

平成 28 年度 医療研究開発推進事業費補助金  
成果報告書

## I. 基本情報

事業名：(日本語) ナショナルバイオリソースプロジェクト  
(英語) National Bioresource Project

補助事業課題名：(日本語) 研究用ヒト臍帯血幹細胞の収集・保存・提供  
(英語) Collection, cryopreservation and distribution of human umbilical cord blood stem cells for basic researches

補助事業担当者 (日本語) 国立大学法人東京大学医科学研究所附属病院  
セルプロセッシング・輸血部 准教授 長村登紀子

所属 役職 氏名：(英語) Tokiko Nagamura-Inoue, Department of Cell Processing and Transfusion, The Institute of Medical Science, The University of Tokyo, Associate Professor,

実施期間：平成 28 年 4 月 1 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日

分担研究 (日本語) 研究用ヒト臍帯血幹細胞の収集・保存・提供

分担課題名：(英語) Collection, Cryopreservation and release of research human cord blood stem cells

補助事業分担者 (日本語) 国立研究開発法人理化学研究所バイオリソースセンター細胞材料開発室  
室長 中村 幸夫

所属 役職 氏名：(英語) Yukio Nakamura, Division Director, Cell Engineering Division, BioResource Center, RIKEN, National Research and Development Agency

## II. 成果の概要 (総括成果報告)

本事業は、「医学の発展を目指した研究」のためのバイオリソースとして、ヒト臍帯血細胞を広く国内外の研究者に提供できるシステムを構築することを目的とする。

本事業は、平成 15 年度より「文科省再生医療実現化プロジェクト」の一環として設立され、平成 24 年 7 月より文科省 NBRP (第 3 期) 事業 (平成 27 年度より AMED) へと移管された。需要と供給のバランスから NBRP 参加当初の 3 バンクから平成 26 年度より東京大学医科学研究所 (以下、東大医科研) 1 バンクと理化学研究所バイオリソースセンター (以下、理研 BRC) が運用している。

具体的には、臨床用臍帯血バンクに参加している提携産婦人科にて出産時に母親から同意を得て臍帯血の採取を行い、臨床用に適応外の臍帯血を東大医科研、細胞リソースセンターにて臍帯血から品質を確保しながら

ら、有核細胞(凍結バッグ保存)、単核細胞(小容量チューブ保存)、CD34 陽性細胞(チューブ保存)試料の調製・凍結・一時保存し、理研 BRC にて保管し、「医学の発展」を目指した国内外の研究者に提供した。本試料は、研究者が利用しやすいように調製した使い切りのヒトプライマリー細胞であり、採取病院、東大医科研、理研 BRC は、それぞれヒトゲノム解析も含めた研究に対応できる同意内容と倫理審査委員会の承認を得ている。

NBRP 第3期においては、研究コミュニティにおける研究用臍帯血のニーズを正しく把握し、広報・普及活動につなげるために、平成 26 年度に「研究用臍帯血の利用状況に関する調査」を医学関連学会等の協力を得て全国的に行った(アンケート実施期間平成 26 年 7 月 1 日～8 月 4 日)。

その結果、ユーザーの主体は大学・教育機関に所属する医学研究者であり、また、企業の研究開発部署も含まれていたが、研究用臍帯血バンクの存在を認知されていない点が問題であることが分かった。また、多い分野としては、血液学、再生医学、免疫学、胎児・新生児医学等が上位を占めていた。こうした分野の学会・集会などにおいてブース展示等を行う事が有効と考え、研究用臍帯血の利用者および潜在利用者が多数存在している学会や研究コミュニティを中心に、該当する学会の総会(日本血液学会、再生医療学会)や関連展示(アカデミックフォーラム、再生医療 JAPAN 等)においてブース展示やパンフレットを配布し、本事業の広報と情報提供を積極的に行った。

また、本ニーズ調査では、現在提供している試料に関して、概ね適量との評価であったが、さらに充実・整備すべき臍帯血試料として、CD3/CD4/CD8 陽性細胞、樹状細胞や間葉系細胞の希望があった。凍結臍帯血からの効率的間葉系細胞分離は、今後の課題であるが、CD4/CD8 陽性細胞や樹状細胞は既存の凍結臍帯血試料からの純化・培養が可能でもあり、平成 27 年度は、その方法を検討し、テクニカルシリーズとしてパンフレット及び理研 BRC のホームページを介して情報提供した。また、臍帯血から間葉系幹細胞を得る効率の良い方法については、継続課題としている。

近年、広報等の効果か、特に平成 27 年度から CD34 陽性細胞の需要が急増し、また単核細胞の需要が増えたため、在庫を確保するため追加調製を行っている状況である。

このような状況から、平成 28 年度、運営委員会にて、研究用臍帯血の需要増加に対応するため、次期 NBRP より臨床用臍帯血バンクと連携しない 1 施設を増加すること、個人情報保護法改定(平成 29 年度)に伴う対応等を反映した同意説明文の変更を行う方向で協議し、研究用臍帯血バンクとして独立した運用とする体制を構築する方向となった。

The National BioResource Project (NBRP) "Project Name: Research Cord Blood Bank [RCBB] project" aims to establish the system which can provide human umbilical cord blood (CB) cells for "The researches aiming at medical development" not only in Japan but also in foreign countries.

The project has been established as a part of "Project for Practical Applications of Regenerative Medicine supported by The Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology (MEXT)" since 2003, and was transferred to MEXT, NBRP (Stage III) from July, 2012, followed by AMED NBRP project since 2015. Since the balance of supply and demand, NBRP participation bank was limited from three to one. Cell Resource Center, The Institute of Medical Science, The University of Tokyo (IMSUT) as a representative and procurement institution and RIKEN BioResource Center (RIKEN BRC) as stock and distribution institute have managed since 2014 fiscal year.

