ところ、ＳＰ細胞は表皮基底層に多く存在し、一部バルジ領域にも存在が確認された。真皮の細胞はほとんど検出できなかった。

ＳＰ細胞をセルソーターにより分取し、培養を試みたところ、コロニーの大きさは大きい傾向が見られたが、コロニー形成率において非ＳＰ細胞と増殖能に有意な差は見られなかった。

ヒトの皮膚においてもＳＰ細胞の検討を行ったが表皮においてＳＰ細胞の割合は0.01-0.1%程度と非常に少なかった。

D. 考察

マウス皮膚においてＳＰ細胞は生下時に非常に多いが、急速に減少することが示唆された。ヒト成人の皮膚にＳＰ細胞は少ないこともマウスの結果と合わせれば矛盾はしない。また骨髄中のＳＰ細胞の割合も 0.1%程度とされているので、組織中の割合は比較的一定なのかもしれない。表皮のＳＰ細胞の表面マーカー解析によればこれまで報告されたケラチノサイトの幹細胞マーカーを多く発現していたが、CD34に関しては発現していなかった。また Bcrp1 の抗体を用いた局在の検討においても、基底層に多く存在し、幹細胞が存在するされているバルジ領域が必ずしも陽性ではなかった。幹細胞の性質として有毒物質を排出する能力は重要と考えられるが、バリアー機能も重要な皮膚においては基底層に存在する意義は十分にあると考えられる。

また毛乳頭細胞においてＳＰ細胞の割合が高い傾向が見られたので、真皮の幹細胞の存在場所として毛乳頭部も候補として考えられる。実際毛乳頭細胞は神経堤由来の細胞であることが示唆されており、毛乳頭細胞が多能性をもつという報告も散見されている。ただ毛乳頭細胞に特異的なマーカーがこれまでに存在していないので、ＳＰ細胞が多能性を持つか否かは大変興味深いところである。

ＳＰ細胞の培養法についてはまだ改善の余地が多いと思われるが、セルソーターによるダメージも無視できず、今後の検討課題である。

E. 結論

皮膚から色素排出能の高いＳＰ細胞を単離・培養することができた。今後ＳＰ細胞の多能性についても検討を加えていきたい。

F．健康危険情報

なし。

G．研究発表

1． 論文発表

1. Yanagi Y, Inoue Y, Kawase Y, Uchida S, Tamaki Y, Araie M, Okochi H. Properties of growth and molecular profiles of rat progenitor cells from ciliary epithelium. **Exp Eye Res**. In press

2. Yusuke Nishimura, Tatsuo S. Hamazaki, Sinji Komazaki , Shinji Kaminura , Hitoshi Okochi, and Makoto Asashima Ciliated Cells Differentiated from Mouse Embryonic Stem Cells. **Stem Cells in press**

3. Fujimoto M, Kuwano Y, Watanabe R, Asashima N, Nakashima H, Yoshitake S, Okochi H, Tamaki K, Poe JC, Tedder TF, Sato S. B Cell Antigen Receptor and CD40 Differentially Regulate CD22 Tyrosine Phosphorylation. **J Immunol**. 2006 176(2):873-9.

4. Yano S, Ito Y, Fujimoto M, Hamazaki TS, Tamaki K, Okochi H: Characterization and localization of side population cells in mouse skin. **Stem Cells.** 23:834-841, 2005

5. Yano S, Okochi H: Long-term culture of adult murine epidermal keratinocytes **Br J Dermatol** 153:1101-4. 2005

6. Inoue Y, Yanagi Y, Tamaki Y, Uchida S, Kawase Y, Araie M, Okochi H: Clonogenic analysis of ciliary epithelial derived retinal progenitor cells in rabbits. **Exp Eye Res**. 81:437-445.2005

7. Kagami S, Saeki H, Idezuki T, Yano S, Kawabata Y, Okochi H, Asahina A, Nakagawa K, Tamaki K: Epithelioid Sarcoma Associated with Lung Adenocarcinoma. **J Dermatol** 32:904-908, 2005

8. Furue M, Okamoto T, Hayashi Y, Okochi H, Fujimoto M, Myoishi Y, Abe T, Ohnuma K, Sato GH, Asashima M, Sato JD: LIF as an Anti-apoptotic Mitogen for Pluripotent Mouse ES Cells in a Serum-Free Medium without Feeder Cells, **In Vitro Cell Dev Biol Anim**. 41:19-28, 2005

9.大河内仁志　皮膚再生と幹細胞　総合臨床 54:148-154,2005

学会発表

1. Yuriko Ito, Shoichiro Yano, Manabu Fujimoto, Tatsuo S Hamazaki, Hitoshi Okochi : SIDE POPULATION CELLS IN THE EPIDERMIS Timberline Symposium 2005　Potland Oregon, USA 2005

2. M Komine, S Yano, H Okochi, M Blumenberg and K Tamaki: Mechanical stretch causes the shift to basal and proliferative phenotype in normal human keratinocytes independently from the cell cycle regulation. 66th Annual meeting of the Society of Investigative Dermatology, St. Louis, Missouri, USA, May, 2005

3. Okochi H: Skin as a stem cell source, The annual Dermatological meeting in Taiwan, Taichung, May, 2005

4. Okochi H　The fate of keratinocyte stem cells in vitro is determined in part by the calcium concentration and physical tension as well as by growth factors　MMHCC Epidermal Stem Cells Meeting, Winter Park, Colorado, USA, August 2005

5. Ito Y, Hamazaki TS, Asashima M, Okochi H　A novel cell surface marker, prominin-1/CD133, of dermal papilla during hair development　15th International Society of Developmental Biologists Congress　Sydney, Australia, September 2005

6. Yen YT, Kawase Y, Hamazaki TS, Tamaki K, Okochi H　Efficient neural differentiation from cultured skin stem　cells　The 23rd meeting of Pacific Skin Research Club　Hualien, Taiwan, November, 2005

1. 大河内仁志：皮膚の多能性幹細胞と毛乳頭細胞について　国立遺伝学研究所・研究集会「上皮・毛器官の形態形成メカニズム」　三島、2月、2005

2. 顔育達、河瀬陽子、浜崎辰夫、玉置邦彦、大河内仁志：皮膚由来幹細胞から神経細胞への分化誘導条件の検討　第４回日本再生医療学会、大阪、３月、2005

3. 河瀬陽子、徳原真、顔育達、高戸毅、水野博司、浜崎辰夫、大河内仁志：ヒト脂肪細胞からの神経細胞誘導　第４回日本再生医療学会、大阪、３月、2005

4. 徳原真、寺島裕夫、斉藤幸夫、清水利夫、河瀬陽子、水野博司、浜崎辰夫、大河内仁志：ヒト大網組織よりの間葉系幹細胞の分離　第４回日本再生医療学会、大阪、３月、2005

5. 大河内仁志：皮膚幹細胞　第 104 回日本皮膚科学会　研究講習会「再生医療」、横浜、4

月、2005

6. 藤本学、渡辺玲、浅島信子、大河内仁志、玉置邦彦:CD22のチロシンリン酸化パターンの量的・質的差異によるBリンパ球シグナル伝達制御　第30回日本研究皮膚科学会、横浜、4月、2005

