

平成18年度 学術創成研究費 研究終了報告書（事後評価用）

平成18年3月31日

ふりがな	なかはた たつとし		所属研究機関・ 部局・職	京都大学・医学研究科・教授				
研究代表者 氏名	中畑 龍俊							
研究課題名 （英訳名）	ES細胞、組織幹細胞の増殖・分化機構の解明とその臨床応用に関する研究 (Study of proliferation and differentiation of embryonic and tissue-specific stem cells for clinical application)							
研究経費 (千円未満切捨)	年度	研究経費(千円)		使用内訳(千円)				
		交付額	支出額	設備備品費	消耗品費	旅費	謝金等	その他
	平成13年度	68,000	68,003	47,954	18,438	97	1,512	0
	平成14年度	68,000	68,001	45,639	20,947	0	1,360	0
	平成15年度	68,000	68,000	25,689	40,567	57	666	192
	平成16年度	64,000	64,000	20,770	36,893	0	3,385	2,950
	平成17年度	63,500	63,500	2,997	45,663	0	6,184	8,654
	総計	331,500	331,504					
研究組織（研究代表者及び研究分担者）								
氏名	所属研究機関・部局・職	現在の専門	役割分担（研究実施計画に対する分担事項）					
中畑龍俊	京都大学・医学研究科・教授	小児科学	研究の総括、組織幹細胞の培養					
平家俊男	京都大学・医学研究科・助教授	小児科学	ES細胞の培養、ES細胞からの組織幹細胞の誘導					
依藤 亨	京都大学・医学研究科・講師	小児科学	幹細胞自己複製因子の遺伝子クローニング					
足立壮一	京都大学・医学研究科・講師	小児科学	分化因子の同定					
西小森隆太	京都大学・医学研究科・助手	小児科学	in vivo 実験					
計5名								

当初の研究目的

われわれの臓器には、自己複製能と分化能を持った組織固有な幹細胞（組織幹細胞）が存在する。近年、種々の組織幹細胞を *ex vivo* で増幅しそれを用いた新しい医療、所謂再生医療を目指した研究が盛んに行われているが、組織幹細胞の分離法、自己複製や増殖分化に関する分子が同定されていないこともあってほとんど成功していない。最近樹立されたヒト ES 細胞は社会的、倫理的な問題を抱えているが、一方、この細胞を利用して慢性的に不足している移植用の細胞や臓器を産生できるのではないかという期待も膨らんできている。ES 細胞は培養条件下で全能性、多分化能を保持しながら自己複製することから、ES 細胞から特定の組織幹細胞を分化させる培養系を確立することができれば、目的とする細胞や臓器を無限に作り出すことが可能になると考えられる。しかし、現在、マウスの系においても ES 細胞から特定の組織幹細胞を誘導する方法は確立していない。本研究ではマウス及びヒトの組織幹細胞の種類とその細胞生物学性状を明らかにし、それぞれの組織幹細胞の自己複製、増殖、分化、形質転換に関する分子を同定し、組織幹細胞を増幅するための基盤技術を開発することを 1 つの目標にしている。また、マウス ES 細胞から組織幹細胞への分化誘導に特異的に作用する分子を明らかにし、その遺伝子をクローニングするとともに将来のヒト ES 細胞を用いた研究に備えて同分子のヒトホモローグをクローニングすることを目的としている。さらに、ヒト骨髄や臍帯血中に存在する組織幹細胞の *ex vivo* 増幅法を確立することにより、増幅組織幹細胞を用いた造血幹細胞移植、肝細胞移植、心筋細胞移植、神経細胞移植などの新しい再生医療の開発や、ES 細胞から特異的に産生した組織幹細胞を用いた医療の開発を最終目標としている。本研究の成果は、将来骨髄や臍帯血中の組織幹細胞、ES 細胞を用いた種々の臓器再生、輸血製剤の工場での生産など新たな移植医療、輸血事業へとつながる技術として期待され、臨床的貢献度は極めて高いものと考えられる。

研究成果の概要

研究目的に対する研究成果を必要に応じて図表等を用いながら、具体的に記入してください。

1)

種々の体性幹細胞について、1) 前方視的同定、2) 自己複製、3) 多分化能、4) 分化可塑性、5) 安全性、の観点より、それらの性状、分子的基盤について検討を加えた。

