

Review Article

再生医療の現状と問題点

中畑龍俊

京都大学大学院医学研究科 発達小児科学

Forefront and problem of regenerative medicine using stem cells

Stem cells possess both capabilities of self-renewal and differentiation into various tissue-specific cells. Traditionally, stem cells have been divided into two groups; embryonic stem (ES) and somatic stem cells. Although human ES cells have the potential to generate new tissues in regenerative medicine, the establishment of human ES cell lines requires ethically problematic destruction of a human embryo and it remains to be resolved more extensively, along with the problem of the teratoma formation after transplantation. Now all regenerative medicine has been performed using somatic stem cells. For pre-clinical study of regenerative medicine using somatic stem cells it is anxious to establish a novel model mouse in which human somatic stem cells are able to proliferate and differentiate into appropriate mature cells. Recently, we developed a new strain of immunodeficient mouse (NOG mouse), which carried various immunological abnormalities. Successful engraftment was achieved even if a small number of human somatic stem cells were transplanted into NOG mice without administration of human cytokines. When human hematopoietic stem cells (HSC) expanded *ex vivo* were transplanted into the mice, multi-lineage reconstitution including a large number of human myeloid, B, T, NK, NKT, DC, erythroid cells and megakaryocytes were confirmed in various hematopoietic organs.

Stem cell plasticity, safety and ethical issues underlying the regenerative medicine are also discussed in this review.

Rec.3/5/2004, pp84-91

Tatsutoshi Nakahata

Department of Pediatrics, Graduate School of Medicine, Kyoto University

Key words regenerative medicine, somatic stem cell, ethical issue, ES cells

はじめに

最近、再生医療、再生医学という言葉が新聞やテレビなどのマスコミにしばしば登場し、広く社会の関心を集めている。従来の医療は、臓器障害をできるだけ早期に発見し、その原因の除去および生体防御反応の修飾により、障害を受けた臓器の自然回復を待つものであった。しかしながら、臓器障害も一定の限度を超えると不可逆的となり、臓器の機能回復は困難となる。このような患者に対して障害を受けた細胞、組織、さらには臓器を体内で再生し (*in vivo*法)、あるいは人為的に再生させた細胞や組織などを移植したり、臓器としての機能を有するようになった再生組織で置換すること (*ex vivo*法)で、治療しようというのが再生医療である。このための基礎研究が盛んに行われ、その成果が続々と臨床の場に持ち込まれようとしている。再生医療の基盤となる細胞は幹細胞であり、この細胞は自己複製能と様々な細胞への分

化能を併せ持った細胞として知られている。現在行われている、あるいは行われようとしている再生医療は、我々の身体の中に存在する体性幹細胞を利用したものであるが、将来的にはほぼ無限の自己複製能を持つ胚性幹細胞 (embryonic stem cell: ES細胞) の利用も考えられている。

最近、わが国では、従来から行われていた造血幹細胞移植に加え、心筋梗塞の患者に対して自家骨髄を直接心臓組織内に移植したり、閉塞性動脈硬化症 (ASO)、パージャーマン病に対しても自己の骨髄細胞を用いた治療が行われるなど、再生医療は爆発的な広がりを見せようとしている。しかし、今後わが国で再生医療を健全な形で進めていくためには、その医療が十分な基礎研究に裏打ちされた科学性を持っているか、患者さんや幹細胞を提供するドナーの安全性が十分に担保されているか、行おうとする再生医療が十分な倫理性、社会性を持っているのかを研究者および医療人は厳しく問いかけながら進める必要

