

幹細胞部門

Division of Stem Cell Research

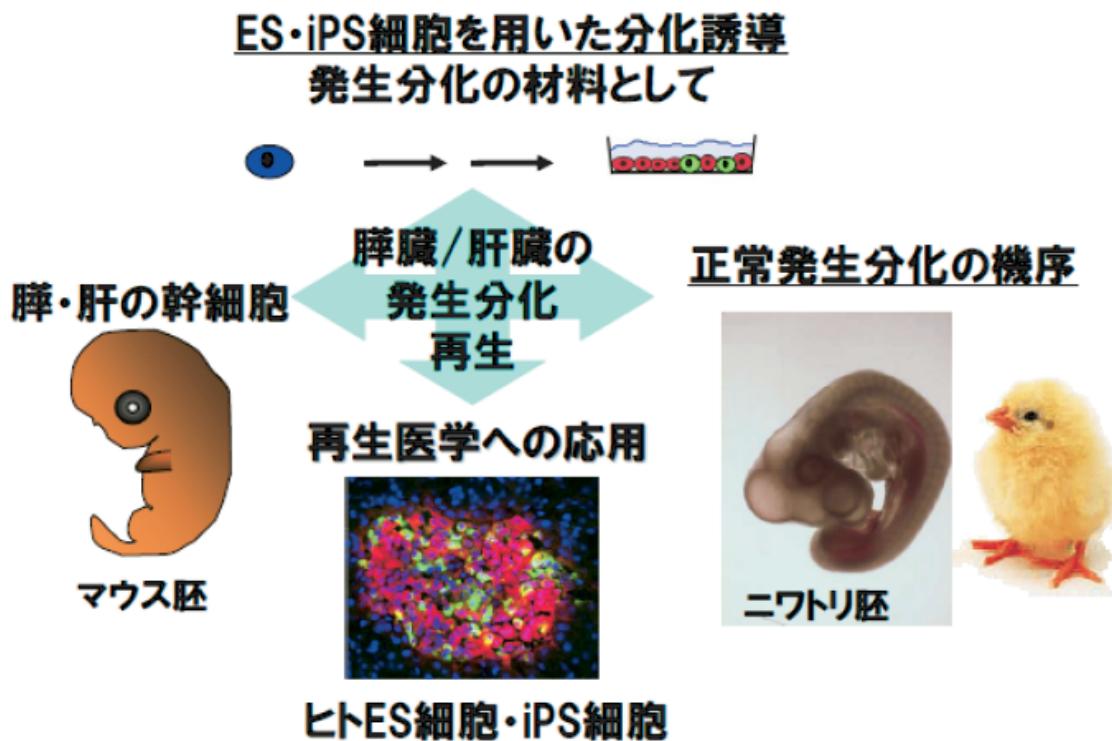
多能性幹細胞分野

Department of Stem Cell Biology

- A. 幹細胞の機能に注目し、消化器官、特に膵臓と肝臓の発生と再生に関する基礎研究
- 1) 幹細胞（ES 細胞および iPS 細胞）から消化器官（膵臓・肝臓）の分化誘導方法の開発
 - 2) 消化器官の正常発生分化の機序の解明
 - 3) ヒト ES 細胞・iPS 細胞を用いた、再生医学への応用を目指す研究
 - 4) 膵・肝の幹細胞の単離・解析
- B. 概日周期と睡眠の制御機構の分子生物学的解析

The main goal of the lab is to understand the development of pancreas. We use mouse, chick and ES cell models to search for molecules that function in early events of pancreatic development. For this purpose, we currently devote on the following projects

1. Identification of molecular mechanism that regulate pancreatic and hepatic development.
2. Establishment of *in vitro* differentiation procedures to pancreas.
3. Studies on the biology of pancreas stem cells.



構成員 Staff (2012.3)

名前	職名	Name and Position
久米 昭苑	教授	Shoen Kume, Professor
久米 和彦	准教授	Kazuhiko Kume, Associate Professor
白木 伸明	助教	Nobuaki Shiraki, Assistant Professor
坂野 大介	研究員	Daisuke Sakano, Research Fellow
富田 淳	研究員	Jun Tomita, Research Fellow
梅田 香穂子	研究員	Kahoko Umeda, Research Fellow
三木 梨可	研究員	Rika Miki, Research Fellow
豊島 秀夫	研究員	Hideo Toyoshima, Research Fellow
Sultana Nigar	技術補佐員	Sultana Nigar , Technical Assistant
三好 明子	技術補佐員	Akiko Miyoshi , Technical Assistant
福田 恵	技術補佐員	Megumi Fukuda , Technical Assistant
當瀬 裕加里	技術補佐員	Yukari Touse , Technical Assistant
王 宏航	技術補佐員	Oh Koukou , Technical Assistant
上野 太郎	大学院生	Taro Ueno, Graduate Student
高濱 和弘	大学院生	Kazuhiro Takahama, Graduate Student
山添 太士	大学院生	Taiji Yamazoe, Graduate Student
フセイン MD. シャージャラール	大学院生	Hussain MD.Shahjalal, Graduate Student
木川 和英	大学院生	Kazuhide Kikawa, Graduate Student
大垣 総一郎	大学院生	Soichiro Ogaki, Graduate Student
片岡 正光	大学院生	Masateru Kataoka, Graduate Student
田山 慎二	大学院生	Shinji Tayama, Graduate Student
名倉 岳志	大学院生	Takeshi Nagura, Graduate Student
川幡 見奈子	学部生	Minako Kawabata, Undergraduate
原 直也	学部生	Naoya Hara, Undergraduate
師岡 茉由	学部生	Mayu Morooka, Undergraduate
橋本 梨菜	学部生	Rina Hashimoto, Undergraduate
津山 友徳	学部生	Tomonori Tsuyama, Undergraduate
大森 久嘉	学部生	Hisayoshi Omori, Undergraduate
白濱 理絵	学部生	Rie Shirahama, Undergraduate
桃田 崇裕	学部生	Takahiro Momota, Undergraduate
岡田 健太朗	学部生	Kentaro Okata, Undergraduate
モナ イブラヒム	短期留学生	Mona Ibrahim, Visiting Student

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
沼田（菱刈）洋輔	Yosuke Numata	2002.9 -2004.3 2004.4 -2006.3	学部生 大学院生	新日本科学
山崎 昌子	Masako Yamazaki	2002.4 -2008.3	研究員	理研
濱治 有希	Aki Hamazi	2002.9 -2005.6	技術補佐員	熊本大学
後藤 秀生	Hideo Goto	2003.4 -2007.3	大学院生	熊本大学
吉田 哲	Tetsu Yoshida	2003.10-2008.3	研究員	慶應大学
勝本 恵一	Keiichi Katsumoto	2004.4 -2010.5	研究員	留学
樋口 裕一郎	Yuichiro Higuchi	2004.4 -2010.3	大学院生	実験動物中央研究所
永目 尚子	Shoko Ngame	2005.11-2007.3	技術補佐員	熊本大学
網谷 佳代	Kayo Amitani	2005.7 -2011.5	技術補佐員	必由館高校
安川 貴規	Takanori Yasukawa	2006.4 -2007.3	大学院生	日本メジフィジックス
松尾 顕	Akira Matsuo	2009.7 -2010.9	大学院生	Duke 大学
松浦 久美	Kumi Matsuura	2006.4 -2007.3 2007.4 -2008.3	大学院生 技術補佐員	熊本大学
原田 聖子	Seiko Harada	2007.4 -2009.3	大学院生	慶應大学医学部
村田 和也	Kazuya Murata	2007.4 -2009.3	大学院生	信州大学病院
時枝 久美子	Kumiko Tokieda	2008.4 -2010.3	大学院生	三菱化成メディエンス
山根 恵太郎	Keitaro Yamane	2008.4 -2010.3	大学院生	熊本大学
広瀬 巧樹	Kouki Hirose	2008.4 -2010.3	大学院生	南部病院（宮崎市）
光吉 まどか	Madoka Mitsuyoshi	2008.4 -2010.3	大学院生	大阪医科大学病院
坂本 枝里菜	Erina Sakamoto	2008.4 -2010.3	大学院生	メディカルシャトー（北海道）
原田 瞳子	Akiko Harada	2008.8-2011.6	技術補佐員	
河室 友希	Yuki Kawamuro	2009.4 -2011.3	大学院生	総合メディカル（株）
岸川 陽子	Youko Kishikawa	2009.4 -2011.3	大学院生	国立病院機構長崎医療センター
川原 勇成	Yusei Kawahara	2009.5-2009.10	技術補佐員	熊本大学
モハメド アーメド	Ahmed Mohamed	2009.11-2010.2	研究員	帰国
アブドラ ハシシ	Abdullah Hashish	2011.1-2011.3	研究員	帰国
岩下 秀文	Hidehumi Iwashita	2010.7-2011.6	研究員	同仁化学



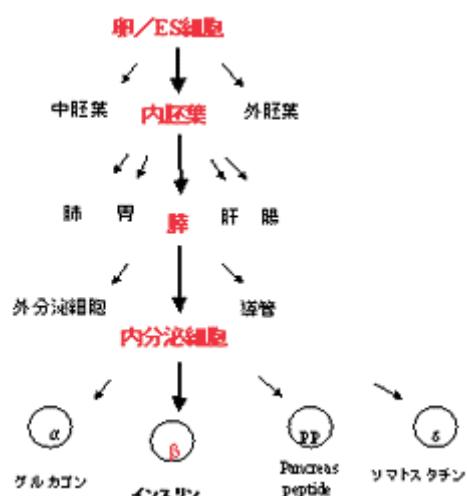
糸和彦 上野 富田 岡田 大森 木川 名倉 山添 津山 坂野
(准教授)

