

平成 22 年 5 月 31 日現在

研究種目：特定領域研究

研究期間：2005～2009

課題番号：17016067

研究課題名（和文）アデノ随伴ウイルスベクターの開発とそのがん治療への応用

研究課題名（英文）Development of AAV (adeno-associated virus) vectors and their application to cancer therapy

研究代表者

小澤 敬也 (OZAWA KEIYA)

自治医科大学・医学部・教授

研究者番号：30137707

研究成果の概要（和文）：

A) アデノ随伴ウイルス（AAV）ベクターを用いた癌遺伝子治療法の開発：

1) バキュロウイルスを利用した AAV ベクター作製法の改良：大容量の AAV ベクターを作製し、そこから効率良く空ベクターを除くカラムクロマトグラフ法を確立した。p5 プロモーター配列を AAV ベクターのトランスジーンに付加すると AAV ベクターの産生量が増加することが分かった。

2) AAV ベクターの改変に関する基礎検討：血清型 5 型 AAV ベクターのキャプシドの構成蛋白質の一つである VP1 の一部を 2 型の対応する部分に置き換えたキメラ AAV ベクターでは VP1 の含量が増加し、また 5 型 AAV ベクターと同様の性状を保っていた。

3) AAV ベクターを用いた遺伝子導入法／遺伝子発現制御法に関する基礎検討：AAV ベクターを用いて骨格筋、肝臓、脂肪、腹膜などの標的組織に遺伝子導入する方法を確立した。遺伝子発現の増強については、ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤の併用効果を認めた。

4) AAV ベクターを用いた癌に対する遺伝子治療ストラテジーの検討：血行性・リンパ行性転移及び腹膜播種など治療困難な病態に対する遺伝子治療法の開発を行い、モデル動物において効果を示した。

B) 癌に対する新しい遺伝子治療ストラテジーの探索：難治性悪性リンパ腫（B 細胞性非ホジキンリンパ腫）の治療のため、CD19 を認識するキメラ抗原受容体発現 T 細胞を用いた強化養子免疫遺伝子療法の開発を試みた。その結果、遺伝子改変 T 細胞が CD19 陽性 B リンパ腫細胞を効率よく殺傷することを試験管内で明らかにした。

研究成果の概要（英文）：

A) Development of AAV (adeno-associated virus)-mediated cancer gene therapy:

1) Establishment of AAV vector production system using baculovirus expression vectors: AAV vectors were efficiently produced in insect cells. We developed a column chromatographic method to isolate AAV vector particles from empty capsids, which can be adaptable to large-scale production of AAV vectors. Incorporation of the AAV p5 promoter into a transgene sequence increased the efficiency of AAV vector production.

2) Basic studies of the modification of AAV vectors: Chimeric type 5 AAV vectors with type 2 VP1 had a larger amount of VP1 in their capsids and transduced target cells in a similar manner with parent type 5 AAV vectors.

3) Basic studies of AAV vector-mediated gene transfer and the regulation of transgene expression: We established standard methods of gene transfer into muscle, liver, adipose tissue and peritoneum. A

histone deacetylase inhibitor enhanced AAV vector-mediated transgene expression in tumor cells.

4) Examination of strategies for cancer gene therapy using AAV vectors: We conducted gene therapy experiments for refractory cancers (e.g. hematogenous and/or lymphogenous metastasis, and peritoneal dissemination) and showed therapeutic efficacy in tumor-bearing animals.

B) Research on novel strategies for cancer gene therapy: For the treatment of refractory malignant lymphoma (B-cell non-Hodgkin lymphoma), we conducted experiments to develop a novel reinforced adoptive immuno-gene therapy using T-cells expressing a CAR (chimeric antigen receptor) targeting CD19. We demonstrated that genetically engineered T-cells efficiently lysed CD19-positive B-cell lymphoma cells *in vitro*.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2005年度	13,400,000	0	13,400,000
2006年度	13,400,000	0	13,400,000
2007年度	13,400,000	0	13,400,000
2008年度	13,400,000	0	13,400,000
2009年度	13,400,000	0	13,400,000
総計	67,000,000	0	67,000,000