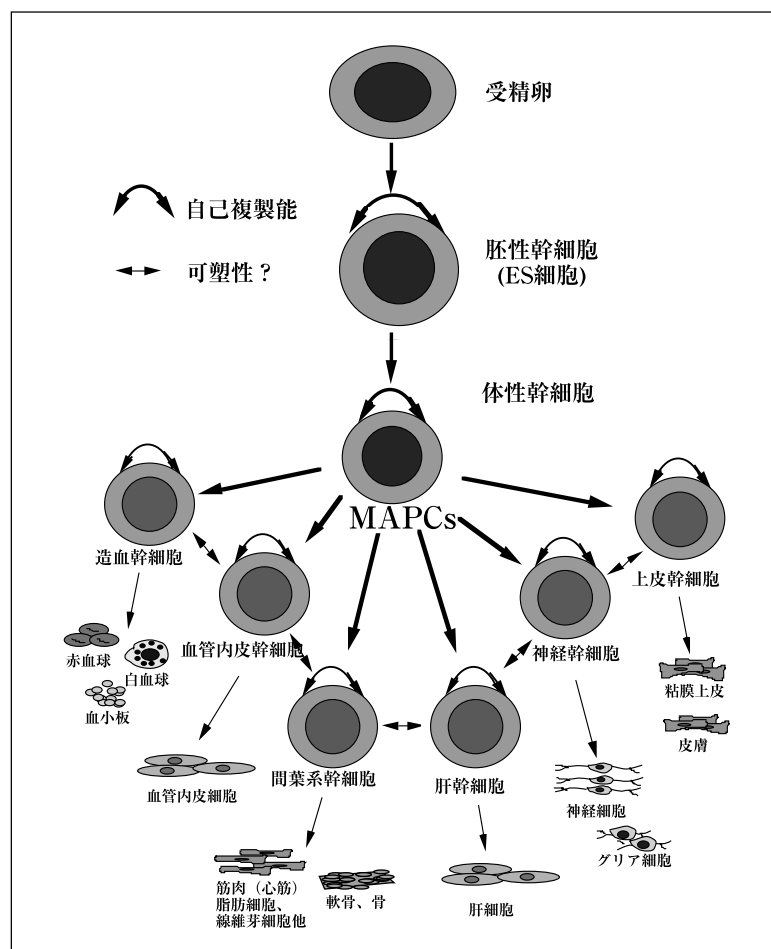


図1 幹細胞の種類と hierarchy

があろう。また、このような新しい医療は常に公開性に十分配慮して進めることにより広く国民の理解が得られるであろう。再生医療を進めるための5大原則（科学性、安全性、倫理性、社会性、公開性）を保証するための指針作りが厚生科学審議会の中で進められている。本稿では、我々が長年取り組んできた造血幹細胞を中心に、再生医療の現状、問題点、今後の展望について述べる。

体性幹細胞とは

再生医療の基盤となる細胞は幹細胞であり、この細胞は自己複製能と様々な細胞への分化能を併せ持った細胞として知られている。幹細胞には階層性（hierarchy）があり、より未分化な幹細胞は自己複製能が高く、非常に広範な細胞系列に分化できるが、幹細胞も下位になるに従い自己複製能は失われ、分化できる細胞系列が限定されてくる。

我々の臓器には、組織特異的な体性幹細胞が存在する。体性幹細胞は固有の系列への分化能を持つとともに、分裂した際自分と同じ能力を持った細胞を再生（自己複製）

することにより、それぞれの組織を維持していると考えられている。造血幹細胞は最も研究の進んでいる体性幹細胞である。すでに世界的に骨髓、末梢血、臍帯血中の造血幹細胞を用いた移植が盛んに行われ、様々な難治性疾患に対する根治を目指す治療法としての地位が築かれている。このような造血幹細胞移植はまさに再生医療の先駆けと位置づけることができるし、さらに造血幹細胞を体外で増幅する研究が盛んに行われ、増幅した細胞を用いた実際の臨床応用も開始されている。その他、血管上皮、皮膚、腸上皮クリプトの基底細胞、生殖器に体性幹細胞が存在することが知られ、最近では、肝臓、腎臓、網膜のような三次元構造を持った組織や成人の神経組織においても幹細胞が存在することが報告されている。最近、マウスおよびヒト骨髓や臍帯血中には、体性幹細胞よりさらに未分化なES細胞に匹敵する能力を持った細胞（multipotent adult progenitor cells: MAPCs）の存在も示唆されている¹⁾（図1）。このような様々な幹細胞を用いて再生医学を目指す研究が盛んに行われている。現在行われている、あるいは行われようとしている再生医療は、全て

