量、使用マウスの系統(ICR, C57BL/6N, Balb/cA, B6C3F1)、導入遺伝子の発現分布に関する基礎検討を行った。次いで、基礎検討で得られた条件を使い、入手可能な幾つかの市販遺伝子導入試薬を併用してpCEILをHGDでマウスへ導入した。具体的には、カチオン性脂質試薬(DMRIE-C® [インビトロジェン]とFuGENE HD® [プロメガ])、ポリマー試薬(DDMC® [リュージュサイエンス])、ポリエチレンイミン(PEI)系試薬(*in vivo*-jet PEI® [ポリプラストランスフェクション])、糖質性試薬(SugarFect® [和光純薬]とF/P [独自開発試薬])を用いた。各試薬とpCEILの調製は各試薬のプロトコールに従った。導入翌日に剖検して主要臓器を採材し、EGFPによる定性的解析と luc による定量的解析を行い、導入遺伝子の発現効率について評価した。

### (2) 改良型HGDによる肝臓特異的な遺伝子発現切り替え(目的遺伝子の発現誘導)の検討

本実験では、申請者が既に報告済みの、遺伝子の転写活性が弱い組織特異的なプロモーターを使って目的遺伝子を組織特異的に強発現させるシステム(enhanced tissue-specific gene expression system; ETSGE)を上記(1)で検討した改良型HGDでマウスへ導入することで、肝臓特異的な目的遺伝子の強発現が達成出来るかどうか検討した。具体的には、肝臓特異的なプロモーターで制御されたCre酵素発現ベクター(pTR/NCre; TTR = pre-Albumin promoter + Cre)と目的遺伝子発現ベクター(pCRTEIL; CAG promoter + *IoxP* + HcRed + *IoxP* + EGFP + IRES + luc)を改良型HGDでICRマウスへ導入した。この結果、pTR/NCreは肝臓でのみCre酵素を発現させてpCRTEIL内の*IoxP*配列の組換えを引き起こし、遺伝子発現が切り替わる(gene-switching)。即ち、図1に示す様に、肝臓でのみCAGプロモーターで目的遺伝子が発現するので(recombined pCRTEIL)、赤色蛍光(HcRed)から緑色蛍光(EGFP)及び luc への遺伝子発現の切り替えの様子が観察出来ると考えられた。pTR/NCreとpCRTEILの使用量比を検討しながら、蛍光顕微鏡による定性的解析、lucの定量的解析、導入したプラス

