

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 9 月 26 日現在

機関番号：13201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25460264

研究課題名(和文) 高齢化社会関連疾患モデルを用いた羊膜幹細胞クラスターによる組織再構築機序の解明

研究課題名(英文) Research for analysis by the cluster of amnion derived stem cell

研究代表者

吉田 淑子 (Yoshida, Toshiko)

富山大学・大学院医学薬学研究部(医学)・准教授

研究者番号：00171421

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：難治性疾患に対する治療方法を開発する目的で、羊膜から4種類の幹細胞クラスターを分取する方法を確立した。組織の補填と微小環境の調節による組織再構築を目的として、異なった種類の幹細胞クラスターをin vitroでは共培養する方法で、in vivoでは疾患モデルに移植する方法で組織の再構築効果を検討した。

上記2例のように異なったクラスターを組み合わせた細胞移植は、本来の組織を補填するだけでなく、細胞生育の環境調節が同時に実施できるためにより効率的かつ自然に組織再構築ができる。羊膜由来幹細胞クラスターの利用は、難治性疾患に対する有効な治療方法の一つとして意義のあるものである。

研究成果の概要(英文)：Obstinacy, the stem cell cluster which is 4 kinds from an amnion for the purpose of developing treatment method to a disease, funshu, a way was established. The reorganization effect of the organization was considered by the way to transplant to a disease model in in vivo by the way by which cocultivate makes the different kind of stem cell cluster supplementation of organization in in vitro for the purpose of organization reorganization by control of the minute society.

You can supply the cell transplantation with which a different cluster was combined like 2 examples of above with the original organization and put environmental control of cell growing into effect at the same time, it's more efficient to save and a tissue reconstruction can be done naturally. Use of an amnion origin stem cell cluster is a significant one as one of effective treatment methods to a refractory disease.

研究分野：再生医療

キーワード：羊膜幹細胞クラスター 羊膜由来細胞 組織再構築 疾患モデル 抗炎症効果

### 1. 研究開始当初の背景

日本を初めとして、欧米など多くの国で、未だ特効薬が存在しないアルツハイマーなどの脳神経系の病気、臓器移植が最終的な治療とされる重篤な心臓疾患や肝臓疾患などは、高齢化に伴い増加する傾向にあり、これらの患者のQOLを向上することが早急に求められている。

1998年に発表されたヒト embryonic stem cell (ES細胞)や山中伸弥らのグループ (Takahashi K and Yamanaka S, Cell126,663-676) が作成した induced stem cell (iPS細胞)の有用性は、当然のことだが、骨髄をはじめとする種々の体性幹細胞の有用性も未だ捨て難いものがある。

羊膜は、古くから火傷や創傷の被覆材として利用されており、(Faulk et al., 1980. Lancet :1:1156-8) 現在では、国内において京都府立大学の木下のグループ (Kinoshita S, Koizumi N, Nakamura T. Exp Eye Res. 2004 Mar; 78(3): 483-91) が、海外ではTsai ら (Tsai RJ et al., 2000:343:136-138) が羊膜の臨床応用に着手している。我々もこれらの研究者に遅れることなく、被覆材や足場として羊膜の特性を保持することが可能な独自の方法を既に開発 (Hyper Dry 羊膜: 特許取得) し、眼表面疾患への応用について先進医療Bとして施行中である。

一方、羊膜には幹細胞が存在することが既に報告 (Takashima S. et al., Cell Struct. Funct. 29,73-84, 2004. Wei JP. et al. Cell Transplant. 12, 545-552, 2003) されており、その有効性も認められている。羊膜から単離される羊膜上皮細胞 (hAE) および羊膜間葉系細胞 (hAM) は多分可能を有するが、ES細胞や iPS細胞と比較すると分化効率は低いが、腫瘍は形成せず、抗炎症効果を持つ。しかも、HLA-DR の発現がなく、CD59 を発現していることから、拒絶を起こしがたい細胞である。羊膜は、出産後に廃棄される組織で、羊膜提供者に何ら侵襲を与えることがない。また、一人の羊膜から少なくとも  $2.0 \times 10^8$  個以上の羊膜細胞が採取できるという大きな利点がある。