1-1) GFP トランスジェニックマウス各臓器から FACS を用いて分取した種々の細胞を正常マウスに移植後、GFP 陽性細胞を検索することにより体性幹細胞の可塑性を検討した。造血幹細胞が血液ばかりでなく骨格筋、肝臓、網膜などに転換できることが明らかとなった。さらに骨格筋の幹細胞である satellite 細胞が骨髄造血幹細胞分画より形成されることも明らかにした。

1-2) ヒト体性幹細胞測定のための NOD/SCID/ $\gamma_c^{-/-}$ (NOG) マウスを開発した。このマウスにヒト造血幹細胞を移植するとマウス体内で T リンパ球を含むすべてのヒト型血球が長期にわたり産生されることが明らかとなった。さらに、この系を用いてヒト造血幹細胞からの *in vivo* で分化機構の解析、ヒト造血幹細胞の可塑性や他の体性幹細胞の測定などについて検討をおこなった。このマウス肝臓においては、移植ヒト造血幹細胞に由来するヒト肝細胞、胆管細胞が生成され、アルブミン、酵素産生確認によりヒト肝臓として機能していることを明らかにした。

1-3) 造血幹細胞の発生する胎生 10.5 日の AGM 領域から造血幹細胞自己複製支持能を持つストローマ細胞株を樹立した。現在までにこのストローマ細胞株から 20 を超える新規遺伝子が同定され機能解析を継続している。

1-4) 神経幹・前駆細胞の増殖と分化に係る分子機構は十分に解明されていない。この機構を明らかにすることは再生医療の実現に向けた基盤的な知見が得られるものと期待される。我々は、神経幹細胞を前方視的に同定できる細胞表面抗原の同定を行った。さらに、同定した神経幹細胞の生体内投与による神経組織再生への有効性、安全性を確認した。また、我々は神経幹細胞に特異的に発現する 4 個の新規の候補遺伝子を同定し、それぞれのノックアウトマウスを作製した。このうち 2 個の遺伝子は初期胚の段階で胎生致死となり、個体発生に不可欠であることが明らかとなった。他の 2 個の遺伝子については、それぞれ神経幹細胞の自己複製、分化能に影響を及ぼす分子であることが示唆され、検討を進めている。

研究成果の概要 つづき

I-5) マウスの胎児および生後の肝臓より肝幹前駆細胞を増幅する系を確立した。また、内因性の肝幹細胞の分化、増幅にかかわるシステムの検索を試みた。

マウス胎児および生後の肝臓に含まれる肝幹前駆細胞を、6日間の浮遊培養により肝前駆細胞のスフェロイドを形成させ濃縮しその後平面培養に移すことで容易に肝幹前駆細胞のコロニーを作ることに成功した。またこれらは無血清培養が可能であった。増幅細胞は常に未熟細胞である AFP 陽性細胞のほか肝細胞マーカー、胆管細胞マーカーを示す細胞を含むヘテロな集団であり、また分化誘導にて成熟肝細胞マーカーを発現してくる細胞を認めることができた。そして、細胞中には他の分野で幹細胞マーカーとして知られる SP 細胞や Sca-1 陽性細胞を認めそれらのマーカーを用い培養細胞の階層性を明らかにした。

II)

マウスまたはサル ES 細胞について、1) 組織幹細胞の作成、2) 作成した組織幹細胞の自己複製、3) 作成した組織幹細胞の多分化能の確認、4) サル ES 細胞における再評価、5) 有効性、安全性、の観点より、それらの性状、分子的基盤について検討を加えた。

II-1) マウス ES 細胞から神経幹細胞を特異的に、かつ効率よく誘導する系を確立した。ES 細胞から特異的に誘導した神経幹細胞は自己複製能を保つとともに、神経細胞、グリア細胞への分化能を保持していた。また、パーキンソン病の治療に有効である tyrosine hydroxylase 陽性細胞への効率よい分化能を確認した。また、この過程に関与する分子の同定を質量分析器を用いて行い、シスタチン C であることを見出した。

II-2) マウス ES 細胞から中胚葉細胞に分化させた後、FLK1+細胞を純化し培養すると血液、血管内皮、心筋が出現することから 3 者に共通の母細胞の存在が示唆された。現在、この過程で、マウスの造血機能を長期にわたって維持する造血幹細胞の形成の有無について、移植により検討を行っている。

