

戦略的創造研究推進事業 CREST  
研究領域「人工多能性幹細胞 (iPS 細胞) 作製・  
制御等の医療基盤技術」  
研究課題「造血幹細胞のエピジェネティクスと  
その制御法の創出」

## 研究終了報告書

研究期間 平成20年6月～平成26年3月

研究代表者: 岩間 厚志  
(千葉大学大学院医学研究院  
細胞分子医学、教授)

## § 1. 研究実施の概要

### (1) 実施概要

まず、造血幹細胞のエピジェネティクス制御機構の解析を、ヒストン修飾分子であるポリコーム群複合体を中心に行った。解析はノックアウトマウスを用いた解析と ChIP-chip や ChIP-sequence、RNA-sequence による網羅的なエピジェネティック解析とマイクロアレイによる遺伝子発現解析を中心に行った。ChIP-chip 解析やマイクロアレイによる遺伝子発現解析等の多くの部分を遠藤グループが担当し、岩間グループと遠藤グループの共同作業で解析を効率よく進めることができた。

はじめに、ES 細胞で認められる bivalent domain 様ヒストン修飾による可逆的な遺伝子発現抑制と多能性の維持が、組織幹細胞においても機能することを明らかにした。すなわち、造血幹細胞・多能性前駆細胞において分化関連遺伝子のプロモーターが ES 細胞同様 bivalent クロマチン修飾 (H3K4me3 と H3K27me3) を受けていることを示した。さらに、polycomb repressive complex (PRC) 1 構成分子 Bmi1 の欠損により、PRC1 のみならず PRC2 によるヒストン修飾も減弱し、bivalent 修飾による分化関連遺伝子の発現抑制状態が破綻すること、その結果、造血幹・前駆細胞の多能性の維持が障害されることを報告した (Oguro et al., Cell Stem Cell, 2010)。また、Bmi1 のコンディショナル過剰発現マウスを作製し、造血細胞特異的な Bmi1 の過剰発現の効果を解析した。Bmi1 の過剰発現は造血幹細胞に酸化ストレスに対する耐性を付与することが明らかとなり、造血幹細胞の自己複製能の維持を強化することが確認された (Nakamura et al., Plos One, 2012)。

また、ポリコーム群複合体の構成分子である Ezh2 遺伝子のノックアウトマウスの解析から、ポリコーム群複合体による造血幹細胞のエピジェネティック制御の様式が胎仔肝と骨髄において異なること、すなわち、増幅期にある胎仔肝の造血幹細胞は PRC2 複合体の Ezh2 への依存性が強く Ezh2 機能が必須であるが、静止期にある骨髄の造血幹細胞では Ezh2 に加えて Ezh1 への依存度は高まり Ezh1 が Ezh2 機能を部分的に代償することが明らかとなった (Mochizuki-Kashio et al., Blood, 2011; Muto et al., J Exp Med 2013)。さらに、胎仔肝造血幹細胞が骨髄において成人型に成熟する過程で、Ezh2 による H3K27me3 修飾により多くの胎仔肝特異的な遺伝子の発現が消去されることが確認され、造血幹細胞の成熟の過程に関わるエピジェネティック修飾機能の一端が明らかとなった(論文投稿準備中)。

上述のように、Ezh2 を欠損する細胞ではヒストン修飾 H3K27me3 が劇的に低下するが、造血幹・前駆細胞においては Ezh1 が代償的に機能し、造血幹・前駆細胞における分化関連遺伝子や癌抑制遺伝子の発現抑制状態を維持する。しかしながら、この状態は多くの癌遺伝子の脱抑制も同時に伴う不安定な状態であり、このエピゲノム制御の破綻に伴い骨髄異形成症候群などの骨髄球系腫瘍が発症することが明らかとなった。実際、ヒトの骨髄球系腫瘍では EZH2 の機能喪失型変異が認められており、この知見と符合するデータである (Muto et al., J Exp Med 2013)。

クロマチン制御分子 Tif1β/Kap1 は DNA 結合蛋白 KRAB-ZFPs に会合する scaffold 蛋白であり、H3K9 トリメチル化酵素 Eset/Setdb1 や heterochromatin protein 1 (HP1)、HDAC 複合体を呼び込み、転写を抑制的に制御する。Tif1β と Eset を造血細胞において欠損させると、ともに造血幹細胞は急速に枯渇することからその維持に重要な機能を有することが確認された。興味深いことに、Tif1β 欠損により造血幹前駆細胞で脱抑制する遺伝子の多くが本来造血細胞には発現しない非造血系遺伝子であり、Tif1β は造血幹細胞における遺伝子発現の特異性を規定する重要な機能を有するものと考えられた (Stem Cell Reports 2014)。また Gene set enrichment analysis (GSEA) 解析において、Tif1β と Eset 欠損マウスともに、糖新生経路の活性化とミトコンドリアにおけるエネルギー産生やリボソームにおける蛋白合成の低下傾向が認められた。実際、Eset 欠損造血幹前駆細胞における ATP 量は 20% 程度低下していた。H3K9me3 を介したヒストン修飾により糖代謝がエピジェネティックに制御されていると考えられ、解析を進めている。

マイクロアレイと RNA-sequence によって造血幹細胞特異的な lincRNA を 344 個見いだした。そのうち 10 遺伝子を抽出し、ノックダウン解析を行ったところ、造血幹細胞に必須な lincRNA が複数同定された。これら lincRNA の詳細な機能解析を推進中である。

以上のように、造血発生や造血幹細胞のエピゲノム、特に抑制性ヒストン修飾による制御が徐々にではあるが明らかになりつつあり、研究は進展している。しかしながら、その成果を十分にヒト ES/iPS 細胞から造血幹細胞誘導に反映できていないのが課題である。今後は、これらの成果を、特に胎仔肝造血で得られた知見を、造血幹細胞の分化誘導に取り入れていきたい。

上記エピジェネティック解析と並行して、ヒト ES/iPS 細胞から造血幹細胞を効率良く誘導する系の検討を行った。この解析は培養系を江藤グループと密な情報交換をしながら行った。また、使用する様々なソースからの iPS 細胞も江藤グループから供給された。遠藤グループは ChIP-chip 解析やマイクロアレイによる遺伝子発現解析等の多くの部分を担当した。3つのグループの共同作業で解析を効率よく進めることが可能となった。

ヒト ES/iPS 細胞から胚様体形成を介して、あるいはストローマ細胞との共培養で CD34<sup>+</sup>CD43<sup>+</sup>CD45<sup>+</sup>造血幹・前駆細胞を誘導する系を確立した。この系を用いた低分子化合物のスクリーニングにより、TGFβ阻害剤 (LY363947) が造血幹・前駆細胞の誘導効率を有意に上げることを見だし、特許を出願した (特願 2010-193827 号) (培養プロトコールは Nakajima-Takagi et al., Blood 2013 の一部として発表)。しかし、誘導される造血幹・前駆細胞に骨髄を長期に再建する活性は見られていないのが重要な課題であり、様々な蛋白活性分子や chemical mediator を用いて培養系の改良を継続中である

一方で、マイクロアレイと ChIP-chip 解析を用いて、マウス ES 細胞の系において造血幹細胞の分化誘導活性を有する転写因子 HoxB4 の標的遺伝子を同定した (Oshima et al., Blood, 2011)。これら HoxB4 の標的遺伝子や胎仔造血幹細胞発生に必須な遺伝子から絞り込んだ候補遺伝子を、ヒト ES/iPS 細胞から分化誘導した造血前駆細胞に強制発現し、造血前駆細胞増幅活性を評価した。この中で、胎児肝造血幹細胞に必須である転写因子 SOX17 をヒト ES/iPS 細胞から分化誘導した CD34<sup>+</sup>陽性間葉系細胞 (主として血管内皮系細胞) に強制発現すると、造血細胞産生能を持つ血管内皮細胞 (hemogenic endothelium) の増幅を促進すること、また、Sox17 が hemogenic endothelium の造血能に必須であることが明らかとなった。そこで、造血幹細胞の増幅に繋がる因子として特許を出願した (特願 2010-193828 号)。ChIP-chip 解析により SOX17 の標的遺伝子も同定し、SOX17 が hemogenic endothelium に発現する遺伝子群を制御することも確認した (Nakajima-Takagi et al., Blood 2013)。この発見により、造血幹細胞作出の実現に一步近づいたものと考えている。現在は、ヒト ES/iPS 細胞から分化誘導した hemogenic endothelium (CD34<sup>+</sup>CD43<sup>+</sup>CD45<sup>+</sup>細胞) に SOX17 と様々な転写因子、エピジェネティック制御遺伝子 (ポリコーム群遺伝子 Bmi1 と Ezh2 や Notch1C など) を組み合わせることで強制発現させることにより、より効率よく造血幹・前駆細胞を分化誘導するとともに、胎児型造血前駆細胞の成人型への分化転換を試みたい。

## (2) 顕著な成果

<優れた基礎研究としての成果>

### 1. 造血幹細胞の多能性を規定するヒストン修飾

造血幹細胞・多能性前駆細胞において分化関連遺伝子のプロモーターが ES 細胞同様 bivalent クロマチン修飾 (H3K4me3+H3K27me3) を受けていること、PRC1 構成分子 Bmi1 の欠損により、PRC1 によるヒストン修飾のみならず PRC2 によるヒストン修飾も減弱し、bivalent 修飾による分化関連遺伝子の発現抑制が破綻し、造血幹・前駆細胞の多能性の維持に障害を来すことを明らかにした (Oguro et al., Cell Stem Cell, 2010)。

### 2. Ezh2 の造血幹細胞発生における機能

ポリコーム群複合体の構成分子である Ezh2 遺伝子のノックアウトマウスの解析から、ポリコーム群複合体による造血幹細胞のエピジェネティック制御の様式が胎仔肝と骨髄において異なることが示された。すなわち、増幅期にある胎仔肝の造血幹細胞は PRC2 複合体の Ezh2 への依存性が強く、静止期にある骨髄の造血幹細胞では Ezh2 に加えて Ezh1 への依存度が高まることが明らかとなった。 (Mochizuki-Kashio et al., Blood, 2011)。

### 3. Ezh1 の機能

ChIP-sequence を用いた解析から、ポリcomb群遺伝子 Ezh2 を欠損する細胞ではヒストン修飾 H3K27me3 が劇的に低下するが、造血幹・前駆細胞においては Ezh1 が代償的に機能し、造血幹・前駆細胞において発現が抑制的に制御される重要な分化関連遺伝子や癌抑制遺伝子の発現抑制状態を維持することが明らかとなった。しかしながら、多くの癌遺伝子の脱抑制も同時に伴う不安定な状態であり、このエピゲノム制御の破綻に伴い骨髄異形成症候群などの骨髄球系腫瘍が発症することが明らかとなった (Muto et al., J Exp Med 2013)。

< 科学技術イノベーションに大きく寄与する成果 >

#### 1. Bmi1 の機能

Bmi1 のコンディショナル過剰発現マウスを作製し、造血細胞特異的な Bmi1 の過剰発現の効果を解析した。Bmi1 の過剰発現は連続移植ストレスにおける造血幹細胞の造血再構築活性の低下を抑えること、またBSOなどの酸化剤による酸化ストレス状況下で、造血幹細胞の維持に寄与することが明らかとなり、造血幹細胞に酸化ストレス耐性を付与するものと考えられた (Nakamura et al., Plos One 2012)。幹細胞機能操作に繋がる重要な発見と考えられる。

#### 2. SOX17 の機能

ヒト ES/iPS 細胞から分化誘導した造血前駆細胞に転写因子 SOX17 を強制発現すると、造血細胞産生能を持つ血管内皮細胞 (hemogenic endothelium) の増幅を促進すること、また、SOX17 が hemogenic endothelium の造血能に必須であることを明らかにした (Nakajima-Takagi et al., Blood 2013)。SOX17 を造血幹細胞の増幅に繋がる因子として特許を出願した (特願 2010-193828 号)。この発見は、造血幹細胞作出の実現の可能性を高める成果と考えられる。

## § 2. 研究実施体制

(1) 研究チームの体制について

### ① 「岩間」グループ

研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
岩間 厚志	千葉大学大学院医学研究院	教授	H20. 6～H26. 3
大澤 光次郎	同上	講師	H21. 2～H25. 4
宮城 聡	同上	助教	H20. 6～H24. 9
小黒 秀行	同上	特別研究員	H20. 6～H21. 11
更屋 敦則	同上	技官	H20. 6～H26. 3
大島 基彦	同上	産学官連携研究員	H21. 1～H26. 3
中島 やえ子	同上	産学官連携研究員	H21. 4～H26. 3
望月 牧子	千葉大学大学院医学薬学府	産学官連携研究員	H20. 6～H26. 3
三嶋 雄太	同上	D4	H21. 4～H25. 3
松川 進	同上	D4	H22. 4～H24. 3
中村 俊介	同上	D4	H22. 4～H24. 3
王 長山	同上	D3	H22. 4～H25. 9
小出 周平	同上	D2	H22. 4～H26. 3

研究項目

- ・造血幹細胞のエピジェネティクス制御機構の解明
- ・造血細胞の分化の可塑性と造血幹細胞・多能性幹細胞へのリプログラミング
- ・iPS細胞から造血幹細胞への分化誘導におけるエピジェネティクス制御

### ② 「江藤」グループ

研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
江藤 浩之	京都大学 iPS 細胞研究所	教授	H23. 7～H26. 3
遠藤 大	同上	研究員	H23. 4～H26. 3
高山 直也	東京大学医科学研究所	特別研究員	H20. 6～H23. 3
岡田 健	同上	M2	H21. 4～H23. 3

研究項目

- ・iPS細胞から造血幹細胞への分化誘導におけるエピジェネティクス制御

### ③ 「遠藤」グループ

研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
遠藤 充浩	理化学研究所 統合生命医化学研究センター	研究員	H20. 6～H26. 3

研究項目

- ・造血幹細胞のエピジェネティクス制御機構の解明
- ・iPS細胞から造血幹細胞への分化誘導におけるエピジェネティクス制御

(2) 国内外の研究者や産業界等との連携によるネットワーク形成の状況について

チームメンバーの江藤氏やもと千葉大メンバーの大澤氏が CiRA に移られたことから、本チームと CiRA のネットワークが形成されている。また、エピジェネティクス関連では、技術的な面も含めて東京大学の新領域創成科学研究科の菅野博士、鈴木博士のグループや横浜理研のグループとの連携が進んでいる。

### § 3. 研究実施内容及び成果

#### 「岩間」グループ

#### (1) 造血幹細胞のエピジェネティクス制御機構の解明

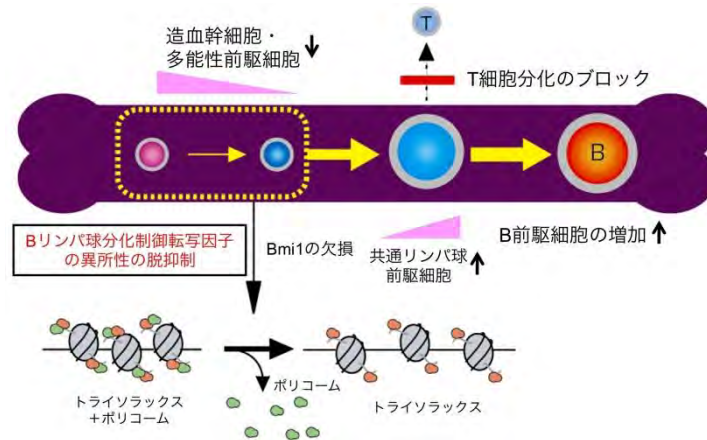
##### ① 研究実施方法

ヒストン修飾酵素遺伝子群(ポリコーム群遺伝子)やクロマチン制御遺伝子を欠損または高発現するマウスの解析や、ChIP-sequence などの網羅的な解析を通して、造血幹細胞制御に特徴的なヒストン修飾とその標的遺伝子制御様式を理解する。またヒストン修飾酵素複合体の精製を通して、その構成を理解することにより、造血幹細胞特異的な複合体機能を理解する。RNA-sequence 解析により、造血幹細胞特異的な lincRNA を同定するとともに、その機能を解析する。

##### ② 研究実施内容及び成果

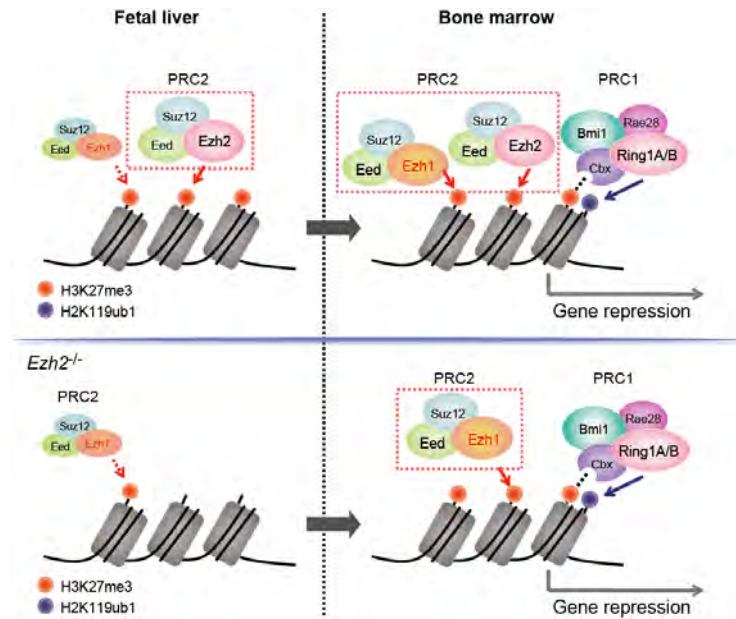
#### 1) 造血幹細胞の多能性を規定するヒストン修飾

造血幹細胞のエピジェネティクスの解析を、ヒストン修飾複合体であるポリコーム群複合体を中心に行った。ES 細胞で認められる bivalent domain 様ヒストン修飾による可逆的な遺伝子発現抑制と多能性の維持が、組織幹細胞においても機能することを明らかにした。すなわち、造血幹細胞・多能性前駆細胞において分化関連遺伝子のプロモーターが ES 細胞同様 bivalent クロマチン修飾(H3K4me3+H3K27me3)を受けていること、PRC1 構成分子 Bmi1 の欠損により、PRC1 によるヒストン修飾のみならず PRC2 によるヒストン修飾も減弱し、bivalent 修飾による分化関連遺伝子の発現抑制が破綻し、造血幹・前駆細胞の多能性の維持に障害を来すことを報告した(下図)(Oguro et al., Cell Stem Cell, 2010)。



