

平成17年度

創薬等ヒューマンサイエンス研究

重点研究報告書

平成17年度

創薬等ヒューマンサイエンス研究

重点研究報告書

第1分野

先端的創薬技術の開発に関する研究

第2分野

創薬のための生体機能解析に関する研究

第3分野

医薬品等開発のためのレギュラトリーサイエンスに関する研究

第4分野

創薬に係る臨床研究ならびに稀少疾病治療薬等の開発に関する研究

第5分野

健康寿命延伸・予防診断・治療法の開発に関する研究

第6分野

医療材料および製剤設計技術の開発に関する研究

第7分野

ヒト組織を用いた薬物の有効性、安全性に関する研究

目 次

第1分野

課題番号

KH11001	バイオフィotonクスを利用した細胞組織障害を視る、測る、解析する技術の開発	川西 徹 ……	1
KH11002	成長制御機構の解明と成長障害治療法の開発	緒方 勤 ……	11
KH11003	創薬研究基盤としての新規発生工学技術の開発に関する研究(総合研究報告)	松田潤一郎 ……	13
KH11003	創薬研究基盤としての新規発生工学技術の開発に関する研究(平成17年度報告)	松田潤一郎 ……	17
KH12072	変異を克服した画期的抗ウイルス薬の開発	野口博司 ……	25

第2分野

KH21004	動脈硬化症と血栓症にかかわるスフィンゴシン1-リン酸(S1P)受容体(S1P3)の拮抗薬の開発	望月直樹 ……	31
KH21005	遺伝子改変動物を用いた病態関連因子の解明と創薬への応用に関する研究	田上昭人 ……	35
KH21006	病態時の侵害情報伝達に関与するプリン受容体の機能解明	井上和秀 ……	47
KH21007	蛋白立体構造異常を原因とするコンフォメーション病に対する病態解明と創薬探索システムの確立	桃井 隆 ……	58
KH21008	高密度CGHアレイを用いた新規白血病・リンパ腫治療薬の標的分子の探索	小川誠司 ……	66
KH21009	脂質代謝・機能の解明とその抗微生物薬開発への応用	花田賢太郎 ……	70
KH21010	繊維芽細胞の放出するmacrophage活性化因子とJAG1蛋白の関連と臓器繊維化の機序解明	香坂隆夫 ……	77
KH21011	血管におけるレクチンを介する生体防御システムの解明と創薬への応用	若宮伸隆 ……	86
KH21012	コネキシン遺伝子の癌抑制機能の網羅的解析；癌予防および治療への応用	矢野友啓 ……	96
KH21013	免疫グロブリン大量静注療法的作用機序解明と新しい治療標的分子の探索	阿部 淳 ……	102
KH21014	受精および初期胚発生における糖鎖の役割解析とその応用に関する研究	藤本純一郎 ……	108
KH21015	細胞内エネルギー代謝制御分子の機能発現機構の解明と新規治療薬への応用	江崎 治 ……	113
KH21016	過食の病態関連因子の解明と抗過食薬の創薬探索に関する研究(総合研究報告)	野々垣勝則 ……	117
KH21016	過食の病態関連因子の解明と抗過食薬の創薬探索に関する研究(平成17年度報告)	野々垣勝則 ……	120

KH21017	慢性ストレス負荷によるうつ病様病態の発症分子機構の解明と創薬（総合研究報告）	田平 武 …… 124
KH21017	慢性ストレス負荷によるうつ病様病態の発症分子機構の解明と創薬（平成17年度報告）	田平 武 …… 129
KH21018	アルツハイマー病における新規創薬ターゲット検索のための、APP細胞内ドメインの機能解析	中山 耕造 …… 134
KH21019	創薬への応用を目標としたB細胞の分化・増殖・細胞死の制御機構解明に関する研究	上出 利光 …… 142
KH21021	エンドトキシン認識・刺激伝達機構の解明と医療への応用に関する研究	西島 正弘 …… 148
KH21022	ウイルスRNA結合ペプチドを用いたC型肝炎治療薬の開発	鈴木 哲朗 …… 152
KH21023	末梢血幹細胞の分化増殖機構の解明と創薬への応用に関する研究	葛西 正孝 …… 156
KH21101	DNAマイクロアレイによる多発性硬化症の迅速診断法の樹立に関する研究	佐藤 準一 …… 160
KH22073	機能性精神疾患のハイスループットSNPs解析と機能解析による創薬標的分子の解明	功刀 浩 …… 167
第3分野		
KH31024	超難溶性薬物の効率的製剤化に非晶質の特異性を活用する技術とその評価法の確立	吉岡 澄江 …… 175
KH31025	生薬及び漢方処方 of 科学的品質保証に関する研究	合田 幸広 …… 185
KH31026	食中毒細菌の新規迅速検査法の開発とその評価法に関する研究	工藤由起子 …… 194
KH31027	ハイスループット・ヒト型遺伝毒性試験系の構築	能美 健彦 …… 200
KH31028	ヒト肝細胞で置換された肝臓を持つマウスの医薬品開発への利用ー非拘束マウスの胆汁採取分析技術の確立ー	吉里 勝利 …… 210
KH31029	高度分析評価技術を応用した医薬品製剤開発および製造工程管理手法の研究	檜山 行雄 …… 218
KH31030	患者個別化薬物治療のための遺伝子タイピング法及びメタボロミクスの手法の開発に関する研究	斎藤 嘉朗 …… 226
KH31031	細胞医療に用いられる細胞組織利用医薬品の品質・安全性評価技術の開発	山口 照英 …… 235
KH31032	医薬品等の有効性・安全性を保証するための分析・解析技術の評価と標準化に関する研究	林 讓 …… 243
KH31033	医薬品適正使用のためのヒト薬物動態評価法の開発と応用（総合研究報告）	頭金 正博 …… 252
KH31033	医薬品適正使用のためのヒト薬物動態評価法の開発と応用（平成17年度報告）	頭金 正博 …… 257
KH31034	プロテオミクス及び構造生物学的アプローチ等を用いたバイオ医薬品の特性解析・品質評価技術の開発	川崎 ナナ …… 261

KH31035	生物由来製品のウイルス安全性に関する基盤研究	内田恵理子 …… 271
KH31036	臨床薬理学的視点による薬効ゲノム情報活用のための基盤研究	東 純一 …… 281
KH32074	IT技術を用いた低コストかつ高品質な大規模臨床試験実施基盤の構築	永井洋士 …… 288
第4分野		
KH41037	抗フリーラジカル療法を目指した基盤研究と創薬への応用	綱脇祥子 …… 307
KH41038	ボツリヌス神経毒素有効成分を利用したジストニア・痙縮等の治療法の確立と筋萎縮性側索硬化症に対するdrug delivery systemの開発	梶 龍児 …… 315
KH42075	熱帯病・寄生虫症に対する稀少疾病治療薬の輸入・保管・治療体制の開発研究	名和行文 …… 319
第5分野		
KH51039	臍帯血移植患者へのドナーリンパ球輸注療法（DLI）の実用化	藤原成悦 …… 327
KH51040	アレルギーによる室内環境汚染の実態を評価する方法、および汚染の制御方法の開発に関する研究（総合研究報告）	安枝 浩 …… 336
KH51040	アレルギーによる室内環境汚染の実態を評価する方法、および汚染の制御方法の開発に関する研究（平成17年度報告）	安枝 浩 …… 342
KH51041	C型肝炎ウイルスの感染・複製系の確立とその応用による抗ウイルス療法の開発	脇田隆字 …… 349
KH51042	個体特性に着目した食品成分の骨粗鬆症に対する予防効果に関する研究	石見佳子 …… 359
KH51043	食品からの食中毒起因菌の高感度迅速検出法の開発とリスクマネージメントへの応用	山本茂貴 …… 367
KH51044	食品添加物等の新機能性に関する研究	広瀬雅雄 …… 372
KH51045	新規ミスマッチDNA特異的修飾試薬を用いた全ゲノムからの既知および未知の生活習慣病関連遺伝子のSNPs検出システムの開発	池田康行 …… 376
KH51046	気管支喘息、慢性閉塞性肺疾患（COPD）重症化機序の分子細胞システムとしての理解に基づく新たな制御方法の確立に関する研究	松本健治 …… 383
KH51047	呼吸器及び腸管粘膜免疫をターゲットとする新しいワクチンデリバリーの開発（総合研究報告）	竹森利忠 …… 387
KH51047	呼吸器及び腸管粘膜免疫をターゲットとする新しいワクチンデリバリーの開発（平成17年度報告）	竹森利忠 …… 395
KH51048	新しい粘膜アジュバントおよび粘膜ワクチンの開発に関する研究	長谷川秀樹 …… 401
KH51049	バイオテクノロジーによるワクチンの創製と改良技術の開発	松浦善治 …… 406

