

令和 4 年 6 月 13 日現在

機関番号：24403

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18H02349

研究課題名(和文) イヌiPS細胞由来間葉系幹細胞を用いた難治性疾患治療薬の開発

研究課題名(英文) Development of a cure for intractable diseases using canine induced pluripotent stem cell-derived mesenchymal stem cells

研究代表者

鳩谷 晋吾 (Hatoya, Shingo)

大阪府立大学・生命環境科学研究科・准教授

研究者番号：40453138

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,200,000円

研究成果の概要(和文)：イヌiPS細胞由来の間葉系幹細胞を用いて難治性疾患治療薬を開発するために、以下の成果を得た。

センダイウイルスベクターでイヌ胎子線維芽細胞に初期化遺伝子(OCT3/4, SOX2, C-MYC, KLF4)を導入し、イヌiPS細胞株を作製した。イヌ末梢血単核球(PBMC)を初期化する際の最適な培地および低分子化合物の添加について検討し、初期化効率の改善およびイヌiPS細胞株の樹立に成功した。イヌiPS細胞の酵素継代およびフィーダーフリー培養を検討し、効率的なイヌiPS細胞の樹立および大量培養を可能とした。イヌiPS細胞からMSC様細胞へ分化誘導することに成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

現在、研究に使用できる質の良いイヌiPS細胞株は世界的にもほとんどなく、獣医学領域におけるiPS細胞を用いた再生医療研究はほとんど進んでいない。本研究成果から、線維芽細胞や血液細胞を使用して安定的にイヌiPS細胞株の作製に成功し、これを大量に培養することも可能となった。以上の結果は、イヌiPS細胞を用いた研究・臨床応用を推進する研究成果である。さらに、イヌiPS細胞からMSC様細胞への分化に成功しており、将来的には、難治性疾患の治療薬として応用できる可能性を示した。

研究成果の概要(英文)：We attempted to differentiate canine iPS cells into mesenchymal stem cells for use in the treatment of intractable diseases.

1. Canine iPS cell lines were generated from canine fetal fibroblasts by introducing four specific genes (OCT3/4, SOX2, C-MYC, KLF4) with Sendai virus vector. 2. We determined the reprogramming efficiency of canine PBMCs under several conditions involving several types of media supplemented with small-molecule compounds, and successfully generated canine iPS cell lines. 3. Enzyme passage and feeder-free culture of canine iPS cells were examined, enabling the efficient establishment and mass culture of canine iPS cells. 4. The differentiation of canine iPS cells into MSC-like cells was successfully induced.

研究分野：獣医学

キーワード：iPS細胞 イヌ 間葉系幹細胞 MSC 血液 多能性幹細胞 再生医療 フィーダーフリー

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

近年、さまざまな細胞に分化できる能力をもつ iPS 細胞を用いた再生医療研究が盛んとなっている。獣医療でも日本におけるイヌの飼育頭数が 900 万頭を数え、ヒトの医療と同様に最先端の治療が求められていることから、イヌ iPS 細胞を用いた再生獣医療の研究が世界的に試みられてきた。しかし、イヌ iPS 細胞の作製はヒトやマウスと比較して難しく、効果的に iPS 細胞を作製、増殖させるための技術も確立されていない。

一方、骨髄や脂肪由来間葉系幹細胞 (MSC) を用いる臨床応用が獣医療で導入され、申請者らのグループは、重度脊髄損傷を伴った椎間板ヘルニアのイヌにおいて、手術に加えて慢性期に自己骨髄由来 MSC を投与することによって、運動機能の改善が認められることを示している。さらに、MSC は薬剤に効果のない難治性自己免疫疾患や炎症性腸疾患、重度感染症の治療にも応用されている。しかし、MSC は取り出した個体によって細胞の性状が異なり、治療効果も一定ではない。さらに培養してもあまり増えないことから実際の臨床応用には限界がある。

### 2. 研究の目的

申請者らは獣医学領域での再生医療実現を目指して、イヌ体細胞に初期化遺伝子を導入することでイヌ iPS 細胞の作製を試みてきた。本研究では、これまでの研究成果をもとにセンダイウイルスベクターを用いて、ゲノム内への遺伝子挿入のない安全なイヌ iPS 細胞を作製し、この安全なイヌ iPS 細胞を大量に培養するための技術開発を行う。さらに、イヌ iPS 細胞から MSC への分化技術を確立するとともに、iPS 細胞由来 MSC の性状を解析し、安全性および治療効果を評価する。これらの研究によって、イヌ幹細胞由来 MSC を用いた臨床応用へ展開するための基盤作りを目指すものである。

### 3. 研究の方法

#### (1) 遺伝子挿入のない安全なイヌ iPS 細胞の作製

A) イヌ胎子線維芽細胞に自然に除去される仕組みを持ったセンダイウイルスベクター (SeVdp(KOSM)302L) を使用して、初期化遺伝子 (OCT3/4, SOX2, C-MYC, KLF4) を導入後、マウス胎子線維芽細胞と共培養し、体細胞の遺伝子に傷がつかないイヌ iPS 細胞の作製を行った。