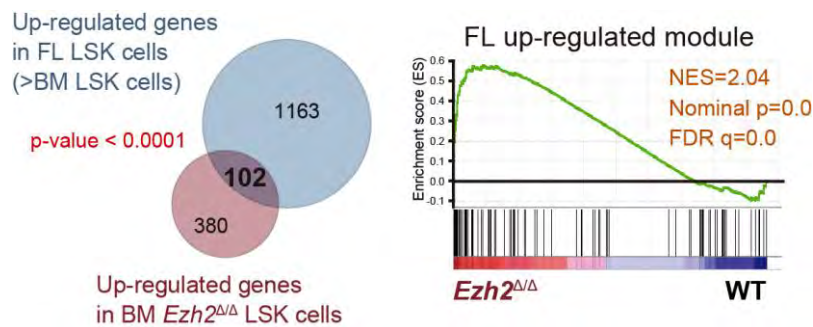
#### 2) Ezh2 の造血幹細胞発生における機能

PRC2の構成分子であるEzh2 遺伝子をノックアウトしたマウスの解析から、ポリコーム群複合体による造血幹細胞のエピジェネティック制御の様式が胎仔肝と骨髄において異なることが示された。すなわち、増幅期にある胎仔肝の造血幹細胞は PRC2 複合体の Ezh2 への依存性が強く、Ezh2 機能が必須である。一方で、一方静止期にある骨髄の造血幹細胞では Ezh2 に加えて Ezh1 への依存度が高まることが明らかとなった(次頁上段は野生型、下段は Ezh2 欠損造血幹前駆細胞におけるポリコーム群複合体の活性の程度を示す)。この違いは ES/iPS 細胞からの造血幹細胞誘導の際に胎仔型から成体骨髄型の造血幹細胞へと成熟を促すうえで有用なエピジェネティック情報を提示するものである(Mochizuki-Kashio et al., Blood, 2011)。



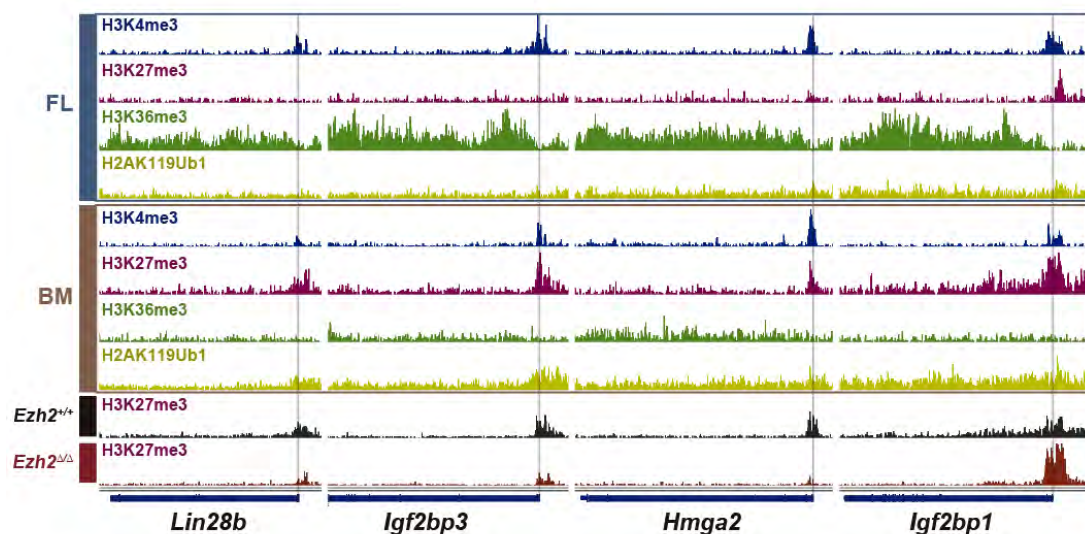
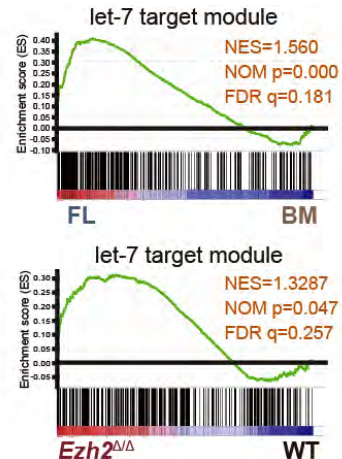
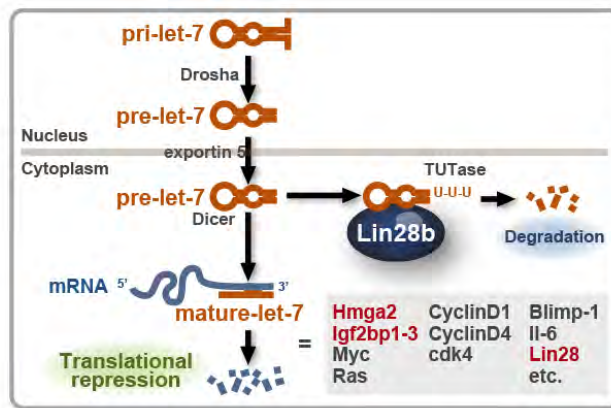
### 3) Ezh2 による胎仔型形質の消去

上記のデータをもとに、Ezh2 遺伝子欠損マウスの骨髄 (bone marrow: BM) 造血幹前駆細胞 (LSK 細胞) における遺伝子発現解析をマイクロアレイを用いて行ったところ、Ezh2 の欠損により骨髄において発現が脱抑制する遺伝子の約 1/4 が、野生型においては胎仔肝 (fetal liver: FL) の造血幹前駆細胞 (LSK 細胞) において骨髄よりも優位に発現が高いものであった(下図)。このことは、ポリコーム群蛋白 Ezh2 が、骨髄において胎仔型造血細胞に特徴的な遺伝子群の発現を抑制していることを意味する。



そこで、Gene set enrichment analysis (GSEA)を行い、Ezh2 遺伝子欠損マウスの骨髄造血幹前駆細胞 (LSK 細胞) に優位に脱抑制している gene set を解析すると、興味深いことに、胎仔肝 LSK 細胞に特異的に発現する microRNA Let-7 の target 遺伝子群が同定された(次頁図上段右 GSEA plots)。



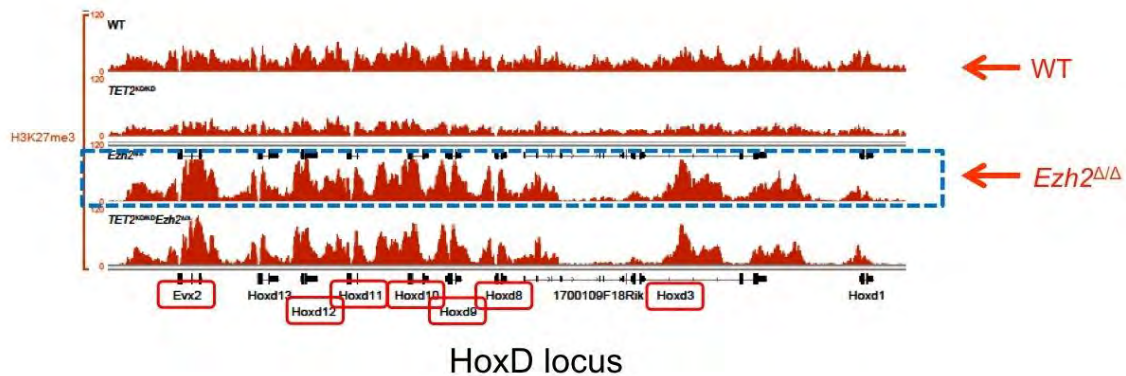
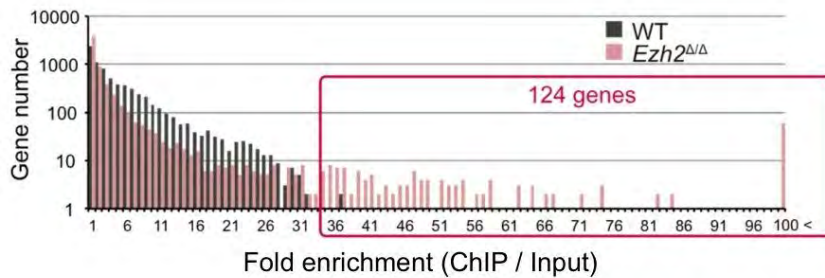


MicroRNA Let-7 ファミリー前駆体は成熟型へとプロセッシングされるが、この過程を Lin28 が抑制する(上図上段左)。胎仔肝造血幹前駆細胞では Lin28 が特異的に発現し Let-7 ファミリーの機能を抑制し、Let-7 ファミリーで発現が抑制される標的遺伝子 (Hmga2, Igf2bp3 など) の発現を可能にしている。ChIP-sequence 解析から、Lin28 をはじめ Let7 ファミリーの標的遺伝子の一部が野生型骨髄造血幹前駆細胞では Ezh2 により抑制されている一方で、Ezh2 遺伝子欠損マウスにおいてこれらの遺伝子の発現が脱抑制することが確認された(上図下段)。これらのデータは、胎仔肝造血幹細胞が骨髄において成人型に成熟する過程で、Ezh2 のヒストン修飾により多くの胎仔特異的遺伝子の発現が消去されることを示すものである(論文投稿準備中)。

#### 4) Ezh1 の機能

2)で述べたように、骨髄における造血幹細胞機能維持には Ezh2 に加えて Ezh1 の貢献も大きい。この点を ChIP-sequence を用いた解析から検証した。その結果、ポリコーム群遺伝子 Ezh2 を欠損する細胞ではポリコーム群複合体によるヒストン修飾 H3K27me3 が劇的に低下するが、造血幹・前駆細胞においては Ezh1 が代償的に機能し、造血幹・前駆細胞の機能を保つために、抑制的に制御されなければならない分化関連遺伝子や癌抑制遺伝子の発現抑制を維持することが明らかとなった。骨髄前駆細胞の ChIP-sequence 解析においては、ゲノムワイドに見ると Ezh2 欠損前駆細胞における H3K27me3 レベルの低下が明らかにもかかわらず、有意なレベルの H3K27me3 の残存が認められるとともに、レベルが維持あるいは亢進する領域も存在し、Ezh1 が部分的に Ezh2 欠損によるポリコーム修飾異常を代償していることが確認された(次頁図上段)。例えば HoxD 遺伝子座の H3K27me3 ChIP-sequence データに注目すると、この領域は Ezh2 が

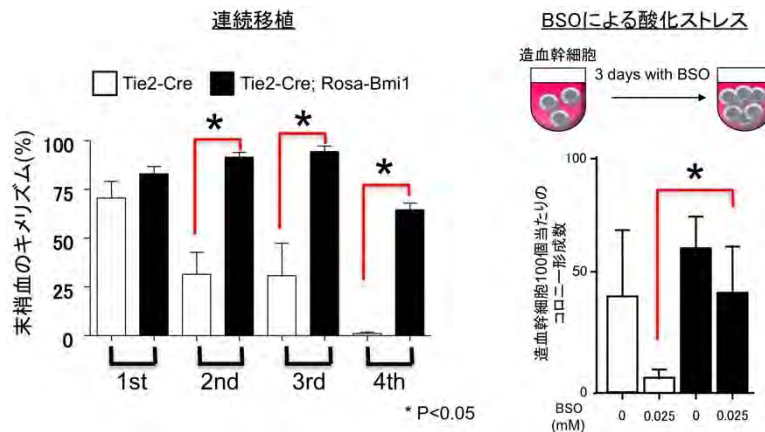
欠損しても Ezh1 によって H3K27me3 レベルが保たれていることが明らかである(下図下段)。Ezh1 と Ezh2 の2つの H3K27me3 酵素の機能を理解する上で興味深い知見である (Muto et al., J Exp Med, 2013)。



## 5) Bmi1 の機能

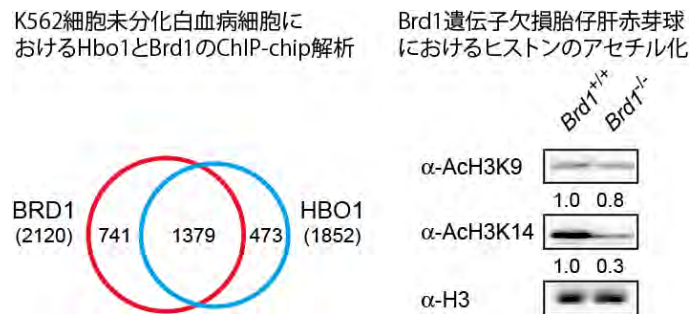
Bmi1 のコンディショナル過剰発現マウスを作製し、造血細胞特異的な Bmi1 の過剰発現の効果解析した。Bmi1 の過剰発現は、連続移植ストレスにおける造血幹細胞の造血再構築活性の低下を抑えること、また BSO などの酸化剤による酸化ストレス状況下で、造血幹細胞の維持に寄与することが明らかとなり(下図)、造血幹細胞に酸化ストレス耐性を付与するものと考えられる (Nakamura et al., Plos One 2012)。酸化ストレスと Bmi1 をつなぐシグナルとして、酸化ストレスによって活性化する p38 が Bmi1 を直接リン酸化することを確認したが、この Bmi1 のリン酸化の意義はいまだ明らかにできていない。

また、Bmi1 と Ezh2 のリン酸化修飾を LC/MS/MS で解析したところ、複数のリン酸化部位が同定できたが、やはりその生理的意義は同定できていない。特異的抗体も複数作製を試みたが、いずれも成功しなかった。Bmi1 の Akt によるリン酸化が昨年論文として発表され、我々も同じ部位が Akt によりリン酸化されることを同定し解析していたが、そのリン酸化が造血幹細胞や Bmi1 を含むヒストン修飾複合体機能におよぼす生物学的意義は不明である。



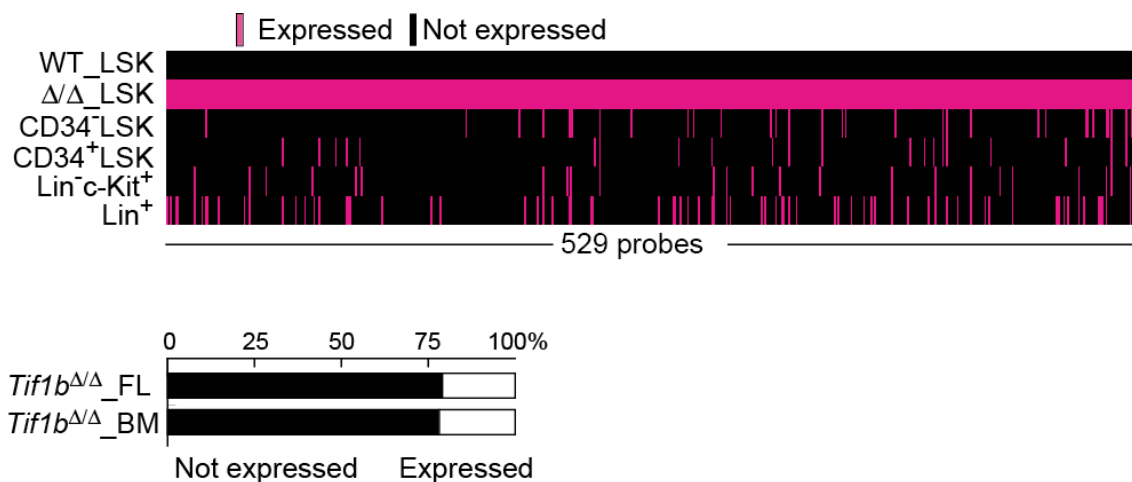
## 6) Hbo1-Brd1 HAT 機能

トライソックス様分子 Brd1/Brpf2 に関しては、ヒストンアセチル化酵素 Hbo1 と複合体を形成することを明らかにし、ノックアウトマウスの解析から Hbo1-Brd1/Brpf2 複合体が H3K14 のアセチル化の中心的な活性を担うことを確認した (Mishima et al., Blood 2011)。Brd1/Brpf2 ノックアウトマウスは、胎仔肝の赤芽球の有意な減少を認め、貧血のために胎生 13.5 日前後に死亡した。しかしながら、その後コンディショナルノックアウトマウスを作成し解析したところ、造血幹細胞には明らかな異常が認められなかった。これは、Brd1/Brpf2 ファミリー分子による機能的な補完が行われるためと考えられる。しかしながら、Hbo1-Brd1/Brpf2 複合体が H3K14 アセチル化の中心的な活性を担うことは他の組織でも同様であることが確認できた。