KH51050	可溶性ウイルス受容体等を利用した抗ウイルス剤の開発に関する研究	田口文広 …… 410
KH51051	ワクチン創生の新テクノロジーと新規ワクチンの開発	小島朝人 …… 418
KH51052	脂質輸送を制御する生活習慣病予防薬開発のための基礎的研究	最上知子 …… 422
KH51054	核酸封入ナノカプセルによるウイルス消毒薬、抗ウイルス薬の創薬に関する研究	武田直和 …… 428
KH51055	siRNA発現ライブラリーによる新興・再興感染症の原因ウイルスの複製に必須な遺伝子の検索および創薬への応用	森川 茂 …… 431
KH51056	プロテインチップ、DNAマイクロアレイ等の新しい技術を用いた診断法の有用性とその評価手法に関する研究（総合研究報告）	鈴木孝昌 …… 437
KH51056	プロテインチップ、DNAマイクロアレイ等の新しい技術を用いた診断法の有用性とその評価手法に関する研究（平成17年度報告）	鈴木孝昌 …… 442
KH51057	血管新生の制御による虚血系疾患治療薬の開発に関する基礎的研究	新見伸吾 …… 452
KH51058	天然抗酸化剤を利用した創薬化学	福原 潔 …… 459
KH51102	内因性幹細胞の動員、生着、心筋分化による重症心不全・再生療法の確立	長谷川浩二 …… 464
KH52076	インフルエンザ治療型単鎖抗体の開発に関する研究（総合研究報告）	浅沼秀樹 …… 466
KH52076	インフルエンザ治療型単鎖抗体の開発に関する研究（平成17年度報告）	浅沼秀樹 …… 471
第6分野		
KH61059	幹細胞等を用いた細胞組織医療機器の開発と評価技術の標準化	土屋利江 …… 479
KH61060	新しい修飾技術を用いた再生医療用生物由来素材の開発	岸田晶夫 …… 500
KH61061	霊長類ES細胞の無フィーダー、無血清培養を用いた新しい未分化維持増殖培養法と血液細胞分化制御系の開発	湯尾 明 …… 511
KH61062	疾患特異的T細胞吸着材の開発（総合研究報告）	澁谷統壽 …… 516
KH61062	疾患特異的T細胞吸着材の開発（平成17年度報告）	澁谷統壽 …… 524
第7分野		
KH71063	臓器移植患者の小腸及び肝組織を用いた遺伝子機能解析に基づくテラーメイド免疫抑制療法的确立に関する研究	乾 賢一 …… 531
KH71064	ヒト細胞を供給源とした再生医療の早期実現化を目指す有効性、安全性の検証システムの確立	梅澤明弘 …… 540
KH71065	創薬、臨床検査開発のためのヒト組織の有用性に関する研究ーヒト組織バンクの効率的運用のためのネットワーク作りー（総合研究報告）	松浦成昭 …… 548

KH71065	創薬、臨床検査開発のためのヒト組織の有用性に関する研究－ヒト組織バンクの効率的運用のためのネットワーク作り－（平成17年度報告）	松浦成昭 …… 554
KH71066	創薬基盤としての公共的ヒト組織バンクを中心とした肝組織・細胞の研究利用システムの構築	絵野沢 伸 …… 559
KH71067	EBMに基づく医薬品の安全性・有効性を確立するための大規模臨床データに関する学術情報の解析、評価に関する研究（総合研究報告）	森川 馨 …… 569
KH71067	EBMに基づく医薬品の安全性・有効性を確立するための大規模臨床データに関する学術情報の解析、評価に関する研究（平成17年度報告）	森川 馨 …… 575
KH71068	ヒト型遺伝毒性試験系の開発とそのバリデーション	本間正充 …… 591
KH71069	高機能保持ヒト肝細胞組込型細胞チップとナノセンサーによる新薬開発における薬物動態・毒性を評価する新規バイオセンサーの開発	永森静志 …… 601
KH71070	ケミカルゲノミクスによる難治固形癌に有効な主要抗癌剤の薬効貢献分子の探索と発見された分子を標的とする次世代抗癌剤の開発	西尾和人 …… 611
KH71071	外科手術摘出ヒト組織を用いたオーダーメイド医療の研究と遺伝多型を考慮したヒト肝細胞の代謝研究への応用に関する研究	大野泰雄 …… 617
KH72077	ヒト胎盤組織を用いた薬物の胎児移行性及び胎児毒性の定量的評価	澤田康文 …… 628
KH72078	ヒト組織提供医療機関としてのバンクシステム効率化と研究資源高度化に関する研究（総合研究報告）	小林真一 …… 634
KH72078	ヒト組織提供医療機関としてのバンクシステム効率化と研究資源高度化に関する研究（平成17年度報告）	小林真一 …… 640

第7分野

ヒト組織を用いた薬物の有効性・安全性に関する研究

創薬基盤としての公共的ヒト組織バンクを中心とした 肝組織・細胞の研究利用システムの構築

所属 国立成育医療センター研究所
研究者 絵野沢 伸

研究要旨：昨年度に行った条件検討や分担研究相互の協調体制を基礎として、ヒト肝細胞の供給体制から有効利用までの一連のシステム構築に務めた。細胞保存では、長鎖オリゴ糖がトレハロースに匹敵する細胞保存能力があることがわかった。細胞アレイにヒト初代肝細胞を培養し、薬物代謝能および誘導能試験を行い、アレイ培養が代謝能維持に有効であることがわかった。

分担研究者

- | | |
|--------------------|-------|
| (1) 昭和大学医学部第二薬理学教室 | 安原 一 |
| (2) 東京医科大学外科学第三講座 | 青木達哉 |
| (3) 東京大学大学院工学系研究科 | 片岡一則 |
| (4) (独) 物質・材料研究機構 | 大塚英典 |
| (5) 自治医科大学臓器置換研究部 | 小林英司 |
| (6) (独) 農業生物資源研究所 | 竹澤俊明 |
| (7) 国立がんセンター研究所 | 落谷孝広 |
| (8) (NPO) HAB研究機構 | 鈴木 聡 |
| (9) (株) アビー | 大和田哲男 |
| (10) 協和発酵工業 (株) | 小林弘幸 |
| (11) エーザイ (株) | 吉村 勉 |
| (12) 田辺製薬 (株) | 山田泰弘 |
| (13) (株) トランスパレント | 澤田雅弘 |
| (14) 日本農産工業 (株) | 榎本康弘 |

A. 研究目的

昨年度の調査研究によると、外科手術は低侵襲化が進んでおり、外科切除検体からの研究資源採取の大きな増加は今後、見込み難いと考えられる。一方、欧米あるいは中国から供給される凍結肝細胞は解凍後の接着率に関するロット差が著しく、創薬における代謝誘導試験に用いることができる接着可能細胞は全ロットの5-10%と推察された。今後、我が国で手術摘出肝や移植不適合肝からの細胞分離が円滑に行えるようになった場合も、価値の高い接着細胞ロットは少数に留まることが予想される。そこで、少ない研究資源を有効に利用するため、解凍後の培養環境を最適化する、すなわち現状の技術では接着しにくい細胞を、接着させ、誘導能を引き出す技術が必要と考えた。また、成熟肝細胞の代替として、比較的供給が得やすい臍帯血や骨髄間葉系細胞から分化させた肝細胞を用いることも考えねばならない。そこで、これらの研究にも範囲を広げるため、研究初年度の陣営に加え、新規な細胞培養基材として注目されるVitrigel (支持体付コラーゲン膜担体) 開発

者の竹澤俊明博士 (農業生物資源研究所) と幹細胞から肝機能を有する細胞の分化に成功した落谷孝広博士 (国立がんセンター研究所) が加わった。企業側としてはマーケティングの専門家で肝細胞アレイの商品化をねらう澤田雅弘氏 (株) トランスパレント、NTTアドバンステクノロジー)、初代肝細胞の輸入、販売に携わり、取り扱いノウハウを有する榎本康弘氏 (日本農産工業 (株)) が加わった (組織図)。

尚、本報告は、それぞれの分担研究報告の要旨を述べたものであり、詳しくは各分担報告を参照されたい。入手できない場合は主任研究者に問い合わせさせていただきたい。

B. 研究方法

1) 手術摘出肝のバンク提供システム構築：外科医・病理医との協力体制の構築 (安原、青木)

平成16年度に引き続き、昭和大学病院と東京医科大学病院にてシステムの円滑な運用、特に病理医との関係の強化を行った。パイロット実験としては動物の肝組織を用いた研究を行った。

