

厚生労働省科学研究補助金（萌芽的先端医療技術推進研究事業）

平成15年度
総括・分担研究報告書

ナノテクノロジーによる機能的・
構造的生体代替デバイスの開発
(H14-ナノ-002)

主任研究者：杉町 勝
(国立循環器病センター研究所)

平成16（2004）年3月

目 次

1. 総括研究報告書	
ナノテクノロジーによる機能的・構造的生体代替デバイスの開発 国立循環器病センター研究所 杉町 勝	1
2. 分担研究報告書	
バイオニック神経制御システム植込み装置の一次試作 国立循環器病センター研究所 杉町 勝	1 9
バイオニック医学による心不全治療戦略の確立 九州大学大学院 砂川 賢二	3 2
バイオニック超小型分散型ペースメーカによる低電力除細動に関する研究 国立循環器病センター研究所 高木 洋	4 3
バイオニック医学による重症起立性低血圧治療開発に関する基礎研究 国立循環器病センター研究所 川田 徹	5 3
バイオニック動脈圧反射装置の臨床開発に関する研究 高知大学医学部 佐藤 隆幸	6 3
生体内無線通信に関する研究 株式会社 日立製作所中央研究所 小久保 優	7 8
バイオニックナノインプラント・ナノペーシングシステムのための情報通信技術の研究開発 横浜国立大学大学院 河野 隆二	9 8
複合酵素修飾グルコースセンサおよびグルコース型燃料電池の開発 東北大学大学院 末永 智一	1 1 3

On Surface テクノロジーの開発と組織工学デバイスの開発 国立循環器病センター研究所 中山 泰秀	1 2 8
To Surface テクノロジ開発、微細加工工学デバイスの開発 国立循環器病センター研究所 妙中 義之	1 4 3
装置化へ向けた各種素材および基盤技術の統合 国立成育医療センター研究所 絵野沢 伸	1 5 1
機能性プロテオリポソームの開発 大阪大学大学院 久保井 亮一	1 6 5
薬物代謝機能発現環境の最適化 大阪大学大学院 大政 健史	1 7 5
薬剤輸送トランスポーターのメカニズム解析とバイオ人工肝開発に向けた研究 京都大学大学院 植田 和光	1 8 4
薬物トランスポーター機能発現環境の最適化 自治医科大学 藤村 昭夫	1 8 9
リポソーム微細構造観察法の開発 独立行政法人 産業医学総合研究所 三枝 順三	1 9 4
3. 刊行物一覧	2 0 1
4. 論文別刷り	2 1 2

ナノテクノロジーによる機能的・構造的生体代替デバイスの開発

主任研究者 杉町 勝（国立循環器病センター研究所 室長）

研究要旨：

医学の進歩によってもなお治療が困難な疾患が数多く存在する。これまでの「原因追求型」の研究では治療の目的を達成できない難治性の疾患に対して生体の機能を代替する、または異常になってしまった生体機能を正常化するための人工の医療機器を用いる新しい治療法の開発が必要である。このいわば「機能再建型」の治療に関する研究は、高齢者の増加や疾患の重症化にともないますますその重要性を増すものと考えられる。

本研究では、①ナノテクノロジーを駆使した高機能LSI、生体内通信、生体燃料電池による循環調節機能の植込み代替医療機器「神経制御システム」プラットフォームの開発および高機能ペースメーカー「超小型分散ペーシングシステム」の基盤技術開発、②多くの循環器系植込み機器の血液界面に必要な生体のもつ抗血液凝固性や種々の特性をナノ分子操作技術を用いて代替し実現する方法の開発、③生体細胞の必要な機能のみを抽出し脂質膜上で代替する非細胞性ナノ生化学系の開発を行うことを目的とする。

本年度の研究では下記の成果を達成した。

①バイオニック心不全治療のための植え込み神経制御システムの要求仕様を決定し、一次試作を行った。試作した装置の基本動作を体外で確認した。バイオニック心不全治療の効果はベータ遮断薬投与下でも認められた。また超小型ペースメーカーに適した改良型オーバードライブペーシングによる低電力除細動の可能性を示した。

②移植部位に適したコンプライアンスを有する人工血管を患者の体内にて、患者の組織や細胞を用いて患者自身が作製できる、in situ オーダーメイド医療が実現されつつある。ナノ表面改質した人工肺はPlatinum Cube NCVCとして製品化され、開心術時の体外循環用ばかりではなく、数日～10日間程度の呼吸循環補助としても臨床応用されつつある。

③臨床に応用可能なスケールのリポソーム作成方法を確立した。非細胞系バイオ人工臓器の心臓部であるプロテオリポソームで異物取り込み機能が確認できた。

分担研究者

砂川 賢二 九州大学大学院医学研究院 臨床内科部門
高木 洋 国立循環器病センター研究所 循環動態機能部
川田 徹 国立循環器病センター研究所 循環動態機能部
佐藤 隆幸 高知大学医学部 循環制御学
河野 隆二 横浜国立大学大学院工学大学院

知的構造の創生部門

小久保 優 ㈱日立製作所中央研究所 情報システム研究センタ通信システム研究部 699 研究ユニット
末永 智一 東北大学大学院環境科学研究科 環境科学専攻
中山 泰秀 国立循環器病センター研究所 生体工学部
妙中 義之 国立循環器病センター研究所

	人工臓器部
絵野沢 伸	国立成育医療センター研究所 移植・外科部門
久保井 亮一	大阪大学大学院基礎工学研究科 化学系専攻
大政 健史	大阪大学大学院工学研究科 応用 生物工学専攻
藤村 昭夫	自治医科大学 臨床薬理学
三枝 順三	(独)産業医学総合研究所 人間 工学特性研究部
植田 和光	京都大学大学院 農学研究科 応用 生命科学専攻

A.研究目的

医学の進歩によってもなお治療が困難な疾患が数多く存在する。これまでの医学の流れは疾患の原因を明らかにしてその原因を早期に排除することにより疾患を治療する「原因追求型」の研究が主流を占めてきた。しかしながら原因を特定してもその排除ができない場合や疾患が完成して後遺症が残ってしまう場合には原因追及をすすめても治療の目的を達成できないことがある。このような難治性の疾患に対して生体の機能を代替する、または異常になってしまった生体機能を正常化するための人工の医療機器を用いる新しい治療法の開発が必要である。このいわば「機能再建型」の治療に関する研究は、高齢者の増加や疾患の重症化にともないますますその重要性を増すものと考えられる。

本研究では、①ナノテクノロジーを駆使した高機能 LSI、生体内通信、生体燃料電池による循環調節機能の植込み代替医療機器「神経制御システム」プラットフォームの開発および高機能ペースメーカー「超小型分散ペースングシステム」の基盤技術開発、②多くの循環器系植込み機器の血液界面に必要な生体のもつ抗血液凝固性や種々の特性をナノ分子操作技術を用いて代替し実現する方法の開発、③生体細胞の必要な機能のみを抽出し脂質膜上

で代替する非細胞性ナノ生化学系の開発を行うことを目的とする。

A-1.バイオニックナノメディスンによる循環器調節機能デバイスの開発研究

重症心不全は高度な現代医療をもってしてもなお予後の不良な疾患である。近年の調査によれば、重症心不全の5年生存率はこの40年間にわずか10%しか改善していないことが報告されており、心不全患者の治療にはさらに画期的な治療法が必要である。心不全は心臓だけの病気ではなく、循環器系の調節系にも大きな変化がもたされていることが明らかになっている。この循環調節系の異常は心不全の病態の維持、重症化に関与していることも次第に明らかになっており、循環調節系に人工的に介入することで心不全の進行や重症化を阻止できるのではないかと考えられる。