II-3) 我々はマウス ES 細胞から骨格筋幹細胞(satellite 細胞)の細胞マーカーである Pax7 陽性の細胞を生成した。quiescent satellite 細胞を特異的に認識する SM/C-2.6 抗体を用いて、これら生成した Pax7 陽性細胞を純化した。純化した細胞について in vitro と in vivo レベルの両方で検討したところ、それら細胞の骨格筋への分化能が有意的に高いことを確認した。また、in vivo で移植されたこれらの細胞の一部は Pax7 陽性を維持した状態で存在し、移植部位(前脛骨筋)において 2 次傷害を与えることにより、これら移植細胞が骨格筋に分化すると同時に自己複製も行っていることも確認された。以上の結果から、これら ES 細胞から生成した Pax7 陽性細胞が骨格筋幹細胞(satellite 細胞)であることを証明した。今後このシステムを用いて、ES 細胞からの satellite 細胞形成、自己複製、骨格筋への分化に関する多くの知見が得られることが期待されると同時に、臨床応用の面でも骨格筋幹細胞の確保手段として期待が持たれる。

II-4) 霊長類 ES 細胞はマウス ES 細胞と異なった性状を有する。我々は、マウス ES 細胞でのシステムを改善し、サル ES 細胞から世界で初めて胎児型の血液細胞と成体型の血液細胞の両者および血管内皮細胞を誘導することが可能となった。現在、より特異的で有効なシステムの改善を行っている。

特記事項

この研究において得られた、独創性・新規性を格段に発展させる結果あるいは可能性、新たな知見、学問的・学術的なインパクト等特記すべき事項があれば記入してください。

A) 体性幹細胞

体性幹細胞の再生医学、再生医療への展開を考慮する場合、1) 体性幹細胞の前方視的同定、2) 体性幹細胞の自己複製の機構解明、3) 生体における機能的再構築を伴う多分化能の確認、4) 体性幹細胞の持つ分化可塑性の制御、5) 悪性腫瘍発症等の回避、異種動物成分を使用することによる感染症の防止等の安全性に関する検証、が必須である。1) 体性幹細胞の前方視的同定に関しては、従来より造血幹細胞の同定が、特定の細胞表面抗原の発現様式の組み合わせを検討することによりなされてきた。我々は本研究で、神経幹細胞、肝幹細胞の同定においても同手技が適用されることを示し、広範囲の体性幹細胞同定に際しての有用性を示した。2) 体性幹細胞の自己複製の機構解明に関しては、我々は以前の報告にて、ヒト造血幹細胞の自己複製が sIL-6 レセプターを含むサイトカインを組み合わせることにより達成されることを示したが、長期にわたる自己複製は達成されていない。本研究においては、長期にわたる効率的な造血幹細胞自己複製を達成するため、造血幹細胞が発生し増幅する部位である AGM 領域より作成し、造血幹細胞自己複製能を付与するストローマ細胞からその責任遺伝子の同定をすべく、発現する遺伝子を網羅的に体系化した。今後この遺伝子群の中より、造血幹細胞自己複製に必須な遺伝子の同定がなされることが期待される。一方、神経幹細胞の自己複製は sphere 法を用いて達成される。我々は肝幹細胞の自己複製も、この sphere 法を適応することにより、無血清培養液下で達成できることを示し、牛血清を用いないことにより 5) の安全性をも担保した方法として、さらなる応用・展開が期待される。3) 生体における機能的再構築を伴う多分化能の確認については、ヒト体性幹細胞測定のための NOD/SCID/ γ^c (NOG) マウスを開発した。このマウスは獲得免疫能、自然免疫能の重度の障害を有し、ヒト造血幹細胞を移植するとマウス体内で T リンパ球を含むすべてのヒト型血球が長期にわたり産生され、ヒト造血システム、免疫システムが、マウスの体内で再構築されることを示した。今後、種々のヒト体性幹細胞の評価が、ヒト化モデルマウス体内で行えることにより、機能的構築、および 5) の安全性をも含めた検索が可能であるという観点より、NOD/SCID/ γ^c (NOG) マウスの優位性が際立っている。一方、4) 体性幹細胞の持つ分化可塑性の制御の観点よりも、NOD/SCID/ γ^c (NOG) マウスより貴重な成果が得られた。ヒト造血幹細胞を移植した同マウスの肝臓において、ヒト肝細胞の分化成熟が確認された。さらに、末梢血中においてヒトアルブミンの存在も確認され、ヒト体性幹細胞の持つ分化可塑性に基づく機能再構築が確認されたことは、今後の再生医学、再生医療の構築に向けて、確固とした道程を提示したものと評価できる。

