

様式 C-19

科学研究費補助金研究成果報告書

平成 22 年 5 月 18 日現在

研究種目：基盤研究（S）

研究期間：2007～2009

課題番号：19109006

研究課題名（和文） ヒト ES 細胞の増殖分化機構の解明とその臨床応用に向けた基盤技術開発

研究課題名（英文） Analysis of proliferation and differentiation of human embryonic stem cells and research for clinical application

研究代表者

中畑 龍俊 (NAKAHATA TATSUTOSHI)

京都大学・物質-細胞統合システム拠点・特定拠点教授

研究者番号：20110744

研究成果の概要（和文）：ヒト ES 細胞の至適な培養法、組織幹細胞誘導法、in vivo 同定法の確立を目指して研究した。ヒト ES 細胞から血液細胞、血管内皮細胞、へマンジオブラストの培養が可能となった。ES 細胞からサテライト細胞、骨格筋細胞を誘導することに世界で初めて成功した。ヒト ES 細胞からの心筋細胞への分化系を確立した。NOG マウスを用いたヒト幹細胞の測定系を確立した。ES 細胞研究から得られた成果は、iPS 細胞研究へも応用できることが明らかとなった。

研究成果の概要（英文）：

We attempt to discover the culture system for generation of desired lineage-specific stem cells from human ES cells and succeeded in generating progenitor cells for hematopoietic cells, endothelial cells, skeletal muscle, cardiomyocytes and neural cells.

VEGFR-2(+) CD34(+) cells are identified as a candidate of primate hemangioblasts. We established a novel protocol to derive myogenic precursors from murine ES/iPS cells with a monoclonal antibody SM/C-2.6 that recognizes quiescent satellite cells. SM/C-2.6-positive cells are highly myogenic and efficiently differentiate into myofibers both in vitro and in vivo. We recently developed culture system for skeletal muscle cells from human ES cells.

Recently, we developed an excellent humanized model mouse, NOG mouse, in which successful engraftment was achieved even if small number of CD34⁺ cells were transplanted into the mice. In this study we confirmed that NOG mouse was useful for evaluation of ES/iPS cell-derived tissue specific stem cells.

交付決定額

(金額単位：円)

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|-------|------------|------------|-------------|
| 19 年度 | 39,200,000 | 11,760,000 | 50,960,000 |
| 20 年度 | 25,300,000 | 7,590,000 | 32,890,000 |
| 21 年度 | 19,500,000 | 5,850,000 | 25,350,000 |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 総計 | 84,000,000 | 25,200,000 | 109,200,000 |

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・小児科学

キーワード：ES 細胞・ヒト・再生医療・幹細胞・NOG マウス

1. 研究開始当初の背景

ヒトES細胞は自己複製能とあらゆる細胞への多分化能を有している。再生医療を視野に入れた研究が欧米を中心に爆発的に展開されているが、まだヒトES細胞から特定の組織幹細胞だけを作成した研究は報告されていない。本研究の成果は、将来のヒトES細胞を用いた安全で有効な再生医療の基盤技術開発にとどまらず、ヒトにおける組織発生、再生機構に関する多くの情報が提供され、新たな学術的研究領域を開拓するものと考えられる。

2. 研究の目的

ヒトES細胞から組織幹細胞のみを特異的に誘導する分子機構の解明は、基礎的研究に重要な課題であるのみならず、ヒトES細胞を用いた再生医療の基盤技術として欠かせないものである。本研究では、ヒトES細胞の至適な培養方法の確立、各種サイトカインやストローマ細胞のスクリーニングにより系列特異的組織幹細胞誘導培養方法を確立する。また、その過程で特異的に発現する細胞表面抗原分子の同定とその分子に対するモノクローナル抗体の作成などにより、各種ヒト組織幹細胞の分離システムを構築し、我々が開発したNOGマウスを用いてヒト組織幹細胞の前方視的同定を可能にしたいと考えている。さらに、ES細胞から組織幹細胞へと変化する過程において、駆動する遺伝子を各組織幹細胞毎に網羅的に解析し、同定された遺伝子の発現制御による組織幹細胞作成を試みることを目的としている。