In detail, after informed consents obtained from the expected mothers in a department of obstetrics, which participates in clinical CB bank, CBs are collected. CB out of conformity for clinical use are processed into the nucleated cells (NC; packaged in cryobag), mononuclear cells (MNCs; in cryotubes as small scale MNCs or in cryobag as large scale MNCs), CD34 positive cells (CD34+ cells; in cryotube) in IMSUT and transferred to RIKEN BRC to provide the researchers who aimed at "the medical development". These products are the human primary

single-use cells processed so that a researcher is easy to use and Obstetrics, IMSUT, and RIKEN BRC was engaged MTA and the approval of the Ethical Review Board, including IC for genomic analysis studies, respectively.

In 2014, July 1st to August 4th, we implemented "a questionnaire investigation about the use situation of the CB for research use" to grasp the needs of the research CB, with the cooperation such as medical societies. As a result, the users was mainly constituted of the medical researcher in universities or educational institutions, and as a part, the research laboratories of the company. The problem was the low percentage knowledge about 'what is RCBB'. And the main fields of research were restricted in hematology, regenerative medicine, immunology, and neonatal medicine. Therefore, for brochures of RCBB, we conducted exhibition booth, distributed a brochure in the annual meetings of the related society (the Japanese Society of Hematology, The society of regenerative medicine) and the medical forums, such as academic forum, regenerative therapy JAPAN, and so on. In the questionnaire investigation, the distributed CB specimen was evaluated appropriately in size and cell numbers, while we were requested to distribute the CD3/CD4/CD8-positive cell, dendritic cells (DC1), and CB-derived mesenchymal stromal cells. Instead of the change of research CB specimen variety at the present, we studied and convinced that the CD4/CD8-positive cells could be purified nicely from thawed-HES-NC cells, and DC1 could be obtained from the thawed MNCs by culturing under proper cytokines. While the efficient method to get MSCs derived from thawed CB are still under study. We released the information as 'research CB technical series' in brochure and home page of RIKEN BRC.

Recently, maybe as a result of PR, the demand for CD34+ cells and large scale MNCs increased, so we have performed additional processing for CD34+ cells since 2015 and 2017. In respond to increased demands with the amount of volume of CB, we need to increase the collection facility which is not bound by clinical CBB. We also needed to change the informed consent form corresponding to the revision of the Personal Information Protection Law. We finally acquired the approval of these changes including the management not related to the clinical CBB after the careful discussion in steering committee of the RCBB.

### III. 成果の外部への発表

#### (1) 学会誌・雑誌等における論文一覧

本事業そのものに関する論文発表はなかった（国内誌 0 件、国際誌 0 件）。

本事業から試料を入手した研究者（利用研究者）が発表した論文数は、5 年間で 42 報であった（国内誌 0 件、国際誌 42 件）。

1. Kuroda T, Yasuda S, Kusakawa S, Hirata N, Kanda Y, Suzuki K, Takahashi M, Nishikawa S, Kawamata S, Sato Y. Highly Sensitive In Vitro Methods for Detection of Residual Undifferentiated Cells in Retinal Pigment Epithelial Cells Derived from Human iPS Cells. PLoS ONE. 2012;7(5):e37342
2. Nishishita N., Shikamurab M, Takenaka C, Takadab N, Fusaki N, and Kawamata S. Generation of virus-free induced pluripotent stem cell clones on a synthetic matrix via a single cell subcloning in the naïve state. PLoS ONE. 2012;7(6):e38389.
3. Moriya K, Suzuki M, Watanabe Y, Takahashi T, Aoki Y, Uchiyama T, Kumaki S, Sasahara Y, Minegishi M, Kure S, Tsuchiya S, Sugamura K, Ishii N. Development of a multi-step leukemogenesis model of MLL-rearranged leukemia using humanized mice. PLoS One. 2012;7(6):e37892.
4. Sato Y, Nagata S, Takiguchi M. Effective elicitation of human effector CD8+ T Cells in HLA-B\*51:01 transgenic humanized mice after infection with HIV-1. PLoS One. 2012;7(8):e42776.
5. Miharada K, Nakamura Y. In vitro production of enucleated red blood cells from hematopoietic stem and