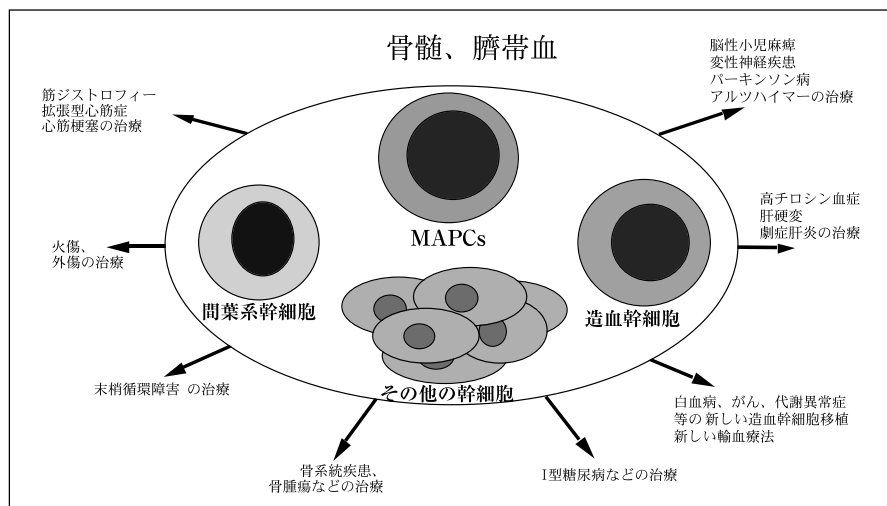


図2 造血幹細胞の可塑性と骨髄、臍帯血を用いた様々な再生医療の可能性

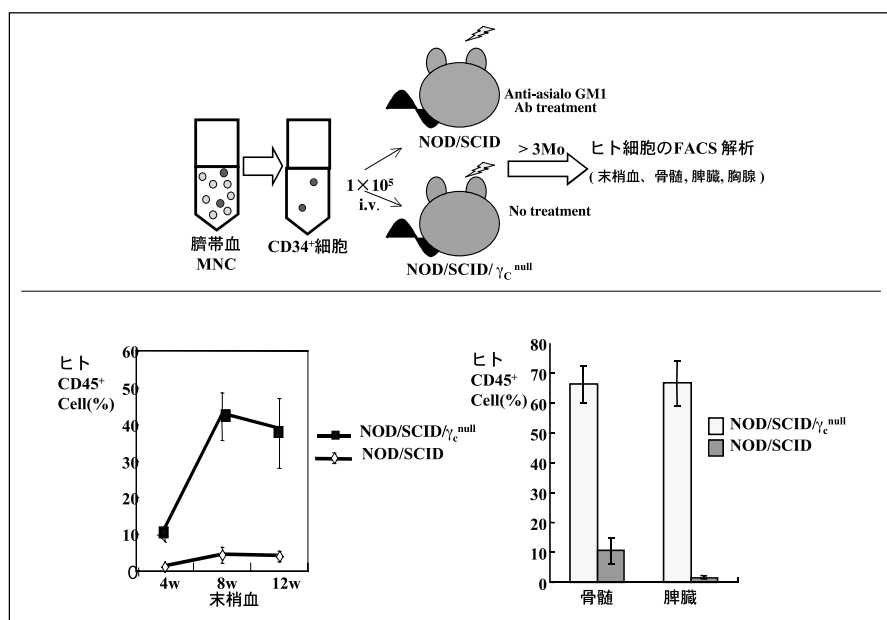


図3 新しいヒト幹細胞測定用マウス (NOD/SCID/γ_c^{null} : NOG マウス)

体性幹細胞を利用したものである。

体性幹細胞の可塑性と再生医療への応用の可能性

最近、体性幹細胞の可塑性を示唆する多くの研究が報告され、今後の再生医療を進める上で極めて重要な問題となることから議論を呼んでいる。2000年のNature誌に、骨髄移植を受けた患者の肝組織を検討すると、肝細胞の一部がドナー細胞により置き換わっていたという衝撃的な報告がなされた²⁾。この観察は①造血幹細胞自身が血球系以外に肝細胞に形質転換した、②骨髄中には造血幹細胞とは別の肝細胞のもとになる組織幹細胞が存在した、③骨髄中には造血幹細胞、肝臓の幹細胞に共通のより未

分化な幹細胞が存在した、④造血幹細胞あるいはその子孫と肝細胞が細胞融合を起こした、などの可能性を示しているが、いずれが正しいかは解っていない。その後、遺伝子変異チロシン血症マウスに正常造血幹細胞分画の細胞を移植したところ、血球系のドナータイプへの変換とともに、肝細胞の一部もドナータイプに置き換わり、肝機能の著明な改善とともに、血中チロシン値も低下し、マウスは一生を全うできたことが報告され、造血幹細胞自身が正常の機能を持った肝細胞の再生を担った可能性を強く示唆している³⁾。その他、骨髄から血管内皮細胞、血管平滑筋細胞、骨格筋細胞、心筋細胞、神経細胞、グリア細胞、骨細胞等が *in vivo*, *in vitro* で形成されたとの報告がみられる。これらは骨髄中に存在する間葉系幹細胞や、よ