しかし、未だ臨床研究がおこなわれていない。そこには、これまで研究されてきた多くの体性幹細胞が直面した問題、heterogeneousな細胞群であるため、移植時の有効性に個体差が生じる可能性があるということである。

我々は、先の研究 (H21-23 年度科研費) で、羊膜由来幹細胞を高率に単離、増殖する方法を確立した。単離した幹細胞の研究から、hAE幹細胞及び hAM 幹細胞には、神経幹細胞のマーカーである nestin や musashi などの発現が高い細胞や本来、心筋細胞が発現する NKx.2 の発現を示す細胞が観察された (Zhao P. et al., Transplant. 79, 528-535, 2005)。これらのマーカーは単独の細胞に発現していることから、羊膜幹細胞は hAE 幹細胞、hAM 幹細胞と言うカテゴリーだけでなく、さらにいくつかの特徴をもった heterogeneous な細胞群で

あると考えられる。これらを単離し、解析する方法を確立することが必須である。が未だにほとんど報告されていない。

### 2. 研究の目的

「羊膜細胞を用いて難病や生活習慣病の患者のQOLの向上を目指す」という最終目標に向かい、heterogeneousな羊膜幹細胞を分取した後で、分化誘導し、移植部位での組織再構築を目指す。

・移植に必要な細胞への分化効率を上げ、安定した分化誘導を得るために、細胞の特性により幹細胞を分取した羊膜幹細胞クラスターを作成する。

・羊膜幹細胞クラスターを構成する細胞は、必要に応じ一過性に遺伝子導入や化学物質刺激を行い、幹細胞の分化度を調整する。

・羊膜幹細胞クラスターをヒト疾患モデルに移植し、組織再構築の機序を解明する。移植細胞および移植部位組織の経時的変化を組織学的に、遺伝子やりガンドの発現を分子生物学的に定量し、微小環境と組織再構築の関係を明確にする。以上を目的とした。

### 3. 研究の方法

#### (1) 羊膜幹細胞クラスター作成方法

富山大学医学部医倫理委員会の承認のもと、付属病院および関連病院の協力を得て、インフォームドコンセントが得られた患者の胎盤より羊膜を剥離し、羊膜上皮細胞

(hAEC: human amnion epithelial cell) および羊膜間葉系細胞 (hAMC: human amnion mesenchymal cell) を前述 (Wei JP et al. Cell transplant 12: 545-552, 2003) の方法で採取、単離する。羊膜上皮細胞は表面マーカー

(Tra-1-60, SSEA4により) により分取する。羊膜から分取された羊膜間葉系細胞は、FACSにて大、中、小の三群に分ける。それぞれをデッシュに播種し、細胞密度の調整および培養期間の調整をおこない、紡錘状の細胞塊 (コロニー) が増殖しやすい条件を設定した。これにより分取された細胞を羊膜幹細胞クラスターと呼ぶ。

#### (2) 羊膜幹細胞クラスターの特性の検討

①羊膜幹細胞クラスターの幹細胞関連遺伝子や分化関連遺伝子の発現を mRNA の発現、免疫染色で検討した。

②分化誘導培地で羊膜幹細胞クラスターを培養し分可能を検討した。

・肝細胞への分化: HNF (Hepatocyte nuclear factor)-1, 3, 4, 6, c/EBP, DBP の発現、TGF- $\beta$  などの分化遺伝子の発現を検討し、その発現量によって細胞を区分した。

・心筋細胞への分化: GATA4 の mRNA や心筋細胞特有のタンパク質の免疫染色を行った。

#### (3) 疾患モデルへの移植

羊膜幹細胞を疾患モデルへ移植し、疾患に

対する効果を検討した。

#### ①肝炎モデルへの移植

四塩化炭素投与により肝硬変モデルマウスを作成した。その後、脾臓経由あるいは静脈経由でクラスター細胞を投与し、経時的に3日目、1週間目、1ヶ月、3ヶ月に材料を採取し、組織学、免疫組織学的に検討し、画像解析した。

#### ②多発性硬化症実験モデルへの移植

実験的自己免疫性脳脊髄炎 (EAE) を誘発しモデルを作成した。感作終了翌日に羊膜幹細胞を尾静脈から投与し、経時的に材料を採取した。

### 4. 研究成果

#### (1) クラスターの作成方法の確立

羊膜上皮と羊膜間葉系細胞とを分離した後に、側方散乱光により三分割ゲートを設定し、細胞を分取した。これらの細胞の高密度および低密度での培養を繰り返す (図1)

