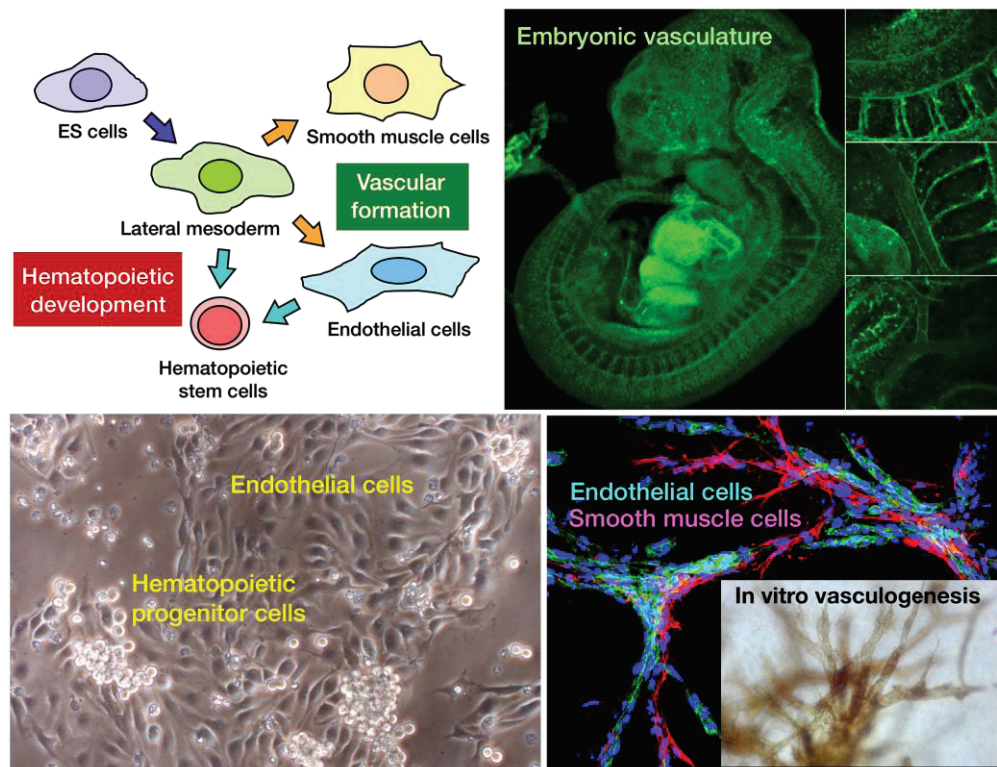


# 組織幹細胞分野

## Department of Cell Differentiation

造血・血管システムが構築される仕組みを分子・細胞学的に解明することを目標として、胚性幹細胞の試験管内分化系を用い、造血幹細胞の自己複製能と多分化能が成立する機構、および血管系が形態的に組織化される機構について解析している。造血幹細胞の発生メカニズムを解明するために、胚性幹細胞から造血幹細胞を分化誘導する培養系の確立を目指している。血管形成に関わる増殖因子と転写因子の細胞生物学的作用を理解することにより、血管形成過程を制御する分子機構の解明を目指している。

Our goal is to unravel molecular and cellular mechanisms underlying development of the hematopoietic and vascular systems. By using an *in vitro* differentiation system of murine embryonic stem cells, we are trying to identify the genetic program by which the self-renewal capacity as well as multiple potentials of the hematopoietic stem cell is established. Our system also makes it possible to elucidate cell biological functions of angiogenic growth factors and transcription factors, providing a clue to how the morphogenic activity of endothelial cells is regulated by angiogenic stimuli to form a hierarchically organized vascular architecture.



**Upper left:** Schematic diagram of *in vitro* differentiation of ES cells into the hematopoietic and vascular lineages. **Upper right:** A mouse embryo (10.5 dpc) stained with isolectin B4 to reveal blood vessels. **Lower left:** Hematopoietic and endothelial differentiation of lateral mesoderm cells derived from murine ES cells in culture. **Lower right:** Immunostaining of VE-cadherin and  $\alpha$ -smooth muscle actin in the blood vessel-like structure generated from murine ES cells in 3-D culture.