研究分野：がん研究

科研費の分科・細目：腫瘍学・臨床腫瘍学

キーワード：遺伝子、ウイルス、癌、バイオテクノロジー、遺伝子治療

1. 研究開始当初の背景

A) アデノ随伴ウイルス (AAV: adeno-associated virus) ベクターを用いた癌遺伝子治療法の開発：

1) バキュロウイルスを利用した AAV ベクター作製法の改良：AAV ベクターの実用化を進める上で、その作製効率の改善と治療用遺伝子を含まない空ベクターの除去法の開発が重要課題となっていた。AAV の p5 プロモーター領域にベクターの殻であるキャプシドへのトランスジーンのパッケージングを促進する配列が存在すると仮定し、この配列を付加し AAV ベクターの産生効率の改善を検討することとした。

2) AAV ベクターの改変に関する基礎検討：細胞内に侵入した AAV ベクターは長期間核周囲に止まっていると想定されており、核内にすみやかに移行させることが遺伝子発現の増強に繋がるものと考えられた。そこで、細胞内での AAV ベクターの動態に焦点を当てたベクター改変を試みることにした。

3) AAV ベクターを用いた遺伝子導入法／遺伝子発現制御法に関する基礎検討：AAV ベク

ターの様々な血清型が見出されていたが、組織特異性などに関しては余り明らかにされておらず、標的組織に応じたベクターのデザインを明らかにすると共に投与法、発現制御法などを解明する必要があった。

4) AAV ベクターを用いた癌に対する遺伝子治療ストラテジーの検討：AAV ベクターの特性を生かした治療法として、血行性・リンパ行性転移及び腹膜播種などが有力な対象と考えられており、これらに対する治療法の開発が望まれていた。

B) 癌に対する新しい遺伝子治療ストラテジーの探索：難治性悪性リンパ腫 (B 細胞性非ホジキンリンパ腫) は増加傾向にあり、再発・難治例も少なくない。そこで、遺伝子操作により腫瘍標的化能を付加した T 細胞を用いた新たな免疫遺伝子療法の開発を計画した。世界的にもこの方向の研究が活発化してきており、最終年度にこの研究テーマを追いか

2. 研究の目的

A) AAV ベクターを用いた癌遺伝子治療法の

開発：

1) バキュロウイルスを利用した AAV ベクター作製法の改良：バキュロウイルスと昆虫細胞を利用して、AAV ベクターを効率よく大量作製するシステムの確立を目指す。さらに、空ベクターを除去する方法を開発する。

2) AAV ベクターの改変に関する基礎検討：AAV の VP1 は phospholipase A2 (PLA2) 様の酵素活性を持ち、ウイルス粒子が細胞に感染し核に移行するまでのステップで機能していると考えられる。そこで、AAV ベクター粒子の VP1 含量を増加させるため、5 型 AAV ベクターの VP1 の一部を 2 型に置き換えたキメラベクターを作製する。また、PLA 活性がより高いブタパルボウイルスの VP1 相当部位と置換する検討を行う。AAV ベクターの核内移行を促進させるため、SV40 の核移行シグナル (NLS)、もしくは細胞外シグナル制御キナーゼ (ERK) のリン酸化依存性 NLS 配列を VP1 に組み込んで解析する。

3) AAV ベクターを用いた遺伝子導入法／遺伝子発現制御法に関する基礎検討：骨格筋、肝臓、脂肪、腹膜などの標的組織に対する遺伝子導入法を確立し、治療法開発に役立てる。また、AAV ベクターで導入した遺伝子の発現を増強するため、ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤の作用を検討する。

4) AAV ベクターを用いた癌に対する遺伝子治療戦略の検討：AAV ベクターは抗腫瘍血管療法への応用に適している。血行性・リンパ行性転移及び腹膜播種など、従来の治療法では治療困難な病態に対する遺伝子治療法の開発を目指し、動物モデルを用いた基礎研究を行う。

B) 癌に対する新しい遺伝子治療戦略の探索：難治性 B 細胞性非ホジキンリンパ腫の新たな治療戦略として、CD19 を認識するキメラ抗原受容体を発現させた T 細胞を増幅させて輸注する強化養子免疫遺伝子療法の開発研究を行う。

### 3. 研究の方法

A) AAV ベクターを用いた癌遺伝子治療法の開発：

1) バキュロウイルスを利用した AAV ベクター作製法の改良：p5 プロモーター配列を AAV ベクターゲノムの各エレメントの間に

挿入したものを作製し、AAV ベクター産生量を検討した。また、Rep78 と Rep52 以外に Rep68、Rep40 を用いた場合、及び Rep78、Rep68、Rep52、Rep40 すべてを発現させた場合の AAV ベクター産生量を解析した。空ベクター除去法については、イオン強度の低い種々のバッファーと高分解能の陰イオン交換カラムを用いて検討した。