ミド DNA の PCR を用いた分子生物学的な解析で評価を行った。

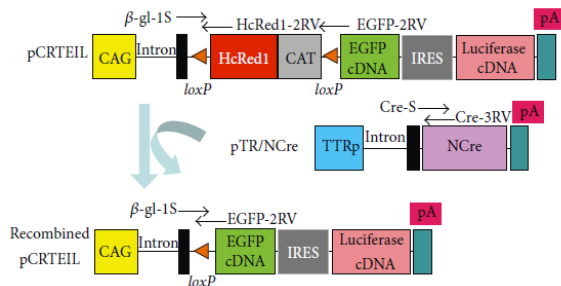


図 1 : 肝臓特異的な遺伝子発現の切り替えで目的遺伝子を肝臓でのみ強発現させる

(3) 改良型 HGD と  $\phi$ C31 インテグラーゼ系を使った導入遺伝子の持続発現の検討

$\phi$ C31 インテグラーゼは、遺伝子上の attB 配列と attP 配列又は類似配列の pseudo attP 配列との間で組換えを起こす DNA 組換え酵素である。動物ゲノム上には pseudo attP 配列がランダムに存在しており、この pseudo attP 配列に対し  $\phi$ C31 インテグラーゼを介して attB 配列を連結した遺伝子発現ベクターを組み込むシステムを  $\phi$ C31 インテグラーゼ系という。本実験では  $\phi$ C31 インテグラーゼ系を改良型 HGD でマウスへ導入し、attB 配列を連結した目的遺伝子発現ベクターを効率良く肝臓ゲノムに挿入することで目的遺伝子の持続発現の達成を目指した。具体的には、CAG プロモーターで  $\phi$ C31 インテグラーゼを発現するベクター (pC31i; CAG promoter +  $\phi$ C31 インテグラーゼ) とゲノム内挿入用の目的遺伝子発現ベクター (pCEIL と attB 配列を組み合わせたベクター) を改良型 HGD で ICR マウスへ導入した。両ベクターの使用量比は、上記 (2) の基礎検討で得られた 2 種類のベクターの投与量比を参考にした。この結果、 $\phi$ C31 インテグラーゼ系が稼働して目的遺伝子が肝細胞ゲノム内へ挿入されて持続発現すると期待できた。導入翌日、1 ヶ月後、2 ヶ月後、3 ヶ月後に剖検して肝臓を含む主要臓器を採材し、組織抽出物の luc 活性測定による定量的解析にて評価を行った。

(4) ジフテリア毒素遺伝子発現ベクターの導入による肝線維化症モデルの開発

ジフテリア毒素 A 鎖遺伝子 (diphtheria toxin A-chain; DT-A) は、ジフテリア菌の中で溶原化して産生されるバクテリオファージ由来の外毒素をコードした遺伝子であり、タンパク質の合成を阻害することで細胞を死滅させる。この DT-A をマウス肝臓で発現させると、肝臓細胞の死滅による肝線維化が進行して肝機能が低下すると考えられた。

実験では、上記 (2) の gene-switching システムに対応する DT-A 発現ベクター (pCETD; CAG promoter + *LoxP* + EGFP + *LoxP* + DT-A) と pTR/NCre を改良型 HGD で ICR マウスへ導入した。持続発現システムは使用せずに一過発現系のみでの検討を行い、導入後 1 週目、2 週目、3 週目、4 週目にマウスを犠牲死させて病理標本の作製と血液検査を行い、肝線維化症モデル動物としての評価を行った。

#### 4. 研究成果

(1) 市販遺伝子導入試薬を利用した改良型 HGD に関する検討

汎用株化細胞 (CHO 細胞、NIH3T3 細胞、HepG2 細胞) を用いた検討により、構築した pCEIL を遺伝子導入することで、EGFP による定性的な観察と luc による定量的な解析が同時に行えることが判った。

この pCEIL を HGD でマウスへ導入したところ、導入に用いる遺伝子の量は  $10 \mu\text{g}$  で肝臓における十分な遺伝子の発現が得られることが判り、それ以上投与の量を増やしても発現の効果に有意な差は出なかった。また、HGD による導入遺伝子の肝臓における発現効率は ICR マウスが最も良かった。そして、複数存在する肝臓の葉のうち、内側右葉における遺伝子発現が最も高いことが判った。HGD による導入遺伝子は、肝臓以外にも、腎臓、肺、心臓でも弱く発現していることが判った。

これらの結果を基に、遺伝子導入試薬を併用して HGD を実施したところ、PEI 系の試薬のみが遺伝子発現の効率を向上させた (図 2)。以下、PEI 系試薬を用いた HGD を改良型 HGD と呼んで、本研究で使用した。