すでにバイオニック迷走神経刺激による心不全治療によって、重症心筋梗塞後ラットの心臓リモデリングが抑制、心機能低下が抑制され、生存率の劇的な改善が見られることが明らかになった。

本年度は、バイオニック迷走神経刺激による心不全治療の機序を検討するとともに、バイオニック治療戦略の実現のために、現在は体外のコンピュータで行っているバイオニック治療論理を体内の植込み治療装置で行うための一次試作を行った。特に本年度はバイオニック心不全治療に的をあたて、神経制御システム（機能限定版）の一次試作を行い、問題点の抽出とその解決法の検討を行って、次年度以上の開発に役立てることを目的とした。

A-2.ナノ分子操作技術による血液界面代替デバイスの開発研究

循環器系組織は常に血液にさらされているため、それらの機能を代替するデバイスの長期維持は、血液凝固の回避能に大きく依存している。血液適合性はデバイスのナノメーターレベルでの極最表面層の物性と構造で決定

される。我々は、本年度においてデバイスの表面設計研究に特化し、秩序だって表面ナノ構造化させることにより、高度な生体適合性や機能性の獲得をめざす On Surface テクノロジー（表面上でのナノ構造操作）と予め精緻に構造設計されたナノ構造体をデバイス表面にカセット化する To Surface テクノロジー（表面へのナノ操作）の両方向からナノ分子アーキテクチャー技術の確立をめざしている。これらのテクノロジーを最大限に利用することにより、既存のマクロやマイクロ技術の組み合わせのみでは不可能であった以下に示す再生医療デバイスから低侵襲治療に関わる高機能治療デバイスが実現可能となり、広いスペクトルで萌芽的な高度先端医療の推進が加速されると考えられる。

A-3. ナノ生化学系による非細胞性代謝機能代替デバイスの開発研究

血液濾過透析や血漿交換を組み合わせた血液浄化法は 1980 年代の中空糸カラムの出現により急速に発展し、現在も劇症肝炎をはじめ様々な疾患に対する治療法の基幹をなしている。しかしながら、ひとりの患者に対し大量の血漿が必要であることや亜急性劇症肝炎では昏睡からの一時的な覚醒効果はみられるものの最終的な救命率の向上は得られないなど問題点も多い。このような現行の血液浄化法の限界の背景には、中空糸カラムによる血中物質の除去が単に膜の孔径にのみ依存し、生体にとって要不要の別なく排除してしまうという原因が考えられる。

工学的手法を補う目的で肝細胞あるいは腎細胞を利用したバイオ人工肝・人工腎の開発がなされているが、生細胞を用いる場合、医療機器としての品質管理や安全性確保が難しい。そこで細胞全体から、バイオ人工臓器の構成に必要な機能だけを選択・抽出し、ナノメータースケールの人工膜上に生理機能を構築するという戦略が考えられる。細胞表面に存在し、細胞内外の物質輸送を行うチャネ

ルタンパク分子を人工膜に固定化するという新規な発想による血液浄化システムを開発する。こうして再構成された人工合成膜により生きた細胞のように統合した選択的・能動輸送を実現させることが目標である。

各研究グループが小スケールで行ってきたことを医療機器の開発研究になりうる程度にスケールアップした昨年度の成果を受け、本年度はこれら素材を融合することに努めた。さらに発展的研究として現在臨床的に血中からの除去が難しいとされるビリルビンを代謝・排泄するためのトランスポータに関する基礎検討を開始し、ビリルビン除去のための分子ないし人工細胞のデザインに必要な情報を得た。またナノの世界を視覚化するための電子顕微鏡によるリポソームの観察にも新しい手法で成功した。

B. 研究方法

B-1. バイオニックナノメディスンによる循環器調節機能デバイスの開発研究

B-1-1. バイオニック神経制御システムの試作

すでに昨年度までにバイオニック神経制御システムの基本仕様に関して、生体からの信号および生体の制御信号をすべてデジタル化して処理すること、バイオニック治療戦略の変更をソフトウェアの置換で行うこと、本システムは生体信号入力のための差動増幅器、AD 変換器、CPU、メモリ、DA 変換器、通信部および外部プログラマで構成することを決定した。生体の調節機能を忠実に再現するためには、生体の機能（インパルス応答）を白色雑音法により明らかにし、システム内でインパルス応答と入力信号の畳み込み積分により再現する必要がある。

これまでの基礎検討および生体信号の特徴、必要な演算の量と精度、植込み装置としての使用環境、治療の期間などを考慮してバイオニック神経制御システム一次試作（心不全治療のための機能限定版）の要求仕様を決定し

た。

試作のための詳細仕様を検討するために、①入出力の信号レベルおよびインピーダンスを考慮して入出力回路を設計した。バイオニック心不全治療のための植え込み装置では心室内に留置するリードが入出力を兼用することに関しても検討した。②消費電力、周辺回路の内蔵、間欠動作、演算能力などを基準にCPUを検討した。③ごく近距離ながら微弱電波により非接触で情報を交換し定期券などに使われているRFID方式と情報家電で使われている周波数拡散通信のBluetooth方式を比較検討した。これらの検討結果を統合し、バイオニック神経制御システムの一次試作（心不全治療のための機能限定版）装置を作成し、体外で機能の確認を行った。また、試作システムの体外での機能の確認のために心臓シミュレータを開発した。

B-1-2.バイオニック心不全治療の機序検討

バイオニック心不全（迷走神経刺激）治療の機序については、8週令のオスSDラットで検討した。ラットの左冠状動脈の基部を結紮し急性心筋梗塞（40～50%）を作った。1週間後、生き残った心筋梗塞ラットを2群（迷走神経刺激群、非刺激群）に分け、刺激群では血圧テレメトリ装置、無線電気刺激装置（右迷走神経）を植え込んだ。さらに回復させ1週間後まで生存したラット28匹（刺激群13匹、非刺激群15匹）と、同週令の心筋梗塞を作成せず種々の装置の植え込みもしていない群8匹の、飲み水にベータ遮断薬（メトプロロール）を投与した。平均心拍数を20～30bpm低下させるように迷走神経を（電流0.1～0.13mA、パルス幅0.2ms、頻度20Hz）1分間に10秒だけ間欠刺激した。バイオニック心不全治療を6週間で終了し、再度ハロセン麻酔下で頸静脈から約3mlの採血を行った、さらに回復させ1週間後、血行動態を測定した後、屠殺して組織学的に心臓リモデリングを評価した。心不全治療6週間後までではある

が、ラットの生存率も検討した。

B-1-3.超小型分散ペースングシステムによる低電力除細動の検討

超小型ペースメーカーに、より適したオーバードライブペースングによる除細動の開発しその除細動効率を上げるために、固定レートではなく不応期を脱した瞬間にオーバードライブペースングを行う方式を検討した。FitzHugh-Nagumo 二次元モデルに渦巻き波を発生させ、一点の心筋が不応期を脱した瞬間オーバードライブペースングを行って検討した。