- progenitor cells. *Methods Mol Biol.* 2012;879:505-12.
6. Ozeki R, Kakinuma S, Asahina K, Shimizu-Saito K, Arii S, Tanaka Y and Teraoka H. Hepatic stellate cells mediate differentiation of dendritic cells from monocytes. *J Med Dent Sci* 2012;59:43-52.
  7. Moriya K, Suzuki M, Watanabe Y, Takahashi T, Aoki Y, Uchiyama T, Kumaki S, Sasahara Y, Minegishi M, Kure S, Tsuchiya S, Sugamura K, Ishii N. Development of a multi-step leukemogenesis model of MLL-rearranged leukemia using humanized mice. *PLoS One.* 2012;7(6):e37892.
  8. Suzuki M, Takahashi T, Katano I, Ito R, Ito M, Harigae H, Ishii N, Sugamura K. Induction of human humoral immune responses in a novel HLA-DR-expressing transgenic NOD/Shi-scid/ $\gamma$ cnull mouse. *Int Immunol.* 2012;24(4):243-52.
  9. Fujiwara T, Alqadi YW, Okitsu Y, Fukuhara N, Onishi Y, Ishizawa K, Harigae H. Role of transcriptional corepressor ETO2 in erythroid cells. *Exp Hematol.* 2013;41(3):303-15.
  10. Okita K, Yamakawa T, Matsumura Y, Sato Y, Amano N, Watanabe A, Goshima N, Yamanaka S. An efficient nonviral method to generate integration-free human-induced pluripotent stem cells from cord blood and peripheral blood cells. *Stem Cells.* 2013;31(3):458-66.
  11. Kurita, R., Suda, N., Sudo, K., Miharada, K., Hiroyama, T., Miyoshi, H., Tani, K., and Nakamura, Y. Establishment of immortalized human erythroid progenitor cell lines able to produce enucleated red blood cells. *PLoS ONE* 2013;8(3):e59890.
  12. Shimizu A, Kobayashi N, Shimada K, Oura K, Tanaka T, Okamoto A, Kondo K. Novel gene therapy viral vector using non-oncogenic lymphotropic herpesvirus. *PLoS One.* 2013;8(2):e56027.
  13. Maeki T, Hayashi M, Kawabata A, Tang H, Yamanishi K, Mori Y. Identification of the human herpesvirus 6A gQ1 domain essential for its functional conformation. *J Virol.* 2013;87(12):7054-63.
  14. Hayakawa F, Sugimoto K, Harada Y, Hashimoto N, Ohi N, Kurahashi S and Naoe T. A novel STAT inhibitor, OPB-31121, has a significant antitumor effect on leukemia with STAT-addictive oncokines. *Blood Cancer J.* 2013; 3(11): e166.
  15. Fujiwara T, Saitoh H, Inoue A, Kobayashi M, Okitsu Y, Katsuoka Y, Fukuhara N, Onishi Y, Ishizawa K, Ichinohasama R, Harigae H. 3-Deazaneplanocin A (DZNep), an inhibitor of S-adenosyl-methionine-dependent methyltransferase, promotes erythroid differentiation. *J Biol Chem.* 2014;289(12):8121-34.
  16. Ota, M., Serada, S., Naka, T., & Mori, Y. MHC class I molecules are incorporated into human herpesvirus  $\square$  6 viral particles and released into the extracellular environment. *Microbiology and immunology*, 2014;58(2), 119-125.
  17. Haji, Y., Suzuki, M., Moriya, K., So, T., Hozumi, K., Mizuma, M., ... & Ishii, N. (2014). Activation of Notch1 promotes development of human CD8<sup>+</sup> single positive T cells in humanized mice. *Biochemical and biophysical research communications*, 2014;447(2), 346-351.
  18. Nishishita, N., Yamamoto, T., Takenaka, C., Muramatsu, M., & Kawamata, S. Generation and Maintenance of iPSCs From CD34<sup>+</sup>Cord Blood Cells on Artificial Cell Attachment Substrate. *Pluripotent Stem Cell Biology - Advances in Mechanisms, Methods and Models.* ISBN 2014;978-953-51-1590-8.
  19. Fujiwara, T., Saitoh, H., Inoue, A., Kobayashi, M., Okitsu, Y., Katsuoka, Y., & Harigae, H. 3-Deazaneplanocin A (DZNep), an Inhibitor of S-Adenosylmethionine-dependent Methyltransferase, Promotes Erythroid Differentiation. *Journal of Biological Chemistry*, 2014;289(12), 8121-8134.
  20. Abe T, Hanazono Y, Nagao Y. A long-term follow-up study on the engraftment of human hematopoietic stem cells in sheep. *Experimental Animals*, 2014;63(4):475-81.