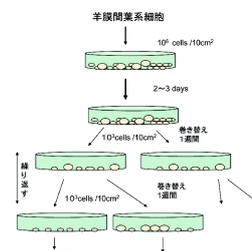


図1 FACSで分取した細胞の培養による純化

ことにより、紡錘状の細胞集塊 (クラスター) を得た。羊膜間葉系細胞から3段階の処理を施すことで、大きさの異なる3種類の細胞を分取することができ、羊膜間葉系細胞にすくなくとも4種類のクラスター、すなわち、すべてのタイプが混在したHAM $\alpha$ 、最も小さいHAM $\alpha$ S、中間のHAM $\alpha$ Mおよび一番おきなHAM $\alpha$ Lを恒常的に区別することが可能となった。(特願2011-257419)

#### (2) 分取したクラスターの性質

##### ①表面マーカーの発現の比較

分取したクラスターの幹細胞関連転写因子の発現、幹細胞関連表面マーカーの発現を検討したところ、Oct3/4の発現はHAM $\alpha$ Mで最も強く、ほとんどの細胞で陽性反応が観察された。一方HAM $\alpha$ Sでは散在性に陽性の細胞が存在した。SOX2の発現はHAM $\alpha$ S細胞が最も強くほとんどの細胞に強い反応が観察された。KLFはいずれの

図2 肝臓細胞への分化誘導

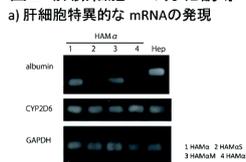
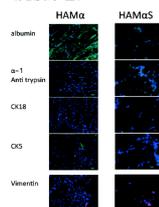


図2 b) 肝臓細胞特異的なマーカーの発現 (免疫染色)



細胞においても反応が見られるが、HAM $\alpha$ Lでは細胞質にはほとんど染まらず、核にのみ局限して存在した。C-MycはHAM $\alpha$ SとLで強い反応が観察された。

間葉系幹細胞の特性であるCD44はHAM $\alpha$ S、M、Lに関係なくいずれの細胞でも発現が観察された。Muse細胞のマーカーであるSSEA3はHAM $\alpha$ Lで発現の強い細胞が多く、しかもHAM $\alpha$ LやMでは通常、羊膜上皮幹細胞のマーカーの一つと考えられるTra-1-60陽性細胞も存在した。神経未分化マーカーであるNestin、Musashi、間葉系細胞マーカーであるVimentinはクラスターに関係なく、いずれの細胞においても強い発現が観察された。

以上から本クラスターはすべて間葉系細胞の表現マーカーを発現するが、転写因子や幹細胞関連表面マーカーの発現に違いがある細胞群であることが分かった。クラスターごとに異なった特性を有することが示唆された。

##### ②分化誘導能の違い

In vitroで肝臓に対する分化能を各クラスター間で比較したところ、誘導後のアルブミンのmRNAの発現は、HAM $\alpha$ およびHAM $\alpha$ Mで認められ、免疫染色によるアルブミンの産生はHAM $\alpha$ でのみ観察された (図2)。心筋細胞への分化誘導ではHAM $\alpha$ Sにおいて心筋細胞特異的なGATA4のmRNAの発現が観察され、免疫染色によりmyosin light chainの存在が確認された (図3)。

以上のことから、クラスターの違いにより分化しやすい細胞系が異なる可能性が示唆された。

##### ③間葉系細胞としての特性

抗炎症効果について、NK細胞に対する効果や単球に対する効果を検討したところ、HAM $\alpha$ 細胞は、他の羊膜由来細胞と比較し、IL-10やPGE2を積極的に分泌することで、NK細胞の殺細胞効果を有意に抑制することが明らかとなった。また、LPSによる単球刺激実験により、HAM $\alpha$ と共培養することで単球からのTNF $\alpha$ やIL-6の分泌が有意に抑制されることが明らかとなった。

図3 心筋細胞への分化誘導

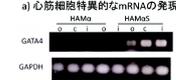
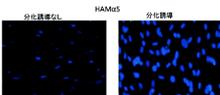


