

pores in the epidermal basement membrane. We are investigating the porous nature of normal epidermal basement membranes in order to understand the arrangement of the basement membrane structure and how signals are transmitted to the overlying keratinocytes. We ultimately aim to artificially reproduce these structures on our created on our HCM to mimic the cell niche in vitro and in vivo grafts.

C. Results

We have identified that the smallest pore 3 μm porous HCM exhibits several as yet unexplained properties. Small pore 3 μm HCM shows several positive characteristics as a cell culture substrate that make it beneficial for growing sheets of skin cells and as graft support particularly for fibroblasts and keratinocytes. We have already obtained a significant volume of quantitative results that have occasionally been challenging to obtain. The forthcoming planned experiments will be easier to perform, and obtain and analyze the data. We expect the results to demonstrate the full repertoire of adhesion molecules expressed by cells and their spatial distribution with respect to the porous on the HCM. The in vivo grafted and transplanted models would be judged by the speed and efficiency by which complete wound closure would be achieved. Quantification of the results would require only simple statistical comparisons between the two treatment groups. Examination of the effects of cytokines and other different cell / porous HCM membrane combinations will also be determined in a similar manner. Identifying scientifically useful applications such as cell size filters to separate stem cells would require testing a cell population for colony forming efficiency by plating cell and staining colonies with crystal violet stain.

D. Discussion

The field of cell-biomaterial interactions is a rapidly developing research field. As a result it is not always possible to

- 1) The 3 μm pore size is most efficient at trapping the smallest population of keratinocyte cells that house the keratinocyte stem cell compartment due to the controlled pore size having a pore: average cell diameter of less than 1.

- 2) The 3 μ m pore size provides the largest surface area on which cells can adhere (by a factor of 6) compared to 5 μ m sized porous HCMs.
- 3) The 3 μ m pore size also contains the longest perimeter of pore edges allowing adherent cells to assemble cell plasma membrane focal contact processes (as seen by scanning electron microscopy). We hypothesize that these components are vital in allowing effective cell adhesion and provide signals that enable strong and vigorous cell growth on these particular substrates.

E. Conclusions

1) Evaluation of dermatological effectiveness of HCM technology is still in the relative early stages. Before grafts can be tested on human wounds extensive testing must first be performed using animal models such as nude mice with a modified immune system that allow the growth of foreign cells without rejection (see figure 3 a-e). Typical wounds where this approach might be use include patients' leg ulcers, chronic wounds or on patients with severe genetic blistering diseases such as Epidermolysis Bullosa (EB, see figure 3g). In certain human genetic conditions such as EB a single adhesive molecules might be missing from the patients' skin causing blister formation (see green line in figure 3f). Using cells grown on honeycomb membranes from normal (allogenic) donors might be one solution for treating EB patients' wounds. Further testing would allow us to manipulate graft and wound conditions to determine the optimum environment for wound healing to take place in vivo. We also aim to determine a coordinated strategy to develop a better combination of treatments to be used along side allogenic cells grown on honeycomb membranes. Many of these methods will be tested on appropriate mouse or rat models to test the effectiveness of these strategies on in vivo wound healing models (see figure 3).

2) Using the HCM system, both skin keratinocytes and fibroblasts attach, spread and grow on biocompatible porous substrates. We believe that the full range of uses for the honeycomb membranes still remains to be fully explored and creates a bright future for this technology.

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

除放剤の作成に関する研究

分担研究者 田畑泰彦

京都大学・再生医科学研究所・生体組織工学研究部門・生体材料学分野
教授

研究要旨

本研究の目的は、新規徐放剤、新規人工膜を用いた人工皮膚の作製である。これまでの人工皮膚は長期生着が困難であり、また ES 細胞などからの皮膚構成細胞分化誘導も実用レベルに達していない。本研究において新規な徐放剤を用い、至適因子を持続的に供給することで、より生体に近い機能を獲得させる。また、本研究で用いる新規人工膜は、ハニカム構造をもち、細胞への親和性もよく、また、膜内の小孔に徐放剤を蓄えることができる。この徐放剤と人工膜を用いることで、分化誘導因子の解明、ならびにより長期生着可能な人工膜の作製ができると考える。