B-2.ナノ分子操作技術による血液界面代替デバイスの開発研究

B-2-1.On Surface テクノロジーの開発に関する研究

本研究では異物を埋植した際に見られるカプセル化を利用して自己組織のみからなる血管様管状組織体を作成し、人工血管への応用を検討した。埋入物（鋳型）としてポリ塩化ビニル、ポリエチレン、シリコン（Si）、ポリフルオロエチレン、ポリメチルメタクリレート（PMMA）、ポリウレタンなどの高分子の円柱（直径3mm、長さ2cm）を兎背部の皮下に埋植した。所定期間後に摘出し、組織切片を顕微鏡で、内腔面を走査型電子顕微鏡で観察し、力学的性質をコンプライアンス（stiffness parameter: β 値）で評価した。

B-2-2.To Surface テクノロジーの開発に関する研究

生体の細胞膜と同様に2本のアルキル鎖を有する構造を基本とし、ナノメートルオーダーでこのジアルキル基の鎖長を制御することにより、先端に結合させた生理活性物質、ヘパリンを親水性環境下であたかも血中に溶出したような状態でその活性を十分に発揮させるとともに、実際にはヘパリンが血中に溶出して行くことなく材料表面に留まるための疎水

性環境をも同時に維持する技術について検討を行った。

B-3. ナノ生化学系による非細胞性代謝機能代替デバイスの開発研究

B-3-1. リポソーム迅速大量調製法の確立

リポソームの製法には大別してリン脂質を有機溶媒に溶解した後に薄膜を形成し機械的攪拌により形成させるものと混合ミセルから透析やゲル濾過によって界面活性剤を除去しリポソームを形成させる方法がある。医療分野で用いられている中空糸型透析カラムを用いたリポソーム作成法を開発し、粒径分布を測定した。

B-3-2. プロテオリポソーム作成法の最適化と機能評価

プロテオリポソーム調製に適した界面活性剤選択指標ならびに脂質組成の探索、およびプロテオリポソームのストレス応答特性の検討を行った。また、MDR1 組込プロテオリポソームによる ATP 依存性基質取込能を調べた。

B-3-3. 薬物代謝モデル系の構築

昨年構築した GS-3A4-HepG2 株の薬物代謝活性 (CYP3A4 活性) を代表的基質である testosterone の代謝物、6 β -hydroxy testosterone 量で測定した。また CYP1A2 など 3A4 以外の複数の CYP によっても代謝される lidocaine を基質として用いた場合も検討した。さらに、構築した細胞が血液浄化システムに適用された際の薬物代謝能の評価を行うためクリアランスを算出した。

B-3-4. 薬物トランスポータに関する研究

MRP2 (multidrug resistance protein 2) の ATP 加水分解に依存したビリルビン輸送機構について、ATP 結合領域中のグルタミン残基変異 Q1382R の影響を検討した。

ATP 結合ドメインを持つ新たに発見された膜蛋白 ABCA8 の正常組織における局在をポ

リクローナル抗体を用いて検討した。

B-3-5. リポソーム微細構造観察法の開発

血液を支持体としてリポソーム試料を混入し、通常の生物試料と同様の電子顕微鏡的観察を行う方法によって、リポソームの微細構造を観察する方法を開発した。血液支持体内のリポソーム試料を通常の方法により固定後エポン包埋し、50~60nm の厚さの超薄切片を電子顕微鏡で観察した。

C. 研究結果

C-1. バイオニックナノメディスンによる循環器調節機能デバイスの開発研究

C-1-1. バイオニック神経制御システムの試作

バイオニック神経制御システム一次試作 (心不全治療のための機能限定版) の要求仕様を決定した。①入出力を兼用する心臓の電極リードにインピーダンスの異なる入出力回路が並列に接続するために、出力回路と電極リードとの間に CPU からの信号によって回路を開閉する CMOS スイッチを組み込むこととした。②2つの方式 (アナログ \leftrightarrow デジタル変換回路を内蔵する汎用 CPU、入力部を PIC が担当し演算および出力部を汎用 CPU が担当する方法) を検討し、単一 CPU の方式がより消費電力を低減できることが明らかになった。③周波数拡散通信 Bluetooth 方式と比し、消費電力では RFID 方式が優れるが大きなアンテナが必要なこと通信可能距離が限られるという問題があった。

以上の検討をもとに、バイオニック神経制御システムの試作2種類を試作した。試作1では単一 CPU と RFID を組み合わせ、試作2では複数 CPU と Bluetooth を組み合わせて植込み装置として開発した。体外において心臓シミュレータを用い、基本的な入出力機能、演算機能、無線通信機能を確認した。無線通信機能は Bluetooth を用いた試作2の安定性が優れていた。各々ボタン型電池4個の使用

で12ヶ月、8ヶ月連続動作の見通しを得た。

C-1-2. バイオニック心不全治療の機序検討

治療論理の検討では、バイオニック心不全（迷走神経刺激）治療による心臓リモデリングの抑制 (2.72 ± 0.29 g/kg vs 2.96 ± 0.22 g/kg, $p < 0.05$) および左室機能低下の抑制（左室圧一次微分最大値 4941 ± 482 mmHg/sec vs 4411 ± 448 mmHg/sec, $p < 0.05$ 、左室拡張末期圧 17 ± 4 mmHg vs 21 ± 4 mmHg, $p < 0.05$ ）、BNP 上昇の抑制 (99 ± 28 pg/ml vs 140 ± 48 pg/ml, $p < 0.05$) がベータ遮断薬投与下でも認められ、6週までの生存率も改善傾向であった。このことから、バイオニック迷走神経刺激による治療効果は、交感神経に対する拮抗作用以外の迷走神経刺激固有の作用と考えられた。

C-1-3. 超小型分散ペースングシステムによる低電力除細動の検討

二次元に FitzHugh-Nagumo 心筋細胞モデルを配列したシミュレーションでは、どの格子点から行った単一オーバードライブペースングでも、渦巻き波を停止させることができた。単一オーバードライブペースングによって渦巻き波が停止するのに要する時間の空間分布を検討すると、渦巻き波の中心点が存在する、右上方の領域で単一箇所オーバードライブペースングを行った試行ほど、所要時間が短くなっていった。渦巻き波停止所要時間は2箇所同時オーバードライブペースング試行で必ずしも短縮しなかった。

C-2. ナノ分子操作技術による血液界面代替デバイスの開発研究

C-2-1. On Surface テクノロジーの開発に関する研究

いずれの高分子を埋植しても2週間程度で周囲に管状の組織体が形成された。埋入1ヶ月後には組織の厚さはいずれの場合も数百 μ mであった。得られた管状組織体の内腔に水

圧を徐々に200mmHgまで付加させても破断することはなかった。管外径は埋入剤に依存し数～数十%の範囲で拡張した。内圧と管外径の相関関係は数回再現性良く繰り返された。組織の構成成分は、線維芽細胞以外は、ほとんどが膠原線維であったが、一部弾性線維の出現と、多数の血管新生を認めた。