片岡 大垣 Shahjalal 田山 白木 橋本 川幡 福田
(助教)

師岡 三好 三木 糸昭苑 Ibrahim 當瀬
(教授)

研究概略 Projects

図1には、1つの卵（またはES細胞）からスタートし、膵臓β細胞までに至る発生分化の細胞系譜の模式図を示す。内胚葉の成立過程、領域化する前後の遺伝子発現変化、膵前駆細胞の起源の追跡、膵の発生分化に関わる誘導シグナルの本体などについて正常胚発生・ES細胞を用いた研究の両方からのアプローチを行っている。

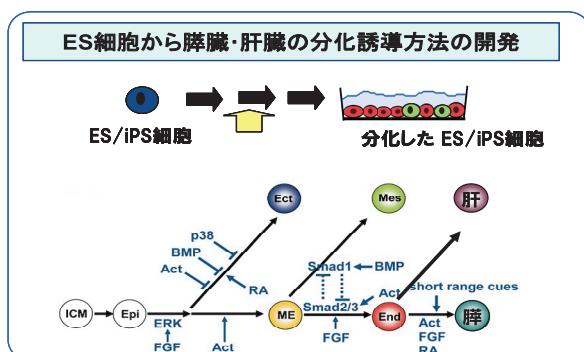


【図1】

ES細胞を用いた研究では、図1に示すように、正常膵臓発生分化の各段階を *In vitro* での培養系を用いて再現する条件を検討している。ES細胞からインスリンを分泌する膵臓β細胞に特異的分化誘導することを目指す。そして、試験管内で初期発生のプロセスをES細胞が辿ることで、膵臓への分化誘導を試験管内で再現できると考えられる。

これまでの研究成果は以下が挙げられる。

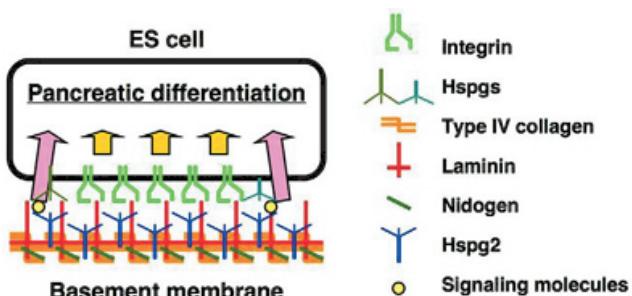
1. ES細胞から膵前駆細胞への分化誘導法開発
【図2】



ES細胞から内胚葉を経由し、試験管内で膵前駆細胞を効率的に得る新規な方法を確立した（Shiraki et al., Stem Cells 2008）。我々はES細胞から膵前駆細胞を効率よく分化誘導する支持細胞M15細胞(マウス胎仔由来中腎細胞株)を用いる方法を確立した。解析の結果、膵分化に関して、アクチビン・FGF・レチノイン酸・接着因子の関与が示唆された。M15細胞とこれらの液性因子の添加を組み合わせることでES細胞から非常に効率よく膵前駆細胞を分化誘導できる方法を確立できた。得られた膵前駆細胞については、マウスへの移植実験を行い、膵臓を構成するすべての細胞へ分化可能であることがわかった。また、この系を用いることでES細胞から中内胚葉・内胚葉を介した膵前駆細胞への分化誘導に関与する様々な因子についても検討を加えることができた。各誘導プロセスにおいて作用するシグナル経路を同定し、その知見を利用して外胚葉や中胚葉への分化を抑制した結果、内胚葉や膵臓前駆細胞への分化効率をそれぞれ上昇させるのに成功した。

支持細胞を用いた分化誘導の過程においては、内胚葉細胞が膵臓の前駆細胞へと分化する過程にはM15細胞とES細胞との直接な接着が必要であり、細胞間で働く近位のシグナルが膵臓の領域化に重要であると考えられた。マイクロアレイ解析の結果、M15細胞において基底膜の構成因子の一つであるラミニンα5 (*Lama5*) が高レベルに発現していることを見いだした。さらに、M15細胞において*Lama5*の発現をノックダウンすると、膵前駆細胞の誘導が抑制されることを確認した。*Lama5*ノックダウン実験の結果より、膵への分化には基底膜が重要な役割を果たしていると推測した。基底膜は上皮-間充織間に存在する薄いシート状の構造であり、隣接する細胞の接着や移動のほか、分化にも影響を与えることが知られている。国立環境研究所の持立克身らのグループが確立した擬似基底膜(synthesized basement membrane, sBM)に着目し、これを用いた新規膵分化誘導系の開発を試みた。その結果、sBM上において支持細胞無しにES細胞は内胚葉から膵前駆細胞へと分化

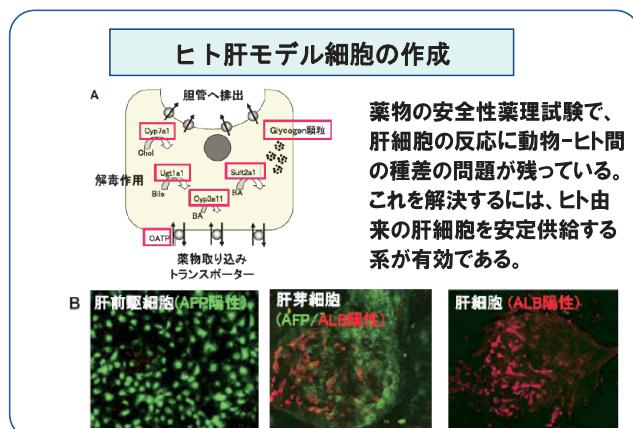
し、さらにインスリン産生細胞にまで分化することを明らかにした。分化誘導した細胞を免疫不全マウスの腎被膜下に移植すると、生体内でさらに成熟化し、膵島様の構造を形成した。基底膜からの誘導メカニズムを解析した結果、ラミンのシグナルがインテグリンを介して伝達され、膵臓分化を誘導していることを見いだした(図3)。また、基底膜の構成因子であるHspg2 (Heparan sulfate proteoglycan 2) や、その他のヘパラン硫酸プロテオグリカンについても膵臓分化に影響を与えていていることを見いだした(Higuchi et al., J Cell Sci, 2010)



【図3】

2. ES細胞から肝臓細胞への分化誘導法の開発
肝臓は創薬研究において中心的役割を果たす臓器であるが、新薬候補物質の体内での代謝および薬物毒性試験などにおいて、動物肝細胞とヒト肝細胞では物質代謝の大きな違いがあることから、動物実験だけでは毒性と有効性の検定が不可能である。

【図4】



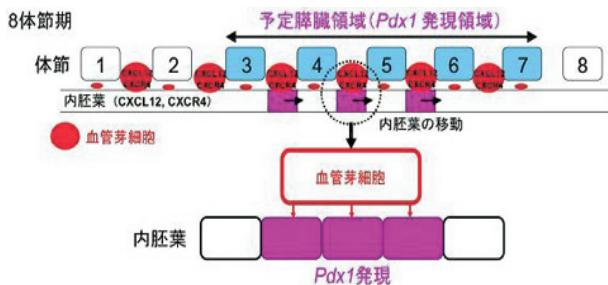
またヒト肝細胞の供給も極めて限定されており、多数の提供者から集められた細胞組織では試験データのばらつきが大きく有意義な結果を得ることは困難である。そこで、ヒトES細胞から

肝細胞への分化誘導技術が確立できれば、安定したヒト肝細胞の供給が可能となり、創薬研究分野における極めて重要な技術革新となる。本分野では、膵臓への分化誘導の方法として、M15を支持細胞として用いる方法を改変し、培地条件を変更することにより、マウスおよびヒトES細胞から同じ内胚葉由来臓器である肝臓の細胞を効率よく分化誘導できる方法を開発した(Shiraki, N. et al. Genes Cells 13, 731-746, 2008)。また、膵臓の分化誘導研究で得られた知見を利用して、擬似基底膜(synthesized basement membrane, sBM)を用いた肝細胞への分化誘導系の開発にも成功している。無支持細胞・無血清での分化誘導には、国立環境研究所の持立克身博士らのグループが作製した擬似基底膜を使用した。擬似基底膜を用いて分化誘導したヒトES細胞由来の肝臓細胞は、アルブミンを分泌し、薬物代謝酵素活性を示した。さらに、基底膜からの誘導メカニズムを解析した結果、基底膜成分であるラミンのシグナルがインテグリンを介して伝達され、Akt(プロテインキナーゼB)のリン酸化を介して、肝臓分化を誘導していることを見いだした(Shiraki et al., PLoS One 2011)。

3. 膵臓の起源は、初期内胚葉と血管芽細胞の出会いから-ケモカインシグナルによる誘導

本分野では、ES細胞を用いた再生医学研究を進めていると同時に、正常胚を用いた膵臓の発生研究も同時に行なっている。膵臓を構成するすべての細胞(内分泌細胞、外分泌細胞、導管)は、Pdx1陽性細胞に由来することが分かっている。膵臓は、前腸内胚葉から発生し、初期に隣接する脊索から分化を維持するシグナルを受け取り、次に隣接してくる背側大動脈よりシグナルを受けて、成熟化していくことが知られている。本分野では、膵臓形成の最初のイベントであるPdx1発現誘導過程に、angioblast(血管芽細胞)が深く関与していることを突き止めた。ニワトリ胚を用い、詳細な細胞運命予定地図を作製し、予定膵臓領域を明らかにするとともに、初期内胚葉の領域化は、胃、腸、膵臓の順番に起こり、膵臓は、内胚葉と中胚葉の移動速度の差により生じた“ずれ”によって生じる説を提唱した(Katsumoto et al., 2009; Matsuura et al.,

