

幹細胞・iPS細胞、学内学術交流会

プログラム・抄録・共同研究エントリーリスト

10月26日（月）17:00～

岐阜大学医学部大会議室（医学部本館1階）



幹細胞・iPS細胞、学内学術交流会

目次

- ・趣旨、参加のご案内 ----- 2
- ・プログラム ----- 3
- ・講演抄録 ----- 4~17
- ・共同研究エントリーリスト ----- 18~24

趣旨

本会は、最近話題の iPS 細胞を含む幹細胞の基礎研究から臨床応用までを大学内の様々な分野の方たちに討論していただき、交流を深め、専門分野を越えた情報交換、技術交流、研究プロジェクトの共同推進等を促進することを目的とします。専門分野を問いません。また、本交流会を契機に学術交流、共同研究が発展するよう、共同研究エントリーリストを掲載しました。

参加メンバー

幹細胞・iPS細胞研究に興味のある学内の方ならどなたでもOKです。

発表について

口演は、発表・討論合計時間がプログラムに記載してあります。記載時間から2分間を差し引いた時間を発表時間の目安にしてください。

あらかじめ発表演題ファイル（PowerPoint）を事務局までお届け願います。

学術交流会・会長

組織・器官形成分野 國貞隆弘 教授

事務局（お問い合わせ先）

腫瘍病理学分野 原 明

連絡先 内線 6225（ダイヤルイン 058-230-6225）

E-mail ahara@gifu-u.ac.jp

プログラム

【座長は置かず、司会者・原（腫瘍病理学）が全プログラムを進行予定です】

17:00~17:05

開会の挨拶 : 國貞隆弘 教授（組織・器官形成）

17:05~17:40

I. 幹細胞研究の基礎

演題① 現状と課題（15min）: 國貞隆弘 教授（組織・器官形成）

演題② iPS 細胞研究とがん（10min）: 山田泰広 准教授（腫瘍病理学）

演題③ iPS バンク（10min）: 手塚建一 准教授（組織・器官形成）

17:40~18:15

II. 幹細胞研究の応用

演題④ 再生医療の可能性について（15min）: 湊口信也 教授（循環病態学）

演題⑤ 医療への応用 CPC（10min）: 柴田敏之 教授（口腔病態学）

演題⑥ 神経変性疾患への応用 -メタロチオネインの活用-（10min）:

保住 功 臨床教授（神経内科・老年学）

18:20~19:05

III. 糖鎖研究からみた幹細胞研究

演題⑦ iCeMS での岐阜大学サテライトの役割と展望（15min）:

木曾 真 教授（生理活性物質学、iCeMS）

演題⑧ 神経の発生分化と糖鎖、がん抗原と糖鎖（10min）: 安藤弘宗 准教授（同上）

演題⑨ 免疫と糖鎖（10min）: 石田秀治 教授（生理活性物質学）

演題⑩ 細胞増殖とグリコサミノグリカン（10min）:

矢部富雄 准教授（食成分機能化学）

19:05~19:40

IV. 若手研究者からのプレゼンテーション（実験計画のみでも OK）

演題⑪ 筋芽細胞を筋肉細胞に分化させずナース細胞に分化させる旋毛虫（8min）:

呉志良 講師（寄生虫学）

演題⑫ 小児科領域での疾患特異的 iPS 細胞を使用した研究の方向性（8min）:

船戸道德 臨床講師（小児病態）

演題⑬ 脂肪組織における前脂肪細胞と幹細胞の分布（8min）:

梶田和男 講師（総合病態内科）

演題⑭ 微小環境と幹細胞分化（8min）: Binh 大学院生（腫瘍病理学）

19:40~19:45

閉会の挨拶 : 木曾 真 教授（生理活性物質学、iCeMS）

演題①

幹細胞研究の基礎・現状と課題

岐阜大学大学院医学系研究科 組織・器官形成分野

國貞隆弘

幹細胞・iPS 細胞研究は薬剤の代わりに細胞を用いて疾病を治療する画期的な再生治療の基盤技術として急速に発展しつつある。血液幹細胞やそれに由来する細胞あるいはケラチノサイト幹細胞から作製した再生表皮は医療として産業化されているが、その他の多くの幹細胞は実用化の途上であり、確実に再生医療に利用できる保証はない。このような現状で、iPS 細胞を再生医療の救世主のように扱うのは、単にどの動物のどの体細胞からも分化能力の高い幹細胞を樹立することが可能になったというだけなのだから、間違いである。

それでも、iPS 細胞の発明により再生医療に関する最大の障害であった倫理的問題と免疫による拒否反応が原理的に解決されたことは、結果的に研究分野のさらなる活性化をもたらした。つまり、これまで実用化に原理的な不安があるので幹細胞研究に乗り気でなかった医師の方々に対し、実用化を前提に安心して幹細胞研究を行える時代になったことを強調したい。

我々は、大学で研究する者として、新しい革新的な医療技術を生み出し、その発展を支える責務を負っており、幹細胞・iPS 細胞研究は挑戦する価値のある最高の研究課題の一つであることを訴えたい。

演題②

iPS 細胞作製技術を用いたエピジェネティクスがん研究

岐阜大学大学院医学系研究科 腫瘍病理、組織器官形成
山田泰広、青木仁美、波多野 裕一郎、國貞隆弘、原 明

遺伝子の塩基配列変化を伴わない、DNA メチル化に代表される塩基配列の化学修飾様式（エピジェネティクス）の異常が、発がん重要な役割を果たしていることが明らかになりつつあります。我々は、現在までに、家族性大腸腺腫症のモデルマウスを用いて、DNA メチル化異常が大腸がんの進展に重要な役割を果たすことを示してきました。最近の研究から、DNA メチル化異常は細胞分化異常を介して大腸発がんを促進的に働くことが明らかとなり、がん細胞におけるエピジェネティック異常と細胞分化異常との関連が示唆されています。本研究では iPS 細胞作製技術を用いて、がん細胞のエピジェネティック異常をリセットを試みます。まずは、がん細胞のエピジェネティック状態を iPS 細胞作製技術により、積極的に変化させます。がん細胞において、遺伝子配列異常とエピジェネティック状態との解離をもたらすことにより、がん細胞の生物学的特徴がどのように変化するかを検討し、がん細胞におけるエピジェネティック異常の意義を明らかにしたいと考えています。さらには、エピジェネティック状態強制変化後のがん細胞のエピジェネティック修飾変化を解析することで、がんにおけるエピジェネティック異常の起源を同定し、その知見を新たな“エピジェネティックがん治療”開発へと発展させることを目指しています。本学術交流会では、現在までの研究で得られたプレリミナリーな実験結果を報告し、今後の方針について議論したいと思っております。

