

令和 3 年 5 月 17 日現在

機関番号：17701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K09839

研究課題名(和文) 遺伝子工学的的手法による乳歯歯髄細胞からの体性幹細胞単離とその特性解析

研究課題名(英文) Isolation and characterization of somatic stem cells from human deciduous tooth-derived dental pulp cells by genetic engineering techniques

研究代表者

稲田 絵美 (Inada, Emi)

鹿児島大学・医歯学域鹿児島大学病院・講師

研究者番号：30448568

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：我々の過去の研究で得られた仮説「アルカリホスファターゼ(ALP)活性が高く、OCT-3/4をはじめとする複数の幹細胞特異的遺伝子を発現する乳歯歯髄細胞(HDDPC)は、山中4因子の導入により、初期化(iPS細胞化)を受けやすい」に基づき、ALP陽性、陰性細胞を単一細胞として分取し、その遺伝子発現を解析した。その結果、ALP陽性細胞はALPとOCT-3/4を発現していた。一方、ALP陰性細胞はALPとOCT-3/4の発現がなく、SOX2の発現を認めた。以上から、「HDDPCには遺伝子発現プロファイルを異にする体性幹細胞(SSC)が存在する」と考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

幹細胞を特徴付けるマーカーの多くはOCT-3/4、SOX2等の核内転写因子やALP等の細胞内因子であり、これらを発現する幹細胞は生きた形では細胞表面分子を標的としたFACS等による細胞捕捉で単離・濃縮できない。本研究では、HDDPCから幹細胞特異的遺伝子を発現する少数個の細胞を単離し、微量なmRNAを調製した。これを基にする分子生物学的解析から、個々の細胞における遺伝子発現様式を解明することができた。本法により未知の分子マーカー発見の可能性があること、少数個の細胞で特定の遺伝子発現プロファイル作成が可能となることが期待され、HDDPCに含まれる幹細胞の特性をあぶり出す点で学術的意義は高い。

研究成果の概要(英文)：Based on our previous hypothesis [human deciduous tooth-derived dental pulp cells (HDDPCs) with high alkaline phosphatase (ALP) activity and enriched with OCT-3/4 and SOX2 tend to be easily reprogrammed into induced pluripotent stem cells when they are transfected with vectors carrying Yamanaka's reprogramming factors], we isolated two or more (~10) ALP-positive (HDDPC-ALP(+)) and negative (HDDPC-ALP(-)) cells in HDDPCs for molecular profiling. Consequently, we demonstrated that HDDPC-ALP(+) cells expressed both ALP and OCT-3/4. In contrast, HDDPC-ALP(-) cells expressed SOX2, but not ALP and OCT-3/4. These findings indicate that there are various types of somatic stem cells with different pluripotent cell-specific gene expression profiles in HDDPCs.

研究分野：小児歯科

キーワード：遺伝子工学的的手法 乳歯歯髄幹細胞 体性幹細胞

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

ヒト iPS 細胞は国内で独自に開発された細胞であり、患者由来の細胞を使った疾患の原因解明、新薬の安全性・有効性試験、細胞移植治療などに活用されている。一方、「体性幹細胞(somatic stem cell)、以下 SSC」は骨髄をはじめとする多くの組織に存在し、その多分化能性と低発癌誘発性の点から、疾病、老化、外傷などで損傷した組織の修復・再生に広く利用されている。歯系分野でも 2003 年にヒト脱落乳歯歯髄幹細胞 (SHED) の存在が報告されてから、通常 6~12 歳ころの歯の交換期に廃棄される乳歯歯髄細胞 (以下、HDDPC) も組織再生のための有望な細胞リソースとみなされている。一般的に、SSC を臨床応用するには、ピュアな細胞集団を濃縮する必要がある。残念ながら、HDDPC は幹細胞を含む不均一な細胞集団であるため、HDDPC を再生医療に使うには、特定の SSC を特異的に濃縮・純化することが求められる。

