

機関番号：32612

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2011～2013

課題番号：23689017

研究課題名(和文) 分化能と造腫瘍性から迫るヒトiPS細胞の品質決定機構の解析

研究課題名(英文) Evaluation of human iPSCs by neural differentiation and tumorigenicity

研究代表者

岡田 洋平 (Okada, Yohei)

慶應義塾大学・医学部・訪問准教授

研究者番号：30383714

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 18,100,000円、(間接経費) 5,430,000円

研究成果の概要(和文)：ヒトiPS細胞の腫瘍化を防止するための品質評価は重要だが、未だ確立されていない。本研究では、従来の評価基準により良質と判定された複数のヒトiPS細胞株を神経幹細胞へと分化誘導してNOD/SCIDマウスへ移植し、ヒトiPS細胞によるグリオーマ様腫瘍形成のリスクを示した。株間の詳細な比較解析により、不完全にリプログラミングされたヒトiPS細胞は、未分化状態ではなく分化誘導後にゲノム不安定化を示し、腫瘍化すると考えられた。また、この不完全なリプログラミングはヒトES細胞特異的遺伝子群やDNA修復遺伝子群の発現プロファイルによる判別が可能であることを示した。

研究成果の概要(英文)：Human-induced pluripotent stem cells (hiPSCs) hold great promise for regenerative medicine. Despite the importance in evaluating their quality for future cell therapy, there are no precise analyses for assessing abnormal differentiation and tumorigenicity. We demonstrated that pre-evaluated hiPSC clones, established by retroviruses or integration-free episomal vectors, may exhibit glioma-like tumor formation by the transplantation of hiPSC-derived neural stem/progenitor cells into NOD/SCID mice. Notably, the tumorigenicities were closely associated with incomplete reprogramming of hiPSCs, revealed by the expressions of newly identified human embryonic stem cell signature genes or DNA repair genes. This incomplete reprogramming resulted in genomic instability not in an undifferentiated state, but during neural differentiation. Moreover, cluster of DNA repair genes may provide a useful "scorecard" for easy and quick evaluation of the incomplete reprogramming of hiPSCs.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・医化学一般

キーワード：ヒトiPS細胞 品質評価 神経分化 造腫瘍性

1. 研究開始当初の背景

ES 細胞、iPS 細胞などの多能性幹細胞は、様々な臓器組織を構成する体細胞を *in vitro* で生み出せることから、これまで再生が難しいと考えられてきた中枢神経系における神経再生への応用や、神経発生メカニズムの解析、神経疾患の病態解析、新規薬剤開発などにおける *in vitro* モデルとしての応用が期待されてきた。しかし、不完全な iPS 細胞は、分化異常や造腫瘍性を示すことがあり、神経再生医療においては安全性を脅かし、また疾患解析では間違った病態解析へと導いてしまう可能性がある。したがって、iPS 細胞と iPS 細胞由来分化細胞の品質評価は、iPS 細胞を用いた応用研究の根幹をなす重要な問題だが、現在までのところ、“良い iPS 細胞” についてのコンセンサスは得られていない。

本研究者のこれまでの研究で、多種類の体細胞ソースから樹立した複数のマウス iPS 細胞から神経幹細胞を誘導し、NOD/SCID マウスの脳へ移植したところ、一部の iPS 細胞株では神経幹細胞への分化誘導後も分化抵抗性の未分化細胞が残存し、奇形腫を形成することを見出した。さらに奇形腫形成能の違いは iPS 細胞樹立時に用いた体細胞の種類に依存し、成体マウス皮膚由来線維芽細胞を用いて樹立した iPS 細胞から誘導した神経幹細胞は、高率に奇形腫を形成することを明らかにした (Miura et al., *Nat. Biotech* 2009)。また、山中らのグループは癌遺伝子である *c-Myc* を用いて樹立したマウス iPS 細胞を用いて作成したキメラマウスは、*c-Myc* を用いないで作成したものに比べて腫瘍化のリスクが高いことを示した (Nakagawa et al., *Nat Biotech* 2008)。