B) ES 細胞

ES 細胞の再生医学、再生医療への展開を考慮する場合、1) ES 細胞より特定の組織幹細胞を作成する基盤技術の開発、2) ES 細胞より作成した組織幹細胞の自己複製を制御する基盤技術の開発、3) 生体における機能的再構築を伴う多分化能の確認、4) マウス ES 細胞で得られた知見の霊長類 ES 細胞における再評価、5) 悪性腫瘍発症等の回避、異種動物成分を使用することによる感染症の防止に加えて、生体へ移植した場合、希望する組織に局限する分化能の確認等、安全性に関する検証、が必須である。1) ES 細胞より特定の組織幹細胞を作成する基盤技術の開発に関しては、本研究において、独創的な知見が得られた。マウス ES 細胞が、初代神経幹細胞が分泌する cystatinC 存在下で特異的に神経幹細胞へと転換し、初代神経幹細胞と同様に、ex vivo で自己複製が達成されることを明らかにした。ES 細胞を種々初代組織幹細胞と共培養することにより組織幹細胞が生成されるとの preliminary な報告が多くなされているが、本研究で得られた成果はこのような preliminary な検討に対して、確信的な分子同定に至る道程を提示した。一方、3) 生体における機能的再構築を伴う多分化能の確認に関して、マウス ES 細胞より作成した Fik-1 陽性細胞が、拡張型心不全、心筋梗塞モデルマウスの心機能を回復することを示し、ES 細胞由来細胞により、生体の機能不全回復が可能であることを明示した。一方、新生児マウス精巣組織より作成され、ES 細胞と同等の分化能を有する mGS 細胞由来 Fik-1 陽性細胞が、ES 細胞由来 Fik-1 陽性細胞と同様な心機能修復能力を有することを証明し、ヒト ES 細胞の作成、使用に直面する倫理的問題の軽減化に貢献することが期待される。また、4) マウス ES 細胞で得られた知見の霊長類 ES 細胞における再評価については、サル ES 細胞の造血組織への分化実験で得られた知見が、検証困難である霊長類における組織発生過程の解析において、貴重な成果を提示するに至った。今度霊長類 ES 細胞の有効性、安全性確認にためにも、NOD/SCID/ γ^c (NOG) マウスを用いた機能的評価、安全性評価が必須となることが予測される。

幹細胞を用いた再生医学、再生医療の確立には、有効性、安全性の確保が必須である。本研究にて確立した NOD/SCID/ γ^c (NOG) マウスを用いたシステム構築は、それらを統合的に検証できるシステムであり、再生医学、再生医療開発の基盤システムとして認識されるに至ることが期待される。

研究成果の発表状況

この研究費による成果の発表に限り、学術誌等に発表した論文（投稿中の論文を記入する場合は、掲載が決定しているものに限ります。）の全著者名、論文名、学協会誌名、巻（号）、最初と最後のページ、発表年（西暦）及び国際会議、学会等における発表状況について、3頁以内に収めて記入してください。

Nakahata T.: Ex vivo expansion of human hematopoietic stem cells. *Int J Hematol.* 73(1):6-13,2001.

Matsuoka S, Ebihara Y, Xu M, Yoshino H, Ueda T, Manabe A, Tanaka R, Ikeda Y, Nakahata T, Tsuji K: CD34 expression on long-term repopulating hematopoietic stem cells changes during developmental stages. *Blood* 97:419-425,2001.

Xu M, Matsuoka S, Yang F-C, Ebihara Y, Manabe A, Kikuchi A, Eguchi M, Asano S, Nakahata T, Tsuji K: Evidence for the presence of primitive megakaryopoiesis in the early yolk sac. *Blood* 97:2016-2022,2001.