2. 研究の目的

SSC の濃縮・純化には、細胞表面に発現する特定分子に結合する抗体を用いた FACS などによる細胞回収が一般的である。実際、STRO-1、SSEA-4、CD49 などのマーカーを用いて骨髄系幹細胞が単離されているが、HDDPC 由来 SSC の純化は、未だ、手付かずの状態にある。FACS による細胞回収には、単離後の細胞が不安定化する恐れがつかまとう。また、FACS は転写因子など細胞内にある分子を標的とした場合には対応できない。

以上より、

- (1) FACS を使わずに幹細胞特異的遺伝子を発現する SSC を単離できるかどうか、
- (2) 単離後、本来の幹細胞の性質を担保する新たなシステムの開発が可能かどうか、という点を探るべく、本研究では遺伝子工学的手法で幹細胞特異的マーカー発現 SSC を単離・濃縮し、それらを分子生物学的に解析することにより、HDDPC 由来 SSC の実体を解明することを目的とする。

3. 研究の方法

本研究では HDDPC 由来 SSC を再生医療 (特に歯再生) に応用することを最終目標に据え、

- ・ HDDPC への不死化遺伝子導入による細胞不死化株の樹立、
 - ・ 遺伝子工学的手法による HDDPC 由来 SSC の単離・濃縮、
 - ・ 単離株のマイクロアレイ解析などによる遺伝子発現様式の比較解析、
 - ・ 単離株の多分化能性、iPS 細胞誘導能などの細胞機能解析、
- などの検討から、HDDPC 由来 SSC の実体を明らかにする。

(1) 不死化 HDDPC 株の樹立:

実験材料に用いる HDDPC はもともと初代培養由来なので、遺伝子導入/細胞選別/薬剤耐性コロニー単離/細胞拡大の過程で細胞増殖が低下し、細胞が劣化する傾向にある。この傾向を回避すべく、「不死化 HDDPC 株」を先ず作る必要がある。本申請では、これまでその作製に実績があった、piggyBac (PB) トランスポゾンにテロメア逆転酵素 (telomerase reverse transcriptase, TERT) 遺伝子発現ユニットを組み込んだ不死化用ベクター pT-hEST を HDDPC への遺伝子導入に使用する。なお、TERT 内のヒトテロメラーゼ触媒サブユニット (hEST2) は、細胞分裂によるテロメア短縮を補い、細胞分裂を継続させる働きがある。

具体的には、図 1 に示すように、HDDPC に pT-hEST + puromycin 耐性遺伝子 (*puro*) 発現トランスポゾンベクター pT-puro + PB transposase 発現ベクター pTrans を、Neon® Transfection system (Invitrogen) を用いて HDDPC に遺伝子導入する。遺伝子導入 4 日目に細胞を回収し、puromycin を含む培地で 5 日間培養した後、正常培地にてコロニーが成長するのを待つ。細胞が confluent になるまで培養し、「不死化 HDDPC 株」とする。この株は、細胞 clone としては不均一であるが、様々な SSC を含む可能性がある。細胞が不死化したどうかの確認は、10 継代過ぎても増殖活性が落ちないこと、hEST2 の継続発現 (RT-PCR で確認) が指標となる。

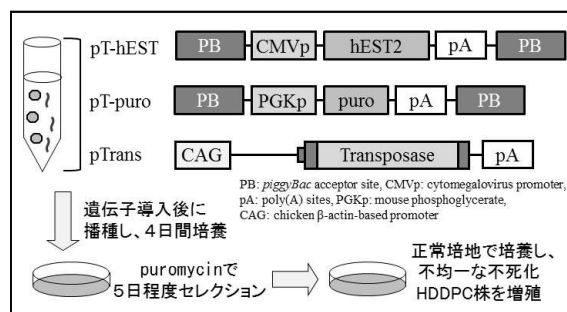


図 1: 不死化 HDDPC 細胞株の樹立

(2) 幹細胞特異的遺伝子 promoter 内蔵トランスポゾンの構築と作動性の確認:

各種幹細胞特異的遺伝子 promoter の下流に、EGFP (緑蛍光蛋白) cDNA + poly(A) 付加部位 + neomycin

耐性遺伝子発現ユニット(neo)を内蔵するPB系ベクター、pT-dOEN、pT-SOXEN、pT-NANENを構築する。ヒトSOX2 promoter(11.5-kb: Liu博士より譲渡)とヒトNANOG promoter(5.5-kb: Chen博士より譲渡)はすでに入手済み。OCT-3/4 promoterを搭載したpT-dOENは既に構築してある。構築したベクターの機能性を評価すべく、マウスF9細胞(未分化な細胞(teratocarcinoma)で、Oct-3/4、Sox2、Nanogを恒常的に発現する)にこれらベクターを遺伝子導入する。導入後、2~4日目に細胞を回収し、EGFP由来緑蛍光の有無を調べる。

(3) 不死化HDDPC株へのトランスポゾンベクターの遺伝子導入による安定株の取得:

不死化HDDPC株へ、pT-dOEN + pTrans、pT-SOXEN + pTrans、あるいはpT-NANEN + pTransをNeon® Transfection systemを用いて遺伝子導入する。遺伝子導入後、4日目に細胞を回収し、neomycin analogueであるG418を含む培地で培養する。生じる薬剤耐性コロニーを拾い、拡大させ、それぞれの安定株を得る。

(4) OCT-3/4、SOX2、NANOG細胞株取得と特性解析:

研究計画3)の実験を継続させ、最終的にOCT-3/4、SOX2、NANOGの発現パターンが異なる数種の細胞株(例えば、OCT-3/4+, SOX2-, NANOG-)を得る。これら細胞からmRNAを採取し、各種幹細胞特異的遺伝子発現様式をRT-PCR法、マイクロアレイ法(外注)、NGS法(外注)などで検索する。また、抗体を用いた免疫細胞染色を行い、細胞株が目的のタンパクを発現しているかを確認する。特に、マイクロアレイ/NGSなどの解析から細胞の特性がある程度判明するので、細胞株における遺伝子発現の分類パネル(遺伝子プロファイリング)を作製し、株間の近似性を調べる。

(5) 細胞機能解析:

各株の増殖速度の決定、山中4因子導入によるiPS細胞のできやすさ(初期化されやすさ)、神経や骨などの分化細胞への分化能などを検討する。前者については、我々は「SSCは通常の分化細胞よりも初期化されやすい」という仮説を持つが、得られたアルカリ性フォスファターゼ(ALP)(陽性)、OCT-3/4(陽性/陰性)、SOX2(陽性/陰性)、NANOG(陽性/陰性)細胞株のどれもが同等に初期化されるとは考え難い。よって、iPS細胞のできやすさについての各種細胞間の差異について検討する。

4. 研究成果

(1) 不死化HDDPC株の樹立

平成30年度は、2種類の不死化用PBトランスポゾンベクターpT-E7(E7遺伝子を搭載)とpT-hEST(pT-hTERTとも呼ぶ; ヒトTERT cDNAを搭載)を作製し、他のマーカー遺伝子搭載のPBトランスポゾンベクター(pT-pac + pT-tdTomato or pT-EGFP)、transposase発現ベクターpTransと共に、HDDPCへ遺伝子導入した。その後、薬剤選択により出現コロニーを拾い上げ、株化した。最終的にpT-E7由来の株は2個、pT-hEST由来の株は3個得た。これら株について親株と差があるか検討した。いずれも、プラトーに達した後の細胞増殖の停止(細胞接触阻害)を認めた。また、同程度のALP活性、OCT-3/4、SOX2、NANOG、NESTINの発現を認めた。更に、いずれも、*in vitro*において神経や骨細胞へ分化する能力を維持していた。

一方、HDDPCの不死化による細胞の癌化(悪性化)の可能性についても検討した。癌細胞は細胞外基質に接着しなくても、生存・増殖する(「足場非依存性増殖」)。不死化HDDPC株を寒天上(足場がない状態での培養)で培養すると、増殖不能であった。一方、悪性腫瘍の一つであるマウスF9細胞(対照)は増殖を継続させた。さらに、*in vivo*で造腫瘍性を検討した。iPS細胞をヌードマウス臍臓内に移植すると、その細胞が少数(~100)でも移植細胞は腫瘍塊(teratoma)を形成することを我々は既に見出していた。この*in vivo*の系を用い、不死化HDDPC株をヌードマウス臍臓内に移植したが、1.5ヶ月を経ても固形腫瘍の形成を認めず、同細胞株は非悪性細胞と考えられた。