図3 b) 心筋細胞特異的な免疫染色 (MLC: myosin light chain)



心筋細胞の分化マーカーの一つであるalbuminの発現は、HAM $\alpha$ M、HAM $\alpha$ Lで認められたが、心筋細胞の分化マーカーであるGATA4やMLC(myosin light chain)はHAM $\alpha$ Sでのみ認められた。

#### (3) 疾患モデルへの移植

##### 肝硬変モデルマウスへの移植

四塩化炭素投与により肝硬変モデルを作製し、HAM $\alpha$ 、HAM $\alpha$ S、M、Lの細胞をそれぞれ、10<sup>5</sup>個/mouseで脾臓に移植し、肝硬変における線維化の抑制効果を検討した。標本はシリウスレッド染色を行い画像解析にて、各群間の差を測定した。

その結果、いずれのクラスター投与群にお

いても、細胞投与1ヶ月目で線維化が減少していることが明らかであった。In vitro の実験では、肝細胞への分化能にクラスターの違いによる差があったが、抗炎症効果の一つである線維化の減少に関してはクラスターによる違いは認められなかった。また、いずれのクラスターにおいても移植時に拒絶的な反応は観察されなかった。

一方、ヒト臍帯静脈細胞 (HUVEC) を投与した例では、投与直後に肺浮腫、肺梗塞が顕著であり、肝臓においてもグリソン氏鞘における細胞浸潤が顕著であったが、HAM $\alpha$ クラスターではいずれのクラスターにおいても肺に異常は見られなかった。これらのことから、HAM $\alpha$ はクラスターに分取しても抗炎症効果を維持し、移植時に生じる拒絶を生じないことが明らかとなった。

羊膜に存在する羊膜由来幹細胞は、細胞採取時の侵襲に問題がなく、大量の細胞を採取することが可能な細胞医療材料として有効な細胞集団であることから、羊膜から単に上皮系あるいは間葉系として細胞を分取した場合には、その有効性にばらつきが生じる可能性が高い。

本研究により、細胞を分取し、各クラスターの細胞の特性を明確することができた。本クラスター採取方法は簡便で、細胞へのダメージもほとんどなく、臨床への応用が容易である

本実験では、主に間葉系のクラスター間による相違に着目し実験を実施した。今後、この方法により分取した細胞の特性をさらに明確にするとともに、上皮からの幹細胞クラスターとの共培養、共移植を実施し、組織再構築のメカニズムを理解した上で、体性幹細胞を安全に有効活用できるシステムを構築することが可能と考える。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 11 件)

- 1) Hiroaki Tsuno, Makoto Noguchi, Motonori Okabe, Kei Tomihara, Toshiko Yoshida, Toshio Nikaido. Use of hyperdry amniotic membrane in operations for cleft palate: a study in rats. British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery 2015, <http://dx.doi.org/10.1016/j.bjoms.2015.01018>
- 2) 將積日出夫, 藤坂実千郎, 高倉大匡, 坪田雅仁, 金沢祐治, 舘野宏彦, 岡部素典, 吉田淑子, 二階堂敏雄. 耳科手術における Hyperdry ヒト乾燥羊膜の使用経験. 耳鼻臨床. 2014; 107(3):173-80.
- 3) Nikaido T. Characteristics of human amniotic membrane and Application to regenerative medicine. Placenta. 2014 Oct ; 35:A3-A4., DOI=