3. 研究の方法

本研究においては、我々が今まで培ってきたマウスES細胞、サルES細胞において得られた知見を基盤にしながら、ヒトES細胞を用いた特異的組織幹細胞の作成を達成することを目的とする。加えて重要なポイントは、作成された組織幹細胞の評価は、最終的に生体を用いて行う必要があることである。われわれの開発したNOGマウスは、ヒト組織幹細胞を測定するのに最も優れたマウスであることが明らかにされており、ヒトES細胞より作成した様々な組織幹細胞の評価が可能と考えられる。本研究においては、マウスやサルES細胞で得られた知見をヒトES細胞に適応し、その類似性、相違性について検討を行いつつ、ヒトES細胞に適した組織幹細胞の作成、同定の基盤技術の開発を、網羅的に行う。

ここでは以下の検討を行う

(1) ヒトES細胞培養方法の確立

研究開始当初、我々はサルES細胞の培養に精通していたが、サル、ヒト間においても差異が存在することが予測され、ヒトES細胞

の培養方法を確立する。

(2) 霊長類ES細胞に適した組織幹細胞誘導培養方法の確立

霊長類ES細胞から、マウスES細胞と同様な分化条件で、*in vitro*における分化培養を試み、目的とする組織幹細胞の作成が同様な方法で可能か否かを検討し、サル、ヒト等の霊長類ES細胞における各種組織幹細胞に適した培養系の確立を図る。

(3) 細胞表面抗原を用いたヒト組織幹細胞の同定

さまざまな培養条件下で出現してくる細胞の細胞表面抗原の発現を、マウスES細胞のそれと比較対照し、ヒトES細胞から*in vitro*において作成される組織幹細胞の前方視的同定を試みる

(4) ヒト特異的組織幹細胞表面抗原分子の同定

ヒト組織幹細胞に特異的に発現する細胞表面抗原の同定を行い、新規遺伝子の単離を試みる。また、新規分子に対するモノクローナル抗体を作成し、より効率的なヒト組織幹細胞の分離が行えるシステムを開発する。この解析により、ヒト組織幹細胞の前方視的同定が可能となる

(5) ヒトES細胞より組織幹細胞形成に関与する分子の同定

ES細胞が、組織特異性を獲得しつつも自己複製能を保持する組織幹細胞へと変化する過程において、駆動する遺伝子を各組織幹細胞毎に網羅的に解析する。その中から、ヒトES細胞より、各種組織幹細胞の形成において必須な役割を果たす遺伝子を同定し、それを用いて人為的にヒトES細胞より目的とする組織幹細胞の作成を試みる。

(6) ヒトES細胞よりの組織幹細胞形成における外的制御因子の解明

ES細胞より組織幹細胞への分化の過程において、細胞間のシグナル伝達が重要な役割をはたすことが想定され、それには液性因子、細胞表面分子等の外的制御因子の介在が推測される。これらの外的因子の同定を行い、ヒトES細胞より、各種組織幹細胞形成に至る分子生物学的基盤を明らかとする。さらに、これらの分子を用いた分化培養系の確立を試み、動物細胞の共培養を伴わない安全で有効なヒト組織幹細胞培養システムを確立する

(7) 免疫不全マウスを用いたヒトES細胞由来組織幹細胞の機能評価

再生医学、再生医療の実現のためには、生体内へ移植した組織幹細胞の目的とする組織への特異的移行・生着・分化が担保される必要がある。さらに、分化した組織特異的細胞は、その組織に特有な機能を発揮する必要がある。また、一方では、移植された細胞が、目的としない組織を形成したり、また、最悪

