

2024年9月4日

大阪公立大学

アニコム先進医療研究所株式会社

ときわバイオ株式会社

世界初！遺伝子挿入がなく高品質な ネコ iPS 細胞の安定作製に成功

<ポイント>

- ◇外来遺伝子のゲノム挿入がないネコ iPS 細胞を世界で初めて作製。
- ◇さまざまな細胞への分化能力がある、高品質なネコ iPS 細胞を実現。
- ◇避妊手術で廃棄される子宮由来細胞からのネコ iPS 細胞作製にも成功。

<概要>

猫や犬への高度医療が発展する中で、iPS 細胞を用いた新規治療法の開発や、遺伝性疾患などの病態解明が期待されています。しかし、猫は犬に比べて研究事例が極めて少なく、高品質なネコ iPS 細胞はありませんでした。

大阪公立大学大学院獣医学研究科の鳩谷晋吾教授、木村 和人客員研究員らと、アニコム先進医療研究所株式会社、ときわバイオ株式会社の共同研究グループは、ネコ由来の6つの細胞初期化因子をベクター^{*1}に導入。これを用いて、不要な遺伝子の挿入がなく、三胚葉への分化能力のある高品質なネコ iPS 細胞の作製に、世界で初めて成功しました。また、本ウイルスベクターを用いて、避妊手術の際に廃棄される子宮より採取した細胞からも、ネコ iPS 細胞の作製に成功しました。今後、本研究で作製したネコ iPS 細胞を活用した研究が進むことで、慢性腎臓病などの病態解明や、新たな細胞治療法の開発が期待されます。

本研究成果は、2024年9月2日(月)に国際学術誌「Regenerative Therapy」のオンライン速報版に掲載されました。

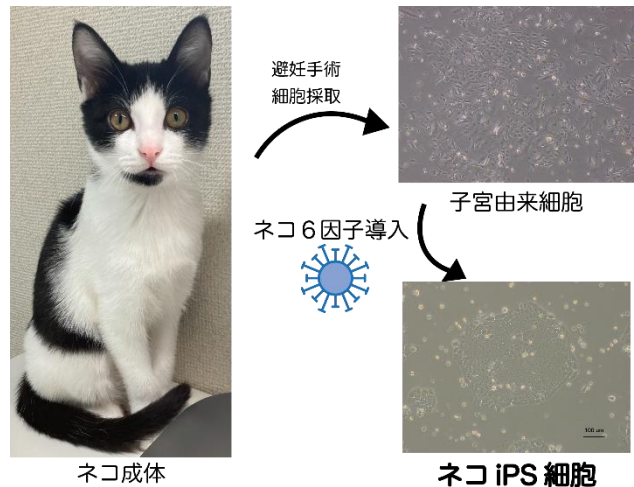


図1 ネコ iPS 細胞作製のイメージイラスト

猫は、人間と一緒に生活している大事な家族の一員です。私たちも、日々獣医師として大学附属獣医臨床センターで多くの猫を診察しており、治療できない病気をたくさん診てきました。今回、長年の研究成果が実りネコ iPS 細胞を作製することができました。今後も研究を継続し、ネコ iPS 細胞を使用した新たな治療法開発や、難しい疾患の病態解明をしていきたいと思ひます。



鳩谷 晋吾教授

<研究の背景>

伴侶動物として広く飼育されている猫においては、平均寿命の延伸により、人間と同様に慢性腎臓病や糖尿病など、長期にわたって生活の質を低下させる疾患の治療が課題となっています。このような慢性疾患は、従来の治療法である薬や手術で治すことができません。また、猫の品種や血統に起因する遺伝性疾患も問題となっていますが、これら疾患の病態を解明する研究もまだ進んでいません。こうした状況から、人間の医療と同様に、獣医療でも iPS 細胞（人工多能性幹細胞）を用いてさまざまな細胞や臓器を作り出し、それらを再生医療、病態解明、創薬分野へと応用する研究へのニーズが高まっています。しかし、ネコ iPS 細胞の作製は非常に困難で、世界的にもほとんど報告がありません。

これまでわずかに報告のあるネコ iPS 細胞の研究では、レトロウイルスベクターなどが使用されていましたが、外来遺伝子が宿主細胞のゲノムに挿入され、宿主細胞ゲノムに傷がつきます。このような iPS 細胞を各種細胞に分化させて、移植治療に応用すると、外来遺伝子が活性化して癌化する可能性も考えられます。また、細胞の増殖を助けるフィーダー細胞（マウス胎子線維芽細胞）を、ネコ iPS 細胞と一緒に培養する必要があるため、臨床応用に適しません。さらに、iPS 細胞の品質を規定する重要な能力の一つに、テラトーマ形成能^{*2}がありますが、これまでのネコ iPS 細胞にはテラトーマ形成能がなく、品質の低いものでした。

以上のことから、遺伝子挿入のない（Footprint-free）、高品質な（テラトーマ形成能を持つ）ネコ iPS 細胞を作製し、フィーダーなし（Feeder-free）で培養できる手法の開発が求められています。

<研究の内容>

本研究では、Footprint-free なネコ iPS 細胞を作製するために、これまでとは異なるタイプの RNA ウイルスベクターを使用しました。このベクターで導入された遺伝子は細胞のゲノムに挿入されないため、宿主細胞ゲノムに傷をつけず、細胞から簡単に除去することができます。また、ネコの 6 因子（iPS 細胞作製に必須の 4 遺伝子（山中 4 因子）+ 初期化^{*3}に有効とされる 2 遺伝子）をネコ線維芽細胞へ導入しました。その結果、低効率ではあるものの、線維芽細胞から Footprint-free なネコ iPS 細胞の作製に成功しました。また本方法で、作製したネコ iPS 細胞は、Feeder-free 培養が可能であり、テラトーマ形成能も有していました。

