

200400080A

厚生労働省科学研究費補助金

ヒトゲノム・再生医療等研究事業

組織工学による血管増生心筋組織の構築
ならびにその移植による冠血管床の再生

平成16年度 総括・分担報告書

主任研究者 盛 英三

平成17年3月

目次

I. 総括研究報告

- 組織工学による血管増生心筋組織の構築ならびにその移植
による冠血管床の再生・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 1
盛 英三

II. 分担研究報告

1. 遺伝子導入による血管内皮前駆細胞の機能強化と
重層化シートへの応用・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 6
盛 英三
2. バイオリアクターを用いた再生心筋組織と
その条件検討・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 10
岡野光夫
3. 胚性および骨髄幹細胞からの細胞分化誘導法の確立・・・・・・・・ 18
福田恵一
4. 血管内皮前駆細胞を用いた細胞シートの作製・・・・・・・・・・ 21
浅原孝之
5. 心筋-内皮共培養細胞シートによる血管増生・・・・・・・・・・ 24
清水達也

III. 研究成果の刊行に関する一覧・・・・・・・・・・・・・・・・ 28

IV. 研究成果の刊行物・別刷・・・・・・・・・・・・・・・・ 37

総括研究報告書

組織工学による血管増生心筋組織の構築ならびにその移植による冠血管床の再生

主任研究者 盛 英三 国立循環器病センター研究所心臓生理部長

研究要旨 本研究は虚血性心疾患に伴う重症心不全に対する新たな治療法として組織工学的手法を用い 3 次元的な組織を再構築しそれを虚血部位に移植することで心機能の改善を実現することを目的とした。特にシート状の細胞を積層化することで三次元組織を再構築するという独自の組織工学的手法「細胞シート工学」を要素技術として心筋に対する再生医療で課題となっている細胞ソースの開発ならびに血管増生によるスケールアップを実現するための新たな手法を行った。昨年度の研究においては①生理的因子 (Factor X) を用いた胚性幹細胞からの効率的な心筋細胞の分化誘導②血管増生の細胞ソースとして有用と考えられる血管内皮前駆細胞 (EPC) に対する非ウイルス性ゼラチンハイドロゲルを用いた遺伝子導入③重層化組織への酸素・栄養の供給向上を目的とした還流培養系の作製④重層化細胞シートの多段階移植による 1mm 厚の心筋組織の再構築を可能とした。今年度は昨年度に引き続き①Factor X の心筋細胞分化誘導のメカニズムの解明②遺伝子—ゼラチン複合体の血管新生効果の確認③ヒト EPC を用いた細胞シートの作製④再生組織厚の向上を可能とする環流培養条件の最適化を行うとともに新たに⑤間葉系幹細胞を用いた細胞シート移植による心機能の改善⑥血管内皮—心筋共培養細胞シート重層化による再生組織内の血管増生⑦パターン化共培養細胞シートの作製を実現した。

分担研究者

岡野光夫 東京女子医科大学
先端生命医科学研究所 所長・教授
福田恵一 慶應義塾大学医学部
心臓病先進治療学 講師
浅原孝之 東海大学医学部再生医療科学 教授
清水達也 東京女子医科大学
先端生命医科学研究所 講師

A.研究目的

食生活の欧米化ならびに高齢化に伴い今後虚血性心疾患に伴う重症心不全患者がさらに増加することが予想されている。近年、再生医療が注目を集め虚血性心疾患に対しても新たな治療法として筋芽細胞や骨髄由来の細胞を直接心筋組織内に注入する細胞移植療法が臨床応用されている。しかしながら、単離し

た細胞の直接注入に関しては移植位置の制御が困難であること、流出・壊死により細胞が損失すること、広範な心筋壊死に対する治療が困難であることなどの課題があり、次世代の治療法として組織工学的な手法により三次元的な組織を再構築し心筋パッチとして虚血部に移植する研究が始まっている。そこで本プロジェクトではより効果的な心筋パッチの開発を目指しシート状の細胞を積層化することで3次元組織を作製する独自の手法「細胞シート工学」を要素技術として用いた。さらに細胞ソースの開発ならびに血管増生によるスケールアップを可能とする新たな技術を融合させることにより血管床を伴ったより厚く高機能な心筋組織を再生し、重症心不全患者に対する効果的な治療法の開発にむけた基盤技術を確立することを目的とした。

B. 研究方法

本研究の遂行においては心血管系の再生に関わる幹細胞の研究や遺伝子導入による血管新生促進の研究に携わる研究者らと細胞シートを用いた組織工学的な手法を開発した研究者らとが連携して多面的なアプローチで研究開発を行った。本年度は初年度の研究内容をさらに発展させるとともに新たな技術開発を行った。効果的な心筋パッチの作製のための心筋細胞ソースに関しては基本的に新生仔ラット心筋細胞を用いたが将来的な細胞ソースとして胚性幹細胞からの心筋細胞の分化誘導も追究した。初年度の研究で分化誘導因子と

して発見した生理的因子であるFactor Xの発生段階における局在ならびに分化誘導のメカニズムを解析しその有用性を検討した。血管の細胞ソースとしてはEPCを用い、単離したEPCを細胞シート間に挿入して作製した重層化シートの心筋梗塞モデルへの移植実験を行うとともにEPCそのもののシート化を試み作製条件を最適化した。また現段階で臨床応用可能な新たな細胞ソースとして間葉系幹細胞にも着目しそのシート化を試み心筋梗塞モデルへの移植実験を行った。次に再生組織内への血管増生を目的に血管新生因子を導入する方法として初年度確立したゼラチンハイドロゲルによる遺伝子導入法を用いた。血管新生因子としては近年注目されているアドレノメジュリン遺伝子をゼラチンハイドロゲルを用いて虚血部に導入しその有効性を評価した。次に*in vitro*において内皮細胞と心筋細胞の共培養シートを作製し重層化することであらかじめ*in vitro*で血管網の構築が可能かどうかを解析した。また細胞シート内の内皮細胞の局在を制御する目的でマイクロオーダーでパターン化した培養基材を作製しパターン化細胞シートの作製を行った。さらに酸素・栄養の透過性の向上を目的に初年度開発した環流培養装置の培養条件を最適化しあらかじめ*in vitro*でより厚い心筋組織の再生が可能かどうかを検討した。なお動物を使った実験に関しては研究者の所属するそれぞれの施設の動物実験に関する指針に従い、ヘルシンキ宣言の精神を尊重して実験動物に対する十分な倫理的配慮のもとに

行った。またヒトEPCの採取に関しては所属施設の倫理委員会に承認を得るとともに十分なインフォームドコンセントのうえで実施した。

C. 研究結果

まず、胚性幹細胞から心筋細胞への効率的な(70-80%)分化誘導因子として着目したFactor Xは胎児期の心臓形成予定領域の内胚葉および近傍の中胚葉から分泌されていることが明らかとなり心筋細胞の分化誘導において生理的な因子であることが確認された。またFactor Xで刺激したGFP陽性胚性幹細胞と無刺激のGFP陰性胚性幹細胞を共培養したところGFP陽性細胞のみが心筋細胞に分化することが確認され、そのcell autonomousな効果が明らかとなった。

次にラットEPCを細胞シート間に挿入したうえでラット心筋梗塞モデルに移植したところ単離EPC注入群および細胞シート単独移植群よりも心機能の改善効果が大きいことが示された。細胞シートとともに移植したEPCはEPC単独注入群に比較し再生組織内により多く残留し新生血管網の一部を構成していた。EPCのシート化に関しては臨床応用も視野にいれてヒト末梢血からEPCを単離培養した。細胞シートの作製に関しては温度応答性培養皿への細胞播種時のコーティング条件が重要であるがヒトEPCに関しては血漿コーティングを行うことで安定した細胞シートの回収が可能となった。

現段階で臨床応用可能な細胞ソースとして今年度新たに間葉系幹細胞に着目した。ラッ

トから採取した間葉系幹細胞は比較的容易にシート化が可能であった。この細胞シートをラット心筋梗塞モデルに移植したところ心機能の改善を認めた。移植した組織には血管のみならず間葉系幹細胞から分化したと考えられる心筋細胞が認められ、移植後組織厚が増大することが明らかとなった。

初年度確立したアドレノメジュリン遺伝子-ゼラチンハイドロゲル複合体を下肢虚血兔に投与したところ遺伝子単独群あるいはゼラチンハイドロゲル単独群よりも有意に血管密度ならびに血流量が増加し、虚血性の組織変化が軽減することが明らかとなった。

次に*in vitro*においてラット内皮細胞とラット心筋細胞を混和して共培養細胞シートを作製し積層化したところ、内皮細胞が円柱状に伸展・増殖するとともに網目構造を呈し、内皮細胞単独の単層培養時に認められるような敷石状の形態とは全く異なる挙動を示した。さらに重層化したGFP陽性共培養細胞シートをヌードラットに移植して組織像を観察したところ再生心筋組織内にはグラフト由来(GFP陽性)の毛細血管網が再構築されていた。

さらに*in vitro*で再構築される血管網の数や位置を制御する目的でマイクロオーダー(50~100 μ m)でパターン化した温度応答性培養皿を作製したところ2つの異なる細胞を円形やストライプ状にパターン化して培養し最終的にパターン化細胞シートとして回収することが可能になった。

