

令和元年6月11日現在

機関番号：82609

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H04728

研究課題名(和文) ヒト造血幹細胞の発生スイッチとロードブロッカーの同定

研究課題名(英文) Investigation of developmental regulators for human hematopoietic stem cells and downstream road-blocker(s) of Lhx2

研究代表者

原 孝彦 (HARA, Takahiko)

公益財団法人東京都医学総合研究所・生体分子先端研究分野・分野長

研究者番号：80280949

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,600,000円

研究成果の概要(和文)：Lhx2は、マウスESCから造血幹細胞HSCを体外増幅できるが、ヒトiPSCでは血液細胞分化が逆に抑制される。Lhx2の責任領域を探索した結果、LIM2ドメインに点変異を導入すると、ヒトiPSCの血液細胞分化抑制活性、および白血病細胞株K562の増殖抑制活性が消失することを見出した。このLIM2変異体は、マウスESC由来HSCの体外増幅活性も喪失していた。K562を用いてLhx2で制御されるHSC発生関連遺伝子を探索したところ、GF11BやKLF1を含む9種類の転写制御因子のmRNA発現が大幅に抑えられていた。これが、Lhx2がヒトiPSCの血液細胞分化を抑制する理由ではないかと推察される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

白血病患者の根本治療法として、患者のHLAにマッチした造血幹細胞の移植治療が実施されている。そのソースとして骨髄バンクや臍帯血バンクが整備されているが、少子化と高齢化が進んでいる我が国ではストックは年々減少しており、決して安心できる状況とは言えない。もし、ヒトiPS細胞から造血幹細胞を作り出せるようになれば、造血幹細胞移植のソースを安定的に供給できるようになると期待される。したがって、マウスでは成功しているiPS細胞から造血幹細胞を体外増幅する方法が、何故ヒトiPS細胞ではうまくいかないのかを早急に解明する必要がある。

研究成果の概要(英文)：Transcription factor Lhx2 is capable to expanding mouse embryonic stem cell (ESC) or induced pluripotent stem cell (iPSC)-derived hematopoietic stem cells (HSCs). In contrast, in the in vitro differentiation culture of human iPSCs, Lhx2 strongly suppresses hematopoietic cell differentiation. We searched for a responsible domain of this Lhx2's differentiation block activity. We found that a LIM2 domain point mutant of Lhx2 lacks the differentiation block activity in human iPSCs as well as a growth suppressive effect of Lhx2 in a myeloid leukemia-derived cell line K562. Lhx2-LIM2 mutant also lost ex vivo HSC expansion capacity in mouse ESCs. By way of transcriptional profiling of Lhx2 downstream genes in K562 cells, we discovered that nine transcription factors including GF11B and KLF1 are robustly downregulated by overexpression of Lhx2, but not Lhx2-LIM2 mutant, in K562 cells. These changes may be a reason why Lhx2 blocks the hematopoietic cell differentiation in human iPSC.

研究分野：分子生物学

キーワード：造血幹細胞 iPSC細胞 転写因子 造血発生

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

造血幹細胞 hematopoietic stem cells (HSC)は骨髄のニッチと呼ばれる場所に定着し、一定の割合で自己複製しながらリンパ球・顆粒球・赤血球・血小板へと分化することで、成体の二次造血を生涯に渡って支え続けている重要な組織幹細胞である。HSCs は胎生中期に一過的に形成される AGM 領域に存在する Hemogenic endothelial cells (HECs)から endothelial to hematopoietic transition (EHT)と呼ばれる出芽反応を経て発生するが、その分子メカニズムはまだ解明されておらず、ヒト胚性幹細胞 embryonic stem cells (ESCs)や induced pluripotent stem cells (iPSCs)から遺伝子導入なしに長期骨髄再建能を持つ HSC を分化誘導することは、まだ誰も成功していない。所属研究室の先行研究により、マウス ESC から誘導した Flk-1 陽性ヘマンジオブラスト (血液血管の中胚葉性共通前駆細胞)に Lhx2 を過剰発現すると、造血幹・前駆細胞 hematopoietic stem and progenitor cells (HSPC)を分化誘導・体外増幅できることが明らかになっている。しかしその一方で、Lhx2 はヒト iPSC からの血液細胞分化を抑制することが明らかになった。そこで、本研究では Lhx2 がヒト iPSC からの血液細胞分化を抑制するメカニズムの解明を試みた。