2) 肝細胞・肝組織の長期保存法の確立 (安原、絵野沢、大和田、鈴木、小林)

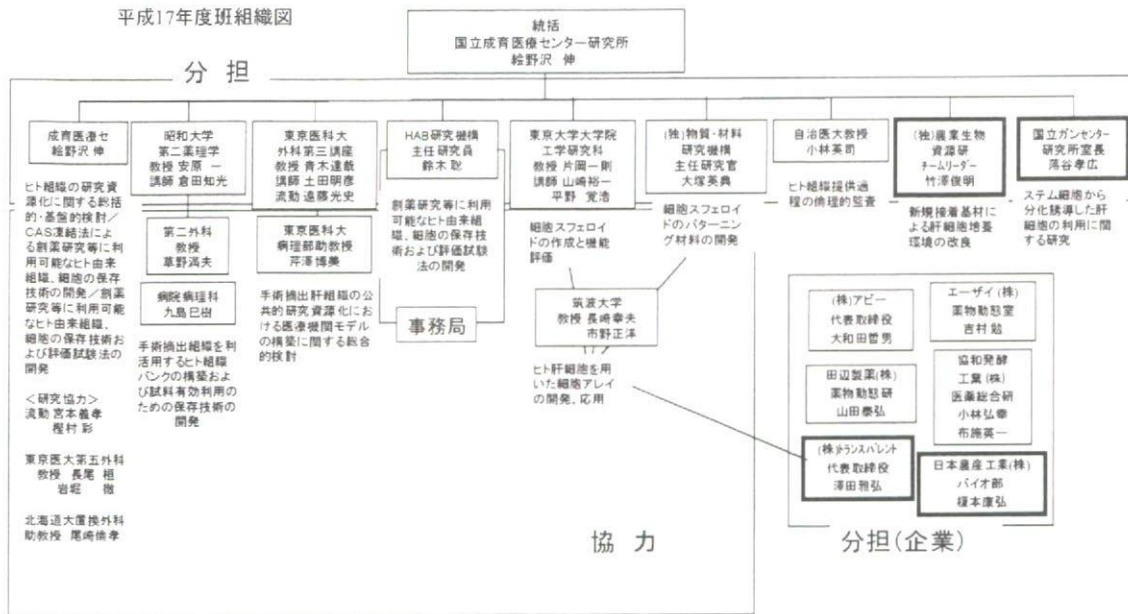
平成16年度は凍結解凍の影響を生存率で検討したが、さらに生着率および機能 (薬物代謝、誘導) に関する検討を行った。また、ヒト肝細胞の生着率に関しては他の動物種に比較して極めて低く、凍結解凍によってさらにその値が低下すると言われてきている。このような現況を勘案し、ヒト肝細胞の生着率に大きく影響を及ぼす要因の分子レベルでの究明を試みた。

また、ブタ肝 (自治医大) およびHAB研究機構が米国から輸入する移植不適合肝を用い、長時間冷保存肝からの細胞分離法の改良に努めた。

3) 肝細胞資源有効利用の為に新しい細胞培養環境の開発

3-1) 培養環境における肝機能の長期発現方法の開発 (竹澤)

図1 平成17年度研究班構成図。太枠は17年度から新規に参加した分担研究者を示す。



従来の細胞培養は増殖を主目的としていたが、細胞生物学的には増殖能力と分化機能発現は相反するものと考えられ、現在の方法は創薬研究などの機能重視の実験系に適したものとはいえない。そこで、細胞外環境の改良として、熱変性タンパク質のガラス化技術を応用して開発した「支持体付コラーゲン膜担体」を用い、肝細胞機能の向上を検討した。

3-2) 細胞アレイ微細環境の改良とヒト肝細胞を用いた応用技術の確立 (大塚、片岡、澤田)

前年度に確立した混合ポリエチレングリコールブラシ表面の物理化学的特質を明らかとするとともに、スフェロイド形成に及ぼす表面状態の影響について詳細に検討した。また、ヒト肝細胞をはじめ、その他の実質細胞を用いたスフェロイドアレイの提供を試み、培養基板としての一般性・汎用性を検証した。一方、スフェロイドそのものの生化学的機能に着目し、タンパク質・遺伝子発現の観点から詳細な検討を行なう予定である。また得られたスフェロイドの生化学的機能を詳細に解析するとともに、薬物代謝プラットフォームとしての有用性を確認するため、LC-MS分析を含めたさらに詳細な代謝・誘導試験を行った。官民共同研究の利点を生かし、企業側ニーズを取り入れながら、アレイの形状あるいは提供システムなどを検討した。

3-3) 上記の研究を通じて得られた成果物の創薬研究資源としての評価 (鈴木、山田、吉村、小林弘幸、榎本)

官民共同研究として、細胞アレイを用いた肝細胞培養における薬物代謝能およびCYP誘導能について、製薬企業分担者が、LC-MSを用いて有用性を評価した。役割分担として、山田が凍結ヒト初代肝細胞のアレイ上培養を、吉村がヒト不死化肝細胞のFa2N-4細胞

のアレイ上培養を、小林が小スケール培養の検出限界を行った。

4) ステム(幹)細胞から分化誘導した肝細胞の利用に関する研究 (落谷)

ヒト肝細胞のソースとしてSTEM細胞は貴重であり、その増殖性や安定供給の確保の容易さからSTEM細胞から肝細胞を誘導し研究利用することは実用性の高い研究課題である。本分担研究ではヒト間葉系幹細胞や脂肪細胞に由来する幹細胞を肝細胞に分化する系を用いて、薬物代謝や毒性試験への有効利用に関する基礎検討を行った。

5) ヒト肝の研究利用に関する社会調査 (鈴木、絵野沢)

心停止した者からの肝組織の一部を提供してもらうことについての社会的な認識についてアンケート調査を行い、結果を集計した。また、米国で移植不適合肝からヒト肝細胞を調製し、頒布しているXENOTECH社、と地域臓器調達機関であるMIDWEST TRANSPLANT NETWORKを訪問し、米国におけるそれぞれの実態を調べた。

6) ヒューマンサイエンス研究資源バンクの肝組織資源の加工資源化 (絵野沢、鈴木)

初年度に引き続き、プールドミクロソームの調製とバンクへの再提供ならびに遺伝子解析可能検体を用いた日本人のCYP多型解析を継続することとした。

7) ヒト組織の研究への提供過程の倫理的監査 (小林英司)

平成16年度に作成したバンク提供施設「自主ルール」の普及・啓発を行う。また、現場からの問題点のフィードバックによるルールの改良を行う。

C. 研究結果

1) 手術摘出肝のバンク提供システム構築: 外科医・

病理医との協体制の構築（安原、青木）

昭和大学医学部では、安原分担者が、ラットおよびヒト肝臓を用いて基礎的検討を行った。ラット肝臓の凍結保存に関しては、UW液に比較しCelsior液を用いることにより、形態学的、組織学的に状態のよい保存が可能出ることが明らかとなった。また、組織像を指標とした評価において、凍結方法に関してはCelsior液を使用した場合にはUW液に比べCAS、液体窒素共に良好な凍結が可能出ることが明らかとなった。ヒト肝臓の保存に関しては本年度の研究においては実施できなかったが、ラットの結果を踏まえ次年度実施し、その有用性を確認する必要がある。一方、ヒト肝臓の研究利用に関するバンク化に関しては本年度シュミレーション的に検討を行った事により、次年度実施に向けて大きな可能性が見出された。

もう一方の組織提供医療機関である東京医科大学病院の外科第三講座の青木分担者は、昨年度に確立した検体提供依頼の二段階プロトコールに従い、14人の肝臓切除手術予定患者に組織バンクに関する説明を行った。その内13人の患者から仮同意を得て、手術切除検体の提供を受けた。その後、本同意を得た後に組織バンクへ提供した。仮同意を得られなかった症例は、手術や病状のこと以外考えられないという理由による謝絶だった。このことは以前に行った模擬患者演習でも指摘されており、十分に想定できる状況である。今回、実際に謝絶例があったということは、逆に、東京医科大学が行っているインフォームド・コンセントの公正性を示しているともいえる。

また、次の課題として、医師以外の医療関係者の参加も検討しなければならない。現在東京医科大学病院で行われているヒューマンサイエンス研究資源バンクへのヒト組織提供システムは、主治医と説明医のみが運用面を担当している。説明医はコーディネーター的立場に当たるが、医師である以上患者にとって主治医と同格に感じる場合もあり、医師-患者の従属関係が必ずしも改善できない可能性がある。現場の意見としては、治験コーディネーターのように医師以外の職種の人間の参加が望ましいと考える。