#### (2) 末梢血単核球からのイヌ iPS 細胞の作製

B) (1) で遺伝子挿入のないウイルスフリーなイヌ iPS 細胞の作製に成功した。そこで、次に侵襲性が低く容易に採取可能な血液細胞からイヌ iPS 細胞の作製を試みた。健康犬から採取・分離した末梢血単核球 (PBMC) に、センダイウイルスベクター-SeVdp(KOSM)302L を用いて 4 因子を導入した。

C) 上記の方法では、初代イヌ iPS 細胞コロニーの出現率が非常に低く、さらにテラトーマ (奇形腫) 形成能がなかった。これらを改善するために、イヌ PBMC を初期化する際の最適な培地および低分子化合物の添加について検討し、初期化効率の改善およびイヌ iPS 細胞株の樹立を試みた。

#### (3) イヌ iPS 細胞におけるフィーダーフリー培養法の検討

D) イヌ iPS 細胞はフィーダー細胞であるマウス胎子線維芽細胞と共培養し、手作業で継代するため大量培養が困難であった。そこで、イヌ iPS 細胞の酵素継代およびフィーダーフリー培養を検討し、効率的なイヌ iPS 細胞の樹立および大量培養を試みた。

#### (4) イヌ iPS 細胞における MSC 分化能の検討

E) 申請者らが作製したイヌ iPS 細胞を側板中胚葉 (LPM) や神経堤細胞 (NCC) を経由した方法で間葉系幹細胞 (MSC) へ分化誘導した。

F) さまざまな組織由来のイヌ iPS 細胞株を用いて MSC へ分化を試み、細胞株間での比較を行うことで、MSC の効果的な作製方法を検討した。

### 4. 研究成果

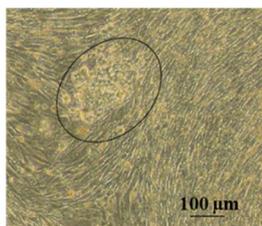
#### (1) 遺伝子挿入のない安全なイヌ iPS 細胞の作製

A) イヌ胎子線維芽細胞に、センダイウイルスベクター (SeVdp(KOSM)302L) を使用して初期化遺伝子を導入したところ、ヒト iPS 細胞に類似した細胞コロニーが得られた (図 1)。この細胞は、長期継代が可能であり、継代を経ることで自然にセンダイウイルスベクターが除去された (図 2)。また、未分化マーカーの発現、in vitro および in vivo における三胚葉 (外胚葉、中胚葉、内胚葉) への分化能が示されたことから、遺伝子挿入のないウイルスフリーなイヌ iPS 細胞の作

製に成功した。

図 1：イヌ iPS 細胞コロニー

初代イヌiPS細胞コロニー

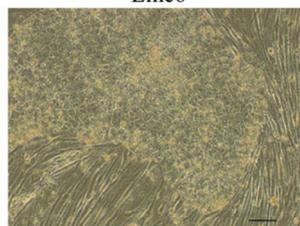
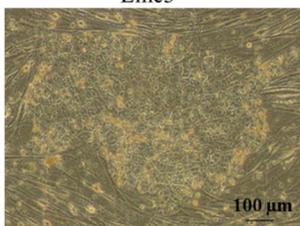


初期化効率0.02%

形態観察

Line3

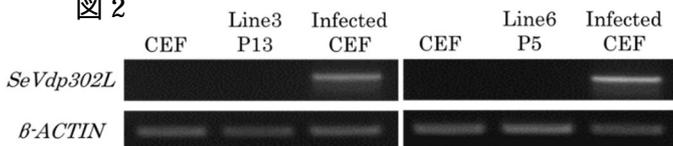
Line6



ヒトiPS細胞と同様に扁平な形態

図 2

RT-PCR



(2) 末梢血単核球からのイヌ iPS 細胞の作製

B) 末梢血単核球 (PBMC) に初期化遺伝子を導入したところ、初代コロニーが得られ、継代培養後の細胞は、SeVdp(KOSM)302L の除去が確認された。本細胞は未分化マーカーが陽性であり、さらに浮遊培養にて胚葉体を形成し、接着培養した胚葉体は三胚葉マーカーに陽性を示した。しかし、免疫不全マウスに接種したところ、神経系の細胞にのみ分化しテラトーマ形成は確認できなかった。

C) 健常犬から採取・分離した PBMC に SeVdp(KOSM)302L で初期化遺伝子を導入し、初期化時に低分子化合物カクテルを添加した N2B27 培地を用いることで、イヌ iPS 細胞初代コロニーを高効率に得ることに成功した。この iPS 細胞は、長期継代可能であり、複数の細胞株が得られた (図 3)。これらの細胞株は各種未分化マーカーに陽性を示した (図 4)。さらに、免疫不全マウスに接種することによりテラトーマ (奇形腫) の形成が可能となった (図 5)。この手法によって、複数のイヌ由来の PBMC から iPS 細胞株を樹立可能であることが示され、再現性の高い方法であることが確認された。