初年度開発した環流培養装置の環流量およ

び重層化細胞シートに負荷する圧較差を最適化し酸素・栄養の透過性の向上、老廃物の十分な除去を行ったところ静置培養と比較して約2倍の厚さの心筋組織をあらかじめ*in vitro*で作製することが可能となった。

D. 考察

虚血性心疾患に伴う重症心不全に対する再生医療としては心筋再生あるいは血管新生を目的に種々の細胞を単離した状態で直接あるいはカテーテルを用いて注入する手法が追究され、筋芽細胞や骨髄由来細胞を使った数百人規模の臨床研究が行われその有効性が示されつつ有る。一方、移植した細胞のうち大部分が流出あるいは壊死することも報告されている。従って細胞を損失することなく効率的に移植できればより効果的な治療法になることが期待される。そのひとつの方法として本研究で用いた細胞シート工学は培養した細胞をばらばらにすることなく細胞間接着を維持したままひとつの組織としてシート状に回収し移植することを可能とするものであり細胞の損失を回避できる。実際EPCの移植に関しては細胞シートへの挿入により殆ど損失なく効率的な移植が可能となりそれにより血管新生効果の増大、心機能の改善効果をもたらしたものと考えられる。

虚血性心疾患に伴う不全心筋に移植する細胞シートの細胞ソースに関してはヒトに移植可能な心筋細胞の分化誘導が実現していないことから、その代替として早期に臨床応用可

能なものとしては筋芽細胞、血管内皮細胞、間葉系幹細胞が挙げられる。本研究においては血管内皮細胞のもととなるEPCおよび間葉系幹細胞を用いた細胞シートの移植実験を行いそれぞれ良好な結果を得た。それぞれの組織学的解析からEPCに関しては血管新生効果、間葉系幹細胞に関しては血管新生効果に加え一部心筋への分化による心収縮力の改善効果も期待できる。また細胞シートの心機能改善効果に関しては細胞シートから絶えまなく分泌される液性因子も重要であると考えられ今後そのメカニズムに関しさらなる解析を行うことにより心機能の改善に有効な液性因子の同定も可能かもしれない。将来的には本研究で示したように胚性幹細胞から生理的な因子を用いて分化誘導した心筋細胞を用いた細胞シートの利用が可能かもしれないが奇形種の危険性に関する科学的データの蓄積や倫理的問題に関する議論が必須であろう。

心筋組織再生のもうひとつの重要な課題は再生組織内にいかに血管を増生しスケールアップを実現するかである。血管増生に対するアプローチとしてはまず血管新生を促進する液性因子あるいはその遺伝子の導入が考えられる。しかしながら液性因子単独ではその効果が持続せず、ウィルスを使った遺伝子導入に関しても安全性に関し課題がある。そこで本研究ではゼラチンハイドロゲルを用いた安全かつ効率的な遺伝子導入を行いアドレノメジュリン遺伝子の虚血性疾患に対する有効性を示した。今後、この手法を用いて細胞シー

トに遺伝子導入を行うことでより血管網に富んだ組織の再生が可能になると考えられる。

次にEPCを挿入した細胞シートの移植実験でも示されたように細胞シートに血管細胞のソースをあらかじめ導入しておくことが*in vivo*での血管増生に有効であると考えられた。さらに内皮細胞と心筋細胞の共培養細胞シートの重層化により*in vitro*でも3次元培養することにより血管内皮の網目構造が再構築されたことは今後十分な血管網伴ったより機能的な再生心筋組織を*in vitro*であらかじめ作製のうえ病変部に移植することも可能であることを示す。また*in vitro*での適切な血管網の再構築には今回開発したパターン化培養皿を用いた内皮—心筋のパターン化共培養細胞シートが有用であるととも*in vivo*での環境を模擬した環流培養装置を用いた組織培養により、*in vitro*においてもより生体に近い組織の再生が可能になると推察される。

E. 結論

心筋組織再生には細胞ソース、組織再構築・培養法、血管増生法、移植法と多岐にまたがる技術開発が必要であるが、本研究においては細胞シートを不全心筋部にパッチとして移植するという新たな治療コンセプトを基本とし細胞ソース、遺伝子導入法、組織培養法に関し新たな技術開発を行い血管床を伴ったより厚く機能的な心筋組織の再構築を可能とするいくつかの基盤技術を確立した。今後、これらの技術をさらに発展させ統合することに

より臨床応用可能な心筋パッチの開発が実現するものと信じる。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

各分担研究者の報告書参照。

H. 知的財産権の出願・登録状況

各分担研究者の報告書参照。

分担研究報告書

組織工学による血管増生心筋組織の構築ならびにその移植による冠血管床の再生：

遺伝子導入による血管内皮前駆細胞の機能強化と重層化シートへの応用

分担研究者 盛 英三 国立循環器病センター研究所心臓生理部 部長

研究要旨 昨年ゼラチン-遺伝子複合体他を *in vitro* でヒト血管内皮前駆細胞、骨髄単核球に高い効率で遺伝子を導入する技術を確認した。本年度は下肢虚血モデルで、adrenomedulin 遺伝子-ゼラチン複合体により EPC と併用することなく下肢の血管再生を実現できること、adrenomedulin タンパクと骨髄単核球細胞の併用両方が急性心筋梗塞モデルの組織再生に有効であることを示した。心筋シートの開発に関連して間葉系幹細胞シートの有効性を明らかにした。

A. 研究目的

分担研究者の岡野らは、シート状の心筋細胞を積層化することで自律拍動する心筋組織の再構築に成功している。しかしながら、三次元的な心筋組織の再構築には酸素・栄養の透過性に限界があり、より厚く機能的な心筋組織の作製のためにいかに血管新生を促進し生体と同様な豊富な血管床を再構築するかが最大の課題となっている。本分担研究ではまず、①血管発生に寄与する細胞をさらに遺伝子導入法により機能強化する方法を確認する。そして、②機能強化した血管形成細胞を心筋シートに組み込む技術を開発する研究につなげる。また、③血管にも心筋にも分化しうる細胞ソースによるシート化にも研究の幅を広

げることも考えている。

本年度は①に関連して、生分解性gelatinを用いて、高い導入効率で血管内皮前駆細胞等にadreno-medulin遺伝子を導入する技術を下肢虚血モデルと心筋梗塞モデルに応用し、有用性を確認した。②と③に関して、間葉系幹細胞シートは移植後の組織内での増殖が可能で、かつ、心筋および血管の双方に分化が可能であった。1ミリ近くにおよぶ心筋組織の再生も可能であることを確認した。

B. 研究方法

- 1) gelatin+adrenomedulin遺伝子複合体による血管再生効果を兔下肢虚血モデルで検討した。
- 2) ラット心筋梗塞モデルで、骨髄単核球細胞とadrenomedulin皮下注の併用によるハイブ

リッド治療の効果を検討した。

C. 研究結果

1) gelatin -adrenomedulin 遺伝子複合体を投与した下肢虚血兔の群では、同遺伝子単独治療群、ゼラチン単独治療群よりも有意に下肢血管密度と下肢血流が増加し、虚血性組織変化も軽減した。

2) 心筋梗塞ラットでは、骨髄単核球細胞と adrenomedulin 皮下注の併用により、心筋毛細血管密度が増加し、心筋梗塞サイズに減少した。この効果は骨髄単核球細胞単独治療群および対照群よりも有意に大であった。また、adrenomedulin は移植された骨髄単核球細胞のアポトーシスを抑制することも示された。

D. 考察

gelatinとadrenomedulin遺伝子複合体は安全でかつ虚血組織の再生に有効であった。これは血管系幹細胞の血管発生（新生）作用を adrenomedulin が補完するためと考えられた。確認されたメカニズムのうち、adrenomedulin の強い血管拡張作用にもとづくarteriogenesisの促進、血管内皮のapoptosis抑制作用、固有のangiogenesis作用などが重要と考えられた。

E. 結論

次世代高分子ベクター（ゼラチン）を用いて adrenomedulin遺伝子を徐放させること、あるいは細胞治療とadrenomedulinを併用することで、より成熟した血管再生が実現されること

を証明した。

研究協力者：

永谷憲歳（国立循環器病センター研究所再生医療部）、福山直人(東海大学医学部)

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

論文発表：

1. Sato E, Hayasi Y, Germer R, Murakami K, Kooriyama Y, Tanaka E, Mori H, et al: Weakly ionized plasma flash x-ray generator and its distinctive characteristics. SPIE, 5196: 383-392, 2004.
2. Sato E, Hayasi Y, Tanaka E, Mori H, Kawai T, et al: Quasi-monochromatic polycapillary imaging utilizing a computed radiography system. SPIE, 5196: 412-420, 2004
3. Nagaya N, Kyotani S, Uematsu M, Ueno K, Oya H,.....Mori H, et al: Effects of adrenomedullin inhalation on hemodynamics and exercise capacity in patients with idiopathic pulmonary arterial hypertension. Circulation, 109: 351-356, 2004
4. Tokunaga N, Nagaya N, Shirai M, Tanaka E, Ishibashi-Ueda H,.....Mori H: Adrenomedullin gene transfer induces therapeutic angiogenesis in a rabbit model of chronic hind limb ischemia - Benefits of nonviral vector, gelatin. Circulation, 109: 526-531, 2004
5. Akiyama T, Yamazaki T, Mori H, Sunagawa K: Simultaneous monitoring of acetylcholine and catecholamine release in the in vivo rat adrenal medulla. Neurochemistry International, 44: 497-503, 2004
6. Pang T, Hisamitsu T, Mori H, et al: Role of calcineurin B homologous protein in pH regulation by the Na⁺/H⁺ exchanger 1: Tightly bound Ca²⁺ ions as important structural elements. Biochemistry, 43: 3628-3636, 2004
7. Fujii T, Yamazaki T, Akiyama T, Sano S, Mori H: In vivo assessment of catechol O-methyltransferase activity in rabbit skeletal