10.1016/j.placenta.2004.12.007

- 4) Tsuno H, Arai N, Sakai C, Okabe M, Koike C, Yoshida T, Nikaido T, Noguchi M. Intraoral application of hyperdry amniotic membrane to surgically exposed bone surface. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol. 2014;117:e83-7., DOI=10.1016/j.oooo.2012.05.014
- 5) Koike C, Zhou K, Takeda Y, Fathy M, Okabe M, Yoshida T, Nakamura Y, Kato Y, Nikaido T. Characterization of amniotic stem cells. Cellular Reprogramming, 2014;16:298-305., DOI=10.1089/cell.2012.0021
- 6) Okabe M, Kitagawa K, Yoshida T, Suzuki T, Waki H, Koike C, Furuichi E, Katou K, Nomura Y, Uji Y, Hayashi A, Saito S, Nikaido T. Hyperdry human amniotic membrane is useful material for tissue engineering: physical, morphological properties, and safety as the new biological material. J Biomed Mater Res A., 2014;102:862-70., DOI=10.1002/jbm.a.34753
- 7) Okabe M, Kitagawa K., Yoshida T., Koike C., Katsumoto T., Fujihara E., Nikaido T. : Application of 2-octyl-cyanoacrylate for corneal perforation and glaucoma filtering bleb leak. Clinical Ophthalmology, 7 :649-653, 2013., <https://www.dovepress.com/clinical-ophtalmology-journal>
- 8) Nakashima A., Yamanaka-Tatematsu M., Fujita N., Koizumi K., Shima T., Yoshida T., Nikaido T., Okamoto A., Yoshimori T., and Saito S. : Impaired autophagy by soluble endoglin, under physiological hypoxia in early pregnant period, is involved in poor placentation in preeclampsia. Autophagy, 9:303-16, 2013., DOI= 10.4161/auto.22927
- 9) Fujitani N., Furukawa J., Araki K. Fujioka T., Takegawa Y., Piao J., Nishioka T., Tamura T., Nikaido T., Ito M., Nakamura Y., Shinohara Y. : Total cellular glycomics allows characterizing cells and streamlining the discovery process for cellular biomarkers. Proc Natl Acad Sci USA, 110:2105-2110, 2013., DOI= 10.1073/pnas.1214233110
- 10) Otaka S., Nagura S., Koike C., Okabe M., Yoshida T., Fathy M., Yanagi K., Misaki T., and Nikaido T. : Selective isolation of Nanog positive human amniotic mesenchymal cells and differentiation into cardiomyocytes. Cellular Reprogramming, 15:80-91, 2013., DOI=10.1089/cell.2012.0021
- 11) Zhou K., Koike C., Yoshida T., Okabe M.,

Fathy M., Kyo S., Kiyono T., Saito S., and Nikaido T. : Establishment and Characterization of Immortalized Human Amniotic Epithelial Cells. Cellular Reprogramming, 15:55-67, 2013., DOI= 10.1089/cell.2012.0021

[学会発表] (計 30 件)

- 1) 二階堂敏雄. ヒト羊膜の生物学的特性と臨床応用. 第 22 回日本胎盤学会・第 31 回日本絨毛性疾患研究会; 2014. Oct 3-4; 京都.
- 2) 吉田淑子, 岡部素典, 王 芳, 吉田佳奈美, 小池千加, 齋藤 滋, 二階堂敏雄. ヒト羊膜間葉系細胞 (HAM $\alpha$ ) およびヒト臍帯静脈上皮細胞 (HUVEC) 移植後のマウス肝硬変モデル. 第 13 回日本再生医療学会総会; 2014. Mar 4-6; 京都.
- 3) 岡部素典, 北川清隆, 吉田淑子, 小池千加, 鈴木拓馬, 野村義宏, 林 篤志, 齋藤 滋, 二階堂敏雄. ヒト乾燥羊膜を用いた再生医療材料の作製. 第 13 回日本再生医療学会総会; 2014. Mar 4-6; 京都.
- 4) 小池千加, 吉田淑子, 岡部素典, 二階堂敏雄. 羊膜由来幹細胞単離マーカーの探索. 第 13 回日本再生医療学会総会; 2014. Mar 4-6; 京都.
- 5) 王 芳, 吉田淑子, 岡部素典, 小池千加, 齋藤 滋, 二階堂敏雄. CD24+SSEA4+human ovarian carcinoma cells possessed the nature of cancer stem cells. 第 13 回日本再生医療学会総会; 2014. Mar 4-6; 京都.
- 6) 李 佳麗, 小池千加, 杉本 潤, 吉田淑子, 岡部素典, 二階堂敏雄. Immunosuppressive activity of amnion-derived cells. 第 13 回日本再生医療学会総会; 2014. Mar 4-6; 京都.
- 7) Sang Meijie, Chika Koike, Toshiko Yoshida, Motonori Okabe, Toshio Nikaido. Human amnion epithelial cells expansion in vitro in a feeder cell dependent manner. 第 13 回日本再生医療学会総会; 2014. Mar 4-6; 京都.
- 8) 平田陽子, 吉田淑子, 周 凱旋, 岡部素典, 小池千加, 二階堂敏雄. 高親和性コリントランスポーター (CHT) 遺伝子導入ヒト羊膜上皮細胞の性質. 第 13 回日本再生医療学会総会; 2014. Mar 4-6; 京都.
- 9) 鳥越甲順, 吉田淑子, 吉田一晴. ヒアルロン酸 4 糖 (HA4) は末梢神経の再生を促進する: フィルムモデル法による検証. 第 13 回日本再生医療学会総会; 2014. Mar 4-6; 京都.
- 10) 吉田淑子, 岡部素典, Li Jiali, 小池千加, 吉田佳奈美, 吉田 聡, 齋藤 滋, 二階堂敏雄. 羊膜上皮系幹細胞と羊膜間葉系細胞の生活習慣病に対する効果. 第 119 回日本解剖学会総会・全国学術集会; 2014. Mar 27-29; 栃木.
- 11) 岡部素典, 吉田淑子, 野上真紀子, 津野宏彰, 小池千加, 竹田祐治, 木村友厚, 野口 誠, 齋藤 滋, 二階堂敏雄. ヒト羊