2009)。詳細に解析したところ、初期の Pdx1 の発現は体節間で起こりはじめる 것을 発見した。また、Lmo2, Tal1, Kdr, Cd34 を発現している血管【図 5】



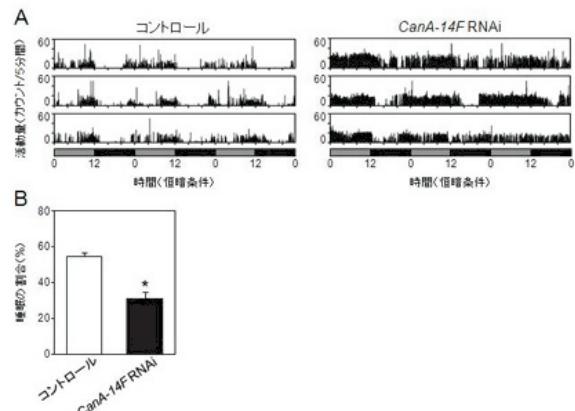
芽細胞がそれに隣接していることがわかった。さらに、細胞移動に重要な働きを持つケモカイン(CXCL12,CXCR4)が、血管芽細胞と初期内胚葉に発現していることもわかった。*Cxcl12* を異所的に強制発現させたところ、血管芽細胞が異所的に *Cxcl12* を発現している領域へ遊走され、*Pdx1* 発現領域が拡大し、インスリン発現領域(膵 β 細胞)ならびに膵臓が拡大した。一方、*CXCR4* の阻害剤である AMD3100 で胚を処理したところ、血管芽細胞の遊走が阻害され、血管形成のタイミングが遅れ、*Pdx1* 発現領域が縮小し、インスリン発現領域および膵臓が縮小した。まとめると、重要な発見は以下の 2 点である。
 1) 膵臓の起源は、初期内胚葉が血管芽細胞と出会うことからはじまる。2) ケモカインシグナル(CXCL12,CXCR4)は、膵臓(*Pdx1* 発現)を誘導するために、血管芽細胞が適切なタイミングかつ場所に遊走できるように、その動きを時空間的に制御している(図 5)。

また、もう一つのプロジェクトである、概日周期と睡眠制御機構の分子生物学的解析については、以下の研究成果を得た。

睡眠は、毎日繰り返される身近な現象であるが、その制御機構や生理的意義については、未知の部分が多く残されている。本分野では、これらの睡眠の謎に迫るため、ショウジョウバエをモデル生物として新規睡眠関連遺伝子の探索を進めている。最近、Ca²⁺/カルモジュリン依存性タンパク質脱リン酸化酵素であるカルシニューリンがショウジョウバエの睡眠制御に関わることを明らかにした(Tomita et al., Journal of

Neuroscience, 2011)。

近年の哺乳類やショウジョウバエを用いた研究から、覚醒時に形成されたシナプスは睡眠中に最適化され、その結果として記憶が固定されることが示唆されている。カルシニューリンは、脱リン酸化酵素活性を持つ触媒サブユニット A



【図 6】

と Ca²⁺結合部位を持つ調節サブユニット B からなるヘテロ二量体タンパク質であり、哺乳類の脳においてシナプス可塑性の制御に関与し、学習・記憶に重要な分子である。ショウジョウバエでは、5 分間以上の不動状態を睡眠と定義しているが、A サブユニットをコードする *CanA-14F* 遺伝子を、RNAi 法により全神経でノックダウンすると、睡眠量がコントロールの約 1/2 に減少した(図 6)。また、B サブユニットのノックダウンでも同様に睡眠量の減少がみられた。一方、恒常活性化型 *CanA-14F* タンパク質を成虫期にだけ全神経で過剰発現すると、睡眠量が顕著に増加したことから、成虫の神経におけるカルシニューリンシグナルが睡眠を制御することが示された。次に、匂い連合学習課題における学習・記憶への影響を調べた。*CanA-14F* 遺伝子ノックダウンにより睡眠量が減少したショウジョウバエでは、学習に異常はみられなかったが、記憶の保持が障害されたことから、睡眠と記憶との関連を分子レベルで解析できる可能性が示された。カルシニューリンは脳のほとんど全ての細胞で発現していることから、どの神経細胞で、どのような分子を脱リン酸化することで睡眠を制御するのかを明らかにすることが今後の課題である。

1. Establishment of pancreatic and hepatic differentiation of ES cells *in vitro*.

ES cells have been extensively studied and shown to be able to form cells of all germ layers including endoderm. The generation of specific lineages of the definitive endoderm from embryonic stem (ES) cells is an important issue in developmental biology as well as in regenerative medicine. We demonstrated that ES cells are induced sequentially into regional specific gut endoderm lineages, such as pancreatic, hepatic and other cell lineages, when they are cultured directly on a monolayer of mesoderm-derived supporting cells. Under selective culture conditions, a high efficiency of definitive endoderm (47%) or Pdx1-positive pancreatic progenitors (30%) are yielded. When transplanted under the kidney capsule, the Pdx1-positive cells further differentiated into all three pancreatic lineages, namely endocrine, exocrine and duct cells (Shiraki et al, Stem Cells, 2008).

When the culture conditions were modified and that with the addition and withdrawal of secreted growth factors, ES cells could be induced to selectively differentiate into a hepatic fate efficiently. The signaling of BMP and FGF that have been implicated in hepatic differentiation during normal embryonic development are shown to play pivotal roles in generating hepatic cells from the definitive endoderm derived from ES cells. The ES cell-derived differentiated cells showed evidence of glycogen storage, secreted Albumin, exhibited drug metabolism activities and expressed a set of cytochrome or drug conjugate enzymes, drug transporters specifically expressed in mature hepatocytes. With the same procedure, human ES cells also gave rise to cells with mature hepatocytes' characteristics (Shiraki et al., Gene Cells).

Embryonic stem cells differentiated on M15 cells could give rise to cells of the mesendodermal and definitive endodermal lineages. In addition, neuroectodermal and mesodermal lineages can be derived from ES cells cultured on M15 cells. These results indicate that the M15 cell system provides a valuable tool for generating ES cell-derived lineage-specific cell types belonging to the three germ layers, namely neuroectoderm, mesoderm and definitive endoderm (Shiraki et al., BBRC, 2009).

The endoderm-inducing activity of M15 cells is in part mediated through the extracellular matrices, and that laminin α 5 is one of the crucial components. In an attempt to establish a feeder-free ES-cell procedure for pancreatic differentiation, we used a synthesized basement membrane (sBM)

substratum using an HEK293 cell line stably expressing laminin-511. On the sBM, mouse ES or induced pluripotent stem (iPS) cells sequentially differentiated into the definitive endoderm, pancreatic progenitor cells, and then insulin-expressing pancreatic β -cells *in vitro*. Knockdown of ES cells with integrin β 1 (*Itgb1*) reduces differentiation towards pancreatic cells. *Heparan sulfate proteoglycan 2* (*HSPG2*) knockdown and heparitinase treatment synergistically decreased the number of *Pdx1*-expressing cells. These findings indicate that components of the basement membrane have an important role in the differentiation of definitive endoderm lineages (Higuchi et al, J. Cell Sci, 2010). We also investigated the differentiation on sBM of mouse and human ES cells into hepatic lineages. The results indicated that the BM components played an important role in supporting the regional-specific differentiation of ES cells into hepatic endoderm. We show here that knockdown of integrin β 1 (*Itgb1*) in ES cells reduced their differentiation into hepatic lineages and that this is mediated through Akt signaling activation. Moreover, under optimal conditions, human ES cells differentiated to express mature hepatocyte markers and secreted high levels of albumin (Shiraki et al, PlosONE, 2011).

Gene expression profiling analyses of the ES cell-derived pancreatic progenitor cells were carried out. Genes whose expression increased in DE and Pdx1 positive cells compared to the undifferentiated ES cells were chosen and *in situ* hybridizations were performed. Out of 54 genes examined, 27 were expressed in the DE of E8.5 mouse embryos and 15 genes were expressed in distinct domains in the pancreatic buds of E14.5 embryos. Among those genes, novel genes that have not been described were identified to be expressed either in DE or in the pancreas. Therefore, the ES cell *in vitro* differentiation system is useful not only for regenerative medicine but also for developmental biological studies (Ogaki et al., 2011).

2. Lineage tracing studies of the pancreatic progenitors and identification of the inducing signals.

To study the developmental origin of the pancreas we used DiI crystals to mark regions of the early chick endoderm: this allowed correlations to be established between specific endoderm regions and the positions of their descendants. Endodermal precursor cells for the stomach, pancreas and intestine were found to segregate immediately after

the completion of gastrulation. Transplantation experiments showed that regional specific endodermal fates are determined sequentially in the order of stomach, intestine, and pancreas. Non-pancreatic endoderm transplanted to the stomach region generated ectopic pancreas expressing both insulin and glucagon. These results imply that a pancreas-inducing signal is emitted from somitic mesoderm underlying the pre-pancreatic region, and this extends rostrally beyond the stomach endoderm region at the early somite stage. Transplantation experiments revealed that the endoderm responding to these pancreatic-inducing signals lies within the pre-pancreatic region and extends caudally beyond the region of the intestinal endoderm. The results indicate that pancreatic fate is determined in the overlapping region between these two (Katsumoto et al., Mech Dev. 2009). To determine the origin of the ventral pancreas, a fate map of the ventral pancreas was constructed using DiI crystal or CM-DiI to mark regions of the early chick endoderm. The dorsal and the ventral pancreatic buds are different in both origin and function. These two pancreatic buds begin to fuse at day 7 (HH 30) of embryonic development. However, whereas the dorsal pancreas gives rise to both Insulin-expressing endocrine and Amylase-expressing exocrine cells, the ventral pancreas gives rise to Amylase-expressing exocrine cells, but not Insulin-expressing endocrine cells before day 7 (HH 30) of embryonic development (Matsuura et al., Mech Dev. 2009).