### 2. 研究の目的

HSCは、赤血球や免疫担当細胞を生涯に渡って供給し続ける、生体維持に必要不可欠な組織幹細胞である。我々は、転写制御因子Lhx2を利用して、マウスESC/iPSCから長期骨髄再建能を持つHSC様細胞を大量産生できる*in vitro*培養系の確立に成功した。しかし、Lhx2を使ってもヒトiPSCからHSCを体外産生することはできなかった。本研究では、ヒトiPSCにおいてHSCの分化誘導を阻害しているLhx2の責任領域を、Lhx2融合タンパク質・欠損体・変異体の作出と活性検定によって突き止める。それに基づいて、ヒトiPSCからHSCを分化誘導できるLhx2変異体の創出を試みる。Lhx2に対する応答性をマウスESC/iPSCと比較することを通じて、ヒトのHSC発生制御プログラム的一端を解明することを目指す。

### 3. 研究の方法

#### 細胞培養

臍帯血由来のヒト iPSC 株 SM28 を、2% Growth factor-reduced matrigel (Falcon)でコートした培養皿上で、Penicillin-Streptomycin (PS, Sigma)を添加した mTeSR1 培地 (STEMCELL Technologies)を用いて培養した。マウス ESC 株 A2Lox-cre は、0.1% Gelatin (Sigma)でコートした培養皿上で、15% Knockout™ serum replacement (Gibco-Invitrogen)、1% ES-qualified fetal bovine serum (FBS, Gibco-Invitrogen)、PS、非必須アミノ酸 (Gibco-Invitrogen)、1 mM ピルビン酸ナトリウム (Invitrogen)、100 μM 2-mercaptoethanol (2-ME, Sigma)、ESGro® (10<sup>3</sup> units/mL, Millipore)、3 μM GSK3β inhibitor (CHIR99021, TOCRIS)、1 μM ERK1/2 inhibitor (PD0325901, Wako)を添加した Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM, Sigma)で培養した。OP9 ストロマ細胞は、20% FBS (Invitrogen)、PS、非必須アミノ酸、2 mM L-glutamine (Gibco-Invitrogen)を含む α-MEM (Gibco-Invitrogen)培地を用いて培養した。K562 細胞は、20% FBS、PS、2-ME を含む RPMI-1640 培地(Nacalai tesque)を用いて培養した。293T 細胞は、10% FBS、PS を含む DMEM を用いて培養した。すべての細胞培養は、37 °C、5% CO<sub>2</sub> の条件下で行った。

#### ドキシサイクリン (Dox)誘導性ヒト iPSC 株、およびマウス ESC 株の樹立

Lhx2 発現ヒト iPSC 細胞株 SM-iLhx2 は、親株である SM28 に、Dox 応答因子 reverse tetracycline transactivator (rtTA)と蛍光タンパク質 mCherry を T2A 配列で連結したレンチウイルスベクター pLVCAG-rtTA と、rtTA 制御領域を含む PhCMV\*プロモーター、FLAG タグ付きの Lhx2、IRES 配列、EGFP を連結したレンチウイルスベクター pLVT-Lhx2-EGFP を同時に感染導入することによって樹立した。Lhx2 発現マウス ESC 株 iLhx2-ESC は、Dox の添加によって目的の遺伝子を発現誘導できる A2Lox システムを用いた。親株である A2Lox-cre に、FLAG タグ付きの Lhx2 を挿入した p2Lox ベクターをトランスフェクトし、Cre による相同組換えによって樹立した。