7. 大河内仁志　再生医療の現状と将来　東京厚生年金病院フォーラム　東京、7月、2005

8. 大河内仁志、皮膚の幹細胞と再生医療　東京大学ティッシュエンジニアリング部セミナー　東京、7月、2005

9. 小宮根真弓、矢野正一郎、南谷洋策、常深祐一郎、大河内仁志、M. Blumenberg玉置邦彦 表皮細胞における機械的伸展刺激の作用　第２０回角化症研究会、東京、７月、2005

10. 大河内仁志、再生医療—ES 細胞と組織幹細胞（特に皮膚の幹細胞について）第２６回ヒューマンサイエンス基礎研究講習会、東京、９月、2005

11. 伊藤ゆり子、浜崎辰夫、大河内仁志　新規毛乳頭細胞表面マーカーの同定と発毛誘導能の検討　第６回Dermatology research seminar、東京、１１月、2005

12. 桑野嘉弘、矢澤徳仁、大野祐樹、矢野正一郎、藤本学、大河内仁志、玉置邦彦　円形脱毛患者における血清中ケモカインの検討　日本皮膚科学会第８０４回東京地方会、東京、１２月、2005

G. 知的所有権の出願・登録状況（予定を含む）

なし

厚生労働科学研究費補助金(ヒトゲノム・再生医療等研究事業)
分担研究報告書

皮膚細胞を細胞源とする新規骨・軟骨再生法の開発と臨床応用に関する研究

分担研究者　片岡一則　東京大学大学院工学系研究科・医学系研究科教授

研究要旨　本分担研究においては、組織より分離された成体幹細胞に有効な高分子ナノミセルを用いる遺伝子導入方法の開発を目指している。本分担研究で取り組んでいる高分子ナノミセルは、ウイルス(～50ナノメートル)と同等という微小サイズでありながら、分子認識能や環境応答能などのマルチ機能を搭載可能な超機能化システムであり、表面を生体適合化する事も可能である。昨年度までに確立したアミノリシス法によるブロック共重合体合成技術により，側鎖にエチレンジアミン構造を有するポリマーを合成し，マウス皮膚由来線維芽細胞を含む複数の初代培養株細胞に対する効率的な遺伝子導入を実現した．また非常に低毒性であり，長期間にわたる持続的遺伝子発現が可能となることも確認した．

A.　研究目的

本研究は、がん切除後に伴う複合組織の欠損によるがん患者の QOL 低下を回避するため、組織欠損を補うための新規手法を開発すものである。従来は組織欠損を補う手法として、自家組織移植や人工組織を用いられてきたが、いずれもその機能・形態の両面において課題を残している。また他家組織移植においても、ドナーの慢性的不足や免疫学的問題など多くの問題を抱えている。このような問題を解決するため、本研究では、再生医学と生体材料工学の最先端の技術を融合させて、がん治療後の複合組織欠損を再建する治療技術を開発することを目的としている。本分担研究においては、組織より分離された成体幹細胞に有効な高分子ナノミセル(図1)を用いる遺伝子導入方法の開発を目指している。

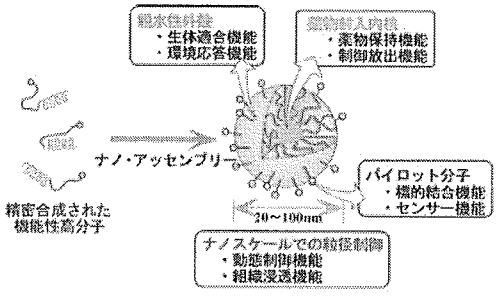


図1 ブロック共重合体のナノアッセンブリーに基づく超機能化高分子ミセルベクターの構築

本年度は、昨年度に引き続き、新規カチオン性ブロック共重合体の分子設計・合成、これら高分子とレポーター遺伝子を組み込んだプラスミドDNA(pDNA)からなるナノミセル型遺伝子キャリアの特性解析、培養細胞系での遺伝子発現、細胞内動態の一連の評価を行った。

B.　研究方法

1)ポリカチオンの合成とポリプレックスの調製

アミノリシス法によるブロック共重合体合成を行った．ポリアスパラギン酸(P[Asp])側鎖にジエチレントリアミン(DET)を導入した P[Asp(DET)]ポリマ

ーとポリエチレングリコール(PEG)とのブロック共重合体(PEG-DET)を合成した(PEG 分子量12000,ポリアミノ酸重合度98)。ナノミセル型キャリアはトリスバッファー中で DNA とポリマー溶液を混合することによって調製した.

2)初代培養株細胞への遺伝子導入

マウス皮膚組織より皮膚線維芽細胞を採取し, 6 穴プレートに播種, 培養し, ナノミセル型キャリアによる遺伝子導入を行った. 同様に新生マウス頭蓋骨由来の未分化骨芽細胞に対する遺伝子導入も行った. 導入遺伝子はホタル発光ルシフェラーゼおよび蛍光タンパクである YFP を用い, それぞれルミノメーター, 蛍光顕微鏡にて遺伝子発現を評価した.

また, 遺伝子導入条件における細胞への毒性を評価するため, 生細胞数の計測を MTT アッセイにより行った.

3)ナノミセル型キャリアの細胞内挙動観察

DNA を 2 種の波長の異なる蛍光分子で標識することにより, DNA がナノミセルに内包されると, 2 分子間の蛍光エネルギー移動により波長が変化する. 一方 DNA がキャリア外に放出されるとこのエネルギー移動は解消されるため, その変化を観察することにより, 細胞内でのキャリア挙動, DNA 放出をレーザー共焦点顕微鏡を用いて観察した.

4)遺伝子発現の持続性評価

遺伝子発現の状態をより詳細に確認するため, その発現を mRNA レベルで評価した. ルシフェラーゼ遺伝子を導入し, 細胞から mRNA を抽出, ルシフェラーゼ遺伝子 mRNA の発現を定量 PCR 法にて評価した.

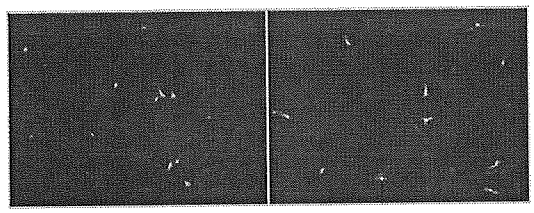
C. 研究結果

1)初代培養株細胞への遺伝子導入

PEG-DET/DNA ナノミセル型キャリアにより, 皮膚線維芽細胞においてほとんど毒性を示すことなく遺伝子発現が確認された. ルシフェラーゼ遺伝子による評価で, ポリマーのカチオン電荷対 DNA の電荷比を 80(N/P=80)にて調製したナノミセルにおいて最も優れた遺伝子発現が得られることが確認され, YFP 遺伝子発現の蛍光顕微鏡による観察では, 導入後 6 日で約 20%の細胞に遺伝子発現を認めた(図 2).

また, 未分化骨芽細胞に対してはさらに良好な遺伝子導入が可能であり, 導入後 3 日で約 50%の細胞に遺伝子発現が観察された.