2) AAV ベクターの改変に関する基礎検討：5 型 VP1 の N 末端から徐々に 2 型の対応する配列に置換し、ベクター産生効率を解析した。同様に、2 型 VP1 を徐々にブタパルボウイルスの相当部分に置換し解析した。VP1 のドメインで比較的自由度の高い部分に SV40 もしくは ERK の NLS を組み込んだ AAV ベクターを作製し、野生型ベクターと比較した。

3) AAV ベクターを用いた遺伝子導入法／遺伝子発現制御法に関する基礎検討：各血清型の AAV ベクター作製システムを準備し、各々の標的組織特異性を解析すると共に、導入遺伝子の十分な発現が得られる条件を確立した。また、ヒトへのベクター投与に際してはキャプシドに対する中和抗体の評価が重要であることから、測定系を確立・改良し、サルにおける陽性率を検討した。導入遺伝子の発現増強を目的とした実験では、ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤 FK228 を用い、その効果と作用機序を腫瘍細胞の系で検討した。

4) AAV ベクターを用いた癌に対する遺伝子治療戦略の検討：血行性・リンパ行性転移に対する治療法開発として骨格筋への遺伝子導入に基づく治療法の有用性を、卵巣癌播種への対策として腹膜への遺伝子導入法につき検討した。

B) 癌に対する新しい遺伝子治療戦略の探索：

1) 健康人末梢血 T 細胞へのキメラ抗原受容体遺伝子の導入：末梢血 T 細胞を抗 CD3 抗体およびレトロネクチンで活性化し、CD19 に対するキメラ抗原受容体 (抗 CD19 抗体、CD28、T 細胞受容体 CD3 $\zeta$  から構成される) 遺伝子をレトロウイルスベクターにより導入した。

2) 遺伝子改変 T 細胞の選択的な増幅：遺伝子改変 T 細胞を抗原特異的に *ex vivo* で増幅させるため、CD19 を強制発現させたマウス線維芽細胞 (NIH3T3) と共培養を行った。

3) 遺伝子改変 T 細胞の抗腫瘍効果 (*in vitro*)：遺伝子改変 T 細胞の細胞障害活性は、CD19

陽性バーキットリンパ腫細胞 (Raji, Daudi) を標的として解析した。

#### 4. 研究成果

A) AAV ベクターを用いた癌遺伝子治療法の開発:

1) バキュロウイルスを利用した AAV ベクター作製法の改良: p5 プロモーター配列を CMV プロモーターの上流または下流に正方向で挿入した時に、AAV ベクター産生量が 2 倍程度増加した。Rep の組み合わせの検討では、バキュロウイルスを用いた作製法では Rep78 と Rep52 の組み合わせが一番良かった。空ベクターの除去に関する研究では、硫酸テトラメチルアンモニウムを溶質液として組み合わせることにより、AAV ベクターと空ベクターを分離できる条件を見出した。メンブラン法により空ベクターを分離除去できる簡易法についても開発することができた。

2) AAV ベクターの改変に関する基礎検討: 2 型の VP1 に置き換えた 5 型キメラ AAV ベクターでは、キャプシドでの VP1 の含量が有意に増加した。また、キメラ AAV ベクターは 5 型 AAV ベクターと同程度産生された。ブタパルボウイルスに置換した 2 型キメラ AAV ベクターは、2 型 AAV ベクターと同程度産されたが、293 細胞に感染させると導入遺伝子は発現しなかった。一方、2 型 AAV の VP1 に SV40 の NLS を組み込んだものではキャプシドが形成されなかった。ERK の NLS を組み込んだものでは、AAV ベクターは形成されるものの、導入遺伝子の発現は野生型 AAV ベクターと変わらなかった。

3) AAV ベクターを用いた遺伝子導入法/遺伝子発現制御法に関する基礎検討: 骨格筋、肝臓、脂肪、腹膜のそれぞれに対して最適な血清型が明らかとなった。また、血管内へのベクター投与においては、中和抗体が検出可能なレベルにあれば導入遺伝子の発現は認められないことが明らかとなり、ヒトにおいてもこの見地から対象を選定する必要性が示唆された。AAV ベクターで導入した遺伝子の発現を増強させる方法では、ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤 FK228 の併用効果が認められた。