の場合として想定される腫瘍性病変等の発生の危惧を除外する必要がある。ヒト ES 細胞由来組織幹細胞の機能評価には、ヒト以外の動物を用いた機能評価システムの開発が必須である。しかし、そこには異種間移植という免疫学バリアーが存在する。近年、我々は、従来ヒト細胞移植に多用されてきた NOD/SCID マウスに、更なる免疫不全を引き起こす common IL-2 receptor gamma chain の変異を導入した NOG マウスを作成し、ヒト臍帯血由来造血幹細胞を移植することにより、ヒト造血機構、免疫機構に加えて、ヒト肝組織がより効率的に再構築されることを明らかにした。我々の今までに得ている結果より、NOG マウスは、様々なヒト ES 細胞由来組織幹細胞の生体内機能評価に応用できることが予期される。我々の作成したさまざまな組織幹細胞をこのマウスに移植し、目的とする組織への生着、増幅、分化能構築が達成されるか、また予期しない副反応が発生しないか等について、検討を加える。

4. 研究成果

これまで行われてきた研究の主な研究成果について以下に示す。

(1) NOG マウスを用いたヒト幹細胞の測定系を確率した。既にヒト造血幹細胞を用いた NOG マウスへの移植実験によりヒト造血幹細胞はこのマウスの中で全ての血球系に分化し、しかも自己複製することを報告してきた。今回このマウスを詳細に解析することにより、マウス肝臓の中にヒト肝細胞の性質を持った細胞が出現してくることが観察された。その機序を詳細に検討すると、ヒト造血幹細胞とマウス肝細胞が細胞融合を起こし、ヒトの肝細胞の性質を獲得することが明らかとなった (FASEB J. 21:3499, 2007)。

本実験からも明らかのように NOG マウスはヒト各種幹細胞の *in vivo* 測定系として極めて優れていることが示された。現在、ES 細胞から分化させた種々の細胞をこのマウスに移植し、その性質を検討し始めている。本研究は、当初計画に沿って順調に進行していると考えられる。

(2) ヒト、サル ES 細胞から血液細胞への分化系を確立した。サル及びヒト ES 細胞から VEGFR-2、CD34 両者陽性の細胞が培養日数とともに増加することが明らかとなった。しかしながら、3 種類のヒト ES 細胞株を用いて検討したところ、両者陽性の分画が多いものと少数しか出現しないものがあり、同じ ES 細胞といっても必ずしも分化のしやすさは同一ではないことが明らかとなった。VEGFR-2(+), CD34(+) 細胞からは様々な血液細胞及び血管内細胞が出現した。両者が共通の細胞 (へマンジオブラスト) から出現するかどうかをクローンソーティングを用いて

単細胞培養し、検討した。その結果、既にマウスで報告されているへマンジオブラストがヒトやサルにも存在することが明らかとなった (Blood 109:2406, 2007、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 105:13087, 2008)。本研究も計画通り順調に進行しているが、ES 細胞から誘導した各種細胞を NOG マウスに移植する実験を精力的に行なっているが、未だマウス骨髄を再構築させる能力を持った造血幹細胞は検出できていない。世界的にも ES 細胞から造血幹細胞を誘導する実験が行なわれているが、HOXB4 遺伝子を新たに導入するなどの操作をしない限り ES 細胞からの造血幹細胞の誘導には誰も成功していない。できれば遺伝子導入することなく ES 細胞から造血幹細胞を誘導する系を確立すべく検討していきたいと考えている。

(3) ES 細胞から骨格筋細胞への誘導系の確立

ES 細胞を用いて筋ジストロフィーなどの難治性筋疾患の治療が将来の夢として語られている。しかし、ES 細胞から遺伝子導入することなく筋細胞を誘導したり、骨格筋の幹細胞であるサテライト細胞を誘導することには誰も成功していなかった。我々は、まずマウスの系で ES 細胞からサテライト細胞、骨格筋細胞を誘導することに成功した (Chang H et al. FASEB J. 23:1907, 2009)。この ES 細胞由来のサテライト細胞を Duchenne 型筋ジストロフィーのモデルマウスである mdx マウスに移植したところ、筋肉が再生され、ジストロフィン蛋白を持つ筋繊維が長期に渡り維持できることが確認された。本知見は、今後の筋ジストロフィーへの再生医療の可能性を示す重要な結果と考えている。