Sawano A., Iwai S., Sakurai Y., Shitara K., Nakahata T., Shibuya M.: Vascular endothelial growth factor receptor-1 (Flt-1) is a novel cell surface marker for the lineage of monocyte-macrophages in humans. *Blood* 97:785-791,2001.

Ma F, Wada M, Yoshino H, Ebihara Y, Ishii T, Manabe A, Tanaka R, Maekawa T, Itoh M, Mugishima H, Asano S, Nakahata T, Tsuji K: Development of human lymphohematopoietic stem and progenitor cells defined by expression of CD34 and CD81. *Blood.* 97(12):3755-3762,2001.

Matsuoka S, Tsuji K, Hisakawa H., Xu M, Ebihara Y, Ishii T., Sugiyama D., Manabe A., Tanaka R., Ikeda Y, Asano S., Nakahata T: Generation of definitive hematopoietic stem cells from murine early yolk sac and paraaortic splanchnopleura by AGM region-derived stromal cells. *Blood* 98:6-12,2001.

Miyamoto K, Tsuji K, Maekawa T, Asano S, Nakahata T: Inhibitory effect of interleukin 3 on the early development of human B-lymphopoiesis. *Br J Haematol.* 114:690-697, 2001.

Hisakawa H., Sugiyama D., Nishijima I., Hong Wu, Nakao K., Watanabe S., Katsuki M., Asano S., Nakahata T., Tsuji K.: Human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (hGM-CSF) stimulates primitive and definitive erythropoiesis in mouse embryo expressing hGM-CSF receptors but not erythropoietin receptors. *Blood* 98:3618-3625,2001.

Hamahata K, Kubota M, Usami I, Lin Y-W, Morimoto A, Nakahata T : Somatic cell mutation in pediatric patients undergoing allogeneic bone marrow transplantation. *Mutation Research,* 517:21-28, 2002.

Ebihara Y, Wada M, Ueda T, Xu M-J, Manabe A, Tanaka R, Ito M, Mugishima H, Asano S, Nakahata T, Tsuji K : Reconstitution of human haematopoiesis in non-obese diabetic/severe combined immunodeficient mice by clonal cells expanded from single CD34⁺CD38⁻ cells expressing Flk2/Flt3. *Brit. J. Haematol.* 119:525-534, 2002.

Suzuki N., Ohneda , Takahashi S., Higuchi M., Mukai HY., Nakahata T., Imagawa S., Yamamoto M.: Erythroid-specific expression of the erythropoietin receptor rescued its null mutant mice from lethality. *Blood* 100(7):2279-2288,2002.

Ito M, Hiramatsu H, Kobayashi K, Suzue K, Kawahata M, Hioki K, Ueyama Y, Koyanagi Y, Sugamura K, Tsuji K, Heike T, Nakahata T : NOD/SCID ^{c^{null}} mouse : an excellent recipient mouse model for engraftment of human cells. *Blood* 100(9):3175-3182, 2002.

Umeda K, Adachi S, Watanabe K, Kimura N, Lin Y, Nakahata T : Successful hematopoietic stem cell transplantation for aplastic anemia following living-related liver transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 30:531-534, 2002.

Heike T, Nakahata T : Ex vivo expansion of hematopoietic stem cells by cytokines. *Biochim Biophys Acta.*1592:313-321, 2002.

Mitsui T, Watanabe S, Taniguchi Y, Hanada S, Ebihara Y, Sato T, Heike T, Mitsuyama M, Nakahata T, Tsuji K : Impaired neutrophil maturation in truncated murine G-CSF receptor-transgenic mice. *Blood* 101(8):2991-2995, 2003.

研究成果の発表状況

この研究費による成果の発表に限り、学術誌等に発表した論文（投稿中の論文を記入する場合は、掲載が決定しているものに限ります。）の全著者名、論文名、学協会誌名、巻（号）、最初と最後のページ、発表年（西暦）及び国際会議、学会等における発表状況について、3頁以内に収めて記入してください。

Ishida D, Kometani K, Yang H, Kakugawa K, Masuda K, Iwai K, Suzuki M, Itohara S, Nakahata T, Hiai H, Kawamoto H, Hattori M, Minato N : Myeloproliferative stem cell disorders by deregulated Rap 1 activation in SPA-1-deficient mice. *Cancer Cell* 4:55-65, 2003.