We discovered that angioblasts trigger an early inductive event of pancreas differentiation. This event occurs soon after gastrulation before the formation of blood vessels. Morphological studies revealed that *Lmo2*-expressing angioblasts reside in proximity to the somitic mesoderm and the gut endoderm from which pancreatic progenitors arise. The chemokine ligand *Cxcl12* expressed in the gut endoderm functions to attract the angioblasts that express its receptor *Cxcr4*. Angioblasts then signal back to the gut endoderm to induce *Pdx1* expression. Taken together, these results indicate that the gut endoderm and angioblasts attract each other through reciprocal CXCL12 and CXCR4 signaling (Figure). This has a pivotal role in the fate establishment of the pancreatic progenitor cells and the potentiation of further differentiation into endocrine β -cells (Katsumoto et al., 2011).

We also used CM-DiI to label the mouse pancreatic progenitor cells. A transgenic mouse line expressing green fluorescent protein (GFP) under

the control of the *Pdx1* promoter showed that *Pdx1*/GFP expression was first observed in the mid-region of the anterior intestinal portal (AIP) lip at embryonic day (E) 8.5 at the 5–6 somite stage (ss). The liver progenitors were confirmed to originate from separate domains at the lateral endoderm and the inner part of the medial AIP as previously reported (Tremblay and Zaret, 2005), which turned out to lie caudally to the *Pdx1* /GFP-expressing domain. At 1 ss, the ventral pancreas progenitors were observed in the lateral endoderm, not yet being segregated from the liver or gut progenitors. Cells that contributed solely to the ventral pancreas first appeared at the AIP lip from 5 ss. At 5–6 ss, cells from the medial of the AIP lip contributed to the ventral pancreas. The pancreas fate region becomes narrower as development progresses. At 7–9 ss, the cells contributing to the ventral pancreas resided in a narrow region of the AIP lip. From 5 ss, the right flanking region contributes to the posterior gut, and the left flanking region contributes to the anterior gut (Miki et al., 2012).

3. Identification of novel sleep-related gene in *Drosophila melanogaster*.

Sleep is a unique physiological state, which is behaviorally defined, and is broadly conserved across species from mammals to invertebrates such as insects. Because of the experimental accessibility provided by various novel animal models including the fruit fly, *Drosophila melanogaster*, there have been significant advances in the understanding of sleep. Although the physiological functions of sleep have not been fully elucidated, accumulating evidence indicates that sleep is necessary to maintain the plasticity of neuronal circuits and, hence, is essential in learning and memory. Calcineurin (Cn) is a heterodimeric phosphatase composed of CnA and CnB subunits and known to function in memory consolidation in the mammalian brain, but its neurological functions in the fruit fly are largely unknown. Here, we show that Cn is an important regulator of sleep in *Drosophila*. A pan-neuronal RNAi-mediated knockdown of Cn expression resulted in sleep loss (Figure), whereas misexpression of the constitutively active form of a CnA protein led to increased sleep. Furthermore, CnA knockdown also impaired the retention of aversive olfactory memory. These results indicate a role for Cn and calcium-dependent signal transduction in sleep and memory regulation and may bring insight into the relationship between them. (Tomita et al. J. Neurosci, 2011)

論文目録 Publications

1. Shiraki, N., Umeda, K., Sakashita, N., Takeya, M., Kume K. and Kume S. Differentiation of mouse and human ES cells into hepatic lineages. *Genes Cells* 13, 731-746, 2008.
2. Yoshida T., Shiraki N., Baba, H., Goto, M., Fujiwara, S., Kume K. and Kume S. Expression patterns of epiplakin1 in pancreas, pancreatic cancer and regenerating pancreas. *Genes Cells* 13, 667-678, 2008.
3. Shiraki, N., Yoshida, T., Araki, K., Umezawa A., Higuchi, Y., Goto H., Kume, K., and Kume, S. Guided differentiation of embryonic stem cells into Pdx1-expressing regional-specific definitive endoderm. *Stem Cells* 26, 874-885, 2008.
4. Aizawa, R., Sunahara, H., Kume, K., Tsuchiya, S., Adachi, H., Kanbayashi, T., Shimizu, T. Status of narcolepsy-related information available on the Internet in Japan and its effective use. *Sleep Biol. Rhythm.* 6, 201-207, 2008.
5. Y Matsuura, K*. Katsumoto, K*, Fukuda, K., Kume, K. and Kume, S. Conserved origin of the ventral pancreas in chicken. *Mech. Dev.* 126, 817-827, 2009.
6. Katsumoto, K., Fukuda, K., Kimura, W., Shimamura, K., Yasugi, S. and Kume, S. Origin of pancreatic precursors in the chick embryo and the mechanism of endoderm regionalization. *Mech. Dev.* 126, 539-51, 2009.
7. Yoshida, T., Murata, K., Shiraki, N., Kume, K., Kume, S. Analysis of gene expressions of embryonic stem-derived Pdx1-expressing cells: Implications of genes involved in pancreas differentiation. *Develop. Growth Differ.* 51, 463-472, 2009.
8. Shiraki, N*., Higuchi, Y*., Harada, S., Umeda, K., Isagawa, T., Aburatani, H., Kume, K. and Kume, S. Differentiation and characterization of embryonic stem cells into three germ layers. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 381, 694-9, 2009. (* equal contribution)
9. Shiraki N, Higuchi Y. Kume S. Guiding ES cell differentiation into the definitive endoderm lineages. *Inflammation and Regeneration* 30, 109-114, 2010.
10. Higuchi Y., Shiraki N., Yamane K., Qin Z., Mochitate K., Araki K., Senokuchi K., Yamagata K., Hara M., Kume K., and Kume S. Synthesized basement membranes direct the differentiation of mouse embryonic stem cells into pancreatic lineages. *J. Cell Science*, 123, 2733-2742, 2010.
11. Shiraki N*, Harada S*, Ogaki S, Kume K. and Kume S. Identification of DAF1/CD55, a novel definitive endoderm marker. *Cell Struct. Funct.* 35, 73-80, 2010. (*Equal contribution)
12. Yoshida T, Guo X, Namekata K, Mitamura Y, Kume S. and Harada T. Expression of Epiplakin 1 in the developing and adult mouse retina. *Jpn J Ophthalmol.* 54, 85-88. 2010.
13. Katsumoto, K., Shiraki, N., Miki, R., Kume, S. "Embryonic and adult stem cell systems in mammals: Ontology and regulation" in 'Comparative aspects of Stem cells' *Develop. Growth Diff.* 52, 115-129, 2010.
14. Isagawa T, Nagae G, Shiraki N, Fujita T, Sato N, Ishikawa S, Kume S, Aburatani H., DNA methylation profiling of embryonic stem cell differentiation into the three germ layers. *PLoS ONE* 6(10): e26052. 2011.
15. Tomita J, Mitsuyoshi M, Ueno T, Aso Y, Tanimoto H, Nakai Y, Aigaki T, Kume S and Kume K. Pan-neuronal knockdown of calcineurin reduces sleep in the fruit fly, *Drosophila melanogaster*. *J. Neurosci.*, 31, 13137-13146, 2011.
16. Shiraki N, Yamazoe T, Qin Z, Ohgomori K, Mochitate K, Kume K, Kume S., Efficient differentiation of embryonic stem cells into hepatic cells in vitro using a feeder-free basement membrane substratum. *PLoS ONE* 6(8), e24228, 2011.
17. Nagae G, Isagawa T., Shiraki N., Suemori H., Kume S., Aburatani, H. Tissue-specific demethylation in CpG-poor promoters during cellular differentiation. *Hum. Mol. Genet.* 20(14), 2710–2721, 2011.