一方、将来的な応用研究のためには、“良いヒト iPS 細胞” がどのようなものかを知る必要がある。本研究者は、これまでにヒト ES 細胞からニューロスフェアとして神経幹細胞を誘導する方法を開発しており、従来の解析により良質とされる複数のヒト iPS 細胞株から、ヒト ES 細胞と同様に、長期間継代培養可能なニューロスフェアを誘導可能なこと、また電気生理学的に機能的なニューロンを誘導できることを確認したが、一部の株は分化異常を示したり、NOD/SCID マウスへの移植後に造腫瘍性を示したりすることが明らかになった。これらの結果は、一見良質と思われるヒト iPS 細胞でも分化能の異常や造腫瘍性を示す可能性があり、またマウス iPS 細胞の場合とは異なる原因による腫瘍化を示す可能性があることを示しており、ヒト iPS 細胞の厳密な品質評価と評価基準の構築が必要であると考えられた。そこで、本研究では、ヒト iPS 細胞の神経分化能と、誘導した神経幹細胞の造腫瘍性を評価し、ヒト iPS 細胞の品質を規定する因子について解析する。

2. 研究の目的

本研究では、ヒト iPS 細胞由来神経幹細胞

の分化能や造腫瘍性の違い、グリオーマ産生能に着目し、“良いヒト iPS 細胞” と “良さそうだが良くないヒト iPS 細胞” との違いから “真に良いヒト iPS 細胞” の条件を明らかにし、またヒト iPS 細胞由来神経幹細胞の腫瘍化メカニズムに迫る。最終的には、“良いヒト iPS 細胞” の効率的な選択のための指標を構築する。

3. 研究の方法

(1) ヒト ES/iPS 細胞から誘導した神経幹細胞における残存未分化細胞の解析

従来の解析により良質なヒト iPS 細胞として評価されている、レトロウイルスを用いて樹立したヒト iPS 細胞 4 株 (201B6, 201B7, 253G1, 253G4) を用いて、これまでに開発した方法を用いて、ヒト ES 細胞から神経幹細胞をニューロスフェアとして分化誘導する。特にこれまでの解析において、神経幹細胞への分化誘導効率の高いヒト iPS 細胞 3 株 (201B7, 253G1, 253G4)、およびヒト ES 細胞 (KhES1) から誘導した神経幹細胞において、移植後の奇形腫形成の原因となり得る未分化細胞の残存 (Tra-1-60/Tra-1-81) について、フローサイトメトリーにより検討する。併せて、神経系前駆細胞への分化誘導効率 (NCAM[CD56]) についても解析する。

(2) ヒト iPS 細胞の神経分化過程におけるレトロウイルス由来外来遺伝子の再活性化

iPS 細胞樹立時に用いたレトロウイルス由来外来遺伝子の再活性化は、分化異常や造腫瘍性に寄与し得る。そこで、各ヒト iPS 細胞株の分化誘導に伴うレトロウイルス由来外来遺伝子の発現変化を、定量的 RT-PCR 法を用いて解析する。

(3) NOD/SCID マウス脳への移植による分化能および造腫瘍性評価

各ヒト ES/iPS 細胞由来神経幹細胞を NOD/SCID マウス脳へ移植し、1, 3, 6 ヶ月後に、HE 染色、神経分化マーカー (Hu, GFAP, GST- π , Nestin)、増殖マーカー (Ki67)、外来遺伝子の発現 (Oct4) について免疫染色を行う。

(4) NOD/SCID マウス精巣への移植による検討

ヒト ES/iPS 細胞株由来神経幹細胞を、奇形腫形成に感度の高い NOD/SCID マウス精巣へ移植し、長期 (3 ヶ月後) での残存未分化細胞による奇形腫形成や、レトロウイルス由来外来遺伝子の発現を解析する。

(5) ヒト iPS 細胞由来神経幹細胞と患者由来グリオーマ幹細胞 (GDC : Glioma-derived cells) の比較

各ヒト iPS 細胞から誘導した神経幹細胞と患者由来グリオーマ幹細胞 (GDC, 3 株) における遺伝子発現をマイクロアレイや定量的 RT-PCR などにより比較解析し、その異同について検討する。