平成 17 年度の研究において、新規徐放剤の作製、ならびに創傷治癒に対する最適化を検討し、研究成果に基づく人工皮膚を作製した。

A 目的

本研究の目的は、新しい発想に基づく皮膚再生の開発を行い、同時に創傷治療に応用することである。生体組織工学の分野において、いわゆる人工皮膚は同種表皮細胞を人工膜上に播種したものをを用いていたが、この人工皮膚は創傷部に移植しても長期の生着をすることはできず、比較的短期間しか生存できない。また幹細胞研究の分野において、皮膚構成細胞への分化を誘導する因子の解明は十分でなく、かつ分化しえた細胞が生物学的に機能しえるか検討もされていない。

本研究において、新規徐放剤を用い、至適因子を持続的に供給することで、より生体に近い機能を獲得させる。現在まで様々な創傷促進効果のあるサイトカイ、成長因子が明らかになっている。しかしながら、創傷治癒、すなわち皮膚再生過程において、時間的・空間的に必要とされる因子が異なり、それゆえに単一因子での創傷治癒効果には限界があった。本研究において、複数の因子をタイミングを変えて持続放出する徐放剤を作製した。これを膜内の小孔に徐放剤をはじめとする様々な極小物質を蓄えることができる新規人工膜と組み合わせることで人工膜を作製した。また用いる細胞においても、成熟表皮細胞のみならず、表皮幹細胞を用いる。再生医療を実現するために、ともに重要な領

域、すなわち幹細胞、前駆細胞を対象とした基礎生物医学の研究領域と、細胞に増殖、分化を促す場を与え、生体組織を誘導する医工学領域（生体組織工学と呼ばれる）とが融合することが必要不可欠である。これにより、革新的で、かつ速やかな臨床応用ができる実用性の高い結果が得られると考えられる。後者の生体組織工学では、生体材料を中心としたバイオメディカルエンジニアリングが重要な役割を果たしている。

B 研究方法

徐放剤の作製と成長因子の徐放評価

われわれは、これまでに、種々の成長因子の徐放化のため、生体吸収性のゼラチンからなるハイドロゲルを作製している。ハイドロゲルの作製条件を変えることで、サイズ、形状、分解性の異なるハイドロゲルの作製が可能となっている。ゼラチン水溶液に濃度の異なるグルタルアルデヒド水溶液を加え、40℃で12時間の条件で、ゼラチンを化学架橋した。その後、室温で、12時間、ハイドロゲルをグリシン水溶液中に浸漬することで未反応のアルデヒド基を化学的にブロックした。架橋ゼラチンハイドロゲルを蒸留水で洗浄後、凍結乾燥を行った。凍結乾燥ハイドロゲルへ徐放したい成長因子水溶液を滴下、4℃、12時間、放置することで、ハイドロゲルを成長因子水溶液で膨潤させ、成長因子含浸ゼラチンハイドロゲルを得た。グルタルアルデヒド濃度を変化させることによって、ハイドロゲルの架橋程度を変化させた。次に、同様の方法で、放射性ヨードラベルした成長因子をハイドロゲル内に含浸させた。これをマウスの背部皮下に埋入、継時的に皮下に残存する放射活性を測定することによって、成長因子の *in vivo* での徐放性を調べた。

C 研究成果

新規徐放剤の作製と成長因子の徐放

ゼラチンの架橋時におけるグルタルアルデヒドの濃度を増加させることで得られたハイドロゲルの架橋程度は増加した。また、架橋程度の増加にともなって、ハイドロゲルの生体内での分解が遅くなることがわかった。成長因子として、塩基性線維芽細胞増殖因子 (bFGF) とトランスホーシング増殖因子

(TGF) - β 1 を用いた。これらの成長因子のハイドロゲルからの *in vivo* における徐放試験を行ったところ、それぞれの成長因子がハイドロゲルから徐放されること、また、その徐放期間がハイドロゲルの分解期間によって、コントロールできることがわかった。