以上の結果から、我々は「親株の特性を保持したまま細胞(HDDPCs)の不死化に成功した」と考えた。

(2) 免疫染色を施された少数細胞の分取

研究計画の通り、幹細胞特異的遺伝子のpromoter搭載ベクターの導入を試みたものの、遺伝子導入後の細胞生存率が低かった。そこで、幹細胞特異的遺伝子を発現する細胞を単一細胞の形で取得する他の方法を検討した。

一般的に、歯以外の組織の細胞、例えば、骨髄幹細胞等の単離・濃縮にはCD34などの細胞表面分子を指標に、それに結合する抗体を用いたFACSによる細胞捕捉が採用されている。しかし、OCT-3/4、SOX2、ALPなどの幹細胞特異的マーカーは、核内転写因子あるいは細胞内因子のため、これら因子を発現する細胞を単離するには、FACSは使えない。これら細胞は、一般的に固定細胞に対する細胞免疫染色、あるいは、生細胞からのmRNA抽出、続く、RT-PCR解析などで同定される。しかし、少数個の固定細胞を拾い、それから微量のmRNAを抽出し、最終的に分子生物学的解析を行うなどのアプローチは殆ど試みられていない。

そこで、免疫染色された細胞(発色剤が沈着)を2~10個程、呼吸制御のガラスピペットを用

いて顕微鏡下で集め、そこから微量の mRNA を回収。得られた cDNA を大量増幅後、RT-PCR 解析が可能かどうかを検討した。まず初めに、我々の過去の研究で得られた「ALP 活性が高く、核内転写因子 OCT-3/4 をはじめとする複数の幹細胞特異的遺伝子を発現する HDDPC は、iPS 細胞化されやすい」という仮説に基づき、ALP 活性検出キットで細胞化学染色を施された HeLa 細胞と HDDPC から ALP 陽性、陰性細胞を単一細胞として分取することを試みた。

培養用 plastic dish にて増殖した各細胞を 0.25% Trypsin-EDTA で剥離する。回収した単一細胞を 4% paraformaldehyde で室温、5 分程固定後、ALP 活性検出キットで細胞化学染色する(図 2-A)。後日、4%牛胎児血清(FBS)を含むリン酸緩衝液(FBS-PBS)に置換する。この ALP 染色細胞懸濁液を非接着性 plate 上に 20 μ L 滴下する。胚操作用ピペットを用いて実体顕微鏡下にて ALP 陽性、陰性細胞それぞれを単一細胞として分取(図 2-B)。microtube 内の FBS-PBS 滴(1 μ L)に実体顕微鏡下にて単一細胞として収める(図 2-C)。場合によっては、10 個程採取する。全トランスクリプトーム増幅(WTA)により、固定・染色された細胞から得た mRNA を鋳型とする cDNA を合成し、得られた cDNA を大量増幅後、少数細胞からの cDNA 取得の妥当性を RT-PCR 法にて調べた。

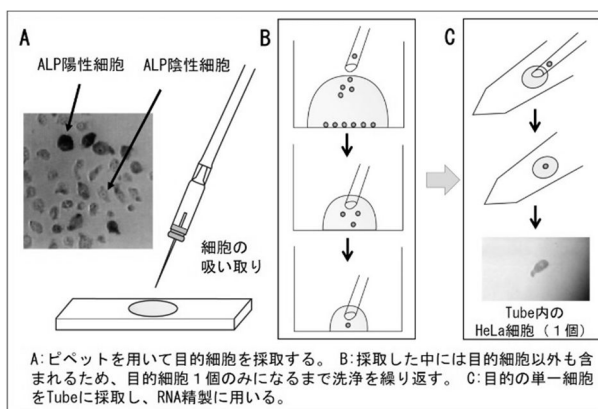


図 2：ピペットを用いた単一細胞分取の行程

その結果、HeLa 細胞と HDDPC の両細胞とも、ALP 染色により ALP 陽性細胞と ALP 陰性細胞に分けて取得することができた。また、ハウスキーピング遺伝子 GAPDH の RT-PCR の結果、どのサンプルも均一なバンドを示し、少数細胞から cDNA 大量増幅に至る過程は問題ないと考えられた。