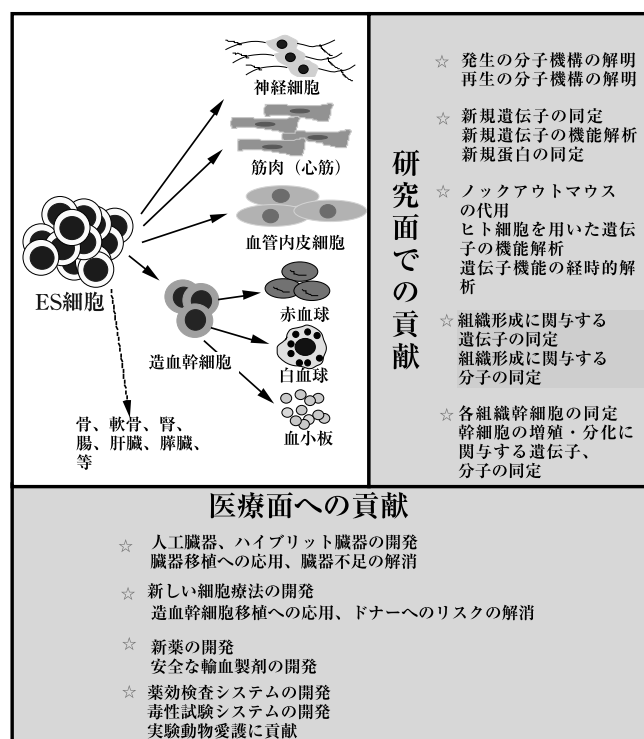


図4 ヒトES細胞の研究および臨床応用の可能性

り未分化な幹細胞によりもたらされているのか、造血幹細胞自身の可塑性を示しているのか、細胞融合によりもたらされているのか明らかではないが、比較的採取が容易な骨髓や臍帯血を用いて、今後様々な再生医療が展開できる可能性を示している(図2)。

一方、骨格筋細胞から分離した細胞を5日間培養すると、骨髓よりも遥かに高頻度に骨髓再構築能を持った造血幹細胞が出現するとの報告、神経幹細胞を移植すると血液細胞が出現し、神経幹細胞の一部は造血幹細胞としての活性を持つとの報告、神経幹細胞から筋線維に分化したとの報告など、他の体性幹細胞の可塑性を示唆する報告も相次いでいる。

ヒト体性幹細胞の測定法の開発

これからの再生医療を安全に進めるためにはヒト体性幹細胞を測定することのできるモデル動物を作成する必要がある。中でもヒト造血幹細胞の *in vivo* 測定法の開発は長年の課題であった。近年、NOD/SCID (nonobese diabetic/scid) マウスにヒト造血幹細胞を移植すると生着し、ヒト血球が継続的に産生されることが明らかにされ、ヒト造血幹細胞のアッセイ法として広く使用されている。このマウスを用いて測定される造血細胞は(SCID-repopulating cells: SRC)と呼ばれ、現時点で測定可能な、最も造血幹細胞に近い細胞と考えられている⁴⁾。しかし、このマ

ウスにヒト造血幹細胞を移植してもキメラ率は極めて低く、また分化増殖してくるヒト細胞はB細胞系と骨髓球系に偏っており、T細胞系列への分化は全くみられない。このような欠点を改善するため、最近我々はIL-2などの共通の受容体である common γ 鎖をノックアウトした NOD/SCID/ $\gamma_c^{-/-}$ (NOG) マウスを開発した^{5,6)}。このマウスは従来のマウスに比べヒト造血幹細胞の生着率が著しく高く、再移植してもT細胞を含む全ての血球分化がみられることから、ヒト造血幹細胞の測定系としては画期的なマウスと考えられる(図3)。このマウスは造血幹細胞ばかりでなく、様々なヒト体性幹細胞の測定に応用できることが示されつつあり、再生医療の前臨床試験では極めて貴重なモデルとなろう。

ES細胞の再生医療への応用の可能性

ES細胞はある一定の培養条件下で未分化な状態を保持しながら半永久的に自己複製し、生殖細胞系列を含むあらゆる種類の細胞に分化できる全能性、多分化能を有する細胞として知られている。このことを利用して、マウスES細胞は遺伝子改変マウスなど、最近の分子生物学、発生学の分野で大きな役割を果たしてきた。1998年、ヒトES細胞の樹立に成功した論文が発表され、世界中に大きな衝撃を与えた⁷⁾。ヒト受精卵を用いたES細胞の樹立は社会的、倫理的に多くの問題を抱えているが、一方、ES細胞