続いて、より効率の良いネコ iPS 細胞作製法の開発を目指しました。ネコ iPS 細胞の作製効率が低い原因として、遺伝子導入されていない線維芽細胞が過剰に増殖し、遺伝子導入された細胞が iPS 細胞になる過程を阻害

するのではないかと予想しました。そこで、薬剤によって遺伝子導入されていない線維芽細胞を除去して、細胞の初期化を行った結果、遺伝子導入された線維芽細胞からネコ iPS 細胞を効率的に作製できるようになりました。

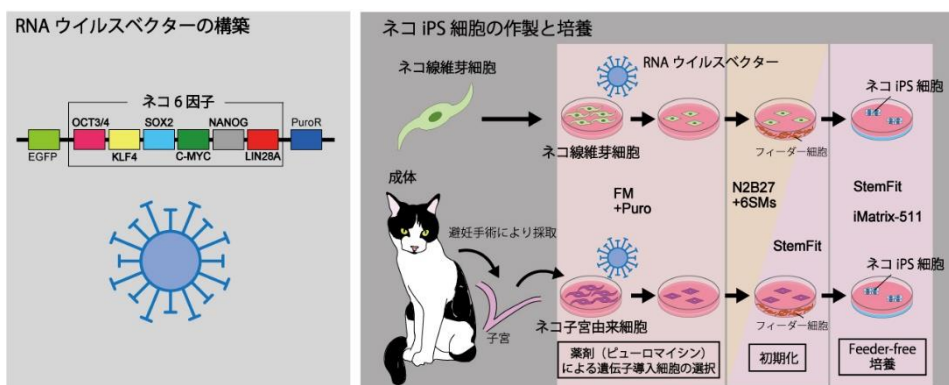


図2 ネコ 6 因子を導入し、Footprint-free で高品質なネコ iPS 細胞の作製に成功

最後に、成体からネコ iPS 細胞の作製を試みました。猫への負担が小さく、入手しやすい細胞を探索し、猫で一般的な避妊手術によって摘出・廃棄される子宮に着目しました。この子宮由来の細胞を同様にネコ 6 因子で初期化し、Footprint-free で高品質なネコ iPS 細胞の作製に成功しました (図 2)。

<期待される効果・今後の展開>

今後、本研究で作製可能となった高品質なネコ iPS 細胞を世界中の研究者へ提供することで、獣医再生医療研究や遺伝性疾患の病態解明、新たな治療薬の開発への応用が期待されます。一方、ネコ iPS 細胞から目的の細胞や臓器を創り出す研究は、これから進めていく必要があります。特に猫では、慢性腎臓病や糖尿病が深刻な問題となっており、ネコ iPS 細胞から腎臓や膵臓を構成する細胞の作製方法の確立は、今後の研究課題です。

<資金情報>

本研究は、科学研究補助金 (JP18K19273、JP18H02349、JP22H02525)、JST 研究成果展開事業研究成果最適展開支援プログラム A-STEP トライアウトタイプ (JPMJTM20QH)、およびアニコム先進医療研究所株式会社の支援を受けて実施しました。

<用語解説>

- ※1 ベクター…遺伝子を細胞内に入れるのに必要な遺伝子の運び屋。本研究ではセンダイウイルスの遺伝子発現系を基に開発された、ステルス型 RNA ベクター (SRV ベクター) を使用した。
- ※2 テラトーマ形成能…iPS 細胞が免疫不全マウスの体内で自ら分化し、外・中・内胚葉組織を含む特殊な腫瘍 (テラトーマ) を形成する能力。
- ※3 初期化…皮膚などの体細胞を受精卵に近い状態まで巻き戻すこと。一般的に皮膚などの分化した細胞は、その他の種類の体細胞に分化する能力をもたないが、受精卵に近い多能性をもつ細胞は、身体を構成するほとんどすべての細胞へ分化する能力をもつ。

<掲載誌情報>

【発表雑誌】 Regenerative Therapy

【論文名】 Generation of footprint-free, high-quality feline induced pluripotent stem cells using Sendai virus vector

【著者】 Kazuto Kimura*, Masaya Tsukamoto*, Hiroko Sugisaki, Miyuu Tanaka, Mitsuru Kuwamura, Yuki Matsumoto, Genki Ishihara, Kei Watanabe, Mika Okada, Mahito Nakanishi, Kikuya Sugiura, Shingo Hatoya*

【掲載 URL】 <https://doi.org/10.1016/j.reth.2024.08.012>

【研究内容に関する問い合わせ先】

大阪公立大学大学院獣医学研究科
教授 鳩谷 晋吾 (はとや しんご)

TEL : 072-463-5379

E-mail : hatoya@omu.ac.jp

ときわバイオ株式会社

代表取締役社長 (CEO/CSO)

中西 真人 (なかにし まひと)

TEL : 029-893-6040

E-mail: nakanishi@tokiwa-bio.com

【報道に関する問い合わせ先】

大阪公立大学 広報課

担当 : 竹内

TEL : 06-6605-3411

E-mail : koho-list@ml.omu.ac.jp

アニコム先進医療研究所株式会社

E-mail : anicom_medical@ani-com.com