何れの細胞においても細胞は形態的に遺伝子導入を行っていないコントロール細胞とくらべほとんど影響は見られず, MTT アッセイによる生細胞数計測にても, コントロールとの有意差を認めなかった. 代表的な遺伝子導入用カチオンポリマーであるポリエチレンイミンでは, 強い毒性が生じており, 対照的な結果となった.



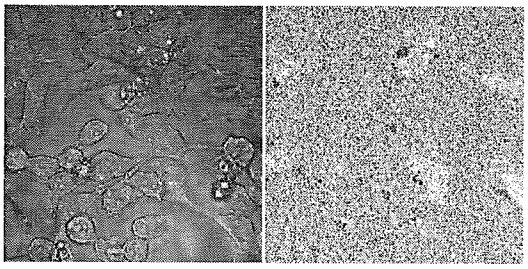
Day 3　　Day 6

(図 2)ナノミセル型遺伝子キャリアによる皮膚線維芽細胞に対する YFP 遺伝子導入

2)ナノミセル型キャリアの細胞内挙動観察

フルオレセインおよび Cy3 のふたつの蛍光分子で標識したDNAをナノミセル型キャリアに内包し，24時間後にレーザー共焦点顕微鏡にて観察した．図 3 の左は蛍光画像，右はその二つの分子の蛍光強度比(F/Cy3)をプロットしたものであり，黒い部分が蛍光エネルギー移動の起こっている部分すなわち DNA がキャリアに内包された状態，白い部分が DNA が細胞質内に放出されている状態を示す．

PEG-DET/DNA ナノミセル型キャリアにより遺伝子導入で，24 時間後明らかに細胞質内でのDNAの効率よい放出が観察され，本キャリアにより効率よい DNA の細胞内デリバリーが達成されていることが確認された．これは同様の効率的細胞内遺伝子デリバリーが可能なポリエチレンイミンの結果と相関するものであり，本キャリアによっても，細胞内に取り込まれた後，効率よいエンドソーム脱出の起こっていることが示唆された．



(図 3)蛍光エネルギー移動を用いたナノミセル型キャリアの細胞内挙動観察

3)遺伝子発現の持続性評価

ナノミセル型キャリアでは非常に低毒性で細胞へ遺伝子導入することが可能のため，キャリア共存下で長時間培養することが可能となる．その結果として，非常に長期間にわたる遺伝子発現が観察される．この発現が実際に核内転写レベルで起こっていることを確認するため，細胞からmRNAを抽出，遺伝子発現を定量PCR法で評価したところ，ナノミセル型キャリアでは，むしろ1日目より3，5日目にかけてmRNAの発現が増加する傾向が観察された．一般的な脂質由来の市販遺伝子導入試薬である Fugene6 では，mRNA レベルの発現としては，1 日目で非常に高い発現が見られるものの，以後急激に減少し，全く異なった発現のパターンとなっていることが明らかとなった．ナノミセル型キャリアでは，核内転写レベルにおいても遺伝子発現が持続することにより，長期にわたる高い遺伝子発現の得られることが確認された．

D. 考察

本研究では実際の治療に用いることが可能な人工遺伝子ベクターを開発を目的とする．そのための要件として，高い遺伝子導入効率とともに，ほとんど細胞毒性を示さないことが不可欠となる．特に生体由来の初代培養株細胞は，市販遺伝子導入試薬を用いる際も細胞毒性の影響を受けやすいことが知られており，毒性の少なさは重要なポイントとなる．

今回評価を行った PEG-DET/DNA ナノミセル型キャリアは，ほとんど細胞への毒性を示すことなく，良好な遺伝子導入を実現しており，臨床応用を視野に入れたキャリアとして非常に有望なシステムといえる．また，長期間にわたる核内転写の持続という特徴も併せ持つことが明らかとなった．これは例えば細胞分化誘導を行う目的に治療用遺伝子を機能させる際には，非常に重要なポイントとなりうることである．さらにポリマーの構造，鎖長と最適化することにより，生体組織内での遺

伝子発現を時間的，空間的にコントロールすることの出来るインテリジェント化遺伝子デリバリーシステムへの展開が期待される.

E. 結論

新規合成，最適化したブロック共重合体を用いたナノミセル型遺伝子キャリアにより，皮膚線維芽細胞を含めた初代培養株細胞への低毒性かつ効率よい遺伝子導入が確認された.

F. 健康危険情報

本研究では健康に危険を及ぼす可能性は皆無である。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) N. Nishiyama, Arnida, W. -D. Jang, K. Date, K. Miyata, K. Kataoka, Photochemical enhancement of transgene expression by polymeric micelles incorporating plasmid DNA and dendrimer-based photosensitizer. J. Drug Target. in press

2) N. Kanayama, S. Fukushima, N. Nishiyama, K. Itaka, W. -D. Jang, K. Miyata, Y. Yamasaki, U. Chung, K. Kataoka, PEG-based biocompatible block catiomer with high-buffering capacity for the construction of polyplex micelles showing efficient gene transfer toward primary cells. ChemMedChem in press

3) R. Ideta, F. Tasaka, W. -D. Jang, N. Nishiyama, G. -D. Zhang, A. Harada, Y. Yanagi, Y. Tamaki, T. Aida, K. Kataoka, Nanotechnology-based photodynamic therapy for neovascular disease using a supramolecular nanocarrier loaded with a dendritic photosensitizer. Nano Lett. 5 (12) 2426-2431 (2005)

4) K. Miyata, Y. Kakizawa, N. Nishiyama, Y. Yamasaki, T. Watanabe, M. Kohara, K. Kataoka, Freeze-dried formulations for in vivo gene delivery of PEGylated polyplex micelles with disulfide crosslinked cores to the liver. J. Control. Release 109 (1-3) 15-23 (2005)

5) N. Nishiyama, A. Iriyama, W. -D. Jang, K. Miyata, K. Itaka, Y. Inoue, H. Takahashi, Y. Yanagi, Y. Tamaki, H. Koyama, K. Kataoka, Light-induced gene transfer from packaged DNA enveloped in a dendrimeric photosensitizer. Nat. Mater. 4 (12) 934-941 (2005)

6) X. Yuan, Y. Yamasaki, A. Harada, K. Kataoka, Characterization of stable lysozyme-entrapped polyion complex (PIC) micelles with crosslinked core by glutaraldehyde. Polymer 46 (18) 7749-7758 (2005)

7) Y. Bae, W. -D. Jang, N. Nishiyama, S. Fukushima, K. Kataoka, Multifunctional polymeric micelles with folate-mediated cancer cell targeting and pH-triggered drug releasing properties for active intracellular drug delivery. Molecular BioSystems 1 (3) 242-250 (2005)

8) K. Osada, Y. Yamasaki, S. Katayose, K.