## 構成員 Staff (2012.3)

名前	職名	Name and Position
小川 峰太郎	教授	Minetaro Ogawa, Professor
坂本 比呂志	助教	Hiroshi Sakamoto, Assistant Professor
田村 潔美	助教	Kiyomi Tamura, Assistant Professor
廣田 冴香	大学院生	Saeka Hirota, Graduate Student
江上 稔子	技術補佐員	Toshiko Egami, Technical Assistant
三満田 純子	事務補佐員	Junko Mimanda, Secretary Assistant

## 元在籍者 Staff in the past (2008.4～2012.3)

名前	Name	在籍期間	在籍時職名	転出先
ゴパラジュ スラバン	Sravan Goparaju	2009. 5. 1 - 2009. 9. 30	COE リサーチ アソシエイト	京都大学
大津 直樹	Naoki Ohtsu	2010. 4. 1 - 2012. 1. 9	COE リサーチ アソシエイト	北海道大学
黄 昕	Xin Huang	2005. 4. 1 - 2009. 3. 31	大学院生	
朴 勝煥	Seung-Hwan Park	2007. 4. 1 - 2010. 3. 31	大学院生	全南大学校（韓国）
角田 智実	Satomi Tsunoda	2010. 4. 1 - 2010. 12.31	技術補佐員	
尾曲 かおり	Kaori Omagari	2008. 11. 1 -2010. 1. 31	事務補佐員	

## 1. 造血幹細胞の発生メカニズム

### 1-1. 胎生期血液前駆細胞の自己複製

成体型造血を生涯にわたって支える造血幹細胞は、胎仔肝造血が起きる直前に背側大動脈近傍の AGM 領域で発生し、胎仔肝を経て骨髄に移行することが知られている。

骨髄から単離した造血幹細胞を試験管内で未分化性を維持したまま効率的に増殖させることは困難とされている。これは、基本的に造血幹細胞が骨髄ニッチの微小環境の中で細胞周期休止期に維持されていることを反映する。トロンボポエチン (TPO) は、骨髄ニッチにおける造血幹細胞の維持に必要であることが知られている。

我々は、胎仔肝造血期以前のマウス胚から分離した血液前駆細胞を TPO と SCF (c-Kit リガンド) 存在下に無血清培養を行うと、多能性を維持したまま数倍から十数倍に増幅できることを見いだした (Huang et al., 2009)。この増殖能力は胎仔肝の血液前駆細胞では減弱しており、成体骨髄の血液前駆細胞では全く認められないことから、TPO と SCF が胎生前期の血液前駆細胞に対して特異的に増殖シグナルとして機能することを示唆している。この結果は、発生したばかりの初期の造血幹細胞を *in vitro* で増幅できる可能性を示しており、ES 細胞から造血幹細胞を分化誘導するにあたって重要な知見である。

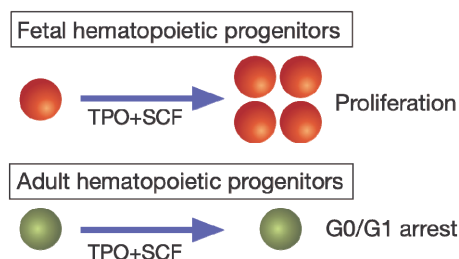


図 1. 血液前駆細胞に対する TPO と SCF の作用

ES 細胞や iPS 細胞から *in vitro* で造血幹細胞を分化誘導することができれば、骨髄細胞移植に代わる骨髄造血再建の新しい方法として臨床的有用性が高いのはもちろんのこと、造血幹細胞の発生メカニズムを解明するための優れた実験系になる。これまで、HoxB4 の強制発現によって ES 細胞から造血幹細胞が得られることが

知られているが、遺伝子導入によらない生理的な条件下で造血幹細胞を再現性良く分化誘導することには誰も成功していない。我々は、造血幹細胞の発生経路を *in vitro* で正しく再現させ、誘導された極めて少数の造血幹細胞を検出可能な数まで増幅させることにより、ES 細胞から再現性よく造血幹細胞を分化誘導する培養法の確立を目指している。側板中胚葉細胞から血管内皮細胞を経て造血幹細胞の発生にいたる無血清単層培養法の条件検討を行っている。