表 わが国における体性幹細胞を用いた臨床応用の実態調査（平成 14 年 2 月 25 日）

調査対象：大学医学部臨床部門、基礎部門で該当すると推測される教室、研究所、病院、企業は未調査	
調査方法：アンケート郵送の後、該当する場合のみFAXにて回答	
発送数：1512、回答数：204、該当する回答数：101	
臨床研究段階：16施設	
施設名	臨床研究内容
A大学第2外科	下肢慢性動脈閉塞症に骨髄移植（患者選定段階）
B大学第3内科	重症末梢性血管疾患（バージャー病）に自家骨髄移植 8人／9肢に施行済
C大学皮膚科	皮膚潰瘍に対して自家皮膚移植 3例施行 2例有効
D大学第1内科	閉塞性動脈硬化化症状・バージャー病に対して自家骨髄血管前駆細胞移植 虚血性心疾患に対して自家骨髄血管前駆細胞移植予定（倫理委員会申請中） 糖尿病に対してヒト胎児の膵島細胞移植予定（倫理委員会申請準備中）
E大学血液循環器分野	バージャー病に対して自家骨髄血管前駆細胞移植 3例
F大学胸部心臓血管外科	冠動脈バイパス手術に際し、自家骨髄細胞移植を併用または単独で施行
G大学形成外科	ヒト表皮細胞培養後移植（巨大母斑・白斑）自家移植 290例、同種移植180例
H大学整形外科	人工関節と骨との接触部に自家骨髄間葉系幹細胞を培養して移植 2例 小児良性骨腫瘍による骨欠損部に人工骨上で自家骨髄細胞を培養し移植予定
I大学血管内科	バージャー病に対して自家骨髄細胞移植 例数記載なし
J大学整形外科	ヒト骨髄間葉系細胞移植 詳細記載なし
K大学眼科	自家角膜上皮、同種角膜上皮を直接あるいは培養後移植
L大学循環器内科学	閉塞性動脈硬化症（ASO）に対して末梢血CD34 ⁺ 細胞移植 4例5肢に行い全例有効 虚血性心疾患への移植も倫理委員会での承認済
M大学第2内科	先天性骨嚢腫に対して自家移植
M大学頭頸部感覚器外科学	培養表皮および培養粘膜上皮移植を120例施行 ほとんどが自家移植であり90％に生着 自家骨髄由来間葉系幹細胞を培養し人工骨として移植 例数記載なし
N大学血液学部門	閉塞性動脈硬化化症状・バージャー病に対して自家骨髄細胞筋注療法実施 例数記載なし 虚血性心疾患に対して自家骨髄細胞筋注予定
N大学循環器内科	重症虚血肢患者に自己骨髄単核球移植による血管再生療法 12例に施行
O大学形成外科	骨髄細胞を使った下顎骨の再生 2例に施行
P大学第1内科	閉塞性動脈硬化症（ASO）、バージャー病、心筋梗塞に対して自家骨髄移植（倫理委員会承認済）
Q大学血液リウマチ科	骨髄細胞を用いた肝臓再生 臍帯血CD34 ⁺ 細胞をマウス骨髄ストローマ細胞上で増幅し移植 1例施行
前臨床研究段階：3施設	
R大学臓器再生医学	骨髄細胞を使った肝細胞、膵細胞作成、骨髄中幹細胞を使った腎疾患治療
S大学外科	骨髄細胞を使った肝細胞、膵細胞作成、骨髄中幹細胞を使った腎疾患治療
T大学小児科	臍帯血CD34 ⁺ 細胞をサイトカインで増幅し移植 体性幹細胞を用いた先天性筋疾患、肝疾患、心筋症の再生治療
研究段階：90施設	

胞はほぼ無限に増やせることから、これらの細胞から特定の細胞や特定の組織幹細胞だけに分化させる培養系を確立することができれば、幅広い再生医療への応用が可能になると期待されている（図4）。しかし、ヒトES細胞が再生医療や生物学の発展に大きく貢献する可能性がある反面、人間の生命の萌芽であるヒト胚を使用することなどの生命倫理上の問題点が極めて大きいことから、わが国ではヒトES細胞の樹立および使用に関して、文部科学省により「ヒトES細胞の樹立および使用に関する指針」が公表されている。すでにこの指針を遵守したES細胞が京都大学再生医学研究所で最近樹立された。また、海外で樹立されたES細胞株を導入した基礎研究の申請が承認され、研究が開始されている。