Kataoka, A synthetic block copolymer regulates S1 nuclease fragmentation of supercoiled plasmid DNA. Angew. Chem. Int. Ed. Engl 44 (23) 3544-3548 (2005)

9) S. Fukushima, K. Miyata, N. Nishiyama, N. Kanayama, Y. Yamasaki, K. Kataoka, PEGylated polyplex micelles from triblock catiomers with spatially ordered layering of condensed pDNA and buffering units for enhanced intracellular gene delivery. J. Am. Chem. Soc. 127 (9) 2810-2811 (2005)

10) X. Yuan, A. Harada, Y. Yamasaki, K. Kataoka, Stabilization of lysozyme-incorporated polyion complex micelles by the ω-end derivatization of poly(ethylene glycol)-poly(α, β-aspartic acid) block copolymers with hydrophobic groups. Langmuir 21 (7) 2668-2674 (2005)

11) S. Takae, Y. Akiyama, H. Otsuka, T. Nakamura, Y. Nagasaki, K. Kataoka, Ligand density effect on biorecognition by PEGylated gold nanoparticles: regulated interaction of RCA120 lectin with lactose installed to the distal end of tethered PEG strands on gold surface. Biomacromolecules 6 (2) 818-824 (2005)

12) Y. Bae, N. Nishiyama, S. Fukushima, H. Koyama, Y. Matsumura, K. Kataoka, Preparation and biological characterization of polymeric micelle drug carriers with intracellular pH-triggered drug release property: Tumor permeability, controlled subcellular drug distribution, and enhanced in vivo antitumor efficacy. Bioconjug. Chem. 16 (1) 122-130 (2005)

13) W. -D. Jang, N. Nishiyama, G. -D. Zhang, A. Harada, D. -L. Jiang, S. Kawauchi, Y. Morimoto, M. Kikuchi, H. Koyama, T. Aida, K. Kataoka, Supramolecular nanocarrier of anionic dendrimer porphyrins with cationic block copolymers modified with poly(ethylene glycol) to enhance intracellular photodynamic efficacy. Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 44 (3) 419-423 (2005)

14) H. Cabral, N. Nishiyama, S. Okazaki, H. Koyama, K. Kataoka, Preparation and biological properties of dichloro(1,2-diaminocyclohexane)platinum(II) (DACHPt)-loaded polymeric micelles. J. Control. Release 101 (1-3) 223-232 (2005)

2. 学会発表

1) Kazunori Kataoka, Smart Polymeric Micelles as Nanocarriers for Gene and Drug Delivery ,Society for Biomaterials, 30th Annual Meeting & Exposition, Memphis Cook Convention Center, Memphis, TN, USA, 2005.4.30(招待講演)

2) Kazunori Kataoka, Polymeric Micelles as Nanocarriers for Gene and Drug Delivery, 5th Retrometabolism Based Drug Design and Targeting Conference, Hakone Hotel Kowaki-en, Janapn, 2005.5.9(招待講演)

3) 片岡一則, 高分子ナノミセルデバイスによる薬物・遺伝子のピンポイントデリバリー, インターフェックスジャパン 2005, 東京ビッグサ

イト,東京, 2005.5.18(招待講演)

4) 片岡一則, 高分子ナノミセルによる薬物・遺伝子 DNA デリバリー, 第54回高分子学会年次大会, パシフィコ横浜, 神奈川, 2005.5.25(招待講演)

5) 片岡一則, 高分子ミセル型ナノキャリアによる薬物・遺伝子のピンポイントデリバリー, 東京肝臓シンポジウム, 東京プリンスホテル, 東京, 2005.6.4(招待講演)

6) Kazunori Kataoka, Smart Polymeric Micelles as Nanocarriers for Gene and Drug Delivery, ESF Research Conference 'Biological Surfaces & Interfaces, Hotel Eden Roc, Sant Feliu de Guixols, Spain, 2005.6.18(招待講演)

7) 片岡一則, 高分子ミセル型ナノキャリアによる薬物・遺伝子のピンポイントデリバリー, 第9回がん分子標的治療研究所会総会「新しいドラッグデリバリーシステムの開発」, 京都国立会館, 京都, 2005.6.30(招待講演)

8) 片岡一則, 遺伝子・核酸医薬デリバリーのための高分子ミセル型ナノキャリア設計, 「がん研究における RNAi の可能性」, 中央大学駿河台記念館, 東京, 2005.7.6(基調講演)

9) 片岡一則, ナノテクノロジーが拓く未来型DDSーピンポイント診断・治療のためのナノデバイス設計ー, 第21回日本DDS学会ワークショップ「ナノテクノロジーの応用」, ハウステンボス全日空 JR ホテル, 長崎, 2005.7.23

10) Kazunori Kataoka, Smart Polymeric Micelles as Nanocarriers for Gene and Drug Delivery, The 8th SPSJ International Polymer Conference (IPC2005), Fukuoka International Congress Center, Fukuoka, 2005.7.29(招待講演)

11) 片岡一則, ナノバイオテクノロジーが拓く未来型DDSーピンポイント診断・治療のための高分子ミセル型ナノデバイス設計ー, 第3回 Translational Medicine Seminar, 経団連ベストハウス, 静岡, 2005.7.30(特別講演)

12) 片岡一則, ナノバイオテクノロジーが拓くフロンティアメディシンーピンポイント診断・治療のための高分子ナノデバイス設計ー, 第43回茅コンファレンス, 八ヶ岳ロイヤルホテル, 山梨, 2005.8.23(招待講演)

13) Kazunori Kataoka, Smart polymeric micelles as nanocarriers for gene and drug delivery, 11th Asian Chemical Congress/13th General Assembly, Seoul, 2005.8.24(招待講演)

14) 片岡一則, 高分子ナノミセルによる薬物・遺伝子のピンポイント・デリバリー, 創薬薬理フォーラム第13回シンポジウム, 日本薬学会長井記念館, 東京, 2005.9.9(招待講演)

15) 片岡一則, ナノテクノロジーが拓く未来医療ー高分子ナノミセルによる薬物・遺伝子のピンポイントデリバリーー, 日本油化学会年会, 慶應大学矢吹キャンパス, 横浜, 2005.9.15(特別講演)

16) 片岡一則, バイオマテリアルが先導するナノ医療:ピンポイント診断・治療のためのナノキャリア設計, 第49回日本学術会議材料研究連合会議, 京大会館, 京都, 2005.9.16(基調講演)

17) Kazunori Kataoka, Smart Polymeric Micelles As Nanocarriers For Gene, Oligonucleotides, and siRNA delivery, 4th International Symposium on Nucleic Acids Chemistry, Kyushu University, Fukuoka, 2005.9.20(招待講演)

18) 片岡一則，ナノテクノロジーが拓く未来医療ーピンポイントデリバリーのためのナノデバイス設計ー，第53回日本産科婦人科学会北日本連合地方部会，福井自治会館，福井，2005.9.30(特別講演)

19) Kazunori Kataoka, Block copolymer micelles as nanocarriers for gene and drug delivery -Challenge to intracellular nanomedicine-, 2005 Robinson Symposium, School of Pharmacy, University of Wisconsin, USA, 2005.10.14(招待講演)

20) Kazunori Kataoka, Nanomaterial and Its Medical Use: Smart Polymeric Micelles as Nanocarriers for Gene and Drug Delivery, 36th ICFA Advanced Beam Dynamics Workshop(Nanobeam 2005), Kyoto University-Uji Campus, Kyoto, 2005.10.19(招待講演)

21) 片岡一則，ナノテクノロジーが拓く未来医療ーピンポイント診断・治療のためのナノデバイス設計ー，北海道科学技術ネットワークセッション，京王プラザホテル札幌，札幌,2005.10.25(基調講演)