21. Nakagawa M, Taniguchi Y, Senda S, Takizawa N, Ichisaka T, Asano K, Morizane A, Doi D, Takahashi J, Nishizawa M, Yoshida Y, Toyoda T, Osafune K, Sekiguchi K, Yamanaka S. A novel efficient feeder-free culture system for the derivation of human induced pluripotent stem cells. *Scientific Reports*, 2014;4:3594.
22. Ohshima S, Mori S, Shigenari A, Miyamoto A, Takasu M, Imaeda N, Nunomura S, Okayama Y, Tanaka M, Kitagawa H, Kulski JK, Inoko H, Ando A, Kametani Y. Differentiation ability of multipotent hematopoietic stem/progenitor cells detected by a porcine specific anti-CD117 monoclonal antibody. *Biosci Trends*, 2014,8(6):308-15.
23. Fujisawa D, Kashiwakura J, Kita H, Kikukawa Y, Fujitani Y, Sasaki-Sakamoto T, Kuroda K, Nunomura S, Hayama K, Terui T, Ra C, Okayama Y. Expression of Mas-related gene X2 on mast cells is upregulated in the skin of patients with severe chronic urticaria. *J Allergy Clin Immunol*. 2014;134(3):622-633.e9.
24. Katano I, Takahashi T, Ito R3, Kamisako T, Mizusawa T, Ka Y, Ogura T, Suemizu H, Kawakami Y, Ito M. Predominant Development of Mature and Functional Human NK Cells in a Novel Human IL-2–Producing Transgenic NOG Mouse. *Journal of Immunology*,2015; 1401323.
25. Shimazu T, Mori Y, Takahashi A, Tsunoda H, Tojo A, Nagamura- Inoue T, Serum- and Xeno-free Cryopreservation of Human umbilical cord tissue as mesenchymal stromal cell source, *Cytherapy*. 2015;17(5):593-600.
26. He H, Nagamura-Inoue T, Takahashi A, Mori Y, Yamamoto Y, Shimazu T, Tsunoda H, Tojo A. Immunosuppressive properties of Wharton's jelly-derived mesenchymal stromal cells in vitro. *Int J Hematol*.2015;102(3):368-78.
27. Tang H, Mori Y. Determinants of Human CD134 Essential for Entry of Human Herpesvirus 6B. *J Virol*. 2015;89(19):10125-9.
28. Yamashita-Kanemaru Y, Takahashi Y, Wang Y, Tahara-Hanaoka S, Honda S, Bernhardt G, Shibuya A, Shibuya K. CD155 (PVR/Necl5) mediates a costimulatory signal in CD4+ T cells and regulates allergic inflammation. *J Immunol*. 2015;194(12):5644-53.
29. Sakashita K, Kato I, Daifu T, Saida S, Hiramatsu H, Nishinaka Y, Ebihara Y, Ma F, Matsuda K, Saito S, Hirabayashi K, Kurata T, Uyen LT, Nakazawa Y, Tsuji K, Heike T, Nakahata T, Koike K. In vitro expansion of CD34(+)CD38(-) cells under stimulation with hematopoietic growth factors on AGM-S3 cells in juvenile myelomonocytic leukemia. *Leukemia*. 2015;29(3):606-14.
30. Jasirwan C, Tang H, Kawabata A, Mori Y. The human herpesvirus 6 U21-U24 gene cluster is dispensable for virus growth. *Microbiol Immunol*. 2015;59(1):48-53.
31. Ohnuma K, Hatano R, Aune TM, Otsuka H, Iwata S, Dang NH, Yamada T, Morimoto C. Regulation of pulmonary graft-versus-host disease by IL-26+CD26+CD4 T lymphocytes. *J Immunol*. 2015;194(8):3697-712.
32. Mori J, Kawabata A, Tang H2, Tadagaki K, Mizuguchi H, Kuroda K, Mori Y. Human Herpesvirus-6 U14 Induces Cell-Cycle Arrest in G2/M Phase by Associating with a Cellular Protein, EDD. *PLoS One*. 2015;4;10(9):e0137420.
33. Tang H, Mahmoud NF, Mori Y. Maturation of Human Herpesvirus 6A Glycoprotein O Requires Coexpression of Glycoprotein H and Glycoprotein L. *J Virol*. 1;89(9):5159-63. (2015)
34. Mori J, Tang H, Kawabata A, Koike M, Mori Y. Human Herpesvirus 6A U14 Is Important for Virus Maturation. *J Virol* ;90(3):1677-81.(2015)

35. Mahmoud NF, Jasirwan C, Kanemoto S, Wakata A, Wang B, Hata Y, Nagamata S, Kawabata A, Tang H, Mori Y. Cytoplasmic tail domain of glycoprotein B is essential for HHV-6 infection. *Virology*. 2016 Mar;490:1-5.
36. Mahmoud NF, Kawabata A, Tang H, Wakata A, Wang B, Serada S, Naka T, Mori Y. Human herpesvirus 6 U11 protein is critical for virus infection. *Virology*. 2016;489,151-7.
37. Goyama S, Schibler J, Gasilina A, Shrestha M, Lin S, Link KA, Chen J, Whitman SP, Bloomfield CD, Nicolet D, Assi S, Ptasinska A, Heidenreich O, Bonifer C, Kitamura T, Nassar NN, Mulloy JC. UBASH3B/Sts-1-CBL axis regulates myeloid proliferation in human preleukemia induced by AML1-ETO. *Leukemia* 30(3): 728-739 (2016).
38. Kadono M, Kanai A, Nagamachi A, Shinriki S, Kawata J, Iwato K, Kyo T, Oshima K, Yokoyama A, Kawamura T, Nagase R, Inoue D, Kitamura T, Inaba T, Ichinohe T1, Matsui H. Biological implications of somatic DDX41 p.R525H mutation in acute myeloid leukemia. *Exp Hematol* 44(8):745-754.e4. (2016)
39. Nakazawa Y, Matsuda K, Kurata T, Sueki A, Tanaka M, Sakashita K, Imai C, Wilson MH, Koike K. Anti-proliferative effects of T cells expressing a ligand-based chimeric antigen receptor against CD116 on CD34(+) cells of juvenile myelomonocytic leukemia. *J Hematol Oncol* ;9:27.(2016)
40. Sakurai K, Fujiwara T, Hasegawa I, Okitsu Y, Fukuhara N, Onishi Y, Yamada-Fujiwara M, Ichinohasama R, Harigae H. Inhibition of human primary megakaryocyte differentiation by anagrelide: a gene expression profiling analysis. *Int J Hematol* ;104(2):190-9.(2016)
41. Ikeda K, Ueda T, Yamasaki N, Nakata Y, Sera Y, Nagamachi A, Miyama T, Kobayashi H, Takubo K, Kanai A, Oda H, Wolff L, Honda Z, Ichinohe T, Matsubara A, Suda T, Inaba T, Honda H. Maintenance of the functional integrity of mouse hematopoiesis by EED and promotion of leukemogenesis by EED haploinsufficiency. *Sci Rep* ;6:29454.(2016)
42. Kondo A, Fujiwara T, Okitsu Y, Fukuhara N, Onishi Y, Nakamura Y, Sawada K, Harigae H. Identification of a novel putative mitochondrial protein FAM210B associated with erythroid differentiation. *Int J Hematol* .;103(4):387-95. (2016)