Hiramatsu H, Nishikomori R, Heike T, Ito M, Kobayashi K, Katamura K, Nakahata T : Complete reconstitution of human lymphocytes from cord blood CD34+ cells using the NOD/SCID/ c null mice model. *Blood* : 102(3):873-880, 2003.

Akizawa Y, Nishiyama C, Hasegawa M, Maeda K, Nakahata T, Okumura K, Ra C, Ogawa H : Regulation of human FcεRI β chain gene expression by Oct-1. *International Immunology* 15(5):549-556, 2003.

Imai T, Adachi S, Nishijo K, Ohgushi M, Okada M, Yasumi T, Watanabe K, Nishikomori R, Nakayama T, Yonehara S, Toguchida J, Nakahata T. : FR901228 Induces tumor regression associated with Induction of Fas ligand and activation of Fas signaling in human osteosarcoma cells. *Oncogene* 22:9231-9242, 2003.

Yoshimoto M, Shinohara T, Heike T, Shiota M, Kanakatsu-Shinohara M, Nakahata T. : Direct visualization of transplanted hematopoietic cell reconstitution In intact mouse organs indicates the presence of a niche. *Experimental Hematology* 31 : 733-740, 2003.

Adachi S, Leoni LM, Carson DA, Nakahata T : Apoptosis Induced by Molecular Targeting Therapy in Hematological Malignancies. *Acta Haematol.* 111:107-123, 2004.

Heike T, Nakahata T. : Stem Cell Plasticity in the Hematopoietic System. *International journal of Hematology* 79 : 7-14, 2004.

Umeda K, Heike T, Yoshimoto M, Shiota M, Suemori H, Luo HY, Chui DHK, Torii R, Shibuya M, Nakatsuji N, Nakahata T. : Development of primitive and definitive hematopoiesis from non-human primate embryonic stem cells in vitro. *Development and disease* 131: 1869-1879, 2004.

Yasumi T, Katamura K, Yoshioka T, Meguro T, Nishikomori R, Heike T, Inobe M, Kon S, Uede T, Nakahata T. : Differential Requirement for the CD40-CD154 Costimulatory Pathway during Th Cell Priming by CD8 + and CD8 - Murine Dendritic Cell Subsets. *The Journal of Immunology* 172:4826-4833, 2004.

Kambe N, Hiramatsu H, Shimonaka M, Fujino H, Nishikomori R, Heike T, Ito M, Kobayashi K, Ueyama Y, Matsuyoshi N, Mayachi Y, Nakahata T. : Development of both human connective tissue-type and mucosal-type mast cells in mice from hematopoietic stem cells with identical distribution pattern to human body. *Blood* 103(3):860-867, 2004.

Okada M, Adachi S, Imai T, Watanabe K, Toyokuni S, Ueno M, Zervos A.S, Kroemer G, Nakahata T. : A novel mechanism for imatinib mesylate-induced cell death of BCR-ABL-positive human leukemic cells : caspase-independent, necrosis-like programmed cell death mediated by serine protease activity. *Blood* 103(6): 2299-2307, 2004.

Nanatsu-Shinohara, M., Inoue, M., Lee, J., Yoshimoto, M., Oganuki, N., Miki, H., Baba, S., Kato, T., Kazuki, Y., Toyokuni, S., Toyoshima, M., Niwa, O., Oshimura, M., Heike, T., Nakahata, T., Ishino, F., Ogura, A., and Shinohara, T. Generation of pluripotent stem cells from neonatal mouse testis. *Cell* 119:1001-1012, 2004.

Yasumi T, Katamura K, Okafuji I, Meguro T, Nishikomori R, T, Kusunok Ti, Heike T, and Nakahata T :Limited Ability of Antigen-Specific TH1 Responses to Inhibit TH2 Cell Development In Vivo. *J Immunol* 174:1325-1331,2005

Iida M, Heike T, Yoshimoto M, Baba S, Doi H, and Nakahata T: Identification of cardiac stem cells with FLK1,CD31,and VE-cadherin expression during embryonic stem cell differentiation. *The FASEB Journal·Research Communication* 19:371-378,2005