22) 片岡一則，薬物・遺伝子ナノキャリアとしてのブロック共重合体ミセルー高分子が先導するナノ医療システム実現に向けてー，平成17年度日本化学会高分子化学コロキウム，秋田大学工学資源学部，秋田，2005.10.28(招待講演)

23) 片岡一則，ナノテクノロジーが拓く未来型DDSーピンポイント診断・治療のためのナノデバイス設計ー，第20回日本DDS学会創立20周年記念シンポジウム，お茶の水ガーデンパレス，東京，2005.11.8(招待講演)

24) 片岡一則，ナノテクノロジーが拓くフロンティアメディシン：ピンポイント診断・治療のためのナノキャリア設計，第14回日本コンピューター外科学会大会，海外職業訓練協会研修施設，千葉，2005.11.20(招待講演)

25) 片岡一則，ナノテクノロジーが拓く未来医療ーピンポイント診断・治療のためのナノデバイス設計ー，(財)ヒューマンサイエンス振興財団第130回研究委員会セミナー，(財)ヒューマンサイエンス振興財団，東京，2005.12.6(招待講演)

26) 片岡一則，ナノバイオテクノロジーが拓くフロンテイアメデイシンーピンポイント診断・治療のためのナノデバイス設計ー，理研シンポジウム(第6回コンビナトリアル・バイオエンジニアリング/ナノバイオテクノロジージョイントシンポジウム，理化学研究所，和光市，2006.1.12(招待講演)

27) 片岡一則，ナノバイオテクノロジーが拓く未来医療ーピンポイント診断・治療のためのナノ デバイス設計ー，第1回ナノメデイスン討論会，岡崎コンファレンスセンター，岡崎，2006.2.12(招待講演)

28) ー薬物・遺伝子のピンポイントデリバリーのためのナノデバイス設計ー，DDS熊本シンポジウム，熊本大学薬学部，熊本，

2006.3.13(招待講演)

H. 知的所有権の出願・取得状況

1) 片岡一則、位高啓史、西山伸宏、福島重人、張祐銅、宮田完二郎、中西政崇、金山直樹、ポリカチオン荷電性ポリマー及び核酸のキャリヤーとしての使用、特願 2005-035233

2) 片岡一則、大庭誠、西山伸宏、位高啓史、福島重人、金山直樹、ペプチドリガンドを有するブロック共重合体、特願 2005-054260

3) 片岡一則、裵 潤秀、西山伸宏、福島重人、張 祐銅、pH応答性高分子ミセルの調製に用いる新規ブロック共重合体及びその製造法の提供、特願 2005-125336

厚生科学研究費補助金（ヒトゲノム再生医療等研究事業）

分担研究報告書

皮膚細胞を細胞源とする新規骨・軟骨産生法の開発と臨床応用：骨軟骨細胞増殖・分化に関わる担体の開発

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　我々は温度応答性培養皿を用いて温度を下げるという非侵襲的な操作のみで回収した細胞シートを移植に供することで、皮膚表皮や角膜上皮再生の臨床応用に成功してきた。本研究では、生分解性高分子製担体の作製と評価をおこなうと共に、これまでの成果を発展させ、温度応答性培養皿を用いて作製した間葉系細胞シートによる、細胞自身が合成・分泌した細胞外マトリックスを担体として用いる新規技術の開発をあわせておこなった。

A.研究目的

我々は、温度に応じて水との親和性を大きく変化させる温度応答性高分子を培養皿表面に共有結合的に固定化することにより温度応答性培養皿を開発した。この表面は、37℃では市販の培養皿と同程度の弱い疎水性を示し様々な細胞が接着・伸展するが、温度を32℃以下に下げると高度の親水性を示し、トリプシンなどのタンパク質分解酵素を必要とすることなく細胞を脱着させることができる。コンフルエントな細胞層を形成させた後に低温処理すると、全細胞を細胞−細胞間接着により連結した一枚の細胞シートとして脱着・回収をすることができる。

骨組織は解剖学的に内外骨膜と呼ばれる結合組織に囲まれている。骨の成長は、骨膜で生じるため、骨膜には骨よりも細胞成分に富んでいる。また、血管と共にコラーゲン線維からなる粗性結合組織を豊富に含んでいる。これまでの研究から、骨膜由来細胞が骨・軟骨形成に必須である細胞増殖・分化に大きく関与していることが示唆されている。

骨再生に関する研究では、骨髄細胞を採取し、培養系で増殖させ骨芽細胞に分化させた後、生分解性の足場に播種して三次元培養し、移植する方法が一般的である。

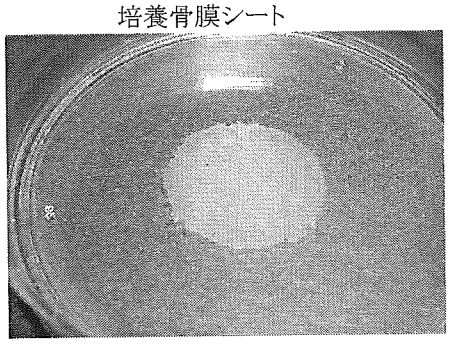
本研究では、生分解性高分子製細胞担体を作製し、小動物（ラット）への移植実験により評価すると共に、温度応答性培養皿を用いて作製した骨膜細胞シート中の細胞外マトリックスを新規細胞担体として用いる可能性について体系的な検討をおこ

なっている。

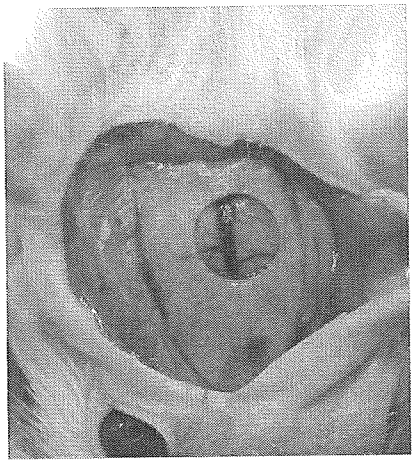
B. 研究方法

1、培養骨膜シートの作製：8週、雄、ルイスラット頭頂骨から採取した骨膜組織を酵素処理後（トリプシン、コラゲナーゼ）初代培養を行った。継代時に骨膜細胞を温度応答性培養皿に播種し、コンフルエント後に低温処理のみで培養骨膜シートを回収した。

培養骨膜シート



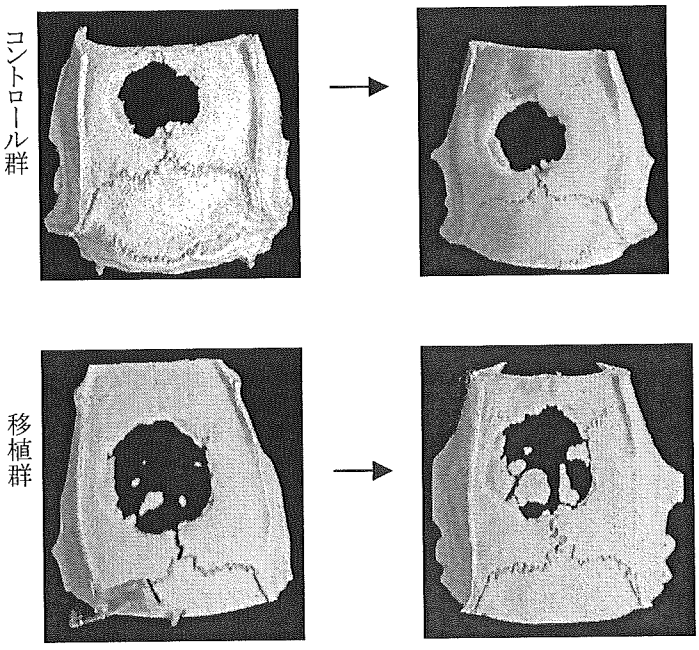
2、骨欠損モデルの作製および培養骨膜の移植：ルイスラットの頭頂骨に歯科用トレフィンバーを用いて、直径6mmのholeを形成し骨欠損モデルとした。この骨欠損モデルに培養骨膜シートを移植し、骨形成の過程を移植しない群と比較した。