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

学会・シンポジウム等における本事業そのものに関する学術発表はなかった。

尚、広報活動としてのブース展示は、5年間毎年「日本癌学会」「日本免疫学会」「日本分子生物学会」において実施した。上記3学会以外では、以下の学会等においてブース展示を行い、質問や要望等への対応、パンフレットやチラシの配布等、事業の普及・広報活動を実施した。

国際バイオテクノロジー展アカデミックフォーラム Biotech2015 (2015年5月15日、ビックサイト)

日本周産期・新生児医学会 (2015年7月10-12日、福岡)

日本血液学会 (2015年10月16-18日、金沢)

国際バイオテクノロジー展アカデミックフォーラム Biotech2016 (2016年5月11~13日、ビックサイト)「研究用ヒト臍帯血バンク事業」口頭発表

ISCT(国際細胞治療学会) (2016年5月25-28日、シンガポール)

The 8th International Meeting of Asian Network of Research Resource Centers (2016年9月21日、京都)

再生医療 JAPAN2016 (2016年10月12-14日、横浜)「研究用ヒト臍帯血バンク事業」口頭発表

日本血液学会 (2016年10月13-15日、横浜)

日本再生医療学会総会 (2017年3月7日~9日、仙台)

(3)「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み  
該当事例はなかった。

(4)特許出願  
本事業そのものに関する特許出願はなかった。

平成 2 8 年度 医療研究開発推進事業費補助金  
成果報告書

**I. 基本情報**

事業名： (日本語) ナショナルバイオリソースプロジェクト  
(英語) National Bioresource Project

補助事業課題名： (日本語) 研究用ヒト臍帯血幹細胞の収集・保存・提供  
(英語) Collection, cryopreservation and distribution of human umbilical cord blood stem cells for basic researches

補助事業担当者 (日本語) 国立大学法人東京大学医科学研究所附属病院  
セルプロセッシング・輸血部 准教授 長村登紀子

所属 役職 氏名： (英語) Tokiko Nagamura-Inoue, Associate Professor, Department of Cell Processing and Transfusion, The Institute of Medical Science, The University of Tokyo

実施期間： 平成 2 8 年 4 月 1 日 ～ 平成 2 9 年 3 月 3 1 日

分担研究 (日本語) 研究用ヒト臍帯血幹細胞の収集・保存・提供 (代表機関からの試料の収集と保存・提供)

分担課題名： (英語) Collection, cryopreservation and distribution of human umbilical cord blood stem cells for basic researches (Collection of cells from the representative institution, cryopreservation and distribution of them)

補助事業分担者 (日本語) 国立研究開発法人理化学研究所バイオリソースセンター細胞材料開発室  
室長 中村 幸夫

所属 役職 氏名： (英語) Yukio Nakamura, Division Director, Cell Engineering Division, BioResource Center, RIKEN, National Research and Development Agency

**II. 成果の概要 (総括成果報告)**

補助事業代表者： 国立大学法人東京大学医科学研究所附属病院 セルプロセッシング・輸血部 准教授・長村登紀子 総括成果報告を参照。

**【和文】**

本補助事業は、「医学の発展を目指した研究」のためのバイオリソースとして、ヒト臍帯血幹細



胞を広く国内外の研究者に提供できるシステムを構築することを目的としている。当該目的のために、代表機関である東京大学医科学研究所と連携協力をし、分担機関である国立研究開発法人理化学研究所バイオリソースセンターでは、以下を実施した。

① 研究用ヒト臍帯血幹細胞の収集

採取機関（東京大学医科学研究所）の目標設定に沿って、東京大学医科学研究所から移管の依頼があった試料をすべて収集した。

② 研究用ヒト臍帯血幹細胞の保存

ヒト由来の貴重な試料であるため、保存設備（保存室、大型液化窒素タンク等）の不備等により試料を損ねることのないよう、液化窒素備蓄タンクの充填量等の日常的な点検に努めた。また、液化窒素の常時補給システムの作動状態の確認も実施し、試料を安全に保管できた。平成28年度において東京大学医科学研究所から収集し保存した試料数は、有核細胞47本、CD34陽性細胞102本、大容量単核球細胞20本であった。

③ 研究用ヒト臍帯血幹細胞の提供

すべての提供は利用希望者と理研BRCとの提供同意書締結を経てから実施した。また、すべての試料は一旦理研BRCが収集し、保存・管理をした後に、理研BRCから利用希望者へ搬送した。平成28年度の提供目標総数は850本であったが、総数761本の提供を実施した（内訳は、有核細胞39本、CD34陽性細胞133本、小容量単核球細胞564本、大容量単核球細胞25本）。

④ 研究用ヒト臍帯血幹細胞の広報活動

理研BRCの専用ホームページにおいて、「研究用臍帯血テクニカルシリーズ：研究用ヒト臍帯血単核細胞(CBF)から樹状細胞(DC1)への誘導」を公開し、当該分野の研究者の利用を勧誘した。

平成28年度における日本癌学会、日本免疫学会、日本分子生物学会、日本再生医療学会の年次大会においてブース展示を行い、質問や要望等への対応、パンフレットやチラシの配布等、事業の普及・広報活動を実施した。

【英文】

This project is aiming to establish a system that researchers not only in Japan but also in foreign countries can obtain human umbilical cord blood cells as the source for basic researches to contribute the development of medicine. For this aim, in collaboration with the representative institution (the Institute of Medical Science, University of Tokyo) the RIKEN BioResource Center performed the following.

① Collection of stem cells derived from human umbilical cord blood for basic researches

According to the schedule of the procurement institution (the Institute of Medical Science, University of Tokyo), we collected all stem cells from the procurement institution when they request us to collect them.