C-2-2. To Surface テクノロジーの開発に関する研究

2匹の成ヤギは人工肺と血液ポンプにより安定した状態で長期生存(36, 28日間)した。血流量は2.0～3.0 L/minを維持できた。手術時に一過性に投与したヘパリンが消失後は血中ヘパリンは検出されなかった。全血凝固時間、活性化プロトロンビン-トロンビン時間は正常範囲であった。貧血(9.1 g/dL)、溶血によるヘモグロビン濃度(9.8 mg/dL、6.7 mg/dL)、血小板消費はいずれも軽微であった。36日間にわたり明らかな血漿漏出および血流量の低下はみられなかった。平均酸素移動量は92[従来型]～155[高透過型] mL/min、平均炭酸ガス移動量は101[従来型]～123[高透過型] mL/minであった。血栓は人工肺ケーシング辺縁部にごく軽微なものが認められずに過ぎなかった。細胞培養での検討で、本コーティングにより細胞の初期接着抑制が認められ血栓抑制のひとつの機序と考えられた。

C-3. ナノ生化学系による非細胞性代謝機能代替デバイスの開発研究

C-3-1. リポソーム迅速大量調製法の確立

医療分野で用いられている中空糸型透析カラムを用いたリポソーム作成法を考案した。この方法で作ったリポソームは従来のエクストルーダ法(リン脂質を小孔に出し入れして作成する)とほぼ同様な粒径と分布を有することがわかった。本法によると連続的かつ大量にリポソームを作成でき、今後、体外循環回路として計画しているリポソームリサイクル系にも利用できると思われる

C-3-2. プロテオリポソーム作成法の最適化と機能評価

ミセルが示す誘電分散特性とミセルに可溶化した膜タンパク質の ATPase 活性との相関性について検討した結果、低い誘電分散特性を示す界面活性剤を用いた場合に ATPase 活性は増加する傾向が観察された。

ATPase 活性に及ぼすリポソームの脂質組成の影響を、相転移温度、電荷、コレステロール含有率の観点から検討した。DMPC に比べて POPC や EggPC のような液晶相を示す脂質の方が比較的高い ATPase 活性を示した。いずれの場合も MDR1 は ATPase 活性部位の 83・89% が外向きの配向性を示しており、リポソーム内部に薬物を保持するという目的にかなったプロテオリポソームが調製できていることが分かった。

MDR1 分子を組み込んだプロテオリポソームを調製し、基質であるジゴキシンの実際の取込を調べた。この結果、ATP 存在下で MDR1 プロテオリポソームのみがジゴキシンの取り込み、MDR1 を含まないリポソームや、変性 MDR1 を含むリポソームでは ATP の有無に関わらず、ジゴキシンの取込はバックグラウンドレベルであった。このことから、ナノ代謝代替デバイスの機能部分といえるプロテオリポソームが実際に低分子毒物の除去に用いることが可能であることがわかった。

C-3-3. 薬物代謝モデル系の構築

GS-3A4・HepG2 株の薬物 (testosterone) 代謝活性 (CYP3A4 活性) は、基質濃度 100 mM において 690 pmol/min/mg protein であり、ヒト初代肝細胞の約 3.5 倍の活性を示した。同様に CYP1A2 など 3A4 以外の複数の CYP によっても代謝される lidocaine を基質として用いた場合、基質濃度 100 mM において活性はヒト初代肝細胞の約 1/10 となった。

3A4 導入 HepG2 細胞の testosterone クリアランスは 0.7 ml/min であり、ヒト初代肝細胞

の約 7 倍であった。一方、lidocaine クリアランスは 0.53 ml/min であり、初代肝の 1/10 程度であった。

C-3-4. 薬物トランスポータに関する研究

C-3-5. リポソーム微細構造観察法の開発

血液支持体内のリポソーム試料を通常の方法により固定後エポン包埋し、50~60nm の厚さの超薄切片を電子顕微鏡で観察すると血漿内に直径 100~125nm で 3~5 層の膜を有する中空円形構造を認めた。また、異なる方法で作製したリポソーム試料を同様の方法で観察したところ、直径 70~250nm の中空あるいはタマネギ状のリポソームを認めた。

D. 考察

D-1. バイオニックナノメディスンによる循環器調節機能デバイスの開発研究

バイオニック治療戦略とは、生体と同様に機能することのできる人工の調節系を用いて、生体の調節系に介入し生体そのものの調節系を代替・置換する治療戦略である。心不全のように生体が異常な調節状態に陥った場合には、人工の調節系により異常な調節状態を是正することにより、調節機能自体が心不全を悪化させる、いわゆる悪循環を断ち切ることができることも明らかにした。バイオニック治療戦略は機能再建型の治療戦略であり、原因追求型の治療戦略では治療することのできなかった種々の難治性循環器疾患を治療することが示された。

本研究ではナノテクノロジーを駆使して小型・超低消費電力のバイオニック神経制御植込み治療装置の一次試作を行った。本年度の研究では 1) 電子回路、電源、筐体全体をイヌなどの大動物に植込み可能な大きさに小型化することができ、2) 既存部品の組み合わせのみによって 8~12 ヶ月連続動作が可能な超低消費電力の装置を開発することができた。

さらに、3) 内部の演算(治療論理)を外部プログラマを用いて無線通信により変更可能であることを示した。

本試作では依然、臨床応用のために必ずしも十分な連続動作期間を確保しているとはいえないが、既存部品の組み合わせのみでこの動作期間を達成したことは評価に値する。既存部品の組み合わせをカスタム IC 化することによって消費電力を格段に低減させることができるので、数年間の連続動作が可能であり臨床応用の要求基準を達成できるものと考えられる。植込み装置の実現は、長期間連続した(主として自宅での)自動的な治療を可能にするという意味で臨床応用の観点からも有用である。

現時点では、植込み装置はバイオニック治療論理を最適化しその効果を大動物での慢性実験で確認するためにも必要な道具である。本年度に開発した一次試作装置を用いてイヌなどの大動物でのバイオニック治療実験を次年度より開始する。大動物での有効性の確認と最適治療論理の設定を行う必要がある。

D-2. ナノ分子操作技術による血液界面代替デバイスの開発研究

バイオチューブ人工血管は、自己の細胞ならびに細胞外マトリックス成分を用いて、自己の体内において作製することができる。さらに、力学的性質や形状などを任意に設計することが可能であり、それらを宿主血管組織と適合化させることが容易である。今後は、動物への移植実験をとおして小口径人工血管としての有用性を実証していく。

本年度検討した T-NCVC®コーティングを用いた人工肺は高透過型のもでも血漿漏出等の問題点は認められなかった。長期間にわたり抗凝固を一切行わないという極めて厳しい条件にもかかわらず、抗血栓性を長期間持続でき、複雑なヘパリンコーティング工程、対象の制限、高コストを克服した。さらには血小板への影響が極めて軽度であった。今後、

様々な血液接着デバイスへの応用を検討し、特に抗細胞接着性に優れた人工血管の開発を行う予定である。

D-3. ナノ生化学系による非細胞性代謝機能代替デバイスの開発研究

生体はナノメートルスケールの機能的あるいは構造分子が構成素材となり、マイクロメートルスケールの細胞を形成、さらに肉眼レベルである組織や臓器が構成されている。本研究は、この分子レベルからの統合を人工的にを行い、物理的ふるい分けに依存している現在の血液浄化を、生体高分子の有する選択性、能動性を利用した生物学的な力によるナノ代謝代替デバイスとして新規な血液浄化法の創生をめざすものである。理想的な血液浄化は生体が行っているように毒性物質のみを選択的に取り除くシステムである。我々は細胞表面に存在し細胞内外の物質輸送を行うチャネルタンパク分子を人工膜に固定化するという新規な発想を検討している。こうして再構成された人工合成膜であるナノ代謝代替デバイスに生きた細胞のように統合した選択的・能動輸送を行わせることが我々の目標である。