(3) HDDPC 由来 ALP 陽性、陰性細胞の遺伝子発現解析

HDDPC 由来 ALP 陽性群(HDDPC-ALP(+))と ALP 陰性群(HDDPC-ALP(-))について、RT-PCR を実施した。その結果、HDDPC-ALP(+)には ALP、OCT-3/4 の発現が認められた。一方、HDDPC-ALP(-)には ALP、OCT-3/4 の発現はなかったものの、SOX2 の発現を認めた。

(4) HDDPC 由来 OCT-3/4 陽性、陰性細胞、ならびに SOX2 陽性、陰性細胞の遺伝子解析

HDDPC を OCT-3/4 抗体あるいは SOX2 抗体で一次染色し、ペルオキシダーゼ結合二次抗体で染色した後、HistoGreen で発色した細胞ならびに発色しない細胞を分取した。OCT-3/4 陽性細胞 10 個を OCT-3/4 陽性群、OCT-3/4 陰性細胞 10 個を OCT-3/4 陰性群とした。OCT-3/4 陽性群、陰性群はそれぞれ 2 群ずつ(OCT-3/4 強発現: HDDPC OCT-3/4(+)S、HDDPC OCT-3/4(-)S; OCT-3/4 弱発現: HDDPC OCT-3/4(+)L、HDDPC OCT-3/4(-)L)、SOX2 陽性群、陰性群はそれぞれ 1 群ずつ(HDDPC SOX2(+)、HDDPC SOX2(-))について、RT-PCR を実施した。

OCT-3/4 陽性、陰性細胞について、HDDPC OCT-3/4(+)L では ALP の発現を認めたものの、OCT-3/4、SOX2 の発現は認めなかった。一方、HDDPC OCT-3/4(+)S では OCT-3/4、SOX2 の発現を認めたものの、ALP の発現を認めず、前者と真逆の結果となった。OCT-3/4 陰性である HDDPC OCT-3/4(-)S、HDDPC OCT-3/4(-)L は両者とも ALP、OCT-3/4、SOX2 の発現を認めなかった。

SOX2 陽性、陰性細胞について、HDDPC SOX2(+)は SOX2 の発現を認め、HDDPC SOX2(-)では SOX2 の発現を認めなかった。両者とも共通して、ALP の発現を認め、OCT-3/4 の発現は認められなかった。

以上から、HDDPC には遺伝子発現 profile が異なる幾つかの SSC が存在している」と考えられた。

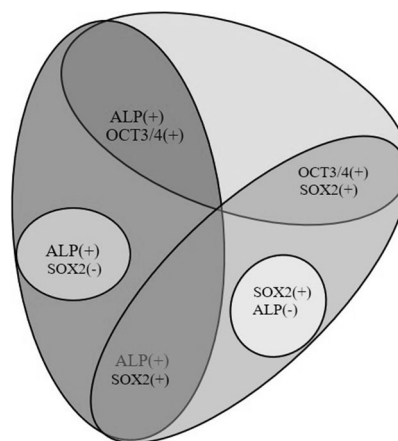


図 3：幹細胞特異的遺伝子の発現パターン図

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計14件（うち査読付論文 14件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 14件）