D 考察

ゼラチンハイドロゲルから生理活性をもつ bFGF と TGF- β 1 の徐放を実験的に確認していた。本年度の研究によって、それらの成長因子がハイドロゲルの

作製条件によって、異なる時間パターンで徐放化されることがわかった。また、人工膜との組み合わせを考えて、フィルム、粒子状などの異なる形状をもつハイドロゲルの作製条件も確立した。今後は、これらのハイドロゲルを利用して、人工膜との組み合わせ技術、方法論についての検討を行うとともに、成長因子の選択と創傷治癒促進について最適化を行っていく予定である。また、人工膜の孔径およびハイドロゲルからの成長因子の徐放が細胞増殖に与える影響についても検討を加えることによって、臨床応用を目指した人工膜の作製を行う。

E 結論

新規な多孔質薄膜を用いた細胞の増殖挙動について調べた。加えて、細胞の増殖を促す成長因子の徐放化ハイドロゲルシステムを調製した。今後は、これらの研究成果を組み合わせ、創傷治癒を促進させる人工膜の創製を目指す。

F 健康危険情報

特になし。

G 研究発表

1. Young S, Wong M, Tabata Y, Mikos AG. Gelatin as a delivery vehicle for the controlled release of bioactive molecules. J Control Release 2005, in press.
2. Hokugo A, Ozeki M, Kawakami O, Sugimoto K, Mushimoto K, Morita S, Tabata Y. Augmented bone regeneration activity of platelet-rich plasma by biodegradable gelatin hydrogel. Tissue Eng 11. 1224-33, 2005.
3. Holland TA, Bodde EW, Baggett LS, Tabata Y, Mikos AG, Jansen JA. Osteochondral repair in the rabbit model utilizing bilayered, degradable oligo(poly(ethylene glycol) fumarate) hydrogel scaffolds. J Biomed Mater Res A 75. 156-67, 2005.
4. Holland TA, Tabata Y, Mikos AG. Dual growth factor delivery from degradable oligo(poly(ethylene glycol) fumarate) hydrogel scaffolds for cartilage tissue engineering. J Control Release 101. 111-25, 2005.
5. Kawai K, Suzuki S, Tabata Y, Nishimura Y. Accelerated wound healing through the incorporation of basic fibroblast growth factor-impregnated gelatin microspheres into artificial dermis using a pressure-induced decubitus ulcer model in genetically diabetic mice.

Br J Plast Surg 58. 1115-23, 2005.

6. Marui A, Kanematsu A, Yamahara K, Doi K, Kushibiki T, Yamamoto M, Itoh H, Ikeda T, Tabata Y, Komeda M. Simultaneous application of basic fibroblast growth factor and hepatocyte growth factor to enhance the blood vessels formation. J Vasc Surg 41, 82-90. 2005.

7. Miyoshi M, Kawazoe T, Igawa HH, Tabata Y, Ikada Y, Suzuki S. Effects of bFGF incorporated into a gelatin sheet on wound healing. J Biomater Sci Polym Ed 16. 893-907, 2005.

8. Ozeki M, Tabata Y. In vivo degradability of hydrogels prepared from different gelatins by various cross-linking methods. J Biomater Sci Polym Ed 16. 549-61, 2005.

9. Tabata Y. Nanomaterials of drug delivery systems for tissue regeneration. Methods Mol Biol 300, 81-100. 2005.

10. Takahashi Y, Yamamoto M, Tabata Y. Enhanced osteoinduction by controlled release of bone morphogenetic protein-2 from biodegradable sponge composed of gelatin and beta-tricalcium phosphate. Biomaterials 26, 4856-65. 2005.

H 知的財産の出願・登録状況

特になし。

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)
分担研究報告書

人工膜の作製に関する研究

分担研究者 下村政嗣

北海道大学・電子科学研究所・附属ナノテクノロジー研究センター
教授

研究要旨

本研究の目的は、新規人工膜、新規徐放剤を用いた人工皮膚の作製である。これまでの人工皮膚は長期生着が困難であり、また ES 細胞などからの皮膚構成細胞分化誘導も実用レベルに達していない。本研究において用いる人工膜は、ハニカム構造を呈し、細胞へのダメージが小さく、膜内の小孔に徐放剤を蓄えることができる。この人工膜を用いることで、分化誘導因子の解明ならびに、より長期生着可能な人工膜の作製ができると考える。