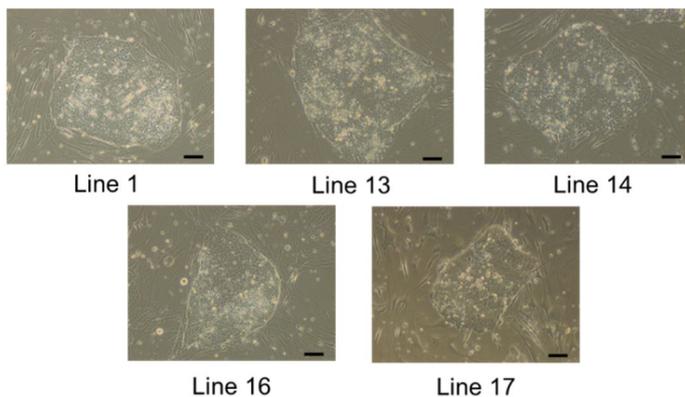
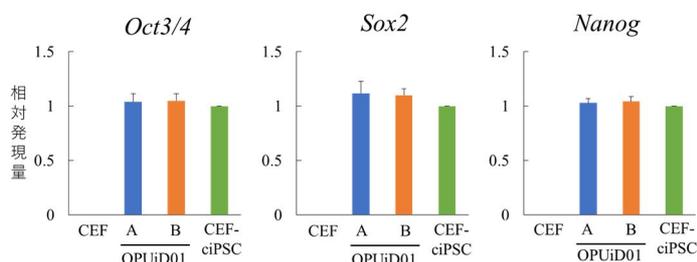


図 3：樹立された複数のイヌ iPS 細胞株

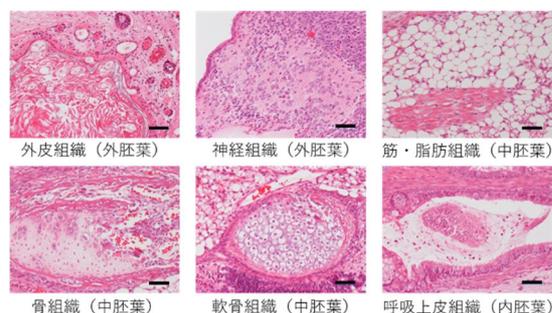
図 4：qRT-PCR による未分化マーカー発現確認

qRT-PCRによる未分化マーカー発現の確認



CEF：イヌ胎子線維芽細胞 (Negative control)  
 CEF-ciPSC：CEF由来イヌiPS細胞 (Positive control)

図 5：テラトーマで確認された三胚葉分化



### (3) イヌ iPS 細胞におけるフィーダーフリー培養法の検討

D) さまざまな培地および細胞外基質の組み合わせの中で、StemFit と iMatrix-511 がフィーダーフリー培養に最も適した組み合わせであることを明らかにした(図6)。また、このフィーダーフリー培養を使用してイヌ iPS 細胞を樹立したところ、複数の細胞株が樹立された(図7)。これらの細胞は未分化マーカーに陽性であり(図8,9)、三胚葉への分化能を示した。さらに、フィーダーフリー培養によって、イヌ iPS 細胞の大量培養が可能となった。