ヒト ES 細胞から骨格筋細胞への分化についても検討した。ヒト ES 細胞から攣縮する能力を持った骨格筋が形成されたが、その前駆細胞であるサテライト細胞の細胞表面抗原については全く報告はなく、現在候補となる分子を検索中である。

(4) ES 細胞から心筋前駆細胞の誘導系を確立した。

マウス ES 細胞を PA6 と共培養する系により、心筋前駆細胞である Flk1 陽性細胞を効率的に誘導する系を確立した。本細胞を拡張型心筋症をモデルマウスに移植することにより心機能が著明に改善されることを見出した。また、この細胞の移植により腫瘍形成は全く見られず、再生された心筋はホスト心筋と細胞間結合で結ばれ、心筋としての活動電位を有することが確認された (Cardiovascular Res. 76:119, 2007、Stem Cells 25:1375, 2007)。ヒト ES 細胞からの心筋細胞への分化系を確立した (Biochem. Biophys. Res. Com. 387:482, 2009)。

研究はほぼ順調に進行したが、2007 年末にヒト iPS 細胞が報告されたことから、iPS 細胞を用いた研究が世界的に激しい競争の中で行われている。我々は本研究を申請した当初、ES 細胞を用いた研究に特化して行なう予定としていたが、このような状況からヒト iPS 細胞を用いた研究も平行して行なっている。ES 細胞研究から得られる成果は、iPS 細胞研究へも応用できることが明らかとなった。

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 96 件)