コントロール群

培養骨膜シート移植群

3、骨再生過程の評価：3D-μCT (Skyscan 1076; Skyscan, Aartselaar, Beligium)により骨の評価を行った。この μ-CTの特徴は動物を麻酔下で生きたまま撮影でき、継時的な再生、治癒過程を観察できる点である。



C. 研究結果と考察

コントロール群では欠損周囲の母骨から骨の再生が起こるのに対し、培養骨膜シートを移植した群は、欠損中心部より異所性に骨の再生が起こり、それが継時的に増大する様子を確認できた。

培養骨膜シート中には骨芽細胞活性を示す、ALP陽性細胞を多数確認でき、これらの細胞が異所性に硬組織を誘導するものと思われた。

E. 結論

骨膜由来細胞シートの新規担体としての有効性を期待しうる結果を得ることができた。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

論文発表

1. M. Hasegawa, M. Yamato, A. Kikuchi, T. Okano and I. Ishikawa, "Human periodontal ligament cell sheets can regenerate periodontal ligament tissue in an athymic rat model", *Tissue Engineering*, 11(3-4), 469-478 (2005).
2. R. Takazawa, M. Yamato, Y. Kageyama, T. Okano and K. Kihara, "Mesothelial cell sheets cultured on fibrin gel prevent adhesion formation in an intestinal hernia model", *Tissue Engineering*, 11(3-4), 618-625 (2005).
3. Y. Hayashida, K. Nishida, M. Yamato, K. Watanabe, N. Maeda, H. Watanabe, A. Kikuchi, T. Okano and Y. Tano, "Ocular surface reconstruction using autologous rabbit oral mucosal epithelial sheets fabricated ex vivo on a temperature-responsive culture surface", *IOVS*, 46(5), 1632-1639 (2005).
4. T. Akizuki, S. Oda, M. Komaki, H. Tsuchioka, N. Kawakatsu, A. Kikuchi, M. Yamato, T. Okano and I. Ishikawa, "Application of periodontal ligament cell sheet for periodontal regeneration: a pilot study in beagle dogs", *J. Periodont. Res.*, 40(3), 245-251 (2005).
5. A. Kushida, M. Yamato, Y. Isoi, A. Kikuchi and ,T. Okano, "A noninvasive transfer system for polarized renal tubule epithelial cell sheets using temperature-responsive culture dishes", *European Cells and Materials*, 10, 23-30, (2005).
6. T. Umemoto, M. Yamato, K. Nishida, J. Yang, Y. Tano and T. Okano, "p57Kip2 is expressed in quiescent mouse bone marrow side population cells", *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 337(1), 14-21 (2005).
7. Y. Itabashi, S. Miyoshi, S. Yuasa, J. Fujita, T. Shimizu, T. Okano, K. Fukuda and S. Ogawa, "Analysis of the electrophysiological properties and arrhythmias in directly contacted skeletal and cardiac muscle cell sheets", *Cardiovasc. Res.*, 67(3), 561-570 (2005).
8. I.A. Memon, Y. Sawa , N. Fukushima , G. Matsumiya , S. Miyagawa , S, Taketani ,

S. Sakakida , H. Kondoh , AN. Aleshin, T. Shimizu , T. Okano and H. Matsuda, "Repair of impaired myocardium by means of implantation of engineered autologous myoblast sheets", *J Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 130(5), 1333-1341(2005).

9. T. Asano, R. Takazawa, M. Yamato, Y. Kageyama, K. Kihara and T. Okano, "Novel and simple method for isolating autologous mesothelial cells from the tunica vaginalis", *BJU Int.*, **96**, 1409-1413(2005).
10. T. Umemoto, M.Yamato, K. Nishida, C, Kohno, J, Yang, Y, Tano, T.Okano, "Rat limbal epithelial side population cells exhibit a distinct expression of stem cell markers that are lacking in side population cells from the central cornea", *FEBS Lett.*, **579**(29), 6569-6574(2005).
11. S. Miyagawa, Y. Sawa, S. Sakakida, S. Taketani, H. Kondoh, IA.Memon, Y. Imanishi, T. Shimizu, T. Okano, and H. Matsuda, "Tissue Cardiomyoplasty Using Bioengineered Contractile Cardiomyocyte Sheets to Repair Damaged Myocardium: Their Integration with Recipient Myocardium", *Transplantation*, 80(11), 1586-1595(2005).
12. J. Yang, M. Yamato and T. Okano, "Cell sheet engineering – Movin' on up!", *re. news*, **2005**(1), 2-3 (2005).
13. J. Yang, M. Yamato and T. Okano, "Cell-sheet engineering using intelligent surfaces", *MRS Bulletin*, **30**(3), 189-193 (2005).
14. 小林　純, 岡野光夫, "細胞シート工学と再生医療への応用", *高分子*, **54**(6), 394-397 (2005).
15. 大和雅之, 梅本晃正, 西田幸二, 田野保雄, 岡野光夫, "角膜上皮幹細胞", *分子細胞治療*, 4(4), 54-58 (2005).
16. 清水達也, 岡野光夫, "心筋の再生一心筋再生の現状と今後の展望", *再生医療*, **4**(3), 383-390(2005).
17. 大和雅之, 岡野光夫, "再生医療の現状と将来", *バイオサイエンスとインダストリー*, **63**(8), 531-536 (2005).
18. J. Yang, M. Yamato, C. Kohno, A. Nishimoto, H. Sekine, F. Fukai, T. Okano, "Cell sheet engineering: recreating tissues without biodegradable scaffolds", *Biomaterials*, **26**(33), 6415-6422 (2005).
19. 大和雅之, 岡野光夫, "細胞シート工学による組織再生へのチャレンジ", *日本歯科医師会雑誌*, **58**(5), 19-27 (2005).
20. 大和雅之, 岡野光夫, "組織再生, 細胞シートとDDS, *PHARM TECH JAPAN*, **21**(12), 110-112(2005).
21. 増田信奈子, 岡野光夫, "細胞から臓器を蘇らせる技術 -細胞シート工学による臓器再生", *Biophilia*, 1(3), 15-21 (2005).
22. 関谷佐智子, 清水達也, 岡野光夫, "細胞シート工学と再生医療", *Angiology Frontier*, 4(3) 237-242 (2005).
23. 大和雅之, 津田行子, 岡野光夫, "第1章発

生・再生の基本", *再生医療の基本*, 56-63(2005).