リポソームは脂質2分子膜からなる閉鎖小胞体で、脂質の2分子膜構造をとっているといわれる天然の生体膜と類似の構造である。今回我々が開発した中空糸カラム利用法では、調製の「連続性」という点が特に重要であると考えている。我々が計画しているデバイス構造は透析外液中に機能性プロテオリポソームを加えることによって限外膜を介して拡散しただけの血中低分子の中で標的とする毒性物質をリポソーム中に封じ込めて除去しようというものである。従って透析カラム側に連続して、リポソームの分解-低分子毒性物質の除去-リポソームの再構築という経路を構築することを考えている。今回開発したリポソーム作成系はこの最終段階のリポソーム再構築に適すると考えられる。

MDR1を組み込んだプロテオリポソームで

は、ATP 水解能から見て 80%以上が内向きに配位していることがわかった。生理的にはこれらのトランスポータは細胞内からの低分子異物の排出を行っているため外向きに配位している。このことは放射性 digoxin の取込によっても確認されている。今後解決すべき問題は、トランスポータや酵素を駆動するためのエネルギー供給である。トランスポータの場合、ATP がそのエネルギー源である。ATP は医薬品として使われ、化学的に安定、かつ安価であることから、透析外液中に存在させてトランスポータ活性を維持することが可能と考えている。一方、本研究のもう一つの目的となっている代謝機能を担う薬物代謝酵素チトクロム P 450 の場合は NADPH を供与体とする電子伝達系である。NADPH は科学的に不安定かつ高価であるため、固定化するなどして分子レベルのリサイクルが必要と考えられる。

E. 結論

①バイオニック心不全治療のための植え込み神経制御システムの要求仕様を決定し、一次試作を行った。試作した装置の基本動作を体外で確認した。バイオニック心不全治療の効果はベータ遮断薬投与下でも認められた。また超小型ペースメーカーに適した改良型オーバードライブペーシングによる低電力除細動の可能性を示した。

②移植部位に適したコンプライアンスを有する人工血管を患者の体内にて、患者の組織や細胞を用いて患者自身が作製できる、in situ オーダーメイド医療が実現されつつある。ナノ表面改質した人工肺は Platinum Cube NCVC として製品化され、開心術時の体外循環用ばかりではなく、数日～10 日間程度の呼吸循環補助としても臨床応用されつつある。

③臨床に応用可能なスケールのリポソーム作成方法を確立した。非細胞系バイオ人工臓器の心臓部であるプロテオリポソームで異物

取り込み機能が確認できた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

G-1. 論文

1. Uemura K, Sugimachi M, Kawada T, Kamiya A, Jin Y, Kashihara K, Sunagawa K. A novel framework of circulatory equilibrium. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* (in press), 2004
2. Zhang D, Ando, Yamasaki F, Sato T. Neural reflex hypotension induced by very small dose of hypertonic NaCl solution in anesthetized rats. *Jpn J Physiol* (in press), 2004
3. Omasa T, Kishimoto M, Kawase M, Yagi K. An attempt at decision making in tissue engineering: reactor evaluation using the analytic hierarchy process (AHP). *Biochemical Eng J* (in press), 2004
4. Tsuruoka S, Nishiki K, Wakaumi M, Wang N, Yamamoto H, Ando H, Imai M, Fujimura A. Treatment of digoxin intoxication model by hybrid kidney with hollowfiber module for clinical hemodialysis. *Nephrol Dial Transplant* (in press), 2004
5. Mitchell C, Abreu G, Kohno R. Combined pulse shape and pulse position modulation for high data rate transmissions in UWB communications. *International Journal of Wireless Information Networks* (in press), 2004

6. Munehira Y, Ohnishi T, Kawamoto S, Furuya A, Shitara K, Imamura M, Yokota T, Takeda S, Amachi T, Matsuo M, Kioka N, Ueda K. α 1-syntrophin modulates turnover of ABCA1. *J Biol Chem* (in press), 2004
7. Suzuki S, Nishimaki-Mogami T, Tamehiro N, Inoue K, Arakawa R, Abe-Dohmae S, Tanaka AR, Ueda K, Yokoyama S. Verapamil increases the apolipoprotein-mediated release of cellular cholesterol by induction of ABCA1 expression via an LXR-independent mechanism. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* (in press), 2004
8. Fujise H, Sasawatari S, Annoura T, Ikeda T, Ueda K. 3, 3', 4, 4', 5-penta-chlorobiphenyl inhibits drug efflux through P-glycoprotein in KB-3 cells expressing mutant human P-glycoprotein. *J. Biomed. Biotech* (in press), 2004
9. Kimura Y, Shibasaki S, Morisato K, Ishizuka N, Minakuchi H, Nakanishi K, Matsuo M, Amachi T, Ueda M, Ueda K. Microanalysis for MDR1 ATPase by high-performance liquid chromatography with a titanium dioxide column. *Anal Biochem* (in press), 2004
10. Kimura Y, Matsuo M, Takahashi K, Saeki T, Kioka N, Amachi T, Ueda K. ATP hydrolysis-dependent multidrug efflux transporter, MDR1/P-glycoprotein. *Current Drug Metabolism* (in press), 2004
11. Kamiya A, Michikami D, Shiozawa T, Iwase S, Hayano J, Kawada T, Sunagawa K, Mano T. Bed rest attenuates sympathetic and pressor responses to isometric exercise in antigravity leg muscles in humans. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 286: R844-R850, 2004
12. Li M, Zheng C, Sato T, Kawada T, Sugimachi M, Sunagawa K. Vagal nerve stimulation markedly improves long-term survival after chronic heart failure in rats. *Circulation* 109: 120-124, 2004
13. Yamamoto K, Kawada T, Kamiya A, Takaki H, Miyamoto T, Sugimachi M, Sunagawa K. Muscle mechanoreflex induces the pressor response by resetting the arterial baroreflex neural arc. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 286: H1382-H1384, 2004
14. Kamiya A, Michikami D, Iwase S, Hayano J, Kawada T, Sugimachi M, Sunagawa K. Alpha-adrenergic vascular responsiveness to sympathetic nerve activity is intact after head-down bed rest in humans. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 286: R151-R157, 2004
15. Takauchi Y, Yamazaki T, Akiyama T, Sunagawa K. NG-nitro-L-arginine methyl ester-induced norepinephrine release from cardiac sympathetic nerve endings in anesthetized cats. *Neurosci Lett* 353: 205-208, 2004
16. Abreu G, Ochiai H, Kohno R. Linear maximum likelihood decoding of space-time block coded OFDM systems for mobile communications. *IEEE Proceedings on Communications* 1-15, 2004