- ① Mizuno Y., Chang H., Umeda K., Niwa A., Iwasa T., Awaya T., Fukada S., Hiroshi Yamamoto H., Yamanaka S., Nakahata T., Heike T.: Generation of skeletal muscle stem/progenitor cells from murine induced pluripotent stem cells. *FASEB J.* in press.
- ② Okafuji I, Nishikomori R, Kanazawa N, Kambe N, Fujisawa A, Yamazaki S, Saito M, Yoshioka T, Kawai T, Sakai H, Tanizaki H, Heike T, Miyachi Y, Nakahata T.: Role of the NOD2 genotype in the clinical phenotype of Blau syndrome and early-onset sarcoidosis. *Arthritis Rheum.* 60:242-50 2009.
- ③ Chang H, Yoshimoto M, Umeda K., Iwasa T, Mizuno Y, Fukada SI, Yamamoto H, Motohashi N, Suzuki YM, Takeda S, Heike T., Nakahata T.: Generation of transplantable, functional satellite-like cells from mouse embryonic stem cells. *FASEB J.* 23:1907-1919,2009.
- ④ Fukushima-Shintani M, Suzuki KI, Iwatsuki Y, Abe M, Sugawara K, Hirayama F, Kawasaki T, Nakahata T.: AKR-501 (YM477) a novel orally-active thrombopoietin receptor agonist. *Eur J Haematol.* 82:247- 254,2009.
- ⑤ Higashi A.Y., Ikawa T, Muramatsu M, Economides A.N., Niwa A, Okuda T, Murphy AJ., Rojas J, Heike T, Nakahata T., Kawamoto H, Kita T, Yanagita M.: Direct hematological toxicity and illegitimate chromosomal recombination caused by the systemic activation of CreER^{T2}. *J Immunol.* 182:5633-5640,2009.
- ⑥ Yokoo N., Baba S., Kaichi S., Niwa A., Mima T., Doi H., Yamanaka S., Nakahata T., Heike T.: The effects of cardioactive drugs on cardiomyocytes derived from human induced pluripotent stem cells. *Biochem. Biophys. Res. Com.* 387:482-488,2009.
- ⑦ Nie C, Sato K, Misawa N, Kitayama H, Fujino H, Hiramatsu H, Heike T., Nakahata T, Tanaka Y, Ito M, Koyanagi Y: Selective infection of CD(4)+ effector memory T lymphocytes leads to preferential depletion of memory T lymphocytes in R5 HIV-infected humanized NOD/SCID/IL-2R γ^{null} mice. *Virology* 394: 64-72,2009.
- ⑧ Kato M, Sanada M, Kato I, Sato Y, Takita J, Takeuchi K, Niwa A, Chen Y, Nakazaki K, Nomoto J, Asakura Y, Muto S, Tamura A, Iio M, Akatsuka Y, Hayashi Y, Mori H, Igarashi T, Kurokawa M, Chiba S, Mori S, Ishikawa Y, Okamoto K, Tobinai K, Nakagama H, Nakahata T., Yoshino T, Kobayashi Y, Ogawa S: Frequent inactivation of A20 in B-cell lymphomas. *Nature* 459:712-716, 2009.
- ⑨ Niwa A., Umeda K., Chang H., Saito M., Okita K., Takahashi K., Nakagawa M., Yamanaka S., Nakahata T., Heike T: Orderly Hematopoietic Development of Induced Pluripotent Stem Cells via Flk-1⁺ Hemoangiogenic Progenitors. *J. Cell. Physiol.* 221:367-377, 2009.
- ⑩ Miyara M., Yoshioka Y., Kitoh A., Shima T., Wing K., Niwa A., Perizot C., Taflin C., Heike T., Valeyre D., Mathian A., Nakahata T., Yamaguchi T., Nomura T., Ono M., Amoura Z., Gorochoy G., Sakaguchi S.: Functional delineation and differentiation dynamics of human CD4⁺ T cells expressing the FoxP3 transcription factor. *Immunity* 30:899-911,2009.
- ⑪ 丹羽明、中畑龍俊：I. 造血幹細胞 1. iPS 細胞からの造血分化. *Annual Review 血液* 2009：1-8：1, 2009
- ⑫ 伊藤仁也、中畑龍俊：対外増幅造血細胞移植. *医学のあゆみ* 229 (9):786-792, 5, 2009
- ⑬ 中畑龍俊：疾患特異的 iPS 細胞. 『学術の動向』14(9)：78-83 , 2009
- ⑭ Ma F, Kambe N, Dan W, Shinoda G, Fujino H, Umeda K., Fujisawa A, Ma L, Suemori H, Nakatsuji N, Miyachi Y, Torii R, Tsuji K, Heike T., Nakahata T.: Direct development of functionary mature tryptase/ chymase double-positive connective tissue-type mast cells from primate embryonic stem cells. *Stem Cells* 26:706-714, 2008
- ⑮ Ito M, Kobayashi K, Nakahata T.: NOD/Shi-scid IL2r γ^{null} (NOG)Mice More Appropriate for Humanized Mouse Models. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 324:54-76, 2008
- ⑯ Ma F, Ebihara Y, Umeda K., Sakai H, Hanada S, Hong Z, Zaike Y, Tsuchida E, Nakahata T., Nakauchi H, Tsuji K: Generatuion of functional erythrocytes from human embryonic stem cell-derived definitive hematopoiesis. *PNAS* 105(35) 13087-13092,2008
- ⑰ Kamitsuji Y, Kuroda J, Kimura S, Toyokuni S, Watanabe K, Ashihara E, Tanaka H, Yui Y,