図7: フィーダーフリーで樹立されたイヌ iPS 細胞株

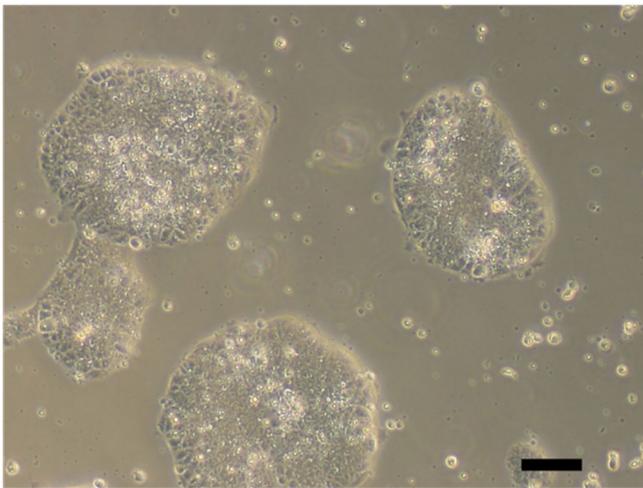


図6: イヌ iPS 細胞培養における培地と基質の組み合わせ

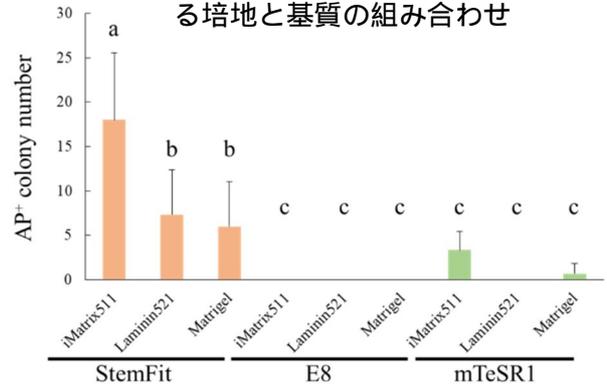


図8: 免疫細胞化学による未分化マーカー発現

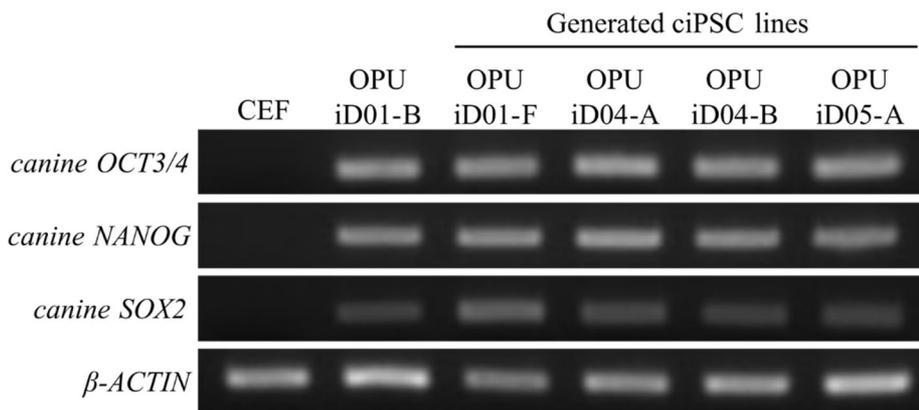
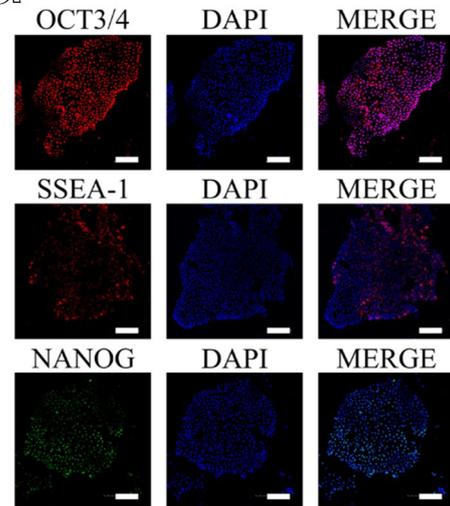


図9: RT-PCRによる未分化マーカー発現の確認

### (4) イヌ iPS 細胞におけるMSC分化能の検討

E) LPM または NCC を経由して分化させた細胞は MSC 様の形態を示した。LPM 経由の細胞は、P1~P3 では MSC 様の形態を示したが、P4 で細胞膨化、倍加時間の延長が認められた。UCC を経由し、MSC 培地である StemFit For MSC で培養した細胞は P3 で形態が変化し、増殖が停止した。UCC を経由し、PRIME-XV で培養した細胞は、P10 以降も MSC 様形態、増殖能を維持した(図10)。また、これらの細胞は CD44、CD90 陽性であり、CD34、CD45 とともに陰性であった(図11)。

F) さらに、さまざまな組織由来のイヌ iPS 細胞株を用いて MSC の分化を試みたところ、胎子線維

芽細胞や血液由来 iPS 細胞から分化した MSC 様細胞は、P10 以降も MSC 様形態を維持した。しかしながら、皮膚線維芽細胞由来 iPS 細胞は、NCC 維持培地で生存することができず、iMSC へ誘導できなかった。以上のことから、由来組織によってイヌ iPS 細胞から MSC への誘導効率が異なることを明らかにした。