- muscle. *Auton Neurosci*, 30: 140-143, 2004
8. Akiyama T, Yamazaki T, Mori H, Sunagawa K: Effects of Ca²⁺ channel antagonists on acetylcholine and catecholamine releases in the in vivo rat adrenal medulla. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 287: R161-166, 2004
 9. Sato E, Hayasi Y, Gemer R, Tanaka E, Mori H, et al: Portable x-ray generator utilizing a cerium-target radiation tube for Angiography. *J. Electron Spectroscopy and Related Phenomena* 137-140: 699-704, 2004
 10. Sato E, Hayasi Y, Gemer R, Tanaka E, Mori H, et al.: Quasi-monochromatic parallel radiography utilizing a computed radiography system. *J. Electron Spectroscopy and Related Phenomena*, 137-140: 705-711, 2004
 11. Sato E, Hayasi Y, R.Gemer, Tanaka E, Mori H, et al: Sharp characteristic x-ray irradiation from weakly ionized linear plasma, 137-140: 713-720 2004
 1. J.T.Pearson, Shirai M, Ito H, Tokunaga N, Tsuchimochi H,.....Mori H, et al: In Situ Measurements of Crossbridge Dynamics and Lattice Spacing in Rat Hearts by X-Ray Diffraction. Sensitivity to Regional Ischemia. *Circulation*, 109:2983-2986, 2004
 13. Fujii T, Yamazaki T, Akiyama T, Sano S, Mori H: Extraneuronal enzymatic degradation of myocardial interstitial norepinephrine in the ischemic region. *Cardiovasc Res*, 64: 125-131, 2004
 14. Asanuma H, Minamino T, Sanada S, Takashima S, Ogita H,.....Mori H, et al: Beta-adrenoceptor blocker carvedilol provides cardioprotection via an adenosine-dependent mechanism in ischemic canine hearts. *Circulation*, 109: 2773-2779, 2004
 15. Asanuma H, Sanada S, Ogai A, Minamino T, Takashima S,.....Mori H, et al: Methotrexate and MX-68, a new derivative of methotrexate, limit infarct size via adenosine-dependent mechanisms in canine hearts. *J Cardiovasc Pharmacol*, 43: 574-579, 2004
 16. Sato E, Sagae M, Tanaka E, Hayashi Y, Gemer R, Mori H, et al: Quasi-monochromatic flash x-ray generator utilizing disk-cathode molybdenum tube. *Jpn J Appl Phys*, 43: 7324-7328, 2004
 17. Sagae M, Sato E, Hayasi Y, Tanaka E, Mori H, et al: Monochromatic polycapillary imaging utilizing a computed radiography system. *Jpn J Med Phys*, 24: 78-85, 2004
 18. Sanada S, Asanuma H, Minamino T, Node K, Takashima S,...Mori H, et al: Optimal windows of statin use for immediate infarct limitation 5'-nucleotidase as another downstream molecule of phosphatidylinositol 3-kinase. *Circulation*, 110: 2143-2149, 2004
 19. Nagaya N, Fujii T, Iwase T, Ohgushi H, Itoh T,...Mori H, et al: Intravenous administration of mesenchymal stem cells improves cardiac function in rats with acute myocardial infarction through angiogenesis and myogenesis. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 287: H2670-H2676, 2004
 1. Kitagawa H, Yamazaki T, Akiyama T, Sugimachi M, Mori H: Myoglobin release in early stage of cardiac ischemia and its enhancement by reperfusion, (submitted) 2004
 21. Sato E, et al: Demonstration of enhanced K-edge angiography using a cerium target x-ray generator. *Med. Phys. Med. Phys. Vol31-11: 3017-3021, 2004*
 22. Sato E, et al: Compact monochromatic flash x-ray generator utilizing a disk-cathode molybdenum tube *Med. Phys Vol.32-1: 49-54, 2005*
 23. Sato E, et al: Intense monochromatic x-ray irradiation from weakly ionized linear copper plasma. *SPIE*, (accept) 2004
 24. Yada T, Shimokawa H, Hiramatsu O, Kajita T, Shigeto F, Tanaka E, Shinozaki Y, Mori H, et al: Beneficial effect of hydroxyfasudil, a specific rho-kinase inhibitor, on ischemia-reperfusion injury in canine coronary microcirculation in vivo. *JACC*
 25. Nagaya N, Kangawa K, Itoh T, Iwase T, Murakami S, . . .Mori H, et al: Transplantation of mesenchymal stem cells improves cardiac function by concomitant myogenesis and angiogenesis in a rat model of dilated cardiomyopathy. *Circulation*
 26. Nagaya N, Fujii T, Itoh T, Iwase T, Murakami S, Uematsu M, Mori H, et al: Intravenous administration of mesenchymal stem cells ameliorates monocrotaline-induced pulmonary hypertension in rats, *Circulation*
 27. Kawada T, Yamazaki T, Akiyama T, Li M, Ariumi H, Mori H, et al: Vagal stimulation suppresses ischemia-induced myocardial norepinephrine release via bradycardia. *AJP*
 28. Kawada T, Yamazaki T, Akiyama T, Shishido T, Mori H, et al: Myocardial interstitial choline and glutamate levels during

acute myocardial ischemia and local ouabain administration.

29. Kitagawa H, Yamazaki T, Akiyama T, Sugimachi M, Sunagawa K, Mori H: Microdialysis separately monitors myocardial interstitial myoglobin during ischemic and reperfusion periods. *Circulation*.
30. Takeda S, Igarashi T, Oishi Y, Mori H, Crystal structure of the N-terminal domain of human cardiac troponin C in complex with trifluoperazine. *Circ Res*.
31. T.Fujii, N.Nagaya, T.Iwase, S.Murakami, Y.Miyahara, K.Nishigami, H.Ishibashi-Ueda, M Shrai, T Itoh, K.Ishino, S.Sano, K.Kangawa, H.Mori: Adrenomedullin enhances herapeutic potency of bone marrow transplantation for myocardial infarction in rats. *AJP*, 2004
32. M.Sagae, E.Sato, E.Tanaka, Y.Hayashi, H.Mori, T.Kawai, T.Ichimar, S.Sato, K.Takayama, H.Ido: Quasi-Monochromatic X-Ray Generator Utilizing Graphite Cathode Diode with Transmission-Type Molybdenum Target. *Japan Journal of Applied Physics*, Vol.44-1: 446-449, 2005

著書 :

Hidezo Mori/Hikaru Matsuda: Cardiovascular Regeneration Therapies Using Tissue Engineering Approaches. Springer, 2005

学会発表 :

海外 :

1. Fujii T, Nagaya N, Nishigami K, Ishibashi-Ueda H, Iwase T, Ito T, Yutani C, Sano S, Mori H, Adrenomedullin Enhances Therapeutic Potency of Bone Marrow Transplantation for Acute Myocardial Infarction in Rats, The Anunual Scientific Seccion 2004, American College of Cardiology (New Orleans, USA), 2004.3
2. Chiku M, Nishigami K, Mori H, Development of In-house Micro-angiographic System for Visualizing Collateral Micro-vessels Induced by Regeneration Therapy , The Anunual Scientific Seccion 2004, American College of Cardiology (New Orleans, USA), 2004.3
3. Nagaya N, Fujii T, Iwase T, Ito T, Murakami S, Uematsu M, Mori H, Kanngawa K, Intravenous Administration of Mesenchymal Stem Cells Ameliorates Monocrotaline-induced Pulmonary Hypertension in Rats,

American College of Heart Association (New Orleans, USA), 2004.11

4. Yada T, Shimokawa H, Hiramatsu O, Goto Masami, Tanaka E, Mori H, Kajiya F, Beneficial Effects of Hydorxyfasudil, a Specific Rho-kinase Inhibitor, on Ischemia-Reperfusion Injury in Canine Coronary Microcirculation in Vivo, American College of Heart Association (New Orleans, USA), 2004.11
5. Mori H, Chiku M, Nishibami K., Tanaka E, Kimura K, Kawai T, Suzuki K, Mochizuki R, Okawa Y, Micro-angiographic system using synchrotron radiation and conventional x-ray source for visualizing angiogenic vessels induced by cardiovascular regeneration therapy, 7th International School and Symposium on Synchrotron Radiation in Natural Science 2004 (Zakopane, Poland), 2004.6

国内 :

1. Mori H, Nagaya N, Kangawa K, Tabata Y, Special Program: Plenary Session; Hybrid cell-gene therapy for pulmonary hypertension based on phagocytosing action of endothelial progenitor cells, 第 68 回日本循環器学会総会・学術集会 (東京), 2004.3
2. Chiku M, Sato E, Tanaka E, Nishigami K, Mori H, Special Program: Plenary Session; The evaluation of micro-coronary vessels using a plasma X-ray angiographic system for better management and cost/ effectiveness to ischemic heart disease, 第 68 回日本循環器学会総会・学術集会 (東京), 2004.3