学会発表

1. Symposium on Efficient Drug Development and Regenerative Medicine -効率的な医薬開発と再生医療を目指して- Tokyo 2005.04.05
   - T. Okano, "日本における再生医療の最先端 -細胞シート工学-"
2. 第93回日本泌尿器科学会総会 東京 2005.04.13-16
   - 黒川真輔、森田辰男、西本綾子、白柳慶之、大和雅之、岡野光夫、小林英司、"細胞シートを用いた膀胱組織の再生"、日本泌尿器科学会雑誌 96(2), 210, 2005
3. 第44回日本生体医工学会大会(日本エム・イー学会) つくば 2005.04.25-27
   1) 清水達也、大和雅之、菊池明彦、岡野光夫、"ティッシュエンジニアリングによる心筋組織再生"、 生体医工学, 43(suppl.1), 69, 2005
   2) 大和雅之、" 神経系再生の現状と課題 43(Suppl. 1), 216, 2005
4. Society for Biomaterials 30th Annual Meeting & Exposition, New Applications and Technologies Memphis, USA 2005.04.27-30
   - Y. Tsuda, A. Kikuchi, M. Yamato, T. Okano, "Analyses of heterotypic cell interactions on patterned Co-cultured cell sheets mimicking living tissue", Program, 664, 2005
5. Digestive Disease Week 2005 Chicago 2005.05.14-19
   1) T. Ohki, M. Yamato, T. Okano, K. Takasaki, "Treatment of esophageal ulcerations after endoscopic submucosal dissection using cultured cell sheets composed of autologous oral mucosa epithelium", Program, CD-ROM "1104"
   2) T. Ohki, M. Yamato, T. Okano, K. Takasaki, "Treatment of Esophageal Ulcerations after Endoscopic Submucosal Dissection", Program, CD-ROM "W1369"
6. 第54回高分子学会年次大会 横浜 2005.05.25-27
   1) 畠山英之、菊池明彦、大和雅之、岡野光夫、"新規温度応答性ナノバイオインターフェースの調製と細胞接着・増殖の促進"、Polymer Preprints Japan, 45(1), 2236, 2005
   2) 津田行子、 菊池明彦、小林純、大和雅之、陳国平、岡野光夫、"親水性/疎水性マイクロパターン化表面の調製と血管内皮細胞の接着挙動"
7. 第69回日本消化器内視鏡学会総会 東京 2005.05.26-28
   - 大木岳志、大和雅之、岡野光夫、高崎健、"細胞シート工学による消化器内視鏡治療への可能性"、日本消化器内視鏡雑

誌, 47(Suppl. 1), 603, 2005

8. Regenerate 2005 Atlanta, USA 2005.06.01-03
   1) M. Yamato, "Cell sheet engineering: out of the dish and into the patient"
   2) H. Sekine, "Morphological communication between heart and bio-engineered myocardial tissue with mesenchymal transition of mesothelial cells
9. 第22回日本呼吸器外科学会総会 京都 2005.06.02-04
   - 神崎正人、大和雅之、関根秀一、河野千夏、井坂珠子、松本卓子、"細胞シート気漏閉鎖法後の胸膜再生;癒着防止？", 日本呼吸器外科学会雑誌, 16(3), 227, 2005
10. 第2回泌尿器科再建再生研究会 東京 2005.06.18
   - 黒川真輔、森田辰男、白柳慶之、大和雅之、岡野光夫、小林英司、"細胞シート工学を用いた新たな膀胱再建術の開発", 第2回泌尿器科再建再生研究会プログラム・抄録集, 14, 2005
11. 32nd Annual Meeting of the Controlled Release Society Miami, USA 2005.06.18-22
   - A. Kikuchi, M. Hayashi, K. Makino, H. Ohshima, M. Yamato, T. Okano, "Effective and stable production of tumor-carrying animal models using cell sheet engineering", Transactions, #479, 2005
12. International Symposium on Soft-Nanotechnology 2005 (ISSN2005) Sapporo 2005.06.20-21
   - M. Yamato, "Hepatic cell sheet engineering utilizing temperature-responsive polymer-grafted dishes with nanometer-thickness", Abstracts, 19, 2005
13. International Conference on Materials for Advanced Technologies 2005 (ICMAT 2005), 9th International Conference on Advanced Materials (IUMRS-ICAM) Singapore 2005.06.20-21
   - T. Okano, "Cell sheet technology - a new revolutionary tool for tissue engineering"
14. 第30回日本外科系連合学会学術集会 東京 2005.06.24-25
   - 大木岳志、大和雅之、岡野光夫、高崎健、"細胞シート工学を用いた内視鏡的粘膜下層剥離術後人工食道潰瘍新治療法の可能性"、予稿集, 348, 2005
15. 第30回日本外科系連合学術集会 東京 2005.06.24-25
   - 大木岳志、大和雅之、岡野光夫、高崎健、"細胞シート工学を用いた内視鏡的粘膜下層剥離術後人工食道潰瘍の新治療法の可能性", 日本外科系連合学会誌, 30(3), 348, 2005
16. 第4回岡山循環器勉強会 岡山 2005.06.27
   ・清水達也、"細胞シートを用いた再生医療"
17. 7th Annual Meeting of KTERMS in Conjunction with the Foundation of

TERMIS-AP Chapter Symposium Seoul, Korea 2005.06.30-07-01

- T. Okano, "Cell sheet engineering"

18. 3rd International Conference on Materials for Advanced Technologies (ICMAT 2005) & 9th International Conference on Advanced Materials (ICAM 2005) Singapore 2005.07.03-08
    - T. Okano, "Intelligent surfaces for cell sheet engineering", Abstracts, 1, 2005
19. The 6th International Conference on Intelligent Materials and Systems, Nanotechnology Frontier Tokyo 2005.07.04-06
    1) Y. Tsuda, A. Kikuchi, M. Yamato, T. Okano, "Controlling hepatocyte cell function in co-culture system using micropatterned thermoresponsive substrate", Proceedings, 39, 2005
    2) S. Masuda, T. Shimizu, H. Kobayashi, M. Yamato, A. Kikuchi, H. Kasanuki, T. Okano, "Growth hormone promotes hypertrophy of the bioengineered myocardial tissue grafts", Proceedings, 41, 2005
    3) S. Sekiya, T. Shimizu, Y. Isoi, H. Sekine, M. Yamato, A. Kikuchi, T. Okano, "Neovascularization of myocardial tissue grafts fabricated with cell sheet engineering", Proceedings, 43, 2005
    4) Y. Haraguchi, T. Shimizu, M. Yamato, A. Kikuchi, T. Okano, "The electrophysiological analyses of layered cardiomyocyte sheets", Proceedings, 47, 2005
20. Symposium on "New Trends in Biomaterials-Tissue Engineering" Singapore 2005.07.09
    - T. Okano, "Cell sheet tissue engineering"
21. 第26回日本炎症・再生医学会 東京 2005.07.12-13
    1) 黒川真輔、森田辰男、白柳慶之、大和雅之、岡野光夫、小林英司、"細胞シート工学を用いた新たな尿路再建法の開発", 炎症・再生, 25(4), 347, 2005
    2) 清水達也、"Tissue engineeringにおける血管新生", 炎症・再生, 25(4), 278, 2005
    3) 西田幸二、大和雅之、岡野光夫、田野保雄、"角膜再生医療の臨床応用最前線", 炎症・再生, 25(4), 284, 2005
    4) 西田幸二、大和雅之、岡野光夫、田野保雄、"細胞シート工学による再生医療の実現", 炎症・再生, 25(4), 296, 2005
    5) 梅本晃正、大和雅之、西田幸二、田野保雄、岡野光夫、"角膜輪部上皮SP細胞の幹細胞様の性質と増殖能", 炎症・再生, 25(4), 307, 2005
    6) 畠山英之、菊池明彦、大和雅之、岡野光夫、"接着ペプチド・成長因子共固定化温度応答性ナノバイオ表面による培養単層組織の効率的作製"、炎症・再生, 25(4), 317, 2005
    7) 関谷佐智子、清水達也、礒井由起、関根