| | |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名 Sato M, Inada E, Saitoh I, Watanabe S, Nakamura S | 4. 巻 12 |
| 2. 論文標題 piggyBac-Based Non-Viral In Vivo Gene Delivery Useful for Production of Genetically Modified Animals and Organs. | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Pharmaceutics | 6. 最初と最後の頁 pii: E277 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/pharmaceutics12030277 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である） | 国際共著 - |
| 1. 著者名 Kiyokawa Y, Sato M, Noguchi H, Inada E, Iwase Y, Kubota N, Sawami T, Terunuma M, Maeda T, Hayasaki H, Saitoh I | 4. 巻 9 |
| 2. 論文標題 Drug-Induced Naive iPS Cells Exhibit Better Performance than Primed iPS Cells with Respect to the Ability to Differentiate into Pancreatic -Cell Lineage. | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Journal of Clinical Medicine | 6. 最初と最後の頁 E2838 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/jcm9092838 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である） | 国際共著 - |
| 1. 著者名 Sato M, Saitoh I, Akasaka E, Inada E | 4. 巻 5 |
| 2. 論文標題 Development of a novel, pipette tip-aided cell cloning method for effective isolation of genome-edited porcine cell | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 OBM Genetics | 6. 最初と最後の頁 16 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.21926/obm.genet.2101126 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である） | 国際共著 - |
| 1. 著者名 Inada E, Saitoh I, Kubota N, Iwase Y, Kiyokawa Y, Noguchi H, Yamasaki Y, Sato M | 4. 巻 - |
| 2. 論文標題 RNA analysis based on a small number of manually isolated fixed cells (RNA-snMIFxC) to profile stem cells from human deciduous tooth-derived dental pulp cells | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Biological Procedure Online | 6. 最初と最後の頁 - |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である） | 国際共著 - |

| | |
|---|--------------------------|
| 1. 著者名 Inada E, Saitoh I, Kubota N, Iwase Y, Murakami T, Sawami T, Yamasaki Y, Sato M | 4. 巻 20 |
| 2. 論文標題 Increased Expression of Cell Surface SSEA-1 is Closely Associated with Naïve-Like Conversion from Human Deciduous Teeth Dental Pulp Cells-Derived iPS Cells. | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 International Journal of Molecular Science | 6. 最初と最後の頁 pii: E1651 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms20071651 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である) | 国際共著 - |

| | |
|--|--------------------------|
| 1. 著者名 Sato M, Inada E, Saitoh I, Nakamura S, Watanabe S | 4. 巻 20 |
| 2. 論文標題 In Vivo Piggybac-Based Gene Delivery towards Murine Pancreatic Parenchyma Confers Sustained Expression of Gene of Interest. | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 International Journal of Molecular Science | 6. 最初と最後の頁 pii: E3116 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms20133116 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である) | 国際共著 - |

| | |
|--|-----------------------|
| 1. 著者名 Sato M, Saitoh I, Inada E, Nakamura S, Watanabe S | 4. 巻 2 |
| 2. 論文標題 Potential for Isolation of Immortalized Hepatocyte Cell Lines by Liver-Directed In Vivo Gene Delivery of Transposons in Mice. | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 Stem Cells International | 6. 最初と最後の頁 5129526 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1155/2019/5129526 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である) | 国際共著 - |

| | |
|--|--------------------------|
| 1. 著者名 Inada E, Saitoh I, Kubota N, Iwase Y, Kiyokawa Y, Shibasaki S, Noguchi H, Yamasaki Y, Sato M | 4. 巻 20 |
| 2. 論文標題 piggyBac Transposon-Based immortalization of Human Deciduous Tooth Dental Pulp Cells with Multipotency and Non-Tumorigenic Potential. | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 International Journal of Molecular Science | 6. 最初と最後の頁 pii: E4904 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms20194904 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である) | 国際共著 - |

| | |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名 Sato M, Inada E, Saitoh I, Watanabe S, Nakamura S | 4. 巻 12 |
| 2. 論文標題 piggyBac-Based Non-Viral In Vivo Gene Delivery Useful for Production of Genetically Modified Animals and Organs. | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 Pharmaceutics | 6. 最初と最後の頁 pii: E277 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/pharmaceutics12030277 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である) | 国際共著 - |