#### ヒト iPSC の分化誘導と遺伝子強制発現

培養中の SM28 の培地を STEMdiff APEL2 (STEMCELL Technologies)に変えた日を分化 0 日目とし、分化 0~1 日目に 5 μM CHIR99021、1~4 日目にヒト Bone Morphogenetic Protein 4 (BMP4, 25 ng/ml; R&D SYSTEMS)、ヒト Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF, 40 ng/ml; Peptotech)を添加した。分化 4 日目に Accumax (Innovative Cell Technologies)処理により細胞を剥がし、Lhx2 および Lhx2 変異体をコードするレンチウイルスベクターを感染させた。これを OP9 ストロマ細胞上にまき、ヒト Interleukin 6 (IL-6, 10 ng/ml; Peptotech)とヒト Stem Cell Factor (SCF, 50 ng/ml; Peptotech)を加えて 11 日目まで分化誘導した。FACS 解析ではまず、分化 11 日目のヒト iPSC を、Accumax 処理により OP9 ストロマ細胞ごと回収した。APC 標識抗ヒト CD43 抗体、PE 標識抗ヒト CD31 抗体、PE/Cy7 標識抗マウス CD51 抗体を用いて染色し、FACS Aria III (BD Biosciences)を用いて血液細胞を解析した。

#### Western blotting 解析

Lhx2 および Lhx2 変異体を強制発現させた細胞から細胞溶解液を調製し、Western blotting 解析を行った。一次抗体として抗 FLAG エピトープ D4DDK 抗体 (Transgenic inc)、抗 Lmo2 抗体

(Abcam)、または抗β-actin 抗体 (Abcam)、二次抗体として抗マウス IgG 抗体 (Abcam)、または抗ラビット IgG 抗体 (Cell signaling)を用いた。ECL prime Western Blotting Detection Reagent (GE Healthcare)を用いて発光させ、ルミノイメージアナライザーLAS-3000 (Fujifilm)を用いて解析した。

#### K562 細胞の増殖抑制解析

培養中の細胞を回収し、Lhx2 および Lhx2 変異体をコードするレトロウイルスベクターを感染させた。3 日後に EYFP 陽性もしくは EGFP 陽性細胞を FACS AriaIII を用いてソートし、12 ウェルプレートに  $1.5 \times 10^4$  個ずつ播き、さらに 3 日後にセルカウントを行った。Lmo2 と共発現させる場合には、培養中の細胞に Lmo2 を強制発現させ、3 日後にソートした EYFP 陽性細胞に Lhx2 および Lhx2 変異体を強制発現させた。

#### マイクロアレイ解析

Lhx2 および Lhx2 変異体を過剰発現させた K562 細胞から RNeasy Mini Kit (QIAGEN)を用いて RNA を抽出し、Agilent Whole Human Genome Ver. 2.0 (4 x 44k type)を用いたマイクロアレイ解析にかけた。

### 4. 研究成果

#### Lhx2 のリン酸化状態は、ヒト iPSC からの血液細胞分化抑制に関与しない

マウス ESC とヒト iPSC に Lhx2 を過剰発現させた場合、2 本のバンドが検出された。マウス ESC ではみかけの分子量が大きい方のバンドが濃いのに対し、ヒト iPSC では薄いことに気が付いた (図 1A)。アルカリフォスファターゼ CIAP で処理すると高分子量側のバンドが消失したことから、このバンドはリン酸化された Lhx2 タンパク質であることが判明した (図 1B)。マウス ESC とヒト iPSC とで Lhx2 の作用が異なるのは、Lhx2 のリン酸化状態の違いに起因する

可能性を考えた。Lhx2 の HD から C 末端側はリン酸化を受けやすいセリン・スレオニンが多く含まれる領域が存在する。この領域がリン酸化されているのではないかと考え、この領域を欠損させた Lhx2 変異体 (Lhx2DC) を作製して、そのリン酸化状態を調べたところ、高分子量側のリン酸化バンドが消失した (図 1B,C)。しかし、Lhx2DC をヒト iPSC に発現させてみたところ、全長 Lhx2 の場合と同様に血液細胞の *in vitro* 分化は抑制された (図 1D)。以上の実験結果は、Lhx2 のリン酸化状態はヒト iPSC からの血液細胞分化抑制に関与していないことを示唆する。