秀一、大和雅之、菊池明彦、岡野光夫、"細胞シート工学による移植心筋組織での血管再構築制御とメカニズムの解析", 炎症・再生, 25(4), 336, 2005

8) 大木岳志、大和雅之、村上大輔、高木亮、岡野光夫、高崎健、"細胞シート工学を用いた消化器内視鏡新治療法の可能性", 炎症・再生, 25(4), 342, 2005

9) 村上大輔、大和雅之、大木岳志、西田幸二、田野保雄、並木秀男、岡野光夫、"細胞シート工学を用いた食道人工潰瘍治療のための培養口腔粘膜上皮細胞シートの作製", 炎症・再生, 25(4), 342, 2005

10) 林田康隆、西田幸二、大和雅之、杉山洋章、菊池明彦、岡野光夫、田野保雄、"エキシマレーザー角膜切除術への培養細胞シート移植術の応用", 炎症・再生, 25(4), 343, 2005

11) 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、"培養角膜内皮細胞の基質による性質の変化", 炎症・再生, 25(4), 343, 2005

12) 高木亮、大和雅之、西田幸二、串田愛、田野保雄、岡野光夫、"コロニー形成を指標とする細胞外マトリックス因子の角膜上皮前駆細胞への影響の検討", 炎症・再生, 25(4), 345, 2005

13) 関根秀一、清水達也、小坂誠一、大和雅之、菊池明彦、小林英司、岡野光夫、"心筋細胞シート移植におけるホストーグラフト結合メカニズムの解析", 炎症・再生, 25(4), 346, 2005

14) 増田信奈子、清水達也、小林弘、大和雅之、菊池明彦、笠貫宏、岡野光夫、"シート重層化心筋グラフトの成長ホルモンによる肥厚化", 炎症・再生, 25(4), 347, 2005

15) 黒川真輔、森田辰男、白柳慶之、大和雅之、岡野光夫、小林英司、"細胞シート工学を用いた新たな尿路再建法の開発", 炎症・再生, 25(4), 347, 2005

16) 長谷川昌輝、秋月達也、マラ・ゴメス・フロレス、大和雅之、小田茂、菊池明彦、岡野光夫、石川烈、"歯根膜由来細胞シートを用いた歯周組織の再生", 炎症・再生, 25(4), 368, 2005

17) 田幡雅彦、桜井裕之、大木岳志、大和雅之、岡野光夫、野崎幹弘、"腸管をキャリアーとしたPrefabricated Flapの基礎的研究", 炎症・再生, 25(4), 368, 2005

18) 神崎正人、大和雅之、関根秀一、河野千夏、清水達也、菊池明彦、岡野光夫、大貫恭正、"呼吸器外科手術への細胞シートの導入とその有用性", 炎症・再生, 25(4), 377, 2005

19) 久保寛嗣、清水達也、堀川泰弘、大和雅之、菊池明彦、岡野光夫、"細胞シート工学を利用した管状心筋組織再生", 炎症・再生, 25(4), 378, 2005

20) 岡野光夫、"細胞シートからの組織・臓器再生", 炎症・再生, 25(4), 262, 2005

21) 大和雅之、"再生医療における炎症研究", 炎症・再生, 25(4), 282, 2005

22. 第60回日本消化器外科学会定期学術総会 東京 2005.07.20-22

- 大木岳志、大和雅之、岡野光夫、高崎健、"細胞シート工学を用いたESD後食道人工潰瘍の新治療", 日消外科誌, 38(7), 313, 2005

23. 第21回日本DDS学会 長崎 2005.07.22

- 岡野光夫、"細胞シート工学による組織・臓器の再生治療", Drug Delivery System, 20(3), 234, 2005

24. The 8th SPSJ International Polymer Conference (IPC 2005) Fukuoka 2005.07.26-29

1) H. Hatakeyama, A. Kikuchi, M. Yamato, T. Okano, "Novel biofunctionalized thermoresponsive interfaces for facilitating both cell adhesion and proliferation", Abstracts, 474, 2005
2) T. Okano, "Temperature responsive surfaces for regeneration of tissue and organs", Abstracts, 93, 2005

25. 17Th International Confernce on Oral & Maxillofacial Surgery (ICOMS) Vienna-Austria 2005.08.29-09.02

- H. Uchiyama, M. Yamato, A. Kikuchi, T. Okano, H. Ogiuchi, "Bone regeneration using periosteum cell sheets fabricated on temperatue-responsive culture dishes with in-vivo analysis using 3D-μCT", Program, 103, 2005

26. 第8回日本組織工学会 東京 2005.09.01-02

1) 寺田伸一、ジョセフ・バカンティ、岡野光夫、菊池雄二、仲沢弘明、野崎幹弘、"家兎軟骨細胞を用いた再生軟骨誘導と自家移植の実験的検討", 抄録集, 105, 2005
2) 原口裕次、清水達也、大和雅之、菊池明彦、岡野光夫、"積層化心筋細胞シートの電気生理学的解析", 抄録集, 111, 2005
3) 堀川泰弘、清水達也、久保寛嗣、大和雅之、菊池明彦、藤本哲男、岡野光夫、"細胞シートを用いた管状心筋組織の作製", 抄録集, 111, 2005
4) 黒川真輔、森田辰男、白柳慶之、大和雅之、岡野光夫、小林英司、"培養口腔粘膜上皮細胞シートを用いた新たな膀胱再健術の開発", 抄録集, 113, 2005
5) 畠山英之、菊池明彦、大和雅之、岡野光夫、"リガンド固定化温度応答性ナノバイオ表面を用いた細胞シートの効率的作製", 抄録集, 119, 2005
6) 大木岳志、大和雅之、村上大輔、高木亮、ジョセフ・ヤン、河野千夏、岡野光夫、高崎健、"培養自己口腔粘膜上皮細胞シートによる人工食道潰瘍治療は臨床応用可能である", 抄録集, 128, 2005
7) 田幡雅彦、桜井裕之、大木岳志、大和雅之、岡野光夫、野崎幹弘、"Prefabricated Flapの基礎的研究", 抄録集, 128, 2005
8) 増田信奈子、清水達也、小林弘、大和雅之、菊池明彦、笠貫宏、岡野光夫、"成長ホルモンによるシート重層化心筋グラフト