青木分担者は組織資源の品質についても、微小転移の検討という面から研究を行った。現在、提供肝臓を手術検体から採取する際は、肉眼的及び超音波検査で癌陰性であることを確認していた。より高い精度で癌陰性を確認するために微小転移を確認しなくてはならない。我々は癌腫瘍マーカーとして用いられているCEAと、癌組織に多く発現するサイトケラチン20を微小転移の指標として用いた。組織バンクへ提供する肝臓と同一検体を用いてCEA及びサイトケラチン20のRT-PCRを行った。結果として、大腸癌肝転移の症例の癌部組織ではCEA及びサイトケラチン20の発現を認めるも、組織学的正常組織内では全く発現は認められなかった。今後、これらマーカーと肉眼的正常部位との相関を調べてみたい。

2) 肝細胞・肝組織の長期保存法の確立（安原、絵野沢、大和田）

安原、大和田は前項のようにラット肝臓をもつてCAS凍結法の検討を行った。

絵野沢は、宮本義孝流動研究員とともに、凍結保存液における糖質の添加効果を詳細に調べた。13種類の単糖、オリゴ糖、環状糖とデキストラン（多糖）を、ジメチルスルフォキシドを凍結保護剤とする従来の細胞凍結溶液に添加した。興味深いことに、トレハロースだけでなく、長鎖オリゴ糖（マルトヘクタオース）で著名な生細胞率および解凍後細胞の生存率の増加が見られた。また、解凍細胞の培養時に細胞マトリックス（今回はI型コラーゲン）を用いることによって、細胞生存率の上昇も見られた。肝細胞の凍結保存技術は、凍結溶液や解凍後培養環境など、総合的に体系化することによって、改良可能と考えられた。

3) 肝細胞資源有効利用の為に新しい細胞培養環境の開発（竹澤、片岡、大塚、澤田）

竹澤分担者は各種細胞外マトリックス成分のゲル薄膜培養基材を作製してラット初代肝実質細胞の機能維持を検討すると共に、肝細胞を播種したI型コラーゲンゲル薄膜に各種細胞外マトリックス成分のゾルを重層するサンドイッチ培養法を開発して機能維持を検討した。その結果、IV型コラーゲンゲル薄膜上では培養9日目まで肝細胞の良好な形態が維持されるが、アルブミン分泌量は経時的に減少することが明らかとなった。しかしながら、I型コラーゲンを重層したゲル薄膜サンドイッチ培養系では、9日目においても肝細胞の良好な生存率を維持しており、さらに高いアルブミン分泌能を一週間以上にわたり維持できることが分かった。これらの結果より、ゲル薄膜サンドイッチ培養法の有用性が示唆された。そこで次年度は、本年度開発したゲル薄膜サンドイッチ培養法にDMSOやトレハロース等の凍結保護薬剤を利用して、肝細胞の生存率および機能維持に適した凍結保存の技術開発に取り組むとしている。

片岡分担者、大塚分担者はともに細胞アレイの開発を行っている。片岡分担者は、主に細胞生物学的側面から基材の改良を、大塚分担者と澤田分担者は物質・素材面からの改良を行った。

そこで、まず物質・素材面の研究を紹介する。前年度に引き続き、表面として精密なブラシ構造の制御が可能である金表面をモデルとして選択し、細胞スフェロイドアレイを効率的に形成させるための高分子表面設計手法について詳細な検討を行った。メトキシ基をα末端、メルカプト基を末端に有するヘテロポリエチレングリコール（PEG）を用い、金基盤表面への混合PEGブラシ構築の最適化とそのブラシ密度の制御法を確立した。すなわち、このPEG分子種を3回繰り返し固定することでブラシ密度は増大することが分かった。

次に、PEG密度とタンパク吸着抑制能力を検討するため、内皮細胞用培地からのタンパク吸着を測定

したところ、特に PEG5000 と 2000 の複合表面においてタンパク質吸着量が減少していた。このようにして作製された細胞非接着表面に細胞接着表面を露出し、細胞を播種したところ、物理化学的評価において最も PEG ブラシ密度が高く、その結果、非特異的タンパク吸着が最小であった表面で、最も高度にかつ長期にわたり、スフェロイド形態を制御することに成功した。

片岡分担者は、簡便な方法で再現性よく基板を調製する手法の確立を目指した。細胞非接着性の水溶性レジストとフォトリソグラフィの組み合わせにより、種々の基板上で効率的にマイクロパターン化細胞培養のための加工を施すことに成功した。またこの検討過程において、培養液中で水溶性ポリマーネットワークからなるマイクロパターン膜を長期に維持するためには、基材表面の化学組成がきわめて重要であることを明らかとした。基板表面の化学組成を最適化することにより、基板のオートクレーブ処理によっても膜が安定に存在する条件を見出すことに成功した。マイクロパターン内への細胞接着は、残存 AWP により強く影響を受け、また接着強度自体も表面の化学組成によって影響を受けることが示唆された。この結果を踏まえ、完全水系プロセスで塗布、照射、現像が可能である AWP の特色を生かし、コラーゲンをあらかじめゲル薄膜として固定化した基板上へのダイレクトパターンニングを試みた。免疫蛍光染色の結果より、基板上に前固定されたコラーゲンはマイクロパターンニングプロセスにおいて顕著なダメージを受けることなく存在し、また、このコラーゲンの硬化により、内皮細胞のマイクロパターン内への接着が極めて強くなることが示された。このことはアレイを用いた種々の評価において、その最も重要な構成要素である細胞の脱落を抑制するという意味で極めて有用である。実際にラット初代培養肝細胞を用いてスフェロイドアレイの形成を試みたところ、AWP は肝細胞の非特異的な接着を抑制することが出来なかったが、接着に続く伸展を抑制する効果があることが示された。また、live-dead 染色による細胞生存率の定性的評価により、AWP 上に非特異的に接着した肝細胞は死滅することなく、比較的長期にわたって生存することが示された。培養の継続とともにこの非特異的に接着した肝細胞は脱落し、最終的にスフェロイド形成した肝細胞のみが基板上に残存可能であることが示された。

凍結ヒト肝細胞の初代培養を細胞アレイで行った。非誘導ロットと誘導ロット（前者は解凍後の接着率が 70% 以下、後者は 70% 以上とされる）を比較したところ、誘導ロットの方が良好なスフェロイド形成を見せたが、前者も形態的には誘導ロットに準じたスフェロイド形成を見せた。これらのアレイを用い、代謝活性測定プロトコルに従って各 CYP 活性及び誘導能を調べたところ、CYP1A2、2B6、3A4/5 活性は、スフェロイド培養することにより、非誘導および誘導型凍結ヒト肝細胞のいずれにおいても、単層培養

より高い活性が長期間維持された。CYP2C9 活性は、接着型凍結ヒト肝細胞のスフェロイド培養により、単層培養より高い活性であったが、その維持期間は両培養間で差はなかった。CYP2C19 活性は、両細胞共にスフェロイド培養で急激に低下し、両培養間で差はなかった。誘導に関しては、スフェロイド培養では、誘導剤の暴露期間中には明確な誘導は認められなかったが、その後の休業期間中に CYP1A2 と CYP3A の誘導らしき活性の上昇が認められた。組織体が形成されるにつれて CYP の活性が上昇するので、初期には明確な誘導が認められ無い可能性が考えられた。

その他、アレイ上でのヒト不死化肝細胞および 96 穴プレートによる内皮-肝細胞共培養に関する予備実験を行った。

4) ステム(幹)細胞から分化誘導した肝細胞の利用に関する研究

落谷分担者は、マウス ES 細胞を用いた研究から効率良く成熟肝細胞へと分化誘導できる HIFC 分化誘導システムの開発に成功している。そこで、今回はヒト脂肪組織由来間葉系幹細胞を用いて HIFC 分化誘導システムによる肝細胞への分化誘導性について基礎検討を行なった。未分化細胞の供給源としては、細胞増殖能や回収効率などから考慮すると、皮下脂肪組織が最適であると思われた。また分化誘導細胞は *in vitro* における肝機能評価実験において、肝細胞マーカー遺伝子の発現やアンモニア分解能、そして薬剤代謝能を有しており、骨髄細胞由来間葉系幹細胞と同レベルの機能を確認した。また CD105 を指標に細胞を純化した結果、骨髄細胞由来間葉系幹細胞に近い性質を有する細胞群が得られた。

5) ヒト肝の研究利用に関する社会調査(鈴木、絵野沢)