演題③

ヒト歯髄幹細胞バンクの構築とiPS細胞への誘導

岐阜大学大学院医学系研究科 組織・器官形成分野 口腔病態学分野
手塚建一、玉置也剛、飯田一規、武田知子、國貞隆弘、柴田敏之

若年者の親知らず（智歯）は、智歯周囲炎などの理由により、未完成の状態で抜歯される事がある。また、成人の完成歯も、齲蝕や歯槽膿漏などが原因となって抜歯される。これらの歯は、これまで医療廃棄物として捨てられていた。われわれは、様々な年齢層の、約200例の歯の歯髄組織から、増殖能の高い歯髄幹細胞を単離、培養し、凍結保存した。また、細胞を単離する際に、HLAタイピングもおこなっている。

近年、ヒトの体細胞に Oct3/4, Sox2, Klf4, c-Myc などの外来因子を導入して、人工多能性幹細胞（iPS 細胞）を誘導する報告が相次いでいる。そして、使用する細胞の種類によって、iPS 細胞の誘導効率や、分化させた場合の性質が異なることがわかって来た。われわれも京都大学の山中教授のグループと共同で、上記の4因子、c-Mycを除いた3因子、さらに Oct3/4 と Sox2 の2因子の導入によって、歯髄幹細胞から、iPS 細胞が誘導できる事を見いだした。京都大学の中辻教授らは、HLA-A, B, DR ローカスがホモの50種類から成るES 細胞バンクを構築すれば、約9割の日本人に移植可能な細胞が得られると試算した。われわれの細胞バンクにおいても、既に2例の3ローカスホモの歯髄幹細胞を見いだしている。他家移植も考慮した再生医療を目指したiPS 細胞バンク構築にとって、幅広い年齢の患者から得られ、しかも発ガンリスク因子と考えられるc-Mycを用いなくてもiPS細胞誘導ができる歯髄幹細胞のバンクは、将来有望な細胞資源となり得るだろう。

再生医療の可能性について

岐阜大学大学院医学系研究科 循環病態学 湊口信也

下肢閉塞性動脈硬化症

日本では、食事の欧米化、糖尿病の増加、高齢化により動脈硬化性疾患が急増し、特に、下肢閉塞性動脈硬化症は増加に一途をたどっている。下肢動脈閉塞症は、進行して重症化すると下肢切断にいたる悲惨な経過をたどる病気である。さらに、生存率は著しく不良であり、1年後死亡率は約20%である。従来、この疾患に対して、血管内治療を含めた血行再建術や薬物療法などを受けるも改善されない症例に対しては、骨髄単核細胞を用いた細胞治療または腫瘍血管新生 (tumor angiogenesis) の分子機序の則り血管増因子 (VEGF, FGF, HGF) の局所投与を行ってきたが、細胞治療は、全身麻酔による骨髄採取を要するため患者に対する負担が大きく、効果も小さく長期にわたる効果は期待できない。また、腫瘍血管新生による臨床試験では効果はほとんど無いか、あっても軽度であり、現時点では決定的な治療法として普及するにはいたっていない。その理由として、1) 現行の方法では血管内皮細胞を有する細い血管新生は得られても、血管平滑筋細胞を有する太い血管新生が得られていない、2) 増量しても副作用が出現して大きな効果が得られない、3) 患者から得られる骨髄細胞の活性が低下している、などがあげられる。そのため、重症下肢動脈閉塞症に対する患者負担が小さく効果も大きくかつ長期にわたる効果の期待できる新しい血管再生治療方法の開発が急務である。ゼラチンハイドロゲル粒子にエリスロポエチン (EPO) を含浸させ、重症下肢動脈閉塞症の下肢虚血部分に直接注射することにより、ゼラチンハイドロゲル粒子から約2週間かけてEPOが徐放され虚血部分に選択的持続的に高濃度に発現する結果、血管平滑筋を有する成熟した比較的太い新生血管の再生 (arteriogenesis) が起こり、下肢血流が改善することを動物実験にて報告した。当科では、下肢動脈閉塞性動脈硬化症の患者に対してEPO含浸ゼラチンハイドロゲル粒子を用いて血管再生療法を行う予定である。

急性心筋梗塞

重症大型心筋梗塞では、左室リモデリングが進行し心不全に陥るため予後が極めて悪い。したがって、壊死心筋組織を修復再生し、左室リモデリングを改善できれば予後は改善するが、造血系サイトカイン投与が、梗塞心筋組織を再生・修復し左室リモデリングを改善することを報告している(1, 2)。生体吸収性ゼラチンハイドロゲルシートにEPOを含浸させたEPO-ゼラチンシートをウサギ心筋梗塞後の梗塞部位に貼付することにより心筋局所にEPOを高濃度に持続的に投与した場合、梗塞サイズ縮小、prosurvival signalsのAkt, ERK, Stat3, VEGFの活性化、MMP-1の発現、血管再生が起こり、心機能改善、左室リモデリング改善を示すことを報告している(2)。この方法は外科的療法であるため内科的療法を開発する必要がある。EPOの持つ心筋組織再生修復能を副作用なく最大限に引き出すため、分子標的指向性ナノ粒子糖鎖リポゾームを用いるdrug delivery system (DDS)により、EPOを梗塞心筋組織に選択的に作用させることにより、標的指向性ナノDDSサイトカインEPO修復再生療法を開発する必要がある。当科では木曾研究室と共同研究で分子標的指向性ナノ粒子糖鎖リポゾームの中にEPOを内包させ、EPOを障害心筋組織に選択的に集積させることにより梗塞心筋修復再生を目指す。

演題⑤

幹細胞研究の医療への応用とそのために必須の CPC 施設構築

岐阜大学大学院医学系研究科 口腔病態学分野

柴田敏之

幹細胞研究は細胞・生物学的な探求とともに、それを応用した再生医療への展開が期待されているが、臨床応用するためには GMP 基準に準拠した施設機器の整備が不可欠なものとなっている。岐阜大学では、臨床応用可能なエリア内クラス 100 レベルに維持可能な空調の整った施設は整備されていなかったが、昨年度の再生医療推進整備事業（厚生労働省）に採択され、これに大学本部、医学部および各研究分野等の多くの方々の協力を得て、現在、医学部本館 5F に GMP 基準に準拠する CPC が設置中となっている。施設概要は、クラス 10000 レベルを維持可能なエリア内にセルプロセッシングアイソレーターモジュールを設置し、このモジュール内に細胞観察モジュール・遠心分離モジュールを組み込み、全ての細胞調整がクラス 100 レベルで行える構造で、この本体モジュールに細胞培養モジュールをドッキングすることにより、細胞調整後の細胞を個々に独立して培養可能なシステムとなっている（これにより CPC 運用に関わるコストを低くすることが可能）。本年中に機器の設置と施設改修が完了する予定であり、その後、来年春頃を目途に臨床応用に向けた厚生労働省の認可を受る予定となっている。今回は、この施設の積極的な活用アイデアを呼びかけるために施設の概要および進捗状況を説明するとともに、口腔病態学分野で予定している臨床応用を例として説明する。