(6) 各ヒト ES/iPS 細胞間の遺伝子発現プロファイル解析

形態や未分化マーカーの発現などから良

質とされるヒト iPS 細胞では、マイクロアレイによる全遺伝子発現解析を行ってもヒト ES 細胞と極めて類似しており、それによる正確な品質評価は困難である。そこで、マイクロアレイによる遺伝子発現解析の結果をもとに、腫瘍化するヒト iPS 細胞株としないヒト iPS 細胞株の違いを検出するための遺伝子群を同定する。またヒト ES 細胞の発現プロファイルと比較することで、リプログラミングの完全性についても検討する。

(7)ゲノム変異(Genome aberration)の解析

腫瘍の発生には、がん抑制遺伝子である p53 などのゲノム異常の関与が知られている。これまでの解析ではいずれのヒト ES/iPS 細胞由来神経幹細胞でも p53 の変異は認めなかった。そこで、Agilent 180K CGH(comparative genomic hybridization)アレイを用いて、未分化ヒト ES/iPS 細胞と分化誘導後の神経幹細胞におけるゲノムコピー数異常を、ゲノムワイドに解析する。

(8) integration-free iPS 細胞を用いた解析

ゲノムに挿入されるレトロウイルスを用いて樹立したヒト iPS 細胞では、外来遺伝子の再活性化が造腫瘍性や分化異常の原因となることがある。そこで、そのようなリスクがないと考えられる、ゲノムに挿入されないエピゾーマルベクターを用いて樹立したヒト iPS 細胞(epi-hiPSC)を用いた解析を行う。

4. 研究成果

(1)ヒト ES/iPS 細胞から誘導した神経幹細胞における残存未分化細胞の解析

どのヒト ES/iPS 細胞から誘導した神経幹細胞においても、Tra-1-60 や Tra-1-81 陽性の未分化細胞の残存は 0.1%以下であり、90%以上が NCAM(CD56)陽性の神経系前駆細胞に分化していたことから、本解析で用いたヒト ES/iPS 細胞から誘導した神経幹細胞は、奇形腫形成のリスクは低いと考えられた。

(2)ヒト iPS 細胞の神経分化過程におけるレトロウイルス由来外来遺伝子の再活性化

各ヒト iPS 細胞の未分化状態、および神経幹細胞への分化誘導過程において定量的 RT-PCR 法を用いてレトロウイルス由来外来遺伝子の発現を解析したところ、正常に分化できなかった 201B6 と 253G4 では分化誘導とともに外来遺伝子の発現上昇(特に *OCT4*, *KLF4*)が見られた。一方、201B7、253G1 では外来遺伝子の著しい再活性化は見られなかった。神経幹細胞へと分化誘導後に著しい外来遺伝子の発現上昇がみられた 253G4 は、腫瘍化のリスクが高いと考えられた。

(3)NOD/SCID マウス脳への移植による分化能および造腫瘍性評価

高効率に神経幹細胞へと分化誘導可能であった 3 株のヒト iPS 細胞、およびヒト ES 細胞から誘導した神経幹細胞を免疫不全マウス(NOD/SCID マウス)の脳に移植し、1,3,6

ヶ月後に組織学的解析を行ったところ、どの株由来の神経幹細胞も *in vivo* において神経系の 3 系統の細胞に分化した。しかし、移植 6 ヶ月後には、253G4 由来および一部の 253G1 由来神経幹細胞は異常な増殖を示し、低悪性度のグリオーマに類似した組織像を示した。一方、201B7 由来神経幹細胞はそのような造腫瘍性は示さなかった。どの株においても、奇形腫の形成はみられなかった。また、253G4 由来神経幹細胞を移植したものでは高頻度に、253G1 由来神経幹細胞を移植したものでごく一部の細胞においてレトロウイルス由来 *OCT4* の発現を認めた。また、それに相応する形で Ki67 陽性の増殖性細胞がみられた。