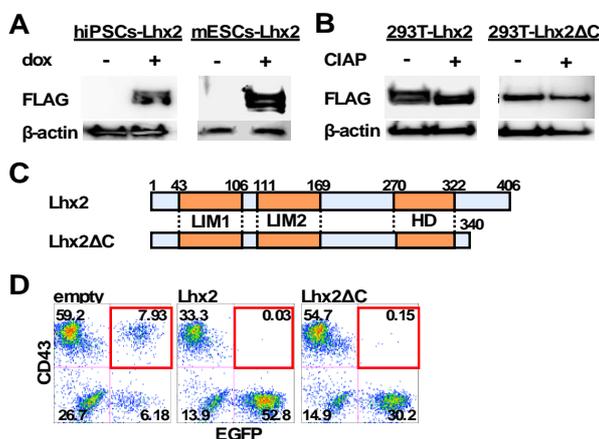


図 1. Lhx2 のリン酸化とヒト iPSC からの血液細胞分化抑制との関係

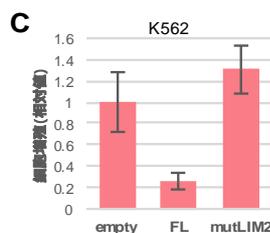
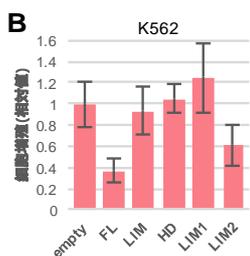
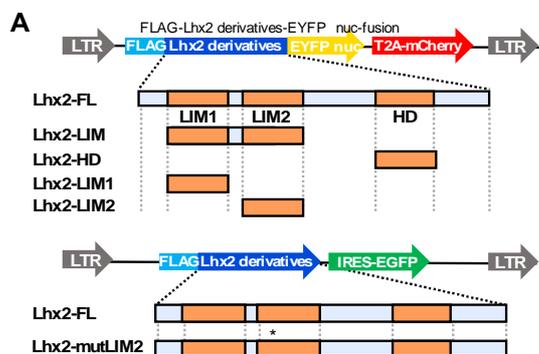
(A) Lhx2 の発現を薬剤誘導できるヒト iPSC とマウス ESC に dox を添加して培養し、24 時間後に細胞を回収して Western blotting を行った。Lhx2 タンパク質の発現には FLAG 抗体を用いた。(B) Lhx2 と Lhx2DC を 293T 細胞にトランスフェクションし、48 時間後に細胞を回収、±CIAP 処理の条件下で Western blotting を行った。(C) Lhx2、Lhx2DC のドメイン構成を模式的に表した。(D) ヒト iPSC の分化誘導 4 日目の時点で、Lhx2 あるいは Lhx2DC を挿入した IRES-EGFP 発現レトロウイルスベクターを感染させた。OP9 細胞上で血液細胞へ分化誘導し、分化 11 日目に FACS 解析を行った。

#### Lhx2 の転写活性化能は、ヒト iPSC からの血液細胞分化抑制に関与しない

Lhx ファミリーの転写因子は、組織や細胞種によって LIM-domain binding (Ldb) タンパク質などと結合し転写活性化因子として働く場合と、RLIM などと結合し転写抑制因子として働く場合とがある。そこで、マウス ESC とヒト iPSC とでは Lhx2 の転写因子としての機能が異なるのではないかと仮説を立てた。まず、Lhx2、Lhx2ΔC、および Lhx2DC に VP16 の転写活性化ドメインを結合した変異体 (Lhx2ΔC-TAD) の転写活性化能を、ルシフェラーゼレポーターアッセイによって調べた。その結果、Lhx2ΔC は転写活性化能をほとんど持っていないのに対し、Lhx2ΔC-TAD は Lhx2 よりも高い転写活性化能を示した。さらに、Lhx2ΔC-TAD をヒト iPSC に発現させてみたところ、全長 Lhx2 の場合と同様に血液細胞の *in vitro* 分化が抑制された。以上の結果から、Lhx2 の転写活性化能には C 末端側のリン酸化が必須であること、そして Lhx2 は転写活性化以外の機能を介してヒト iPSC からの血液細胞分化を抑制していることが示唆された。