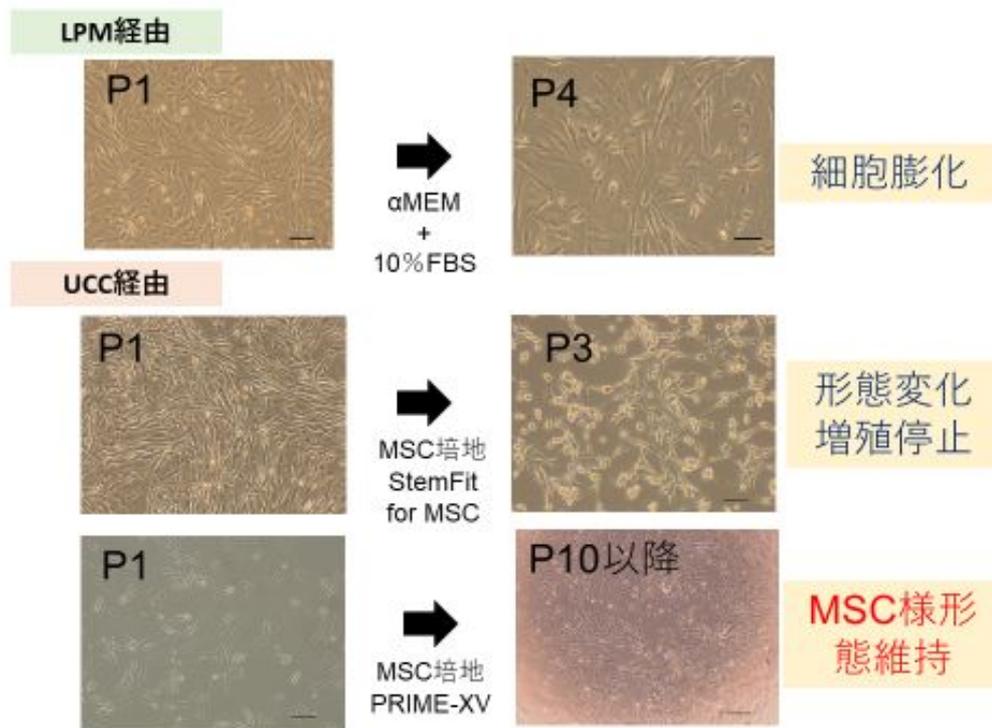


図 10：各分化方法による細胞継代結果

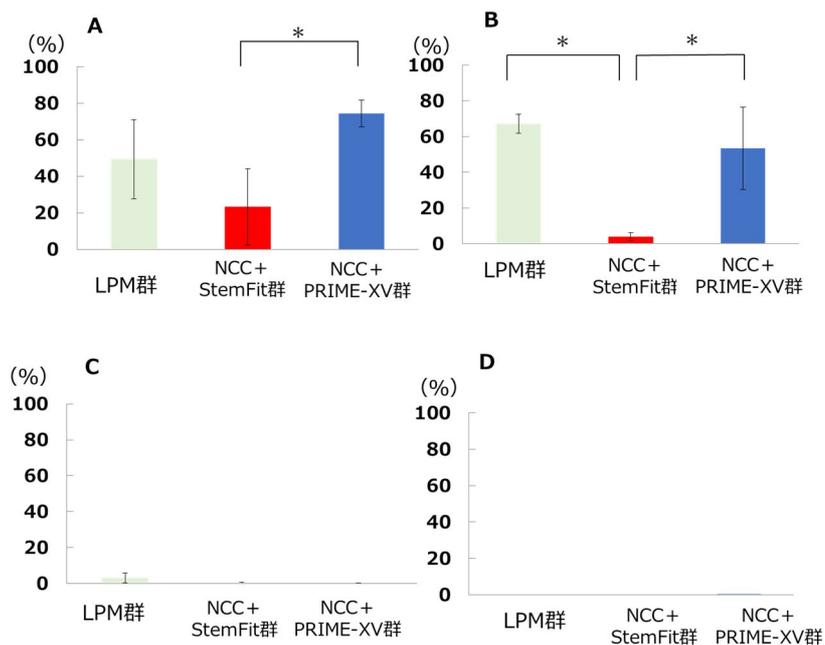


図 11：iPS 細胞由来 MSC 様細胞における MSC マーカー発現

以上の研究結果より、イヌ iPS 細胞を効果的に作製し、大量培養後、MSC 様細胞へ分化誘導することに成功した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計20件（うち査読付論文 19件 / うち国際共著 5件 / うちオープンアクセス 8件）