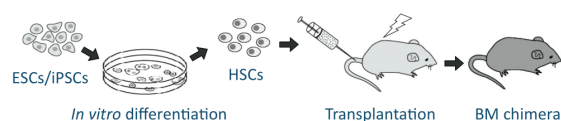


図 2. ES 細胞から造血幹細胞の分化誘導

### 1-2. 転写因子 c-Myb の発現と血液細胞分化

転写因子 c-Myb は、造血幹細胞の発生や自己複製だけでなく各血球系列の分化にも影響を及ぼすが、その具体的な役割は解明されていない。血球系列の分化において c-Myb タンパク発現のタイミングとその量が厳密に制御されなければならないことがわかっているが、これまで c-Myb タンパクの発現量を生細胞でモニターしながら分化を追跡する研究は報告されていない。そこで、内在性の c-Myb の C 末端にリンカーペプチドを介して EGFP を連結させるノックインマウスを作製した (Sakamoto, 未発表)。このマウスを用いれば、骨髄やリンパ器官での血球分化過程における c-Myb タンパクの発現量変化を生きたまま解析することができ、FACS と組み合わせで発現量に基づく細胞の分画が可能である。成体骨髄の造血幹細胞、B リンパ球系列および赤血球系列の一部、胸腺細胞の一部などに c-Myb-EGFP の発現を認めており、血液細胞系列の分化過程において c-Myb タンパクの発現量が変化する段階を厳密に同定し、その機能を解析することが可能になった。

この c-Myb-EGFP ノックインマウスの骨髄造血幹細胞の解析から、c-Myb の発現量が低い造血幹細胞は骨髄造血再建能が著しく高いことを見いだした。これは、従来は標識-チェイス実

験に依存していた休止期造血幹細胞と増殖期造血幹細胞の識別を、c-Myb タンパクの発現量を基準にして予見的行えることを示唆する画期的な発見であり、造血幹細胞の細胞周期調節機構を解析する極めて有用な実験モデルを提供する (Sakamoto, 未発表)。

## 2. 血管形成の細胞生物学的メカニズム

### 2-1. 中胚葉から血管系細胞への分化決定

ES 細胞から側板中胚葉細胞を経て血管内皮細胞と血管平滑筋細胞を分化誘導する培養系を用いて、*Mef2c* エンハンサー・エレメントが血管前駆細胞から血管内皮細胞にいたる分化過程で遺伝子発現誘導活性を持つことを見いだした (Tsuji-Tamura et al., 2011)。*Mef2c* エンハンサー・エレメントは、血管内皮細胞と血管平滑筋細胞への 2 分化能を持つ中胚葉性の血管前駆細胞でまず活性化され、分化が進行すると血管内皮細胞特異的に活性が維持され、血管平滑筋細胞では活性が消失する。このエレメントは ETS モチーフと FOX モチーフを持つ短いものであるため、血管前駆細胞・血管内皮細胞での遺伝子発現誘導ツールとしてのみならず、血管前駆細胞から血管内皮細胞系列と血管平滑筋細胞系列が分岐するメカニズムを解明するためのツールとしても重要である。

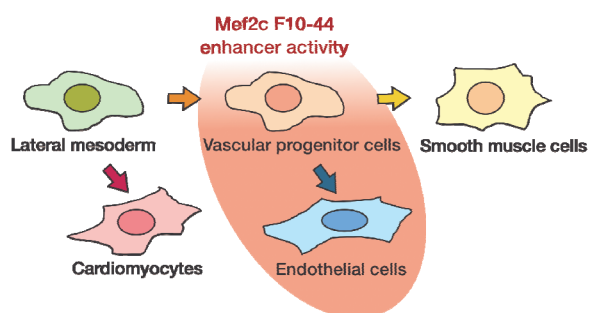


図 3. 血管前駆細胞分化と *Mef2c* エンハンサー

### 2-2. 血管新生における *Foxo* 転写因子の役割

血管の発生は、血管芽細胞から分化した血管内皮細胞が原始的な血管叢を形成する脈管形成過程、既存の血管から新たな血管が出芽して階層性のある血管網へ発達する血管新生過程、血管平滑筋細胞が付随する血管成熟過程等の段階を経て進行する。フォークヘッド型転写因子で