#### Lhx2 の LIM2 ドメインは、K562 細胞の増殖を抑制する責任領域である

本研究の過程で、ヒト慢性骨髄性白血病由来細胞株 K562 に Lhx2 を発現させるとその増殖が抑制されることを見出ししていた。そこで、K562 細胞の実験系を利用して、ヒト iPSC における Lhx2 の血液細胞分化抑制に関わる部位の特定を試みた。Lhx2 は、Zn フィンガー様の構造を取って他のタンパク質と結合する 2 つの LIM ドメイン (LIM1, LIM2) と、DNA との結合を担う



HD とを持つ。図 2A に示したベクターを用いて Lhx2 変異体と EYFP nuc の融合タンパク質を K562 細胞に発現させ、Lhx2 変異体による細胞増殖抑制活性を解析した。LIM、HD、LIM1 では K562 細胞の増殖が抑制されなかったのに対し、C末端側の LIM ドメインである LIM2 を過剰発現したとき、全長 Lhx2 の場合と同様に K562 細胞の増殖が抑制された (図 2B)。そこで、Lhx2 の LIM2 ドメインの内 Zn フィンガー様の構造を形成しているヒスチジンをグリシンに置換した Lhx2 変異体 (Lhx2-mutLIM2) を K562 細胞に発現させてみたところ、増殖抑制活性はキャンセルされた (図 2C)。後に述べるが、Western blotting 解析の結果、Lhx2-mutLIM2 タンパク質は全長 Lhx2 よりは少なかったものの確かに発現していた。以上の結果から、Lhx2 の K562 細胞に対する増殖抑制の責任領域は LIM2 ドメインであることが明らかになった。

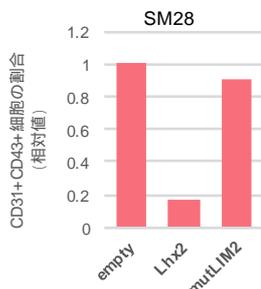
図 2. Lhx2 による K562 細胞の増殖抑制責任領域の同定

(A) Lhx2 変異体発現ベクター、および Lhx2 変異体の構造を模式的に表した。Lhx2-LIM、Lhx2-HD、Lhx2-LIM1、Lhx2-LIM2 は EYFP nuc との融合タンパク質として発現させ、Lhx2-mutLIM2 は IRES 配列で EGFP を結合して発現させた。(B、C) K562 細胞に Lhx2 および Lhx2 変異体を発現させ、3 日後に EYFP 陽性細胞もしくは EGFP 陽性細胞をソートし、さらに 3 日後にセルカウントした結果を示す。グラフは、蛍光タンパク質のみを発現させた K562 の細胞数を 1 とした時の相対値を表す。

### Lhx2 を過剰発現させた K562 細胞で発現変動する遺伝子群

Lhx2 の LIM2 ドメインに何らかのタンパク質が結合することで遺伝子発現に変化が起きていると考え、K562 細胞に EGFP、Lhx2、Lhx2-mutLIM2 をそれぞれ発現させ、Lhx2 を導入したときのみ mRNA 発現レベルが増減する遺伝子をマイクロアレイ解析によって探索した。Lhx2 のみで発現レベルが 10 倍以上上昇した遺伝子は 91 遺伝子、1/4 以下に低下した遺伝子は 179 遺伝子であった。発現上昇した遺伝子にはチロシンリン酸化や細胞外マトリックス形成に関係する遺伝子が多く含まれていた。一方、発現低下した遺伝子の多くは DNA 複製や細胞周期の調節因子であった。

### Lhx2 の LIM2 ドメインはヒト iPSC における血液細胞分化抑制の責任領域である



最後に、ヒト iPSC に mutLIM2 を発現させたところ、K562 細胞の増殖が抑制されなかったのと同様に、ヒト iPSC 細胞でも血液細胞の *in vitro* 分化が抑制されなかった (図 3)。この結果から、Lhx2 の LIM2 ドメインはヒト iPSC における血液細胞分化抑制の責任領域であることが判明した。