演題⑥

神経変性疾患への応用 —メタロチオネインの活用—

岐阜大学大学院医学系研究科神経内科・老年学分野

保住 功、橋本和宜、林 祐一、香村彰宏、山田 恵、櫻井岳郎、
木村暁夫、田中 優司、犬塚 貴

岐阜大学大学院医学系研究科口腔病態学 柴田敏之

岐阜大学大学院医学系研究科組織・器官形成分野 國貞隆弘

岐阜大学人獣感染防御研究センター 桑田一夫

岐阜大学大学院医学系研究科内分泌代謝病態学分野 堀川幸男

ヒト歯髄由来の iPS 細胞を神経細胞に分化誘導し、環境因子と老化（時間的）因子を加え、細胞障害、細胞死を誘導し、メタロチオネイン (MT) を軸とした治療効果を確認する。筋萎縮性側索硬化症 (ALS)、パーキンソン病 (PD)、アルツハイマー病 (AD) などの神経変性疾患患者の不要となった歯髄やさらには非侵襲的に摂取した歯根部骨膜を用いて、iPS 細胞を作成し、運動ニューロンやドーパミン産生細胞などの各種神経細胞に分化誘導する。これらの細胞を培養し、時間的因子、酸化ストレスや銅 (Cu)、亜鉛 (Zn) といった重金属付加など障害となる環境因子を付加してその病態を明らかにする。我々はこれまで、ヒト ALS の剖検脊髄の免疫組織学的検索で、MT の isoform である MT-I/II、MT-III の著明な免疫活性の低下を確認した。特にその統計学的解析でヒト腰髄の灰白質のアストロサイトの MT-III の免疫活性が経時的に低下していることを認めた。そこで MT-IIIcDNA を組み込んだアデノウイルスを用いて、ALS モデルマウス (G93ASOD1Tg マウス) で治療を行い、MT-III の有効性を認めている。MT-III そのもの、あるいはその立体構造から論理的創薬で算出した結合低分子化合物を用いて、細胞障害や細胞死を抑制する。また結合低分子化合物の立体構造を改良し、有効な化合物を開発する。動物モデルだけでなく、ヒト iPS 細胞を使って、神経変性疾患の病態解明と創薬を目指したい。

演題⑦

iCeMS での岐阜大学サテライトの役割と展望

岐阜大学応用生物科学部 生理活性物質学分野

京都大学物質-細胞統合システム拠点 (iCeMS) サテライト PI

木曾 真

iCeMS は、物質-細胞統合科学という新しい融合学問領域の開拓を目指す国際拠点として、2007年10月1日に設立されました。研究期間は10年程度で、「メゾ制御 (Meso-Control)」と「幹細胞 (Stem Cell)」の2つの基本概念を基礎とし、物理学、化学、細胞生物学の **crossdisciplinary** な融合を目指しています。岐阜大学サテライトでは、この2つの基本概念を基に、様々な生命現象に関する糖鎖 (糖質) 機能の分子基盤を明らかにし、医学生物学への応用を目指します。そのために、自在かつ強力な糖鎖合成法の開発に注力するとともに、多彩な生理活性糖鎖と機能性糖鎖プローブを擁するグリコバンクの創成を進めます。さらにそれらの糖鎖分子を活用して、分子細胞生物学、構造生物学、生物物理学との学際研究を展開します。

演題⑧

神経の発生分化と糖鎖、がん抗原と糖鎖

岐阜大学応用生物科学部生理活性物質学研究室
京都大学物質－細胞統合システム拠点 (iCeMS)

安藤弘宗、石田秀治、木曾 真

細胞表面の糖鎖には、細胞性免疫、ウイルス、細菌感染などの動的なイベントで細胞認識に関わる重要な機能を発揮することが知られており、分子レベルでの認識機構の解明が進んでいる。また、一方で、細胞の発生、分化、増殖、がん化では、固有の糖鎖構造が段階特異的に発現することが知られており、一部の糖鎖はがんマーカーとして臨床応用されている。また、ES細胞、iPS細胞では、SSEA-1, 3といった糖鎖が発現しており、未分化状態をしめすマーカーとして利用されている。しかしながら、これらの糖鎖の発現が、発生学的事象においてどのような役割、意義を持つのかが不明な点が多い。本研究室では、そのような糖鎖抗原のもつ生物学的な意義を化学的なアプローチにより解明し、細胞の分化制御に対する糖鎖の機能応用を目指している。本発表では、神経細胞の発生分化に関わる糖鎖およびがん化に関わる糖鎖に焦点を当て、これまで本研究室が化学合成した糖鎖プローブをもちいて解明された糖鎖－タンパク質認識における構造特異性などを紹介させていただく。

演題⑨

免疫と糖鎖

岐阜大学応用生物科学部 生理活性物質学分野

石田 秀治

糖鎖は大きく分けて2つの方向から免疫に関与している。一つは抗原としての機能であり、例えば自己の糖鎖に対して抗体が出来てしまうとギランバレー症候群のような神経疾患が発症する事が知られている。もう一つは免疫担当細胞に発現するレクチンに対するリガンド分子としての機能である。例えば白血球に発現するL-セレクチンやB細胞に発現するCD22が代表的なレクチンである。B細胞はiPS細胞への誘導が進められている細胞の一つであり、その機能を制御する上でリガンド糖鎖の寄与は重要である。

演題⑩

細胞増殖とグリコサミノグリカン

岐阜大学 応用生物科学部 食成分機能化学研究室
矢部富雄

グリコサミノグリカンとは、細胞表面や細胞外マトリクスにみられるプロテオグリカンの糖鎖部位の総称であり、線虫から哺乳類にいたるまで広範囲の動物に存在している。グリコサミノグリカンは、分子内に硫酸基が複雑に付加されることでさまざまな硫酸化パターンを形成し、これにより、細胞増殖因子や細胞接着因子などの分子と相互作用して、多様な生物学的活性を示す。最近、グリコサミノグリカンの一種であるヘパラン硫酸を標的とした化合物の添加により、非接着性のリンパ球細胞が接着性の細胞へと変化し、さらに増殖速度が向上することが報告された。これは、幹細胞や iPS 細胞を培養する段階で問題となる細胞増殖速度を改善できる可能性を示唆する知見である。しかしながら、グリコサミノグリカンがどのように細胞増殖に関与しているのか、まだ不明な点が多い。