ES細胞は培養条件を変化させると、神経細胞、筋肉細胞（特に心筋細胞）、血管内皮細胞、軟骨や骨の細胞、膵島細胞、肝細胞、各種血液細胞など、様々な細胞に*in vitro*で分化可能である。ES細胞の再生医療への応用を考えた場合、ES細胞の未分化性を維持した細胞が1つでも残っていると移植後腫瘍を形成してしまうし、目的とする細胞系列以外の細胞への分化能を残したままでは医療への応用は難しいことから、特定の細胞系列だけに分化させる系の確立が急がれている。

ES細胞の再生医療への応用は、現在胎児の脳を用いて

行われているアルツハイマーやパーキンソン病を中心とした変性、脱髄性神経疾患でまず開始されるのではないかと予想されている。しかし、ES細胞の臨床応用にあたっては、安全性を担保する様々な技術面をクリアする必要があるうし、体性幹細胞を用いた再生医療よりも遥かに深い倫理的、社会的な幅広い議論が必要であろう。

わが国における幹細胞を用いた再生医療の現状

平成14年2月（1512施設送付）、平成15年4月（1,441施設送付）にわが国における幹細胞を用いた再生医療の実態を把握するため、全国アンケート調査を行った。このアンケートは全国の医学部臨床部門、基礎部門で該当すると推測される教室と、ごく一部の研究所に限りて送付し、病院や企業などへは送付されなかったにもかかわらず、多くの回答が寄せられた。平成15年4月のアンケート調査では再生医療の基礎研究を行っている施設94、計画している施設92、臨床応用をすでに行っている施設51、臨床応用を計画している施設76に上っていることが明らかとなった。

骨髄細胞を用いて心筋梗塞の患者の心臓組織内に移植することにより、心筋梗塞などで壊死に陥った組織の機能を補う臨床研究、閉塞性動脈硬化症（ASO）、バージャー

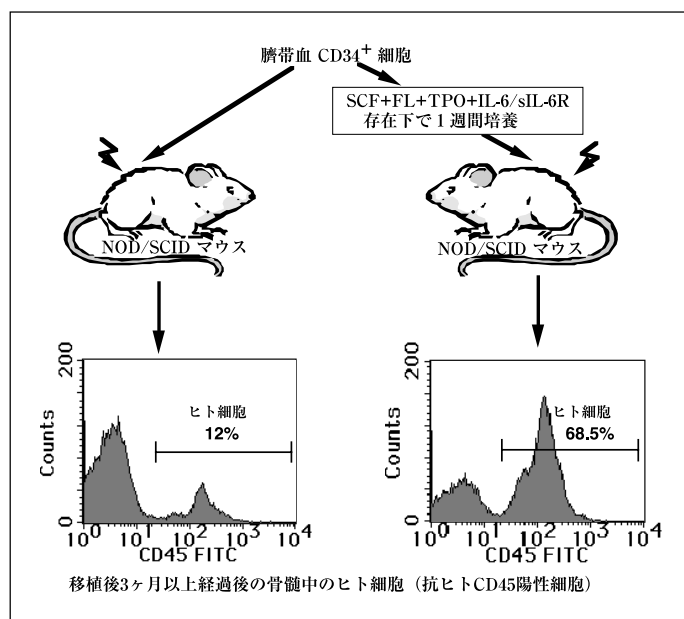


図5 臍帯血造血幹細胞の *ex vivo* 増幅が可能となった

病に対して骨髓細胞や末梢血 CD34⁺ 細胞を用いた治療、マウスストローマ細胞と共培養した造血幹細胞の移植、骨髓間葉系幹細胞を用いた骨、軟骨疾患の治療が行われるなど、再生医療は我々の予想を遥かに超えて爆発的な広がりを見せようとしている(表)。また、培養間葉系幹細胞の脊椎腔内への投与、胎児脳組織から樹立した神経幹細胞を利用した脊髄損傷や神経変性疾患患者への再生医療に向けた準備が進んでいる。このようにわが国では、再生医療が急速な広がりを見せているが、ヒト体性幹細胞を用いた臨床研究に対する指針が無かったために安全面などを含め医療現場では大きな混乱が起こっていることも明らかとなった。海外の研究状況の調査結果などを考えると、今後わが国で再生医療を健全な形で進めていくためには、倫理性、社会性、科学性、公開性、安全性に十分配慮する必要がある、それらの項目および責任体制を含む具体的な指針作りが緊急の課題となってきた状況が明らかとなった。