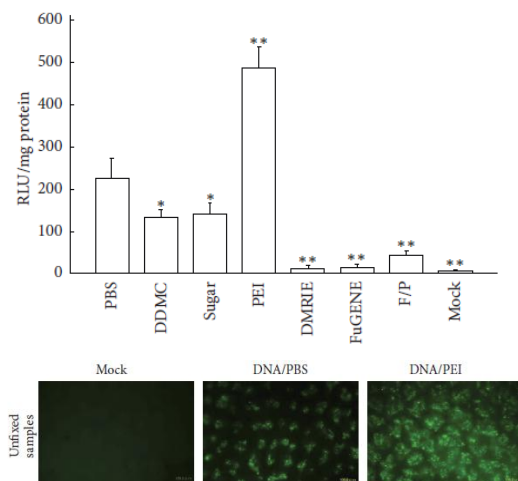


図 2 : PEI 系の試薬と HGD の組み合わせは遺伝子発現の効率を向上させた

(2) 改良型 HGD による肝臓特異的な遺伝子発現切り替え (目的遺伝子の発現誘導) の検討

本実験で使用する pCRTEIL と pTR/NCre を汎用株化細胞 (CHO 細胞、NIH3T3 細胞、HepG2 細胞) へ遺伝子導入したところ、Cre-*loxP* 系の稼働による赤色蛍光 (HcRed) から目的遺伝子の緑色蛍光 (EGFP) 並びに luc への遺伝子発現の切り替え (gene-switching) は、HepG2 細胞でのみ確認できた。この時、pCRTEIL と pTR/NCre の使用量比は 10:1 が最適であった。上記 (1) の結果に従って pCRTEIL を 10  $\mu$ g 用い、1  $\mu$ g の pTR/NCre と共に改良型 HGD で ICR マウスへ共導入した結果、遺伝子の導入自体は肝臓を中心に肺や腎臓でも確認できたが、gene-switching による目的遺伝子の発現は肝臓でのみ確認された (図 3)。即ち、肝臓特異的な目的遺伝子の発現を達成する事が出来た。

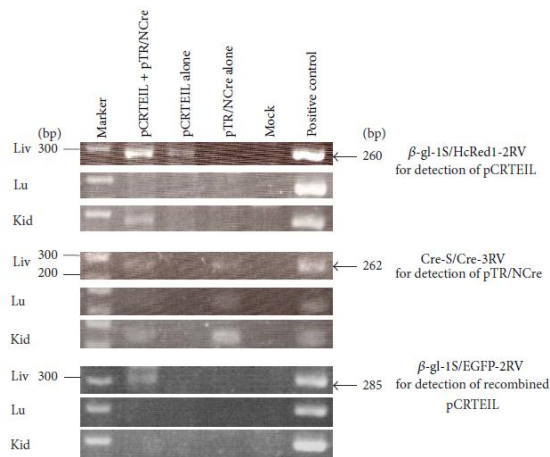


図 3 : 導入遺伝子の PCR 解析の結果、肝臓でのみ目的遺伝子を強発現させる recombined pCRTEIL を確認した

(3) 改良型 HGD と  $\phi$ C31 インテグラーゼ系を使った導入遺伝子の持続発現の検討

pC31i と目的遺伝子を内蔵した attB 配列を含むゲノム内挿入用ベクターを改良型 HGD で ICR マウスへ導入した (実験群)。導入翌日では、実験群は対照群 ( $\phi$ C31 インテグラーゼを用いない群) と同等程度 (有意差が無い) の肝臓組織抽出物の luc 活性を示した。導入 1 ヶ月後では、実験群は対照群と比べて有意に高い肝臓組織抽出物の luc 活性を示し、その傾向は導入 2 ヶ月後まで続いた。しかし、導入 3 ヶ月後では対照群との有意差は無くなった。即ち、改良型 HGD で  $\phi$ C31 インテグラーゼ系を併用することで、肝臓における外来性のプラスミド DNA 由来の目的遺伝子の発現期間を延長できることが示された。今後は、より長期間の導入遺伝子の持続発現を促す

ための条件検討が必要であると考えられた。

(4) ジフテリア毒素遺伝子発現ベクターの導入による肝線維化症モデルの開発

上記 (3) の結果に基づき、本実験は一過発現系のみで検討した。10  $\mu$ g の pCETD と 1  $\mu$ g の pTR/NCre を改良型 HGD で ICR マウスへ導入した。導入 1 週目から AST (GOT) 及び ALT (GPT) の値の上昇を確認し、その傾向は 4 週目まで続いた。病理標本からは、導入 1 週目から肝細胞死滅に起因すると思われる炎症性細胞の浸潤の様子を観察し、3 週目以降には肝臓の線維化を示すマウスも存在した。以上の結果から、改良型 HGD で肝疾患モデルマウスが簡単に作製できる可能性が示された。今後は、この肝疾患モデルマウスが肝線維化症モデルマウスとしての性質を持つか詳細に検討する予定である。