17. Abe-Dohmae S, Ikeda Y, Matsuo M, Hayashi M, Okuhira KI, Ueda K, Yokoyama S. Human ABCA7 supports apolipoprotein-mediated release of cellular cholesterol and phospholipid to generate HDL. *J Biol Chem* 279: 604-611, 2004
18. Tatewaki T, Inagaki M, Kawada T, Shishido T, Yanagiya Y, Takaki H, Sato T, Sugimachi M, Sunagawa K. Biphasic response of action potential duration to sudden sympathetic stimulation in anesthetized cats. *Circ J* 67: 876-880, 2003
19. Kamiya A, Michikami D, Hayano J, Sunagawa K. Heat stress modifies human baroreflex function independently of heat-induced hypovolemia. *Jpn J Physiol* 53: 215-222, 2003
20. Akiyama T, Yamazaki T, Mori H, Sunagawa K. Inhibition of cholinesterase elicits muscarinic receptor-mediated synaptic transmission in the rat adrenal medulla. *Auton Neurosci* 107: 65-73, 2003
21. Kashihara K, Takahashi Y, Chatani K, Kawada T, Zheng C, Li M, Sugimachi M, Sunagawa K. Intravenous angiotensin II does not affect dynamic baroreflex characteristics of the neural or peripheral arc. *Jpn J Physiol* 53: 135-143, 2003
22. Toyofuku M, Takaki H, Sugimachi M, Kawada T, Goto Y, Sunagawa K. Reduced oxygen uptake increase to work rate increment ($\Delta/\Delta WR$) is predictable by response to constant work rate exercise in patients with chronic heart failure. *Eur J Appl Physiol* 90: 76-82, 2003
23. Sato T, Kawada T, Inagaki M, Shishido T, Sugimachi M, Sunagawa K. Dynamics of sympathetic baroreflex control of arterial pressure in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 285: R262-R270, 2003
24. Aiba T, Shimizu W, Inagaki M, Hidaka I, Tatewaki T, Sunagawa K. Transmural heterogeneity of the action potential configuration in the feline left ventricle. *Circ J* 67: 449-454, 2003
25. Kamiya A, Michikami D, Fu Q, Iwase S, Hayano J, Kawada T, Mano T, Sunagawa K. Pathophysiology of orthostatic hypotension after bed rest: paradoxical sympathetic withdrawal. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 285: 449-454, 2003
26. Kashihara K, Kawada T, Yanagiya Y, Uemura K, Inagaki M, Takaki H, Sugimachi M, Sunagawa K. Bezold-Jarisch reflex attenuates dynamic gain of baroreflex neural arc. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 285: H883-H840, 2003
27. Kitagawa H, Yamazaki T, Akiyama T, Mori H, Sunagawa K. Effects of moderate hypothermia on norepinephrine release evoked by ouabain, tyramine and cyanide. *J Cardiovasc Pharmacol* 41: S111-S114, 2003
28. Tomita T, Takaki H, Hara Y, Sakamaki F, Satoh T, Takagi S, Yasumura Y, Aihara N, Goto Y, Sunagawa K. Attenuation of hypercapnic carbon

- dioxide chemosensitivity after postinfarction exercise training: possible contribution to the improvement in exercise hyperventilation. *Heart* 89: 404-410, 2003
29. Miyamoto T, Kawada T, Takaki H, Inagaki M, Yanagiya Y, Jin Y, Sugimachi M, Sunagawa K. High plasma norepinephrine attenuates the dynamic heart rate response to vagal stimulation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 284: H2412-H2418, 2003
 30. Shimizu W, Noda T, Takaki H, Kurita T, Nagaya N, Satomi K, Suyama K, Aihara N, Kamakura S, Sunagawa K, Echigo S, Nakamura K, Ohe T, Towbin JA, Napolitano C, Priori SG. Epinephrine unmasks latent mutation carriers with LQT1 form of congenital long-QT syndrome. *J Am Coll Cardiol* 41: 633-642, 2003
 31. Kawada T, Uemura K, Kashihara K, Jin Y, Li M, Zheng C, Sugimachi M, Sunagawa K. Uniformity in dynamic baroreflex regulation of left and right cardiac sympathetic nerve activities. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 284: R156-R1512, 2003
 32. Kitagawa H, Yamazaki T, Akiyama T, Mori H, Sunagawa K. Effects of ketamine on exocytotic and non-exocytotic noradrenaline release. *Neurochem Int* 42: 261-267, 2003
 33. Kawada T, Yanagiya Y, Uemura K, Miyamoto T, Zheng C, Li M, Sugimachi M, Sunagawa K. Input-size dependence of the baroreflex neural arc transfer characteristics. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 284: H404-H415, 2003
 34. Sakuragi S, Takagi S, Suzuki S, Sakamaki F, Takaki H, Aihara N, Yasumura Y, Goto Y. Patients with large myocardial infarction gain a greater improvement in exercise capacity after exercise training than those with small to medium infarction. *Clin Cardiol* 26: 280-286, 2003
 35. Otsuka Y, Takaki H, Okano Y, Satoh T, Aihara N, Matsumoto T, Yasumura Y, Morii I, Goto Y. Exercise training without ventricular remodeling in patients with moderate to severe left ventricular dysfunction early after acute myocardial infarction. *Int J Cardiol* 87: 237-244, 2003
 36. Zhang D, Ando M, Yamasaki F, Sato T. Carotid-sinus baroreflex modulation of core and skin temperatures in rats: an open-loop approach. *Jpn J Physiol* 53: 461-466, 2003
 37. Kokubo M, Tanaka S. Latest topics of radio frequency transceiver circuits. *The 17th Workshop on Circuit and System* 1-4, 2003
 38. Kokubo M, Shibahara Y, Aoki H, Hwang C. Low supply voltage and low-power 1-GHz PLL frequency synthesizer for mobile terminals. *IEICE Trans Electron* 71-78, 2003
 39. Umabayashi K, Morelos-Zaragoza RH, Kohno R. Method of non-data-aided carrier recovery with modulation identification. *IEICE Transactions on Fundamentals of Electronics, Communications and Computer Sciences* 1-10, 2003
 40. Abreu G, Kohno R. A modified

- Dolph-Chebyshev approach for the synthesis of low sidelobe beampatterns with adjustable beamwidth. *IEEE Transactions on Antennas and Propagation* 51: 3014-3017, 2003
41. Ishii K, Abreu G, Kohno R. Beam-space time coding exploiting the overlap among beam patterns. *IEICE Transactions on Fundamentals E86-A: 2501-2509*, 2003
 42. Sato T, Abreu G, Kohno R. Beamforming array antenna for ultra wideband communications, *International Workshop on Ultra Wideband Systems*, 2003
 43. Ishii K, Abreu G, Kohno R. Turbo-like space time coding for beamforming arrays. *IEEE International Symposium on Information Theory*, 2003
 44. Doi K, Mizutani K, Kohno R. Ultra wideband ranging system using improved chirp waveform. *Radio and Wireless Conference*, 2003
 45. Taniguchi M, Ochiai H, Kohno R. FPGA fault detection using error correcting codes for software defined radio. *Software Defined Radio Technical Conference 3-4*, 2003
 46. Kaji H, Takoh K, Nishizawa M, Matsue T. Intercellular Ca^{2+} imaging for micropatterned cardiac myocytes. *Biotech. Bioeng* 81: 748-751, 2003
 47. Takahashi T, Ogata S, Nishizawa M, Matsue T. A valveless switch for microparticle sorting with laminar flow streams and electrophoresis perpendicular to the direction of fluid stream. *Electrochem Commun* 5: 175-177, 2003
 48. Hirano Y, Mitsumori Y, Oyamatsu D, Nishizawa M, Matsue T. Imaging of immobilized enzyme spots by scanning chemiluminescence microscopy with electrophoretic injection. *Biosens Bioelectron* 18: 587-590, 2003
 49. Oyamatsu D, Kanaya N, Shiku H, Nishizawa M, Matsue T. Electrochemical / photochemical formation of enzyme patterns on glass substrates using a scanning electrochemical / confocal microscope. *Sens Actuat B* 91: 199-204, 2003
 50. Kaya T, Nagamine K, Oyamatsu D, Nishizawa M, Matsue T. A microbial chip for glucose sensing studied with scanning electrochemical microscopy (SECM). *Electrochemistry* 71: 436-438, 2003
 51. Oyamatsu D, Kanaya N, Hirano Y, Nishizawa M, Matsue T. Area-selective immobilization of multi enzymes by using the reductive desorption of self-assembled monolayer. *Electrochemistry* 71: 439-441, 2003
 52. Torisawa Y, Kaya T, Takii Y, Oyamatsu D, Nishizawa M, Matsue T. Scanning electrochemical microscopy (SECM)-based drug sensitivity test for cell culture integrated in silicon microstructures. *Anal Chem* 75: 2154-2158, 2003
 53. Glidle A, Yasukawa T, Hadyoon CS, Anicet N, Matsue T, Nomura M, Cooper JM. Analysis of protein adsorption and binding at biosensor polymer interfaces using X-ray photon spectroscopy and scanning electrochemical microscopy. *Anal Chem*