この解析結果から、今回解析したヒト iPS 細胞株では、分化誘導後の未分化細胞の残存による奇形腫形成はみられず、異なるメカニズムで腫瘍化するリスクがあること、レトロウイルス由来外来遺伝子の再活性化は、グリオーマ様腫瘍の形成に寄与し得るが、特に 253G1 由来の腫瘍では、ごく一部の細胞のみにおいてレトロウイルス由来 *OCT4* の発現を認めたことから、レトロウイルス由来外来遺伝子の発現だけでは全ての腫瘍化を説明し得ないと考えられた。

(4)NOD/SCID マウス精巣への移植による検討

残存未分化細胞による奇形腫形成をより高感度に検出するために、ヒト ES/iPS 細胞由来神経幹細胞を免疫不全マウス(NOD/SCID マウス)の精巣へ移植し、3 ヶ月後に、組織学的解析及び定量的 RT-PCR による解析を行った。その結果、外来遺伝子が再活性化される 253G4 由来の神経幹細胞を移植した精巣は、他の精巣に比べて有意に腫大し、また *OCT4* を含むレトロウイルス由来外来遺伝子の発現が約 30 倍に上昇した。253G1 由来神経幹細胞を移植したものにおいても外来遺伝子の発現上昇がみられたが、軽度であった。組織学的解析では、253G4 由来のものも含めて、どの株から誘導した神経幹細胞も奇形腫の形成を示さなかったが、253G4 由来、および 253G1 由来神経幹細胞は、低悪性度のグリオーマに類似した組織像を示した。これらの結果は、脳へ移植したものとよく合致する結果であった。

(5)ヒト iPS 細胞由来神経幹細胞と患者由来グリオーマ幹細胞(GDC: Glioma-derived cells)の比較

造腫瘍性を示したヒト iPS 細胞由来神経幹細胞と患者グリオーマ由来細胞から採取した RNA を用いてマイクロアレイによる比較解析を行ったところ、発現プロファイル上の明らかな相関関係はみられなかったが、いくつかの癌関連遺伝子において、共通の発現上昇、あるいは発現低下がみられた。

(6)各ヒト ES/iPS 細胞間の遺伝子発現プロフ

アイル解析

通常のマイクロアレイ解析では、造腫瘍性を示したヒト iPS 細胞と、示さないヒト iPS 細胞において、明らかな遺伝子発現プロファイルの違いを検出できなかったことから、ヒト ES 細胞 (KhES1-3) と他の分化細胞の遺伝子発現プロファイルを比較し、ヒト ES 細胞に特異的に発現する遺伝子 1340 個を同定し、これらの遺伝子について、各株間の発現プロファイルの比較解析を行った。その結果、分化も正常で腫瘍化も示さない 201B7 はヒト ES 細胞の発現プロファイルとよく類似していたが、神経分化または腫瘍化の観点から異常を示した 201B6、253G1、253G4 は、リプログラミング前のヒト成人皮膚由来線維芽細胞 (HDF) の遺伝子発現パターンを多く残し、不完全なリプログラミングが示唆された。また、1340 個ヒト ES 細胞特異的遺伝子群のなかで、分化異常や造腫瘍性を示したヒト iPS 細胞と、造腫瘍性を示さないヒト iPS 細胞やヒト ES 細胞との間で発現量が有意に異なる遺伝子を 169 個同定した。これらの遺伝子においてパスウェイ解析を行ったところ、癌関連遺伝子やゲノム安定性に関わる遺伝子群の発現が有意に異なることが明らかになった。さらに、ゲノム修復に関わる 60 ないしは 17 遺伝子の発現プロファイルにより、これら二つのグループの細胞の違いを検出できることが明らかになった。

(7)ゲノム変異(Genome aberration)の解析

グリオーマの発生には、ゲノム変異の影響が知られている。さらに、上記発現プロファイル解析でゲノム安定性に関わる遺伝子群の発現が有意に異なっていたことから、用いたヒト ES/iPS 細胞の神経幹細胞への分化誘導前後において、aCGH を用いたゲノムコピー数異常についての解析を行った。その結果、グリオーマ様腫瘍を形成した 253G1、253G4 では、未分化状態ではゲノム異常は見られないが、分化誘導によりゲノム変異が有意に増加していた。一方、腫瘍化しない 201B7 では、分化誘導の前後においてゲノム異常の増加は見られなかった。