そこで我々は、グリコサミノグリカンの硫酸化パターンを特異的に識別する分子ツールの開発を通して、グリコサミノグリカンが関与する細胞増殖を含む生物学的活性の分子機構の解明を目指している。本発表では、ヘパリン糖鎖を硫酸化パターン特異的に認識する分子プローブのスクリーニング手法と、得られた分子プローブの特性について紹介する。

演題①

筋芽細胞を筋肉細胞に分化させずナース細胞に分化させる旋毛虫

岐阜大学大学院医学系研究科 寄生虫学分野

呉志良、長野功、浅野一信 高橋優三

組織寄生性の線虫、旋毛虫は巧妙な寄生虫である。宿主の筋肉細胞の中に侵入するやいなや、この筋肉細胞を自分の世話をする細胞（ナース細胞）にトランスフォームさせる。さらにこの感染で傷害を受けた筋肉細胞に置き換わろうとして増殖した筋芽細胞をも、ナース細胞に分化させる。こうして、旋毛虫はナース細胞に、自分が必要な栄養を供給させ、排泄物の処理をさせるが、これを例えて言うなら敵陣に乗り込んで、敵兵を手なづけ、敵兵の服を着つつ、敵兵に自分の寝食の世話をさせるようなものである。

このナース細胞は形態的にも機能的にも、元々の筋肉細胞とは似ても似つかない細胞である。宿主の筋肉細胞は、出生後に感染してきた寄生虫の世話をするための形態も機能も出生前に用意していないはずである。つまり筋肉細胞は、このような寄生虫の世話をする細胞に成り果てる遺伝子を持っていない。旋毛虫は、いかなる機序でこのような細胞に分化させるのか、不明である。ただし、このナース細胞の形成が、旋毛虫感染を契機におこっているため、原因と結果がはっきりしており、実験系としてこの旋毛虫の感染は、最終分化細胞である筋肉細胞の脱分化と再分化の過程、幹細胞の分化の制御機序など、種々の研究に最適であると考えられる。

われわれは、上記のナース細胞形成の過程を（１）電子顕微鏡による超微細構造と（２）局所の細胞で発現される蛋白や遺伝子、の視点で明らかにした。

さらに、このような宿主の細胞の分化を制御する旋毛虫の分泌蛋白質を同定し、組み換え蛋白として合成するために、旋毛虫の cDNA ライブラリーを作製し、すでに約 20 の蛋白をクローニングし、その機能を同定しつつある。

小児科領域での疾患特異的iPS細胞を使用した研究の確立

岐阜大学大学院医学系研究科小児病態学

○ 船戸道徳 大西秀典 加藤善一郎 金子英雄 深尾敏幸 近藤直実

ほとんどすべての疾患の発症には、程度の差こそあれ、遺伝的要因と環境要因が関与している。小児科領域では、免疫不全症、脊髄筋萎縮症、代謝異常症などの遺伝的要因が関与し、いまだに有効な治療法もなく、いわゆる難病のままとなっている疾患が数多くある。また、遺伝的要因に環境要因が加わって発症するアレルギーや薬物の有害事象などの疾患は日常的な診療となっている。こうした疾患の病態解明には、現在、患者血球細胞や患者線維芽細胞を用いて、分子生物学的研究や薬剤感受性試験などを行っているがその限界を感じることも多い。今回、iPS細胞が樹立され、それを神経細胞や内胚葉系細胞等に分化させることで、より生体に近い実験系が可能になったのはもちろん、特に疾患特異的 iPS 細胞は、より個人に近い、つまり、遺伝的要因を含めた実験系が可能になった。

ある免疫不全症ではエンドトキシンに寛容となり、エンドトキシンショックにならないことがある。この場合、以前からの患者血球細胞のみのサイトカイン産生の研究だけでは病態解明に至らなくとも、患者体細胞から iPS 細胞を樹立し、血管内皮細胞や肝細胞に分化させることでさらに進んだ実験を行い、病態解明に至る可能性がある。また、急性リンパ性白血病で使用する L-アスパラギナーゼは急性膵炎の重篤な有害事象が知られているが、未だにその病態ははっきりしていない。今回、疾患特異的 iPS 細胞を樹立し、膵細胞に分化させることで、これまで困難であったアッセイも可能になると考えられる。

こうした疾患特異的 iPS 細胞を利用し、数多くの疾患特異的な現象の再現性、発症機序、薬剤感受性、さらにはその再生医療を含めた治療法に関する研究を行いたいと考えている。

演題⑬

脂肪組織における前脂肪細胞と幹細胞の分布

岐阜大学大学院医学系研究科 総合病態内科学

梶田和男、花本貴幸、藤岡圭、岡田英之、山内雅裕、宇野嘉弘、
森田浩之、石塚達夫

脂肪細胞は中胚葉系幹細胞から前脂肪細胞を経て成熟脂肪細胞になると考えられている。しかし中胚葉系幹細胞と前脂肪細胞は形態学的に識別不能とされており、機能的な差については殆ど検討されていない。また脂肪組織は皮下脂肪と内臓脂肪に分類されるが、この脂肪細胞の差についても、解剖学的に位置による環境的なものか、別の細胞と考えるべきかについて、結論は出ていない。我々は前脂肪細胞を **preadipocyte factor-1 (Pref-1)**、幹細胞を **Oct4** をマーカーとして、両者の分布の差を検討した。(方法) 対象は遺伝的肥満ラットである **OLETF** を、**LETO** をコントロールとし、生後 7 週と 29 週に皮下脂肪、傍精巣脂肪、腸間膜脂肪を採取し、それぞれのマーカーで免疫染色を行った。(結果) 生後 7 週の時点で、**LETO**、**OLETF** の体重はそれぞれ、142 g、171g であり、29 週で、500 g、700 g であった。**Pref-1** 陽性細胞は皮下脂肪では集塊を作る傾向をみせ、傍精巣脂肪、腸間膜脂肪では血管周辺に散在した。7 週と 29 週では後者に多く、皮下脂肪では特に **LETO** に比べ、**OLETF** で多かった。**Oct4** は 29 週で皮下脂肪に少数ながら認められたが、**LETO** と **OLETF** に差は認められなかった。(考察と結論) **Oct4** は幹細胞の機能維持に必須であり、**Pref-1** は成熟脂肪細胞への分化を抑制するとされている。今回幹細胞と前脂肪細胞を、機能に基づくマーカーにより識別し得た。肥満により **Pref-1** 陽性細胞が増えているが、これは以前我々が見出した、肥満状態で **stromal vascular fraction** の増殖が増えるという結論に一致した。今後中胚葉系幹細胞のマーカーを用いて、肥満その他の状態における相互の細胞の分布につき検討する予定である。

To develop the hypoxia microenvironment model in vitro by using cobalt chloride and its effects on inducing ES cells into neurosphere

Binh NH¹, Aoki H², Taguchi A¹, Yamada Y¹, Hara A¹

¹Department of Tumor Pathology, and ²Department of Tissue and Organ Development, Gifu University Graduate School of Medicine, Gifu, Japan.