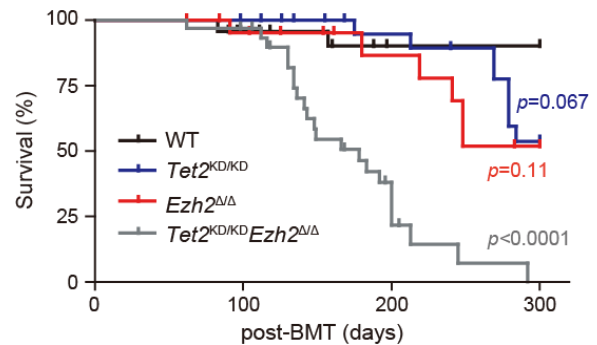
## 7) クロマチン制御分子 Tif1β/Kap1 の機能

クロマチン制御分子 Tif1β/Kap1 は DNA 結合蛋白 KRAB-ZFPs に会合する scaffold 蛋白であり、H3K9 メチル化酵素 Eset/Setdb1 や heterochromatin protein 1 (HP1)、HDAC 複合体を呼び込み、転写を抑制的に制御する。Tif1βを造血細胞において欠損させると造血幹細胞は急速に枯渇することからその維持に重要な機能を有することが確認された。興味深いことに、Tif1β欠損により造血幹前駆細胞で脱抑制する遺伝子の多くが本来造血細胞には発現しない非造血系遺伝子であり(下図下段 Not expressed gene)、Tif1βは造血幹細胞における遺伝子発現の特異性を規定する重要な機能を有するものと考えられた [下図上段、Tif1β欠損により造血幹前駆細胞で脱抑制する遺伝子の多くが正常の造血幹細胞(CD34<sup>-</sup>LSK)、前駆細胞(CD34<sup>+</sup>LSK)、分化抗原陰性細胞(Lin<sup>-</sup>)、分化抗原陽性細胞(Lin<sup>+</sup>)に発現されていない]。さらに、Tif1β欠損により HP1 の蛋白レベルが下がることが明らかとなり、Tif1βの機能の一部は HP1 を介したものと考えられた (Miyagi et al., Stem Cell Reports 2004)。



## 8) 造血幹細胞のエピゲノム制御の破綻に伴う腫瘍性増殖の解明

米国国立衛生研究所 (NIH) との研究協力推進を目的とした追加的支援により、本項目が追加された。ポリコム遺伝子 *Ezh2* とメチル化 DNA の脱メチル化酵素である *Tet2* hypomorphic mouse におけるエピゲノム異常が、骨髄異形成症候群などの骨髄球系腫瘍を引き起こすことを明らかにし (右図は各遺伝子型マウスの生存曲線を示す)、その原因となるエピゲノム異常の一端を明らかにした (Muto et al., J Exp Med 2013)。



## (2) 造血細胞の分化の可塑性とリプログラミング

### ① 研究実施方法

多能性幹細胞の多能性維持に重要な bivalent histone domain の組織幹細胞における意義を造血幹細胞について検証する。また、体細胞の多能性幹細胞へのリプログラミングにおけるポリコム群遺伝子の機能を検証する。さらに分化血液細胞から造血幹細胞へのダイレクトリプログラミングを試みる。

### ② 研究実施内容及び成果

ポリコム群蛋白による *Pax5* 遺伝子の発現制御機構や造血幹細胞のヒストン修飾による多能性の維持機構の一端は、項目(1)の成果 1) 造血幹細胞の多能性を規定するヒストン修飾の解析において明らかにすることができた。

一方、体細胞の多能性幹細胞へのリプログラミングにおけるポリコム群遺伝子の機能や、体細胞の造血幹細胞へのダイレクトリプログラミングの研究は、十分な成果が得られないまま、他のグループから同様の報告がなされたことから中止した。具体的には、「*E2A*<sup>-/-</sup> pro-B 細胞の造血幹細胞へのリプログラミング」に関して、*E2A*<sup>-/-</sup> pro-B 細胞に文献等からリストアップした候補遺伝子群のレトロウイルスを単独あるいは混合して感染後、赤芽球・巨核球分化を誘導する条件下で培養を行い、赤芽球・巨核球分化能を有する多能性前駆細胞へのリプログラミングを誘導する遺伝子の同定を試みた。しかしながら、骨髄球系前駆細胞の表現型を有する細胞が増幅されたのみで、リプログラミングには成功しなかった。

## (3) iPS 細胞から造血幹細胞への分化誘導におけるエピジェネティック制御

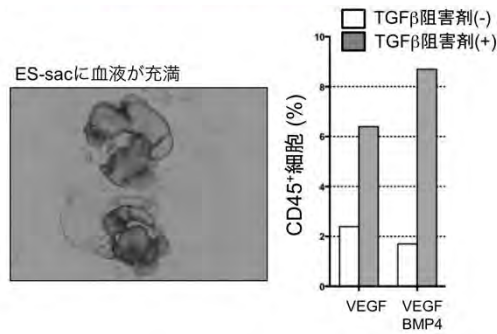
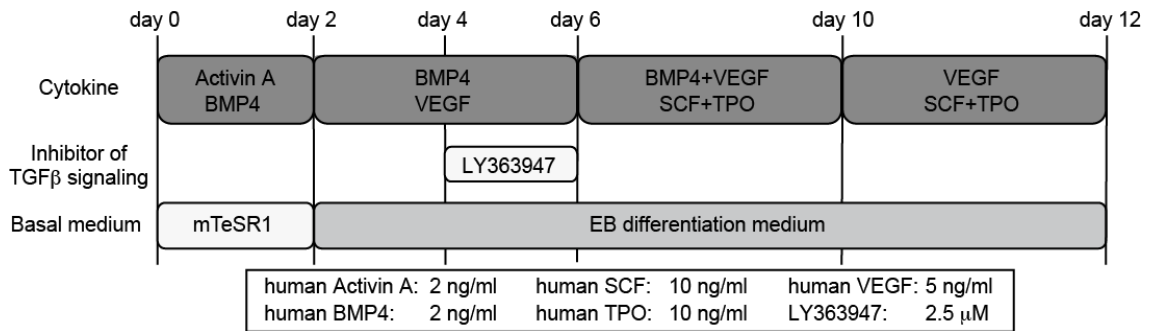
### ① 研究実施方法

マウス ES 細胞において移植可能な造血幹細胞を誘導する *HoxB4* 遺伝子の標的遺伝子をマイクロアレイ解析と ChIP-chip 解析により明らかにする。項目 1,2 の成果および *HoxB4* の標的遺伝子や胎仔造血幹細胞発生に必須な遺伝子群から絞り込んだ候補遺伝子の発現操作を中心に、ヒト ES/iPS 細胞から造血幹細胞を効率良く誘導する系を構築する。さらに様々な液性因子や化合物ライブラリーをスクリーニングし、造血幹細胞誘導の系を確立する。

### ② 研究実施内容及び成果

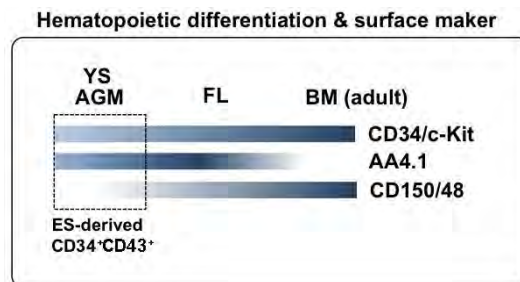
#### 1) ヒト iPS 細胞からの造血前駆細胞の分化誘導系の確立

ヒト ES/iPS 細胞から胚様体形成やストローマ細胞との共培養の系を用いて *CD34<sup>+</sup>CD43<sup>+</sup>CD45<sup>+</sup>* 造血幹・前駆細胞を誘導する系を確立した。この系を用いて低分子化合物をスクリーニングし、TGFβ阻害剤 (LY363947) が造血幹・前駆細胞の誘導効率を有意に上げることを見だし、特許を出願した (特願 2010-193827 号) (次頁上図)。また、培養系にアクチビンを加えることにより造血幹・前駆細胞の誘導効率がさらに向上することを確認し、アクチビンと TGFβ阻害剤を用いた培養系を中心に解析を進めている (培養プロトコ



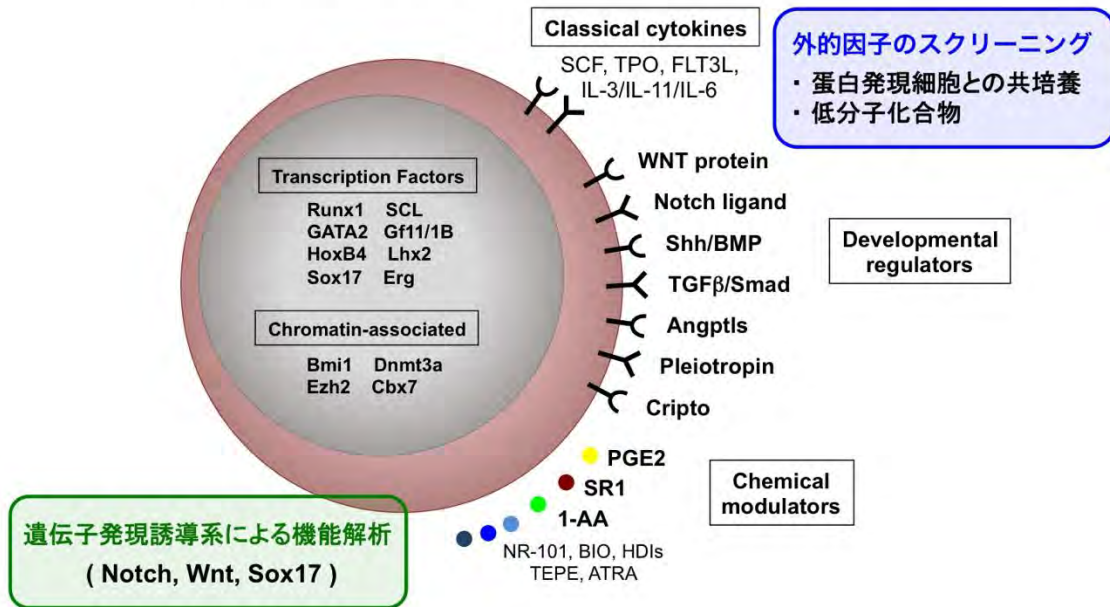
ールは Nakajima-Takagi et al., Blood 2013 の一部として発表)。しかし、誘導される造血幹・前駆細胞に骨髄を長期に再建する活性は見られていないのが重要な課題であり、培養系の改良を継続中である。

現在の課題の一つは、マイクロアレイによる遺伝子発現パターンや細胞表面抗原の発現パターン(下図)から評価すると、現行の系で分化誘導した造血幹・前駆細胞の形質が、yolk sac や傍大動脈・生殖隆起・中腎 (AGM) 領域から発生する段階のものに近く、胎仔肝 (FL) 型まで成熟していないことにある。誘導した細胞の更なる分化転換が重要な課題である。



# ヒトES細胞からの造血幹細胞誘導因子の探索

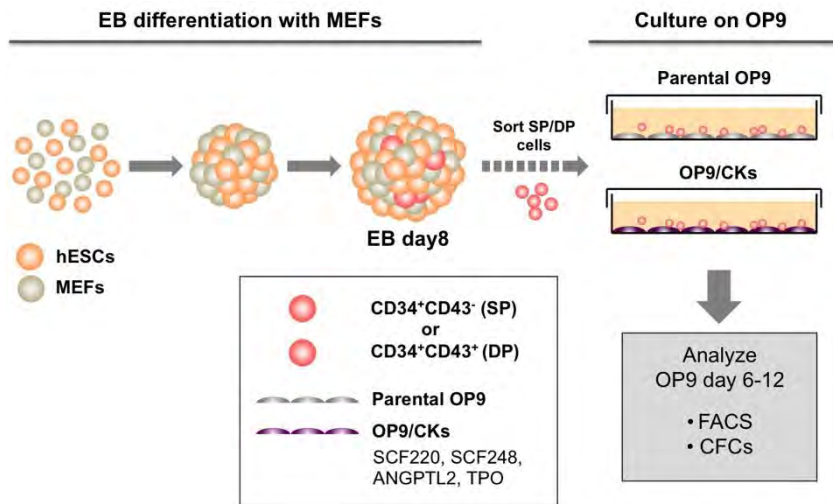
## 造血幹細胞の発生・自己複製に関する内的・外的因子群



上図に示したように、ヒト ES/iPS 細胞からの造血幹細胞分化誘導の標的として様々なものが考えられる。各種サイトカインや developmental regulator のリガンド、chemical modulators, chemical compound library などに加え、造血発生に重要と思われる転写因子やエピジェネティック制御因子などがある。遺伝子操作による試みは後述するが、その他の試みは一通り行ったものの、十分な効果は得られなかった。唯一上述の TGFβ阻害剤 (LY363947) が再現性の良い効果を示した。

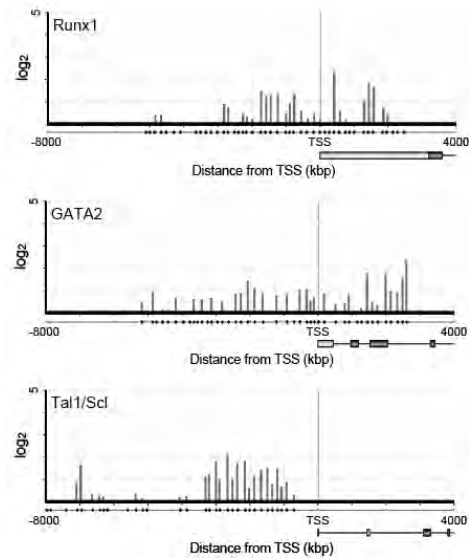
### 2) ヒト型サイトカイン発現ストローマ細胞の効果の検定

ヒト ES/iPS 細胞からの造血幹細胞の分化誘導に関して、ヒト型サイトカイン (SCF, TPO, Angiopoietin-like protein 5) を発現するストローマ細胞 (OP-9 細胞) を作成し、胚葉体形成やストローマとの共培養 (下図)、あるいは ES/iPS 細胞から分化誘導された造血幹・前駆細胞を免疫不全マウスに移植する際に使用を試みたが、この系においても有意な効果は得られなかった。



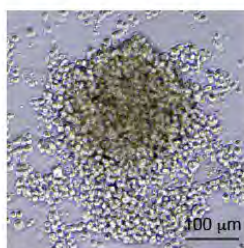
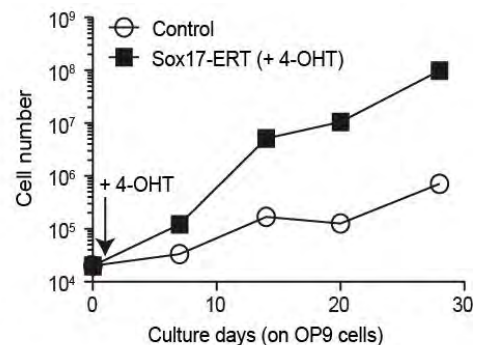
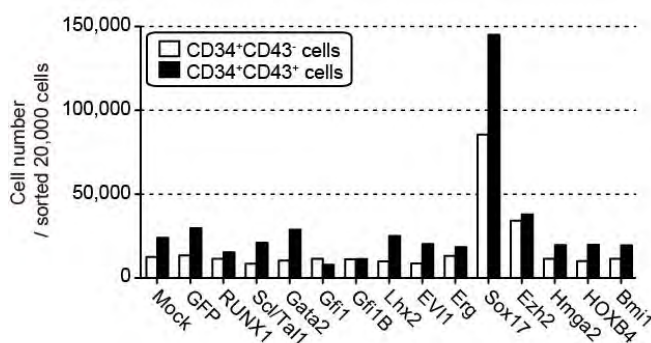
### 3) HoxB4 の標的遺伝子群の同定

マウス ES 細胞の系において造血幹細胞の分化誘導活性を有する転写因子 HoxB4 の標的遺伝子の網羅的解析をマイクロアレイと ChIP-chip 解析を用いて同定した。この解析により予想通りではあるが HoxB4 が造血幹細胞の発生・維持に重要性な多くの遺伝子を同時に制御することが明らかとなった (Oshima et al., Blood, 2011) (右図: HoxB4 の ChIP-chip data)。