1. 著者名 YOSHIDA Takumi, ALAM Md Emtiaj, HANAFUSA Keisuke, TSUJIMOTO Yasunori, TSUKAMOTO Masaya, KANEKI Ryoji, INABA Toshio, SUGIURA Kikuya, HATOYA Shingo	4. 巻 68
2. 論文標題 Effects of the preservation medium and storage duration of domestic cat ovaries on the maturational and developmental competence of oocytes in vitro.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Reproduction and Development	6. 最初と最後の頁 160 ~ 164
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1262/jrd.2021-084	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 該当する
1. 著者名 Mitani Kosuke, Ito Yuki, Takene Yukio, Hatoya Shingo, Sugiura Kikuya, Inaba Toshio	4. 巻 238
2. 論文標題 Quality of life-improving effect of autologous ex vivo expanded cytotoxic and opioid-producing lymphocytes for dogs with cancers	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Veterinary Immunology and Immunopathology	6. 最初と最後の頁 110292 ~ 110292
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.vetimm.2021.110292	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kimura Kazuto, Tsukamoto Masaya, Yoshida Takumi, Tanaka Miyuu, Kuwamura Mitsuru, Ohtaka Manami, Nishimura Ken, Nakanishi Mahito, Sugiura Kikuya, Hatoya Shingo	4. 巻 88
2. 論文標題 Canine induced pluripotent stem cell maintenance under feeder free and chemically defined conditions	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Molecular Reproduction and Development	6. 最初と最後の頁 395 ~ 404
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/mrd.23478	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Watanabe Shunichi, Yuba Eiji, Akazawa Takashi, Wijewardana Viskam, Kakahara Yuka, Azuma Ayaka, Hagimori Kenji, Kanegi Ryoji, Hatoya Shingo, Inoue Norimitsu, Inaba Toshio, Sugiura Kikuya	4. 巻 40
2. 論文標題 Potent adjuvant effect elicited for tumor immunotherapy by a liposome conjugated pH-sensitive polymer and dendritic cell-targeting Toll-like-receptor ligand	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Vaccine	6. 最初と最後の頁 1448 ~ 1457
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.vaccine.2022.01.048	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Sakai Kosei, Hatoya Shingo, Furuya Masaru, Nabetani Tomoyo, Kanegi Ryoji, Shimamura Shunsuke, Tani Hiroyuki, Shimada Terumasa	4. 巻 8
2. 論文標題 Retrospective evaluation of nimustine use in the treatment of feline lymphoma	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Veterinary Medicine and Science	6. 最初と最後の頁 3~8
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/vms3.652	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 鳩谷晋吾	4. 巻 23
2. 論文標題 獣医再生医療における iPS 細胞、ES 細胞の作製と将来展望	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 JSAVBR News Letter (動物用ワクチン-バイオ医薬品研究会)	6. 最初と最後の頁 15-21
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 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Mitani Kosuke, Ito Yuki, Takene Yukio, Hatoya Shingo, Sugiura Kikuya, Inaba Toshio	4. 巻 30
2. 論文標題 Long-Term Trypsin Treatment Promotes Stem Cell Potency of Canine Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Stem Cells and Development	6. 最初と最後の頁 337 ~ 349
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1089/scd.2020.0175	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kimura Kazuto, Tsukamoto Masaya, Tanaka Miyuu, Kuwamura Mitsuru, Ohtaka Manami, Nishimura Ken, Nakanishi Mahito, Sugiura Kikuya, Hatoya Shingo	4. 巻 30
2. 論文標題 Efficient Reprogramming of Canine Peripheral Blood Mononuclear Cells into Induced Pluripotent Stem Cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Stem Cells and Development	6. 最初と最後の頁 79 ~ 90
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1089/scd.2020.0084	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tsukamoto Masaya, Kimura Kazuto, Tanaka Miyuu, Kuwamura Mitsuru, Ohtaka Manami, Nakanishi Mahito, Sugiura Kikuya, Hatoya Shingo	4. 巻 87
2. 論文標題 Generation of Footprint Free Canine Induced Pluripotent Stem Cells from Peripheral Blood Mononuclear Cells Using Sendai Virus Vector	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Molecular Reproduction and Development	6. 最初と最後の頁 663 ~ 665
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/mrd.23349	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 NAKAMURA Michi, NISHIDA Hidetaka, YOSHIZAKI Karin, AKIYOSHI Hideo, HATOYA Shingo, SUGIURA Kikuya, INABA Toshio	4. 巻 82
2. 論文標題 Canine mesenchymal stromal cell-conditioned medium promotes survival and neurite outgrowth of neural stem cells	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Veterinary Medical Science	6. 最初と最後の頁 668 ~ 672
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1292/jvms.19-0141	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 Tsujiimoto Yasunori, Kaneko Takehito, Yoshida Takumi, Kimura Kazuto, Inaba Toshio, Sugiura Kikuya, Hatoya Shingo	4. 巻 147
2. 論文標題 Development of feline embryos produced using freeze-dried sperm	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Theriogenology	6. 最初と最後の頁 71 ~ 76
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.theriogenology.2020.02.021	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 SAKAI Kosei, HATOYA Shingo, FURUYA Masaru, SHIMAMURA Shunsuke, NABETANI Tomoyo, TANI Hiroyuki, SHIMADA Terumasa	4. 巻 82
2. 論文標題 Decreased serum zinc concentration in dogs with lymphocytic-plasmacytic enteritis, and its associations with disease severity and prognosis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Veterinary Medical Science	6. 最初と最後の頁 759 ~ 763
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1292/jvms.20-0109	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 Tsukamoto Masaya, Kimura Kazuto, Tanaka Miyuu, Kuwamura Mitsuru, Ohtaka Manami, Nakanishi Mahito, Sugiura Kikuya, Hatoya Shingo	4. 巻 87
2. 論文標題 Generation of Footprint Free Canine Induced Pluripotent Stem Cells from Peripheral Blood Mononuclear Cells Using Sendai Virus Vector	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Molecular Reproduction and Development	6. 最初と最後の頁 663 ~ 665
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/mrd.23349	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 NAKAMURA Michi, NISHIDA Hidetaka, YOSHIKAZI Karin, AKIYOSHI Hideo, HATOYA Shingo, SUGIURA Kikuya, INABA Toshio	4. 巻 82
2. 論文標題 Canine mesenchymal stromal cell-conditioned medium promotes survival and neurite outgrowth of neural stem cells	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Veterinary Medical Science	6. 最初と最後の頁 668 ~ 672
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1292/jvms.19-0141	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 Tsujiyama Yasunori, Kaneko Takehito, Yoshida Takumi, Kimura Kazuto, Inaba Toshio, Sugiura Kikuya, Hatoya Shingo	4. 巻 147
2. 論文標題 Development of feline embryos produced using freeze-dried sperm	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Theriogenology	6. 最初と最後の頁 71 ~ 76
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.theriogenology.2020.02.021	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Wijesekera Daluthgamage Patsy Himali, Yuba Eiji, De Silva Nadeeka Harshini, Watanabe Shunichi, Tsukamoto Masaya, Ichida Chihiro, Izawa Takeshi, Itoh Kazuyuki, Kanegi Ryoji, Hatoya Shingo, Yamate Jyoji, Inaba Toshio, Sugiura Kikuya	4. 巻 2
2. 論文標題 Manipulation of the tumor microenvironment by cytokine gene transfection enhances dendritic cell based immunotherapy	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 FASEB BioAdvances	6. 最初と最後の頁 5 ~ 17
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1096/fba.2019-00052	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 Tsukamoto Masaya, Nishimura Toshiya, Yodoe Kyohei, Kanegi Ryoji, Tsujimoto Yasunori, Alam Md Emtiaj, Kuramochi Mizuki, Kuwamura Mitsuru, Ohtaka Manami, Nishimura Ken, Nakanishi Mahito, Inaba Toshio, Sugiura Kikuya, Hatoya Shingo	4. 巻 27
2. 論文標題 Generation of Footprint-Free Canine Induced Pluripotent Stem Cells Using Auto-Erasable Sendai Virus Vector	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Stem Cells and Development	6. 最初と最後の頁 1577 ~ 1586
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1089/scd.2018.0084	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 ALAM Md. Emtiaj, IWATA Jun, FUJIKI Kana, TSUJIMOTO Yasunori, KANEGI Ryoji, KAWATE Noritoshi, TAMADA Hiromichi, INABA Toshio, SUGIURA Kikuya, HATOYA Shingo	4. 巻 81
2. 論文標題 Feline embryo development in commercially available human media supplemented with fetal bovine serum	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Veterinary Medical Science	6. 最初と最後の頁 629 ~ 635
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1292/jvms.18-0335	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 該当する