ヒト幹細胞を用いた臨床研究の在り方に関する指針

現在、厚生科学審議会科学技術部会「ヒト幹細胞を用いた臨床研究の在り方」に関する委員会が幹細胞を用いた臨床研究のための指針作りが進んでいる。この指針には倫理的な面だけでなく、臨床試験研究の安全性を十分に担保する内容を含む必要があると考えられ、①ドナーおよびレシピエントの人権保護と安全性の確保、②採取にあたっての説明・同意、③ドナースクリーニング、④幹細胞

の採取方法、⑤幹細胞の加工について(培養、遺伝子操作等)、⑥幹細胞の利用について(対象とする疾患の範囲、投与手技に対する評価等)、など様々な問題が検討されている。倫理的検討は再生医療を進める上で極めて重要な問題であるが、それに加えて最近では細胞を intelligent drug として位置づけ、従来の薬の生産と同じように安全性をしっかりと担保することが求められている。

従来、薬事法に基づき、安全性に対して厳密な基準のもとにできた薬の臨床治験と異なり、わが国で行われてきた再生医療は全て医師主導の臨床研究として各医療機関の倫理委員会をパスすれば良いという形で行われてきた。しかし、細胞を無菌的に処理・加工するための施設を整備することもないまま、各医療機関の倫理委員会のレベルはまちまちで、審査される項目や内容も全くバラバラに行われてきたことから、これまでのやり方でわが国において再生医療が爆発的に展開されることを危惧する声が大きくなりつつある。再生医療に用いる体性幹細胞を骨髓その他の組織から分離したり、体外で培養したり、加工したりしてから、それらの細胞をヒトへの臨床応用に用いるためには、まずは安全性と幹細胞としての機能、品質が保証されなければならない。

体外増幅造血幹細胞を用いた再生医療の例

現在、ヒト臍帯血を中心にサイトカインを用いた造血幹細胞の *ex vivo* 増幅が世界的に試みられているが、未だ成功したとは言い難い⁸⁾。McNieace ら、Kurzberg らを中

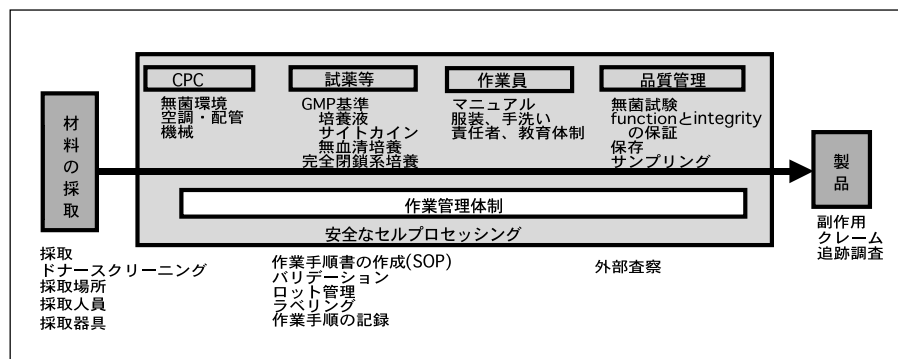


図6 再生医療において求められる GTP

心に、欧米では臍帯血中の造血幹細胞 / 造血前駆細胞を種々のサイトカインと組み合わせて体外増幅し、それを用いた移植が開始されている。現在のところ安全性は確認されたものの、明らかな臨床効果は報告されていない。我々はヒト造血幹細胞上に発現しているサイトカイン受容体を解析し、gp130, c-Kit, Flt3, Mpl が強弱はあるものの、多くの細胞で発現していることを明らかにした。さらに、これらの受容体に対応するサイトカインである可溶性 IL-6 受容体 (sIL-6R) / IL-6 複合体, SCF, FL, TPO を組み合わせた新しいヒト造血幹細胞の増幅法を開発した⁹⁾。臍帯血から分離した CD34⁺ 細胞をこの条件下で 1 週間培養することにより、造血幹細胞を約 4.2 倍増幅できることが NOD/SCID マウスを用いた定量的な測定法で明らかとなった（図 5）。我々の開発した培養法は従来報告されてきた方法に比べて格段に未分化なヒト細胞を増幅できることから、現時点ではヒト造血幹細胞の体外増幅法として最も優れていると考えられ、臨床応用に向けた準備が進んでいる。このように細胞を一旦体外に取り出し、培養したものを患者さんに戻すような再生医療を行う際には、細胞の安全性が厳しく問われる時代になってきた。そのため我々は神戸先端医療センター内に設置された CPC (cell processing center) の無菌的な環境で、無血清培養法の確立、ガス透過性バックを用いた完全閉鎖系培養法の確立、新たな炭酸ガス培養器の開発など、臨床応用開始のための準備が着々と進んでいる。