4) AAV ベクターを用いた癌に対する遺伝子治療戦略の検討: HGF-NK4, PTEN を発現させることで抗腫瘍効果が得られることを見出した。また、血行性転移に対して

は IL-10 や sFlt-1 を搭載した AAV ベクターを筋肉内投与することで、担癌モデルマウスにおける治療効果を示すことができた。リンパ行性転移に関しては、VEGF-C 阻害活性のある sFlt-4 を搭載した AAV ベクターを筋肉内投与することで治療効果を認めた。

B) 癌に対する新しい遺伝子治療戦略の探索: キメラ抗原受容体発現 T 細胞を用いた悪性 B リンパ腫に対する養子免疫遺伝子治療の開発のための基礎検討を行った。CD19 を標的とした遺伝子改変 T 細胞を選択的に *ex vivo* で増幅させるため、CD19 発現 NIH3T3 細胞による抗原刺激を行ったところ、遺伝子改変 T 細胞は 3 週間の培養で約 1,000 倍まで増幅した。この遺伝子改変 T 細胞は、CD19 陽性の Raji や Daudi 細胞を効率よく試験管内で殺傷した。

#### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 50 件; 主なものは下記の通り)

1. Sato, K., Date, S., Aoyagi, Y., Kasahara, Y., Nawa, A., Mizukami, H., Hidema, S., Ozawa, K., Nishimori, K.: Generation of adeno-associated virus vector enabling functional expression of oxytocin receptor and fluorescence marker genes using the human eIF4G internal ribosome entry site element. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 査読有 73(9): 2145-2148, 2009.
2. Ito, T., Yamamoto, S., Hayashi, T., Kodera, M., Mizukami, H., Ozawa, K., and Muramatsu, S.: A convenient enzyme-linked immunosorbent assay for rapid screening of anti-adeno-associated virus neutralizing antibodies. *Ann. Clin. Biochem.* 査読有 46(Pt6): 508-510, 2009.
3. Okada, T., Nonaka-Sarukawa, M., Uchibori, R., Kinoshita, K., Hayashita-Kinoh, H., Nitahara-Kasahara, Y., Takeda, S., and Ozawa, K.: Scalable purification of adeno-associated virus serotype 1 (AAV1) and AAV8 vectors, using dual ion-exchange adsorptive membranes. *Hum. Gene Ther.* 査読有 20(9): 1013-1021, 2009.
4. Uchibori, R., Okada, T., Ito, T., Urabe, M., Mizukami, H., Kume, A., and Ozawa, K.: Retroviral vector-producing mesenchymal stem cells for targeted suicide cancer gene therapy. *J. Gene Med.* 査読有 11: 373-381, 2009.
5. Nomoto, T., Okada, T., Shimazaki, K., Yoshioka, T., Nonaka-Sarukawa, M., Ito, T., Takeuchi, K., Katsura, K.I., Mizukami, H.,