18. Katsumoto, K. and Kume,S. Endoderm and mesoderm reciprocal signaling mediated by CXCL12 and CXCR4 regulates the migration of angioblasts and establishes the pancreatic fate. *Development* 138, 1947-1955, 2011.
19. Ogaki S, Harada S, Shiraki N, Kume K, and Kume S. An expression profile analysis of ES cell-derived definitive endodermal cells and Pdx1-expressing cells. *BMC Developmental Biology*, 11:13, 2011.
20. Matsuo A., Yoshida T., Yasukawa T., Miki R., Kazuhiko K. and Kume S. Epiplakin1 is expressed in the cholangiocyte lineage cells in normal liver and adult progenitor cells in injured liver. *MOD-Gene Expression Patterns* 11,255-262, 2011.
21. Kume, S. Xenopus embryos and ES cells as tools for studies of developmental biology. *Neurochem Res.* 36, no.7, 1280-1285, 2011.
22. Shiraki, N., Miki, R., Katsumoto, K., Kume, S. The potential of ES cells and tissue stem cells in the regenerative medicine of type I diabetes. 'Stem Cell Therapy', 2011:71-85 Chapter 5. ISBN: 978-81-7895-502-5 Editor: Ken-Ichi Isobe. Transworld Research Network. 37/661(2), *Fort P.O. Trivandrum*-965 023 Kerala, India.
23. Higuchi Y., Shiraki N., Kume, S. In vitro models of pancreatic differentiation using ES or induced pluripotent stem cells. *Congenital Anomalies*, 2011; 51, 21–25.
24. Ida, T., Takahashi, T., Tominaga, H., Sato, T., Kume, K., Ozaki, M., et al. Identification of the novel bioactive peptides dRYamide-1 and dRYamide-2, ligands for a neuropeptide Y-like receptor in *Drosophila*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 410, 872-7, 2011.
25. Ida, T., Takahashi, T., Tominaga, H., Sato, T., Kume, K., Yoshizawa-Kumagaye, K., et al. Identification of the endogenous cysteine-rich peptide trissin, a ligand for an orphan G protein-coupled receptor in *Drosophila*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 414, 44-8, 2011.
26. Nakai, Y., Horiuchi, J., Tsuda, M., Takeo, S., Akahori, S., Matsuo, T., Kume, K., and Aigaki, T. Calcineurin and Its Regulator Sra/DSCR1 Are Essential for Sleep in *Drosophila*. *J. Neurosci.* 31, 12759-66, 2011.
27. Riemensperger, T. et al. Behavioral consequences of dopamine deficiency in the *Drosophila* central nervous system. *Proc. Natl Acad. Sci. U. S. A.* 108, 834-9, 2011.
28. Ueno T, Masuda N, Kume S, and Kume K. Dopamine modulates the rest period length without perturbation of its power law distribution in *Drosophila melanogaster* *PLoS ONE*7(2):e32007, 2012.
29. Ueno T, Tomita J, Kume S, Kume K. Dopamine modulates metabolic rate and temperature sensitivity in *Drosophila melanogaster* *PLoS ONE* 7(2):e31513, 2012.
30. Miki, R., Yoshida, T., Murata, K., Oki, S., Kume K. and Kume, S. Fate maps of ventral and dorsal pancreatic progenitor cells in early somite stage mouse embryos. *Mech. Dev.* 128, 597-809, 2012.
31. Yamazaki M, Tomita J, Takahama K, Ueno T, Mitsuyoshi M, Sakamoto E, Kume S and Kume K. High calorie diet augments age-associated sleep impairment in *Drosophila*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 417, 812-816, 2012.
32. Takahama K, Tomita J, Ueno T, Yamazaki M, Kume S and Kume K. Pan-neuronal knockdown of c-Jun N-terminal Kinase (JNK) results in reduction in sleep and longevity in *Drosophila*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 417, 807-811, 2012.
33. 白木伸明、糸昭苑「ES細胞からの内胚葉系細胞の誘導」、培養細胞実験ハンドブック改訂第2版、羊土社（東京）, 297 - 301, 2008.
34. 白木伸明、糸昭苑「ES細胞を用いた膵臓の再生医学」（河盛隆造編集）新時代の糖尿病学（3）-病因・診断・治療研究の進歩—第2版 日本臨床66, 482-487, 2008.
35. 勝本恵一、糸昭苑「膵及び膵外におけるPdx1の発現調節と機能」『特集/膵β細胞発生分化にかかわる転写因子の発現調節と機能』（門脇 孝編集）内分泌・糖尿病科26(2), 115-120, 2008.

36. 白木伸明、樋口裕一郎、糸昭苑「各種幹細胞を用いた消化器官の再生医療」『再生医療の現状と進歩～ES細胞・iPS細胞と体性幹細胞の臨床への応用～』 血液フロンティア 19, no.11, 1673-1678, 2009.
37. 坂野大介、白木伸明、糸昭苑「iPS細胞を用いた膵β細胞分化誘導の研究」『医学と医療の最前線』(社団法人日本内科学会雑誌) 98, no.12, 3148-3153, 2009.
38. 小椋光、中尾光善、糸昭苑、西中村隆一「発生医学の共同研究拠点」の船出－日本で唯一「発生医学」を標榜する文部科学大臣認定拠点－再生医療 8, 401-406, 2009.
39. 三木梨可、糸昭苑「肝臓、膵臓の再生を支える幹細胞システムはどうのようになっているのか？」『特集：幹細胞を用いた消化器再生医療の展望』先端医学社 分子消化器病 6,no.4,332-337, 2009.
40. 梅田香穂子、白木伸明、糸昭苑「iPS細胞からの膵臓細胞誘導と臨床応用」「臨床検査」53巻no.10, シリーズ最新医学講座/II 「iPS細胞」 9, 1203-1207, 2009.
41. 白木伸明、糸昭苑「ES細胞から膵細胞への分化」特集『肝胆膵領域における幹細胞研究の最前線』「肝胆膵」誌59巻4号, 611-617 アークメーディア(株) 2009.
42. 梅田香穂子、糸昭苑「再生医療の現状と将来」化学と教育57,no.10, 446-449, 2009.
43. 樋口裕一郎、糸昭苑「iPS細胞を用いた膵臓細胞の作製と、その移植医療への応用」特集『移植医療におけるiPS細胞研究のインパクト』谷口英樹編集『移植』第44巻3号 p236-240, 日本移植学会, 2009.
44. 樋口裕一郎、白木伸明、糸昭苑「iPS細胞を用いた膵臓細胞の作製技術と臨床応用への展望」iPS細胞の産業的応用技術 225-228, シーエムシー出版, 2009.
45. 糸昭苑「一枚の写真館：ES細胞から膵細胞への分化誘導」秀潤社「細胞工学」28, 1, 2009
46. 糸昭苑「ES/iPS細胞を用いた膵臓β細胞の作製」クリシアン 575, 94-98, 2009.
47. 樋口裕一郎、白木伸明、糸昭苑「膵β細胞分化誘導研究が発生学に与えるインパクト」特集号『代謝制御の鍵を握る膵β細胞』実験医学28, 1364-1367, 2010.
48. 山添太士、白木伸明、糸昭苑「ES細胞由来分化肝細胞の創出」『ヒト幹細胞による薬物代謝・トランスポート・副作用予測－iPS・ES細胞・間葉系幹細胞を用いた新たな創薬スクリーニング』医学の歩み 232(2) 105-109, 2010.
49. 勝本恵一、糸昭苑「膵発生：膵臓前駆細胞の起源と領域化」『胆と膵の再生医学の最前線』胆と膵 Vol.32.No 11, 1201-1206, 2011.
50. 白木伸明、糸昭苑 第1編 再生医療に必要な"材料"とは 第1章 細胞 (ES細胞・iPS細胞)『ものづくりからみる再生医療-細胞研究・創薬・治療-』シーエムシー出版 10-16, 2011.
51. 坂野大介、白木伸明、糸昭苑 「iPS細胞による糖尿病医療研究のこれから」 -The view of stem cell therapy for type I diabetes- 糖尿病 54, 268-270, 今川企画, 2011.

学会発表目録 Meeting Presentations

1. Kume, S. Guided differentiation of ES cells into pancreatic and hepatic lineages. Academia Sinica Seminar, 20 August, 2008. Taipei, Taiwan.
2. Shiraki, N., et al., Guided differentiation of ES cells towards pancreatic and hepatic lineages. Kumamoto University Liaison Office at KAIST Opening Ceremony and The 1st Joint Symposium of KAIST and Kumamoto University, 9 Sep 2008. KAIST, Korea.
3. Kume, S. Differentiation of ES cells into pancreatic and hepatic cells. Suez Canal University-Kumamoto University GCOE joint symposium on Cell fate regulation research and education: from molecular basis to clinical application. 17-19 Nov 2008. Ismailia, Egypt.
4. Katsumoto, K., Fukuda, K., Kimura, W., Matsuura, M., Shimamura, K., Yasugi, S., Kume, S. The sliding between the endoderm and the mesoderm layer in the early embryo is a significant event for pancreas development. International Society for Stem Cell Research, 7th Annual Meeting, 8-11, July 2009. Barcelona, Spain.
5. Shiraki, N., Zeng, Q., Mochitate, K., Higuchi, Y., Umeda, K., Kume, K., and Kume, S. Efficient differentiation of mouse and human ES cells into hepatic cells using feeder free basement membrane substratum in vitro. International Society for Stem Cell Research, 7th Annual Meeting, 8-11, July 2009. Barcelona, Spain.
6. Higuchi, Y., Yamane, K., Shiraki, N., Zeng, Qi., Mochitate, K., Kume, K. and Kume, S. Novel differentiation procedures of the mouse ES or iPS cells into pancreatic cell lineages. International Society for Stem Cell Research, 7th Annual Meeting, 8-11, July 2009. Barcelona, Spain.
7. Kume, S. Differentiation of ES cells into pancreatic and hepatic cells. ISREC seminar, 14 July 2009. Lausanne, Swiss.
8. Higuchi, Y. The synthesized basement membrane substrata direct ES cells to differentiate into the pancreatic lineages. The 25th Kumamoto Medical Bioscience & Global COE Cell Fate Regulation Research and Education Unit Joint Symposium “New Progress in Diabetes Research: Basic Research & Clinical Trials” 11-12 Nov 2009. Kumamoto, Japan.
9. Kume, S. The Guided differentiation of ES cells into the pancreatic lineage. The 25th Kumamoto Medical Bioscience and Global COE Cell Fate Regulation Research and Education Unit Joint Symposium 13 Nov 2009. Kumamoto, Japan.
10. Higuchi, Y. The synthesized basement membrane substrata direct ES cells to differentiate into the pancreatic lineages. International Joint Symposium on Cell fate regulation research: stem cells and organogenesis 26-27 Nov 2009. Kumamoto, Japan.
11. Matsuo, A., Yoshida, T., Miki, R., Kume, K., and Kume, S. Epiplakin1 (Eppk1) is expressed in foregut endoderm, also novel marker for adult progenitor cells in injured liver. Keystone Symposia on Molecular and cellular biology, “Lung development and repair”, 6-11 Feb 2010. Santa Fe, New Mexico.
12. Shiraki, N., Zeng, Q., Mochitate, K., Higuchi, Y., Umeda, K., Kume, K., Kume, S. Efficient differentiation of mouse and human ES/iPS cells into hepatic cells using feeder free basement membrane substratum. International Society for Stem Cell Research, 8th Annual Meeting, 16-19, June 2010. San Francisco, USA.
13. Matsuo, A., Yoshida, T., Miki, R. Fujiwara., S. Kume, K., and Kume, S. Epiplakin1 (Eppk1) marks the progenitor population in adult liver. The 16th International Conference of the International society of Differentiation 14 -18 November 2010. Nara, Japan.
14. Sakano, D., Shiraki, N., Kataoka, M., Kume, K., and Kume, S. The establishment of a screening system for low molecular compounds for β cell inducing activity. ISSCR 15-18 June, 2011. Toronto, Canada.