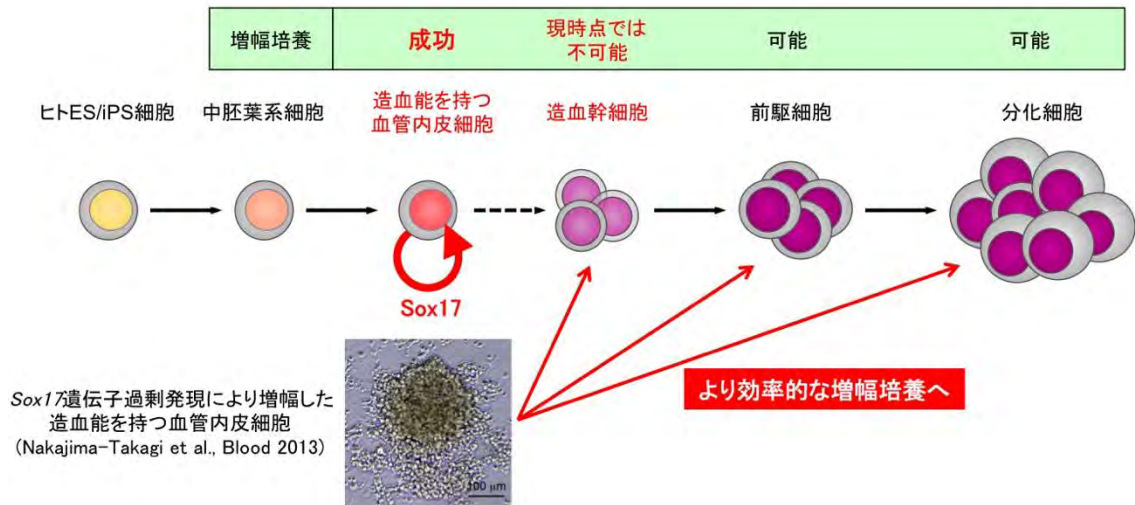


### 4) 造血前駆細胞増幅因子のスクリーニング

HoxB4 の標的遺伝子や胎仔造血幹細胞発生に必須な遺伝子から絞り込んだ候補遺伝子をヒト ES/iPS 細胞から分化誘導した CD34 陽性間葉系細胞 (主として血管内皮系細胞) に強制発現し、造血前駆細胞増幅活性を評価した。この中で、胎児肝造血幹細胞に必須である転写因子 SOX17 が造血前駆細胞の増殖を長期に活性化することを見だし、造血幹細胞増幅因子として特許を出願した (特願 2010-193828 号) (下図上段)。SOX17 発現細胞はストローマ細胞上でコロニーを形成



しながら増幅し、 $CD34^+CD43^+CD45^{low}$  の細胞形質を示し、造血能を有する血管内皮細胞 (hemogenic endothelium) 様の細胞であることが明らかとなった (上図下段)。造血前駆細胞は発生学的に卵黄囊あるいは傍大動脈・生殖隆起・中腎領域の造血細胞産生能を持つ血管内皮細胞 (hemogenic endothelium) から発生する。実際この SOX17 過剰発現細胞は SOX17 の発現を OFF にすると血液細胞を産生した。また、SOX17 が hemogenic endothelium の造血能に必須であることがノックダウンの解析から明らかとなった。SOX17 の標的遺伝子も ChIP-chip 解析により同定し、hemogenic endothelium に発現する遺伝子群を制御することも確認した (Nakajima-Takagi et al., Blood 2013)。この発見により、造血幹細胞作出の実現に一歩近づいたものと考えている (次頁図参照)。



そこで現在、ヒト ES/iPS 細胞から分化誘導した hemogenic endothelium (CD34<sup>+</sup>CD43<sup>-</sup>CD45<sup>-</sup>細胞) に SOX17 と様々な遺伝子 (ポリコム群遺伝子 Bmi1 と Ezh2、NotchIC など) を組み合わせて強制発現させることにより、より効率よく造血幹・前駆細胞を分化誘導しうる可能性を模索している。SOX17 をはじめとした遺伝子群をテトラサイクリンを用いてコンディショナルに発現しうるヒト ES 細胞を作成したが、未分化な ES 細胞状態では誘導がかかるものの、血液系細胞への分化誘導の過程で Tet-responsive element (TRE) が DNA メチル化によると思われる silencing を受けてしまい、hemogenic endothelium ならびに血液系細胞では誘導がかからなくなることが判明した。したがって、遺伝子導入はこれまで通りレトロウイルスまたはレンチウイルスを用いて行うこととし、今後はヒト ES/iPS 細胞から分化誘導した hemogenic endothelium に SOX17 と様々な転写因子、エピジェネティック遺伝子を組み合わせて強制発現させ、造血前駆細胞の増幅と胎児型造血前駆細胞の成人型への分化転換を試みたい。



## 「江藤」グループ

### ①研究実施方法

「岩間」グループと協力してヒト ES/iPS 細胞から造血幹細胞誘導系における培養系の改良を行うとともに、効果のある化合物、遺伝子の検証を行う。

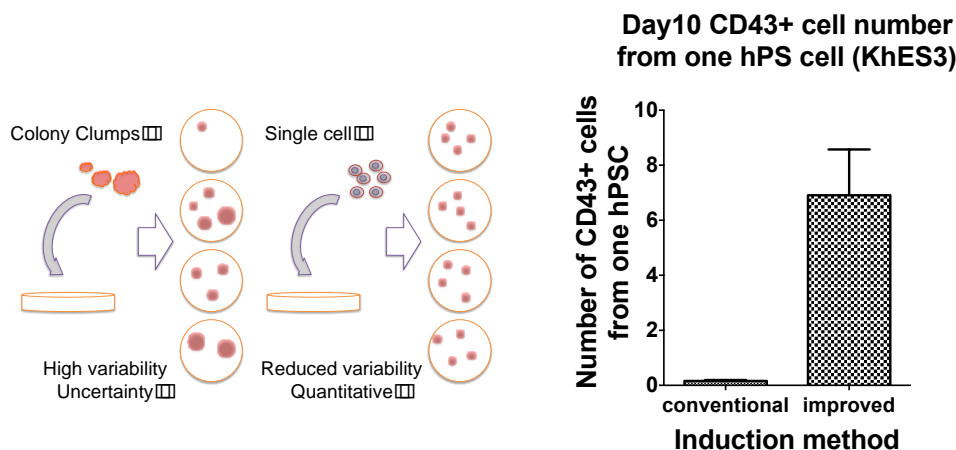
### ②研究実施内容及び成果

#### 1) 様々なソースからの iPS 細胞の作製

江藤らのグループは上記「岩間」グループの項目 3 の研究において、「岩間」グループとともにヒト ES/iPS 細胞から造血幹細胞を誘導する系の改良を行うとともに、効果のある化合物、遺伝子の検証を行った。また、様々なソースの細胞からの iPS 細胞を作製し、本研究に供するとともに、由来の異なるヒト iPS 細胞の血液細胞分化誘導を試みることで、リプログラム因子の差異に依存した造血活性を明らかとし報告した (Okabe et al., Blood, 2009, Takayama et al., J Exp Med, 2010, Nakajima-Takagi et al., Blood 2013)。

#### 2) シングルセル培養を用いた iPS 細胞からの造血細胞分化誘導の効率化

江藤らのグループは ES/iPS 細胞からの細胞分化誘導の様々な検証を行った。また、ストローマ細胞上での基本分化誘導系において、低酸素条件と各種の細胞増殖因子阻害を組み合わせることにより、ヒト ES/iPS 細胞から造血細胞へのより選択的な誘導法を見出した(米国血液学会 2011 発表)が、本方法を基にして、無血清、かつストローマ細胞を使用しない改変法を開発し、造血幹・前駆細胞誘導方法に発展させた(論文準備中)。また、従来 iPS 細胞コロニーをそのまま分化させていたため、分化開始細胞数は不明であった。そこで、シングルセルの状態での分化を開始するように分化法を改変した。その結果、改善させた分化法は従来のそれと比較して著しい血球誘導効率の上昇が起きていることが分かった(下図)。誘導した血球の数が増えることは、質の高い細胞が含まれる確率が高まることを意味する。CD43 陽性造血幹・前駆細胞分画に焦点を当てて解析した結果、新しい方法によって誘導した細胞集団は以前の方法に比較して骨髄細胞系に特化した高いコロニー形成能があることが判明している。マウス骨髄造血幹細胞は同一性細胞集団でなく、骨髄系細胞への分化を指標にしたヒエラルキーが存在する事が示唆されている。今後、CD43 陽性細胞の解析ならびに分化後の各血液細胞ステップでの詳細な遺伝子解析、エピゲノム解析を行うことにより、幹細胞としての特性を有する細胞への効率的な誘導法に発展させていきたい。[シングルセルでの分化法を導入することで安定した再現性と定量性を実現することができた(左図)。これを元に、改善した分化法を評価すると定量的に血球分化効率が著しく増加していることが分かった(右図)]。



共同研究論文: Yamazaki et al., Blood 2009;  
Nakajima-Takagi et al., Blood 2013

## 「遠藤」グループ

### ①研究実施方法

「岩間」グループと協力して造血幹細胞のエピジェネティクスの解析を行う。特に、ChIP-chip 解析やマイクロアレイを用いた遺伝子発現を担当する。

### ②研究実施内容及び成果

#### 1) エピジェネティック解析、遺伝子発現解析

遠藤らのグループは上記「岩間」グループの項目 1, 3 の研究において、「岩間」グループと協力してエピジェネティック解析と遺伝子発現解析を行った。特に ChIP-chip 解析を担当し、HoxB4 遺伝子の標的遺伝子の同定や、Hbo1-Brd1/Brpf2 HAT 複合体の標的遺伝子の同定、SOX17 の標的遺伝子の同定に成功した。

共同研究論文: Oshima et al., Blood 2011; Mishima et al., Blood 2011; Nakajima et al., Blood 2013

## § 4. 成果発表等

(1)原著論文発表 (国内(和文)誌 0件、国際(欧文)誌 41件)

1. Yamazaki S, Iwama A, Takayanagi SI, Eto K, Ema H, and Nakauchi H. TGF-beta as a candidate bone marrow niche signal to induce hematopoietic stem cell hibernation. *Blood* **113**, 1250-1256, 2009. (DOI: 10.1182/blood-2008-04-146480).
2. Chiba T, Miyagi S, Saraya A, Aoki R, Seki A, Morita Y, Yonemitsu Y, Yokosuka O, Taniguchi H, Nakauchi H, and Iwama A. The polycomb gene product BMI1 contributes to the maintenance of tumor-initiating side population cells in hepatocellular carcinoma. *Cancer Res* **68**, 7742-7749, 2008. (DOI:10.1158/0008-5472.CAN-07-5882).
3. Yashiro Y, Bannai H, Yabiku T, Minowa T, Miyano S, Osawa M, Iwama A, Nakauchi H. Transcriptional profiling of hematopoietic stem cells by high-throughput sequencing. *Int J Hematol* **89**, 24-33, 2009. (DOI:10.1158/0008-5472.CAN-07-5882).
4. Ku M, Koche RP, Rheinbay E, Mendenhall EM, Endoh M, Mikkelsen TS, Presser A, Nusbaum C, Xie X, Chi AS, Adli M, Kasif S, Ptaszek LM, Cowan CA, Lander ES, Koseki H, Bernstein BE. Genomewide analysis of PRC1 and PRC2 occupancy identifies two classes of bivalent domains. *PLoS Genet* **4**, e1000242, 2008. (DOI: 10.1371/journal.pgen.1000242).
5. Fukushima K, Matsumura I, Ezoe S, Tokunaga M, Yasumi K, Satoh Y, Shibayama H, Tanaka H, Iwama A, and Kanakura Y. FIP1L1-PDGFR $\alpha$  imposes eosinophil lineage commitment on hematopoietic stem/progenitor cells. *J Biol Chem* **284**, 7719-7732, 2009. (DOI: 10.1074/jbc.M807489200)
6. Feng J, Iwama A, Satake M, and Kohu K. MicroRNA-27 enhances differentiation of myeloblasts into granulocytes by post-transcriptionally down-regulating Runx1. *Br J Haematol* **145**, 24-33, 2009. (DOI:10.1111/j.1365-2141.2009.07632.x)
7. Oguro H, Yuan J, Ichikawa H, Ikawa T, Yamazaki S, Kawamoto H, Nakauchi H, and Iwama A. Poised lineage specification in multipotent hematopoietic stem and progenitor cells by the polycomb protein Bmi1. *Cell Stem Cell* **6**, 279-286, 2010. (DOI:10.1016/j.stem.2010.01.005)
8. Okabe M, Otsu M, Ahn DH, Kobayashi T, Morita Y, Wakiyama Y, Onodera M, Eto K, Ema H, Nakauchi H. Definitive proof for direct reprogramming of hematopoietic cells to pluripotency. *Blood* **114**, 1764-1767, 2009. (DOI:10.1182/blood-2009-02-203695)
9. Nishino T, Miyaji K, Ishiwata N, Arai K, Yui M, Asai Y, Nakauchi H, and Iwama A. Ex vivo expansion of human hematopoietic stem cells by a small-molecule agonist of c-MPL. *Exp Hematol* **37**, 1364-1377, 2009. (DOI:10.1016/j.exphem.2009.09.001)
10. Negishi M, Saraya A, Mochizuki S, Helin K, Koseki H, and Iwama A. A novel zinc finger protein Zfp277 mediates transcriptional repression of the Ink4a/Arf locus through polycomb repressive complex 1. *PLoS One* **5**, e12373, 2010. (DOI:10.1371/journal.pone.0012373)
11. Sugawara T, Oguro H, Negishi M, Morita Y, Ichikawa H, Iseki T, Yokosuka O, Nakauchi H, Iwama A. FET family proto-oncogene Fus contributes to self-renewal of hematopoietic stem cells. *Exp Hematol* **38**, 696-706, 2010. (DOI:10.1016/j.exphem.2010.04.006)
12. Hayashi Y, Chan T, Warashina M, Fukuda M, Ariizumi T, Okabayashi K, Takayama N, Otsu M, Eto K, Furue MK, Michiue T, Ohnuma K, Nakauchi H, Asashima M. Reduction of N-glycolylneuraminic acid in human induced pluripotent stem cells generated or cultured under feeder- and serum-free defined conditions. *PLoS One* **5**, e14099, 2010. (DOI:10.1371/journal.pone.0014099)
13. Takayama N, Nishimura S, Nakamura S, Shimizu T, Ohnishi R, Endo H, Yamaguchi T, Otsu M, Nishimura K, Nakanishi M, Sawaguchi A, Nagai R, Takahashi K, Yamanaka S, Nakauchi H, Eto K. Transient activation of c-MYC expression is critical for efficient platelet generation from human induced pluripotent stem cells. *J Exp Med* **7**:2817-2830, 2010. (DOI:10.1084/jem.20100844)
14. Li X, Isono K, Yamada D, Endo TA, Endoh M, Shinga J, Mizutani-Koseki Y, Otte AP, Casanova M, Kitamura H, Kamijo T, Sharif J, Ohara O, Toyada T, Bernstein BE, Brockdorff N, Koseki H. Mammalian Polycomb-Like Pcl2/Mtf2 Is a Novel Regulatory Component of PRC2 That Can Differentially Modulate Polycomb Activity both at the Hox Gene Cluster and at Cdkn2a Genes. *Mol Cell Biol* **31**, 351-364, 2011. (DOI:10.1128/MCB.00259-10)

15. Oshima M, Endoh M, Endo TA, Toyoda T, Nakajima-Takagi Y, Sugiyama F, Koseki H, Kyba M, Iwama A, and Osawa M. Genome-wide analysis of target genes regulated by HoxB4 in hematopoietic stem and progenitor cells developing from embryonic stem cells. *Blood* **117**, e142-150, 2011. (DOI:10.1182/blood-2010-12-323212)
16. Yuan J, Takeuchi M, Negishi M, Oguro H, Ichikawa H, and Iwama A. Bmi1 is essential for leukemic reprogramming of myeloid progenitor cells. *Leukemia* **25**. 1335-43, 2011. (DOI:10.1038/leu.2011.85)
17. Umemoto T, Yamato M, Ishihara J, Shiratsuchi Y, Utsumi M, Morita Y, Tsukui H, Terasawa M, Shibata T, Nishida K, Kobayashi Y, Petrich BG, Nakauchi H, Eto K, Okano T. Integrin  $\alpha\beta 3$  regulates thrombopoietin-mediated maintenance of hematopoietic stem cells. *Blood* **119**, 83-94. 2012. (DOI: 10.1182/blood-2011-02-335430)
18. Konuma T, Nakamura S, Miyagi S, Negishi M, Chiba T, Oguro H, Yuan J, Mochizuki-Kashio M, Ichikawa H, Miyoshi H, Vidal M and Iwama A. Forced expression of the histone demethylase Fbx110 maintains self-renewing hematopoietic stem cells. *Exp Hematol* **39**, 697-709, 2011. (DOI: 10.1016/j.exphem.2011.03.008)
19. Takeda Y, Nakaseko C, Tanaka H, Takeuchi M, Yui M, Saraya A, Miyagi S, Wang C, Tanaka S, Ohwada C, Sakaida E, Yamaguchi N, Yokote K, Hennighausen L, and Iwama A. Direct activation of STAT5 by ETV6-Lyn fusion protein promotes induction of myeloproliferative neoplasm with myelofibrosis. *Br J Haematol* **153**, 589-598, 2011. (DOI:10.1084/jem.20111709).
20. Mishima Y, Miyagi S, Saraya A, Negishi M, Endoh M, Endo TA, Toyoda T, Shinga J, Katsumoto T, Chiba T, Yamaguchi N, Kitabayashi I, Koseki H, and Iwama A. The Hbo1-Brd1/Brpf2 complex is responsible for global acetylation of H3K14 and required for fetal liver erythropoiesis. *Blood* **118**, 2443-2453, 2011. (DOI: 10.1182/blood-2011-01-331892)
21. Mochizuki-Kashio M, Mishima Y, Miyagi S, Negishi M, Saraya A, Konuma T, Shinga J, Koseki H, and Iwama A. Dependency on the polycomb protein Ezh2 distinguishes fetal from adult hematopoietic stem cells. *Blood* **118**, 6553-6561, 2011. (DOI: 10.1182/blood-2011-03-340554)
22. Oguro H, Yuan J, Tanaka S, Miyagi S, Mochizuki-Kashio M, Ichikawa H, Yamazaki S, Koseki H, Nakauchi H, and Iwama A. Lethal myelofibrosis induced by Bmi1-deficient hematopoietic cells unveils a tumor suppressor function of the polycomb group genes. *J Exp Med* **209**, 445-454, 2012. (DOI:10.1084/jem.20111709).
23. Tanaka S, Miyagi S, Sashida G, Chiba T, Yuan J, Mochizuki-Kashio M, Suzuki Y, Sugano S, Nakaseko C, Yokote K, Koseki H, and Iwama A. Ezh2 augments leukemogenicity by reinforcing differentiation blockage in acute myeloid leukemia. *Blood* **120**, 1107-1117, 2012 (DOI:10.1182/blood-2011-11-394932).
24. Nakamura S, Oshima M, Yuan J, Saraya A, Miyagi S, Konuma T, Yamazaki S, Osawa M, Nakauchi H, Koseki H, and Iwama A. Bmi1 confers resistance to oxidative stress on hematopoietic stem cells. *PLoS ONE* **7**, e36209, 2012. (DOI:10.1371/journal.pone.0036209).
25. Nakajima-Takagi Y, Osawa M, Oshima M, Takagi H, Miyagi S, Endoh M, Endo TA, Takayama N, Eto K, Toyoda T, Koseki H, Nakauchi H, and Iwama A. Role of SOX17 in hematopoietic development from human embryonic stem cells. *Blood* **121**, 447-458, 2013. (DOI:10.1182/blood-2012-05-431403. Epub 2012 Nov 20).
26. Kumano K, Arai S, Hosoi M, Taoka K, Takayama N, Otsu M, Nagae G, Ueda K, Nakazaki K, Kamikubo Y, Eto K, Aburatani H, Nakauchi H, Kurokawa M. Generation of induced pluripotent stem cells from primary chronic myelogenous leukemia patient samples. *Blood* **119**, 6234-42, 2012 (DOI:10.1182/blood-2011-07-367441).
27. Kajiwara M, Aoi T, Okita K, Takahashi R, Inoue H, Takayama N, Endo H, Eto K, Toguchida J, Uemoto S, Yamanaka S. Donor-dependent variations in hepatic differentiation from human-induced pluripotent stem cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. **109**, 12538-43, 2012. (DOI:10.1073/pnas.1209979109).
28. Nishimura T, Kaneko S, Kawana-Tachikawa A, Tajima Y, Goto H, Zhu D, Nakayama-Hosoya K, Iriguchi S, Uemura Y, Shimizu T, Takayama N, Yamada D, Nishimura K, Ohtaka M, Watanabe N, Takahashi S, Iwamoto A, Koseki H, Nakanishi M, Eto K, Nakauchi H. Generation of rejuvenated antigen-specific T cells by reprogramming to pluripotency and redifferentiation.