- Watanabe M, Matsubara H, Mizushima Y, Hiraumi Y, Kawata E, Yoshikawa T, Maekawa T, Nakahata T, Adachi A: The Bcr-Abl kinase inhibitor INNO-406 induces autophagy and different modes of cell death execution in Bcr-Abl-positive leukemias. *Cell Death and Differ* :15,1712-1722,2008.
- ①⑨ Tsuji S, Yoshimoto M, Takahashi K, Noda Y, Nakahata T, Heike T : Side population cells contribute to the genesis of human endometrium. *Fertility and Sterility* 90:1528-1537,2008
- ②⑩ Tsuchiya A., Heike T., Baba S., Fujino H., Umeda K., Matsuda Y., Nomoto M., Ichida T., Aoyagi Y., Nakahata T.: Sca-1+ endothelial cells (SPECs) reside in the portal area of the liver and contribute to rapid recovery from acute liver disease. *Biochem. Biophys. Res. Com.*365:595-601,2008.
- ③⑪ Saito M., Nishikomori R., Kambe N., Fujisawa A., Tanizaki H., Takeichi K., Imagawa T., Iehara T., Takada H., Matsubayashi T., Tanaka H., Kawashima K., Kagami S., Kawai T., Okafuji I., Yoshioka T., Adachi S., Heike T., Miyachi Y., Nakahata T. Disease-associated CIAS1 mutations induce monocyte death, revealing low-level mosaicism in mutation-negative cryopyrin-associated periodic syndrome patients. *Blood* 111:2132-2141,2008.
- ④⑫ Yamanaka Y., Kumada T., Heike T., Shibata M., Takaoka Y., Kitano A., Shiraishi K., Kato T., Nagato M., Okawa K., Furushima K., Nakao K., Aizawa S., Nakamura Y., Taketo M.M. Nakahata T.: Loss of Borealin/DasraB leads to defective cell proliferation, p53 accumulation and early embryonic lethality. *Mech. Develop.* 125:4441-450,2008.
- ⑤⑬ 中畑龍俊 : 幹細胞の臨床応用とその課題. *日本臨床* 66 (5) 831-840, 2008
- ⑥⑭ 中畑龍俊 : 造血幹細胞. 進みつつける細胞移植治療の実際 上巻—再生医療の実現に向けた科学・技術と周辺要素の理解— (遺伝子医学 MOOK 別冊 メディカルドゥ) 60-66, 2008
- ⑦⑮ Shiota M, Heike T, Haruyama M, Baba S, Tsuchiya A, Fujino H, Kobayashi H, Umeda K, Yoshimoto M, Nakahata T: Isolation and characterization of bone marrow-derived mesenchymal progenitor cells with myogenic and neuronal properties. *Exp Cell Res.* 313(5) 1008-1023 2007
- ⑧⑯ Shinoda G, Umeda K, Heike T, Arai M, Niwa A, Ma F, Suemori H, Luo HY, Chui DH, Torii R, Shibuya M, Nakatsuji N, Nakahata T: $\alpha 4$ -Integrin+ endothelium derived from primate embryonic stem cells generates primitive and definitive hematopoietic cells. *Blood* 109(6) 2406-2415 2007
- ⑰⑳ Baba S, Heike T, Umeda K, Iwasa T, Kaichi S, Hiraumi T, Doi H, Yoshimoto M, Kanatsu-Shinohata M, Shinohara T, Nakahata T: Generation of Cardiac and Endothelial Cells from Neonatal Mouse Testis-Derived Multipotent Germline Stem Cells. *Stem Cells* 25:1375-1383 2007
- ㉑㉒ Fujisawa A, Kambe N, Saito M, Nishikomori R, Tanizaki H, Kanazawa N, Adachi S, Heike T, Sagara J, Suda T, Nakahata T, Miyachi Y: Disease-associated mutations in CIAS1 induce cathepsin B-dependent rapid cell death of human THP-1 monocytic cells. *Blood* 109(7)2903-2911 2007
- ㉓㉔ Tsuchiya A, Heike T, Baba S, Fujino H, Umeda K, Matsuda Y, Nomoto M, Ichida T, Aoyagi Y, Nakahata T: Long-term culture of postnatal mouse hepatic stem/progenitor cells and their relative development hierarchy. *Stem Cells* 25:895-902 2007
- ㉕㉖ Baba S, Heike T, Yoshimoto M, Umeda K, Doi H, Iwasa T, Lin X, Matsuoka S, Komeda M, Nakahata T: Flk1+ cardiac stem/progenitor cells derived from embryonic stem cells improve cardiac function in a dilated cardiomyopathy mouse model. *Cardiovascular Res.* 76:119-131, 2007
- ㉗㉘ Kato K, Yoshimoto M, Kato K, Adachi S, Yamayoshi A, Arima T, Asanoma K, Kyo S, Nakahata T, Wake N: Characterization of side-population cells in human normal endometrium. *Human Reproduction* 22(5)1214-1223,2007
- ㉙㉚ Yamamura K, Ohishi K, Katayama N, Kato K, Shibasaki T, Sugimoto Y, Miyata E, Shiku H, Masuya M, Nishioka J, Nobori T, Nishikawa M, Yoshimasa I, Hiramatsu H, Nakahata T: Notch ligand Delta-1 differentially modulates the effects of gp130 activation on interleukin-6 receptor α -positive and α -negative human hematopoietic progenitors. *Cancer Sci* 98(10)1597-1603 2007
- ㉛㉜ Fujino H, Hiramatsu H, Tsuchiya A, Niwa A, Noma H, Shiota M, Umeda K, Yoshimoto M, Ito M, Heike T, Nakahata T: Human cord blood CD34+ cells develop into hepatocytes in the livers of NOD/SCID/gcnull mice through cell fusion. *FASEB J.* 21: 3499-3510,2007.
- ㉝㉞ Ma F., Wang D., Hanada S., Ebihara Y., Kawasaki H., Zaike Y., Heike T., Nakahata T., Tsuji K.: Novel method for efficient production of multipotential hematopoietic progenitors from human embryonic stem cells. *Int. Hematol.* 85:371-379,2007.