研究成果の発表状況

この研究費による成果の発表に限り、学術誌等に発表した論文（投稿中の論文を記入する場合は、掲載が決定しているものに限ります。）の全著者名、論文名、学協会誌名、巻（号）、最初と最後のページ、発表年（西暦）及び国際会議、学会等における発表状況について、3頁以内に収めて記入してください。

Sawada J , Shimizu S, Tamatani T, Kanegasaki S, Saito H, Tanaka A, Kambe N, Nakahata T , and Matsuda H : Stem Cell Factor Has a Suppressive Activity to IgE-Mediated Chemotaxis of Mast Cells. *J Immunol* 174 3626-3632,2005

Yoshimoto M, Chang H, Shiota M, Kobayashi H, Umeda K, Kawakami A, Heike T, Nakahata T : Two Different Roles of Purified CD45+c-Kit+Sca-1+Lin-Cells After Transplantation in Muscles. *Stem Cells* 23:610-618, 2005

Nagato M, Heike T, Kato T, Yamanaka Y, Yoshimoto M, Shimazaki T, Okano H, and Nakahata T : Prospective Characterization of Neural Stem Cells by Flow Cytometry Analysis Using a Combination of Surface Markers . *J Neuro Res* 2005 80:456-466, 2005

Atsunori Tsuchiya, Toshio Heike, Hisanori Fujino, Mitsutaka Shiota, Katsutsugu Umeda, Momoko Yoshimoto, Yasunobu Matsuda, Takafumi Ichida, Yutaka Aoyagi, and Tatsutoshi Nakahata : Long-term Extensive Expansion of Mouse Hepatic Stem/Progenitor Cells in a Novel Serum-Free Culture System. *Gastroenterology* 128:2089-2104, 2005

Hamahata K, Adachi S, Matsubara H, Okada M, Imai T, Watanabe K, Toyokuni S, Ueno M, Wakabayashi S, Katanosaka Y, Akiba S, Kubota M, and Nakahata T : Mitochondrial dysfunction is related to necrosis-like programmed cell death induced by A23187 in CEM cells. *Eur J Pharmacol* 516:187-196, 2005

Kanazawa N, Okafuji I, Kambe N, Nishikomori R, Nakata-Hizume M, Nagai S, Fuji A, Yuasa T, Manki A, Sakurai Y, Nakajima M, Kobayashi H, Fujiwara I, Tsutsumi H, Utani A, Nishigori C, Heike T, Nakahata T, Miyachi Y. : Early-onset sarcoidosis and CARD15 mutations with constitutive nuclear factor- κ B activation: common genetic etiology with Blau syndrome *Blood* 105:1195-1197, 2005.

Kawamura T., Ono K., Morimoto T., Wada H., Hirai M., Hidaka K., Morisaki T., Heike T., Nakahata T., Kita T, and Hasegawa K.: Acetylation of GATA-4 is involved in the differentiation of embryonic stem cells into cardiac myocytes. *J. Biol. Chem.* *J Biol Chem* 280: 19682-19688, 2005

Yoshimoto M., Chang H., Shiota M., Kobayashi H., Umeda K., Kawakami A., Heike T., and Nakahata T.: Two different roles of purified CD45+ c-kit+ Sca-1+ Lin- cells after transplantation in muscles *Stem Cells* 23: 610-618, 2005.

Saito, M., Fijisawa, A., Nishikomori, R., Kambe, N., Nakata-Hizume, M., Yoshimoto, M., Ohmori, K., Okafuji, I., Yoshioka, T., Kusunoki, T., Miyachi, Y., Heike, T., and Nakahata, T.: Somatic mosaicism of CIAS1 in a patient with chronic infantile neurogenic, cutaneous, articular syndrome. *Arthritis & Rheumatism* 52: 3579-3585, 2005.

Umeda K, Heike T, Yoshimoto M, Shinoda G, Shiota M, Suemori H, Luo HY, Chui DHK, Torii R, Shibuya M, Nakatsuji N, Nakahata T : Identification and characterization of hemangiogenic progenitors during cynomolgus monkey embryonic stem cell differentiation. *Stem Cells* in press 2006

Kato T, Heike T, Okawa K, Haruyama M, Shiraiishi K, Yoshimoto M, Nagato M, Shibata M, Kumada T, Yamanaka Y, Hattori H, Nakahata T : A neurosphere-derived factor, Cystatin C, supports differentiation of ES cells into neural stem cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* in press 2006