平成 17 年度の研究では、多孔質薄膜作製の最適条件を検討し、その条件で製膜した膜を用いて人工皮膚を作製した。

A 目的

本研究の目的は、新しい発想に基づく皮膚再生の開発を行い、同時に創傷治療に応用することである。再生組織工学の分野において、いわゆる人工皮膚は同種表皮細胞を人工膜上に播種したものをを用いていたが、この人工皮膚は創傷部に移植しても長期の生着をすることはできず、比較的短期間しか生存できない。また幹細胞研究の分野において、皮膚構成細胞への分化を誘導する因子の解明は十分でなく、かつ分化しえた細胞が生物学的に機能しえるか検討もされていない。

本研究では、全く新しい人工膜（多孔質薄膜）を用いる。ハニカム構造を呈する多孔質薄膜は細胞接着時に、細胞と接する面積が小さいため、細胞へのダメージも小さい。かつ、その構造ゆえに膜内の小孔に徐放剤をはじめとする様々な極小物質を蓄えることができる。この膜は細胞を、特に 3 次元的に培養できることを明らかにしており、今回の検討においても最適なものとする。また再生医学の両極的に重要な領域、すなわち幹細胞、前駆細胞を対象とする細胞の研究領域と、バイオエンジニアリングと呼ばれる人工生体物質を対象とする領域、それぞれを融合することでより革新的でかつ速やかな臨床応用ができる実用性の高い結果が得られる可能性がある。

B 研究方法

多孔質薄膜の作製条件の最適化

高湿度環境下で、生分解性高分子の非水溶性有機溶媒の希薄溶液を直径約10cmのガラスシャーレ上にキャストすることで多孔質薄膜の作製を行った。光学顕微鏡を用いてキャストした高分子溶液表面のその場観察を行った。溶液濃度、キャスト量などを変えることで多孔質薄膜の3次元構造制御を行った。さらに、膜の孔の形に異方性を付与するために、膜の両端を固定して延伸する装置を作製した。

C 研究成果

多孔質薄膜の作製条件の最適化

溶液キャスト後のパターン形成過程は、溶媒の蒸発と溶媒表面への水の凝縮により、濃度、温度、粘度など様々な物理パラメーターが経時的に変化する複雑な非平衡系である。多孔質薄膜形成過程の観察から、孔の鑄型となる微小水滴は、経時的に成長することが分かったため、孔径制御には、溶媒蒸発時間が効果的なパラメーターであることが示唆された。事実、孔径は溶媒の蒸発時間に比例して大きくなった。孔の貫通、非貫通は、キャスト量とキャスト面積を一定にした場合、溶液の濃度変化で制御できた。また、様々な生分解性速度を有する高分子で同様の膜構造制御ができた。孔径3ミクロンの膜を用いた場合、細胞増殖や細胞外マトリックス産生量が向上することが分かった。

D 考察

本年度の研究で、多孔質薄膜作製の最適条件を検討し、多孔質膜を用いた人工皮膚を作製した。孔径3ミクロンの膜を用いた場合、細胞増殖や細胞外マトリックス産生量が向上する理由を明らかにするために、細胞の膜表面への接着点解析やシグナル伝達について調べる予定である。人工皮膚組織再生に必要とされる上皮細胞と真皮細胞からなる3次元組織形成には、孔の貫通した膜の孔径、膜厚の最適化が必要である。今後は、孔径3ミクロン以下の孔貫通膜の製膜条件（基板温度、溶液の厚み、蒸発時間、溶媒の種類）検討を行う。また、現在までの成果を、より臨床応用に近づけるべく、人工膜の孔径や孔の貫通度が及ぼす細胞増殖や機能発現への影響の詳細な検討も引き続き行い、創傷治癒促進効果のより高い人工膜の作製を行う。さらに、ヒトの皮膚組織と同様に細胞が配向した人工皮膚を作製するために、延伸多孔質薄膜の表面と裏面での上皮細胞と真皮細胞の3次元共培養を行う。これにより生体の皮膚組織に近い上皮-真皮の多層構造の実現を目指す。