- 75: 2559-2570, 2003
54. Kaya T, Torisawa Y, Oyamatsu D, Nishizawa M, Matsue T. Monitoring the cellular activity by scanning electrochemical microscopy (SECM) of a cultured single cell. A comparison with fluorescence viability monitoring. *Biosens Bioelectron* 18: 1379-1383, 2003
 55. Takii Y, Takoh K, Nishizawa M, Matsue T. Characterization of local respiratory activity of PC12 neuronal cell by scanning electrochemical microscopy. *Electrochim Acta* 48: 3381-3385, 2003
 56. Oyamatsu D, Hirano Y, Kanaya N, Mase Y, Nishizawa M, Matsue T. Imaging of enzyme activity by scanning electrochemical microscope equipped with a feedback control for substrate-probe distance. *Bioelectrochemistry* 60: 115-121, 2003
 57. Kaji H, Takii Y, Nishizawa M, Matsue T. Pharmacological characterization of micropatterned cardiac myocytes. *Biomaterials* 24: 4239-4244, 2003
 58. Zhou H, Kasai S, Noda S, Ohya H, Shiku H, Matsue T. Characterization of peroxidase activity of single algae protoplasts by scanning electrochemical microscopy. *Bull Chem Soc Jp* 76: 1757-1762, 2003
 59. Kaji H, Nishizawa M, Matsue T. Localized chemical stimulation to micropatterned cells using multiple laminar fluid flows. *Lab on a Chip* 3: 208-211, 2003
 60. Masuda T, Nakayama Y. Development of a water-soluble matrix metalloproteinase inhibitor as an intra-arterial infusion drug for prevention of restenosis after angioplasty. *J Med Chem* 46: 3497-3501, 2003
 61. Nakayama Y, Nishi S, Ueda-Ishibashi H, Matsuda T. Fabrication of micropored elastomeric film-covered stents and acute-phase performances. *J Biomed Mater Res* 64A: 52-61, 2003
 62. Nakayama Y, Nishi S, Ishibashi-Ueda H. Fabrication of drug-eluting coverstents with micropores and differential coating of heparin and FK506. *Cardiovasc Rad Med* 4: 77-82, 2003
 63. Nishi S, Nakayama Y, Ishibashi-Ueda H, Matsuda T. Embolization of experimental aneurysms using a heparin-loaded stent graft with micropores. *Cardiovasc Rad Med* 4: 29-33, 2003
 64. Nishi S, Nakayama Y, Ueda-Ishibashi H, Matsuda T. Occlusion of experimental aneurysms with heparin-loaded, microporous stent grafts. *Neurosurgery* 53: 1397-1405, 2003
 65. Nakayama Y, Matsuda T. Photo-control of the interaction between endothelial cells and photo-cation generatable water-soluble polymers. *J Control Release* 89: 213-224, 2003
 66. Nakayama Y, Furumoto A, Kidoaki S, Matsuda T. Photocontrol of cell adhesion and proliferation by a photoinduced cationic polymer surface. *Photochem Photobiol* 77: 480-486, 2003
 67. Sonoda H, Takamizawa K, Nakayama

- Y, Yasui H, Matsuda T. Coaxial double-tubula compliant arterial graft prosthesis: time-dependent morphogenesis and compliance changes after implantation. *J Biomed Mater Res* 65A: 170-181, 2003
68. Brodbeck WG, Ziats GNP, Nakayama Y, Matsuda T, Anderson JM. In vivo leukocyte cytokine mRNA responses to biomaterials are dependent on surface chemistry. *J Biomed Mater Res* 64A: 320-329, 2003
69. Matsuda T, Nagase J, Ghoda A, Hirano Y, Kidoaki S, Nakayama Y. Phosphorylcholine-endocapped oligomer and block co-oligomer and surface biological reactivity. *Biomaterials* 24: 4517-4527, 2003
70. Li G, Sajiki T, Nakayama Y, Fukui M, Matsuda T. Novel visible-light-induced tissue adhesive composed of multiply strene-derivatized gelatin and poly(ethyelene glycol) diacrylate. *J Biomed Mater Res Part B: Appl Biomater* 66B: 439-446, 2003
71. Kuboki Y, Kikuchi M, Takita H, Yoshimoto R, Nakayama Y, Matsuda T, Ikada Y. Laser-perforated membranous biomaterials induced pore size-dependent bone induction when used as a new carrier. *Connect Tissue Res* 44: 318-325, 2003
72. Miyashita T, Enosawa S, Tanaka H, Tamura A, Amemiya H, Aoki T, Koyanagi Y, Suzuki S. Standardization of ischemic hepatic failure in pigs as a model for bioartificial liver assessment. *Surg Today* 33: 743-750, 2003
73. Haga S, Terui K, Zhang HQ, Enosawa S, Ogawa W, Inoue H, Okuyama T, Takeda K, Akira S, Ogino T, Irani K, Ozaki M. Stat3 protects against Fas-induced liver injury by redox-dependent and -independent mechanisms. *J Clin Invest* 112: 989-998, 2003
74. Jung H-S, Umakoshi H, Son S-Y, Shimanouchi T, Kuboi R. Characterization of the surface properties of chitosanase under heat stress condition using aqueous two-phase systems and an immobilized-liposome sensor system. *Solv Extr Res Dev Japan* 10: 123-132, 2003
75. Jung H-S, Shimanouchi T, Morita S, Kuboi R. Novel fabrication of conducting polymers contained micro-array gas sensitive films using a maicromanipulation method. *Electroanalysis* 15: 1453-1459, 2003
76. Yoshimoto N, Hashimoto T, Matundu MF, Umakoshi H, Kuboi R. Artificial chaperone-assisted refolding of bovine carbonic anhydrase using molecular assemblies of stimuli-responsive polymers. *Biomacromolecules* 4: 1530-1538, 2003
77. Ikeda Y, Abe-Dohmae S, Munehira Y, Aoki R, Kawamoto S, Furuya A, Shitara K, Amachi T, Kioka N, Matsuo M, Yokoyama S, Ueda K. Post-transcriptional regulation of human ABCA7 and its function for the apoA-I-dependent lipid release. *Biochem Biophys Res Commun* 311: 313-318, 2003
78. Tanaka AR, Abe-Dohmae S, Ohnishi T,