15. Yamazoe, T., Shiraki, N., Umeda, K., Kume, K., and Kume, S. Identification of a synthetic nanofibrillar matrix that promotes hepatic differentiation of mouse and human ES cells and iPS cells in vitro. ISSCR 15-18 June, 2011. Toronto, Canada.
16. Kume, S. Signals involved in guiding ES cells to differentiate into pancreatic beta cells. KEY Forum in Developmental Biology and Regenerative Medicine-Supported by Global COE and IMEG, Kumamoto University, 8-9 Sep, 2011, Kumamoto, Japan.
17. Umeda, K., Suzuki, K., Yamazoe, T., Shiraki, N., Kume, K., Mitani, K., and Kume, S. Perspective isolation and characterization of human Albumin-expressing hepatic cells using knock-in human iPS and ES cell line. KEY Forum in Developmental Biology and Regenerative Medicine-Supported by Global COE and IMEG, Kumamoto University, 8-9 Sep, 2011, Kumamoto, Japan.
18. Shahjalal, Hussain Md., Shiraki, N., Kume, K., and Kume, S., Differentiation of hiPS cells into pancreatic lineages in xeno-free, chemically defined medium. KEY Forum in Developmental Biology and Regenerative Medicine-Supported by Global COE and IMEG, Kumamoto University, 8-9 Sep, 2011, Kumamoto, Japan.
19. Shiraki, N., Shiraki, Y., Yamazoe, T., Mochida, T., Endo, F., Kume, K., Kume, S. Dependence of human ES/iPS cells on methionine metabolism. KEY Forum in Developmental Biology and Regenerative Medicine-Supported by Global COE and IMEG, Kumamoto University, 8-9 Sep, 2011, Kumamoto, Japan.
20. Yamazoe, T., Shiraki, N., Kume, K., Kume, S. A synthetic nanofibrillar matrix that promotes hepatic differentiation of mouse and human ES cells and iPS cells in vitro. KEY Forum in Developmental Biology and Regenerative Medicine-Supported by Global COE and IMEG, Kumamoto University, 8-9 Sep, 2011, Kumamoto, Japan.
21. Sakano, D., Shiraki, N., Kataoka, M., Kume, K., and Kume, S. Low molecular compounds screening system for β cell inducing activity. KEY Forum in Developmental Biology and Regenerative Medicine-Supported by Global COE and IMEG, Kumamoto University, 8-9 Sep, 2011, Kumamoto, Japan.
22. Ogaki, S., Shiraki, N., Kume, K., and Kume, S. Generation of intestinal epithelial like cell derived from ES cells. KEY Forum in Developmental Biology and Regenerative Medicine-Supported by Global COE and IMEG, Kumamoto University, 8-9 Sep, 2011, Kumamoto, Japan.
23. Kume, S. Signals involved in guiding ES cells to differentiate into pancreatic beta cell. UNIA WORKSHOP 2011 "LIVER AND PANCREAS: FROM DEVELOPMENT TO DISEASE" 14-16 November, 2011, Baeza, Spain.
24. Sakano, D., Shiraki, N., Kataoka, M., Kume, K., and Kume, S. Low molecular compounds screening system for β cell inducing activity. UNIA WORKSHOP 2011 "LIVER AND PANCREAS: FROM DEVELOPMENT TO DISEASE" 14-16 November, 2011, Baeza, Spain. (poster)
25. Shiraki, N., Shiraki, Y., Yamazoe, T., Mochida, T., Kume, K., Endo, F., Kume, S. The specific amino acid metabolic state of human ES/iPS cells and its significance. UNIA WORKSHOP 2011 "LIVER AND PANCREAS: FROM DEVELOPMENT TO DISEASE" 14-16 November, 2011, Baeza, Spain.
26. Yamazoe, T., Shiraki, N., Kume, K., Kume, S. Nanofiber; A synthetic scaffolds that promotes hepatic differentiation of mouse and human ES cells and iPS cells in vitro. UNIA WORKSHOP 2011 "LIVER AND PANCREAS: FROM DEVELOPMENT TO DISEASE" 14-16 November, 2011, Baeza, Spain.
27. Kume, S. Can we turn ES cells into pancreatic beta cells? 11th iCeMS international Symposium. 5-6 Dec, 2011, Kyoto, Japan.
28. Kume, S. The role of extracellular matrices in guiding ES/iPS cell differentiation into hepatic or pancreatic cells. The 11th US-Japan Symposium on Drug Delivery Systems 16 Dec, 2011, Maui, USA.

29. Higuchi, Y., Shiraki, N., Yoshida, T., Kume, K., Kume, S. Guided differentiation of ES cells into Ngn3-expressing pancreatic precursors. 41th Annual Meeting of the Japanese Society of Developmental Biology, 28-31 May, 2008, Tokushima, Japan.
30. Matsuo, A., Yoshida, T., Kume, K., and Kume, S. The characterization of liver progenitor during development and liver injury. 41th Annual Meeting of the Japanese Society of Developmental Biology, 28-31 May, 2008, Tokushima, Japan.
31. Katsumoto, K., Fukuda, K., Kimura, W., Shimamura, K., Yasuigi, S., Kume, S. Analyses of the mechanism of dorsal pancreas specification in the early chick endoderm 41th Annual Meeting of the Japanese Society of Developmental Biology, 28-31 May, 2008, Tokushima, Japan.
32. Matsuura, K., Katsumoto, K., Kume, S. Analysis of the origin of the ventral pancreas. 41th Annual Meeting of the Japanese Society of Developmental Biology, 28-31 May, 2008, Tokushima, Japan.
33. Harada, S., Shiraki, N., Kume, K., Kume, S., Microarray analysis of endoderm specific genes. 41th Annual Meeting of the Japanese Society of Developmental Biology, 28-31 May, 2008, Tokushima, Japan.
34. 久保田栄子. (特別講演) 消化器系の再生医学研究の現状と展望. 熊本会議、5月31日 2008、熊本。
35. 久保田栄子. (招待講演) Application of multipotent stem cells for the regeneration of digestive tissue cells. 第29回日本炎症・再生医学会、6月9日 2008、東京。
36. Shiraki, N., Umeda, K., Higuchi, Y., Goto, H., Araki, K., Sakashita, N., Takeya, M., Kume, K., Kume, S. Differentiation of ES cells towards pancreatic and hepatic lineages. 第60回日本細胞生物学会大会、6月29日-7月1日 2008、横浜。
37. Yoshida, T., Shiraki, N., Baba, H., Goto, M., Fujiwara, S., Kume, K., Kume, S. 新規膵幹細胞マーカーの同定. 第60回日本細胞生物学会大会、6月29日-7月1日 2008、横浜。
38. 久保田栄子. (招待講演) 「ES細胞を用いた消化器官の発生と再生医学研究」 国立環境研究所セミナー、7月1日 2008、茨城。
39. 久保田栄子. ES細胞を用いた消化器官の分化誘導. シンポジウム『幹細胞を用いた臓器形成の基礎と応用』、7月9日 2008、東京。
40. 久保田栄子. (招待講演) 消化器系細胞へのES細胞の分化誘導. 埼玉医科大学 ゲノム医学研究センター 卒後教育委員会後援学術集会、7月11日 2008、埼玉。
41. 久保田栄子. (招待講演) ES細胞から消化器系細胞の分化誘導. 独立行政法人・医薬基盤研究所セミナー、7月17日 2008、大阪。
42. 久保田栄子. (基調講演) ES細胞・iPS細胞・そして夢の再生医学. 第3回熊本大学 ホームカミングデー、11月2日 2008、熊本。
43. Murata, K., Yoshida, T., Miki, R., Oki, S., Meno, C., Kume, K., Kume, S. Visualizing the origin of the dorsal and ventral pancreas. 31th Annual meeting of the Japanese Society of Molecular Biology, 81th Annual meeting of the Japanese Society of Biochemistry joint meeting, 9-12 Dec 2008, 神戸。
44. Harada, S., Shiraki, N., Matsuura, K., Katsumoto, K., Kume, K., Kume, S. Microarray analysis of endoderm specific genes. 31th Annual meeting of the Japanese Society of Molecular Biology, 81th Annual meeting of the Japanese Society of Biochemistry joint meeting. 9-12 Dec. 2008, 神戸。
45. Shiraki, N., Umeda, K., Higuchi, Y., Goto, H., Araki, K., Kume, K., Kume, S. Guided differentiation of ES cells into pancreatic endoderm using supporting cells. 31th Annual meeting of the Japanese Society of Molecular Biology, 81th Annual meeting of the Japanese Society of Biochemistry joint meeting. 9-12 Dec, 2008, 神戸。
46. 松尾顕. (ポスター) The expression patterns of a candidate hepatic stem / progenitor marker gene during embryonic development and liver regeneration. 発生研再生研CDB慶應ジョイントフォーラム、1月7-8日 2009、熊本大学・発生研、阿蘇。