再生医療のための基盤整備

生体外で培養したり、加工した細胞を用いた臨床応用を行うためには、まずは安全性と細胞の機能、品質が保証されなければならない。最近、細胞治療の普及に伴い、米国の FDA から GTP ガイドラインが施行された。GTP とは Good Tissue Practice の略で、ヒト細胞 / 組織に由来する製品の製造工程において伝染病物質の混入を防ぐとともに、製造工程と品質管理の基準を示すことで安全かつ細胞機

能を保証するものである。我々が体外増幅した造血幹細胞を用いた臨床研究を行う場合、これらの基準に合致した方法で細胞を加工することが必要な時代となってきた。具体的には伝染物質の混入や細胞の取り違いなどを防ぐため、完全閉鎖系培養法および無血清培養法の確立、細胞操作をする部屋全体が無菌的環境である CPC の整備、細胞の処理に用いる器具や培養液、サイトカインなどの GMP 化、標準作業手順書 (SOP) の作成、厳格な品質管理体制の確立などの整備を行う必要がある（図 6）。

また、体外処理された体性幹細胞の安全性と効果を科学的に証明していくためには質の良い臨床試験のデザインの構築が必要であることは言うまでもない。

おわりに

再生医療を今後健全な形で発展させていくためには、その科学性、安全性、倫理性に十分配慮する必要がある。また、全ての情報を公開することにより社会的コンセンサスが得られるものと確信している。

文 献

- 1) Jiang Y, Jahagirdar BN, Reinhardt RL, Schwartz RE, Keene CD, Ortiz-Gonzalez XR, Reyes M, Lenvik T, Lund T, Blackstad M, Du J, Aldrich S, Lisberg A, Low WC, Largaespada DA, Verfaillie CM: Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. *Nature*, 418: 41-49, 2002.
- 2) Alison MR, Poulsom R, Jeffery R, Dhillon AP, Quaglia A, Jacob J, Novelli M, Prentice G, Williamson J, Wright NA: Hepatocytes from non-hepatic adult stem cells. *Nature*, 406: 257, 2000.
- 3) Lagasse E, Connors H, Al-Dhalimy M, Reitsma M, Dohse M, Osborne L, Wang X, Finegold M, Weissman IL, Grompe M: Purified hematopoietic stem cells can differentiate into hepatocytes in vivo. *Nat Med*, 6: 1229-1234, 2000.

- 4) Larochelle A, Vormoor J, Hanenberg H, Wang JC, Bhatia M, Lapidot T, Moritz T, Murdoch B, Xiao XL, Kato I, Williams DA, Dick JE: Identification of primitive human hematopoietic cells capable of repopulating NOD/SCID mouse bone marrow: implications for gene therapy. *Nat Med*, 2:1329-1337, 1996.
- 5) Ito M, Hiramatsu H, Kobayashi K, Suzue K, Kawahata M, Hioki K, Ueyama Y, Koyanagi Y, Sugamura K, Tsuji K, Heike T, Nakahata T: NOD/SCID/ γ_c^{null} mouse: An excellent recipient mouse model for human cells. *Blood*, 100: 3175-3182, 2002.
- 6) Hiramatsu H, Nishikomori R, Heike T, Ito M, Kobayashi K, Katamura K, Nakahata T: Complete reconstitution of human lymphocytes from cord blood CD34⁺ cells using NOD/SCID/ γ_c^{null} mice model. *Blood*, 102: 873-880, 2003.
- 7) Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, Waknitz MA, Swiergiel JJ, Marshall VS, Jones JM: Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science*, 282: 1145-1147, 1998.
- 8) Nakahata T: Ex vivo expansion of human hematopoietic stem cells. *Int J Hematol*, 73: 6-13, 2001.
- 9) Ueda T, Tsuji K, Yoshino H, Ebihara Y, Yagasaki H, Hisakawa H, Mitsui T, Manabe A, Tanaka R, Kobayashi K, Ito M, Yasukawa K, Nakahata T: Ex vivo expansion of human NOD/SCID-repopulating cells by stem cell factor, Flk2/Flt3 ligand, thrombopoietin interleukin-6 and soluble interleukin-6 receptor. *J Clin Invest*, 105: 1013-1021, 2000.