- Aoki R, Morinaga G, Okuhira KI, Ikeda Y, Kano F, Matsuo M, Kioka N, Amachi T, Murata M, Yokoyama S, Ueda K. Effects of mutations of ABCA1 in the first extracellular domain on subcellular trafficking and ATP binding/hydrolysis. *J Biol Chem* 278: 8815-8819, 2003
79. Shitan N, Bazin I, Dan K, Obata K, Kigawa K, Ueda K, Sato F, Forestier C, Yazaki K. Involvement of CjMDR1, a plant MDR-type ABC protein, in alkaloid transport in *Coptis japonica*. *Proc Natl Acad Sci USA* 100: 751-756, 2003
80. Sugimoto Y, Tsukahara S, Imai Y, Sugimoto Y, Ueda K, Tsuruo T. Reversal of breast cancer resistance protein-mediated drug resistance by estrogen antagonists and agonists. *Mol Cancer Ther* 2: 105-112, 2003
81. Terasaka K, Shitan N, Sato F, Maniwa F, Ueda K, Yazaki K. Application of vanadate-induced nucleotide trapping to plant cells for detection of ABC proteins. *Plant Cell Physiol* 44: 198-200, 2003
82. Nishiki K, Tsuruoka S, Kawaguchi A, Sugimoto K, Imai M, Fujimura A. Inhibition of Rho-kinase reduces Na⁺/H exchanger activity and natriuresis in rat. *J Pharmacol Exp Ther* 304: 3-8, 2003
83. Nishiki K, Tsuruoka S, Wakaumi M, Yamamoto H, Koyama A, Fujimura A. Dosing-time dependent variation in the hypocalcemic effect of calcitonin in rat. *Eur J Pharmacol* 460: 171-175, 2003
84. Tsuruoka S., Schwartz GJ, Wakaumi M, Nishiki K., Yamamoto H, Purkerson JM, Fujimura A. Nitric oxide production modulates cyclosporine A-induced distal renal tubular acidosis in the rat. *J Pharmacol Exp Ther* 305: 840-845, 2003
85. Tsuruoka S, Wakaumi M, Sugimoto K, Saito T, Fujimura A. Chronotherapy of high dose active vitamin D3 in hemodialysis patients with secondary hyperparathyroidism – repeated dosing study –. *Br J Clin Pharmacol* 55: 531-537, 2003
86. Matsumoto N, Tsuruoka S, Iwamoto T, Tomich JM, Imai M, Suzuki M. Expression of an artificial Cl channel in micro-perfused renal proximal tubules. *J Membr Biol* 193: 195-200, 2003
87. Jung JY, Yasoshima A, Saegusa J, Nakayama Y, Doi K. Ultrastructural features of mast cells in picrylchloride (PCL)-induced contact dermatitis in IQI/Jic mice. *Exp Toxicol Pathol* 54: 265-271, 2003
88. Konno A, Takada K, Saegusa J, Takiguchi M. Presence of B7-2+ dendritic cells and expression of Th1 cytokines in the early development of sialodacryoadenitis in the IQI/Jic mouse model of primary Sjogren's syndrome. *Autoimmunity* 36: 247-254, 2003
89. 神谷厚範, 杉町勝, 砂川賢二. ナノテクノロジー-医療- 21世紀の医療革命- からだの科学 231: 2-6, 2003
90. 川田徹, 宮本忠吉, 砂川賢二. 自律神経による心拍調節のシステム解析と逆問題. 循環制御 24: 220-225, 2003

91. 佐藤正知, アブレウジュゼッペ, 河野隆二. UWBのための各要素アンテナから周波数分布が異なる信号を送信するビームフォーミング法. 電子情報通学会論文誌 J86-A: 1302-1309, 2003
92. 河野隆二. Ultra Wideband(UWB)無線技術の研究開発に関する産官学連携と無線PANの標準化への貢献. 電子情報通学会論文誌 J86-A: 1274-1283, 2003
93. 池本健太郎, 河野隆二. 超広帯域ワイヤレス通信環境下におけるインパルス無線用テンプレート波形の相関値を用いたシステムセンシングに関する一検討. 電子情報通学会技術報告書. SR03-1: 1-7, 2003
94. 山本剛裕, 池本健太郎, 河野隆二. FBGを用いた UWB 用パルス生成の検討. 電子情報通学会ソサイエティ大会 B-10-111, 2003
95. 石井光治, 河野隆二. 時間・空間・周波数領域における接続符号化に関する検討. 第 26 回情報理論とその応用シンポジウム 485-488, 2003
96. 武藤康治, 河野隆二. 非同期 UWB-MBOK システムにおける PRF を利用した他局間干渉低減方式の一検討. 第 26 回情報理論とその応用シンポジウム 711-714, 2003
97. 奥池和幸, 梅林健太, 河野隆二. ソフトウェア無線のための自動技術基準適合証明システムを利用したレギュレトリーフレームワークについての一検討. 第 26 回情報理論とその応用シンポジウム 17-20, 2003
98. 西正吾, 中山泰秀, 植田初江, 松田武久. 高機能ステントグラフトによる実験的動脈瘤の閉塞-その有用性と展望-. 日本血管内治療学会誌 4: 6-9, 2003
99. 押川満雄, 片桐伸将, 妙中義之, 武輪能明, 西中知博, 巽英介, 大西裕幸, 塩谷恭子, 福田敏秀, 本間章彦, 築谷朋典, 高野久輝, 舟久保昭夫, 福井康裕. 外部灌流型人工肺のポートレイアウトの差に対する CFD (Computational Fluid Dynamics) および動物実験による性能比較による検討. 膜型肺 26: 38-43, 2003
100. 高野久輝, 巽英介, 武輪能明. 現代医療の最前線-人工臓器とメディカル・エンジニアリングの進歩- 人工肺開発の現状と将来. 最新医学 58: 1341-1349, 2003
101. 巽英介. 未来型人工肺開発の現況と展望. 膜型肺 26: 52-58, 2003
102. 片桐伸将, 舟久保昭夫, 築谷朋典, 巽英介, 西中知博, 武輪能明, 妙中義之, 福井康裕, 高野久輝. 外部灌流中空糸膜型人工肺の酸素・炭酸ガス移動現象の数値流体解析による検討. 膜型肺 26: 30-37, 2003
103. 絵野沢伸. 肝臓の中に腎臓を作る-透析アミロイドーシス克服に向けた再生医療からのアプローチ-. 腎と透析 55: 631-635, 2003
104. 若林恵, 絵野沢伸. 小児腎の生理学的特徴と移植医療におけるドナーソースとしての可能性. Organ Biol 10: 189-198, 2003
105. 絵野沢伸. 血液浄化法におけるバイオの力の応用可能性-OFF-LINE 人工肝による自己肝再生促進-. ICU と CCU 27: S9-10, 2003
106. 尾崎倫孝, 絵野沢伸, 鈴木盛一. 肝臓を対象とした再生医療. 日本臨床 3 月号特集「再生医療」 61: 498-503, 2003
107. 久保井亮一, 馬越大, 島内寿徳, 森田誠一. 固定化リポソームクロマトグラフィーによる生理活性物質の分離・分析. ぶんせき 11: 636-643, 2003
108. 大政健史. バイオ人工肝のメカニズム・設計基準と評価-. 細胞 35: 463-467, 2003