E 結論

今回の研究で、新規多孔質薄膜を用いた人工皮膚を作製した。加えてこの

人工膜は創処治癒を促進させることを明らかにした。

F 健康危険情報

特になし。

G 研究発表

1. Tanaka M, Nishikawa K, Okubo H, Kamachi H, Kawai T, Matsushita M, Todo S, Shimomura M. Control of hepatocyte adhesion and function on self-organized honeycomb-patterned polymer film, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* (in press)
2. Tsuruma A, Tanaka M, Yamamoto S, Fukushima N, Shimomura M. Topographical control of neurites extension on stripe-patterned polymer films *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* (in press)
3. Yamamoto S, Tanaka M, Sunami H, Yamashita S, Morita Y, Shimomura M. Relationship between adsorbed fibronectin and cell adhesion on a honeycomb-patterned film, *Surface Science* (in press)
4. Yabu H, Shimomura M. Surface properties of self-organized honeycomb-patterned films. *Mol Cryst Liq Cryst*(in press)
5. Sunami H, Ito E, Tanaka M, Yamamoto S, Shimomura M. Effect of honeycomb film on protein adsorption, cell adhesion and proliferation. *Colloids and Surfaces A* (in press)
6. Yabu H, Inoue K, Shimomura M. Hybrid structures of self-organized honeycomb-patterned films and polymer nanoparticles. *Colloids and Surfaces A* (in press)
7. Yabu H, Kojima M, Tsubouchi M, Onoue S, Sugitani M, Shimomura M. Fabrication of photo cross-linked honeycomb-patterned films. *Colloids and Surfaces A* (in press)
8. Yabu H, Shimomura M. Surface properties of honeycomb-patterned films of fluorinated polymer. *Mol Cryst Liq Cryst* (in press)

9. Y. Fukuhira, E. Kitazono, T. Hayashi, H. Kaneko, M. Tanaka, M. Shimomura, Y. Sumi. Biodegradable honeycomb-patterned film composed of poly(lactic acid) and dioleoylphosphatidylethanolamine, *Biomaterials*, 27, 1797-1802. 2006.
10. J. Nemoto, Y. Uraki, T. Kishimoto, Y. Sano, R. Funada, N. Obata, H. Yabu, M. Tanaka, M. Shimomura. Production of mesoscopically patterned cellulose film, *Bioresource Technology*, 96, 1955-1958, 2005.
11. Yabu H, Takebayashi M, Tanaka M, Shimomura M. Super hydrophobic and lipophobic properties of self-organized honeycomb and pincushion structures. *Langmuir* 21, 3235-3237, 2005.
12. Tsuruma A, Tanaka M, Fukushima N, Shimomura M. Morphological changes in neurons by self-organized patterned films. *e-Journal of Surface Science and Nanotechnology* 3. 159-164, 2005.
13. Nemoto J, Uraki Y, Kishimoto T, Sano Y, Funada R, Obata N, Yabu H, Tanaka M, Shimomura M. Preparation of mesoscopically patterned cellulose films. *Biores Technol* 96. 1955-1958, 2005.
14. Yabu H, Shimomura M. Single-step fabrication of transparent super hydrophobic porous polymer films. *Chem Mater* 17. 5231-5234, 2005.
15. Yabu H, Shimomura M. Simple fabrication of micro lens arrays. *Langmuir* 21. 1709-1711, 2005
16. Yabu H, Shimomura M. Preparation of self-organized mesoscale polymer patterns on solid substrate: continuous pattern formation from receding meniscus. *Adv Func Mater* 15. 575-581, 2005.

H 知的財産の出願・登録状況

1. 硬組織再生治療に用い得るハニカム状多孔質体 (特願 2006-18260)
2. ハニカム状多孔質体の製造方法 (特願 2005-115623)

2. 細胞増殖抑制法および医療用具（特願 2005-162044）
3. 腫瘍細胞転移抑制材料および腫瘍細胞増殖抑制材料、並びに医療器具（特願 2005-133320）
4. 間葉系幹細胞から軟骨細胞を調整する方法（特願 2005-143162）
5. 皮膚再生用の細胞シートを作製するための構造体およびその利用（特願 2005-188948）
6. 細胞増殖抑制フィルムおよび医療用具（特願 2005-162043）
7. 積層フィルムおよび医療用具（特願 2005-162043）
8. 人工血管（特願 2005-281268）
9. 微生物セルロースからなるハニカム状多孔質体とその製造方法（特願 2005-156882）
10. 新規複合体とその製造方法（特願 2005-266439）
11. パターン化ハニカム状多孔質体の製造方法（特願 2005-303898）
12. パターニングされた物質の製造方法（特願 2005-309601）
16. 微細構造体および微細構造体の製造方法（特願 2005-321717）
17. 細胞の分化/増殖を制御するための基材（特願 2005-058236）
18. 孔の孤立したハニカムフィルム（特願 2005-052009）