これらの結果から、不完全にリプログラミングされたヒト iPS 細胞は、分化誘導に伴うゲノム不安定化により、造腫瘍性を示す可能性が示唆された(図)。

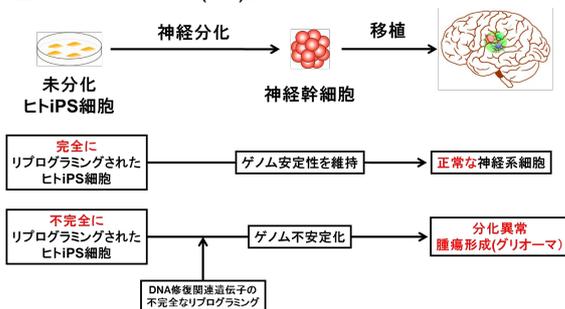


図 不完全にリプログラミングされたヒト iPS 細胞は分化誘導に伴うゲノム不安定化により造腫瘍性を示す。

(8) integration-free iPS 細胞を用いた解析

ゲノムに挿入されないエピソードベクターを用いて樹立したヒト iPS 細胞 (epi-hiPS 細胞: 409B2, 414C2) から神経幹細胞を誘導し、神経分化能と、精巣への移植による造腫瘍性の解析を行ったところ、どちらの株も高効率に神経幹細胞へと分化誘導できるものの、integration-free ヒト iPS 細胞であっても、グリオーマ様の腫瘍を形成し得ることが明らかになった。また、aCGH によるゲノム安定性評価では、どちらの epi-hiPS 細胞も、造腫瘍性を示したレトロウイルスにより樹立されたヒト iPS 細胞よりはごく軽度であるものの、分化誘導に伴うゲノム不安定化が検出された。さらに、先に述べた 60 ないし 17 遺伝子の発現プロファイルから、これらの epi-hiPS 細胞は、レトロウイルスにより樹立されたヒト iPS 細胞の解析において、造腫瘍性を示したものと示さなかったものの中に位置したことから、中等度のリプログラミング状態であると考えられた。また、この 60 ないし 17 遺伝子群は、リプログラミング抵抗性遺伝子である可能性が、またその遺伝子の発現プロファイル解析により、不完全なリプログラミングを検出できる可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計18件)

1. Numasawa-Kuroiwa Y, **Okada Y**#, Shibata S, Kishi N, Akamatsu W, Shoji M, Nakanishi A, Oyama M, Osaka H, Inoue K, Takahashi K, Yamanaka S, Kosaki K, Takahashi T, Okano H#, Involvement of ER Stress in Dysmyelination of Pelizaeus-Merzbacher Disease with PLP1 Missense Mutations Shown by iPSC-Derived Oligodendrocytes *Stem Cell Report* 2(5) 2014 648-661 #corresponding authors (査読有)
2. Bundo M, Toyoshima M, **Okada Y**, Akamatsu W, Ueda J, Nemoto-Miyauchi T, Sunaga F, Toritsuka M, Ikawa D, Kakita A, Kato M, Kasai K, Kishimoto T, Nawa H, Okano H, Yoshikawa T, Kato T, Iwamoto K. Increased L1 Retrotransposition in the Neuronal Genome in Schizophrenia. *Neuron*. 81(2)2014:306-13,2014,doi:10.1016/j.neuron.2013.10.053. (査読有)
3. Higurashi N, Uchida T, Christoph L, Misumi Y, **Okada Y**, Akamatsu W, Imaizumi Y, Zhang B, Nabeshima K, Mori MX, Katsurabayashi S, Shirasaka Y, Okano H, Hirose S. A human Dravet syndrome model from patient induced pluripotent stem cells. *Mol Brain* 6(1)2013, 19 doi:10.1186/1756-6606-6-19 (査読有)
4. Nihei Y, Ito D, **Okada Y**, Akamatsu W, Yagi T, Yoshizaki T, Okano H, Suzuki N. Enhanced aggregation of androgen receptor in induced pluripotent stem cell-derived neurons from spinal and bulbar muscular atrophy. *J Biol Chem*. 288(12)2013:8043-52. doi:

- 10.1074/jbc.M112.408211. (査読有)
5. Okano H, Nakamura M, Yoshida K, **Okada Y**, Tsuji O, Nori S, Ikeda E, Yamanaka S, Miura K, Steps toward safe cell therapy using induced pluripotent stem cells *Circulation Research* 112(3),2013,523-33,doi:10.1161/CIRCRESAHA.111.256149 (査読有)
6. Shofuda T, Kanematsu D, Fukusumi H, Yamamoto A, Bamba Y, Yoshitatsu S, Suemizu H, Nakamura M, Sugimoto Y, Furue KM, Kohara A, Akamatsu W, **Okada Y**, Okano H, Yamasaki M, Kanemura Y. Human Decidua-Derived Mesenchymal Cells are a Promising Source for the Generation and Cell Banking, of Human Induced Pluripotent Stem Cells *Cell Medicine*, 4(3), 2013, 125-147, doi: <http://dx.doi.org/10.3727/215517912X658918> (査読有)
7. Kobayashi Y*, **Okada Y***, Itakura G, Iwai H, Nishimura S, Nori S, Hikishima K, Konomi T, Fujiyoshi K, Tsuji O, Toyama Y, Yamanaka S, Nakamura M, Okano H: Pre-Evaluated Safe Human iPSC-Derived Neural Stem Cells Promote Functional Recovery after Spinal Cord Injury in Common Marmoset without Tumorigenicity. *PLoS One*. (12):2012 e52787. *equally contributed first authors, doi:10.1371/journal.pone.0052787 (査読有)
8. Kuzumaki N, Suzuki A, Narita M, Hosoya T, Nagasawa A, Imai S, Yamamizu K, Morita H, Suzuki T, **Okada Y**, Okano HJ, Yamashita JK, Okano H, Narita M. Multiple analyses of G-protein coupled receptor (GPCR) expression in the development of gefitinib-resistance in transforming non-small-cell lung cancer. *PLoS One*. 7(10):2012 e44368. doi: 10.1371/journal.pone.0044368 (査読有)
9. Shimada H, **Okada Y** #*, Ibata K, Ebise H, Ota S, Tomioka I, Nomura T, Maeda T, Kohda K, Yuzaki M, Sasaki E, Nakamura M, Okano H#*. Efficient Derivation of Multipotent Neural Stem/Progenitor Cells from Non-human Primate Embryonic Stem Cells *PLoS One*. 7(11):2012 e49469, *equally contributed last authors, #corresponding authors doi: 10.1371/journal.pone.0049469 (査読有)
10. Imaizumi Y, **Okada Y**, Akamatsu W, Koike M, Kuzumaki N, Hayakawa H, Nihira T, Kobayashi T, Ohyama M, Sato S, Takanashi M, Funayama M, Hirayama A, Soga T, Hishiki T, Suematsu M, Yagi T, Ito D, Kosakai A, Hayashi K, Shouji M, Nakanishi A, Suzuki N, Mizuno Y, Mizushima N, Amagai M, Uchiyama Y, Mochizuki H, Hattori N, Okano H. Mitochondrial dysfunction associated with increased oxidativestress and α -synuclein accumulation in PARK2 iPSC-derived neurons and postmortem brain tissue *Mol. Brain*. 5(1)2012, 35, doi: 10.1186/1756-6606-5-35 (査読有)