わが国で研究開発に用いることのできるヒト組織は、手術切除組織のみであるが、外科手術の低侵襲化によって、研究に供することのできる組織試料の数も量も十分とは言えなくなりつつある。脳死者から提供される移植用臓器は、臓器の移植に関する法律第 9 条および厚生労働省令規則 4 条によって移植以外の目的に使用することは出来ない。そこで、鈴木分担者は、わが国においても欧米並みに移植不適合臓器の研究利用を検討すべきではないかという判断のもと、移植不適合と判断された場合、研究用に供することに関して財団法人静岡県腎臓バンクおよび財団法人富山県腎臓バンクとの共同研究として、ドナーカード保持者約 3000 名を対象にアンケート調査を実施、解析した。回答は 1218 名から寄せられ、回収率は 40.6% であった(静岡県: 812 名/2000 名、富山県: 406 名/1000 名)。死後に、移植のために摘出された臓器は医学的などの止むを得ない理由によって移植不適合となった場合、厚労省省令により焼却処分されることは回答者の 93% が知らなかった。次いで、欧米で移植不適合臓器が研究に供することが出来ることを説明し、我が国でも移植不適合となった

臓器を研究に転用することを認めるか否かを尋ねたところ、アンケート回答者の50%が、焼却処分せずに、医療開発研究に提供する道を開くべきであると回答した。また、さらに遺族の意向によって、焼却処分あるいは医療開発研究に提供の何れかを選ぶことができるかと答えた者が45%であった。現行の焼却方法を変えるべきではないと回答した者が2%いたが、その理由として法律で焼却処分と決めた理由があるはずであるから、それを簡単に変えるべきではないという論理的なものであった。そして、仮に厚労省令が改正され移植不適合臓器を研究に提供する道が開かれた場合を問いかけたところ、実に回答者のうち94%の者が、移植不適合臓器の研究転用に関して賛成の考えを持っていた。

絵野沢が調査に訪れた米国カンザス州 XENOTECH 社ではヒト肝細胞、肝組織を用いた薬物動態試験の実際と実施基盤に関する情報交換を行った。同社は肝細胞分離スタッフとして3-4人で構成される4チームを擁し、移植不適合肝が発生した時には直ちに細胞分離に取りかかることができる体制を敷いている。供給側の NDRI との取り決めで、冷保存時間が36時間以上になる場合は受け入れていない。分離細胞はそのまま培養し、薬物動態試験に用いる他、凍結保存も行っている。しかしながら、米国 FDA は、誘導試験については新鮮細胞を用いるべきであるとの口頭指示を出したため、凍結細胞の使用は避けているという。同地域の臓器調達機関 (OPO; Organ Procurement Organization) の MIDWEST TRANSPLANT NETWORK では米国における臓器調達システムに関する情報収集を行った。特に、経済的基盤に関して調べたところ、米国では、ドナー管理料があること、それはネットワークが病院に支払っていること、臓器に対してそれぞれ費用が算定されていること、その費用は移植レシピエントの保険会社からネットワークに支払われること、がわかった。日本に比べ、臓器提供数が多い (年間 6000-7000 体) ことから、このような費用負担を明確化した流通システムが成り立つことがわかった。しかしながら、臓器提供数の慢性的不足は解決されておらず、ドナー数増加と1ドナー当たりの提供臓器数の増加をめざした取り組みが全米的に行われているという。

6) ヒューマンサイエンス研究資源バンクの肝組織資源の加工資源化

ヒューマンサイエンス研究資源バンクとの意見調整に基づき、プールドミクロソームの調製とバンクへの再提供、ならびに遺伝子解析可能検体を用いた日本人の CYP 多型解析を継続している。

7) ヒト組織の研究への提供過程の倫理的監査

本研究における倫理的・科学的検証の監査役として次の3項目を行った。すなわち、1) ヒト肝臓の分離手法を一定化する目的で昨年度より開始したミニブタ肝をシミュレーションとして分担協力施設に分配。2) 台湾長庚大学で行なわれている冷却下肝切除法について検討し、その有効性と安全性について討

議。3) 試料提供者となる患者に対するインフォームド・コンセントについて本研究関連施設の現状を調査。なお3)項については、別途分担研究を行なっている研究班 (KH72078) との合同で行なった。

D. 考察

すでに結果の項に各論的な考察は含めてしまったので、ここでは本研究ならびにわが国のヒト組織の研究利用全般に関する考えを述べてみる。

前述のように、外科切除検体から正常組織を得て研究資源とすることには限界がある。特に、肝切除術の過半はウイルス性肝がんが対象であり、公共研究資源としては適さない。また、非ウイルス性病変の肝切除術の場合でも、摘出部位は最小限であり、また検体自体が温阻血を経ており、灌流に適した脈管系も分断されている。実際、従来の研究で、多くの場合、1gから10⁶細胞程度しか得られていない。

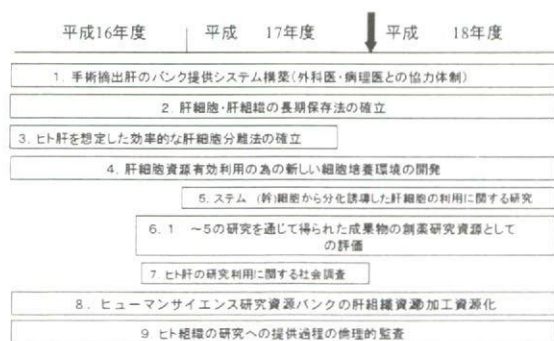
本年度の鈴木分担者のアンケート調査結果にあるように、移植医療への臓器提供に前向きな市民は、研究への臓器提供にも理解を示している。欧米では移植医療と移植不適合臓器の研究資源化が、平行して進んできたことを考えると、わが国でもその方向性を考慮すべきではないかと考えている。ここでひとつ注意したいのは、現在わが国の法で禁止されているのは、移植を目的として摘出された臓器が、医学的評価で不適合とされた時には焼却処分しなくてはならない、という文言の再確認である。すなわち、脳死体からは移植目的の臓器摘出ししか認められていないことから、摘出臓器が仮に移植不適合であれば焼却しなくてはならない。一方、心停止ドナーの場合は、移植を目的として摘出された腎臓などの臓器はこれが当てはまるが、それ以外の臓器の取り扱いに関する規定はないということである。実際、心停止ドナーから皮膚、心臓弁、臍島などが摘出され、組織移植に用いられている。この時に、例えば肝臓の一部を研究に提供していただき、研究に利用することが、わが国の法や指針のもとで可能かを検討する必要がある。これはルールの隙間を利用しての暴走になってはならない。あくまでも、まず、論理的な可不可を検討した後に、社会に提示するという手順を踏んだ後に行うべきことと考えている。

実際、欧米でも移植ドナーの不足は慢性的に深刻であり、その結果、研究用ヒト組織も不足している。この場合、移植ドナーと異なり、少々問題があるのは、不足によってその費用 (ヒト由来物の場合、対価ではなく、流通に伴うコストという概念になる) が上昇するという点である。これはいかにコストであるとしても、現実には高値で取引されることに他ならない。こういった世界の状況に対して、日本発の倫理的合理性のあるヒト組織供給システムを提示することは今まで組織を得ることに苦心しているわが国でこそできるテーマではないかと考えている。

最後に、次年度の計画について簡単に触れたい。本研究は概ね図2に示す年次計画に従って進んでい

る。肝細胞が凍結によっても活性を保つ条件や、解凍後に接着し生存率を高める方法も徐々に見えてきている。この部分をさらに推進するために、基材面および細胞生物学的側面の研究を行う計画である。基材については、細胞アレイの他、接着性を高めるとされるいくつかの素材の検討を始めている。一方、生物学的な側面からは、接着できない細胞とできる細胞の違いを解析する研究プロトコルを準備している。前述のように、研究用ヒト由来組織は世界的に不足しているため、このような研究はわが国だけの利用に留まらず、世界へ向けた新規技術となるものと期待できる。

図2 本研究の年次計画と進捗状況



E. 結論

公共的ヒト組織バンクを中心とし、創業に向けた肝組織・細胞の研究利用システムの構築を、以下のサブテーマを融合させながら遂行した。手術摘出肝のバンク提供システム構築では、病院内スタッフの協力体制の構築を、インフォームド・コンセントの在り方から、検体保存や処理法について検討した。ラットおよびヒト肝臓を用いた基礎的検討では、Celsior液が保存に優れることと凍結保存におけるCAS凍結の有効性が確認された。従来より我々が提唱しているインフォームド・コンセントの二段階プロトコルは、医療・研究者側の視点では順調に機能しているように見える。しかしながら、説明者が医師である以上、患者の従属関係が必ずしも改善できない可能性が指摘された。改善案として治験コーディネーターのような立場の者が必要とされた。肝細胞・肝組織の長期保存法の確立では、凍結保存液における糖質の添加効果を詳細に調べた。13種類の単糖、オリゴ糖、環状糖と多糖(デキストラン)を、ジメチルスルフォキシドを凍結保護剤とする従来の細胞凍結溶液に添加して調べた。トレハロースだけでなく、長鎖オリゴ糖のマルトヘプタオースで著名な生細胞率および解凍後細胞の生存率の上昇が見られた。解凍細胞の培養時に細胞マトリックスを組み合わせることで、細胞生存率の上昇が見られた。肝細胞の凍結保存技術は、総合的体系化によって、さらに改良可能と考えられた。肝細胞の新規培養環境の開発では、各種細胞外マトリックス成分のゲル薄膜基材を作製してラット初代肝実質細胞の機能維持を検討し、I型コラーゲンゲル薄膜