- Cell Stem Cell* **12**, 114-26, 2013. (doi: 10.1016/j.stem.2012.11.002).
29. Hisada K, Sánchez C, Endo TA, Endoh M, Román-Trufero M, Sharif J, Koseki H, Vidal M. RYBP represses endogenous retroviruses and preimplantation- and germ line-specific genes in mouse embryonic stem cells. *Mol Cell Biol* **32**, 1139-1149, 2012 (DOI:10.1128/MCB.06441-11).
  30. Endoh M, Endo TA, Endoh T, Isono K, Sharif J, Ohara O, Toyoda T, Ito T, Eskeland R, Bickmore WA, Vidal M, Bernstein BE, Koseki H. Histone H2A mono-ubiquitination is a crucial step to mediate PRC1-dependent repression of developmental genes to maintain ES cell identity. *PLoS Genet* **8**, e1002774, 2012. (DOI:10.1371/journal.pgen.1002774).
  31. Ku M, Jaffe JD, Koche RP, Rheinbay E, Endoh M, Koseki H, Carr SA, Bernstein BE. H2A.Z landscapes and dual modifications in pluripotent and multipotent stem cells underlie complex genome regulatory functions. *Genome Biol* **13**, R85, 2012 (DOI:10.1186/gb-2012-13-10-r85).
  32. Harada Y, Inoue D, Ding Y, Imagawa J, Doki N, Matsui H, Yahata T, Matsushita H, Ando K, Sashida G, Iwama A, Kitamura T, and Harada H. RUNX1/AML1 mutant collaborates with BMI1 overexpression in the development of human and murine myelodysplastic syndromes. *Blood* **121**, 3434-3446, 2013. (DOI:10.1182/blood-2012-06-434423. Epub 2013 Mar 7).
  33. Muto T, Sashida G, Oshima M, Wendt GR, Mochizuki-Kashio M, Nagata Y, Sanada M, Miyagi S, Saraya A, Kamio A, Nagae G, Nakaseko C, Yokote K, Shimoda K, Koseki H, Suzuki Y, Sugano S, Aburatani H, Ogawa S, and Iwama A. Concurrent loss of Ezh2 and Tet2 cooperates in the pathogenesis of myelodysplastic disorders. *J Exp Med* **210**, 2627-2639, 2013 (DOI:10.1084/jem.20131144).
  34. Nakagawa Y, Nakamura S, Nakajima M, Endo H, Dohda T, Takayama N, Nakauchi H, Arai F, Fukuda T, Eto K. Two differential flows in a bioreactor promoted platelet generation from human pluripotent stem cell-derived megakaryocytes. *Exp Hematol.* **41**, 742-8, 2013. (DOI:10.1016/j.exphem.2013.04.007. Epub 2013 Apr 22).
  35. Hirata S, Takayama N, Jono-Ohnishi R, Endo H, Nakamura S, Dohda T, Nishi M, Hamazaki Y, Ishii EI, Kaneko S, Otsu M, Nakauchi H, Kunishima S, Eto K. Congenital amegakaryocytic thrombocytopenia iPS cells exhibit defective MPL-mediated signaling. *J Clin Invest* **41**, 742-748, 2013. (DOI:10.1172/JCI64721. Epub 2013 Apr 22).
  36. Saito T, Yano F, Mori D, Ohba S, Hoji H, Otsu M, Eto K, Nakauchi H, Tanaka S, Chug U-i, Kawaguchi H. Generation of Col2a1-EGFP iPS cells for monitoring chondrogenic differentiation. *PLoS One* **8**:e74137, 2013. (DOI:10.1371/journal.pone.0074137)
  37. Nishimura S, Manabe I, Takaki S, Nagasaki M, Otsu M, Yamashita H, Sugita J, Yoshimura K, Eto K, Komuro I, Kadowaki T, Nagai R. Adipose natural regulatory B cells negatively control adipose tissue inflammation. *Cell Metab* pii: S1550-4131(13)00386-0 (in press), 2013 (doi:10.1016/j.cmet.2013.09.017).
  38. Hirose S, Takayama N, Nakamura S, Nagasawa K, Ochi K, Hirata S, Yamazaki S, Yamaguchi T, Otsu M, Sano S, Takahashi N, Sawaguchi A, Ito M, Kato T, Nakauchi H, Eto K. Immortalization of Erythroblasts by c-MYC and BCL-XL Enables Large-Scale Erythrocyte Production from Human Pluripotent Stem Cells. *Stem Cell Reports* **1**, 499-508, 2013 (doi:10.1016/j.stemcr.2013.10.010. eCollection 2013).
  39. Nakamura S, Takayama N, Hirata S, Seo H, Endo H, Ochi K, Fujita KI, Koike T, Harimoto KI, Dohda T, Watanabe A, Okita K, Takahashi N, Sawaguchi A, Yamanaka S, Nakauchi H, Nishimura S, Eto K. Expandable Megakaryocyte Cell Lines Enable Clinically Applicable Generation of Platelets from Human Induced Pluripotent Stem Cells. *Cell Stem Cell* pii: S1934-5909(14)00012-5(in press), 2014 (doi:10.1016/j.stem.2014.01.011).
  40. Miyagi S, Koide S, Saraya A, Wendt GR, Oshima M, Konuma T, Yamazaki S, Mochizuki-Kashio M, Nakajima-Takagi Y, Wang C, Chiba T, Kitabayashi I, Nakauchi H and Iwama A. The Tif1 $\beta$ -Hp1 system maintains transcriptional integrity of hematopoietic stem cells. *Stem Cell Reports* **2**, 145-152, 2014 (doi: 10.1016/j.stemcr.2013.12.008. eCollection 2014 Feb 11).
  41. Nobuhisa I, Osawa M, Uemura M, Kishikawa Y, Anani M, Harada K, Takagi H, Saito K, Kanai-Azuma M, Kanai Y, Iwama A and Taga T. Sox17-mediated maintenance of fetal intra-aortic hematopoietic cell clusters. *Mol Cell Biol* 2014 (in press) Mar 24. [Epub ahead of print]. (doi:10.1128/MCB.01485-13)

(2)その他の著作物(総説、書籍など)

1. 高山直也, 小林俊寛, 江藤浩之, 中内啓光 「iPS 細胞の樹立と再生医療への応用」 *Arthritis* **6**:4-9, 2008.
2. 江藤浩之, 中内啓光 「胚性幹細胞および iPS 細胞から誘導した血小板を用いた輸血療法」 *Drug Delivery System* **23**:553-559, 2008.
3. 岩間厚志 「造血幹細胞」「みんなに役立つ造血幹細胞移植の基礎と臨床」(神田善伸編) pp.24-30, *医薬ジャーナル*, 2008.
4. 岩間厚志 「造血幹細胞のエピジェネティクスとその制御法の創出」, *再生医療*, **7**:23-26, 2008.
5. 檜尾牧子, 岩間厚志 「造血幹細胞の増殖制御メカニズム」 *最新医学*, **63**:2296-2301, 2008.3.
6. 千葉哲博, 岩間厚志 「ポリコム複合体による癌幹細胞の制御機構」 *実験医学増刊号*, **27**: 「癌と微小環境」(江角浩安, 高倉伸幸, 宮園浩平, 森正樹編), pp.29-35, 2009
7. 岩間厚志 「白血病幹細胞」 *造血器腫瘍アトラス*(阿部達生編), pp.37-43, 2009
8. 宮城聡, 岩間厚志 「ポリコム複合体による幹細胞制御」 *最新医学増刊号* **64**:「幹細胞研究の最新の進歩」(須田年生監修) pp.148-158, 2009
9. 岩間厚志 「幹細胞のエピジェネティクス」 *ゲノム医学* **9**:171-175., 2009
10. 江藤浩之 「ES・iPS 細胞の有用性に着目した血小板輸血法の開発—献血の要らない血小板製剤への挑戦—」 *医学のあゆみ* **229**:495-496., 2009
11. 江藤浩之 「ES および iPS 細胞からの血小板産生」 *日本内科学会雑誌* **98**:119-126., 2009
12. 江藤浩之, 中内啓光 「ES 細胞由来血小板」 *再生医療の細胞ソース 3 治療学* **43**:609-614, 2009
13. 江藤浩之, 高山直也, 中内啓光 「ヒト ES 細胞をソースとする血小板産生培養法」 *幹細胞の分化誘導と応用*「ES 細胞・iPS 細胞からの血液細胞の分化誘導」セクション p159-167, 2009
14. 江藤浩之, 西村智 「iPS 細胞からの血小板産生技術とその方向性」 *血液フロンティア*「再生医療の現状とシンポ」; *ES 細胞, iPS 細胞と体性幹細胞の臨床への応用* p1693-1699, 2009
15. 江藤浩之, 高山直也, 中内啓光 「iPS 細胞からの血小板産生」 *最新医学 別冊 新しい診断と治療のABC*「血小板減少症・増加症」, p182-189, 2009
16. 遠藤充浩, 古関明彦 「ヒストン H2A のユビキチン化による遺伝子発現の制御」 *生体の科学 12 月号*「ユビキチン化による生体機能の調節」(金原一郎記念医学医療振興財団), 2009
17. 大澤光次郎, 大津真, 岩間厚志 「造血幹細胞と再生医療」 *実験医学 1 月増刊号*, **28** 「再生医療の最前線 2010~ES・iPS・組織幹細胞の特性の理解と分化誘導、創薬・臨床応用に向けた品質管理、安全性の基盤技術」(中辻憲夫, 中内啓光監修), pp.113-120., 2010
18. Konuma T, Oguro H, and Iwama A. Role of polycomb group proteins in hematopoietic stem cells.(Review) *Dev Growth Differ* **52**, 505-516, 2010. (DOI: 10.1111/j.1440-169X.2010.01191.x)
19. 岩間厚志 「エピジェネティクスと再生医療」 *CARDIAC PRACTICE* **21**:385-390., 2010
20. Sharif J, Endoh M, and Koseki H. “Epigenetic memory meets G2/M; to remember or to forget?” *Dev Cell* **20**, 5-6, 2011.
21. 岩間厚志 「幹細胞研究は何を明らかにしつつあるのか」 *実験医学* **29**:2-8., 2011
22. 宮城聡, 小黒秀行, 岩間厚志 「幹細胞の多能性を規定するエピジェネティック機構」 *実験医学* **29**:21-28., 2011
23. 岩間厚志 「造血幹細胞のエピジェネティクス」 *中国科学技術月報 1 月号*, **51**, 2011
24. 指田吾郎, 岩間厚志 「造血」 *疾患モデルマウス表現型解析指南* (山村研一, 若菜茂晴編集) pp.248-253, 2011.
25. 岩間厚志 「造血幹細胞のヒストンメチル化修飾による制御機構」 *血液内科* **63**:242-247., 2011
26. 宮城聡, 三嶋雄太, 岩間厚志 「MYST ファミリーに属するヒストンアセチル化酵素の構造と機能」 *臨床血液* **52**:490-496., 2011
27. Mochizuki-Kashio M, Went G, and Iwama A. Tumor suppressor function of the polycomb group genes. (Editorial) *Cell Cycle* **11**, 2043-2044, 2012. (DOI: 10.4161/cc.20533).

28. Iwama A. Epigenetics of hematopoiesis and hematological malignancies. (Editorials) *Int J Hematol* **96**:403-404, 2012. (DOI:10.1007/s12185-012-1184-9).
29. Sashida G and Iwama A. Epigenetic regulation of hematopoiesis. *Int J Hematol* **96**:405-412, 2012. (DOI:10.1007/s12185-012-1183-x).
30. Nishino T, Osawa M, and Iwama A. New approaches to expand hematopoietic stem and progenitor cells. (Review) *Expert Opin Biol Ther* **12**, 743-756, 2012. (DOI:10.1517/14712598.2012.681372).
31. Takayama N, Eto K. Pluripotent stem cells reveal the developmental biology of human megakaryocytes and provide a source of platelets for clinical application. *Cell Mol Life Sci* **119**:6234-42, 2012. (DOI: 10.1007/s00018-012-0995-4).
32. Eto K. The contribution of pluripotent stem cells to blood cells. *Int J Hematol.* **95**:599-600, 2012 (DOI: 10.1007/s12185-012-1109-7).
33. Takayama N, Eto K. In vitro generation of megakaryocytes and platelets from human embryonic stem cells and induced pluripotent stem cells. *Methods Mol Biol* **788**:205-17, 2012. (DOI: 10.1007/978-1-61779-307-3\_15).
34. 岩間厚志 「幹細胞のエピジェネティクス」 「再生医療叢書1幹細胞」 (山中伸弥、中内啓光編) pp.142-156, 2012
35. 指田吾郎、千葉哲博、岩間厚志 「癌幹細胞とエピゲノム制御異常」 *細胞工学* **31**:24-31., 2012
36. 岩間厚志 「造血幹細胞」 「みんなに役立つ造血幹細胞移植の基礎と臨床」 (神田善伸編) pp.28-34, 2012
37. 江藤浩之、遠藤大 「iPS 細胞の目指す方向性; 血小板産生系を例に」 *Pharma Medica* **30**:59-64, 2012
38. 江藤浩之 「iPS バンク有効利用した血液疾患治療法の開発」 *臨床血液* **53**:658-63, 2012 July
39. 遠藤充浩、古関明彦 「ポリコーム群によるヒストン修飾を介した発生分化制御」 *実験医学* **11**月号, **30**, 2902-2907, 2012
40. Koide S, Wendt G, and Iwama A. Epigenetic regulation of hematopoietic stem cells. (Mini-review) *Inflammation and Regeneration* in press.
41. Nakajima-Takagi Y, Osawa M, and Iwama A. Manipulation of hematopoietic stem cells for regenerative medicine. (Review) *Anatomical Report* in press.
42. Wendt G, Nakamura S, and Iwama A. Crucial role of the polycomb group gene product BMI-1 in the maintenance of self-renewing hematopoietic stem cells. In *Therapeutic Applications in Disease and Injury* (Hayat MA eds) *Stem Cells and Cancer Stem Cells* **9**, 2013, pp 143-153, Springer.
43. 中島やえ子、岩間厚志 「ポリコーム群複合体の機能低下と造血幹細胞老化」 *内分泌・糖尿病・代謝内科* **37**:212-216., 2013
44. 岩間厚志 「造血幹細胞のエピジェネティクス」 *Annual Review 血液* (高久史磨、小澤敬也、坂田洋一、金倉護、小島勢二編) pp.1-8, 2013
45. 岩間厚志 「幹細胞老化とエピジェネティクス」 *アンチ・エイジング医学-日本抗加齢医学会雑誌* **9**:16-22. pp.1-8., 2013
46. 岩間厚志 (2013) 「造血器腫瘍における癌抑制遺伝子としてのポリコーム群遺伝子の機能」 *臨床血液* **54**:642-648, 2013
47. Oda A, Eto K. WASPs and WAVES: from molecular function to physiology in hematopoietic cells. *Semin Cell Dev Biol* **24**:308-13, 2013.