(5) まとめ

本研究では、当初計画の全ての検討を実施し、一定の成果を得ることが出来たと思われる。その成果は、以下の通りに総括できる。即ち、①PEI 系の市販遺伝子導入試薬と HGD を組み合わせた手法 (改良型 HGD) によって、マウス肝臓における導入遺伝子 (プラスミド DNA) の発現の効率が向上した。②肝臓特異的な遺伝子発現切り替え (gene-switching) システムを改良型 HGD でマウスへ導入することで、目的遺伝子の肝臓に限定した発現誘導を簡便に達成することが出来た。③HGD で使用するマウスの系統は ICR マウスが最も良いと考えられた。④HGD によって導入されたプラスミド DNA は肝臓の内側右葉で最も効率良く発現した。⑤  $\phi$ C31 インテグラーゼ系を用いることで改良型 HGD における遺伝子の発現期間を延長できることが判った。⑥改良型 HGD により、簡単に肝疾患モデルマウスが作製出来た。

一方で、改良型 HGD による導入遺伝子の持続発現システムの構築に関する検討では課題も得られた。今後、 $\phi$ C31 インテグラーゼ系と遺伝子導入試薬との関係性などの検討、あるいは、他のゲノム挿入システムの利用なども考慮しながら、3 ヶ月以上にわたる導入遺伝子の持続発現を目指した検討を行う必要があると考えられた。

他方、想定外の成果として、本実験で使ったオリジナルの遺伝子キャリア (F/P) は HGD に依らない通常の静脈注射で肝臓へ効率的な遺伝子導入が行える可能性が示唆された。本内容は、現在別途検討中である。F/P は、種々の分解酵素から遺伝子やタンパク質などの生体高分子を保護する可能性が示唆されており、今後血流を介した遺伝子・タンパク質デリバリー研究への応用に期待が持てた。

以上を要するに、今後は改良型 HGD による導入遺伝子の持続発現システムの高効率化の研究を継続し、プラスミド DNA を用いた生体肝臓における *in vivo* マニピレーションシステムの構築を行い、肝再生研究の基盤技術の確立へ繋げたいと考える。

#### 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)

[雑誌論文] (計 12 件)