ある *Foxo* ファミリーは、細胞周期抑制、アポトーシス誘導、酸化ストレス抵抗、糖新生などに重要な役割を持つことが知られているが、そのメンバーである *Foxo1* のノックアウトマウスが血管新生過程の障害により胎生致死となることを以前に報告した。

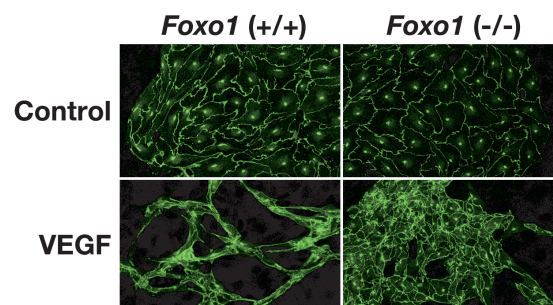


図 4. VEGF による血管内皮細胞の形態制御

*Foxo1*(-/-) ES 細胞から分化誘導した血管内皮細胞を用いて細胞レベルでの *Foxo1* の機能を解析した結果、*Foxo1*(-/-)血管内皮細胞は VEGF や TGF- $\beta$  の存在下で本来示すべき伸長反応を示さず異常な形態を呈することを見いだした (Matsukawa et al., 2009)。これは、血管新生における血管内皮細胞の形態制御に関して *Foxo1* が未知の役割を持つことを示唆している。血管内皮細胞の形態はその分化段階に応じて異なる機構により調節され、早い分化段階の血管内皮細胞では *Foxo3* は *Foxo1* を代替することができないが、遅い分化段階では *Foxo1* と *Foxo3* は同じ機能を持ち得ることを明らかにした。

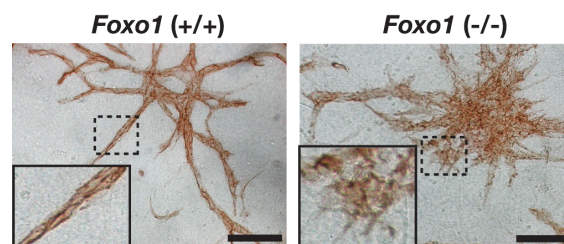


図 5. 血管前駆細胞による血管様構造の形成

野生型 ES 細胞由来の血管前駆細胞を VEGF 存在下に 3 次元培養すると、伸長した血管内皮細胞による血管様構造が形成されるのに対して、*Foxo1*(-/-) ES 細胞由来血管前駆細胞の 3 次元培養では、血管内皮細胞は伸長せず血管様構造が正常に形成されないことを見いだした。これは



*Foxo1*(-/-)マウス胎仔の異常な血管形態を模倣するものである。*Foxo1*(-/-)血管内皮細胞の細胞骨格を解析したところ、微小管ネットワークの過剰な安定化が示唆された (Park et al., 2009)。

### 2-3. 血管新生を制御する *Foxo1* 標的遺伝子

血管内皮細胞の形態調節に関与する *Foxo1* の標的遺伝子を同定するため、野生型および *Foxo1*(-/-) ES 細胞から VEGF 存在下もしくは非存在下で分化誘導した血管内皮細胞における遺伝子発現を DNA マイクロアレイによる網羅的解析で比較した。その結果、VEGF で刺激された野生型血管内皮細胞だけで増加した遺伝子を 21 個、減少した遺伝子を 54 個同定した。候補遺伝子の中から、心血管系細胞の機能調節における関与が示唆されているものを選択し、*Foxo1*(-/-) ES 細胞に強制発現させて、血管内皮細胞の伸長機能が回復するかどうかを検討した。これまで解析した 17 種類の候補遺伝子のうち、ある種のプロテインホスファターゼ結合因子の遺伝子を導入した *Foxo1* 欠損細胞で伸長機能の回復が認められた (Tsuji-Tamura, 未発表)。この因子は、細胞運動や形態変化の制御に関与するミオシン軽鎖ホスファターゼを調節することが報告されており興味深い。