H. 知的財産権の出願・登録状況

準備中 3 件

分担研究報告書

組織工学による血管増生心筋組織の構築ならびにその移植による冠血管床の再生：

バイオリアクターを用いた再生心筋組織培養とその条件検討

分担研究者 岡野 光夫 東京女子医科大学 先端生命医科学研究所 所長・教授

研究要旨 我々はシート状の心筋細胞を積層化することで3次元の心筋組織を再構築する独自の研究を展開してきた。しかしながら静置培養では十分な酸素・栄養が組織内に浸透しないため再生される組織厚に限界がある。そこで本研究ではそれを克服するため組織還流可能な培養装置（バイオリアクター）を用いて酸素・栄養の透過性の向上を試みた。培地の環流量や組織前後の圧較差を変化させ再生心筋組織の厚さを比較した。その結果、一定の条件において静置培養の2倍の厚さの心筋組織の再生が可能となった。

A. 研究目的

当研究室では温度応答性培養皿を用いて回収される細胞シートを積層化することで3次元組織を再構築する手法「細胞シート工学」により同期して拍動する心筋組織の再生を可能とした。しかしながらこれまでの研究から酸素・栄養の透過性および老廃物の蓄積に起因する再生組織厚の限界が明らかとなっている。そこで昨年度の研究において酸素・栄養の透過性の向上および老廃物の除去を目的に新規に細胞シート重層化マニピュレーターおよび還流用バイオリアクターを開発し、静置培養ではなく組織を還流しながら培養するこ

とを可能とした。本年度はより厚い組織が再生できるように還流量や圧較差に関する条件検討を行った。

B. 研究方法

シート状の細胞の回収には温度応答性培養皿を用いた。この培養基材は通常培養温度である37℃では細胞接着性であるが、32℃以下の温度降下処理で細胞非接着性となる。この培養皿上にコラゲナーゼを用いて単離した新生仔ラット心筋細胞を培養し心筋細胞シートを作製した。培養4日目に昨年度開発したスタンプ状の細胞シートマニピュレーターを

培養細胞上に接着、その後温度降下処理を行うことで心筋細胞シートを脱着、同様の操作を繰り返すことで積層化した。次にこの重層化心筋細胞シート（3層）をバイオリアクターの二つのチャンバーの間に固定し還流培養を行った。環流量や圧較差に関する種々の条件下で各チャンバーの酸素分圧、pHなどをモニターしながら再生組織の組織学的な解析を行った。なお実験動物を使用した実験に関しては東京女子医科大学動物実験に関する指針に従い、ヘルシンキ宣言の精神を尊重して十分な倫理的配慮のもとに行った。

C. 研究結果

密閉系での経時的な酸素分圧測定の結果から重層化心筋細胞シートは培養液中の酸素分圧が 100mmHg 以下になると酸素消費量が低下し、さらに酸素分圧が低下することにより壊死を生じることが明らかとなった。この結果に基づきチャンバー内の酸素分圧が 100mmHg に維持されるようにふたつのチャンバー内の環流量を最適化した。その結果、チャンバー内環流量を 2.4ml/h に設定することにより酸素分圧 100mmHg が達成された。またこの環流量によりチャンバー内の pH も生体と同様に 7.3～7.5 に維持された。この条件下で重層化心筋細胞シートをはさんだふたつのチャンバー前後に圧較差をかけて培養し、再生される組織を静置培養と比較検討した。その結果 20cmH₂O の圧較差を負荷することにより組織内で細胞が密に接着し間隙が減少するとともに組織厚

が約 2 倍となっていた。また培養後の再生組織は肉眼レベルで同期して自律拍動していた。

D. 考察

重層化心筋細胞シートの還流培養により酸素・栄養の透過性の向上、老廃物の除去を実現し静置培養と比較して約 2 倍の厚さの組織の再生が可能となったが、今後、シート枚数の増加に応じて環流量および圧較差を増加させることにより、*in vitro*においてさらに厚い機能的な心筋組織の再生が可能になると考えられる。

E. 結論

重層化細胞シートのバイオリアクターを用いた還流培養法は心筋組織再生における虚血の問題に対するひとつの解決策として有用であることが示された。

研究協力者

梅津光生（早稲田大学）

沢田里智（早稲田大学）

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

学会発表

1. 第15回高分子ゲル研究討論会 2004. 1. 14-15
東京
・秋山義勝, 菊池明彦, 大和雅之, 岡野光夫, “超薄膜化した温度応答性グラフトゲルの機能制御”, 講演要旨集, 109-110 (2004)
2. 第15回高分子ゲル研究討論会 2004. 1. 14-15
東京
・菊池明彦, 津田行子, 中尾愛子, 大和雅之, 桜

- 井靖久, 梅津光生, 岡野光夫, “ナノメートル厚の超薄膜ゲルからなるパターン化温度応答性表面を用いた共培養組織の再生”, 講演要旨集, 111-112 (2004).
3. Workshop “Advances in Biotechnology and Bioengineering” 2004. 1. 12-13 Utah
 - Masayuki Yamato, “Surface micropatterning for cell array chips and oligo-cell biology”, Program (2004).
 4. Workshop “Advances in Biotechnology and Bioengineering” 2004. 1. 12-13 Utah
 - Teruo Okano, “Cell sheet engineering for regenerative medicine”, Program (2004).
 5. 第13回インテリジェント材料/システムシンポジウム 2004. 3. 8 東京
 - 佐藤和也, 藤本哲男, 清水達也, 磯井由紀, 大和雅之, 菊池明彦, 岡野光夫, “細胞シートの積層化を可能とする細胞シートマニピュレータの開発”, 講演要旨集, 20-21 (2004).
 6. 第11回日本呼吸器内視鏡学会 気管支鏡認定医・指導医大会 2004. 3. 20 大阪
 - 神崎正人, 大貫恭正, 大和雅之, 岡野光夫, “細胞シート工学を用いた呼吸器領域の再生医療の試み”, 13 (2004)
 7. 第13回脳神経外科手術と機器学会 2004. 3. 22-23 千葉
 - 清水達也, 関根秀一, 磯井由紀, 大和雅之, 菊池明彦, 岡野光夫, “再生・CNTT合同シンポジウム—再生医療への新しいバイオマテリアル: Tissue engineeringによる心筋再生”, プログラム, 55 (2004).
 8. 第3回日本再生医療学会総会 2004. 3. 23-25 千葉
 - 神崎正人, 大和雅之, 関根秀一, 清水達也, 菊池明彦, 岡野光夫, 大貫恭正, “術中気漏に対する細胞シートによる閉鎖の試み”, 再生医療, 3(Suppl.), 104 (2004).
 9. 第3回日本再生医療学会総会 2004. 3. 23-25 千葉
 - 後藤佐智子, 清水達也, 関根秀一, 磯井由紀, 大和雅之, 菊池明彦, 岡野光夫, “in vivoにおける移植心筋グラフトでの血管新生”, 再生医療, 3(Suppl.), 104 (2004).
 10. 第3回日本再生医療学会総会 2004. 3. 23-25 千葉
 - 関根秀一, 清水達也, 磯井由紀, 大和雅之, 菊池明彦, 小林英司, 岡野光夫, “細胞シート工学による血管付心筋グラフトの作製”, 再生医療, 3(Suppl.), 107 (2004)
 11. 第3回日本再生医療学会総会 2004. 3. 23-25 千葉
 - 梅本晃正, 大和雅之, 西田幸二, 渡辺克彦, 河野千夏, 田野保雄, 岡野光夫, “角膜輪部上皮SP細胞における幹細胞・前駆細胞マーカーの発現解析”, 再生医療, 3(Suppl.), 137(2004).
 12. The 68th Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society 2004. 3. 27-29 Tokyo
 - Yuji Itabashi, Keiichi Fukuda, Shunichiro Miyoshi, Shinsuke Yuasa, Junn Fujita, Fumiyuki Hattori, Masatoyo Yoshioka, Tomohiro Manabe, Takashi Yagi, Masaki Ieda, Haruko Kawaguchi, Yasuyo Hisaka, Kenntarou Hayashida, Masayoshi Kinoshita, Yoshihiro Matsumura, Yuichi Tomita, Satoko Tahara, Tatsuya Shimizu, Teruo Okano and Satoshi Ogawa, “Demonstration of electrical disconnection of the cell sheets between cardiomyocytes and skeletal muscle cells by optical mapping”, Circulation Journal, 68, Suppl.1, 173 (2004).
 13. The 68th Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society 2004. 3. 27-29 Tokyo
 - Haruhiko Kondoh, Yoshiki Sawa, Shigeru Miyagawa, Memon Imran, Tatsuya Shimizu, Teruo Okano and Hikaru Matsuda, “Tissue implantation of myoblast sheets improve cardiac performance with attenuation of cardiac remodeling in delated cardiomyopathic hamsters”, Circulation Journal, 68, Suppl.1, 354 (2004).
 14. The 68th Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society 2004. 3. 27-29 Tokyo
 - Ric Saito, Tatsuya Shimizu and Teruo Okano, “A novel in vitro fabrication of the vessel wall utilizing cell sheet engineering”, Circulation Journal, 68, Suppl.1, 382 (2004).
 15. The 68th Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society 2004. 3. 27-29 Tokyo
 - Hiroshi Kobayashi, Tatsuya Shimizu, Teruo Okano and Hiroshi Kasanuki, “Growth hormone promotes hypertrophy of the myocardial tissue graft”, Circulation Journal, 68, Suppl.1, 383 (2004).
 16. 日本薬学会 第124年会 2004. 3. 29-31 大阪
 - 西本綾子, 白柳慶之, 大和雅之, 深井文雄, 岡野光夫, “培養平滑筋細胞シート移植による平滑筋組織の再生” (2004).
 17. The 68th Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society 2004. 3. 27-29 Tokyo
 - 林真由美, 菊池明彦, 牧野公子, 大島広行, 増田彰, 大和雅之, 岡野光夫, “担癌動物の効率的調製を可能とする細胞シート工学” (2004).
 18. 第47回日本形成外科学会総会・学術集会 2004. 4. 7-9 東京
 - 副島一孝, 藤澤大輔, 本田隆司, 井砂司, 大和雅之, 岡野光夫, 野崎幹弘, “感温性ディッシュを用いて作成した培養表皮による癒痕の治療”, 抄録集, 260 (2004).
 19. 7th World Biomaterials Congress 2004. 5. 17-21 Sydney
 - Y. Tsuda, A. Kikuchi, A. Nakao, M. Yamato, Y. Sakurai, M. Umezu and T. Okano, “Increased cell functionalities with patterned Co-cultures utilizing dual thermo-responsive polymer grafted surfaces”, Transaction [CD-ROM], 246 (2004).
 20. The 68th Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society 2004. 3. 27-29 Tokyo
 - Y. Shirai, Y. Kurosawa, T. Okano and A. Taniguchi, “Endothelial cell marker gene expression on double-layered co-culture utilizing thermo-responsive culture dish”, Transaction [CD-ROM], 315 (2004).
 21. The 68th Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society 2004. 3. 27-29 Tokyo
 - M. Ebara, M. Yamato, T. Aoyagi, A. Kikuchi, K. Sakai and T. Okano, “Low temperature- triggered cell release from temperature-responsive culture surfaces as a sensitive index for cell adhesion strength revealed by fibronectin synergy sequence co-immobilization”, Transaction [CD-ROM], 780 (2004).
 22. The 68th Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society 2004. 3. 27-29 Tokyo