Neural stem cells can be derived from single mouse embryonic stem cell. Recent studies show that hypoxia enhances neurogenesis in vivo and in vitro. Cobalt chloride has been widely used as hypoxia mimic in cell culture and it is known to activate hypoxia signaling by stabilizing the hypoxia inducible transcription factor 1 α (HIF1 α). Our study is conducted to determine the affects of cobalt chloride on inducing mouse embryonic stem cells (mES cells) into neuro stem cells (neuro spheres). There are 2 steps: (1) Induction of neural stem cells; (2) differentiation of neural stem cells. Step (1) : mES cells (line D3) are co-cultured with mouse stroma cells (PA6) for 6 days. Step (2) : all cells are trypsinized and seeded in 75cm³ flasks for 6 days in presence of cobalt chloride 0, 20, 50, 100, 150 μ M. Neural stem cells markers are checked by Immunohistochemistry (IHC) and Realtime PCR. To confirm the affect of cobalt chloride on inducing neural differentiation by making a comparision between 5 among chloride concentration groups.

共同研究エントリーリスト



- ①所属・職名 名前 メールアドレス
- ②幹細胞・iPS細胞研究への構想（100字以内）
- ③現状の研究内容（100字以内）
- ④他分野研究者に提供できる研究技術、研究機器等（150字以内）
- ⑤アピールしたい論文業績があれば数編記入

- ① 組織・器官形成分野・教授・國貞隆弘 tkunisad@gifu-u.ac.jp
- ② 日本人由来のiPS細胞バンクを樹立し、再生医療に用いる。幹細胞の分化機構を明らかにし、未分化のまま維持する条件と分化に必要な条件を明らかにする。
- ③ iPS細胞の効率的な誘導法の開発と日本人由来のiPS細胞株の樹立。幹細胞から色素細胞、網膜組織の分化誘導。
- ④ iPS細胞の樹立。各種幹細胞の精製。セルソーター。
- ⑤ ・Motohashi T, Aoki H, Chiba K, Yoshimura N, Kunisada T. Multipotent cell fate of neural crest-like cells derived from embryonic stem cells. *Stem Cells*. 25, 402-410, 2007
・Aoki H, Hara A, Niwa M, Motohashi T, Suzuki T, Kunisada T. An in vitro mouse model for retinal ganglion cell replacement therapy using eye-like structures differentiated from ES cells. *Exp Eye Res*. 84, 868-875, 2007.
・Tsuji Y, Yoshimura N, Aoki H, Sharov AA, Ko MS, Motohashi T, Kunisada T. Maintenance of undifferentiated mouse embryonic stem cells in suspension by the serum- and feeder-free defined culture condition. *Dev Dyn*. 237, 2129-2138, 2008.
・Aoki H, Yamada Y, Hara A, Kunisada T. Two distinct types of mouse melanocyte: differential signaling requirement for the maintenance of non-cutaneous and dermal versus epidermal melanocytes. *Development*. 136, 2511-2521, 2009.

☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆

- ① 医学部腫瘍病理・准教授 山田泰広 y-yamada@gifu-u.ac.jp
- ② iPS細胞作製技術を用いて、がん細胞のgenomeとepigenomeに解離をもたらすことにより、がん細胞の生物学的特徴がどのように変化するかを検討し、がん細胞におけるエピジェネティック異常の意義を明らかにしたい。
- ③ 家族性大腸腺腫症のモデルマウスを用いて、大腸腫瘍細胞のリプログラミングを試みている。
- ④ 遺伝子改変マウス作製、マウス個体におけるドキシサイクリンを用いた遺伝子誘導技術などのmouse geneticsに関わる技術。
- ⑤ ・Yamada Y, Mori H. Multistep carcinogenesis of the colon in Apc (Min/+) mouse. *Cancer Sci*. 2007 98(1):6-10.
・Hochedlinger K, Blelloch R, Brennan C, Yamada Y, Kim M, Chin L, Jaenisch R. Reprogramming of a melanoma genome by nuclear transplantation. *Genes Dev*. 2004 18(15):1875-85.

☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆

- ① 医学部循環呼吸病態学・教授・湊口信也 minatos@cc.gifu-u.ac.jp
- ② 心筋梗塞後のリモデリング改善のためには梗塞心筋組織修復再生治療が必要である。そのためには、

iPS 細胞を含めた幹細胞を用いて心筋細胞・血管などの組織への分化をはかり、病変部位で定着させることができれば臨床の場でも応用できる可能性がある。

- ③ 骨髄幹細胞あるいは骨格筋細胞シートを用いた再生治療においても、その作用の本質はサイトカイン効果であると考えられており、我々は現状では、サイトカイン (G-CSF, erythropoietin) をゲラチンハイドロゲル、リポゾームを用いた DDS を応用してより効率的な梗塞心筋組織修復再生治療が臨床現場では現実的な方法と考えている。
- ④ G-CSF, erythropoietin などのサイトカインを用いた組織修復再生についての技術的な助言、相談には応じることができます。
- ⑤ 1) Kobayashi H, Minatoguchi S et al. Post-infarct treatment with an erythropoietin-gelatin hydrogel drug delivery system for cardiac repair. *Cardiovasc Res* 79: 611-620, 2008
2) Misao Y, Takemura G, Minatoguchi S et al. Bone marrow-derived myocyte like cells and regulation of repair-related cytokines after bone marrow cell transplantation. *Cardiovasc Res* 69: 476-490, 2006
3) Misao Y, Takemura G, Minatoguchi S et al. Importance of recruitment of bone marrow-derived CXCR4+ cells in post-infarct cardiac repair mediated by G-CSF. *Cardiovasc Res* 71: 455-46, 2006:
4) Li Y, Takemura G, Minatoguchi S et al. Reduction of inflammatory cytokine expression and oxidative damage by erythropoietin in chronic heart failure. *Cardiovasc Res* 71: 684-694, 2006
5) Li Y, Takemura G, Minatoguchi S et al. Preventive effect of erythropoietin on cardiac dysfunction in doxorubicin-induced cardiomyopathy. *Circulation* 113: 535-543, 2006
6) Minatoguchi S et al. Acceleration of the healing process and myocardial regeneration may be important as a mechanism of improvement of cardiac function and remodeling by postinfarction granulocyte colony-stimulating factor treatment. *Circulation* 109, 2572-2580, 2004

☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆

- ① 医学部 口腔外科 (口腔病態学分野) 教授 柴田敏之 shibat@gifu-u.ac.jp
- ② 医療廃棄物である抜去歯牙の歯髄組織からの組織幹細胞の回収・バンク化と iPS 細胞化 (潜在能力の検証)。口腔粘膜・骨膜からの培養粘膜・骨膜による欠損補填と機能回復。
- ③ 正常および ALS、ミトコンドリア脳筋症 etc の方から樹立したヒト歯髄由来組織幹細胞の樹立 (約 120 ライン内 iPS 細胞化同意約 100 ライン)。正常ヒト歯髄由来組織幹細胞からの iPS 細胞の樹立 (高効率・2 因子での iPS 化)。低酸素培養によるステムネス性維持と初期培養効率の向上。
- ④ ライブラリー化した正常ヒト歯髄由来組織幹細胞・iPS 細胞の供与。ALS 等の疾患解明・治療法開発のための組織幹細胞の樹立・提供。
- ⑤ Takeda T, Tezuka Y, Horiuchi M, Hosono K, Iida K, Hatakeyama D, Miyaki S, Kunisada T, Shibata T, Tezuka K. Characterization of dental pulp stem cells of human tooth germs. *J Dent Res* 2008; 87: 676-681

☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆

- ① 神経内科・老年学分野・臨床教授 保住 功 ihozumi@gifu-u.ac.jp
- ② 筋萎縮性側索硬化症(ALS)などの神経変性疾患患者の iPS 細胞を樹立し、各種神経細胞に分化誘導させ、酸化ストレスや重金属付加を加えて疾患の病態解明とメタロチオネイン (MT) を活用した創薬を目指す。
- ③ ALS モデルマウスを MT で治療し、極めて有望な結果を得た。神経変性疾患患者の歯髄から、iPS 細胞を樹立中 (柴田先生と共同)。MT の創薬として、低分子化合物 20 種を設計し、入手した (桑田先生と共同)。
- ④ 倫理委員会の承認が得られれば、ALS 他、パーキンソン病、アルツハイマー病など神経変性疾患の iPS 細胞が供給できる。MT アイソフォームのうち MT-I cDNA、MT-III cDNA を組み込んだアデ

ノウイルスを所有する。MT-III の monoclonal 抗体を有する (MT-I/II 抗体は市販)。MT-I/II、MT-III の各ノックアウトマウスを有する。各共同研究者の承諾が得られれば、供与可能である。

⑤ MT、ALS に関する論文業績

- Hozumi I, Suzuki J, Kanazawa H, Hara A, Saio M, Inuzuka T, Miyairi S, Naganuma A, Tohyama C: Metallothionein-3 is expressed in the brain and various peripheral organs of the rats. *Neurosci Lett*, 438: 54-58, 2008.
- Hozumi I, Yamada M, Uchida Y, Ozawa K, Takahashi H, Inuzuka T : The expression of metallothionein is diminished in the spinal cords of patients with sporadic ALS. *Amotrophic Lateral Sclerosis*, 9: 294-298, 2008.
- Nishihira Y, Tan C-F, Hoshi Y, Iwanaga K, Yamada M, Kawachi I, Tsujihata M, Hozumi I, Morita T, Onodera O, Nishizawa M, Kakita A, Takahashi H : Sporadic amyotrophic lateral sclerosis of long duration is associated with relatively mild TDP-43 pathology. *Acta Neuropathol*, 117: 45-53, 2009.
- Hashimoto K, Honda A, Hayashi Y, Inuzuka T, Satoh M, Hozumi I : DNA microarray of transcriptional responses of mouse spinal cords to physical exercise, *The Journal of Toxicological Sciences*, 34: 445-448, 2009.
- Hashimoto K, Hayashi Y, Inuzuka T, Hozumi I : Exercise induces metallothioneins in mouse spinal cord, *Neuroscience*, 163: 244-251, 2009.
- Kohmura A, Hamanaka J, Shimazawa M, Honda A, Tsuruma K, Uchida Y, Hozumi I, Satoh M, Inuzuka T, Hara H : Metallothionein-III knockout mice aggravates the neuronal damage after transient focal cerebral ischemia, *Brain Res*, 1294:148-154, 2009.
- Ito Y, Yamada M, Tanaka H, Aida K, Tsuruma K, Shimazawa M, Hozumi I, Inuzuka T and Hara H : Involvement of CHOP, an ER-stress apoptosis mediator, in both human sporadic ALS and ALS model mice, *Neurobiology of Disease*, in press.
- Kohmura A, Kakefuda K, Honda A, Ito Y, Tsuruma K, Shimazawa M, Uchida Y, Hozumi I, Satoh M, Inuzuka T, Hara H : Metallothionein-3 deficient mice exhibit abnormalities of psychological behaviors, *Neurosci Lett*, in press.

☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆

- ① 応用生物科学部・教授・木曾真 kiso@gifu-u.ac.jp
- ② 糖鎖、特にシアロ糖鎖分子や糖脂質ガングリオシドを活用して、細胞の分化・増殖、脱分化の制御系を開発し、癌、神経難病、重篤な免疫疾患などの臨床応用に資するような基礎研究を展開したい。
- ③ ES/iPS 細胞の細胞表面マーカーである SSEA-1, 3, 4 を合成し、ES 細胞への添加実験を開始した。
- ④ 癌関連糖鎖抗原、炎症や癌の転移に関係するセレクトリン糖鎖リガンド、MAG リガンド、CD22 の高親和性リガンド、ノイラミニダーゼ阻害剤、インフルエンザ及び細菌毒素レセプター糖鎖リガンドなど、多彩なシアロ糖鎖分子や糖脂質ガングリオシド。
- ⑤ • Robert A Childs et al., Receptor-binding specificity of pandemic influenza A (H1N1)2009 virus determined by carbohydrate microarray. *Nature Biotechnology*, 27, 797-799, 2009.
• Pal Stenmark et al., Crystal structure of botulinum neurotoxin type A in complex with the cell surface co-receptor GT1b - insight into the toxin-neuron interaction. *PLoS Pathogens*, 4, 1-10, 2008.
• Sinya Yamada et al., Haemagglutinin mutations responsible for the binding of H5N1 A virus to human-type receptors. *Nature*, 444, 378-382, 2006.
• K. Ohmori et al., Identification of cutaneous lymphocyte-associated antigen as sialyl 6-sulfo Lewis X, a selectin ligand expressed on a subset of skin-homing helper memory T cells. *Blood*, 107, 3197-3204, 2006.

☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆

- ①応用生物科学部・准教授・安藤弘宗 hando@gifu-u.ac.jp
- ②ES および iPS 細胞塊の形成における細胞表面糖鎖の役割を解明し、糖鎖による ES および iPS 細胞の増殖、分化制御系を開発したい。
- ③万能細胞の抗原糖鎖である SSEA-1,3 の末端糖鎖配列を有する糖鎖プローブを合成した。現在、ES 細胞への添加実験を開始した。
- ④中枢神経系に発現する糖脂質の化学合成品、各種セレクトインリガンド糖鎖、SSEA-1,3 糖鎖。
- ⑤1. Y. Iwayama, H. Ando, H. Ishida, M. Kiso, A first total synthesis of ganglioside HLG-2. *Chem Eur J* 15: 4637-4648, 2009
2. A. Imamura, H. Ando, H. Ishida, M. Kiso, Ganglioside GQ1b: efficient total synthesis and the expansion to synthetic derivatives to elucidate its biological roles. *J Org Chem* 74: 3009-3023, 2009
3. H. Ando, Y. Koike, S. Koizumi, H. Ishida, M. Kiso, 1,5-Lactamized sialyl acceptors for various disialoside syntheses: Novel synthesis method for glycan portions of Hp-s6 and HLG-2 gangliosides. *Angew Chem Int Ed* 44: 6759-6763, 2005

☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆

- ① 応用生物科学部・教授・石田秀治 ishida@gifu-u.ac.jp
- ② 新規設計リガンドによるレクチン機能の制御、およびそれを応用した癌や免疫等の生物反応の制御。
- ③ B 細胞に存在する CD 22 の高親和性リガンドを開発するとともに、抗原との複合体や多価構造等の誘導体へ展開している。
- ④ 受容体に基づいたアゴニストやアンタゴニストの設計。ビオチン化や KLH との縮合など有用プローブへの誘導
- ⑤ • Hajjaj H. M. Abdu-Allah et al, Potent samall molecule mouse CD22-inhibitors:Exploring the interaction of the residue at C-2 of sialic acid scaffold. *Bioorg. Med Chem. Lett.*, 19, 5573-5575, 2009.
- Hajjaj H. M. Abdu-Allah et al, Synthesis of biotinylated sialoside to probe CD22-ligand interactions. *Tetrahedron Lett.*, 50, 4488-4491, 2009.
- Sadagopan Magesh et al., Human sialidase inhibitors:Design, synthesis, and biological evaluation of 4-acetamido-5-acylamino-fluoro benzoic acids. *Bioorg. Med Chem. Lett.*, 17, 4595-4603, 2009.
- Takeru Yoshikawa et al., A highly efficient construction of GM1 epitope tetrasaccharide and its conjugation with KLH. *Glycoconj. J.*, 25, 545-553, 2008.

☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆

- ① 応用生物科学部・准教授・矢部富雄 yabet@gifu-u.ac.jp
- ② グリコサミノグリカンの機能解明を通じて、各種の生理作用へ関与する分子機構を明らかにし、幹細胞や iPS 細胞の効率的な細胞増殖や分化の制御に貢献したい。
- ③ グリコサミノグリカンの一種であるヘパリンを特異的に認識する分子プローブをファージディスプレイ法により探索している。
- ④ ファージディスプレイ法によるペプチドスクリーニング, BIACORE を用いた分子間相互作用の測定, ヘパリン糖鎖特異的結合能を有する分子プローブ, グリコサミノグリカン糖鎖硫酸基転移酵素 mRNA 由来 cDNA を用いた real-time RT-PCR。
- ⑤ • Lawrence, R., Yabe, T., HajMohammadi, S., Rhodes, J., McNeely, M., Liu, J., Lamperti, E. D., Toselli, P. A., Lech, M., Spear, P. G., Rosenberg, R. D., and Shworak, N. W.: The principal neuronal gD-type 3-O-sulfotransferases and their products in central and peripheral nervous system tissues. *Matrix Biol.*, **26**, 442-455, 2007.
- Yabe, T., Hata, T., He, J., and Maeda, N.: Developmental and regional expression of heparan sulfate sulfotransferases in the mouse brain. *Glycobiology*, **15**, 982-993, 2005.
- Maeda, N., He, J., Yajima, Y., Mikami, T., Sugahara, K., and Yabe, T.: Heterogeneity of the

chondroitin sulfate portion of phosphacan/6B4 proteoglycan regulates its binding affinity for pleiotrophin/heparin binding growth-associated molecule. *J. Biol. Chem.*, **278**, 35805-35811, 2003.

- Wu, Z. L., Zhang, L., Yabe, T., Kuberan, B., Beeler, D. L., Love, A., and Rosenberg, R. D.: The involvement of heparin or heparan sulfate in FGF1/FGFR1 signaling complex. *J. Biol. Chem.*, **278**, 17121-17129, 2003.

☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆

- ① 岐阜大学大学院医学系研究科 寄生虫学分野 呉志良、長野功、浅野一信 高橋優三
- ② 幹細胞を任意の方向に分化させる技術は、再生医学の応用に欠かせない。種々の段階の幹細胞、iPS細胞を用い、分化を誘導する因子を検索する。現在の候補は、宿主筋芽細胞の分化に影響する旋毛虫の分泌蛋白質である。
- ③ 筋肉細胞は受傷後、筋芽細胞の分化により、結果的に修復される。しかし旋毛虫感染で傷害を受けた筋肉では、筋芽細胞が旋毛虫の世話をする細胞に分化する。この分化を誘導する候補の蛋白を遺伝子工学的に合成した。
- ④ 1) 遺伝子発現を組織レベルで検索：顕微鏡下で組織切片から細胞を切り出し、RT-real time PCRを用い、発現されている遺伝子を定量する。2) DNAチップによる発現遺伝子の解析。3) cDNAライブラリーの作成。4) 組み換え蛋白の合成。5) 免疫電子顕微鏡などの組織化学。
- ⑤ • Wu Z, Sofronic-Milosavljevic L, Nagano I, Takahashi Y. *Trichinella spiralis*: Nurse cell formation with emphasis on analogy to muscle cell repair (review). *Parasite Vectors*. 1:27, 2008
• Wu Z, Nagano I, Takahashi Y. Candidate genes responsible for common and different pathology of infected muscle tissues between *Trichinella spiralis* and *T. pseudospiralis* infection. *Parasitol Int*. 57:368-78, 2008
• Wu Z, Nagano I, Boonmars T, Takahashi Y. Thermally induced and developmentally regulated expression of a small heat shock protein in *Trichinella spiralis*. *Parasitology Research* 101:201-12, 2007
• Z.Wu, I.Nagano, T.Boonmars, Y. Takahashi Involvement of the c[^]ski oncoprotein in cell cycle arrest and transformation during nurse cell formation after *Trichinella spiralis* infection. *International Journal for Parasitology* 36, 1159-1166 (2006)

☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆

- ① 医学部小児科・臨床講師 船戸道徳 mfunato@mac.com
- ② 疾患特異的 iPS 細胞は、神経細胞や内胚葉系細胞等に分化させることで、より生体に近い実験系を可能にした。これを利用し、疾患特異的な現象の再現性、発症機序、薬剤感受性、さらにはその治療法に関する研究を行う。
- ③ 小児科領域では、免疫不全症、脊髄筋萎縮症、代謝異常症、さらに薬物の効果や副作用等の研究で、現在、患者血球細胞や患者線維芽細胞を用いて、分子生物学的研究や薬剤感受性の研究を行っている。
- ④ 免疫アレルギー、代謝異常等の研究で確立された分子生物学的解析技術を疾患特異的 iPS 細胞さらには各組織に分化誘導した細胞に応用出来る。細胞の顕微鏡観察、遺伝子配列解析、Realtime-PCR、サイトカイン測定 (ELISA 法)、各種培養細胞でのタンパク発現や相互作用解析 (BiaCORE, NMR, プルダウン法など)、蛋白立体構造解析 (溶液 NMR 法、X 線解析) など。
- ⑤ Funato M, Fukao T, Sasai H, et al. Translocation (1;10)(p34;p15) in infant acute myeloid leukemia with extramedullary infiltration in multiple sites. *Cancer Genet Cytogenet*. 192:86-89, 2009
Funato M, Kato H, Sasai H, et al. Diffuse large B-cell lymphoma presenting with osteolytic lesions in the bilateral femur. *Eur J Haematol*. 22, 2009
Funato M, Kaneko H, Ozeki M, et al. Anaphylactoid transfusion reactions associated with a positively charged white-cell reduction filter: a case report. *Transfus Apher Sci*. 38:199-201, 2008
Funato M, Kaneko H, Matsui E, et al. Refractory osteomyelitis caused by bacille Calmette-Guérin vaccination: a case report. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 59:89-91, 2007

☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆

- ① 総合病態内科学、講師、梶田和男、kkajita@gifu-u.ac.jp
- ② 皮下脂肪と内臓脂肪の差が細胞の環境的によるのか、細胞自体によるのかは不明である。両者の前脂肪細胞、幹細胞レベルでの差につき、機能的な面からこれを識別するマーカーを確立したため、検討してゆきたい。
- ③ 脂肪細胞とインスリン作用につき研究してきたが、最近では、成熟脂肪細胞と、stromal vascular fractionの増殖を検討している。この過程で幹細胞と前脂肪細胞の差も問題となった。
- ④ 技術的なもの、あるいは研究機器に関して特別なものはないが、今まで脂肪細胞を *in vivo*、*in vitro* で扱ってきたので、これに関するシグナル、遺伝子発現、遺伝子導入の経験はある。また最近では BrdU を投与した後、DNA を抽出して、抗体で定量的に取り込みを測る方法を確立した。
- ⑤ 1) Ikeda T, Kajita K, Wu Z, Hanamoto T, Mori I, Fujioka K, Okada H, Fujikake T, Uno Y, Morita H, Nagano I, Takahashi Y, Ishizuka T, Effects of phorbol ester-sensitive PKC (c/nPKC) activation on the production of adiponectin in 3T3-L1 adipocytes. *IUBMB Life*, 61, 644-650
2) Kajita K, Munr T, Ikeda T, Matsumoto M, Uno Y, Sugiyama C, Matsubara K, Morita H, Takemura M, Seishima M, Takeda J, Ishizuka T: Effect of fasting on PPARgamma and AMPK activity in adipocytes. *Diabetes Res Clin Pract* 81, 144-149, 2008
3) Kajita K, Mune T, Kanoh Y, Natsume Y, Ishizawa M, Kawai Y, Yasuda K, Sugiyama C, Ishizuka T. TNF α reduces the expression of peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR γ) via the production of ceramide and activation of atypical PKC. *Diabetes Research and Clinical Practice* 66S, S79-S83, 2004
4) Kajita K, Ishizuka T, Mune T, Miura A, Ishizawa M, Kanoh Y, Kawai Y, Natsume Y, Yasuda K. Dehydroepiandrosterone down-regulates the expression of peroxisome proliferator-activated receptor γ in adipocytes. *Endocrinology* 144, 253-259, 2003
5) Kajita K, Ishizuka T, Miura A, Kanoh Y, Ishizawa M, Kimura M, Yasuda K. Increased platelet aggregation in diabetic patients with microangiopathy despite good glycemic control. *Platelets* 12, 343-351, 2001
6) Kajita K, Ishizuka T, Miura A, Kanoh Y, Ishizawa M, Kimura M, Muto N, Yasuda K. Glucocorticoid-induced insulin resistance associates with activation of protein kinase C. *Cellular Signalling* 13, 169-175, 2001
7) K Kajita, T Ishizuka, A Miura, M Ishizawa, Y Kanoh, K Yasuda. The role of atypical and conventional PKC in dehydroepiandrosterone-induced glucose uptake and dexamethasone-induced insulin resistance. *Biochem Biophys Res Commun* 277, 361-367, 2000

☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆

- ① 医学部腫瘍病理・教授 原 明 ahara@gifu-u.ac.jp
- ② 幹細胞関連研究が進歩するにつれて腫瘍にもがん幹細胞の存在が示唆されるようになってきた。一方、がんの発生自体にも組織幹細胞が深く関わっている。幹細胞・iPS細胞とがん幹細胞の生物学的相違点を研究したい。(100字)
- ③ ES細胞を神経節細胞傷害マウス網膜に移植し、神経細胞への分化・定着、および移植に付随して避けることができない幹細胞の腫瘍化を病理組織学的に検索した。また移植した幹細胞の腫瘍化の抑制を研究している。(98字)
- ④ 腫瘍病理学において蓄積されてきた腫瘍の生物学的解析技術を幹細胞・iPS細胞の *in vitro* での分化あるいは生体内での分化・定着に応用できる。細胞の顕微鏡観察(蛍光顕微鏡、実体顕微鏡を含む)、3次元幹細胞培養、実験動物各種臓器への幹細胞移植と分化の解析など(128字)
- ⑤ Hara A, Aoki H, Taguchi A, et al. Neuron-like Differentiation and Selective Ablation of Undifferentiated Embryonic Stem Cells Containing Suicide Gene with Oct-4 Promoter. *Stem Cells Dev* 17:619-628, 2008

- Miyazaki Y, Hara A, Kato K, et al. The effect of hypoxic microenvironment on matrix metalloproteinase expression in xenografts of human oral squamous cell carcinoma. *Int J Oncol* 32:145-151, 2008
- Hara A, Oka N, Aoki H, et al. OCT-3/4 Expressing Cells as Cancer Stem Cells in Human Immature Teratoma: Cancer Differentiation Potential. In: *New Cell Differentiation Research Topics*, ed by Saitama H, Nova Science Publish. 1-6, 2008