### 2-4. 血管内皮・平滑筋細胞の相互作用

*Foxo1* は血管内皮細胞の形態制御による血管新生過程の調節だけでなく、血管平滑筋細胞の付随による血管成熟過程にも関与する可能性を見いだした。野生型 ES 細胞由来血管前駆細胞の 3 次元培養で形成された血管様構造は血管平滑筋細胞によって覆われているが、*Foxo1*(-/-) ES 細胞由来血管前駆細胞から形成された血管様構造では血管平滑筋細胞による被覆が観察されなかった。*Foxo1*(-/-)血管前駆細胞も血管平滑筋細胞に分化する能力は有しており、その形態にも異常は認められないが、血管内皮細胞に付随する過程が阻害されていた (Park et al., 2009)。VE-cadherin プロモーターを用いて血管内皮細胞特異的に *Foxo1* の発現を回復させると、血管内皮細胞の伸長反応だけでなく血管内皮細胞と血管平滑筋細胞の会合も回復することから、血管内皮細胞での *Foxo1* の発現が血管内皮・平滑

筋細胞相互作用に必要であることが示唆された (Tsuji-Tamura, 未発表)。

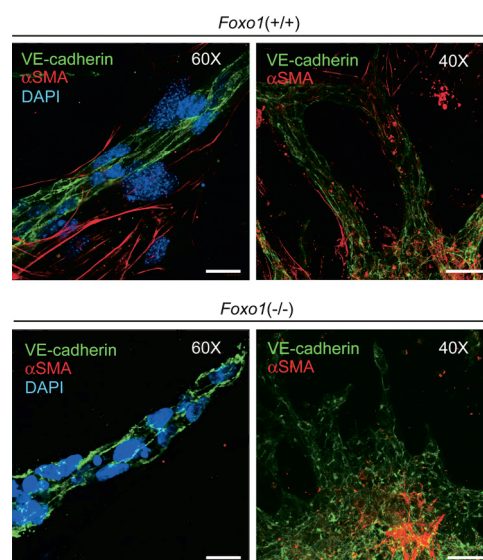


図 6. 血管内皮細胞と血管平滑筋細胞の会合

## I. Development of the hematopoietic stem cell

### 1. Self-renewal capacity of fetal hematopoietic progenitor cells

Hematopoietic stem cells (HSCs) are generated from endothelium and/or surrounding mesenchymal tissues of the dorsal aorta of mid-gestational mouse embryos, and then migrate to the fetal liver and eventually to the bone marrow. Once HSCs settle in the bone marrow, most of them become quiescent. HSCs reside in the hematopoietic niche where key factors regulating the cell cycle of HSCs are expressed. Thrombopoietin (TPO) derived from osteoblasts in the hematopoietic niche is required for quiescence of HSCs.

In contrast to the role of TPO in the bone marrow niche, TPO promotes the generation and expansion of HSCs in the fetal stage. We showed that multi-potent hematopoietic progenitors that were isolated from the yolk sac and the embryo proper of pre-liver stage mouse embryos proliferated without losing the multiple potentials in a serum-free culture condition containing TPO and stem cell factor (SCF). In contrast, hematopoietic progenitors isolated from adult bone marrow could not be propagated in the same condition, suggesting that fetal hematopoietic progenitors differentially respond to TPO+SCF signalling as compared to adult progenitors, i.e. proliferation rather than cell cycle arrest (Huang et al., 2009).

*In vitro* derivation of HSCs from ES cells and

iPS cells is of particular importance in providing not only a stable therapeutic HSC source alternative to the bone marrow transplantation, but also an ideal experimental model to investigate the molecular mechanism underlying HSC development. Despite the fact that almost all kinds of blood cells are able to be induced in the cultures of ES cells, there has not been established any physiological culture method to induce ES cell differentiation into a bona fide HSC population that is capable of long-term bone marrow reconstitution of irradiated adult mice. One of the problems is the fact that most of the attempts to induce HSCs have adopted the embryoid body formation of ES cells which mostly mimics yolk sac hematopoiesis, whereas HSCs are known to originate from the hemogenic endothelium of the dorsal aorta. We have established a culture system in which mouse ES cells differentiate into hemogenic endothelial cells without forming embryoid bodies, which might be the most promising cell source for induction of HSCs from ES cells. We are now trying to establish an *in vitro* culture system intended for the derivation of HSCs from ES cell-derived hemogenic endothelial cells. The culture system may utilize several cytokines and extracellular matrices, but should not be dependent upon forced expression of a transgene such as HoxB4 which may obscure the normal physiological processes of HSC development.