(3)国際学会発表及び主要な国内学会発表

① 招待講演 (国内会議 52 件、国際会議 24 件)

1. 江藤浩之 (2008) 「Strategy of efficient platelet production from ES・iPS cells」 第7回血管・血液オルビス 招待シンポジウム 8月(東京)
2. 岩間厚志 (2008) 「多能性幹細胞を用いた造血再生医療の現状と展望」、平成20年第1回かずさバイオテクノロジーセミナー「ES細胞とiPS細胞研究の最新動向」8月(千葉)

3. 岩間厚志 (2008)「癌幹細胞のエピジェネティクス」、平成 20 年第 11 回中外造血フォーラム「幹細胞システムの分子機構から見た病態・治療」10 月(東京)
4. 江藤浩之 (2008)「サイトカインアダプターLnkは安定的血栓形成に寄与する」第 31 回日本血栓止血学会学術集会【シグナル】11 月(大阪)
5. 岩間厚志 (2008)「Unexpected role for the polycomb gene Bmi1 in lymphocyte commitment」、第 38 回日本免疫学会総会シンポジウム「Immune development」12 月(京都)
6. 岩間厚志 (2008)「ポリコム複合体による幹細胞機能のエピジェネティック制御」、第 31 回日本分子生物学会年会・第 81 回日本生化学会大会 合同大会シンポジウム「翻訳後修飾系によるクロマチンの動態制御」12 月(神戸)
7. Iwama A. (2008) Role of the polycomb group gene Bmi1 in normal hematopoiesis and leukemia. Professor Tomonaga Commemorative Symposium-Biology and Clinical Implications of Epigenetics in Leukemia and MDS, Nagoya, Dec.
8. 岩間厚志 (2009)「翻訳後ヒストン修飾による造血幹細胞の機能制御」、第 2 回新潟悪性リンパ腫・感染症研究会 1 月(新潟)
9. 岩間厚志 (2009)「造血幹細胞の自己複製制御機構」、第 5 回東京血液・腫瘍フォーラム 2 月(東京)
10. Iwama A. (2009) Regulation of hematopoietic stem cell fate decision by the polycomb gene Bmi1. USA-Japan Cooperative Cancer Workshop “Stem Cells in Normal and Malignant Hematopoiesis”, March 27-29, 2009, Hawaii
11. 江藤浩之 (2009)「ES・iPS 細胞からの血小板産生」日本輸血細胞治療学会(5 月 28 日)(埼玉県、大宮ソニックシティー)
12. 岩間厚志 (2009)「造血幹細胞と白血球幹細胞のエピジェネティクス制御」、第 21 回セラピーセミナー 6 月(前橋)
13. 岩間厚志 (2009)「造血幹細胞制御の分子機構」、第 6 回千葉造血器腫瘍研究会 7 月(千葉)
14. 岩間厚志 (2009)「造血幹細胞・白血病におけるポリコム遺伝子の機能」、第 22 回東北 BMT 研究会 7 月(仙台)
15. 岩間厚志 (2009)「造血幹細胞制御の自己複製制御と再生医療」第 17 回加齢と再生医学研究会 8 月(岡山)
16. 遠藤充浩, 遠藤高帆, 古関明彦 (2009)“PRC1 suppresses ES cell differentiation programs through PRC2-dependent and PRC2-independent mechanisms.” 第 19 回日本数理生物学会年会(東京大学駒場キャンパス)9 月 9 日～11 日
17. Iwama A. (2009) Regulation of hematopoietic stem cells by the polycomb gene Bmi1. Mini-Symposium “Transcription factors in differentiation and tumorigenesis” honoring Daniel G. Tenen, M.D. Sep 25, 2009, (Boston, MA, USA)
18. 宮城聡, 岩間厚志 (2009)「転写共役因子 TIF1 $\beta$  は造血幹細胞の維持に働く」第 82 回日本生化学会大会(神戸国際会議場)10 月 21 日～24 日
19. 遠藤充浩, 遠藤高帆, 古関明彦 (2009)「ポリコム群 Ring1A/B によるヒストン修飾を介した幹細胞制御」第 82 回日本生化学会大会(神戸国際会議場)10 月 21 日～24 日
20. 岩間厚志 (2009)「新規標的分子としてのポリコム複合体」第 71 回日本血液学会学術集会(国立京都国際会館)10 月 23 日～25 日
21. Eto K. (2009)「Novel therapeutic strategy in patients who require repeated transfusion of human leukocyte antigen-matched platelets derived from human induced pluripotent stem cells」国際輸血学会 名古屋国際会議場. (Nov 17, 2009)
22. Iwama A. (2010) Regulation of normal and cancer stem cell self-renewal by the polycomb complexes. 1st Chiba-Uppsala Academia Joint Workshop “Inflammation/Immunity and Cancer”Feb 19 (Chiba)
23. 岩間厚志 (2009)「ポリコム複合体による造血幹細胞の多能性維持機構」第 9 回日本再生医療学会総会シンポジウム「エピジェネティクス研究」3 月 18 日～19 日(広島)
24. 江藤浩之. What's blood donation? なぜ、血小板を iPS 細胞から作るのか、日本医工学治療



- 学会第 26 回学術大会シンポジウム、4 月 2-4 日(東京)
25. 江藤浩之. iPS 細胞をソースとした血小板製剤開発、第 47 回日本臨床分子医学会学術集会シンポジウム「iPS 細胞研究最前線:臨床応用と疾患研究」、4 月 10-11 日(東京)
  26. 江藤浩之. iPS 細胞をソースとした血液製剤の開発、第 58 回日本輸血・細胞治療学会総会、5 月 28-30 日(名古屋)
  27. Eto K. “Human iPS cells from Blood and Blood from iPS cells” Hematopoiesis in Health and Disease in Lund. May 15-17 (May 17 presentation), 2010. (Lund, Sweden.)
  28. 遠藤充浩 (2010) 「クロマチン制御因子ポリコム群による哺乳類初期胚における幹細胞制御」京大放生研セミナー 6月4日 (京都大学放射線生物研究センター)
  29. 岩間厚志 (2010) 「造血幹細胞制御の分子機構とその増幅法開発の試み」第 26 回横浜血液集談会 7 月 2 日(横浜)
  30. 岩間厚志 (2010) 「ポリコム複合体による幹細胞のエピジェネティクス制御」第 2 神戸がん研究会 7 月 30 日(神戸)
  31. Iwama A. (2010) Unexpected role for the polycomb gene Bmi1 in lymphoid commitment. The 4th Chiba University Global COE Symposium. “Regulation of Immune Disorders” August 20, (Chiba)
  32. 江藤浩之 (2010) ヒト iPS 細胞由来血液細胞を用いた臨床応用の可能性、第 28 回日本ヒト細胞学会学術集会、8 月 23 日(つくば)
  33. Iwama A. (2010) Role of the polycomb proteins in normal and cancer stem cells. The 15th Samsung International Symposium on Molecular Medicine. “Cancer metastasis and cancer stem cell biology” October 8-9, (Seoul, Korea)
  34. Eto K. “Human Induced Pluripotent Stem Cell-derived Blood Cells toward Clinical Application” The 1st ISCT Asia-Pacific Regional Meeting. Oct 17-20, 2010. (Miyazaki, Japan.) (Oct18)
  35. Eto K. “Novel Target of Ex Vivo Expansion; Integrin  $\alpha\beta3$  Ligation Enables Regulation of Hematopoietic Stem Cell Division Leading to Maintenance of Reconstitution Potential” The 1st ISCT Asia-Pacific Regional Meeting. Oct 17-20, 2010. (Miyazaki, Japan.) (Oct19)
  36. Eto K. “ES Cells and iPS Cells for Cardiovascular Research” American Heart Association SCIENTIFIC SESSIONS 2010. Nov 13-17, 2010. (Chicago, U.S.A.) (Nov 16)
  37. 岩間厚志 (2010) Role of polycomb group proteins in the maintenance of self-renewal capacity and multipotency of hematopoietic stem cells、第 33 回日本分子生物学会年会・第 83 回日本生化学会大会 合同大会シンポジウム「発生・分化におけるエピジェネティクス制御」12 月(神戸)
  38. Iwama A. (2010) Regulation of hematopoietic stem cells by the polycomb repressive complexes. International conference on stem cells and cancer (ICSCC-2010). December 11-14, (Pune, India)
  39. 岩間厚志 (2011) 「造血幹細胞のエピジェネティクス」第 32 回日本炎症・再生医学会シンポジウム「疾患と再生における幹細胞生物学の新展開」6 月(京都)
  40. 岩間厚志 (2011) 「ヒト造血幹細胞の体外増幅の可能性」第 21 回日本サイトメトリー学会学術集會会長シンポジウム「ヒト造血幹細胞に関する研究:最近の進歩」6 月(京都)
  41. Eto K. “Blood generation from iPS cells toward clinical applications”(第 32 回日本炎症・再生医学会 1st Meeting of Asian-Pacific Federation of Inflammation and Regeneration 合同開催) Jun 2-3, 2011. (Kyoto, JAPAN.)
  42. Eto K. “Potential application of human iPS cell-derived hematopoietic cells for disease treatment” 7th IABS Symposium on Advances in Transfusion Safety. Jul 15-17, 2011. (Singapore.)
  43. 江藤浩之 (2011) iPS 細胞バンクを有効利用した血液疾患治療法の開発、第 24 回日本動物細胞工学会 2011 年度大会(JAACT2011)、7 月 22-23 日(東京)
  44. 岩間厚志 (2011) 教育講演「造血器腫瘍のエピゲノム」第 73 回日本血液学会総会 10 月(名古屋)
  45. 江藤浩之 (2011) まれな血液型および HLA タイプ患者のための iPS 細胞技術を用いた新しい輸血システム開発、第 18 回日本血液代替物学会年次大会、10 月 27 日(札幌)

46. Eto K. "Potential application of human iPS cell-derived blood cells and evaluation system in mouse xenogeneic transplantation models" The Third International Workshop on Humanized Mice. October 28-31st, 2011. (Pittsburgh, USA)
47. 岩間厚志 (2011) 教育講演「血液疾患と Epigenetics」第 96 回近畿血液学地方会 11 月 (大阪)
48. 岩間厚志 (2011) 関連分野セミナー「エピジェネティクス update」第 40 回日本免疫学会学術集会 11 月 (千葉)
49. Eto K. "PRODUCTION OF PLATELETS FROM STEM CELLS" The XXII<sup>nd</sup> Regional Congress of the ISBT. November 20 - 23, 2011. (Taipei)
50. Nakamura S, Takayama N, Nakauchi H and Eto K. "Platelet Production System Using an Immortalized Megakaryocyte Cell Line Derived From Human Pluripotent Stem Cells" 53<sup>rd</sup> ASH Annual Meeting and Exposition. December 10 - 13, 2011. (San Diego, USA) メアリー・ローズ・ギブソン・メモリアル止血・血栓賞 award
51. 岩間厚志 (2011) ワークショップ「ヒト造血幹細胞の体外増幅の可能性」第 34 回日本造血細胞移植学会総会 2 月 (大阪)
52. 岩間厚志 (2011) 「造血幹細胞からのリンパ球分化のエピジェネティクス」第 36 回皮膚科免疫セミナー 3 月 (東京)
53. Iwama A. (2012) Role of the polycomb group proteins in the restriction of tumor development, The 74<sup>th</sup> Annual Scientific Meeting of the Japanese Society of Hematology, October 19-21, 2012 (Kyoto, Japan).
54. Iwama A. (2012) Role of the polycomb group proteins in the maintenance of hematopoietic stem cells and restriction of tumor development, 41<sup>st</sup> Annual Scientific Meeting of the ISEH-Society for Hematology and Stem Cells, August 23-26, 2012 (Amsterdam, Netherland).
55. Iwama A. (2012) Role of the polycomb group proteins in the maintenance of hematopoietic stem cells and restriction of tumor development, GCOE mini-Symposium "Reprogramming, Genome editing and Epigenetics." Institute of Medical Science, The University of Tokyo. June 18, 2012 (Tokyo).
56. Iwama A. (2013) Tumor suppressor function of the polycomb-group genes in myelodysplastic disorders. The 7<sup>th</sup> Joint G-COE Symposium, "Current and future trends in genome-based immunity, infection and cancer". January 28 (Tokyo).
57. Iwama A. (2013) Epigenetic regulation of hematopoietic stem cells. 2<sup>nd</sup> IGAKUKEN International Symposium on Hematopoietic Stem Cell Development. February 8 (Tokyo).
58. Iwama A. Tumor Suppressor Role of the Polycomb Genes in Myelodysplasia. 2013 USA-Japan Science Conference. March 24-26 (Makena Beach and Golf Resort, Maui, Hawaii).
59. 岩間厚志 (2013) 「造血器腫瘍のエピジェネティクス」第 10 回 Tsukuba Hematologic Disease Seminar 2 月 23 日 (つくば) 江藤浩之「iPS 細胞から血液を創る」第 9 回千葉造血器腫瘍研究会 7 月 13 日 (千葉)
60. 江藤浩之 (2012) 「iPS 細胞の使い道: 創薬と創血」、鎌倉循環器フォーラム特別講演会 11 月 13 日 (横浜)
61. 江藤浩之 (2012) 「iPS 細胞を用いた血液事業戦略の方向性」第 36 回日本血液事業学会総会 平成 24 年 10 月 18 日 (仙台)
62. 江藤浩之 (2012) 「iPS 細胞と血液再生のための戦略」、第 12 回山梨再生・移植研究会 11 月 14 日 (山梨)
63. 遠藤充浩 (2012) "Role of Polycomb group proteins in ES cells" リエゾンラボ研究会 2012 年 9 月 12 日 (熊本大学発生医学研究センター)
64. 岩間厚志 (2013) Concurrent loss of Ezh2 and Tet2 cooperates in the pathogenesis of myelodysplastic disorders. 第 72 回日本癌学会学術総会シンポジウム「がんとエピゲノム研究最前線」10 月 (横浜)
65. Iwama A. (2013) Role of polycomb proteins in hematopoietic stem cells and myeloid malignancies. Stem Therapy Minisymposium at Lund University. May 8 (Lund, Sweden)
66. 岩間厚志 (2013) Regulation of hematopoietic stem cells by histone modifications. 第 36 回日本分子生物学会年会ワークショップ「細胞系譜とエピゲノムダイナミクス」12 月 (神戸)

67. Iwama A. (2013) Epigenetic regulation of hematopoietic stem cells. The 10th Nikko International Symposium 2013 “Translational Epigenomics” October 17, Jichi Medical School, Tochigi.
68. 岩間厚志 (2014) 「ポリコーン群ヒストン修飾による造血幹細胞の機能制御」国際高等研究所プロジェクト「クロマチンデコーディング」第1回研究会3月(京都)
69. 江藤浩之 (2013) 「iPS細胞を使って造血システムを解剖する」、第8回血液腫瘍カレントセミナー5月21日(トップオブザスクエア)
70. 江藤浩之、平成25年小児白血病研究会(JACLS)全体総会、5月25日(大阪大学中之島センター304会議室)
71. 江藤浩之 (2012) 「トロンボポイエチン、トロンボポイエシスとiPS細胞の遭遇」第68回神奈川血液疾患研究会、9月7日 横浜
72. 江藤浩之 (2013) 「トロンボポイエチン受容体の欠損した患者さんの細胞から学んだ事」第20回八幡平造血セミナー、9月14日(盛岡グランドホテル)
73. 江藤浩之 (2013) 「iPS細胞を用いた創薬と創血戦略」創薬薬理フォーラム第21回シンポジウム、9月20日(日本薬学会長井記念館)
74. 江藤浩之、「再生医療の最前線—iPS細胞がなぜノーベル賞に値するのか?—」平成25年度日臨技首都圏支部医学検査学会、10月27日(東京)
75. 江藤浩之 (2013) 「ヒト造血システムにおけるTPOの役割」第13回九州血液セミナー、11月1日(ANAクラウンプラザホテル福岡)
76. 江藤浩之 (2013) 「iPS細胞から血液細胞を創る」第66回九州小児科学会、11月16-17日(パシフィックホテル沖縄)

② 口頭発表 (国内会議 33件、国際会議 17件)

1. 菅原武明, 岩間厚志 (2008) 「Fus欠損マウスにおける造血幹細胞の骨髄再構築能の障害」(Impaired Repopulating Activity of Fus-deficient Hematopoietic Stem Cells) 第70回日本血液学会総会(国立京都国際会館)10月10日~12日
2. 小黒秀行, 中内啓光, 岩間厚志 (2008) ポリコーン群遺伝子Bmi1による造血幹細胞の運命決定制御(Bmi1 regulates cell-fate decision of hematopoietic stem cells) 第70回日本血液学会総会(国立京都国際会館)10月10日~12日
3. 高山直也, 中村壮, 大西椋子, 三木敬三郎, 澤口朗, 江藤浩之, 中内啓光 (2008) 「ヒトES細胞/iPS細胞をソースとする血液分化誘導法の樹立:ES(iPS)-Sac法の可能性」第70回日本血液学会総会(京都)平成20年10月10-12日
4. 錦井秀和, 中村壮, 高山直也, 江藤浩之, 中内啓光 (2008) 「ES細胞/iPS細胞から産生した血小板が有用であるための戦略」第70回日本血液学会総会(京都)平成20年10月10-12日
5. 遠藤充浩, 古関明彦 (2009) 「ポリコーン群によるヒストン修飾を介したES細胞の未分化性維持」第6回幹細胞シンポジウム(学術総合センター)5月16日~17日
6. Endoh M, Endo TA, Endoh T, Vidal M, and Koseki H. (2009) “PRC1 suppress ES cell differentiation programs through PRC2-dependent and PRC2-independent mechanisms.” Cold Spring Harbor Laboratory (CSHL) Meeting, Mouse Genetics & Genomics: Development & Disease. (Cambridge, UK) September 2-6.
7. Iwama A. (2009) Poised lineage specification in multipotential hematopoietic stem and progenitor cells by the polycomb protein Bmi1. International Society of Experimental Hematology 38th Annual Scientific Meeting. (Athens, Greek) September 9-12.
8. 菅原武明, 守田陽平, 小黒秀行, 岩間厚志 (2009) 「TETファミリー癌遺伝子Fusは造血幹細胞の維持に必須である」第71回日本血液学会学術集会(国立京都国際会館)10月23日~25日
9. Nishino T, Miyaji K, Ishiwata N, Yui M, Asai Y, Nakauchi H, Iwama A. (2009) [A new approach for ex vivo expansion of hematopoietic stem cells by a small-molecule agonist of MPL] 第71回日本血液学会学術集会(国立京都国際会館)10月23日~25日