- Y. Shiroyanagi, M. Yamato, Y. Yamazaki, H. Toma and T. Okano, "Urothelium regeneration using viable cultured urothelial cell sheets grafted on demucosalized gastric flaps", Transaction [CD-ROM], 1010 (2004).
- 23. The 68th Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society 2004. 3. 27-29 Tokyo
• T. Shimizu, Y. Isoi, H. Sekine, M. Yamato, A. Kikuchi and T. Okano, "Bioengineered vascularized myocardial tissue by multi-step transplantation of layered cell sheets", Transaction [CD-ROM], 1722 (2004).
- 24. The 68th Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society 2004. 3. 27-29 Tokyo
• K. Sato, T. Shimizu, Y. Isoi, M. Yamato, A. Kikuchi, T. Fujimoto and T. Okano, "Novel cell sheet manipulator to fabricate three-dimensional tissue and to quantify cell sheet adhesiveness", Transaction [CD-ROM], 1849 (2004).
- 25. The 68th Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society 2004. 3. 27-29 Tokyo
• Y. Kurosawa, Y. Shirai, T. Okano and A. Taniguchi, "Expression of liver specific genes in double layered co-culture of rat hepatocytes and human umbilical vein endothelial cells by cell sheet engineering", Transaction [CD-ROM], 1857 (2004).
- 26. 第53回高分子学会年次大会 2004. 5. 25-27 神戸
• 林真由美, 菊池明彦, 大和雅之, 増田 彰, 牧野公子, 大島広行, 岡野光夫, "担癌動物を効率的に調製しうる細胞シート工学", 高分子学会予稿集, 53(1), 1878 (2004).
- 27. 第53回高分子学会年次大会 2004. 5. 25-27 神戸
• 津田行子, 菊池明彦, 大和雅之, 中尾愛子, 桜井靖久, 梅津光生, 岡野光夫, "パターン化温度応答性培養皿による高機能化共培養細胞シートの回収", 高分子学会予稿集, 53(1), 1879 (2004).
- 28. 第21回日本呼吸器外科学会総会 2004. 5. 27-29 神奈川
• 神崎正人, 大和雅之, 関根秀一, 松本卓子, 清水達也, 小山邦広, 菊池明彦, 岡野光夫, 大貫恭正, "温度応答性培養皿による肺細胞シート作成と気漏閉鎖への細胞シートの応用", 日本呼吸器外科学会雑誌, 18(3), 160 (2004).
- 29. Regenerate Tissue Engineering The Human Body 2004. 6. 9-12 Seattle, Washington
• T. Umemoto, M. Yamato, K. Nishida, K. Watanabe, Y. Tano and T. Okano, "Limbal epithelial side population cells have stem cell-like phenotypes", Program, 8 (2004).
- 30. 4th Intercontinental Meeting of Hair Research Societies 2004. 6. 17-19 Berlin
• A. W. Amici, M. Yamato, K. Kobayashi, "Interaction between the epidermis and dermal papilla in vitro", Journal of the German Society of Dermatology, Journal of the German society of dermatology, 2004 (6), 505 (2004).
- 31. 第1回泌尿器科再建再生研究会 2004. 6. 26 東京
• 白柳慶之, 大和雅之, 岡野光夫, 東間 紘, "細胞シート工学を用いた尿路再建", プログラム・抄録集, 10 (2004).
- 32. 第1回泌尿器科再建再生研究会 2004. 6. 26 東京
• 浅野桐子, 高沢亮二, 景山幸雄, 木原和徳, 大和雅之, 岡野光夫, "人工腹膜の作成とその臨床応用への検討", プログラム・抄録集, 14 (2004).
- 33. 第7回日本組織工学会 2004. 7. 1-2 東京
• 関根秀一, 清水達也, 磯井由紀, 大和雅之, 菊池明彦, 小林英司, 岡野光夫, "重層化心筋細胞シートの多段階移植による血管付心筋グラフトの作製", プログラム・抄録集, 77 (2004).
- 34. 第7回日本組織工学会 2004. 7. 1-2 東京
• 関谷佐智子, 清水達也, 関根秀一, 磯井由紀, 大和雅之, 菊池明彦, 岡野光夫, "移植心筋グラフトでの血管構築メカニズムの解析", プログラム・抄録集, 78 (2004).
- 35. 第7回日本組織工学会 2004. 7. 1-2 東京
• 菊池明彦, 林真由美, 大和雅之, 増田 彰, 牧野公子, 大島広行, 岡野光夫, "細胞シート工学を利用した担癌動物モデルの調製", プログラム・抄録集, 83 (2004).
- 36. 第7回日本組織工学会 2004. 7. 1-2 東京
• 神崎正人, 大和雅之, 関根秀一, 井坂珠子, 清水達也, 菊池明彦, 岡野光夫, 大貫恭正, "細胞シート工学による新規気漏閉鎖術の開発", プログラム・抄録集, 85 (2004).
- 37. 第7回日本組織工学会 2004. 7. 1-2 東京
• 角出泰造, 西田幸二, 大和雅之, 井手 武, 前田直之, 渡辺 仁, 菊池明彦, 岡野光夫, 田野保雄, "ヒト培養角膜内皮細胞シートにおける Na/K ATPase pump siteの検討", プログラム・抄録集, 87 (2004).
- 38. 第7回日本組織工学会 2004. 7. 1-2 東京
• 野崎貴之, 大和雅之, 西田幸二, 串田 愛, 長井 慈, 田野保雄, 岡野光夫, "温度応答性培養皿上で作製した培養角膜上皮細胞シートの凍結保存方法の検討", プログラム・抄録集, 88 (2004).
- 39. 第7回日本組織工学会 2004. 7. 1-2 東京
• 梅本晃正, 大和雅之, 西田幸二, 河野千夏, 渡辺克彦, 田野保雄, 岡野光夫, "角膜輪部上皮SP細胞における幹細胞・前駆細胞マーカーの発現解析", プログラム・抄録集, 89 (2004).
- 40. 第7回日本組織工学会 2004. 7. 1-2 東京
• 黒川真輔, 森田辰男, 白柳慶之, 大和雅之, 岡野光夫, "培養膀胱上皮細胞シートの作成", プログラム・抄録集, 102 (2004).
- 41. 第7回日本組織工学会 2004. 7. 1-2 東京
• 崑山英之, 菊池明彦, 大和雅之, 岡野光夫, "細胞接着・増殖能を賦活化する温度応答性表面による組織構築の促進", プログラム・抄録集, 150 (2004).
- 42. 第7回日本組織工学会 2004. 7. 1-2 東京
• mran A. Memon, Yoshiki Sawa, Satoshi Taketani, Shigeru Miyagawa, Hikaru Matsuda, Tatsuya Shimizu, Teruo Okano, "Tissue cardiomyoplasty with potential autologous myoblast sheets regenerated impaired myocardium", Program, 164 (2004).
- 43. 第25回日本炎症・再生医学会 -炎症の人為的制御- 2004.7. 13-14 東京
• 関谷佐智子, 清水達也, 関根秀一, 磯井由紀, 大和雅之, 菊池明彦, 岡野光夫, "移植心筋グラフトにおける血管新生", 炎症・再生, 24 (4), 441 (2004).
- 44. 第25回日本炎症・再生医学会 -炎症の人為的制御-