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表 (雑誌)

発表者氏名	論文タイトル名	発表雑誌	巻号	ページ	出版年
Akiyama M, Sugiyama- Nakagiri Y, Sakai K, <u>McMillan JR</u> , Goto M, Arita K, Tsuji-Abe Y, Tabata N, Matsuoka K, Sasaki R, Sawamura D, Shimizu H.	Mutations in lipid transporter ABCA12 in harlequin ichthyosis and functional recovery by corrective gene transfer.	J Clin Invest	115	1777-84	2005
Fukuhira Y, Kitazono E, Hayashi T, Kaneko H, Tanaka M, <u>Shimomura M</u> , Sumi Y.	Biodegradable honeycomb- patterned film composed of poly (lacticacid) and dioleoylphosph atidylethanol amine,	Biomaterials	27	1797- 802	2006
Hokugo A, Ozeki M, Kawakami O, Sugimoto K, Mushimoto K, Morita S, <u>Tabata Y</u> .	Augmented bone regeneration activity of platelet-rich plasma by biodegradable gelatin hydrogel.	Tissue Eng	11	1224-33	2005

Holland TA, Bodde EW, Baggett LS, <u>Tabata Y</u> , Mikos AG, Jansen JA.	Osteochondral repair in the rabbit model utilizing bilayered, degradable oligo (poly (ethylene glycol) fumarate) hydrogel scaffolds.	J Biomed Mater Res A	75	156-67	2005
Holland TA, <u>Tabata Y</u> , Mikos AG.	Dual growth factor delivery from degradable oligo (poly (ethylene glycol) fumarate) hydrogel scaffolds for cartilage tissue engineering.	J Control	101	111-25	2005
Hoshina D, Shimizu T, Abe R, Murata J, Tanaka K, Shimizu H.	Multicentric reticulohistiocytosis associated with rheumatoid arthritis.	Rheumatol Int	25	553-4	2005

<p>Kawai K, Suzuki S, <u>Tabata Y</u>, Nishimura Y.</p>	<p>Accelerated wound healing through the incorporation of basic fibroblast growth factor-impregnated gelatin microspheres in to artificial dermis using a pressure-induced decubitus ulcer model in genetically diabetic mice.</p>	<p>Br J Plast Surg</p>	<p>58</p>	<p>1115-23</p>	<p>2005</p>
<p>Kitaichi N, <u>Shimizu T</u>, Honda A, Abe R, Ohgami K, Shiratori K, Shimizu H, Ohno S.</p>	<p>Increase of macrophage migration inhibitory factor levels in lacrimal fluid of patients with severe atopic dermatitis.</p>	<p>Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol (in press)</p>			
<p><u>McMillan JR</u>, Akiyama M, Nakamura H, Shimizu H.</p>	<p>Colocalization of multiple laminin isoforms predominantly beneath hemidesmosomes in the upper lamina densa of the epidermal basement membrane.</p>	<p>J Histochem Cytochem</p>	<p>54</p>	<p>109-118</p>	<p>2006</p>

Marui A, Kanematsu A, Yamahara K, Doi K, Kushibiki T, Yamamoto M, Itoh H, Ikeda T, <u>Tabata Y</u> , Komeda M.	Simultaneous application of basic fibroblast growth factor and hepatocyte growth factor to enhance the blood vessels formation.	J Vasc Surg	41	82-90	2005
Miyoshi M, Kawazoe T, Igawa HH, <u>Tabata Y</u> , Ikada Y, Suzuki S.	Effects of bFGF incorporated into a gelatin sheet on wound healing.	J Biomater Sci Polym Ed.	16	893-907	2005
Nakamura H, Sawamura D, Goto M, Nakamura H, <u>McMillan JR</u> , Park S, Kono S, Hasegawa S, Paku S, Nakamura T, Ogiso Y, Shimizu H.	Epidermolysis bullosa simplex associated with pyloric atresia is a novel clinical subtype caused by mutations in the plectin gene (PLEC1).	J Mol Diagn	7	28-35	2005
Nakamura H, Shimizu T, Kodama K, Shimizu H.	Metastasis of lung cancer to the finger: a report of two cases.	Int J Dermatol	44	47-9	2005