10. 宮城聡,三嶋雄太,更屋敦則,根岸正充,古関明彦,北林一生,岩間厚志 (2009)「Brd1 (Bromodomain-containing protein1) –HBO1 複合体による赤血球分化制御」第 71 回日本血液学会学術集会 (国立京都国際会館) 10 月 23 日～25 日
11. 高山直也, 中村壮, 大西椋子, 澤口朗, 高橋和利, 山中伸弥, 江藤浩之, 中内啓光; c-MYC 再活性化に伴うヒト iPS 細胞からの効率の良い巨核球/血小板産生法の確立、第 71 回日本血液学会学術集会 (国立京都国際会館) 10 月 23 日～25 日
12. Nishino T, Miyaji K, Ishiwata N, Arai K, Yui M, Asai Y, Nakauchi H, and Iwama A. (2009) Ex vivo expansion of human hematopoietic stem cells by a small-molecule agonist of c-MPL. 51st ASH Annual Meeting and Exposition. December 5-8 (New Orleans, USA)
13. 大澤光次郎, 中島やえ子, 大島基彦, 高木春奈, 岩間厚志 (2010)「ヒト iPS 細胞より誘導される未分化造血細胞の同定」第 9 回日本再生医療学会総会 3 月 18 日～19 日 (広島)
14. Konuma T, Miyoshi H, and Iwama A. (2010)「Role of Fbx10/Jhdm1b/Kdm2b/Ndy1, a histone H3 lysine 36 demethylase, in hematopoietic stem cells」The 72nd Annual Meeting of the Japanese Society (第72回日本血液学会学術集会) (パシフィコ横浜) 9 月 24～26 日
15. Miyagi S, Mishima Y, Saraya A, Negishi M, Endoh M, Kitabayashi I, Koseki H, and Iwama A. (2010)「BRD1/BRPF2 forms HAT complex containing HBO1 and ING5 and is required for histone H3 acetylation」The 72nd Annual Meeting of the Japanese Society (第72回日本血液学会学術集会) (パシフィコ横浜) 9 月 24～26 日
16. Kashio M, Shinga J, Koseki H, and Iwama A. (2010)「Ezh2 dependence distinguishes fetal from adult hematopoietic stem cells」The 72nd Annual Meeting of the Japanese Society (第72回日本血液学会学術集会) (パシフィコ横浜) 9 月 24～26 日
17. Oshima M, Endoh M, Iwama A, and Osawa M. (2010)「Genome-wide analysis of target genes of HoxB4 in ES cell-derived hematopoietic stem/progenitor cells」The 72nd Annual Meeting of the Japanese Society (第72回日本血液学会学術集会) (パシフィコ横浜) 9 月 24～26 日
18. Nishino T, and Iwama A. (2010)「Ex vivo expansion of hematopoietic stem and progenitor cells using a natural product, Garcinol」The 72nd Annual Meeting of the Japanese Society (第72回日本血液学会学術集会) (パシフィコ横浜) 9 月 24～26 日
19. Miyagi S, Kitabayashi I, Ichikawa H, and Iwama A. (2010)「Co-repressor TIF1B is an essential regulator of hematopoietic stem cells」8th Stem Cell Research Symposium (兵庫県立淡路夢舞台国際会議場) 5 月 13～15 日
20. 大西椋子, 高山直也, 大津真, 西村智, 西範, 浜崎雄平, 石井榮一, 小田淳, 國島伸治, 中内啓光, 江藤浩之. 巨核球造血, 血小板産生異常を呈する病態解析細胞モデルの開発、第 33 回日本血栓止血学会学術集会、4 月 22-24 日 (鹿児島)
21. 江藤浩之, 西村智, 真鍋一郎, 柿沼晴, 小田淳, 永井良三, 中内啓光, 高木智. Lnk/Sh2b3 による血小板シグナルおよび線溶系制御を介した止血血栓制御機構、第 33 回日本血栓止血学会学術集会、4 月 22-24 日 (鹿児島)
22. 西村智, 長崎実佳, 真鍋一郎, 江藤浩之, 永井良三. 生体分子イメージング手法でみる血栓形成過程と血小板機能、第 33 回日本血栓止血学会学術集会、4 月 22-24 日 (鹿児島)
23. Nishimura S, Nagasaki M, Manabe I, Eto K, and Nagai R. In vivo imaging reveals multi-cellular kinetics in thrombus formation.、第 72 回日本血液学会学術集会、平成 22 年 9 月 24-26 日 (横浜)
24. Matsubara K, Kunishima S, Takafuta T, Uchida Y, Fukakya T, Inoue D, Kashiwagi H, Tomiyama Y, Otsu M, Eto K, and Onodera M. R995W mutation in integrin  $\alpha$  IIb-gene (ITGA2B) is a novel cause for congenital macrothrombocytopenia.、第 72 回日本血液学会学術集会、平成 22 年 9 月 24-26 日 (横浜)
25. Iwama A. (2010) Brd1/Brpf2 is a core component of the Hbo1 HAT complex and regulates fetal liver erythropoiesis. The 17th international Runx workshop. July 11-14 (Hiroshima)
26. Miyagi S, Mishima Y, Saraya A, Negishi M, Endoh M, Kitabayashi I, Koseki H, and Iwama A. Brd1/Brpf2 is a core component of the Hbo1 HAT complex and regulates fetal liver erythropoiesis. The 1st Japanese Society of Hematology International Symposium. July 16-17

(Akita)

27. Suzuki N, Yamazaki S, Yamaguchi T, Takaki S, Eto K, and Nakauchi H. "Generation of engraftable hematopoietic stem cells from teratomas formed by an injection of induced pluripotent stem cells" International Society for Stem Cell Research 8th Annual Meeting (ISSCR). June 16-19, 2010. (San Francisco, U.S.A.)
28. Nishimura T, Kaneko S, Gotoh H, Takayama N, Shimizu T, Iriguchi S, Tajima Y, Yasui Y, Watanabe N, Takahashi S, Eto K, and Nakauchi H. "Generation of Monoclonal TCR-Expressing Human T-Lineage Lymphocytes From Induced Pluripotent Stem Cells of Signal Peripheral T-Lymphocyte Origin" 52st American Society of Hematology Annual Meeting and Exposition. Dec 4-7, 2010.
29. Takayama N, Sano S, Shimizu T, Kawahata R, Endo H, Nakamura S, Ogawa S, Nakauchi H, and Eto K. "Epigenetic Memory Enables the Dominant Generation of Adult-Type Erythrocytes From Human Induced Pluripotent Stem Cells" 52st American Society of Hematology Annual Meeting and Exposition. Dec 4-7, 2010. (Orlando, U.S.A.)
30. Endoh M, and Koseki H. (2011) 「H2A ubiquitination is an essential step to mediate PRC1 Polycomb silencing of differentiation genes in ES cells」 第9回幹細胞シンポジウム (泉ガーデンギャラリー、東京) 5月14日
31. Mochizuku-Mashio M, and Iwama A. (2011) Dependency on the polycomb gene Ezh2 distinguishes fetal from adult hematopoietic stem cells. The 9<sup>th</sup> Stem Cell Research Symposium. May 13-14 (Tokyo, Japan)
32. Yuan J, Oguro H, and Iwama A. (2011) Role of BMI1 as a tumor suppressor in hematopoiesis. 第73回日本血液学会学術集会 (名古屋国際会議場) 10月14日～16日
33. Osawa M, Nakajima Y, Takagi H, Oshima M, and Iwama M. (2011) 「Hematopoietic differentiation of human iPS cells induced with hematopoietic key regulators. 第73回日本血液学会学術集会 (名古屋国際会議場) 10月14日～16日
34. Nakamura S, Takayama N, Nakauchi H, and Eto K. (2011) Platelet transfusion system using an immortalized megakaryocyte cell line derived from hESCs/iPSCs. 第73回日本血液学会学術集会、平成23年10月14-16日 (名古屋)
35. Tanaka S, Sashida G, and Iwama A. (2011) Ezh2 plays a critical role in the progression of acute leukemia mediated by MLL-AF9. The 2nd JSH International Symposium in Nagasaki. April 23-23 (Nagasaki, Japan)
36. Takayama N, Hirata S, Jono-Ohnishi R, Nakamura S, Hirose S-I, Endo H, Nishi M, Hamazaki Y, Kaneko S, Ishii E, Nakauchi H, Kunishima S, and Eto K. (2011) "Modeling Congenital Amegakaryocytic Thrombocytopenia Using Patient-Specific Induced Pluripotent Stem Cells" 53rd ASH Annual Meeting and Exposition. December 10-13, 2011. (San Diego, USA).
37. Ishihara J, Umemoto T, Yamato M, Shiratsuchi Y, Petrich BG, Nakauchi H, Eto K, Kitamura T, and Okano T. (2011) "Nov/CCN3 Enhances Long-Term Repopulating Activity of Mouse Hematopoietic Stem Cells Via Intergin β3 Signaling Collaborating with Thrombopoietin" 53rd ASH Annual Meeting and Exposition. December 10-13, 2011. (San Diego, USA)
38. Yuan J, and Iwama A. (2011) Lethal myelofibrosis induced by Bmi1-Deficient hematopoietic cells unveils a tumor suppressor function of the polycomb group genes 53rd ASH Annual Meeting and Exposition. December 10-13, 2011. (San Diego, USA)
39. Tanaka S, Sashida G, Miyagi S, Yokote K, Nakaseko C, and Iwama A. (2011) Ezh2 plays a critical role in the progression of MLL-AF9-Induced acute myeloid leukemia. 53rd ASH Annual Meeting and Exposition. December 10-13, 2011. (San Diego, USA)
40. Osawa M, Nakajima Y, Oshima M, Takagi H, Endoh M, Endo T, Iwama A. (2012) Critical role of SOX17 in the hematopoietic development from human embryonic stem cells. The 10<sup>th</sup> Stem Cell Research Symposium. May 31-June 2 (Awaji, Japan)
41. Nakajima-Takagi Y, Osawa M, Oshima M, Takagi H, Iwama A. (2012) Critical Role of SOX17 in the hematopoietic development from human embryonic stem cells. The 74<sup>th</sup> Annual Meeting of the Japanese Society of Hematology. October 19-21 (Kyoto, Japan)
42. Sashida G, Tanaka S, Mochizuki-Kashio M, Saraya A, Muto T, Iwama A. (2012) Loss of Ezh2 promotes the development of mutant-RUNX1 induced MDS. 54<sup>th</sup> ASH Annual Meeting and Exposition. December 8-11 (Atlanta, U.S.A.)

43. Hirose S, Takayama N, Nakamura S, Kato T, Nagasawa K, Sameshima T, Nakauchi H, Eto K. (2012) "Potential application of an immortalized erythrocyte-producing cell line derived from human pluripotent stem cells" The ISSCR 10th Annual Meeting. Jun 13-16 (Yokohama)
44. Nishimura T, Kaneko S, Tachikawa-kawana A, Eto K, Nakauchi H. (2012) "Antigen-specific cell induction from human induced pluripotent stem cells." The ISSCR 10th Annual Meeting. Jun 13-16, (Yokohama)
45. Hosoi M, Kumano K, Taoka K, Arai S, Ueda K, Kamikubo Y, Takayama N, Otsu M, Eto K, Nakauchi H, Kurokawa M. "Generation and analysis of induced pluripotent stem derived from secondary myelofibrosis cells" 第74回日本血液学会学術集会、平成24年10月19-21日(京都)
46. Nishimura S, Nagasaki M, Manabe I, Eto K, Nagai R. "In vivo imaging revealed the thrombus formation processes, and contribution of inflammatory cytokine" 第74回日本血液学会学術集会、平成24年10月19-21日(京都)
47. 中村壮、江藤浩之、"ヒト多能性幹細胞を用いた血小板産生技術の開発" 第35回日本血栓止血学会学術集会 平成25年5月30日-6月1日(山形国際ホテル)
48. 江藤浩之、"iPS細胞由来輸血製剤の開発" 第144回日本医学会シンポジウム、平成25年6月6日(日本医師会館・東京)
49. 江藤浩之、"血小板産生機構の不思議" 第34回日本炎症・再生医学会 平成25年7月2-3日(国立京都国際会館)
50. Eto K, "Two modes of platelet biogenesis in mice detectable by two-photon imaging system" 19回日本遺伝子治療学会学術集会 平成25年7月4-6日(岡山コンベンションセンター)

③ ポスター発表 (国内会議 24件、国際会議 30件)

1. Eto K, Nishimura S, Takizawa H, Takayama N, Tamura N, Goto S, Takaki S, and Nakauchi H. "Cytokine signal modulator Lnk promotes stable thrombus formation in vivo" 5th Congress of the Asian-Pacific Society on Thrombosis and Hemostasis. Sep 18-20, 2008. (Singapore)
2. Takayama N, Eto K, Yamanaka S, and Nakauchi H. Generation of blood cells from human iPS cells in vitro through the hematopoietic progenitors concentrated within the unique structures, iPS-sac. 50th American Society of Hematology. Dec 5-10, 2008 (San Francisco).
3. 根岸正充, 上條岳彦, 岩間厚志 (2008) 「NuA4 複合体構成因子 DMAP1 は DNA 損傷修復機構に必須であり、1p34 欠損腫瘍でがん抑制遺伝子として働く」第31回日本分子生物学会年会・第81回日本生化学会大会合同大会(神戸ポートアイランド)12月9日～12日
4. 山口陽子, 根岸正充, 武信尚典, 岩間厚志, 上條岳彦 (2008) 「Dmap1 の神経芽腫細胞における機能解析」第31回日本分子生物学会年会・第81回日本生化学会大会合同大会(神戸ポートアイランド)12月9日～12日
5. 梅本晃正, 大和雅之, 江藤浩之, 寺沢公男, 柴田岳彦, 内海美香, 西田幸二, 小林芳郎, 中内啓光, 岡野光夫 (2008) 「造血幹細胞における CD61 の役割の検討」第31回日本分子生物学会年会・第81回日本生化学会大会合同大会(BMB2008)、12月9-12日(神戸)
6. Eto K, Nishikii H, and Nakauchi H. "Metalloproteinase regulation improves in vitro generation of efficacious platelets from embryonic stem cells" The 23th Naito Conference on Molecular Basis for Maintenance and Differentiation of Stem Cells. Nov 11-14, 2008. (Hayama, Kanagawa Japan)
7. Takayama N, Eto K, and Nakauchi H. "Generation of megakaryocytes and functional platelets from human ES cells in vitro via unique structures, 'ES-sacs'" The 23th Naito Conference on Molecular Basis for Maintenance and Differentiation of Stem Cells. Nov 11-14, 2008. (Hayama, Kanagawa Japan)
8. Endoh M, and Koseki H. "An essential link of H2A ubiquitylation to H3K27 methylation for canonical PRC1 Polycomb silencing in ES cells" The 23th Naito Conference on Molecular Basis for Maintenance and Differentiation of Stem Cells. Nov 11-14, 2008. (Hayama, Kanagawa Japan)
9. 遠藤充浩, 遠藤高帆, 古関明彦 (2009) 「ポリコーム群 Ring1A/B によるヒストン修飾を介した幹細胞制御」第3回日本エピジェネティクス研究会年会 (東京一ツ橋学術総合センター) 5月