- 2004.7.13-14 東京
 ・ 関根秀一, 清水達也, 磯井由紀, 大和雅之, 菊池明彦, 小林英司, 岡野光夫, “細胞シート工学による血管付心筋グラフトの作製”, 炎症・再生, 24 (4), 442 (2004).
45. 第25回日本炎症・再生医学会 -炎症の人為的制御- 2004.7.13-14 東京
 ・ 津田行子, 菊池明彦, 大和雅之, 桜井靖久, 梅津光生, 岡野光夫, “温度応答性パターン化培養皿による高機能化共培養細胞シートの作製”, 炎症・再生, 24 (4), 451 (2004).
46. 第25回日本炎症・再生医学会 -炎症の人為的制御- 2004.7.13-14 東京
 ・ 井手 武, 西田幸二, 大和雅之, 角出泰造, 前田直之, 渡辺 仁, 菊池明彦, 岡野光夫, 田野保雄, “培養角膜上皮細胞シートのバリア機能の検討”, 炎症・再生, 24 (4), 452 (2004).
47. 第25回日本炎症・再生医学会 -炎症の人為的制御- 2004.7.13-14 東京
 ・ 神崎正人, 大和雅之, 関根秀一, 清水達也, 菊池明彦, 岡野光夫, 大貫恭正, “細胞シート移植による新規気漏閉鎖術の開発”, 炎症・再生, 24 (4), 452 (2004).
48. 第25回日本炎症・再生医学会 -炎症の人為的制御- 2004.7.13-14 東京
 ・ 野崎貴之, 大和雅之, 西田幸二, 串田 愛, 長井 慈, 田野保雄, 岡野光夫, “温度応答性培養皿上で作製した培養角膜上皮細胞シートの凍結保存方法の検討”, 炎症・再生, 24 (4), 453 (2004).
49. 第25回日本炎症・再生医学会 -炎症の人為的制御- 2004.7.13-14 東京
 ・ 林田康隆, 西田幸二, 大和雅之, 渡辺克彦, 前田直之, 渡辺 仁, 菊池明彦, 岡野光夫, 田野保雄, “遺伝子治療への細胞シート応用の可能性”, 炎症・再生, 24 (4), 473 (2004).
50. 第25回日本炎症・再生医学会 -炎症の人為的制御- 2004.7.13-14 東京
 ・ 笹川 忠, 清水達也, 佐藤和也, 笠原直子, 大和雅之, 菊池明彦, 藤本哲男, 岡野光夫, “ヒト筋芽細胞シート重層化による移植用グラフト作製の試み”, 炎症・再生, 24 (4), 473 (2003).
51. 第25回日本炎症・再生医学会 -炎症の人為的制御- 2004.7.13-14 東京
 ・ 西本綾子, 深井文雄, 白柳慶之, 大和雅之, 清水達也, 菊池明彦, 岡野光夫, “培養平滑筋細胞シート移植による平滑筋組織の再生”, 炎症・再生, 24 (4), 474 (2004).
52. 第25回日本炎症・再生医学会 -炎症の人為的制御- 2004.7.13-14 東京
 ・ 梅本晃正, 大和雅之, 西田幸二, 河野千夏, 田野保雄, 岡野光夫, “角膜輪部上皮SP細胞における幹細胞/前駆細胞マーカーの発現解析”, 炎症・再生, 24 (4), 500 (2004).
53. 17th Annual Meeting World Society of Cardio-Thoracic Surgeons (WSCTS). 2004. 7. 14-16 Yokohama
 ・ M. Kanzaki, M. Yamato, H. Sekine, T. Isaka, T. Matsumoto, M. Sakuraba, T. Ikeda, T. Shimizu, K. Oyama, A. Kikuchi, T. Okano and T. Onuki, “Development of a novel air leak sealant with cell sheet engineering”, Japan chapter, 75 (2004).
54. 第33回医用高分子シンポジウム 2004. 7. 26-27 東京
 ・ 畠山英之, 菊池明彦, 大和雅之, 岡野光夫, “細胞増殖を誘導する機能性温度応答表面の調製と細胞シート工学への応用”, 講演要旨集, 69-70 (2004).
55. 第14回バイオ・高分子シンポジウム 2004. 7. 26-27 東京
 ・ 津田行子, 菊池明彦, 大和雅之, 桜井靖久, 梅津光生, 岡野光夫, “マイクロパターン化温度応答性表面で形成させた肝-内皮共培養細胞組織の細胞機能解析”, 講演要旨集, 55-56 (2004).
56. 第1回日英ナノテクノロジー・サマースクール (1st Japan-UK Nanotechnology students' Summer School) 2004. 7. 26-30 茨城
 ・ Y. Tsuda, A. Kikuchi, M. Yamato, G. Chen and T. Okano, “Intelligent patterned nano-surfaces for tissue-mimicked cell sheets”, Abstract, 8 (2004). (Best presentation award)
57. 第53回高分子討論会 2004. 9. 15-17 北海道
 ・ 津田行子, 菊池明彦, 大和雅之, 堀 隆夫, 岡野光夫, “パターン化温度応答性表面上のパターン化共培養系に与えるパターンサイズの検討”, Preprints, Japan, 53 (2), 4364-4365 (2004).
58. 第53回高分子討論会 2004. 9. 15-17 北海道
 ・ 林真由美, 菊池明彦, 大和雅之, 増田 彰, 牧野公子, 大島広行, 岡野光夫, “細胞シート工学を用いた担癌動物の効率的調製”, Preprints, Japan, 53 (2), 4410 (2004).
59. 第53回高分子討論会 2004. 9. 15-17 北海道
 ・ 畠山英之, 菊池明彦, 大和雅之, 岡野光夫, “温度応答性高分子表面への細胞接着・増殖因子の共固定と細胞応答”, Preprints, Japan, 53 (2), 4412 (2004).
60. 第53回高分子討論会 2004. 9. 15-17 北海道
 ・ 秋山義勝, 菊池明彦, 大和雅之, 岡野光夫, “親水性表面上における温度応答性グラフトゲル作製の検討”, Preprints, Japan, 53 (2), 4414 (2004).
61. 第40回日本移植学会総会 移植2004 2004. 9. 16-18 岡山
 ・ 横山貴司, 大橋一夫, 久下博之, 大和雅之, 岡野光夫, 中島祥介, “二次元肝細胞シート作成の有用性と新規組織移植への展望”, 移植 (日本移植学会雑誌), 39, 263 (2004).
62. Micro Total Analysis Systems 2004 (mTAS 2004) 2004. 9. 26-30 Malmö, Sweden
 ・ Y. Akiyama, A. Kikuchi, M. Yamato and T. Okano, “Ultra thin poly(N-isopropylacrylamide) grafted for cell adhesion / detachment control by temperature change”, Proceedings, 2, 118-120 (2004).
63. 第42回日本人工臓器学会大会 2004. 10. 5-7 東京
 ・ 宮川 繁, 澤 芳樹, 福島教偉, 榎田 悟, 松宮護郎, 竹谷 哲, 松津俊宏, 近藤晴彦, イムラン・メモン, 秦 広樹, 清水達也, 岡野光夫, 松田暉, “重症心不全への再生医療の応用”, 人工臓器, 33 (2), S-11 (2004).
64. 第42回日本人工臓器学会大会 2004. 10. 5-7 東京
 ・ 清水達也, 岡野光夫, “人工材料を用いた置換型臓器開発と細胞を用いた再生型臓器開発の連携と融合”, 人工臓器, 33 (2), S-15 (2004).
65. 第42回日本人工臓器学会大会 2004. 10. 5-7 東京
 ・ 井坂珠子, 神崎正人, 大和雅之, 関根秀一, 菊池明彦, 岡野光夫, 大貫恭正, “皮膚線維芽細胞シートを用いた新規肺漏閉鎖術”, 人工臓器, 33 (2), S-138 (2004).