を用いたサンドイッチ培養が肝細胞機能維持に良好な結果を示すことがわかった。細胞アレイ培養では、基板と修飾分子の改良によって、スフェロイド形態がさらに良好に保たれるようになった。さらに細胞アレイを用いた凍結ヒト肝細胞の初代培養実験では、多くのCYP分子種において単層培養より高い活性が長期間維持されることがわかった。システム(幹細胞)から分化誘導した肝細胞の利用に関する研究では、ヒト脂肪組織由来間葉系幹細胞がHIFC分化誘導システムによって肝細胞へ分化誘導されることがわかった。ヒト肝の研究利用に関する社会調査は、臓器を研究目的で提供するかの市民の意識調査を行ったところ、多くの人が、移植不適合臓器の研究転用に関して賛成の考えを持っていた。また米国のヒト肝細胞研究利用状況の調査を行った。

F. 研究発表

1. 論文発表

- Omasa T, Kim K, Hiramatsu S, Katakura Y, Kishimoto M, Enosawa S, Ohtake H. Construction and evaluation of drug-metabolizing cell line for bioartificial liver support system. *Biotechnology Progress* 21; 161-167, 2005
- 絵野沢 伸. ヒト組織を研究利用するためのインフォームド・コンセントのあり方. *臨床薬理* 36(3); 123-124, 2005
- 絵野沢 伸. トピックス. 生体肝ドナー調査. *Organ Biology* 12(1); 73-77, 2005
- 宮本義孝, 絵野沢 伸. 細胞の保存と蘇生. *Organ Biology* 12(4); 263-272, 2005
- Otsuka H, Satomi T, Hirano A, Nagasaki Y, Kataoka K. Two-dimensional Array Formation of Multi-Cellular Spheroids on Micro-patterned Polymer Brush Surfaces. *Key Engineering Materials*; 2005, vols. 288-289, 449-452.
- Sakata T, Miyahara Y, Maruyama S, Otsuka H. Tripodal Thiol-Derivatives as a Functional Interface Monolayer for Immobilization of Biomolecules. *IEEE EMBS*; 2005; 215-218.
- Otsuka H, Kataoka K. Multisite Array Formation of Cell Spheroids on a Microfabricated PEG-Brush Surface and Their Stabilization of Tissue Like Functions. *Bioindustry*, 23(1), 23-30, 2006.
- Otsuka H, Satomi T, Ueno K, Suzuki S, Enosawa S, Kobayashi H, Kataoka K, Tanaka J. Development of spheroid array with long-term cell viability for biomedical application: novel molecular design for cellular array fabrication. *The 8th TESI Annual Meeting of*

- Tissue Engineering Society International, 305, 2005.
9. Otsuka H, Satomi T, Ueno K, Takayama G, Taniguchi A, Kobayashi H, Kataoka K, Tanaka J. Nano-and micro-fabricated surface for two-dimensionally alligned spheroid with long-term viability. The China-Japan Symposium on Regenerative Medicine, 116, 2005.
 10. 大塚英典. 高分子界面設計と細胞・組織(スフェロイド)エンジニアリング. 再生医療のためのバイオエンジニアリング, 10 章, コロナ社, 印刷中.
 11. Satomi T, Ueno K, Kobayashi H, Tanaka J, Tateishi T, Otsuka H. Synthesis of Polypyridine-graft-PEG Copolymer for Protein Repellent and Stable Interface. J Nanosci Nanotech in press.
 12. 若林正, 絵野沢伸, 小林英司: 法学者と共に考えるヒト由来研究試料に関するインフォームド・コンセント③- インフォームド・コンセントをめぐる諸問題-. 再生医療 4(2):108-118, 2005
 13. 丸山英二, 絵野沢伸, 若林正, 小林英司: インフォームド・コンセント及び, 代諾をめぐる諸問題と政府指針(後半). Organ Biology 12(1):65-72, 2005
 14. (記録集) 小林英司. 先端医学研究と倫理- 専門家と市民との相互理解の視点から-. ヒトゲノム・再生医療等研究推進事業先端医学研究等普及啓発セミナー 横浜(平成17年10月1日), 神戸(平成17年12月10日)
 15. 小林英司. ヒト由来資源の応用. 日本生命倫理学会 第17回年次大会座長報告集(ニューズレター) 平成18年2月
 16. Chen Y, Kobayashi N, Suzuki S, Soto T, Gutierrez A, Rivas-Carrillo JD, Tanaka K, Navarro-Alvarez N, Fukazawa T, Narushima M, Miki A, Okitsu T, Amemiya H, Tanaka N. Transplantation of human hepatocytes cultured with deleted variant of hepatocyte growth factor prolongs the survival of mice with acute liver failure. Transplantation 79(10):1378-85, 2005
 17. Hakura A, Shimada H, Nakajima M, Sui H, Kitamoto S, Suzuki S, Satoh T. Salmonella/human S9 mutagenicity test: a collaborative study with 58 compounds. Mutagenesis 20(3):217-28, 2005
 18. Fujikawa Y, Satoh T, Sugauma A, Suzuki S, Niikura Y, Yui S, Yamaura Y. Extremely sensitive biomarker of acute organophosphorus insecticide exposure. Hum Exp Toxicol 24(6):333-6, 2005
 19. Taniguchi R, Kumai T, Matsumoto N, Watanabe M, Kamio K, Suzuki S, Kobayashi S. Utilization of human liver microsomes to explain individual differences in paclitaxel metabolism by CYP2C8 and CYP3A4. J Pharmacol Sci 97(1):83-90, 2005
 20. Teratani T, Yamamoto H, Aoyagi K, Sasaki H, Asari A, Quinn G, Sasaki H, Terada M, Ochiya T. Direct hepatic fate specification from embryonic stem cells. Hepatology 41: 836-846, 2005
 21. Yamamoto Y, Teratani T, Quinn G, Murata S, Ikeda R, Kinoshita K, Matsubara K, Kato T, Ochiya T. Recapitulation of in vivo gene expression during hepatic differentiation from embryonic stem cells. Hepatology 42: 558-567, 2005
 22. Banas A, Quinn G, Yamamoto Y, Teratani T, Ochiya T. Stem cells into liver-basic research and potential clinical applications. Adv Exp Biol Med 3-17, 2005
 23. Teratani T, Quinn G, Yamamoto Y, Sato T, Yamanokuchi H, Asari A, Ochiya T. Long-term maintenance of liver-specific functions in cultured ES cell-derived hepatocytes with hyaluronan sponge. Cell Transplant 14: 629-635, 2005
2. 学会等発表
 1. 宮本義孝, 山田奈央, 櫻村彩, 野村鴻, 絵野沢伸. 再生医療・創薬研究への利用を目指した肝細胞の凍結保存液の組成の検討. 第5回日本再生医療学会総会 岡山 平成18年3月8-9日
 2. 絵野沢伸. トランスポーターの医工学的利用. ワークショップ4. 薬物体内動態, 代謝酵素とトランスポーター. 第12回日本臓器保存生物医学学会総会 筑波 平成17年11月25-26日
 3. 宮本義孝, 山田奈央, 絵野沢伸. 糖質を利用した肝細胞の保存技術の開発とその有用性. シンポジウム1. 細胞・組織・臓器保存法の進展. 第12回日本臓器保存生物医学学会総会 筑波 平成17年11月25-26日
 4. 絵野沢伸. 医学研究における人由来組織の必要性. ワークショップ2. ヒト由来資源の応用. 日本生命倫理学会第17回年次大会 東京 平成17年11月19-20日
 5. 宮本義孝, 山田奈央, 絵野沢伸. 糖質効果を利用したヒト肝細胞の凍結保存. 日本生物工学会