22日～23日

10. 大澤光次郎, 岩間厚志, カイバ マイケル.(2009)「ES細胞からの造血発生におけるHoxxB4の分子機構」第71回日本血液学会学術集会(国立京都国際会館)10月23日～25日
11. Sugawara T, Oguro H, and Iwama, A. (2009) TET family oncogene fus is essential for the maintenance of Self-renewing hematopoietic stem cells. (2009) Bmi1 is essential for leukemic reprogramming of myeloid progenitor. 51st ASH Annual Meeting and Exposition. December 5-8 (New Orleans, USA)
12. Yuan J. Takeuchi M, Oguro H, Negishi M, Ichikawa H, and Iwama, A. (2009) Bmi1 is essential for leukemic reprogramming of myeloid progenitor. 51st ASH Annual Meeting and Exposition. December 5-8 (New Orleans, USA)
13. Takayama N, Nakamura S, Nishimura S, Ohnishi R, Takahashi K, Yamanaka S, Eto K, Nakauchi H. Cancellation of c-MYC silencing in human induced pluripotent stem cells contributes to the efficient in vitro production of platelets with the ability of hemostasis in vivo. 51st ASH Annual Meeting and Exposition. December 5-8 (New Orleans, USA)
14. 根岸正充, 岩間厚志(2009)「Zinc finger protein 277 collaborates with polycomb protein Bmi1 in preventing premature senescence through transcriptional regulation of the Ink4a-Arf gene locus」第32回日本分子生物学会年会(パシフィコ横浜) 12月9日～12日
15. 更屋敦則, 宮城聡, 三嶋雄太, 根岸正充, 北林一生, 岩間厚志(2009)「Role of (Bromodomain-containing protein 1) in Hbo1-H4 HAT complex」第32回日本分子生物学会年会(パシフィコ横浜) 12月9日～12日
16. 宮城聡, 三嶋雄太, 更屋敦則, 根岸正充, 古関明彦, 岩間厚志(2009)「The Hbo 1-Brd1 H4 HAT complex is required for erythroid differentiation in fetal liver」第32回日本分子生物学会年会(パシフィコ横浜) 12月9日～12日
17. 中島やえ子, 大島基彦, 高木春奈, 岩間厚志, 大澤光次郎(2010)「ヒトiPS細胞からの造血幹細胞誘導法の確立」第9回日本再生医療学会総会 3月18日～19日(広島)
18. Oshima M, Endoh M, Endo T, Koseki H, Sugiyama F, Iwama A, and Osawa M. (2010) Genome-wide analysis of target genes regulated by HoxB4 during hematopoietic stem cell development. 第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会 合同大会(神戸ポートアイランド)12月7日～10日
19. Endoh M, Endo TA, and Koseki H (2010) “Polycomb temporally regulates trophoblast development by promoting stem cell differentiation” The 8th Stem Cell research Symposium. May 13-15 (Awaji, Hyogo)
20. 遠藤充浩, 遠藤高帆, 古関明彦 (2010)「ポリコム群とコアな転写因子のクロストークによる栄養芽幹細胞の分化制御」第4回日本エピジェネティクス研究会 5月28日～29日(米子市文化ホール)
21. 遠藤充浩, 遠藤高帆, 古関明彦 (2010)「ポリコム群は転写因子の抑制を介して栄養芽幹細胞の分化を促進する」第43回日本発生生物学会 6月20日～23日(京都国際会議場)
22. Nishino T, and Iwama A. (2010) Ex vivo expansion hematopoietic stem and progenitor cells using a natural product, garcinol. 52nd ASH Annual Meeting and Exposition. December 4-7 (Orlando, USA)
23. Nakamura S. and Iwama A. (2010) Bmi1 confers stress resistance to self-renewing hematopoietic stem cells. 52nd ASH Annual Meeting and Exposition. December 4-7 (Orlando, USA)
24. Konuma T, and Iwama A. (2010) The histone demethylase Fbx11/Jhdm 1b/Kdm2b maintains self-renewing hematopoietic stem cells. December 4-7 (Orlando, USA)
25. Mishima Y, Miyagi S, Saraya A, Negishi M, Endo M, Yamaguchi N, Kitabayashi I, Koseki H, and Iwama A. (2010) The Hbo1-Brd1/Brpf3 HAT complex is required for erythropoiesis in fetal liver. December 4-7 (Orlando, USA)
26. Kashio M, Shinga J, Koseki H, and Iwama A. (2010) The polycomb gene, Ezh2, is essential for fetal but not adult hematopoiesis. The 1st Japanese Society of Hematology International Symposium. July 16-17 (Akita)

27. Nishimura S, Takayama N, Otsu M, Nakamura S, Ohnishi R, Endo H, Nagai R, Nakauchi H, and Eto K. “Novel in vivo imaging enables single-cell-level evaluation of the functionality of platelets derived from human induced pluripotent stem cells” International Society for Stem Cell Research 8th Annual Meeting (ISSCR). June 16-19, 2010. (San Francisco, U.S.A.)
28. Umemoto T, Yamato M, Shiratsuchi Y, Utsumi M, Terasawa M, Morita Y, Nishida K, Kobayashi Y, Petrich Brian G, Ginsberg Mark H, Nakauchi H, Eto K, and Okano T. “CD61 is involved in thrombopoietin-mediated maintenance of mouse hematopoietic stem cells” International Society for Stem Cell Research 8th Annual Meeting (ISSCR). June 16-19, 2010. (San Francisco, U.S.A.)
29. Nishimura T, Kaneko S, Gotoh H, Takayama N, Nakamura S, Shimizu T, Iriguchi S, Tachikawa-Kawana A, Takahashi S, Watanabe N, Otsu M, Eto K, and Nakauchi H. “Monoclonal guidance of T Lineage lymphocytes from human induced pluripotent stem cells originating from a single peripheral T Lymphocyte” International Society for Stem Cell Research 8th Annual Meeting (ISSCR). June 16-19, 2010. (San Francisco, U.S.A.)
30. Chan T, Hayashi Y, Takayama N, Otsu M, Eto K, Furue-Kusuda M, Ohnuma K, Nakauchi H, and Asashima M. “Feeder and serum free culture of human induced pluripotent stem cells” International Society for Stem Cell Research 8th Annual Meeting (ISSCR). June 16-19, 2010.
31. Endoh M, Endo TA, Endoh T, Vidal M, and Koseki H. (2010) “PRC2-dependent and -independent deposition of Ring1B-mediated uH2A at developmental gene promoters in ES cells” Cold Spring Harbor Laboratory Meeting, Mouse Development, Genetics & Genomics. October 26-30, 2010. (Cold Spring Harbor, NY, U.S.A)
32. Osawa M, Nakajima Y, Oshima M, Takagi H, and Iwama A. (2011) Hematopoietic differentiation of human iPS cells induced by forced expression of hematopoietic key regulators. The 9<sup>th</sup> Stem Cell Research Symposium. May 13-14 (Tokyo, Japan)
33. Nakamura S, and Iwama A. (2011) Bmi1 confers stress resistance to self-renewing hematopoietic stem cells. The 9<sup>th</sup> Stem Cell Research Symposium. May 13-14 (Tokyo, Japan)
34. 遠藤充浩, 遠藤高帆, 磯野協一, 古関明彦 (2011) 「ユビキチン化ヒストン H2A の ES 細胞における局在と役割」 第5回エピジェネティクス研究会 (KKR ホテル熊本) 5月19日～20日
35. 中村壯, 高山直也, 中内啓光, 江藤浩之 (2011) 「輸血医療革命をもたらす多能性幹細胞由来不死化巨核球細胞株樹立技術の開発」第32回日本炎症・再生医学会 6月(京都)
36. Takayama N, Sano S, Shimizu T, Kawahata R, Endo H, Nakamura S, Ogawa S, Nakauchi H, and Eto K. “Suspected incomplete reprogramming in blood derived human induced pluripotent stem cells is advantageous for adult-type erythrocyte generation with globin switching” International Society for Stem Cell Research 9th Annual Meeting (ISSCR). June 15-18, 2011. (Toronto, Canada.)
37. Endo H, Takayama N, Koike T, Nakauchi H, and Eto K, “Stepwise Signaling and Low Oxygen Promote Hematopoietic Progenitor Emergence From Human Pluripotent Stem Cells” 53<sup>rd</sup> ASH Annual Meeting and Exposition. December 10-13,
38. Osawa M, Takagi H, Nakajima Y, Endoh M, Endo T, Iwama A. (2012) Inhibition of TGF-BETA signaling in the early mesoderm stage promotes the development of hematopoietic progenitors from human embryonic stem cells. ISSCR 10<sup>th</sup> Annual Meeting. June 13-16 (Yokohama, Japan) (Poster)
39. Nakajima Y, Osawa M, Oshima M, Takagi H, Iwama A. (2012) The critical role of SOX17 in the development of early hematopoietic progenitors from human embryonic stem cells. ISSCR the 10<sup>th</sup> Annual Meeting. June 13-16 (Yokohama, Japan) (Poster)
40. Oshima M, Nakamura S, Saraya A, Miyagi S, Koseki H, Iwama A. (2012) Bmi1 confers resistance to oxidative stress on hematopoietic stem cells. ISSCR the 10<sup>th</sup> Annual Meeting. June13-16 (Yokohama, Japan) (Poster)
41. Wendt G, Iwama A. (2012) Profiling of long intergenic non-coding RNAs in hematopoietic stem cells. 41<sup>st</sup> Annual Scientific Meeting of the ISEH. August 23-26 (Amsterdam, Netherlands) (Poster)
42. Wendt G, Iwama A. (2012) The role of long intergenic non-coding RNAs in hematopoietic stem cells. The 74<sup>th</sup> Annual Meeting of the Japanese Society of Hematology. October 19-21 (Kyoto, Japan) (Poster)
43. Wang C, Nakamura S, Kusunoki Y, Kyoizumi S, Imai K, Nakachi K, Iwama A. (2012)



- Radiation effects on human HSPCs in vivo. The 74<sup>th</sup> Annual Meeting of the Japanese Society of Hematology. October 19-21 (Kyoto, Japan) (Poster)
44. Muto T, Sashida G, Oshima M, Nakaseko C, Yokote K, Shimoda K, Iwama A. (2012) Long-Term cell autonomous effect of Tet2 loss in hematopoietic cells in mice. 54<sup>th</sup> AHS Annual Meeting and Exposition. December 8-11 (Atlanta, U.S.A.) (Poster)
  45. Endo H, Takayama N, Koike T, Nakauchi H, Eto K. "Stepwise Analysis of in vitro Hematopoiesis from Human Pluripotent Stem Cells Revealed that Early MYC Inhibition Potentiated Mesodermal Progenitor Cells towards Hematopoietic Differentiation" The ISSCR 10th Annual Meeting. Jun 13-16, 2012. (Yokohama) *Poster Session*
  46. Tadokoro Y, Hirao A, Hoshii T, Naka K, Eto K, Ema H, Yamazaki S, Yoshimura A, Nakauchi H. "A competitive advantage of hematopoietic stem cells in the bone marrow controlled by Spred-1" 第74回日本血液学会学術集会、平成24年10月19-21日(京都)ポスター発表
  47. Nishimura T, Kenko S, Tachikawa-Kawana A, Eto K, Nakauchi H, "Rejuvenation of antigen-specific T cells through reprogramming and epigenetic modification" 第41回日本免疫学会学術集会 平成24年12月5-7日(神戸)ポスター発表
  48. 遠藤充浩、遠藤高帆、磯野協一、古関明彦 「ポリコム群 Ring1A/B によるヒストン H2A ユビキチン化の ES 細胞における局在と役割」 第6回エピジェネティクス研究会 5月14日～15日(一ツ橋学術総合センター)
  49. Endoh M, Endo T, Isono K, Koseki H "Histone H2A ubiquitination is a crucial step to mediate PRC1 dependent repression of developmental genes to maintain ES cell identity" International Society for Stem Cell Research 10th Annual Meeting (ISSCR). June 13-16, 2012. (Yokohama)
  50. Ochi K, Nakamura S, Dohda T, Hirose S, Takayama N, Eto K. "individual pluripotent stem cell clones recapitulated distinct stages in erythropoiesis by self-replicable erythrocyte progenitors." The ISSCR 11th Annual Meeting. Jun 12-15, 2013. (Boston, USA)
  51. 遠藤充浩、信賀順、遠藤高帆、古関明彦 「Max/MBLR axis recruits atypical Polycomb Repressive Complex 1 (PRC1) to repress germ cell-related genes in mouse ES cells」 第61回 NIBB コンファレンス "Cellular Community in Mammalian Embryogenesis" 平成25年7月10日～12日(岡崎コンファレンスセンター)
  52. 遠藤充浩、信賀順、遠藤高帆、古関明彦 「Max/MBLR axis recruits atypical Polycomb Repressive Complex 1 (PRC1) to repress germ cell-related genes in mouse ES cells」 平成25年9月4日～5日 NGS 現場の会第三回研究会 (神戸国際会議場)
  53. Oshima M, Miyagi S, Koide S, Suzuki Y, Iwama A. (2013) Genome-wide mapping of histone modifications mediated by the polycomb-group complexes in fetal liver and adult bone marrow hematopoietic progenitor cells. 42nd Annual Scientific Meeting of the ISEH. August 22-25 (Vienna, Austria, Netherlands) (Poster)
  54. Mochizuki-Kashio M, Sashida G, Muto T, Wendt GR, Iwama A. (2013) Deletion of the polycomb-group gene *Ezh2* causes myeloproliferative neoplasm in mice. 42nd Annual Scientific Meeting of the ISEH. August 22-25 (Vienna, Austria, Netherlands) (Poster)

#### (4)知財出願

##### ① 国内出願 (2件)

1. 発明の名称:ヒト多能性幹細胞からの造血幹細胞の効率的な誘導方法  
 発明者:岩間厚志、大澤光次郎、中島やえ子  
 出願人:国立大学法人千葉大学  
 出願日:2010/8/31  
 出願番号:特願 2010-193827
2. 発明の名称:造血幹細胞の効率的な誘導および増幅方法  
 発明者:岩間厚志、大澤光次郎、大島基彦、小沼貴晶  
 出願人:国立大学法人千葉大学  
 出願日:2010/8/31  
 出願番号:特願 2010-193828

② その他の知的財産権

【取得状況】

名称: ES 細胞からの造血前駆細胞を内包する構造物、及び該構造物を用いた血球細胞の調製法

発明者: 中内啓光、江藤浩之、高山直也、錦井秀和、津久井弘子

権利者: 国立大学法人東京大学

PCT/JP2007/001081/WO2008/41370 登録済み

2011年7月20日(英国)2011年11月15日(米国)

(5)受賞・報道等

① 受賞

1. 江藤浩之

ポスター賞 (特定研究助成金 50 万円)

第 23 回内藤コンファレンス (神奈川県湘南国際村センター) 11 月 11 日～14 日

Eto K, Nishikii H, Nakauchi H. “Metalloproteinase regulation improves in vitro generation of efficacious platelets from embryonic stem cells” The 23th Naito Conference on Molecular Basis for Maintenance and Differentiation of Stem Cells. Nov 11-14, 2008. (Hayama, Kanagawa Japan)

2. 遠藤充浩

ポスター賞 (特定研究助成金 50 万円)

第 23 回内藤コンファレンス (神奈川県湘南国際村センター) 11 月 11 日～14 日

Endoh M, Koseki H. “An essential link of H2A ubiquitylation to H3K27 methylation for canonical PRC1 Polycomb silencing in ES cells” The 23th Naito Conference on Molecular Basis for Maintenance and Differentiation of Stem Cells. Nov 11-14, 2008. (Hayama, Kanagawa, Japan)

3. 宮城聡

日本血液学会奨励賞

「Brd1 (Bromodomain-containing protein1) –HBO1 複合体による赤血球分化制御」

4. 宮城聡

Young investigator award

“Brd1/Brpf2 is a core component of the Hbo1 HAT complex and regulates fetal liver erythropoiesis”

The 1<sup>st</sup> Japanese Society of Hematology International Symposium. July 16-17, 2010 (Akita, Japan)

5. 松川進

Outstanding Abstract Achievement Award 53rd ASH Annual Meeting and Exposition. December 10-13

6. 日本血液学会奨励賞(松川進)

7. 千葉大学優秀発明賞(中島やえ子、大澤光次郎、岩間厚志)

8. テクノルネサンスジャパン第 5 回未来の夢アイデア・コンテスト(三嶋雄太)

9. 大日本印刷賞最優秀賞(小出周平)

10. 第1回 Microsoft Kinect for Windows Contest 技術賞(三嶋雄太)

11. 第 13 回 Pharmaco-hematology シンポジウム 優秀発表賞(三嶋雄太)

12. 王長山

Abstract Achievement Award 55rd ASH Annual Meeting and Exposition. December 7-10

(6) 成果展開事例

① 実用化に向けての展開

特願 2010-193828 「造血幹細胞の効率的な誘導および増幅方法」をもとに、iPS 細胞からの造血細胞の効率化につなげていきたい。

②社会還元的な展開活動

造血幹細胞のエピジェネティクスの網羅的な情報は論文や国際データベースに登録して公開し、広く研究に利用してもらえるよう努めるつもりである。

§ 5. 研究期間中の活動

(1) 主なワークショップ、シンポジウム、アウトリーチ等の活動

年月日	名称	場所	参加人数	概要
2012年10月	第74回日本血液学会総会	京都	300	シンポジウム「Epigenomics of Hematopoiesis and Cancer」
2013年6月	千葉大学図書館主催アカデミックリンクセミナー	千葉大学図書館	60	iPS細胞ができて明らかになった生命の神秘
2013年6月	第13回日本抗加齢医学会総会ベーシックサイエンス懇談会	東京	200	幹細胞と老化
2013年10月	第75回日本血液学会総会	京都	300	シンポジウム「Next generation hematopoietic research with deep sequencing」

## § 6. 最後に

チーム間の連携はよく、研究に打ち込むことができた。この5年間で造血幹細胞のエピジェネティクスの理解は私たちのグループにおいても大いに進んだという実感があるが、この領域自体の進歩は凄まじいものがあり、この流れが **big science** につながるよう努力していきたい。一方、ES/iPS 細胞からの長期に造血を再構築する造血幹細胞の分化誘導ははまだ誰もなしていない。本研究において造血幹・前駆細胞の分化誘導の効率は飛躍的に改善したが、真の造血幹細胞の分化誘導には至っていない。また、造血幹細胞のエピジェネティック解析のデータをうまく ES/iPS 細胞からの造血幹細胞誘導に取り込めなかったのは反省すべき点である。造血において何がブレイクスルーになるのか、頭を抱えているのが現実です。