⑤Suzuki K, Hiramatsu H, Fukushima-Shintani M, Heike T, Nakahata T.: Efficient Assay for Evaluating human thrombopoiesis using NOD/SCID mice transplanted with cord blood CD34+ cells. Eur J Haematol 78:123-130,2007

⑥Sugiyama D, Ogawa M, Nakao K, Osumi N, Nishikawa S, Nishikawa S, Arai K, Nakahata T, Tsuji K: B cell potetial can be obtained from pre- circulatory yolk sac,but with low frequency. Dev.Biol .301:53-61,2007.

⑦中畑龍俊、梅田雄嗣：血球系の再生医療。 Medical Science Digest 33 (14) 20-24, 2007

⑧平家俊男、梅田雄嗣、加藤竹雄、中畑龍俊：ヒトES細胞を用いた造血幹細胞や神経幹細胞への分化誘導。医学のあゆみ 220 (2) : 186-190, 2007

〔学会発表〕(計 123 件)

① Tatsutoshi Nakahata : Future of regenerative medicine with various stem cells. The 3rd International Symposium of Lysosomal Storage Diseases(第 13 回国際ライゾーム病シンポジウム) 9 月 26-27 日, 2009, 名古屋能楽堂 名古屋市

②中畑龍俊：基調講演：造血幹細胞を用いた再生医療。第 27 回日本医学会総会 4 月 6-8 日, 2009, 大阪

③Tatsutoshi Nakahata: Special lecture: Proliferation and Differentiation of Various Stem Cells in vitro and in vivo. Advances in Neuroblastoma Research 2008 (国際神経芽腫学会) May 21-24, 2008, Makuhari Messe International Conference Hall Chiba.

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 2 件)

名称：多能性幹細胞からの肥満細胞の製造方法

発明者：Tatsutoshi Nakahata, Kohichiro Tsuji, Feng MA

権利者：Kyoto University

種類：海外出願

番号：6 1 / 2 4 0 , 3 7 6

出願年月日：2 0 0 9 年 9 月 8 日

国内外の別：米国仮出願

名称：多能性幹細胞から中胚葉細胞の分化誘導法

発明者：丹羽明, 中畑龍俊

権利者：Kyoto University

種類：海外出願

番号：6 1 / 3 1 5 , 1 7 0

出願年月日：2 0 1 0 年 3 月 1 8 日

国内外の別：米国仮出願

○取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.cira.kyoto-u.ac.jp/j/research/nakahata-summary.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中畑 龍俊 (NAKATAHA TATSUTOSHI)
京都大学・物質-細胞統合システム拠点・
特定拠点教授
研究者番号：20110744

(2) 研究分担者

該当なし

(3) 連携研究者

平家 俊男 (HEIKE TOSHIO)
京都大学・医学研究科・教授
研究者番号：90190173

梅田 雄嗣 (UMEDA KATSUTSUGU)
京都大学・医学研究科・助手
研究者番号：80397538

斎藤 潤 (SAITOH MEGUMU)
京都大学・物質-細胞統合システム拠点・
特定拠点助教
研究者番号：90535486