- Kume, A., Ookawara, S., Ikeda, U., Katayama, Y., and Ozawa, K.: Systemic delivery of IL-10 by an AAV vector prevents vascular remodeling and end-organ damage in stroke-prone spontaneously hypertensive rat. *Gene Ther.* 査読有 16(3): 383-91, 2009.
6. Takei, Y., Saga, Y., Mizukami, H., Takayama, T., Ohwada, M., Ozawa, K., and Suzuki, M.: Overexpression of PTEN in ovarian cancer cells suppresses i.p. dissemination and extends survival in mice. *Mol. Cancer Ther.* 査読有 7(3): 704-711, 2008.
7. Nonaka-Sarukawa, M., Okada, T., Ito, T., Yamamoto, K., Yoshioka, T., Nomoto, T., Hojo, Y., Shimpo, M., Urabe, M., Mizukami, H., Kume, A., Ikeda, U., Shimada, K., and Ozawa, K.: Adeno-associated virus vector-mediated systemic interleukin-10 expression ameliorates hypertensive organ damage in Dahl salt-sensitive rats. *J Gene Med.* 査読有 10(4): 368-374, 2008.
8. Liu, Y., Okada, T., Shimazaki, K., Sheykholeslami, K., Nomoto, T., Muramatsu, S., Mizukami, H., Kume, A., Xiao, S., Ichimura, K., and Ozawa, K.: Protection against aminoglycoside-induced ototoxicity by regulated AAV vector-mediated GDNF gene transfer into the cochlea. *Mol. Ther.* 査読有 16(3): 474-480, 2008.
9. Ito, T., Okada, T., Miyashita, H., Nomoto, T., Nonaka-Sarukawa, M., Uchibori, R., Maeda, Y., Urabe, M., Mizukami, H., Kume, A., Takahashi, M., Ikeda, U., Shimada, K., and Ozawa, K.: Interleukin-10 expression mediated by an adeno-associated virus vector prevents monocrotaline-induced pulmonary arterial hypertension in rats. *Circ. Res.* 査読有 101: 734-741, 2007.
10. Ito, T., Okada, T., Mimuro, J., Miyashita, H., Uchibori, R., Urabe, M., Mizukami, H., Kume, A., Takahashi, M., Ikeda, U., Sakata, Y., Shimada, K., and Ozawa, K.: Adeno-associated virus-mediated prostacyclin synthase expression prevents pulmonary arterial hypertension in rats. *Hypertension* 査読有 50: 531-536, 2007.
11. Fujiwara, S., Yamashita, Y., Choi, Y.L., Watanabe, H., Kurashina, K., Soda, M., Enomoto, M., Hatanaka, H., Takada, S., Ozawa, K., and Mano, H.: Transforming activity of purinergic receptor P2Y<sub>6</sub> G protein coupled, revealed by retroviral expression screening. *Leuk. Lymphoma.* 査読有 48: 978-986, 2007.
12. Oh, I., Ozaki, K., Sato, K., Meguro, A., Tatara, R., Hatanaka, K., Nagai, T., Muroi, K., Ozawa, K.: Interferon-gamma and NF-kappaB mediate nitric oxide production by mesenchymal stromal cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 査読有 355: 956-962, 2007.
13. Ideno, J., Mizukami, H., Kakehashi, A., Saito, Y., Okada, T., Urabe, M., Kume, A., Kuroki, M., Kawakami, M., Ishibashi, S., and Ozawa, K.: Prevention of diabetic retinopathy by intraocular soluble Flt-1 gene transfer in a spontaneously diabetic rat model. *Int. J. Mol. Med.* 査読有 19: 75-79, 2007.
14. Sato, K., Ozaki, K., Oh, I., Meguro, A., Hatanaka, K., Nagai, T., Muroi, K., and Ozawa, K.: Nitric oxide plays a critical role in suppression of T cell proliferation by mesenchymal stem cells. *Blood* 査読有 109: 228-234, 2007.
15. Takei, Y., Mizukami, H., Saga, Y., Yoshimura, I., Hasumi, Y., Takayama, T., Kohno, T., Matsushita, T., Okada, T., Kume, A., Suzuki, M., and Ozawa, K.: Suppression of ovarian cancer by muscle-mediated expression of soluble VEGFR-1/Flt-1 using adeno-associated virus serotype 1-derived vector. *Int. J. Cancer* 査読有 120: 278-284, 2006.
16. Mizukami, H., Mimuro, J., Ogura, T., Okada, T., Urabe, M., Kume, A., Sakata, Y., and Ozawa, K.: Adipose tissue as a novel target for in vivo gene transfer by adeno-associated viral vectors. *Hum. Gene Ther.* 査読有 17: 921-928, 2006.
17. Ishiwata, A., Mimuro, J., Kashiwakura, Y., Niimura, M., Takano, K., Ohmori, T., Madoiwa, S., Mizukami, H., Okada, T., Naka, H., Yoshioka, A., Ozawa, K., and Sakata, Y.: Phenotype correction of hemophilia A mice with adeno-associated virus vectors carrying the B domain-deleted canine factor VIII gene. *Thromb. Res.* 査読有 118: 627-635, 2006.
18. Ogura, T., Mizukami, H., Mimuro, J., Madoiwa, S., Okada, T., Matsushita, T., Urabe, M., Kume, A., Hamada, H., Yoshikawa, H., Sakata, Y., and Ozawa, K.: Utility of intraperitoneal administration as a route of AAV serotype 5 vector-mediated neonatal gene transfer. *J. Gene Med.* 査読有 8: 990-997, 2006.
19. Machida, Y., Okada, T., Kurosawa, M., Oyama, F., Ozawa, K., and Nukina, N.: rAAV-mediated shRNA ameliorated