膜幹細胞一問題点と特質点一. 第 119 回日本解剖学会総会・全国学術集会; 2014. Mar 27-29; 栃木.

12) 吉田淑子. 羊膜 (プラセンタ) は生活習慣病, アンチエイジングに有効!. 第 14 回日本抗加齢医学学会総会; 2014. Jun 6-8; 大阪.

13) 岡部素典. 羊膜を利用した再生医療はここまで進んでいる. 第 14 回日本抗加齢医学学会総会; 2014. Jun 6-8; 大阪.

14) 王 芳, 吉田淑子, 岡部素典, 小池千加, 齋藤 滋, 二階堂敏雄. CD24+SSEA4+ovarian carcinoma cells exhibit self renewal ability and tumorigenicity. 第 35 回日本炎症・再生医学会; 2014. Jul 1-4, 沖縄

15) 吉田淑子, 王 芳, 齋藤 滋, 二階堂敏雄. 卵巣癌に存在する CD24(+)SSEA4(+)細胞の特性. 第 73 回日本癌学会学術総会; 2014. Sep 25-27; 横浜.

16) 吉田淑子, Wang Fang, Zhou Kaixuan, 古市恵津子, 岡部素典, 吉田佳奈美, 齋藤 滋, 二階堂敏雄. ヒト卵巣癌由来 CD24(+)SSEA4(+)細胞の特性. 日本解剖学会第 74 回中部支部学術集会; 2014. Oct 11-12; 石川.

17) Nikaido T. Application of Amniotic Membrane / Amnion-Derived Cells for Regenerative Medicine. 河北医科大学; 2014. Jun 5-13 ; 石家庄, 中国.

18) Nikaido T. Application of Amniotic Membrane / Amnion-Derived Cells for Regenerative Medicine. 同済大学附属肺科医院; 2014. Jun 5-13 ; 上海, 中国.

19) Nikaido T. Characteristics of Human Amniotic Membrane and Application to Regenerative Medicine. 浙江大学医学院附属第一医院; 2014. Dec 9; 杭州, 中国.

20) 二階堂敏雄. 再生医学と研究倫理について. 平成 26 年度富山県試験研究機関研究員交流集会; 2014. Dec 30; 富山.

21) 二階堂敏雄. 細胞の甦りー細胞や組織は再生可能か?. 富山大学しらゆり会総会; 2014. Aug 1; 富山.

22) 二階堂敏雄. ヒト羊膜の再生医療への応用. 第 3 回富山・バーゼル医薬品研究開発シンポジウム; 2014. Aug 12; 富山.

23) 岡部素典, 吉田淑子, 鈴木拓馬, 小池千加, 野村義宏, 齋藤 滋, 二階堂敏雄. 乾燥羊膜と絹由来タンパクによる新規バイオデバイスの開発. 第 14 回日本再生医療学会総会; 2015 March 19-21; 横浜.

24) Li J, Yoshida T, Koike-Soko C, Okabe M, Sugimoto J, Nikaido T. Immunosuppressive activity of amnion-derived cells. 第 14 回日本再生医療学会総会; 2015 March 19-21; 横浜.