② Preservation of stem cells derived from human umbilical cord blood for basic researches

The stem cells are very precious and thus so as not to waste them by trouble of preservation facilities, we routinely inspected all relevant facilities such as preservation rooms and liquid nitrogen tanks. In addition, we routinely inspected the system which automatically replenished liquid nitrogen into the liquid nitrogen tanks. As a result, we have safely preserved all stem cells without any trouble. In 2016 fiscal year, we have collected stem cells from the procurement institution (the Institute of Medical

Science, University of Tokyo) as follows; 47 bags of nucleated cells, 102 tubes of CD34-positive cells, and 20 bags of large scale mononuclear cells.

③ Distribution of stem cells derived from human umbilical cord blood for basic researches

All stem cells were distributed after preservation in the RIKEN BioResource Center and from the RIKEN BioResource Center to the users. In addition, we have distributed all stem cells after concluding the material transfer agreement (MTA) between the RIKEN BioResource Center and the user institutions. The number of distribution we scheduled was 850 tubes and bags and the actual number of distribution in 2016 fiscal year was as follows; 761 tubes and bags in total (39 bags of nucleated cells, 133 tubes of CD34-positive cells, 564 tubes of small scale mononuclear cells, 25 bags of large scale mononuclear cells).

④ Public relation of stem cells derived from human umbilical cord blood for basic researches

In our original web page, we disclosed the method to induce dendritic cells from mononuclear cells derived from human umbilical cord blood and thus contributed the scientists who are working in the relevant fields.

In 2016 fiscal year, we have had booth for public relation in many meetings such as Japanese Cancer Association, Japanese Society for Immunology, The Molecular Biology Society of Japan, and The Japanese Society for Regenerative Medicine. We performed public relation by replying to queries and requests from the audiences and by distributing our pamphlets and leaflets to the audiences.

### III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧

本事業そのものに関する論文発表はなかった（国内誌0件、国際誌0件）。

本事業から試料を入手した研究者（利用研究者）が発表した論文数は、5年間で42報であった（国内誌0件、国際誌42件）。

1. Kuroda T, Yasuda S, Kusakawa S, Hirata N, Kanda Y, Suzuki K, Takahashi M, Nishikawa S, Kawamata S, Sato Y. Highly Sensitive In Vitro Methods for Detection of Residual Undifferentiated Cells in Retinal Pigment Epithelial Cells Derived from Human iPS Cells. PLoS ONE. 2012;7(5):e37342
2. Nishishita N., Shikamurab M, Takenaka C, Takadab N, Fusaki N, and Kawamata S. Generation of virus-free induced pluripotent stem cell clones on a synthetic matrix via a single cell subcloning in the naïve state. PLoS ONE. 2012;7(6):e38389.
3. Moriya K, Suzuki M, Watanabe Y, Takahashi T, Aoki Y, Uchiyama T, Kumaki S, Sasahara Y, Minegishi M, Kure S, Tsuchiya S, Sugamura K, Ishii N. Development of a multi-step leukemogenesis model of MLL-rearranged leukemia using humanized mice. PLoS One. 2012;7(6):e37892.
4. Sato Y, Nagata S, Takiguchi M. Effective elicitation of human effector CD8+ T Cells in HLA-B\*51:01 transgenic humanized mice after infection with HIV-1. PLoS One. 2012;7(8):e42776.
5. Miharada K, Nakamura Y. In vitro production of enucleated red blood cells from hematopoietic stem and progenitor cells. Methods Mol Biol. 2012;879:505-12.
6. Ozeki R, Kakinuma S, Asahina K, Shimizu-Saito K, Aarii S, Tanaka Y and Teraoka H. Hepatic stellate cells mediate differentiation of dendritic cells from monocytes. J Med Dent Sci 2012;59:43-52.
7. Moriya K, Suzuki M, Watanabe Y, Takahashi T, Aoki Y, Uchiyama T, Kumaki S, Sasahara Y, Minegishi M, Kure S, Tsuchiya S, Sugamura K, Ishii N. Development of a multi-step leukemogenesis model of