1. 著者名 TSUJIMOTO Yasunori, FUJIKI Kana, ALAM MD Emtiaj, TSUKAMOTO Masaya, AZUMA Rika, KANEGI Ryoji, ANZAI Masayuki, INABA Toshio, SUGIURA Kikuya, HATOYA Shingo	4. 巻 65
2. 論文標題 Development of feline embryos produced by Piezo-actuated intracytoplasmic sperm injection of elongated spermatids	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Reproduction and Development	6. 最初と最後の頁 245 ~ 250
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1262/jrd.2018-119	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 該当する

1. 著者名 Aono Kimiya, Azuma Yasu-Taka, Nabetani Tomoyo, Hatoya Shingo, Furuya Masaru, Miki Mariko, Hirota Kana, Fujimoto Yasuyuki, Nishiyama Kazuhiro, Ogata Yoshiyuki, Mochizuki Tomofumi, Tani Hiroyuki	4. 巻 210
2. 論文標題 Correlation between toll-like receptor 4 and nucleotide-binding oligomerization domain 2 (NOD2) and pathological severity in dogs with chronic gastrointestinal diseases	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Veterinary Immunology and Immunopathology	6. 最初と最後の頁 15 ~ 22
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.vetimm.2019.03.003	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計20件（うち招待講演 3件 / うち国際学会 9件）

1. 発表者名 鳩谷晋吾
2. 発表標題 シンポジウム「腎臓再生へのニューテクノロジー」iPS細胞研究と異種移植研究の融合は、猫の慢性腎不全に対する移植医療を実現できるのか？ 猫iPS細胞開発の現状と未来
3. 学会等名 第164回日本獣医学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 塚本雅也、川端千晶、木村和人、杉浦喜久弥、鳩谷晋吾
2. 発表標題 イヌiPS細胞から間葉系幹細胞の誘導の試み
3. 学会等名 第164回日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 木村和人、塚本雅也、吉田拓海、田中美有、桑村充、大高真奈美、西村健、中西真人、杉浦喜久弥、鳩谷晋吾
2. 発表標題 末梢血単核球を用いた効率的なイヌiPS細胞の樹立および大量培養
3. 学会等名 第164回日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Thierry Olivry、小林哲郎、田村勝利、鳩谷晋吾、福田威、水野拓也
2. 発表標題 4.臨床免疫検討会 間葉系幹細胞による治療は難治性疾患の画期的な治療なのか？
3. 学会等名 獣医アトピー・アレルギー・免疫学会 第13回ベーシックセミナー
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 渡邊 駿一、高木 彩夏、弓場 英司、桑村 充、井澤 武史、鳩谷 晋吾、金城 綾二、稲葉 俊夫、杉浦 喜久弥
2. 発表標題 サイトカイン遺伝子の腫瘍細胞への導入による微小環境内免疫状態の改変がもたらす治療効果の検討
3. 学会等名 第164回日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 吉田 拓海、辻本 恭典、木村 和人、杉浦 喜久弥、鳩谷 晋吾
2. 発表標題 ネコ体外胚産生法の低コスト化および簡易化の検討
3. 学会等名 第164回日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山崎 裕毅、西田 英高、鳩谷 晋吾、秋吉 秀保
2. 発表標題 低酸素環境を標的とした犬の消化管型リンパ腫に対する新たな治療法の開発; マウスモデルによる前臨床試験
3. 学会等名 第164回日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 K Kimura, M Tsukamoto, T Yoshida, Miyuu Tanaka, Mitsuru Kuwamura, M Ohtaka, K Nishimura, M Nakanishi, K Sugiura, S Hatoya
2. 発表標題 CHEMICALLY-DEFINED AND FEEDER-FREE MAINTENANCE OF CANINE INDUCED PLURIPOTENT STEM CELLS
3. 学会等名 The International Society for Stem Cell Research (ISSCR) 2021 Virtual (国際学会)
4. 発表年 2021年

1 . 発表者名 M Tsukamoto, K Kimura, K Sugiura, S Hatoya
2 . 発表標題 DIFFERENTIATION OF CANINE INDUCED PLURIPOTENT STEM CELLS INTO DEFINITIVE ENDODERM
3 . 学会等名 The International Society for Stem Cell Research (ISSCR) 2021 Virtual (国際学会)
4 . 発表年 2021年