| | |
|---|-----------------------|
| 1. 著者名 Sato Masahiro, Kosuke Maeda, Koriyama Miyu, Inada Emi, Saitoh Issei, Ohtsuka Masato, Nakamura Shingo, Sakurai Takayuki, Watanabe Satoshi, Miyoshi Kazuchika | 4. 巻 108 |
| 2. 論文標題 Timing of CRISPR/Cas9-related mRNA microinjection after activation as an important factor affecting genome editing efficiency in porcine oocytes | 5. 発行年 2018年 |
| 3. 雑誌名 Theriogenology | 6. 最初と最後の頁 29 ~ 38 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.theriogenology.2017.11.030 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である) | 国際共著 - |

| | |
|--|---------------------|
| 1. 著者名 Sato M, Inada E, Nakamura S, Saitoh I | 4. 巻 2 |
| 2. 論文標題 Intrapancreatic Parenchymal Cell Transplantation as a Possible Model for the Development of a Cell-based Therapy for Type I Diabetes Mellitus | 5. 発行年 2018年 |
| 3. 雑誌名 OBM Transplantation | 6. 最初と最後の頁 1 ~ 1 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21926/obm.transplant.1803016 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である) | 国際共著 - |

| | |
|--|---------------------|
| 1. 著者名 Sato M, Inada E, Saitoh I, Yamasaki Y, Watanabe S | 4. 巻 9 |
| 2. 論文標題 Advance in drug-free acquisition of gene-engineered mammalian cells: A mini-review. | 5. 発行年 2018年 |
| 3. 雑誌名 Current Topics in Biotechnology | 6. 最初と最後の頁 1 ~ 9 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である) | 国際共著 - |

| | |
|---|--------------------|
| 1. 著者名 Soda Miki, Saitoh Issei, Murakami Tomoya, Inada Emi, Iwase Yoko, Noguchi Hirofumi, Shibasaki Shinji, Kurosawa Mie, Sawami Tadashi, Terunuma Miho, Kubota Naoko, Terao Yutaka, Ohshima Hayato, Hayasaki Haruaki, Sato Masahiro | 4. 巻 9 |
| 2. 論文標題 Repeated human deciduous tooth-derived dental pulp cell reprogramming factor transfection yields multipotent intermediate cells with enhanced iPS cell formation capability | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 Scientific Reports | 6. 最初と最後の頁 1490 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-018-37291-2 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である) | 国際共著 - |

| | |
|---|--------------------|
| 1. 著者名 Inada Emi, Saitoh Issei, Kubota Naoko, Iwase Yoko, Murakami Tomoya, Sawami Tadashi, Yamasaki Youichi, Sato Masahiro | 4. 巻 20 |
| 2. 論文標題 Increased Expression of Cell Surface SSEA-1 is Closely Associated with Na ⁺ ve-Like Conversion from Human Deciduous Teeth Dental Pulp Cells-Derived iPS Cells | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences | 6. 最初と最後の頁 1651 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms20071651 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である) | 国際共著 - |

〔学会発表〕 計2件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

| |
|--|
| 1. 発表者名 稲田絵美, 齊藤一誠, 清川裕貴, 早崎治明, 山崎要一 |
| 2. 発表標題 免疫染色された少数細胞の簡便な取得に基づくヒト歯髄細胞の遺伝子発現解析 |
| 3. 学会等名 第58回日本小児歯科学会 |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 稲田絵美, 齊藤一誠, 窪田直子, 村上智哉, 澤味 規, 松枝一成, 早崎治明, 山崎要一 |
| 2. 発表標題 初期胚特異的糖鎖抗原SSEA-1は乳歯歯髄細胞由来iPS細胞の高度未分化状態を特定するマーカーとして有用である |
| 3. 学会等名 第56回日本小児歯科学会 |
| 4. 発表年 2018年 |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

| | 氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |
|-------|---|--|----|
| 研究分担者 | 佐藤 正宏 (Sato Masahiro) (30287099) | 鹿児島大学・総合科学域総合研究学系・教授 (17701) | |
| 研究分担者 | 齋藤 一誠 (Saitoh Issei) (90404540) | 朝日大学・医歯学系・教授 (13101) | |
| 研究分担者 | 野口 洋文 (Noguchi Hirofumi) (50378733) | 琉球大学・医学(系)研究科(研究院)・教授 (18001) | |

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 |
|---------|---------|
|---------|---------|