図 3. Lhx2-mutLIM2 のヒト iPSC 血液分化に対する影響

ヒト iPSC 細胞の分化誘導 4 日目の時点で、Lhx2 あるいは Lhx2-mutLIM2 を挿入した IRES-EGFP 発現レトロウイルスを感染させた。OP9 細胞上で血液細胞へ分化誘導し、分化 11 日目に FACS 解析を行った。グラフは、EGFP のみを発現させたヒト iPSC 由来 CD31<sup>+</sup>CD43<sup>+</sup>血液細胞の割合を 1 とした時の相対値を表す。

### 考察

本研究では、Lhx2 の過剰発現によってヒト iPSC からの血液細胞分化が抑制されるメカニズムを解析し、最終的に LIM2 ドメインがその役割を担っていることを証明した。まず、Lhx2 の

C 末端領域が転写活性化に必要な領域であること、この領域が血液細胞分化抑制には必須ではないことを発見した。次に、Lhx2 による K562 細胞の増殖抑制の責任領域を探索し、LIM2 ドメインを介したタンパク質との相互作用が重要であることを示した。ヒト iPSC でも同様の結果が得られたことから、K562 細胞株は Lhx2 の作用機序解明に役立つ有用なツールになると考えられる。

K562 細胞のマイクロアレイ解析により、Lhx2 によって DNA 複製や細胞周期に関係する遺伝子の発現が低下していることが明らかになった。このことは、Lhx2 によって細胞増殖が抑制されていることを反映していると考えられる。あるいは、Lhx2 にはヒトの血液細胞や血管内皮細胞を維持する働きがあり、それらの異常増殖や分化を防いでいる可能性もある。興味深いことに、マイクロアレイ解析によって、GFI1B や KLF1 といった造血関連の転写調節因子が Lhx2 によって発現低下していることも判明した。このうち、GFI1B はマウス ESC に Lhx2 を過剰発現させると発現上昇する遺伝子であるが、Lhx2 を過剰発現させた K562 細胞では発現が 1/8 に低下していた。しかし、K562 に Lhx2 と Gfi1b を同時発現させても Lhx2 の増殖抑制活性は解除されなかったことから、この現象には他の Lhx2 エフェクターが関与していると推察される。

## 5 . 主な発表論文等

### [雑誌論文](計 11 件)

M. Nakajima, T. Suzuki, T. Hara, and K. Kitajima. In vitro differentiation of mouse T cell-derived hybrid cells obtained through cell fusion with embryonic stem cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 513: 701-707, 2019. (doi: 10.1016/j.bbrc.2019.04.038) 査読有

H. Tabata, T. Hara, and K. Kitajima. Inhibitory action of an ERK1/2 inhibitor on primitive endoderm cell differentiation from mouse embryonic stem cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 512: 399-404, 2019. (doi: 10.1016/j.bbrc.2019.03.081) 査読有

N. Yokote, M. Y. Suzuki-Kosaka, T. Michiue, T. Hara, and K. Tanegashima. Latrophilin2 is involved in neural crest cell migration and placode patterning in *Xenopus laevis*. *Int. J. Dev. Biol.*, 63: 29-35, 2019. (doi: 10.1387/ijdb.180184kt) 査読有

K. Kitajima, M. Kanokoda, M. Nakajima, and T. Hara. Domain-specific biological functions of the transcription factor Gata2 on hematopoietic differentiation of mouse embryonic stem cells. *Genes Cells*, 23: 753-766, 2018. (doi: 10.1111/gtc.12628) 査読有

K. Tanaka, N. Ikeda, K. Miyashita, H. Nuriya, and T. Hara. DEAD box protein DDX1 promotes colorectal tumorigenesis through transcriptional activation of the *LGR5* gene. *Cancer Sci.*, 109: 2479-2489, 2018. (Published on June 5, 2018 as doi: 10.1111/cas.13661) 査読有

K. Miyashita, K. Kitajima, S. Goyama, T. Kitamura, and T. Hara. Overexpression of Lhx2 suppresses proliferation of human T cell acute lymphoblastic leukemia-derived cells, partly by reducing LMO2 protein levels. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 495: 2310-2316, 2018. (doi: 10.1016/j.bbrc.2017.12.135) 査読有