1 . 発表者名 S Hatoya, S Inoue, K Kimura, M Tsukamoto, M Ohtaka, K Nishimura, M Nakanishi, K Sugiura.
2 . 発表標題 CHEMICALLY-DEFINED AND FEEDER-FREE MAINTENANCE OF CANINE INDUCED PLURIPOTENT STEM CELLS
3 . 学会等名 The International Society for Stem Cell Research (ISSCR) 2020 Virtual (国際学会)
4 . 発表年 2020年

1 . 発表者名 M Tsukamoto, K Kimura, R Kanegi, M Ohtaka, M Nakanishi, T Inaba, K Sugiura, S Hatoya
2 . 発表標題 REPROGRAMMING OF CANINE EMBRYONIC FIBROBLASTS TO PRIMED AND NAIVE LIKE PLURIPOTENT STATES
3 . 学会等名 he International Society for Stem Cell Research (ISSCR) 2020 Virtual (国際学会)
4 . 発表年 2020年

1 . 発表者名 K Kimura, M Tsukamoto, M Ohtaka, K Nishimura, M Nakanishi, K Sugiura, S Hatoya.
2 . 発表標題 EFFICIENT GENERATION OF CANINE INDUCED PLURIPOTENT STEM CELLS FROM PERIPHERAL BLOOD MONONUCLEAR CELLS USING A SMALL MOLECULE COCKTAIL
3 . 学会等名 he International Society for Stem Cell Research (ISSCR) 2020 Virtual (国際学会)
4 . 発表年 2020年

1. 発表者名 木村和人, 塚本雅也, 大高真奈美, 西村健, 中西真人, 杉浦喜久弥, 鳩谷晋吾
2. 発表標題 末梢血単核球からのイヌiPS細胞作製に向けた培養条件の検討
3. 学会等名 第19回日本再生医療学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 塚本雅也, 木村和人, 大高真奈美, 西村健, 中西真人, 杉浦喜久弥, 鳩谷晋吾.
2. 発表標題 末梢血単核球を利用したイヌiPS細胞作製の試み
3. 学会等名 第19回日本再生医療学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Shingo Hatoya
2. 発表標題 Challenges to Stem Cell Therapy Development and Regulation in Dogs and Cats: 「Generation of canine and feline pluripotent stem cells for application in regenerative medicine」
3. 学会等名 The 5th TERMIS World Congress (国際学会) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 TSUKAMOTO M, KANEKI Ryouji, NISHIMURA Toshiya, OHTAKA Mana, NISHIMURA Ken, NAKANISHI Mahito, INABA Toshio, SUGIURA Kikuya, HATOYA Singo
2. 発表標題 Induction of transgene free canine induced pluripotent stem cells by using Sendai virus vectors
3. 学会等名 The 5th TERMIS World Congress (国際学会) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 MITANI Kosuke, ITO Yuki, TAKENE Yukio, JEONG Eui Man, KANG Heun-Soo, KIM In-Gyu, INABA Toshio, HATOYA Singo, SUGIURA Kikuya
2. 発表標題 Isolation and qualification of canine and feline mesenchymal stem cells by monitoring of glutathione levels
3. 学会等名 Tissue Engineering & Regenerative Medecine Exposition 2018 (TERMEX 2018) (国際学会) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 塚本雅也、西村俊哉、金城綾二、倉持瑞樹、桑村充、大高真奈美、西村健、中西真人、稲葉俊夫、杉浦喜久弥、鳩谷晋吾
2. 発表標題 治療や病態解明へ応用可能なイヌiPS細胞の作製
3. 学会等名 第161回日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 ALAM Md. Emtiaj、花房佳祐、鳩谷晋吾、辻本恭典、稲葉俊夫、杉浦喜久弥
2. 発表標題 Developmental competence of domestic cat oocytes from ovaries stored at various durations at 4 °C in different solutions
3. 学会等名 第161回日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hidetaka Nishida
2. 発表標題 Clinical application and future directions of mesenchymal stem/stromal cell therapy for spinal cord injury in dogs
3. 学会等名 The 5th TERMIS World Congress (国際学会) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

犬の血液細胞からイヌiPS細胞の作製に成功  
<https://www.osakafu-u.ac.jp/news/nws20210202/>  
EurekaAlert! 掲載  
[https://www.eurekaalert.org/pub\\_releases/2021-02/opu-nsc020221.php](https://www.eurekaalert.org/pub_releases/2021-02/opu-nsc020221.php)  
Asia Research News 掲載 (トップページ)  
(<https://www.asiaresearchnews.com/content/new-stem-cell-therapy-dogs%E2%80%94breakthrough-veterinary-medicine>)  
細胞病態学教室ホームページ  
<http://www.vet.osakafu-u.ac.jp/cell/>  
<https://www.omu.ac.jp/vet/cellpatho/>  
Laboratory of Cell Pathology  
<http://www.vet.osakafu-u.ac.jp/english/cell/>

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	西田 英高  (NISHIDA Hidetaka)  (00622804)	大阪府立大学・生命環境科学研究科・准教授   (24403)	
研究分担者	杉浦 喜久弥  (SUGIURA Kikuya)  (30171143)	大阪府立大学・生命環境科学研究科・教授   (24403)	
研究分担者	井上 徳光  (INOUE norimitsu)  (80252708)	和歌山県立医科大学・医学部・教授   (24701)	

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
---------	---------