- ① Nakamura S, Maehara T, Watanabe S, Ishihara M, Sato M. Improvement of hydrodynamics-based gene transfer of nonviral DNA targeted to murine hepatocytes. *Biomed Res Int*. 査読有 928790 (2013). doi: 10.1155/2013/928790.
- ② Sato M, Akasaka E, Saitoh I, Ohtsuka M, Nakamura S, Sakurai T, Watanabe S. Targeted Toxin-Based Selectable Drug-Free Enrichment of Mammalian Cells with High Transgene Expression. *Biology* 査読有 (2), 341-355 (2013). doi:10.3390/biology2010341
- ③ Kishimoto S, Ishihara M, Nakamura S, Fujita M, Takikawa M, Sumi Y, Kiyosawa T, Sato T, Kanatani Y. Fragmin/protamine microparticles to adsorb and protect HGF and to function as local HGF carriers *in vivo*. *Acta Biomater*. 査読有 9, 4763-4770 (2013). doi: 10.1016/j.actbio.2012.08.003.
- ④ Nakamura S, Takikawa M, Ishihara M, Nakayama T, Kishimoto S, Isoda S, Ozeki Y, Sato M, Maehara T. Delivery system for autologous growth factors fabricated with low-molecular-weight heparin and protamine to attenuate ischemic hind-limb loss in a mouse model. *J Artif Organs*. 査読有 15, 375-385 (2012). doi: 10.1007/s10047-012-0658-0.
- ⑤ Nakamura S, Ishihara M, Takikawa M, Kishimoto S, Isoda S, Fujita M, Sato M, Maehara T. Attenuation of limb loss in an experimentally induced hindlimb ischemic model by fibroblast growth factor-2/fragmin/protamine microparticles as a delivery system. *Tissue Eng Part A*. 査読有 18, 2239-2247 (2012). doi: 10.1089/ten.TEA.2011.0741.
- ⑥ 中村伸吾、石原雅之、森康貴、藤田真敬、瀧川恵美、岸本聡子、中山健史、磯田晋、清澤智晴、前原正明. 再生医学応用に向けた低分子化ヘパリン-プロタミン混和デリバリーキャリアの開発. *防衛医科大学校雑誌 査読有* 37, 163-171 (2012).
- ⑦ Sato M, Akasaka E, Saitoh I, Ohtsuka M, Nakamura S, Sakurai T, Watanabe S. A simplified protocol for the semi-large scale recovery of plasmids from *Escherichia coli* grown on agar plates. *J Biomed Sci Eng*. 査読有 5, 406-408 (2012). doi: 10.4236/jbise.2012.57051
- ⑧ Sato M, Ohtsuka M, Nakamura S, Sakurai T, Watanabe S, Yasuoka Y. Functional Recovery of a Whole Ovary Transplanted Into Syngenic Testis in Mice. *Clon Transgen*. 査読有 1, 102 (2012). doi:10.4172/2168-9849.1000102
- ⑨ Kishimoto S, Ishihara M, Takikawa M, Mori Y, Hattori H, Fujita M, Nakamura S. Novel Experimental and Clinical Therapeutic Uses of Low-Molecular-Weight Heparin/Protamine Microparticles. *Pharmaceutics* 査読有 4, 42-57 (2012). doi:10.3390/pharmaceutics4010042
- ⑩ Watanabe S, Nakamura S, Sakurai T, Akasaka K, Sato M. Improvement of a phiC31 integrase-based gene delivery system that confers high and continuous transgene expression. *N Biotechnol*. 査読有 28, 312-319 (2011). doi: 10.1016/j.nbt.2010.11.001
- ⑪ Horio T, Fujita M, Tanaka Y, Ishihara M, Kishimoto S, Nakamura S, Hase K, Maehara T. Efficacy of fragmin/protamine microparticles containing fibroblast growth factor-2 (F/P MPs/FGF-2) to induce collateral vessels in a rabbit model of hindlimb ischemia. *J Vasc Surg*. 査読有 54, 791-798 (2011). doi: 10.1016/j.jvs.2011.02.060.
- ⑫ Mori Y, Nakamura S, Kishimoto S,

Kawakami M, Suzuki S, Matsui T, Ishihara M. Preparation and characterization of low-molecular-weight heparin/protamine nanoparticles (LMW-H/P NPs) as FGF-2 carrier. Int J Nanomedicine. 査読有 5, 147-155 (2010). doi: 10.2147/IJN.S8692

[学会発表] (計 13 件)