47. 樋口裕一郎. (ポスター) In vitro Differentiation of ES cells into pancreatic endocrine progenitors is potentiated in serum free conditions. 発生研再生研CDB慶応ジョイントフォーラム、1月7-8日2009、熊本大学・発生研、阿蘇.
48. 勝本恵一. (ポスター) Analyses of the mechanism of dorsal pancreas specification in the early chick endoderm. 発生研再生研CDB慶応ジョイントフォーラム、1月7-8日2009、熊本大学・発生研、阿蘇.
49. 白木伸明. (ポスター) Differentiation of ES cells towards pancreatic and hepatic lineages using supporting cells. 発生研再生研CDB慶応ジョイントフォーラム、1月7-8日2009、熊本大学・発生研、阿蘇.
50. 余昭苑. (講演) 消化器系細胞への多能性幹細胞の分化誘導. 発生研再生研CDB慶応ジョイントフォーラム、1月7-8日2009、熊本大学・発生研、阿蘇.
51. 余昭苑. (招待講演) 幹細胞を用いた消化器系の発生再生研究. 第5回宮崎サイエンスキャンプ2月20-22日2009、宮崎.
52. 余昭苑. (招待講演) Application of multipotent stem cells for the regeneration of digestive tissue cells. 第8回日本再生医療学会『幹細胞の生物学』3月5日2009、東京. (座長)
53. 余昭苑. (招待講演) 幹細胞を用いた消化器官の再生医学研究. 第112回日本小児科学会学術集会4月17日2009、奈良.
54. 余昭苑. (招待講演) Stem cells differentiation into Pancreatic and Hepatic Lineages. Bioelectronics Seminar, 4月22日2009、熊本.
55. Yoshida, T., Shiraki, N., Baba, H., Goto, M., Fujiwara, S., Kume, K., Kume, S. The analysis of the expression patterns of Epiplakin1. 42th Annual Meeting of the Japanese Society of Developmental Biology, 5月28-31日2009、新潟.
56. Yamane, K., Higuchi, Y., Shiraki, N., Kume, K., Kum, S. Differentiation of the mouse induced pluripotent stem cells into pancreatic cell lineages. 42th Annual Meeting of the Japanese Society of Developmental Biology, 5月28-31日2009、新潟.
57. 余昭苑. (招待講演) ES・iPS細胞から消化器官細胞への分化誘導研究. 第83回医工学フォーラム 5月29日2009、京都.
58. 余昭苑. (招待講演) ES・iPS細胞から消化器官細胞への分化誘導研究. 第49回先天異常学会、6月25-27日2009、鹿児島.
59. 余昭苑. (招待講演) 幹細胞を用いた消化器官の発生再生研究. 第33回阿蘇シンポジウム、8月1日2009、阿蘇.
60. 余昭苑. 幹細胞から消化器官細胞への分化誘導. 産総研セミナー、8月18日2009、茨城.
61. 余昭苑. 肝臓細胞作製. 研究用モデル細胞の創製技術開発委員会、8月19日2009、川崎.
62. 余昭苑. 第三回「組織構築のダイナミックプログラム」研究会 9月11日2009、東京.
63. 余昭苑. 脾臓の分化誘導. 生化学会シンポジウム 10月21日2009、神戸.
64. 余昭苑. ES/iPS細胞を用いた消化器官細胞への分化誘導. 慶應大学医学部佐谷研セミナー、10月27日2009、東京.
65. 余昭苑. 幹細胞を用いた消化器官細胞への分化誘導. 第15回大阪大学医療組織工学フォーラム、12月1日2009、大阪.
66. 余昭苑. 「ES細胞の肝細胞分化について」厚生労働科学研究費 政策創薬総合研究事業「ヒト由来細胞・組織バンクの活用 拡大のためのシステム構築と研究資源の高度化に関する研究」(代表研究者:後藤雄一 国立精神・神経センター神経研究所部長、分担研究(自治医科大学 小林英司教授)「創薬分野におけるヒト肝細胞の研究資源化の現状と将来展望について」の一環、12月5日2009、東京.
67. Nakamura, Y., Matsumoto, S., Shiraki, N., Mochida, T., Nakamura, K., Takehana, K., Kume, S., Endo, F. Glycine regulates the proliferation and differentiation of stem cells. 第32回日本分子生物学 12月9-12日2009、横浜.

68. Umeda, K., Shiraki, N., Sakano, D., Tokieda, K., Kume, K., Kume, S.ヒトES細胞から膵前駆細胞への分化誘導. 第32回日本分子生物学 12月 9-12日 2009、横浜.
69. Ueno, T., Kume, S., Kume, K. Dopamine modulates temperature preferences and energy homeostasis in *Drosophila*. 第32回日本分子生物学 12月 9-12日 2009、横浜.
70. Ogaki, S., Harada, S., Shiraki, N., Kume, K., and Kume, S. Microarray analysis of endoderm specific genes. 第32回日本分子生物学 12月 9-12日 2009、横浜.
71. Katsumoto, K., Matsuura, K., Fukuda, K., Kume, S. Analysis of the dorsal and ventral pancreas development in the early chick embryo. 第32回日本分子生物学 12月 9-12日 2009、横浜.
72. Nagae, G., Isagawa, T., Shiraki, N., Kaneda, A., Suemori, H., Kume, S. Aburatani, H. Tissue-specific promoter hypomethylation as a new aspect of tissue-specific differentially methylated regions, T-DMR 第32回日本分子生物学 12月 9-12日 2009、横浜.
73. Miki, R., Murata, K., Yoshida, T., Kume, K., and Kume, S. Fate maps of the ventral and dorsal pancreatic progenitor cells in early somite stage mouse embryos. 第32回日本分子生物学 12月 9-12日 2009、横浜.
74. Higuchi, Y., Shiraki, N., Zeng, Q., Mochitate, K., Yamane, K., Kume, K., and Kume, S. Synthesized basement membrane dependent differentiation procedures of the mouse ES or iPS cells into pancreatic cell lineages. 第32回日本分子生物学 12月 9-12日 2009、横浜.
75. Shiraki, N., Zeng, Q., Mochitate, K., Higuchi, Y., Umeda, K., Kume, K., Kume, S. Efficient differentiation of mouse and human ES cells into hepatic cells using feeder free basement membrane substratum in vitro. 第32回日本分子生物学 12月 9-12日 2009、横浜.
76. Matsuo, A., Yoshida, T., Miki, R., Kume, K., and Kume, S. Epiplakin1 marks the cholangiocytes and hepatic stem/progenitor cells in adult and injured liver. 第32回日本分子生物学 12月 9-12日 2009、横浜.
77. Kawamuro, K., Miki, R., Yasukawa, T., Yoshida, T., Shiraki, N., Kume, K., and Kume, S. 膵再生時における Epiplakin 1 の発現パターンの解析. 第32回日本分子生物学 12月 9-12日 2009、横浜.
78. Yamane, K., Higuchi, Y., Shiraki, N., Kume, K., Kume, S. Establishment of efficient transplantation methods using ES or iPS cell-derived pancreatic cells. 第32回日本分子生物学 12月 9-12日 2009、横浜.
79. 余昭苑. ES/iPS 細胞から肝への分化誘導.スパーク特区会議(推進委員会)(独)医薬基盤研究所、1月 5 日 2010、大阪.
80. 余昭苑. 幹細胞を用いた膵 β 細胞の再生医学研究の現状. 日本IDDMネットワークシンポジウム、1月 30 日 2010、京都.
81. 余昭苑. ES/iPS 細胞から膵と肝への分化誘導研究. 第23回幹細胞治療フォーラム 東大医科学研究所 2月 18 日 2010、東京.
82. 余昭苑. 熊本大学グローバル COE プログラム細胞系譜制御研究教育ユニットの構築. 熊本大学医学教育部大学院 FD 講演会、2月 19 日 2010、熊本.
83. 余昭苑. 熊本大学グローバル COE プログラム細胞系譜制御研究教育ユニットの構築. 第2回生命科学系 GCOE ネットワーク・フォーラム、2月 20 日 2010、京都.
84. 余昭苑. 男女共同参画の最近の歩み～熊大の取り組みと今後の展望～. 医学部附属病院 男女共同参画推進フォーラム、3月 10 日 2010、熊本.
85. 余昭苑. ES/iPS 細胞から膵と肝への分化誘導研究. 京都大学再生研セミナー、3月 12 日 2010、京都.
86. 白木伸明, 樋口裕一郎, 山添太士, 曾勤, 持立克身, 小林直哉, 余和彦, 余昭苑. 人工基底膜を用いた ES 細胞から肝細胞への分化誘導. 第9回日本再生医療学会総会 シンポジウム「肝移植・再生」、3月 19 日 2010、広島.