K. Tanegashima, R. Takahashi, H. Nuriya, R. Iwase, N. Naruse, K. Tsuji, A. Shigenaga, A. Otaka, and T. Hara. CXCL14 acts as a specific carrier of CpG DNA into dendritic cells and activates Toll-like receptor 9-mediated adaptive immunity. *EBioMed.*, 24: 247-256, 2017. (doi: 10.1016/j.ebiom.2017.09.012) 査読有

K. Tanegashima, Y. Sato-Miyata, M. Funakoshi, Y. Nishito, T. Aigaki, and T. Hara. Epigenetic regulation of the glucose transporter gene *Slc2a1* by  $\beta$ -hydroxybutyrate underlies preferential glucose supply to the brain of fasted mice. *Genes Cells*, 22: 71-83, 2017. (doi: 10.1111/gtc.12456) 査読有

T. Suzuki, Y. Kazuki, M. Oshimura, and T. Hara. Highly efficient transfer of chromosomes to a broad range of target cells using Chinese hamster ovary cells expressing murine leukemia virus-derived envelope proteins. *PLoS ONE*, 11: e0157187, 2016. (doi: 10.1371/journal.pone.0157187) 査読有

M. Kawaguchi, K. Kitajima, M. Kanokoda, H. Suzuki, K. Miyashita, M. Nakajima, H. Nuriya, K. Kasahara, and T. Hara. Efficient production of platelets from mouse embryonic stem cells by enforced expression of Gata2 in late hemogenic endothelial cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 474: 462-468, 2016. (doi: 10.1016/j.bbrc.2016.04.140) 査読有

K. Kitajima, M. Nakajima, M. Kanokoda, M. Kyba, A. Dandapat, J. Tolar, M. K. Saito, M. Toyoda, A. Umezawa, and T. Hara. GSK3 $\beta$  inhibition activates the CDX/HOX pathway and promotes hemogenic endothelial progenitor differentiation from human pluripotent stem cells. *Exp. Hematol.*, 44: 68-74, 2016. (doi: 10.1016/j.exphem.2015.09.007) 査読有

### [学会発表](計 19 件)

T. Hara. Multiple functions of CXCL14 in the CpG DNA transport into dendritic cells/macrophages for modulating Toll-like receptor 9 signaling. 第 47 回日本免疫学会学術集会, 2018. 口頭発表

北島健二, 原 孝彦. 転写因子 Gata2 の赤血球巨核球誘導ドメインの同定. 第 41 回日本分子生物学会年会, 2018.

鈴木輝彦, 原 孝彦. DDX1 の欠損は p53 経路を介してマウス胚性幹細胞の増殖を抑制する. 第 41 回日本分子生物学会年会, 2018.

田畑陽美, 北島健二, 原孝彦. 転写因子 Gata4 によるマウス ES 細胞から原始内胚葉系細胞への分化誘導メカニズム. 第 41 回日本分子生物学会年会, 2018.

三井貴洋, 種子島幸祐, 成瀬公人, 重永章, 大高章, 原孝彦. CpG DNA/CXCL14 複合体に対する候補受容体の発現クロニング. 第 41 回日本分子生物学会年会, 2018.

岩瀬璃奈, 成瀬公人, 種子島幸祐, 重永章, 大高章, 原孝彦. CXCL14 と CpG DNA の相互作用による TLR9 活性化の特異性と責任領域の解析. 第 41 回日本分子生物学会年会, 2018.

八木拓哉, 鉢呂佳史, 吉田千紘, 西藤泰昌, 武智あづさ, 宮下和也, 牧昌次郎, 原孝彦. 急性 T リンパ芽球性白血病細胞の増殖を特異的に抑える化合物の標的分子探索. 第 41 回日本分子生物学会年会, 2018.

武智あづさ, 大沼康平, 種子島幸祐, 相垣敏郎, 西藤泰昌, 原孝彦. 寿命死直前のショウジョウバエで発現変動する遺伝子群の同定. 第 41 回日本分子生物学会年会, 2018.11.28-30, 横浜.