- MLL-rearranged leukemia using humanized mice. *PLoS One*. 2012;7(6):e37892.
8. Suzuki M, Takahashi T, Katano I, Ito R, Ito M, Harigae H, Ishii N, Sugamura K. Induction of human humoral immune responses in a novel HLA-DR-expressing transgenic NOD/Shi-scid/ $\gamma$ cnnull mouse. *Int Immunol*. 2012;24(4):243-52.
  9. Fujiwara T, Alqadi YW, Okitsu Y, Fukuhara N, Onishi Y, Ishizawa K, Harigae H. Role of transcriptional corepressor ETO2 in erythroid cells. *Exp Hematol*. 2013;41(3):303-15.
  10. Okita K, Yamakawa T, Matsumura Y, Sato Y, Amano N, Watanabe A, Goshima N, Yamanaka S. An efficient nonviral method to generate integration-free human-induced pluripotent stem cells from cord blood and peripheral blood cells. *Stem Cells*. 2013;31(3):458-66.
  11. Kurita, R., Suda, N., Sudo, K., Miharada, K., Hiroyama, T., Miyoshi, H., Tani, K., and Nakamura, Y. Establishment of immortalized human erythroid progenitor cell lines able to produce enucleated red blood cells. *PLoS ONE* 2013;8(3):e59890.
  12. Shimizu A, Kobayashi N, Shimada K, Oura K, Tanaka T, Okamoto A, Kondo K. Novel gene therapy viral vector using non-oncogenic lymphotropic herpesvirus. *PLoS One*. 2013;8(2):e56027.
  13. Maeki T, Hayashi M, Kawabata A, Tang H, Yamanishi K, Mori Y. Identification of the human herpesvirus 6A gQ1 domain essential for its functional conformation. *J Virol*. 2013;87(12):7054-63.
  14. Hayakawa F, Sugimoto K, Harada Y, Hashimoto N, Ohi N, Kurahashi S and Naoe T. A novel STAT inhibitor, OPB-31121, has a significant antitumor effect on leukemia with STAT-addictive oncokineses. *Blood Cancer J*. 2013; 3(11): e166.
  15. Fujiwara T, Saitoh H, Inoue A, Kobayashi M, Okitsu Y, Katsuoka Y, Fukuhara N, Onishi Y, Ishizawa K, Ichinohasama R, Harigae H. 3-Deazaneplanocin A (DZNep), an inhibitor of S-adenosyl-methionine-dependent methyltransferase, promotes erythroid differentiation. *J Biol Chem*. 2014;289(12):8121-34.
  16. Ota, M., Serada, S., Naka, T., & Mori, Y. MHC class I molecules are incorporated into human herpesvirus 6 viral particles and released into the extracellular environment. *Microbiology and immunology*, 2014;58(2), 119-125.
  17. Haji, Y., Suzuki, M., Moriya, K., So, T., Hozumi, K., Mizuma, M., ... & Ishii, N. (2014). Activation of Notch1 promotes development of human CD8+ single positive T cells in humanized mice. *Biochemical and biophysical research communications*, 2014;447(2), 346-351.
  18. Nishishita, N., Yamamoto, T., Takenaka, C., Muramatsu, M., & Kawamata, S. Generation and Maintenance of iPSCs From CD34+Cord Blood Cells on Artificial Cell Attachment Substrate. *Pluripotent Stem Cell Biology - Advances in Mechanisms, Methods and Models*. ISBN 2014;978-953-51-1590-8.
  19. Fujiwara, T., Saitoh, H., Inoue, A., Kobayashi, M., Okitsu, Y., Katsuoka, Y., & Harigae, H. 3-Deazaneplanocin A (DZNep), an Inhibitor of S-Adenosylmethionine-dependent Methyltransferase, Promotes Erythroid Differentiation. *Journal of Biological Chemistry*, 2014;289(12), 8121-8134.
  20. Abe T, Hanazono Y, Nagao Y. A long-term follow-up study on the engraftment of human hematopoietic stem cells in sheep. *Experimental Animals*, 2014;63(4):475-81.
  21. Nakagawa M, Taniguchi Y, Senda S, Takizawa N, Ichisaka T, Asano K, Morizane A, Doi D, Takahashi J, Nishizawa M, Yoshida Y, Toyoda T, Osafune K, Sekiguchi K, Yamanaka S. A novel efficient feeder-free culture system for the derivation of human induced pluripotent stem cells. *Scientific Reports*, 2014;4:3594.
  22. Ohshima S, Mori S, Shigenari A, Miyamoto A, Takasu M, Imaeda N, Nunomura S, Okayama Y, Tanaka

- M, Kitagawa H, Kulski JK, Inoko H, Ando A, Kametani Y. Differentiation ability of multipotent hematopoietic stem/progenitor cells detected by a porcine specific anti-CD117 monoclonal antibody. *Biosci Trends*, 2014,8(6):308-15.
23. Fujisawa D, Kashiwakura J, Kita H, Kikukawa Y, Fujitani Y, Sasaki-Sakamoto T, Kuroda K, Nunomura S, Hayama K, Terui T, Ra C, Okayama Y. Expression of Mas-related gene X2 on mast cells is upregulated in the skin of patients with severe chronic urticaria. *J Allergy Clin Immunol*. 2014;134(3):622-633.e9.
  24. Katano I, Takahashi T, Ito R3, Kamisako T, Mizusawa T, Ka Y, Ogura T, Suemizu H, Kawakami Y, Ito M. Predominant Development of Mature and Functional Human NK Cells in a Novel Human IL-2–Producing Transgenic NOG Mouse. *Journal of Immunology*, 2015; 1401323.
  25. Shimazu T, Mori Y, Takahashi A, Tsunoda H, Tojo A, Nagamura-Inoue T, Serum- and Xeno-free Cryopreservation of Human umbilical cord tissue as mesenchymal stromal cell source, *Cytherapy*. 2015;17(5):593-600.
  26. He H, Nagamura-Inoue T, Takahashi A, Mori Y, Yamamoto Y, Shimazu T, Tsunoda H, Tojo A. Immunosuppressive properties of Wharton's jelly-derived mesenchymal stromal cells in vitro. *Int J Hematol*. 2015;102(3):368-78.
  27. Tang H, Mori Y. Determinants of Human CD134 Essential for Entry of Human Herpesvirus 6B. *J Virol*. 2015;89(19):10125-9.
  28. Yamashita-Kanemaru Y, Takahashi Y, Wang Y, Tahara-Hanaoka S, Honda S, Bernhardt G, Shibuya A, Shibuya K. CD155 (PVR/Necl5) mediates a costimulatory signal in CD4+ T cells and regulates allergic inflammation. *J Immunol*. 2015;194(12):5644-53.
  29. Sakashita K, Kato I, Daifu T, Saida S, Hiramatsu H, Nishinaka Y, Ebihara Y, Ma F, Matsuda K, Saito S, Hirabayashi K, Kurata T, Uyen LT, Nakazawa Y, Tsuji K, Heike T, Nakahata T, Koike K. In vitro expansion of CD34(+)CD38(-) cells under stimulation with hematopoietic growth factors on AGM-S3 cells in juvenile myelomonocytic leukemia. *Leukemia*. 2015;29(3):606-14.
  30. Jasirwan C, Tang H, Kawabata A, Mori Y. The human herpesvirus 6 U21-U24 gene cluster is dispensable for virus growth. *Microbiol Immunol*. 2015;59(1):48-53.
  31. Ohnuma K, Hatano R, Aune TM, Otsuka H, Iwata S, Dang NH, Yamada T, Morimoto C. Regulation of pulmonary graft-versus-host disease by IL-26+CD26+CD4 T lymphocytes. *J Immunol*. 2015;194(8):3697-712.
  32. Mori J, Kawabata A, Tang H2, Tadagaki K, Mizuguchi H, Kuroda K, Mori Y. Human Herpesvirus-6 U14 Induces Cell-Cycle Arrest in G2/M Phase by Associating with a Cellular Protein, EDD. *PLoS One*. 2015;4;10(9):e0137420.
  33. Tang H, Mahmoud NF, Mori Y. Maturation of Human Herpesvirus 6A Glycoprotein O Requires Coexpression of Glycoprotein H and Glycoprotein L. *J Virol*. 1;89(9):5159-63. (2015)
  34. Mori J, Tang H, Kawabata A, Koike M, Mori Y. Human Herpesvirus 6A U14 Is Important for Virus Maturation. *J Virol* ;90(3):1677-81.(2015)
  35. Mahmoud NF, Jasirwan C, Kanemoto S, Wakata A, Wang B, Hata Y, Nagamata S, Kawabata A, Tang H, Mori Y. Cytoplasmic tail domain of glycoprotein B is essential for HHV-6 infection. *Virology*. 2016 Mar;490:1-5.
  36. Mahmoud NF, Kawabata A, Tang H, Wakata A, Wang B, Serada S, Naka T, Mori Y. Human herpesvirus 6 U11 protein is critical for virus infection. *Virology*. 2016;489,151-7.
  37. Goyama S, Schibler J, Gasilina A, Shrestha M, Lin S, Link KA, Chen J, Whitman SP, Bloomfield CD,