11. Yagi T, Kosakai A, Ito D, **Okada Y**, Akamatsu W, Nihei Y, Nabetani A, Ishikawa F, Arai Y, Hirose N, Okano H, Suzuki N. Establishment of induced pluripotent stem cells from centenarians for neurodegenerative disease research. *PLoS One*. 7(7):2012 e41572. doi:10.1371/journal.pone.0041572 (査読有)
12. Muto J, Imai T, Ogawa D, Nishimoto Y, **Okada Y**, Mabuchi Y, Kawase T, Iwanami A, Mischel PS, Saya H, Yoshida K, Matsuzaki Y, Okano H. RNA-Binding Protein Musashi1 Modulates Glioma Cell Growth through the Post-Transcriptional Regulation of Notch and PI(3) Kinase/Akt Signaling Pathways. *PLoS One*. 7(3):2012,e33431, doi:10.1371/journal.pone.0033431 (査読有)
13. Kuzumaki N, Suzuki A, Narita M, Hosoya T, Nagasawa A, Imai S, Yamamizu K, Morita H, Nagase H, **Okada Y**, Okano HJ, Yamashita JK, Okano H, Suzuki T, Narita M. Effect of κ -opioid receptor agonist on the growth of non-small cell lung cancer (NSCLC) cells. *Br J Cancer*. 106(6):1148-52.2011, doi: 10.1038/bjc.2011.574. (査読有)
14. Nori S*, **Okada Y***, Yasuda A, Tsuji O, Takahashi Y, Kobayashi Y, Fujiyoshi K, Koike M, Uchiyama Y, Ikeda E, Toyama Y, Yamanaka S, Nakamura M, Okano H. Grafted human induced pluripotent stem cell-derived neurospheres promotes motor functional recovery after spinal cord injury in mice *Proc Natl Acad Sci U S A*. 108(40):16825-30.2011 *equally contributed first authors, doi: 10.1073/pnas.1108077108(査読有)
15. Yagi T, Ito D, **Okada Y**, Akamatsu W, Nihei Y, Yoshizaki T, Yamanaka S, Okano H, Suzuki N. Modeling familial Alzheimer's disease with induced pluripotent stem cells. *Hum. Mol. Genet*. 20 (23): 4530-4539. 2011 Sep 13. doi: 10.1093/hmg/ddr394 (査読有)
16. Kawahara H, **Okada Y**, Imai T, Iwanami A, Mischel PS, Okano H. Musashi 1 cooperates in abnormal cell LiNeage protein 28 (Lin28)-mediated Let-7 family microRNA biogenesis in early neural differentiation. *J Biol Chem*.;286(18):16121-30. 2011 Epub 2011 Mar 4. Selected for "Paper of the Week", doi: 10.1074/jbc.M110.199166 (査読有)
17. Ohta S, Imaizumi Y, **Okada Y**, Akamatsu W, Kuwahara R, Ohyama M, Amagai M, Matsuzaki Y, Yamanaka S, Okano H, Kawakami Y. Generation of human melanocytes from induced pluripotent stem cells. *PlosOne* 6 (1):e16182 2011, doi:10.1371/journal.pone.0016182 (査読有)
18. Shiozawa S, Kawai K, **Okada Y**, Tomioka I, Maeda T, Kanda A, Shinohara H, Suemizu H, Okano HJ, Sotomaru Y, Sasaki E, Okano H. Gene targeting and subsequent site-specific transgenesis at the β -actin (ACTB) locus in common marmoset embryonic stem cells *Stem*