Natsuga K, Akiyama M, <u>Shimizu T</u> , Suzuki T, Ito S, Tomita Y, Tanaka J, Shimizu H.	Ultrastructura l features of trafficking defects are pronounced in melanocytic nevus in Hermansky- Pudlak syndrome type 1.	J Invest Dermatol	125	154-8	
Natsuga K, <u>Shimizu T</u> , Abe R, Kodama K, Shimizu H.	Mycosis fungoides bullosa.	Arch Dermatol (in press)			
Nemoto J, Uraki Y, Kishimoto T, Sano Y, Funada R, Obata N, Yabu H, Tanaka M, <u>Shimomura M.</u>	Production of mesoscopically patterned cellulose film,	Bioresource Technology	96	1955- 1958	2005
<u>Nihimura EK</u> , Granter SR, Fisher DE.	Mechanisms of hair graying: incomplete melanocyte stem cell maintenance in the niche.	Science	307	720-4	2005

Ozeki M, <u>Tabata Y.</u>	In vivo degradability of hydrogels prepared from different gelatins by various cross-linking methods.	J Biomater Sci Polym	16	549-61	2005
Sawamura D, Goto M, Shibaki A, Akiyama M, <u>McMillan JR,</u> Abiko Y, Shimizu H.	Beta defensin-3 engineered epidermis shows highly protective effect for bacterial infection.	Gene Ther	12	857-61	2005
<u>Shimizu T,</u> Hizawa N, Honda A, Zhao Y, Abe R, Watanabe H, Nishihira J, Nishimura M, Shimizu H.	Promoter region polymorphism of macrophage migration inhibitory factor is strong risk factor for young onset of extensive alopecia areata.	Genes Immun	6	285-9	2005
<u>Shimizu T,</u> Ogata A, Honda A, Nishihira J, Watanabe H, Abe R, Zhao Y, Shimizu H.	Expression of macrophage migration inhibitory factor in rat skin during embryonic development	Exp Dermatol	14	819-23	2005

Sunami H, Ito E, Tanaka M, Yamamoto S, <u>Shimomura M.</u>	Effect of honeycomb film on protein adsorption, cell adhesion and proliferation.	Colloids and Surfaces A (in press)			
<u>Tabata Y.</u>	Nanomaterials of drug delivery system for tissue regeneration	Methods Mol Biol	300	81-100	2005
Takahashi Y, Yamamoto M, <u>Tabata Y.</u>	Enhanced osteoinduction by controlled release of bone morphogenetic protein-2 from biodegradable sponge composed of gelatin and beta- tricalcium phosphate.	Biomaterials	26	4856-65	2005
Tanaka M, Nishikawa K, Okubo H, Kamachi H, Kawai T, Matsushita M, Todo S, <u>Shimomura M.</u>	Control of hepatocyte adhesion and function on self-organized honeycomb- patterned polymer film,	Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, (in press)			

Tsuruma A, Tanaka M, Fukushima N, <u>Shimomura M.</u>	Morphological changes in neurons by self-organized patterned films.	e-Journal of Surface Science and Nanotechnology	3	159-164	2005
Tsuruma A, Tanaka M, Yamamoto S, Fukushima N, <u>Shimomura M.</u>	Topographical control of neurites extension on stripe-patterned polymer films	Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects (in press)			
Ujiie H, <u>Shimizu T,</u> Shimizu H.	Cutaneous reactions to imatinib mesylate treated by topical steroid.	Am J Hematol	78	246	2005
Yabu H, Inoue K, <u>Shimomura M.</u>	Hybrid structures of self-organized honeycomb-patterned films and polymer nanoparticles.	Colloids and Surfaces A (in press)			
Yabu H, Kojima M, Tsubouchi M, Onoue S, Sugitani M, Shimomura M.	Fabrication of photo cross-linked honeycomb-patterned films.	Colloids and Surfaces A (in press)			