66. 第42回日本人工臓器学会大会 2004. 10. 5-7 東京
 ・近藤晴彦, 澤 芳樹, 宮川 繁, イムラン・メモン, 秦 広樹, 清水達也, 岡野光夫, 松田 暉, “拡張型心筋症ハムスターに対する筋芽細胞シート移植の心筋組織および心機能の改善効果”, 人工臓器, 33 (2), S-140 (2004).
67. 第42回日本人工臓器学会大会 2004. 10. 5-7 東京
 ・笹川 忠, 清水達也, 佐藤和也, 澤 芳樹, 大和雅之, 菊池明彦, 藤本哲男, 松田 暉, 人工臓器, 33 (2), S-141 (2004).
68. 第57回日本胸部外科学会定期学術集会 2004. 10. 20-22 札幌
 ・近藤晴彦, 澤 芳樹, 福島教偉, 松宮護郎, 宮川 繁, 秦 広樹, 清水達也, 岡野光夫, 松田 暉, “拡張型心筋症ハムスターに対する筋芽細胞シート移植の効果 -拡張型心筋症心筋再生の可能性の検討-”, The Japanese Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery, 52 (Suppl. 2004), 415 (2004).
69. 第57回日本胸部外科学会定期学術集会 2004. 10. 20-22 札幌
 ・神崎正人, 大和雅之, 大和雅之, 梅本晃正, 長井 慈, 関根秀一, 小山邦広, 池田豊秀, 井坂珠子, 菊池明彦, 岡野光夫, 大貫恭正, “ハイブリッド型人工気管の開発および胸腔への気管上皮細胞シートの導入”, The Japanese Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery, 52 (Suppl. 2004), 546 (2004).
70. 第57回日本胸部外科学会定期学術集会 2004. 10. 20-22 札幌
 ・松本卓子, 神崎正人, 大和雅之, 井坂珠子, 岡野光夫, 大貫恭正, “温度応答性培養皿による肺細胞シート作成と細胞シートによる気漏閉鎖の試み”, The Japanese Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery, 52 (Suppl. 2004), 548 (2004).
71. 「ナノテクノロジー分野別バーチャルラボ」ナノメディシン 2004. 11. 10 東京
 ・秋山義勝, 菊池明彦, 大和雅之, 岡野光夫, “温度応答性グラフトゲルの基材表面物性による影響” (2004).
72. 「ナノテクノロジー分野別バーチャルラボ」ナノメディシン 2004. 11. 10 東京
 ・畠山英之, 菊池明彦, 大和雅之, 岡野光夫, “細胞培養・増殖を促進する温度応答性ナノバイオ表面を用いた細胞シート工学” (2004).
73. 「ナノテクノロジー分野別バーチャルラボ」ナノメディシン 2004. 11. 10 東京
 ・津田行子, 菊池明彦, 大和雅之, 岡野光夫, “温度応答性ナノバイointerフェイスによる生体組織を模倣した構造と機能を発現する細胞シートの調整”, (2004).
74. 日本バイオマテリアル学会 シンポジウム2004 2004. 11. 15-16 つくば
 ・谷口彰良, 高山 剛, 岡野光夫, “細胞シート工学を用いた組織再構築での遺伝子発現の変化”, 予稿集, 52 (2004).
75. 日本バイオマテリアル学会 シンポジウム2004 2004. 11. 15-16 つくば
 ・秋山義勝, 菊池明彦, 大和雅之, 岡野光夫, “細胞が接着・脱着可能な温度応答性グラフトゲル作製条件の検討”, 予稿集, 57 (2004).
76. 日本バイオマテリアル学会 シンポジウム2004 2004. 11. 15-16 つくば
 ・原口裕次, 清水達也, 菊池明彦, 大和雅之, 岡野光夫, “心筋細胞シート間の電気的結合メカニズムの解析, 予稿集, 58 (2004).
77. 日本バイオマテリアル学会 シンポジウム2004 2004. 11. 15-16 つくば
 ・西田幸二, 大和雅之, 林田康隆, 菊池明彦, 岡野光夫, 田野保雄, “細胞シート工学による角膜再生”, 予稿集, 85 (2004).
78. 日本バイオマテリアル学会 シンポジウム2004 2004. 11. 15-16 つくば
 ・笹川 忠, 清水達也, 佐藤和也, 澤 芳樹, 大和雅之, 菊池明彦, 藤本哲男, 松田 暉, 岡野光夫, “温度応答性培養皿を用いた重層化ヒト筋芽細胞シートの作製”, 予稿集, 91 (2004).
79. 日本バイオマテリアル学会 シンポジウム2004 2004. 11. 15-16 つくば
 ・畠山英之, 菊池明彦, 大和雅之, 岡野光夫, “培養細胞の接着・増殖能を亢進しうる新規温度応答性表面の調製”, 予稿集, 113 (2004).
80. 日本バイオマテリアル学会 シンポジウム2004 2004. 11. 15-16 つくば
 ・米賀和義, 大和雅之, 小林 純, 菊池明彦, 岡野光夫, “縮小投写型液晶プロジェクタによる細胞のマイクロパターンニング”, 予稿集, 121 (2004).
81. 日本バイオマテリアル学会 シンポジウム2004 2004. 11. 15-16 つくば
 ・津田行子, 菊池明彦, 大和雅之, 埜 隆夫, 岡野光夫, “パターンドメインサイズ制御による肝内皮共培養系の細胞機能発現”, 予稿集, 129 (2004).
82. 日本バイオマテリアル学会 シンポジウム2004 2004. 11. 15-16 つくば
 ・高山 剛, 黒澤康紀, 谷口彰良, 岡野光夫, “細胞シート工学を利用した組織再構築で変化する遺伝子の検索”, 予稿集, 156 (2004).
83. 日本バイオマテリアル学会 シンポジウム2004 2004. 11. 15-16 つくば
 ・関根秀一, 清水達也, 磯井由紀, 大和雅之, 菊池明彦, 小林英司, 岡野光夫, “温度応答性培養皿を用いた心筋細胞シートによる血管付心筋グラフトの作製”, 予稿集, 185 (2004).
84. 日本バイオマテリアル学会 シンポジウム2004 2004. 11. 15-16 つくば
 ・白井暢子, 岡野光夫, 谷口彰良, “温度応答性培養皿を用いた肝-血管内皮重層化モデルにおける肝遺伝子の定量解析”, 予稿集, 246 (2004).
85. 4th Asian International symposium on Biomaterials (AISB4) and 2nd International symposium on Fusion of Nano and Bio Technologies (FNB2004) 2004. 11. 16-18 Tsukuba
 ・H. Hatakeyama, A. Kikuchi, M. Yamato and T. Okano, “Biological stimulants-immobilized thermoresponsive surfaces for facilitated cell adhesion and proliferation”, Proceedings, 171 (2004).
86. 4th Asian International symposium on Biomaterials (AISB4) and 2nd International symposium on Fusion of Nano and Bio Technologies (FNB2004) 2004. 11. 16-18 Tsukuba
 ・Y. Tsuda, A. Kikuchi, M. Yamato, G. Chen and T. Okano, “Analyses of heterotypic interactions in pattern CO- cultured cell monolayers obtained on the patterned dual thermoresponsive nanobiointerfaces”, Proceedings, 184 (2004).

87. 4th Asian International symposium on Biomaterials (AISB4) and 2nd International symposium on Fusion of Nano and Bio Technologies (FNB2004) 2004. 11. 16-18 Tsukuba
 • Y. Shirai, T. Okano and A. Taniguchi, "Hepatocytes marker gene expressions on double-layered CO-culture with endothelial cell sheets utilizing thermo-responsive culture dishes", Proceedings, 189 (2004).
88. 4th Asian International symposium on Biomaterials (AISB4) and 2nd International symposium on Fusion of Nano and Bio Technologies (FNB2004) 2004. 11. 16-18 Tsukuba
 • G. Takayama, Y. Kurosawa, A. Taniguchi and T. Okano, "Detection of gene expression in double-layered CO-culture of rat hepatocytes and human umbilical vein endothelial cells by cell sheet technology", Proceedings, 382 (2004).
89. 第10回化学とマイクロ・ナノシステム研究会 2004. 11. 25-26 高松
 [] 米賀和義, 小林 純, 大和雅之, 菊池明彦, 岡野光夫, "縮小投写型液晶プロジェクトによる細胞のマイクロパターンニング"(2004).
90. 社団法人日本化学会創立125周年記念新春特別(第1回) 化学イノベーションシンポジウム 2004. 1. 9 東京
 • 岡野光夫, "インテリジェント表面を利用した組織・臓器の再生", 講演資料, 9-18 (2004).
91. 第2回CERES研究会・講演会 2004. 1. 21 東京
 • 岡野光夫, "再生医療: 医療材料からのアプローチ - 角膜および心筋の再生 -" (2004).
92. Fourth International Symposium on Biomimetic Materials Processing (BMMP-4) 2004. 1. 28-30 Nagoya
 • T. Okano and M. Yamato, "NANO- TISSUE ENGINEERING", Abstracts, 5 (2004).
93. 長崎先端医療研究会 2004. 1. 30 長崎
 • 岡野光夫, "インテリジェント高分子によるDDSと再生医療", プログラム (2004).
94. シンポジウム2003「明日を創る科学技術」 2004. 2. 12-13 大阪
 • 岡野光夫, "医学と工学の融合領域: 再生医療・DDSのブレークスルーを起こすバイオマテリアル", 講演要旨集, 15 (2004).
95. 戦略的創造研究推進事業「ナノテクノロジー分野別バーチャルラボ」全体発表会 2004. 2. 18 東京
 • 岡野光夫, "新規組織再構成技術の開発と次世代バイオセンサーの創製", 発表要旨集, 96-97 (2004).
96. 第13回泌尿器科分子・細胞研究会 2004. 2. 27-28 東京
 • 岡野光夫, "細胞シート工学による再生医療", プログラム・予稿集・名簿, 24-25 (2004).
97. International Society for Applied Cardiovascular Biology 9th Biennial Meeting 2004. 3. 10-13 Georgia
 • Teruo Okano, "Intelligent Materials for Tissue Engineering", Scientific program book, 21 (2004).
98. [文部科学省ナノテクノロジー総合支援プロジェクト] 第2回ナノテクノロジー総合シンポジウム JAPAN NANO 2004 2004. 3. 15-17 東京
 • 岡野光夫, "細胞から組織を作るナノティッシュエンジニアリング", 講演予稿集, 15-17 (2004).
99. 再生医療+ナノメディスン Expo 2004 2004. 3. 17-19 東京
 • 岡野光夫, "再生医療のためのナノ構造制御表面", ガイドブック (2004).
100. 第3回 Cardiovascular Meeting 2004. 3. 19 島根
 • 清水達也, "細胞シート工学による心筋組織再生"
101. 第3回日本再生医療学会総会 2004. 3. 23-25 千葉
 • 岡野光夫, "心筋再生の現状と問題点", 再生医療 (日本再生医療学会雑誌), 3(Suppl.), 69 (2004).
102. The 68th Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society 2004. 3. 27-29 Tokyo.
 • Tatsuya Shimizu and Teruo Okano, "Bioengineered Myocardial Tissue Grafts for Repairing Damaged Hearts", Circulation Journal, 68, Suppl. 1, 25 (2004).
103. Eighth European Symposium on Controlled Drug Delivery 2004. 4. 7-9 Netherlands
 • Teruo Okano, "Cell Sheet Engineering for Regenerative Tissue and Organs", Abstract book, 23-24 (2004).
104. 第4回 Cardiovascular Frontier Conference 2004. 4. 10 東京
 • 清水達也, "細胞シート工学による組織再構築"
105. Experimental Biology "Translating the Genome" 2004 2004. 4. 17-21 Washington, DC
 • Teruo Okano, "Cell sheet technology", Program, 114 (2004).
106. 第1回 次世代医療システム産業化フォーラム 2004 2004. 5. 13 大阪
 • 岡野光夫, "東京女子医科大学医学部の先端医療への取組み: 再生医療への挑戦", 次第(2004)
107. 7th World Biomaterials Congress 2004. 5. 17-21 Sydney
 • Teruo Okano, "Cell sheet engineering for tissues and organs regeneration", Transactions [CD-ROM], 130 (2004)
108. Regenerate Tissue Engineering The Human Body 2004. 6. 9-12 Seattle, Washington
 • T. Okano, "Cell sheet engineering: intelligent biointerface for tissue and organ regeneration", Program, 5 (2004).
109. Regenerate Tissue Engineering The Human Body 2004. 6. 9-12 Seattle, Washington
 • T. Shimizu, "Myocardial tissue reconstruction by cell sheet engineering"
110. 第6回JCIIシンポジウム「材料開発の将来像を探る素材、機能そしてマテリアル・ソリューションへ」 2004. 6. 16 東京
 • 岡野光夫, "インテリジェント表面の設計とその細胞シート工学への応用", 講演予稿集, 4-5 (2004).
111. 第26回ラピッド・プロトタイプングシンポジウム 2004. 6. 15 埼玉
 • 大和雅之, "再生医療における三次元組織の再構築の重要性と細胞シート工学", プログラム・抄録集, 85 (2004).