- ① 中村伸吾、前原正明、渡部聡、石原雅之、佐藤正宏. マウス肝臓を標的とした plasmid DNA の効率的な遺伝子導入法の開発. 第 35 回日本分子生物学会年会. 2012 年 12 月 14 日. 福岡国際会議場 (福岡県).
- ② 渡部聡、原口清輝、中村伸吾、桜井敬之、梶原景正、麥倉信一郎、佐藤正宏. ヒト Endo -  $\beta$  - N - acetylglucosaminidase 遺伝子を用いた新たな Cancer vaccination 法の開発. 第 35 回日本分子生物学会年会. 2012 年 12 月 14 日. 福岡国際会議場 (福岡県).
- ③ 石原雅之、岸本聡子、中村伸吾、藤田真敬、服部秀美、瀧川真人、瀧川恵美、鷲見友紀. 増殖因子キャリアとしてのフラグミン/プロタミンマイクロナノ粒子. 日本バイオマテリアル学会シンポジウム 2012. 2012 年 11 月 27 日. 仙台国際センター (宮城県).
- ④ 石原雅之、岸本聡子、服部秀美、藤田真敬、田中良弘、中村伸吾. 増殖因子及び細胞キャリアとしての低分子ヘパリンとプロタミンからなる微粒子. 第 31 回日本糖質学会年会. 2012 年 9 月 20 日. 鹿児島市民文化ホール (鹿児島県).
- ⑤ 中村伸吾、磯田晋、大迫茂登彦、木村民蔵、山中望、増子雄二、西田浩介、中野渡仁、石原雅之、前原正明. 医薬品を基剤としたデリバリーキャリアによる虚血治療. 第 16 回日本心筋・血管新生療法研究会/第 17 回日本冠動脈外科学会. 2012 年 7 月 13 日. グランドヒル市ヶ谷 (東京都).
- ⑥ 渡部聡、桜井敬之、中村伸吾、村松喬、佐藤正宏.  $\alpha$  Gal 抗原はマウス由来 ES/EC 細胞の増殖制御に関与する. 第 34 回日本分子生物学会年会. 2011 年 12 月 14 日. パシフィコ横浜 (神奈川県).
- ⑦ 中村伸吾、前原正明、渡部聡、石原雅之、佐藤正宏. マウス肝臓を標的とした

plasmid DNA の効率的な遺伝子導入法の開発. 第 34 回日本分子生物学会年会. 2011 年 12 月 13 日. パシフィコ横浜 (神奈川県).

- ⑧ 佐藤正宏、大塚正人、中村伸吾、櫻井敬之、渡部聡. 選択用薬剤を使わない簡便な遺伝子高発現細胞株の取得方法. 第 34 回日本分子生物学会年会. 2011 年 12 月 13 日. パシフィコ横浜 (神奈川県).
- ⑨ 中村伸吾、石原雅之、磯田晋、大迫茂登彦、木村民蔵、山中望、藤田真敬、岸本聡子、前原正明. 微粒子薬剤徐放キャリアを用いた虚血治療. 第 49 回日本人工臓器学会大会 2011 年 11 月 27 日. 都市センターホール (東京都).
- ⑩ 石原雅之、岸本聡子、服部秀美、中村伸吾、森康貴、田中良弘、松村耕治. フラグミン・プロタミン微粒子コートプレートを用いた間葉系及び造血系幹細胞の選択的増殖. 第 10 回日本再生医療学会総会. 2011 年 3 月 1 日. 京王プラザホテル (東京都).
- ⑪ 森康貴、中村伸吾、岸本聡子、石原雅之. フラグミン/プロタミンナノ粒子の合成と細胞増殖因子担体性能評価. 第 56 回防衛衛生学会. 2011 年 2 月 3 日. 自衛隊衛生学校 (東京都).
- ⑫ 石原雅之、中村伸吾、岸本聡子、服部秀美、田中良弘、前原正明. フラグミン/プロタミンマイクロ粒子を用いた細胞キャリアによる脂肪組織由来間葉系幹細胞の凝集と血管新生促進効果. 第 32 回日本バイオマテリアル学会. 2010 年 11 月 30 日. グランドプリンスホテル広島 (広島県).
- ⑬ 石原雅之、中村伸吾、岸本聡子、服部秀美、田中良弘、前原正明. フラグミン/プロタミン微粒子細胞キャリアーによる脂肪組織由来間葉系幹細胞の凝集と血管新生効果. 第 48 回日本人工臓器学会大会. 2010 年 11 月 20 日. 仙台国際センター (宮城県).

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

中村 伸吾 (NAKAMURA SHINGO)

防衛医科大学校・医学教育部医学科専門課程・助教

研究者番号：00505323