- 第57回大会 筑波 平成17年11月15-17日
6. 若林 正、絵野沢 伸、小林英司. 医学研究における「既存試料」の取扱いに関する一般市民の意識. 第4回日本再生医療学会総会 大阪 平成17年3月1-2日
 7. 遠藤光史, 絵野沢伸, 土田明彦, 宮下智之, 北村慶一, 池田隆久, 井上敬一郎, 齊藤準, 和田建彦, 勝又健次, 小澤隆, 青木達哉, 日本肝胆膵外科関連会議. 平成17年6月9日-10日, パシフィコ横浜 (横浜)
 8. 遠藤光史, 絵野沢伸, 土田明彦, 宮下智之, 北村慶一, 池田隆久, 齊藤準, 和田建彦, 粕谷和彦, 勝又健次, 小澤隆, 青木達哉, 日本消化器外科学会定期学術総会. 平成17年7月20日-22日, 新高輪プリンスホテル(東京)
 9. 遠藤光史, 絵野沢伸, 土田明彦, 宮下智之, 北村慶一, 池田隆久, 齊藤準, 和田建彦, 粕谷和彦, 勝又健次, 小澤隆, 青木達哉, 日本肝臓学会大会. 平成17年10月5日-6日, 神戸国際会議場(神戸)
 10. 遠藤光史, 絵野沢伸, 土田明彦, 北村慶一, 池田隆久, 齊藤準, 和田建彦, 粕谷和彦, 勝又健次, 小澤隆, 青木達哉, 日本臨床外科学会. 平成17年11月9日-11日, 新高輪プリンスホテル(東京)
 11. Hirano A, Ichino M, Otsuka H, Suzuki S, Enosawa S, Nagasaki Y, Kataoka K. Effect of the size of cell-adhesive micropattern for the preparation of hepatocyte spheroids and maintaining their functions, Society for Biomaterials 30th Annual Meeting, Memphis Cook Convention Center, Memphis, TN, USA 2005/04/27-30
 12. 平野覚浩, 池谷武志, 渋谷 徹, 大塚英典, 鈴木 聡, 絵野沢 伸, 山崎裕一, 長崎幸夫, 片岡一則. 光リソグラフィによる肝細胞アレイの構築と高次機能維持の評価. 第54回高分子年次大会 平成17年5月 パシフィコ横浜
 13. 市野正洋, 里見智美, 大塚英典, 平野覚浩, 片岡一則, 長崎幸夫. パターン化細胞培養基板のための表面設計および細胞アレイの機能評価. 第54回高分子年次大会 平成17年5月25-27日 パシフィコ横浜
 14. 神保琢夫, 高江誓詩, 秋山好嗣, 大塚英典, 山崎裕一, 片岡一則. 表層にラクトースを有するPEG化金ナノ粒子のレクチン認識能とPEG鎖長の関係. 第54回高分子年次大会 平成17年5月25-27日 パシフィコ横浜
 15. 平野覚浩, 市野正洋, 池谷武志, 渋谷 徹, 大塚英典, 鈴木 聡, 絵野沢 伸, 長崎幸夫, 片岡一則. 種々の表面特性を有する基板上での光リソグラフィを用いた細胞アレイの調製. 第54回高分子討論会, 平成17年9月 山形大学
 16. 神保琢夫, 高江誓詩, 秋山好嗣, 大塚英典, 山崎裕一, 片岡一則. Lactoseを導入したPEG化金ナノ粒子におけるPEG鎖長-レクチン認識能相関のSPR解析. 第54回高分子討論会 平成17年9月 山形大学
 17. 平野覚浩, 大塚英典, 池谷武志, 渋谷徹, 鈴木聡, 絵野沢伸, 長崎幸夫, 片岡一則. 親水性高分子修飾による非特異吸着抑制界面の創製とセルアレイへの展開. 第49回日本学術会議材料研究連合講演会 平成17年9月 京大会館
 18. Hirano A, Ichino M, Ikeya T, Shibuya T, Suzuki S, Enosawa S, Nagasaki Y, Kataoka K. Developing the effective method for preparing the hepatocyte spheroid array using the photoreactive water-soluble polymers. 4th International Symposium on Surface Science & Nanotechnology 2005/10/19 Omiya Sonic City, Saitama, Japan
 19. 平野覚浩, 池谷武志, 渋谷徹, 大塚英典, 位高啓史, 鄭雄一, 長崎幸夫, 片岡一則. 細胞接着基質を固定化した表面上での光リソグラフィを用いた細胞パターンニング. 第27回日本バイオマテリアル学会 平成17年11月 京都テルサ
 20. 五十嵐 聡, 大塚英典, 大鷲圭吾, 矢島博文, 田中順三, 小林尚俊. ナノファイバー不織布における細胞応答の遺伝子解析. 第4回日本再生医療学会総会 2005/03/01-02
 21. 大塚英典. 高分子界面ナノ加工に基づく細胞アレイの構築とそのセンサー・再生医療分野への展開. つくば新技術講座, つくば研究支援センター 2005/01/12
 22. 五十嵐聡, 大塚英典, 大鷲圭吾, 矢島博文, 田中順三, 小林尚俊. 高機能化したナノファイバーの不織布の作製と評価. 第54回高分子学会年次大会 2005/05/25-27
 23. 坂田利弥, 宮原裕二, 丸山純夫, 大塚英典. 生体分子固定化用機能性分子の合成と固定化強度の向上. 2005年春季第52回応用物理学関係連合講演会 2005/03/29-04/01
 24. 大塚英典, 里見智美, 上野耕治, 小林尚俊, 片岡一則, 田中順三. Nanofabrication of Nonfouling Surfaces for Biomedical Application, 1st Japanese-Chinese Mini-Symposium on Biomaterials. NIMS 2005/03/24
 25. 坂田利弥, 宮原裕二, 丸山純夫, 大塚英典. Tripodal Thiol-Derivatives as a Functional Interface Monolayer for Immobilization of Biomolecules. 3rd International IEEE EMBS Special Topics Conference on Microte,

- IEEE-EMBS, 2005/05/12-14
26. 五十嵐聡, 大塚英典, 田中順三, 小林尚俊. DEVELOPMENT OF FUNCTIONAL NANOFIBROUS BIOMATERIALS, ソフトナノテクノロジー国際会議, 北海道大学, 物質・材料研究機構 2005/06/20-21
 27. 大塚英典, 里見智美, 高山剛, 谷口彰良, 片岡一則, 小林尚俊. Nanofabrication of Nonfouling Surfaces for Biomedical Fabrication, Society for Biomaterials 30th Annual Meetings, Society for Biomaterials, 2005/04/27-30
 28. 大塚英典, 上野耕治, 里見智美, 田中順三, 小林尚俊. Graft-copolymer including pyridine unit with multiple affinity on the biomedical device. ソフトナノテクノロジー国際会議, 北海道大学, 物質・材料研究機構, 2005/06/20-21
 29. 大塚英典, 上野耕治, 里見智美, 小林尚俊, 田中順三. バイオインターフェースを制御する新規高分子材料の開発, 第54回高分子討論会 2005/09/20-22
 30. 大塚英典, 里見智美, 上野耕治, 谷口彰良, 小林尚俊, 片岡一則, 田中順三. 高分子表面を用いた生体界面の機能制御, 第54回高分子討論会 2005/09/20-22
 31. 大塚英典, 上野耕治, 里見智美, 小林尚俊, 内田義之, 田中順三. pH変化で徐放するエプセレンのインテリジェント DDS. 第54回高分子討論会 2005/09/20-22
 32. 里見智美, 上野耕治, 高山剛, 谷口彰良, 小林尚俊, 大塚英典, 田中順三. 長期に環境安定性を有する高分子界面の創出と細胞アレイへの展開. 日本動物細胞工学会 2005 年度大会 2005/07/06-07
 33. 里見智美, 高山剛, 谷口彰良, 小林尚俊, 片岡一則, 大塚英典, 田中順三. 均一粒径を有する軟骨スフェロイドの創製とその機能解析, 第54回高分子討論会 2005/09/20-22
 34. 大塚英典. 細胞の微小組織アレイの開発と診断・再生医療への展開. 日本動物細胞工学会 2005 年度大会 2005/07/06-07
 35. 五十嵐聡, 大塚英典, 田中順三, 小林尚俊. エレクトロスピンニング法を用いた細胞足場材料の作製, 第8回日本組織工学会, 2005/09/01-02
 36. 五十嵐聡, 大塚英典, 田中順三, 小林尚俊. エレクトロスピンニング法を用いた新規ナノ生体材料の開発, 第54回高分子討論会 2005/09/20-22
 37. 里見智美, 小林尚俊, 片岡一則, 田中順三, 大塚英典. PEGを用いたバイオマテリアル. 21世紀バイオ若手の会 2005/08/13
 38. 大塚英典, 里見智美, 高山剛, 谷口彰良, 小林尚俊, 田中順三, 片岡一則, 立石哲也. Two-dimensional array formation of multi-cellular spheroids for tissue engineering, 4th Annual Meeting of the European Tissue Engineering Society (ET, European Tissue Engineering Society, 2005/08/31-09/03
 39. 大塚英典. 高分子薄膜を用いた生体界面の反応制御, 第66回応用物理学会学術講演会 2005/09/07-11
 40. 大塚英典, 里見智美, 上野耕治, 鈴木聡, 絵野沢伸, 小林尚俊, 片岡一則, 田中順三. Development of spheroid array with long-term cell viability for biomedical application: novel molecular design for cellular area, 8th TES Annual Meeting, Tissue Engineering Society, 2005/10/22-25
 41. 大塚英典, 里見智美, 上野耕治, 高山剛, 谷口彰良, 小林尚俊, 片岡一則, 田中順三. Nano-and micro-fabricated surface for two-dimensionally aligned spheroid with long-term viability, The China-Japan Mini-Symposium 2005 on Regenerative Medicine, NIMS, Biomaterials Center/Shanghai Tissue Engineering Center, 2005/10/21
 42. 五十嵐聡, 大塚英典, 田中順三, 小林尚俊. 表面修飾した高分子ナノファイバーの作製とその評価, 第27回日本バイオマテリアル学会大会 2005/11/28-29
 43. 里見智美, 大塚英典, 上野耕治, 高山剛, 谷口彰良, 小林尚俊, 片岡一則, 田中順三. スフェロイドシートの生化学的機能評価, 第16回バイオマテリアル若手研究会 2005/11/18-19
 44. 里見智美, 大塚英典, 上野耕治, 高山剛, 谷口彰良, 小林尚俊, 片岡一則, 田中順三. PEG系高分子を用いた細胞接着制御表面の創製, 第27回日本バイオマテリアル学会大会 2005/11/28-29
 45. 上野耕治, 大塚英典, 里見智美, 小林尚俊, 田中順三. PEG系高分子界面の物理化学的検討 第27回日本バイオマテリアル学会大会 2005/11/28-29
 46. 大塚英典. 細胞機能とその挙動を制御するナノバイオインターフェースの創製 第27回日本バイオマテリアル学会大会 2005/11/28-29
 47. 藤田洋平, 上野耕治, 里見智美, 矢島博文, 小林尚俊, 田中順三, 大塚英典. Py-g-PEG コポリマーの界面における物理化学的特性, 第16回日本MRS学術シンポジウム, (社)未踏科学技術協会 2005/12/09-11
 48. 大塚英典. 多点吸着型高分子による表面修飾, 第16回日本MRS学術シンポジウム 2005/12/09-11