原孝彦. 急性 T リンパ芽球性白血病 T-ALL に対する新しい治療薬の開発研究. 平成 29 年度老年者造血器疾患研究会, 2017. 招待講演

北島健二, 鹿子田真衣, 原孝彦. マウス ES 細胞から血液細胞への分化における転写因子 Gata2 のドメイン特異的な機能. 第 40 回日本分子生物学会年会 ConBio2017, 2017.

鈴木輝彦, 田中貴代子, 原孝彦. 新しいゲノム編集技術による Ddx1 遺伝子のコンディショナルノックアウト. 第 40 回日本分子生物学会年会 ConBio2017, 2017.

池田成海, 田中貴代子, 原孝彦. DDX1 過剰発現と PTPN23 欠損による精巣腫瘍発症モデル. 第 40 回日本分子生物学会年会 ConBio2017, 2017.

中曽根茉季, 鈴木輝彦, 三浦恭子, 原孝彦. ハダカデバネズミ皮膚線維芽細胞株の樹立とゲノム編集. 第 40 回日本分子生物学会年会 ConBio2017, 2017.

高橋佑奈, 北島健二, 原孝彦. ヒト iPS 細胞の血液細胞分化に対する LIM ホメオドメイン転写因子 Lhx2 の機能. 第 40 回日本分子生物学会年会 ConBio2017, 2017.

T. Hara, K. Tanegashima, R. Takahashi, H. Nuriya, N. Naruse, K. Tsuji, A. Shigenaga, and A. Otaka. A Novel Function of a CXC-type Chemokine CXCL14 as a Specific Carrier of CpG DNA into Dendritic Cells for Activating Toll-like Receptor 9-mediated Adaptive Immunity. 58<sup>th</sup> ASH (American Society of Hematology) Annual Meeting and Exposition, 2016. Oral presentation

K. Miyashita, N. Kagaya, M. Izumikawa, K. Kitajima, K. Watakabe-Inamoto, Y. Najima, N. Doki, T. Kobayashi, K. Kakihana, S. Goyama, T. Kitamura, K. Ohashi, K. Shin-ya, and T. Hara. Growth Suppressing Activity of Lhx2 in Human T Cell Acute Lymphoblastic Leukemia (T-ALL)-derived Cells and Large-scale Screening of Lead Compounds Targeting T-ALL. 58<sup>th</sup> ASH (American Society of Hematology) Annual Meeting and Exposition, 2016.

種子島幸祐, 高橋佑奈, 塗屋秀子, 成瀬公人, 辻耕平, 重永章, 大高章, 原孝彦. CXC ケモカイン CXCL14 は CpG DNA に結合し、Toll-like receptor 9 シグナルを活性化する. 第 39 回日本分子生物学会年会, 2016.

宮下和也, 加賀谷紀貴, 泉川美穂, 稲本恭子, 名島悠峰, 土岐典子, 小林武, 垣花和彦, 合山進, 北村俊雄, 大橋一輝, 新家一男, 原孝彦. 急性 T リンパ芽球性白血病を標的としたリード化合物の探索. 第 39 回日本分子生物学会年会, 2016.

K. Tanegashima, R. Takahashi, H. Nuriya, K. Tsuji, A. Shigenaga, A. Otaka, and T. Hara. A CXC type chemokine CXCL14 directly binds to CpG-C DNA to activate Toll-like receptor 9 signaling. Keystone Symposia on Molecular and Cellular Biology-Nucleic Acid Sensing Pathways: Innate Immunity, Immunobiology and Therapeutics, 2016.

[ その他 ]

ホームページ等

<http://www.igakuken.or.jp/stem-cell/>

## 6 . 研究組織

### (1)研究分担者

研究分担者氏名：北島 健二

ローマ字氏名：Kitajima, kenji

所属研究機関名：公益財団法人東京都医学総合研究所

部局名：生体分子先端研究分野

職名：主席研究員

研究者番号：10346132

### (2)研究協力者

研究協力者氏名：高橋 佑奈

ローマ字氏名：Takahashi, yuna