- Nicolet D, Assi S, Ptasinska A, Heidenreich O, Bonifer C, Kitamura T, Nassar NN, Mulloy JC. UBASH3B/Sts-1-CBL axis regulates myeloid proliferation in human preleukemia induced by AML1-ETO. *Leukemia* 30(3): 728-739 (2016).
38. Kadono M, Kanai A, Nagamachi A, Shinriki S, Kawata J, Iwato K, Kyo T, Oshima K, Yokoyama A, Kawamura T, Nagase R, Inoue D, Kitamura T, Inaba T, Ichinohe T1, Matsui H. Biological implications of somatic DDX41 p.R525H mutation in acute myeloid leukemia. *Exp Hematol* 44(8):745-754.e4. (2016)
39. Nakazawa Y, Matsuda K, Kurata T, Sueki A, Tanaka M, Sakashita K, Imai C, Wilson MH, Koike K. Anti-proliferative effects of T cells expressing a ligand-based chimeric antigen receptor against CD116 on CD34(+) cells of juvenile myelomonocytic leukemia. *J Hematol Oncol* ;9:27.(2016)
40. Sakurai K, Fujiwara T, Hasegawa I, Okitsu Y, Fukuhara N, Onishi Y, Yamada-Fujiwara M, Ichinohasama R, Harigae H. Inhibition of human primary megakaryocyte differentiation by anagrelide: a gene expression profiling analysis. *Int J Hematol* ;104(2):190-9.(2016)
41. Ikeda K, Ueda T, Yamasaki N, Nakata Y, Sera Y, Nagamachi A, Miyama T, Kobayashi H, Takubo K, Kanai A, Oda H, Wolff L, Honda Z, Ichinohe T, Matsubara A, Suda T, Inaba T, Honda H. Maintenance of the functional integrity of mouse hematopoiesis by EED and promotion of leukemogenesis by EED haploinsufficiency. *Sci Rep* ;6:29454.(2016)
42. Kondo A, Fujiwara T, Okitsu Y, Fukuhara N, Onishi Y, Nakamura Y, Sawada K, Harigae H. Identification of a novel putative mitochondrial protein FAM210B associated with erythroid differentiation. *Int J Hematol* .;103(4):387-95. (2016)

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

学会・シンポジウム等における本事業そのものに関する学術発表はなかった。

尚、広報活動としてのブース展示は、5年間毎年「日本癌学会」「日本免疫学会」「日本分子生物学会」において実施した。上記3学会以外では、以下の学会等においてブース展示を行い、質問や要望等への対応、パンフレットやチラシの配布等、事業の普及・広報活動を実施した。

国際バイオテクノロジー展アカデミックフォーラム Biotech2015 (2015年5月15日、ビックサイト)

日本周産期・新生児医学会 (2015年7月10-12日、福岡)

日本血液学会 (2015年10月16-18日、金沢)

国際バイオテクノロジー展アカデミックフォーラム Biotech2016 (2016年5月11-13日、ビックサイト)

ISCT(国際細胞治療学会) (2016年5月25-28日、シンガポール)

The 8th International Meeting of Asian Network of Research Resource Centers (2016年9月21日、京都)

再生医療 JAPAN2016 (2016年10月12-14日、横浜)

日本血液学会 (2016年10月13-15日、横浜)

日本再生医療学会総会 (2017年3月7日-9日、仙台)

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

該当事例はなかった。

(4) 特許出願

本事業そのものに関する特許出願はなかった。