49. 大鷲圭吾, 上野耕治, 里見智美, 陳国平, 小林尚俊, 田中順三, 大塚英典. 刺激応答性アゾ基含有フェニルポロン酸の光スイッチング, 第16回日本MRS学術シンポジウム 2005/12/09-11
50. 星野裕樹, 石井武彦, 大塚英典, 片岡一則. 機能性PEG安定化金ナノ粒子による低分子物質の高感度SPRセンシング. 第54回高分子学会年次大会 2005/05/25-27
51. 大鷲圭吾, 里見智美, 上野耕治, 陳国平, 大塚英典. 光応答性機能性分子の創製. 茨城高分子若手の会(高分子学会) 2005/11/01-02
52. 藤田洋平, 里見智美, 上野耕治, 大塚英典, 矢島博文. PEG-g-pyridine コポリマーの界面における物理化学的特性. 茨城地区高分子若手の会(高分子学会) 2005/11/01-02
53. 永吉美紀子, 小山博之, 高戸毅, 小林尚俊, 大塚英典, 田口哲志, 五十嵐聡, 田中順三, 再生臓器の血管化. 第8回日本組織工学会 2005/09/01-02
54. 長崎幸夫, 内田勝美, 大塚英典, 片岡一則. Surface molecular engineering by mixed tethered chains. AMERICAN CHEMICAL SOCIETY 229, 2005/03/11-14
55. 小林英司, 高久史鷹. ヒト由来資源の応用. 日本生命倫理学会 第17回年次大会, 東京, 平成17年11月19日.
56. 小林英司. 先端医学研究と倫理- 専門家と市民との相互理解の視点から-. ヒトゲノム・再生医療等研究推進事業 先端医学研究等普及啓発セミナー 横浜 平成17年10月1日
57. 小林英司. 先端医学研究と倫理- 専門家と市民との相互理解の視点から-. ヒトゲノム・再生医療等研究推進事業 先端医学研究等普及啓発セミナー 神戸 平成17年12月10日
58. 中沢有紀子, 上野光一, 竹澤俊明. 細胞外マトリックスゲル薄膜を用いたラット初代肝細胞培養法の開発と応用. 第32回日本トキシコロジー学会学術年会 タワーホール船堀 平成17年6月29日 口頭発表 抄録集 p159
59. 中沢有紀子, 上野光一, 竹澤俊明. 細胞外マトリックス成分のゲル薄膜を用いた新規ラット初代肝細胞培養系の開発. 第12回肝細胞研究会 東京大学医学部鉄門記念講堂 平成17年7月8日 ポスター発表 プログラム・抄録集 p76
60. 中沢有紀子, 上野光一, 竹澤俊明. ラット初代肝細胞の機能維持に優れた新しいゲル薄膜サンドイッチ培養法. 平成17年度日本生物工学会大会 つくば国際会議場文部科学省研究交流センター 平成17年11月17日 口頭発表 講演要旨集 p. 227
61. 竹澤俊明. 創薬および再生医療を指向して開発している肝細胞培養技術の現状とその展望. 2005年度第二回動物細胞工学シンポジウム 東大山上会館 平成17年11月30日 招聘講演
62. 中沢有紀子, 上野光一, 竹澤俊明. ラット初代肝細胞の機能維持に優れたゲル薄膜サンドイッチ培養法. 日本動物実験代替法学会第19回大会フォーラム 246 平成17年12月2日 ポスター発表 大会プログラム要旨集 p. 138
63. 寺谷 工, 玉谷卓也, 落谷孝広. ヒト間葉系幹細胞由来成熟肝細胞の肝疾患研究への応用. 第64回日本癌学会学術総会 札幌 平成17年9月14-16日
64. Banas Agnieszka, 寺谷 工, 徳原 真, Quinn Gary, 落谷孝広. ヒト肝細胞のソースとしての間葉系幹細胞の有用性. 第64回日本癌学会学術総会 札幌 平成17年9月14-16日
65. 山本雄介, 寺谷 工, Quinn Gary, 加藤尚志, 落谷孝広. Recapitulation of in vivo gene expression during hepatic differentiation from mouse embryonic stem cells. Society for Developmental Biology 64th Annual Meeting. USA, 平成17年8月
66. 寺谷 工, 山本雄介, 玉谷卓也, 落谷孝広. ヒト骨髄細胞由来間葉系幹細胞の加齢に伴う肝細胞分化への影響. 第28回日本分子生物学会年会 福岡 平成17年12月7-10日
67. 山本雄介, 寺谷 工, 野川菜美, 石田貴子, 加藤尚志, 落谷孝広. ES細胞の肝細胞分化誘導系における肝幹細胞の探索. 第18回日本分子生物学会年会 福岡 平成17年12月7-10日
68. 寺谷 工, 山本雄介, Quinn Gary, Banas Agnieszka, 落谷孝広. 移植医療としての間葉系幹細胞由来ヒト肝細胞の評価. 第5回日本再生医療学会総会 岡山 平成18年3月8-9日
69. Banas Agnieszka, 徳原 真, 寺谷 工, Quinn Gary, 山本雄介, 大河内 仁, 落谷孝広. Human adipose stem cells as a source of functional hepatocytes. 第5回日本再生医療学会総会 岡山 平成18年3月8-9日

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 出願人; ヒューマンサイエンス振興財団
発明者; 絵野沢 伸, 竹澤俊明
発明の名称; 任意の形状のビトリゲルと、当該ビトリゲルの製造方法
出願番号; 特願 2006-25682
2. 出願人; 片岡一則, 東洋合成工業(株)
発明者; 片岡一則, 平野覚浩, 池谷武志, 渋谷 徹
発明の名称; 高分子複合体
出願番号; 特開 2005-280076

平成17年度

創薬等ヒューマンサイエンス研究
重点研究報告書

平成18年7月31日発行

発行 財団法人 ヒューマンサイエンス振興財団
〒103-0001 東京都中央区日本橋小伝馬町13番4号
共同ビル（小伝馬町駅前）4F
電話 03(3663)8641 FAX 03(3663)0448

印刷 株式会社 ソーラン社