25) Faruk, H. Md. Yoshida T, Okabe M, Zho K, Soko C and Nikaido T. Direct Reprogramming of Immortalized Human Amniotic Epithelial

cells towards insulin producing cells. 第14回日本再生医療学会総会；2015March 19-21；横浜.

26) Yi Sun, Toshiko Yoshida, Motonori Okabe, Kaixuan Zhou, Fang Wang, Chika Soko, Sigeru Saito, and Toshio Nikaido. Identification of cancer stem cells/cancer initiating cells in endometrial cancer cells. 第14回日本再生医療学会総会；2015March 19-21；横浜.

27) 吉田佳奈美、吉田淑子、岡部素典、周凱旋、平田陽子、相古千加、二階堂敏雄、CHT遺伝子導入ヒト羊膜細胞の特徴. 第14回日本再生医療学会総会；2015March 19-21；横浜.

28) 吉田淑子. 再生医療材料として有効な羊膜幹細胞 Availability of amnion derived cells for the material of regenerative therapy. メディカル ジャパン大阪2015 アカデミックフォーラム：2015 Feb 2-4；大阪.

29) Md. Faruk Hasan, Toshiko Yoshida, Motonori Okabe, Kaixuan Zhou, Chika Soko and Toshio Nikaido. Direct reprogramming of immortalized human amniotic epithelial (iHAE) cells towards insulin producing cells. 平成27年度富山大学若手研究者等の学術交流・発表会 平成27年9月8日 富山.

30) Yi Sun, Toshiko Yoshida, Motonori Okabe, Kaixuan Zhou, Fang Wang, Chika Soko, Sigeru Saito, and Toshio Nikaido. Identification of cancer stem cells/cancer initiating cells in endometrial cancer cells. 平成27年度富山大学若手研究者等の学術交流・発表会 平成27年9月8日 富山.

〔図書〕(計1件)

Koike C, Okabe M, Yoshida T, and Nikaido T. Therapeutic potential of amnion epithelial cells for diabetes. Perinatal Stem Cells. Springer, Editors: Atala, Anthony, Murphy, Sean V. (Eds.), 2014; 23:253-257. ISBN 978-1-4939-1118-9

〔産業財産権〕

○出願状況(計1件)

名称：バイオコンジュゲートデバイス  
発明者：岡部素典、二階堂敏雄、吉田淑子、 葭田隆治、古米 保  
権利者：国立大学法人、葭田隆治、古米 保  
種類：特許  
番号：特願 2013-136802  
出願年月日：平成25年6月28日  
国内外の別：国内

○取得状況(計2件)

名称：MEDICAL SUBSTITUTE MEMBRANE, USE THEROF, AND METHOD FOR REPAIR OF MEMBRANE

TISSUE IN LIVING BODY.

発明者：二階堂敏雄、岡部素典、吉田淑子、 遠藤俊郎、林央周、齋藤滋

権利者：国立大学法人 富山大学

種類：国際特許

番号：US 8,414,929

取得年月日：9Apr13

国内外の別：USA

名称：DRIED AMNION AND METHOD FOR DRYING TREATMENT OF AMNION.

発明者：二階堂敏雄、吉田淑子、岡部素典、

戸田文香、北川清隆、荒川雅彦

権利者：国立大学法人 富山大学

種類：国際特許

番号：US 8,932,641

取得年月日：13Jan15

国内外の別：USA

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.med.u-toyama.ac.jp/saiseiigaku/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

吉田 淑子 (YOSHIDA TOSHIKO)

富山大学・大学院医学薬学研究部(医学)・准教授

研究者番号：00171421

(2) 研究分担者

二階堂 敏雄 (NIKAIDO TOSHIO)

富山大学・事務局・理事・副学長

研究者番号：50180568

岡部 素典 (OKABE MOTONORI)

富山大学・大学院医学薬学研究部(医学)・助教

研究者番号：60283066

小池 千加 (CHIKA KOIKE)

富山大学・大学院医学薬学研究部(医学)・助教

研究者番号：10523889

(3) 連携研究者

齋藤 滋 (SAITOU SHIGERU)

富山大学・大学院医学薬学研究部(医学)教授

研究者番号：30175351

福岡 順也 (FUKUOKA JOUNYA)

長崎大学・医学部医学科臨床病理教授

研究者番号：00324575