## 2. Function of c-Myb in hematopoietic stem cells

c-Myb is a transcription factor essential for the proliferation and differentiation of hematopoietic progenitor cells. Recently, studies by using *c-myb* knockdown or conditional knockout mice showed that c-Myb regulates function of HSCs. In order to investigate the role of c-Myb in HSCs, we established a c-Myb-EGFP reporter mouse line in which a linker-EGFP reporter was inserted 5' next to the stop codon of the *c-myb* gene so that c-Myb-EGFP chimeric protein is expressed from the endogenous *c-myb* locus. Homozygous adult c-Myb-EGFP mice exhibited normal hematopoiesis and showed c-Myb-EGFP expression in progenitors of several hematopoietic lineages. Most of the long-term HSCs (90-95% of the CD34<sup>-</sup> c-Kit<sup>+</sup> Sca-1<sup>+</sup> Lin<sup>-</sup> cell population in bone marrow) also expressed c-Myb-EGFP. In order to compare the hematopoietic reconstituting activity of HSCs that express different levels of c-Myb protein, the HSC population was subdivided into c-Myb-EGFP<sup>dull</sup> and c-Myb-EGFP<sup>high</sup> fractions and transplanted into irradiated mice. We found that c-Myb-EGFP<sup>dull</sup> cells showed remarkably higher repopulating

activity than c-Myb-EGFP<sup>high</sup> cells (Sakamoto, unpublished). These results indicate that the expression level of c-Myb-EGFP can be utilized as a prospective indicator of self-renewal activity of living HSCs. The dormant HSC population is suggested to express lower level of c-Myb-EGFP than the homeostatic HSC population which divides more rapidly.

## II. Development of the vascular system

### 1. Endothelial commitment of mesodermal cells

We have demonstrated that murine ES cells differentiate into Flk-1-expressing lateral mesodermal cells when cultured on a layer of OP9 stromal cell line. The Flk-1<sup>+</sup> mesodermal cells, which can be purified by FACS and further cultured on OP9 cell layer, continue to differentiate into several cell lineages including vascular endothelial cells that express VE-cadherin. While the lineage-specific markers such as Flk-1 and VE-cadherin can be detected by using specific antibodies thereby providing means to isolate desired cell populations, expression of reporter genes under the control of a lineage-specific promoter/ enhancer is another useful method especially for real-time monitoring of the process of cell differentiation.

A 44bp element (F10-44) of an endothelial-specific transcriptional enhancer of the *Mef2c* gene was shown to direct expression of *lacZ* reporter specifically to the developing vascular endothelium of the mouse embryo. The element consists of a FOX:ETS motif that is present in many known endothelial-specific enhancers. As F10-44 also directed reporter expression in the blood islands of the yolk sac, we reasoned it might be active from early endothelial precursor stage. Indeed, by introducing EGFP reporter gene that was connected to F10-44 enhancer element into ES cells, we demonstrated that the enhancer element is first activated in a subset of lateral mesoderm, of which differentiation potential becomes restricted to the endothelial and smooth muscle cell lineages. As smooth muscle cells derived from Flk-1<sup>+</sup> EGFP<sup>+</sup> cells did not retain the expression of EGFP, the F10-44 activity persists specifically in the endothelial cell lineage. Taking advantage of high visibility of EGFP fluorescence in living cells, the F10-44 enhancer element provides means of tracking differentiation processes from the development of endothelial precursor cells to the formation of endothelial sheet-like structures in culture (Tsuji-Tamura et al., 2011).