Cells and Development. 20(9):1587-99. 2011 Epub 2011 Jan 16. doi:10.1089/scd.2010.0351 (査読有)

〔学会発表〕(計68件)

1. **Okada Y** Incompletely reprogrammed human iPSCs form glioma-like tumors through genomic instability during differentiation, Kyoto University/Keio University/MD Anderson Cancer Center (MDACC) Joint Conference, iPSC and Stem Cells in Cancer Research, Kyoto, 2014.4.17, Kyoto Japan (シンポジウム・招待講演)
2. **岡田洋平**, iPSC細胞を用いた神経疾患研究、愛知医科大学加齢医科学研究所 30周年記念講演会、2014年2月21日、名古屋(特別講演・招待講演)
3. **岡田洋平**, iPSC細胞を用いた神経疾患研究、独立行政法人国立病院機構鈴鹿病院 創立70周年記念市民講演会、2014年2月15日、鈴鹿(市民講演会、招待講演)
4. **岡田洋平**, 多能性幹細胞を用いた神経疾患研究、ハンドフロンティア 前向き研究会、2014年2月14日、名古屋(招待講演)
5. **岡田洋平**, 多能性幹細胞、神経幹細胞を用いた神経再生、愛知医科大学糖神合同セミナー、2014年2月4日、名古屋(招待講演)
6. **岡田洋平**, 培養皿の上で神経を作る—多能性幹細胞(ES細胞・iPS細胞)を用いた神経発生、神経再生、病態解析研究、愛知医科大学先端医学研究センター 第13回研究セミナー、2013年11月11日、名古屋(招待講演)
7. **岡田洋平**, iPSC細胞を用いた神経再生と病態解析 スモンに関する調査研究班 平成25年度ワークショップ、2013年7月26日、名古屋(特別講演・招待講演)
8. **岡田洋平**, 多能性幹細胞(ES細胞/iPS細胞)の神経分化誘導とその応用 第35回神経組織培養研究会、2013年6月29日、大阪(シンポジウム・招待講演)
9. **Okada Y**, Miya, F, Koike M, Tomisato S, Tokura T, Ishihara Y, Shimojo D, Hattori C, Kanematsu D, Kanemura Y, Kohda K, Sobue G, Yamanaka S, Yuzaki M, Uchiyama Y, Ikeda E, Tsunoda T, Okano H, Incompletely reprogrammed human iPSCs form glioma-like tumors through genomic instability during neural differentiation The 11th Stem Cell Research Symposium, 2013. 5.17, Tokyo Japan (シンポジウム)
10. **岡田洋平**, iPSC細胞を用いた神経再生と病態解析 第4回岐阜脳神経研究会、2013年2月2日、岐阜(特別講演・招待講演)
11. **岡田洋平**, 岡野栄之、ヒト iPS細胞由来神経幹細胞の応用とその問題点 第24回日本脳循環代謝学会総会、2012年11月19日、広島(シンポジウム・招待講演)
12. **岡田洋平**, 多能性幹細胞・神経幹細胞を用いた神経再生と病態解析 第13回埼玉パーキンソン病治療研究会、2012年11月1日、

大宮(特別講演・招待講演)

13. **岡田洋平**, iPSC細胞・神経幹細胞で神経系を再生する、兵庫県保険医協会 第79回総会特別講演、神戸、2011年6月19日(特別講演・招待講演)
14. **岡田洋平**, 岡野栄之、神経分化と造腫瘍性から迫るヒト iPS細胞の品質評価、第52回日本神経学会学術大会、名古屋、2011年5月20日(シンポジウム・招待講演)
15. **岡田洋平**, 岡野栄之、分化能と造腫瘍性から迫るヒト iPS細胞の品質評価、第10回日本再生医療学会総会、東京、2011年3月1日(シンポジウム・招待講演)

〔図書〕(計4件)

1. **岡田洋平**, 岡野栄之、羊土社、実践編[2] 9. 神経幹細胞への分化誘導、実験医学別冊「ES・iPS細胞実験スタンダード」, 2014年1月、総ページ数 355ページ
2. **岡田洋平**, ヒト iPS細胞由来神経幹細胞の応用とその問題点、脳循環代謝 24, 107-110, 2013、メディカルトリビューン
3. 海苔聡、辻収彦、**岡田洋平**、戸山芳昭、岡野栄之、中村雅也 医学書院、iPS細胞を用いた脊髄損傷治療、Brain Nerve 64 (1), 2012年 17-27
4. **岡田洋平**, 岡野栄之、神経分化と造腫瘍性から迫るヒト iPS細胞の品質評価 臨床神経学 51(11), 1079-1080, 2011年11月、日本神経学会

〔産業財産権〕

○出願状況(計1件)

名称:iPS細胞のクローンの選択方法、及びその選択方法に用いる遺伝子の選択方法
発明者:**岡田洋平**、岡野栄之、角田達彦、宮冬樹
権利者:学校法人慶應義塾
種類:PCT
番号:PCT/JP2012/054800
出願年月日:2012.2.27
国内外の別:PCT

〔その他〕

ホームページ:

<http://www.careerpath-prj.keio.ac.jp/kanrinmaru/scholar/okada/>

6. 研究組織

(1)研究代表者

岡田 洋平 (OKADA YOHEI)
慶應義塾大学・医学部・訪問准教授
研究者番号:30383714