112. 神経組織の成長・再生・移植研究会 第19回学術集会 2004. 6. 19 岐阜
 ・岡野光夫, “細胞シート工学: 細胞からの組織・臓器の再生”, プログラム (2004)
113. 第1回泌尿器科再建再生研究会 2004. 6. 26 東京
 ・岡野光夫, “細胞シート工学: 細胞からの組織・臓器を作る新手法”, プログラム・抄録集, (2004).
114. 第7回日本組織工学会 2004. 7. 1-2 東京
 ・宮川 繁, 澤 芳樹, 福島教偉, 榎田 悟, 松宮護郎, 竹谷 哲, 近藤晴彦, イムラン・メモン, 秦 広樹, 清水達也, 岡野光夫, 松田 暉, “重症心不全に対する細胞シートを用いた新しい心筋再生法の開発”, プログラム・抄録集, 64 (2004).
115. 第24回日本核医学技術学会総会学術大会 2004. 7. 24-25 千葉
 ・岡野光夫, “細胞シート工学を基盤とする再生医療”, 22-23 (2004).
116. XVIII World Congress International Society for Heart Research in conjunction with the 52nd Annual Scientific Meeting of the Cardiac Society of Australia and New Zealand 2004. 7. 7-10 Brisbane, Australia
 ・T. Shimizu and T. Okano, “Myocardial tissue reconstruction by cell sheet technology”, Journal of Molecular and Cellular Cardiology, 37(2004), 327-328 (2004).
117. Bio Japan 2004 2004. 9. 28-30 東京
 ・Okano Teruo, “Cell sheet engineering for tissue and organ regeneration”, Proceedings, 181-182 (2004).
118. 共立薬科大学 特別講演会 「再生医療から未来医療を展望する」 2004. 10. 10 東京
 ・大和雅之, 岡野光夫, “組織から細胞・臓器を再生するテクノロジー”, プログラム, 4-6 (2004).
119. 第48回日本学術会議 材料研究連合講演会 2004. 10. 20-21 東京
 ・大和雅之, 清水達也, 菊池明彦, 岡野光夫, “温度応答性培養皿を用いた細胞シート工学による組織・臓器再生”
120. 第57回日本胸部外科学会定期学術集会 2004. 10. 20-22 札幌
 ・宮川 繁, 澤 芳樹, 近藤晴彦, 岡野光夫, 松田 暉, “重症心不全に対する分子生物学的手法を用いた病態解明と再生治療法の検討”, The Japanese of Thoracic and Cardiovascular Surgery, 52 (Suppl.2004), 169 (2004).
121. 6th Asian Congress on Oral and Maxillofacial Surgery・49th Annual Meeting of Japanese Society of Oral and Maxillofacial Surgeons 2004. 10. 20-23 Tokyo
 ・T. Okano, “Cell sheet engineering for tissue and organ regeneration”, Program and Abstracts, 76 (2004).
122. 日本バイオマテリアル学会 2004. 11. 15-16 つくば
 ・岡野光夫, “組織工学及びバイオテクノロジー推進: 細胞マニピュレーションを行う表面”, 予稿集, 34-36 (2004).
123. 4th Asian International Symposium on Biomaterials (AISB4) and 2nd International Symposium on Fusion of Nano and Bio Technologies (FNB2004) 2004. 11. 16-18 Tsukuba
 ・T. Okano, “Intelligent biomaterials for cell sheet engineering”, Proceedings, 41 (2004).
124. 4th Asian International Symposium on Biomaterials (AISB4) and 2nd International Symposium on Fusion of
 ・K. Nishida, M. Yamato, T. Okano and Y. Tano, “Corneal reconstruction using tissue-engineered cell sheets”, Proceedings, 42-43 (2004).
125. International Society for Heart Research (ISHR), The 21st Annual Meeting of the Japanese Section 2004. 11. 23-25 Yamanashi
 ・T. Shimizu and T. Okano, “Myocardial tissue regeneration by cell sheet technology”, Abstracts
126. 第10回新潟移植再生研究会 2004. 11. 25 新潟
 ・岡野光夫, “細胞から臓器をつくる再生医療”
127. 第19回「大学と科学」公開シンポジウム 「人体にやさしい医療材料」 2004. 12. 4-5 東京
 ・岡野光夫, “細胞シート工学による組織再生”, 予稿集, 46-47 (2004).
128. Bayer・RTI Symposium 2004 2004. 12. 11 東京
 ・岡野光夫, “細胞から組織・臓器を作る再生医療”, 抄録集 (2004).
129. 第42回日本生物物理学会年会 2004. 12. 13-15 京都
 ・岡野光夫, “インテリジェント・ナノバイオインターフェースの設計と再生医療への応用”, 生物物理, 44 (Suppl. 1), S23 (2004).

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

分担研究報告書

組織工学による血管増生心筋組織の構築ならびにその移植による冠血管床の再生

分担研究者 福田 恵一 慶應義塾大学医学部呼吸循環器内科 講師

研究要旨本研究ではマウス胚性幹細胞に対し、効率的に心筋細胞に分化誘導させることが出来る因子を発見すべく、既知の物質、未知の物質の探索に取り組んだ。その結果、Factor X なる物質が胚性幹細胞において効率的に心筋細胞に分化誘導できることを明らかにした。Factor X をある特定の濃度、時期に作用させることにより心筋分化は促進されたが、それ以外の方法では心筋分化は促進されなかった。Factor X は cardiac crescent 形成時期に同部位の内胚葉側および近傍の中胚葉より分泌されており、late crescent stage では出ているが、linear heart tube 期には発現していないことが明らかとなった。Factor X の胚性幹細胞への作用は cell autonomous に働き、GFP で標識した細胞だけが心筋細胞に分化することが確認された。

A. 研究目的

胚性幹細胞から心筋細胞を効率的かつ大量に分化誘導する方法を確認し、再生心筋細胞を用いた細胞シートの作成を行う。

B. 研究方法

昨年度により胚性幹細胞から心筋細胞を特異的に分化誘導する因子 (Factor X) の単離に成功した。本年度はこの Factor X の早期胚における発現部位、発現時期を明らかにするため、whole mount in situ hybridization とその組織切片の作製を行った。Factor X で刺激をした際の細胞が cell autonomous に心筋細胞に分化するのか、non autonomous に分化するのかを明らかにするため、GFP で標識した胚性幹細胞を Factor X で刺激したものと標識していない非刺激胚性幹細胞を混在させ、心筋分化誘導を試みた。

C. 研究結果

Factor X は cardiac crescent 形成時期に同部位の内胚葉側および近傍の中胚葉より分泌されており、late crescent stage では出ているが、linear heart tube 期には発現していないことが明らかとなった。Factor X の胚性幹細胞への作用は cell autonomous に働き、GFP で標識した細胞だけが心筋細胞に分化することが確認された。

D. 考察

Factor X はマウス胎児期の心臓形成予定領域の内胚葉側およびその近傍中胚葉より分泌され、未分化幹細胞に対して cell autonomous に作用することが明らかとなった。この現象の発見は Factor X により、大量の心筋細胞を分化誘導が可能となることを示しているものと考えられた。

E. 結論

マウス胚性幹細胞を心筋細胞に特異的に分化誘導する Factor X は生理的なりガンドであることが