## 2. Regulation of endothelial cell morphology by Foxo transcription factor during angiogenesis

Mouse embryos deficient in the *Foxo1* gene die around E11 due to defects in the branchial arches and remarkably impaired vascular development. Foxo1 is a member of the Foxo subfamily of forkhead box transcription factors that are considered as key regulators of energy metabolism and lifespan, yet the role of Foxo1 in vascular development is not understood. We have been analyzing cellular phenotypes of endothelial cell colonies derived *in vitro* from wild type and *Foxo1*(-/-) ES cells. In the absence of exogenous factors excepting those secreted by OP9 cells, endothelial cells of both genotypes formed monostratal colonies consisting of rough-edged flat cells. While addition of VEGF or TGF- $\beta$  in the culture induced elongation and overlapping of endothelial cells in wild type colonies, the same treatment resulted in an abnormal morphological response of *Foxo1*(-/-) endothelial cells, which is characterized by a lack of cell elongation (Matsukawa et al., 2009). By using a 3-D culture of ES cell-derived vascular progenitor cells, we demonstrated that *Foxo1*(-/-) endothelial cells accumulated speckles of cytoplasmic F-actin and thick bundles of microtubules, and formed only short sprouts instead of a long capillary-like structure which was observed in the culture of wild type cells (Park et al., 2009). Thus, the failure of proper morphological response of endothelial cells to angiogenic stimuli likely accounts for the compromised angiogenesis in the *Foxo1*(-/-) embryos, although underlying molecular mechanism is still elusive.

Identification of Foxo1 target genes that are responsible for the morphological regulation is of critical importance. We performed DNA microarray analysis to compare gene expression profiles of the endothelial cells derived from wild-type and *Foxo1*(-/-) ES cells cultured in the presence or absence of VEGF. Among a total of 25,392 genes, we identified 21 or 54 genes of which expression was elevated or decreased, respectively, specifically in wild type endothelial cells stimulated with VEGF. *In vitro* functional screening of the candidate genes is currently underway. We identified a gene that encodes a regulatory subunit of a protein phosphatase, of which forced expression is able to rescue the morphological response of *Foxo1*(-/-) endothelial cells (Tsuji-Tamura, unpublished). Once a target gene of Foxo1 that is responsible for the regulation of endothelial cell morphology is identified, expression of the candidate gene should

be genetically manipulated in the *Foxo1*(-/-) embryos to examine whether or not it restores the abnormal angiogenesis caused by *Foxo1*-deficiency, which will finally testify to the importance of *Foxo1*-dependent morphological regulation of endothelial cells in vascular development.

## 3. Association between endothelial cells and smooth muscle cells

Correct association and interaction between endothelial cells and smooth muscle cells is known to be essential for vascular maturation. The capillary-like structure generated *in vitro* from wild type ES cell-derived vascular progenitor cells is thoroughly covered by vascular smooth muscle cells. In contrast, no such coverage of smooth muscle cells was observed along the short endothelial cell bundles generated from *Foxo1*(-/-) vascular progenitor cells (Park et al., 2009). Yet, smooth muscle cells were abundantly detected in the culture of *Foxo1*(-/-) vascular progenitor cells, indicating that differentiation of smooth muscle cells was not affected by the absence of Foxo1. These results suggested that *Foxo1* is essential for either the migration of smooth muscle cells or the physical interaction between smooth muscle cells and endothelial cells. However, functional Foxo1 appears to be required heteronomously in endothelial cells, as endothelial cell-specific rescue of *Foxo1* expression restored the endothelial-smooth muscle cell interaction as well as the endothelial cell elongation (Tsuji-Tamura, unpublished). We hypothesize from the above observations that Foxo1 is involved in the recruitment of mural cells to nascent blood vessels, thereby regulating not only angiogenesis but also the process of vascular maturation.