87. Matsuo, A., Yoshida, T., Miki, R., Fujiwara, S., Kume, K., and Kume, S. Epiplakin1 Marks the Cholangiocytes Hepatic Stem/progenitor Cells in Adult and Injured Liver. CDB シンポジウム 2010 Frontiers in Organogenesis, 3月 23-25 日 2010、神戸.
88. 亀昭苑. The Guided differentiation of ES cells into the pancreatic lineage. Symposium on "In vitro conversion of stem cells to beta cells" ice, 3月 28 日 2010、京都.
89. 貝塚拓、野口洋文、白木伸明、魏范研、亀昭苑、富澤一仁. 蛋白質導入法によるES細胞からインスリン産生細胞への分化誘導. 第87回日本生理学会、5月 19 - 21 日 2010、山形.
90. 亀昭苑. ES/iPS 細胞から膵細胞系譜への分化誘導. 第 53 回日本糖尿病学会年次学術集会シンポジウム「膵内分泌機能の再生～移植から再生医療まで～」、5月 27 日 2010、岡山.
91. 亀昭苑. Guiding ES/iPS cells to differentiate into pancreatic beta cells. 第 43 回発生生物学会 シンポジウム、6月 23 日 2010、京都.
92. 亀昭苑. 膵臓・肝臓の再生医療と創薬への応用. Walk Again 2010 再生医療シンポジウム、7月 25 日 2010、福岡.
93. 持立克身、亀昭苑、曾勤、小高真希、白木伸明、樋口裕一郎、永野麗子. 基底膜構造体を培養基質に用いた幹細胞の分化と機能発現. シンポジウム：再生医療・臓器再生・人工臓器とマトリックス工学 第 42 回日本結合組織学会学術大会・第 57 回マトリックス研究会大会合同学術集会、8月 19-20 日 2010、秋田.
94. 亀昭苑. 糖尿病と再生医学. くまもと県民カレッジリレー講座「キャンパスパレア」8月 22 日 2010、熊本.
95. 亀昭苑. 男女共同参画推進セミナー. 平成 22 年度生命科学研究、9月 22 日 2010、熊本.
96. 亀昭苑. ES/iPS 細胞の分化誘導をサポートする細胞外環境の重要性. 専門家と直接意見交換シンポジウム in KRP PartIII 再生医療を支える「モノづくり」の力～細胞の基礎生物学研究から再生誘導治療、そして創薬開発まで～、10月 19 日 2010、京都.
97. 亀昭苑. 研究も人生も楽しく. 『男女共同参画とワーク・ライフ・バランス』男女共同参画シンポジウム in 熊本大学 日本化学会西日本大会 2010 第2回男女共同参画シンポジウム、11月 6 日 2010、熊本.
98. 亀昭苑. Guiding ES/iPS cells to differentiate into pancreatic b cells. 京都大学化学研究所上杉研究室セミナー、11月 16 日 2010、京都
99. Matsuo, A., Yoshida, T., Miki, R., Fujiwara, S., Kume, K., and Kume, S. Epiplakin1 (Eppk1) marks the cholangiocytes and transit amplifying cells in injured liver. 第 33 回分子生物学会、12月 7 - 10 日 2010、神戸.
100. Nagae, G., Isagawa, T., Shiraki, N., Suemori, H., Kume, S., Aburatani, H. Tissue-type specific hypomethylation in CpG-poor promoters during cellular differentiation. 第 33 回分子生物学会、12月 7 - 10 日 2010、神戸.
101. Isagawa, T., Nagae, G., Shiraki, N., Sato, N., Kume, S., Aburatani, H. DNA methylation profiling in differentiation of embryonic stem cells into three germ layers. 第 33 回分子生物学会、12月 7 - 10 日 2010、神戸.
102. Miki, R., Yoshida, T., Shiraki, N., Kume, K., and Kume, S. Analysis of Epiplakin1 expression during pancreatic regeneration. 第 33 回分子生物学会、12月 7 - 10 日 2010、神戸.
103. Kawamuro, Y., Miki, R., Yasukawa, T., Yoshida, T., Shiraki, N., Kume, K., and Kume, S. Regeneration of beta cells in neonatal mouse after streptozotocin treatment. 第 33 回分子生物学会、12月 7 - 10 日 2010、神戸.
104. Sakano, D., Shiraki, N., Kataoka, M., Uesugi, M., Saya, H., Kume, K., and Kume, S. The establishment of a screening system for low molecular compounds for β cell inducing activity. 第 33 回分子生物学会、12月 7 - 10 日 2010、神戸.
105. Ogaki, S., Shiraki, N., Kume, K., and Kume, S. Generation of intestinal epithelial like cell derived from ES cells. 第 33 回分子生物学会、12月 7 - 10 日 2010、神戸.

106. Shiraki, Y., Shiraki, N., Mochida, T., Kume, S., Endo, F. The effects of amino acids on the differentiation of mouse embryonic stem cells into hepatic lineages. 第33回分子生物学会、12月7-10日2010、神戸。
107. Shiraki, N., Zeng, Q., Mochitate, K., Higuchi, Y., Umeda, K., Kume, K., Kume, S. Efficient differentiation of mouse and human ES/iPS cells into hepatic cells using feeder free basement membrane substratum. 第33回分子生物学会、12月7-10日2010、神戸。
108. Yamazoe, T., Shiraki, N., Umeda, K., Kume, K., and Kume, S. A novel culture environment that promotes hepatic differentiation from human iPS and mouse ES cells. 第33回分子生物学会、12月7-10日2010、神戸。
109. 余昭苑. 幹細胞を用いた消化器官の再生医学と創薬への利用. 鹿児島大学「FSRC先端医療開発分野セミナー」、1月27日2011、鹿児島。
110. 余昭苑. 多能性幹細胞から膵臓と肝臓への分化誘導. (株) 同仁化学研究所セミナー、2月1日2011、熊本。
111. 余昭苑. 脇 β 細胞の分化と再生研究. シオノギ創薬イノベーションセンターセミナー、2月25日2011、札幌。
112. Kataoka, M., Sakano, D., Shiraki, N., Kume, K., Kume, S. The establishment of a screening system for low molecular compounds for β cell inducing activity. 44th Annual Meeting for JSDB 5月18-21日2011、沖縄。
113. Yamazoe ,T., Shiraki, N., Umeda, K., Kume, K., and Kume, S. A synthetic nanofibrillar matrix that promotes hepatic differentiation of mouse and human ES cells and iPS cells in vitro. 44th Annual Meeting for JSDB 5月18-21日2011、沖縄。
114. Ogaki, Shiraki, Kume, K., and Kume S. Generation of intestinal epithelial like cell derived from ES cells . 44th Annual Meeting for JSDB 5月18-21日2011、沖縄。
115. 余昭苑, 白木伸明, 山添太士, 曾勤, 持立克身. ES/iPS 細胞から肝への分化誘導. 日本組織培養学会第84回大会 日本組織培養学会・動物実験代替法学会合同シンポジウム「ES, iPS 細胞の培養技術と動物実験代替法への利用スキーム」—JTCA-JSAAE 合同シンポジウム 5月27日2011、東京。
116. 余昭苑. ヒト iPS 細胞から膵 β 細胞の分化誘導. 最先端・次世代研究開発プログラムキックオフシンポジウム、6月30日2011、熊本。
117. 余昭苑. 多能性幹細胞を用いた膵 β 細胞の発生・再生研究. サノフィ・アベンティス、8月21日2011、京都。
118. 余昭苑. (特別講演) 多能性幹細胞から膵 β 細胞への分化研究. 東京インスリン分泌研究会、9月28日2011、東京。
119. 余昭苑. 多能性幹細胞を用いた肝・膵への分化誘導研究. 東京医科歯科大学 難治疾患共同研究拠点事業による研究集会『器官発生の分子機構解明と疾患克服への基盤的理解』10月21日2011、東京。
120. 余昭苑. (特別講演) 多能性幹細胞から膵 β 細胞への分化研究の最近の進歩. 日常診療に役立つ熊本代謝・内分泌研究会 10月25日2011、熊本。
121. 余昭苑. 多能性幹細胞から膵 β 細胞への分化研究の最近の進歩. 中国糖尿病学会、11月26日2011
122. 白木伸明. 内胚葉分化における細胞外基質の役割. 大阪大学蛋白質研究所セミナー・幹細胞を制御する環境因子の分子基盤、12月1日2011、大阪。
123. 白木伸明、山添太士、曾勤、大竜敬子、持立克身、余和彦、余昭苑. Efficient differentiation of embryonic stem cells into hepatic cells in vitro using a feeder-free basement membrane substratum. The 34th Annual Meeting of the Molecular Biology Society of Japan, 12月15日2011、横浜。
124. Yamazoe, T., Shiraki ,N., Kume, K., Kume, S. A synthetic nanofibrillar matrix that promotes hepatic differentiation of mouse and human ES cells and iPS cells in vitro. The 34th Annual Meeting of the Molecular Biology Society of Japan. The 34th Annual Meeting of the Molecular Biology Society of Japan, 12月15日2011、横浜。

125. Tayama S., Yamazoe T., Shiraki N., Kume K., Kume S. Optimization of long-term culture condition for murine primary hepatocytes. The 34th Annual Meeting of the Molecular Biology Society of Japan, 12月15日 2011、横浜.
126. Shahjalal Hussain Md., Shiraki N., Kume K., and Kume S. Differentiation of human iPS cells into pancreatic lineages in xeno-free, chemically defined culture system. The 34th Annual Meeting of the Molecular Biology Society of Japan. 12月15日 2011、横浜.
127. Kataoka, M., Kawamuro, Y., Miki, R., Sakano, D., Shiraki, N., Yoshida, T., Kume, K., and Kume, S. Regeneration of beta cells in neonatal mouse after streptozotocin treatment. The 34th Annual Meeting of the Molecular Biology Society of Japan. 12月15日 2011、横浜.
128. Miki, R., Murata, K., Yoshida, T., Shinya, Oki., Kume, K., and Kume, S. Fate maps of ventral and dorsal pancreatic progenitor cells in early somite stage mouse embryos. The 34th Annual Meeting of the Molecular Biology Society of Japan. 12月15日 2011、横浜.
129. 兼昭苑. 男女共同参画とは?~熊本大学の取り組みと今後の展望~. 岩手医科大学男女共同参画シンポジウム、2月16日 2012、岩手.
130. 兼昭苑. 熊本大学における男女共同参画事業. 科学技術人材育成費補助金「女性研究者養成システム改革加速」シンポジウム、3月26日 2012、熊本.