- neuropathology in Huntington disease model mouse. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 査読有 343: 190-197, 2006.
20. Urabe, M., Xin, K.Q., Obara, Y., Nakakura, T., Mizukami, H., Kume, A., Okuda, K., Ozawa, K.: Removal of empty capsids from type 1 adeno-associated virus vector stocks by anion-exchange chromatography potentiates transgene expression. *Mol. Ther.* 査読有 13: 823-828, 2006.
21. Urabe, M., Nakakura, T., Xin, K.Q., Obara, Y., Mizukami, H., Kume, A., Kotin, R.M., and Ozawa, K.: Scalable generation of high-titer recombinant adeno-associated virus type 5 in insect cells. *J. Virol.* 査読有 80: 1874-1885, 2006.
22. Okada, T., Uchibori, R., Iwata-Okada, M., Takahashi, M., Nomoto, T., Nonaka-Sarukawa, M., Ito, T., Liu, Y., Mizukami, H., Kume, A., Kobayashi, E., and Ozawa, K.: A histone deacetylase inhibitor enhances recombinant adeno-associated virus-mediated gene expression in tumor cells. *Mol. Ther.* 査読有 13: 738-746, 2006.
23. Li, X.G., Okada, T., Kodera, M., Nara, Y., Takino, N., Muramatsu, C., Ikeguchi, K., Urano, F., Ichinose, H., Metzger, D., Chambon, P., Nakano, I., Ozawa, K., and Muramatsu, S.: Viral-mediated temporally controlled dopamine production in a rat model of Parkinson disease. *Mol. Ther.* 査読有 13: 160-166, 2006.
24. Fujiwara, S., Yamashita, Y., Choin Y.L., Wada, T., Kaneda, R., Takada, S., Maruyama, Y., Ozawa, K., and Mano, H.: Transforming activity of the lymphotoxin-beta receptor revealed by expression screening. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 査読有 338: 1256-1262, 2005.
25. Okada, T., Nomoto, T., Yoshioka, T., Nonaka-Sarukawa, M., Ito, T., Ogura, T., Iwata-Okada, M., Uchibori, R., Shimazaki, K., Mizukami, H., Kume, A., and Ozawa, K.: Large-scale production of recombinant viruses by use of a large culture vessel with active gassing. *Hum. Gene Ther.* 査読有 16: 1212-1218, 2005.
26. Liu, Y., Okada, T., Sheykholeslami, K., Shimazaki, K., Nomoto, T., Muramatsu, S., Kanazawa, T., Takeuchi, K., Ajalli, R., Mizukami, H., Kume, A., Ichimura, K., and Ozawa, K.: Specific and efficient transduction of cochlear inner hair cells with recombinant adeno-associated virus type 3 vector. *Mol. Ther.* 査読有 12: 725-733, 2005.
27. Yokoo, N., Saito, T., Uesugi, M., Kobayashi, N., Xin, K.Q., Okuda, K., Mizukami, H., Ozawa, K., and Koshino, T.: Repair of articular cartilage defect by autologous transplantation of basic fibroblast growth factor gene-transduced chondrocytes with adeno-associated virus vector. *Arthritis Rheum.* 査読有 52: 164-170, 2005.
28. Sasaki, K., Inoue, M., Shibata, H., Ueda, Y., Muramatsu, S., Okada, T., Hasegawa, M., Ozawa, K., and Hanazono, Y.: Efficient and stable Sendai virus-mediated gene transfer into primate embryonic stem cells with pluripotency preserved. *Gene Ther.* 査読有 12: 203-210, 2005.

[学会発表] (計 67 件)

[図書] (計 1 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

特になし。

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

小澤 敬也 (OZAWA KEIYA)

自治医科大学・医学部・教授

研究者番号: 30137707

### (2) 研究分担者

水上 浩明 (MIZUKAMI HOROAKI)

自治医科大学・医学部・講師

研究者番号: 20311938

卜部 匡司 (URABE MASASHI)

自治医科大学・医学部・講師

研究者番号: 40213516

松下 卓 (MATSUSHITA TAKASHI)

自治医科大学・医学部・助教

研究者番号: 20343444

岡田 尚巳 (OKADA TAKASHI)

自治医科大学・医学部・講師

研究者番号: 00326828

塚原 智典 (TSUKAHARA TOMONORI)

自治医科大学・医学部・助教

研究者番号: 10362120