## 論文目録 Publications

1. Huang, X., Sakamoto, H., and Ogawa, M. Thrombopoietin controls proliferation of embryonic multipotent hematopoietic progenitors. *Genes Cells* 14, 851-860, 2009.
2. Matsukawa, M., Sakamoto, H., Kawasuji, M., Furuyama, T., and Ogawa, M. Different roles of Foxo1 and Foxo3 in the control of endothelial cell morphology. *Genes Cells* 14, 1167-1181, 2009.
3. Park, S-H., Sakamoto, H., Tsuji-Tamura, K., Furuyama, T., and Ogawa, M. Foxo1 is essential for *in vitro* vascular formation from embryonic stem cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 390, 861-866, 2009.
4. Kondo, N., Ogawa, M., Wada, H., and Nishikawa, S-H. Thrombin induces rapid disassembly of claudin-5 from the tight junction of endothelial cells. *Exp. Cell Res.* 315, 2879-2887, 2009.
5. Sakamoto, H., Tsuji-Tamura, K., and Ogawa, M. Hematopoiesis from pluripotent stem cell lines (Review). *Int. J. Hematol.* 91, 384-391, 2010.
6. Kulkeaw, K., Horio, Y., Mizuochi, C., Ogawa, M., and Sugiyama, D. Variation in hematopoietic potential of induced pluripotent stem cell lines. *Stem Cell Rev. Rep.* 6, 381-389, 2010.
7. Tsuji-Tamura, K., Sakamoto, H., and Ogawa, M. ES cell differentiation as a model to study cell biological regulation of vascular development. *'Embryonic Stem Cells: The Hormonal Regulation of Pluripotency and Embryogenesis'* ed. Atwood, C., ISBN 978-953-307-196-1, INTECH, Vienna, Austria, 2011, pp581-606.
8. Ishida, M., El-Mounayri, O., Kattman, S., Zandstra, P., Sakamoto, H., Ogawa, M., Keller, G., and Husain, M. Regulated expression and role of c-Myb in the cardiovascular-directed differentiation of mouse embryonic stem cells. *Circ. Res.* 110, 253-264, 2012.

## 学会発表目録 Meeting Presentations

1. Ogawa, M. Role of FoxO transcription factors in angiogenesis. Joint International Symposium on Cell Fate Regulation: Development, Degeneration and Regeneration in the Central Nervous System Organized by Department of Ophthalmology, University of Rochester and Global Center-of-Excellence Cell Fate Regulation Research and Education Unit, Kumamoto University. 2008.7.16, Rochester, NY, USA.
2. Ogawa, M. Cell biological regulation of angiogenesis. The 1st Joint Symposium between KAIST and Kumamoto University. 2008.9.9, Daejeon, South Korea.
3. Ogawa, M. Origin and expansion of definitive hematopoietic precursor cells in early mouse embryogenesis. Suez Canal University - Kumamoto University Global COE Joint Symposium on "Cell Fate Regulation Research and Education: From Molecular Basis to Clinical Application" 2008.11.19, Ismailia, Egypt.
4. Park, S-H., Sakamoto, H., Tsuji-Tamura, K., Furuyama, T., Ogawa, M. Foxo1 is essential for *in vitro* vascular formation from embryonic stem cells. 43<sup>rd</sup> Annual Meeting for the Japanese Society of Developmental Biologists Jointly Sponsored by the Asia-Pacific Developmental Biology Network, 2010.6.21, Kyoto.



5. 小川 峰太郎. Foxo 転写因子による血管内皮細胞の形態制御. 第 29 回日本炎症・再生医学会, 2008.7.9, 東京.
6. 坂本 比呂志, 松川 舞, 郭仁 勇, 朴 勝煥, 小川 峰太郎. Notch シグナルの下流因子による ES 細胞由来内皮細胞の反応. 第 31 回日本分子生物学会年会, 2008.12.9, 神戸.
7. 小川 峰太郎. ES 細胞の試験管内分化による造血発生と血管新生について. 第 4 回日本プロテインホスファターゼ研究会, 2009.11.13, 熊本.
8. 朴 勝煥, 坂本 比呂志, 小川 峰太郎. Role of Foxo1 in the regulation of the morphological response of endothelial cells studied by using a three-dimensional culture system. 第 32 回日本分子生物学会年会, 2009.12.10, 横浜.
9. 田村-辻 潔美, 坂本 比呂志, 朴 勝煥, 小川 峰太郎. 転写因子 Foxo1 は血管内皮細胞における細胞形態制御に関与する. 第 31 回日本炎症・再生医学会, 2010.8.5, 東京.
10. 田村-辻 潔美, 坂本 比呂志, 小川 峰太郎. 血管特異的エンハンサー配列を用いた血管前駆細胞系譜の解析. 第 32 回日本炎症・再生医学会, 2011.6.3, 京都.
11. 大津 直樹, 小川 峰太郎. HIPK family genes function in a hematopoietic cell differentiation stage-specific manner. 第 34 回日本分子生物学会年会, 2011.12.13, 横浜.