

平成18年度

政策創薬総合研究
重点研究報告書（I）

目 次

課題番号		
KH11001	バイオフィotonics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 …… 16
KH12072	変異を克服した画期的抗ウイルス薬の開発	野口博司 …… 21
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 …… 30
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 …… 40
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 …… 100
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 …… 126
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 …… 144
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 …… 154
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 …… 168
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 …… 181
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 …… 196
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 …… 208
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 …… 221
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 …… 235
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 …… 247
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 …… 262
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 …… 286
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 …… 300
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 …… 310
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 …… 318

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 …… 344
KH31024	超難溶性薬物の効率的製剤化に非品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 …… 358
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 …… 373
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 …… 390
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 …… 402
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 …… 417
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 …… 435
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的手法の開発に関する研究	斎藤嘉朗 …… 449
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 …… 466
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 …… 481
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 …… 494
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 …… 509
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 …… 525
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 …… 537
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	網脇祥子 …… 551
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 龍兒 …… 566
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 …… 576

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

所 属 国立医薬品食品衛生研究所 生物薬品部

研究者 山口 照英

研究期間 平成 16 年 4 月～平成 19 年 3 月

研究要旨 血管内皮前駆細胞 (EPC) の有用性確保に関する研究として、EPC の増幅法ならびに特性指標を明らかにした。また、微細加工基盤作製技術を確立して *in vitro* で細胞のマイクロパターンニングを可能にし、*in vitro* で形成された毛細血管の細胞治療薬としての有用性を明らかにすると共に、本法が細胞の機能評価系として応用できる可能性を示した。

分担研究者

(1) 東京医科歯科大学 森田 育男

(2) 大日本印刷株式会社 服部 秀志

A. 研究目的

近年、幹細胞学や発生学の急速な進歩やバイオテクノロジー応用技術の発展により、ヒトまたは動物の細胞や組織を培養、加工し、様々な疾患の治療に用いる細胞組織利用医薬品の開発が急速に進んでいる。このように細胞や組織を医療に用いることができれば、ガン、筋ジストロフィー、再生不良性貧血、心筋梗塞などの致死的な疾患、あるいは糖尿病、リウマチ、骨粗しょう症、重篤な肝疾患、神経疾患、熱傷、創傷等に対してきわめて有効な治療法（いわゆる細胞治療・再生医療）になる可能性が高い。本邦においても、様々な形で細胞組織利用医薬品の開発が進められているところであるが、本格的な実用化に至るためには検討すべき課題は多い。本研究では、細胞組織利用医薬品の品質や安全性の確保、また有効性等を適切に評価できる試験法の開発を行うとともに、開発した評価技術を用いて、より安全性が高く高品質の製品の実用化に向けた基盤技術の開発につなげていくことを目的としている。

平成 16 年度からの 3 年間で、虚血性疾患の治療薬として精力的に研究開発が進められている血管内皮前駆細胞 (EPC) の有用性確保に関する研究として、EPC の増幅法ならびに特性指標に関する検討を行った。また、微細加工基盤作製技術を確立して *in vitro* で細胞のマイクロパターンニングを可能にし、*in vitro* で形成された毛細血管の細胞治療薬としての有用性を評価すると共に、細胞の機能評価系として応用できる可能性を示した。

B. 研究方法

1) AC133 陽性細胞由来 CD31 強陽性細胞の調製

臍帯血あるいは末梢血からマイクロビーズを用いて AC133 陽性細胞を分離し、タイプIVコラーゲンコートプレート上で培養後、フローサイトメーターで CD31 の発現を解析した。必要な場合には FACS により CD31 強陽性細胞のソーティングを行った。

2) EPC の特性指標に関する検討

CD31 強陽性細胞を 96 穴プレートで培養し、培養上清中のサイトカイン濃度を Bio-Plex サイトカインアッセイを用いて測定した。細胞表面マーカーは抗体標識後、フローサイトメーターで解析した。

3) 細胞遊走

ボイデンチャンバー法を用い、48 穴のマイクロウエルの下室に種々の濃度の IL-8 を含んだ培地を加え、上室には OEC を播種した。37°C でインキュベーションして遊走させた後、フィルターの下側の細胞を固定・染色し、細胞数を数えた。

4) 光触媒法を用いた血管内皮細胞接着用基板のパターン化

ガラス表面をテトラエチレングリコール (TEG) 化した基盤を作製し、TEG 化基盤上に光触媒含有層付きフォトマスクを配置して、紫外線をマスク背面から照射することによりパターンニングを行った。

5) 血管内皮細胞の基板上でのパターン化と基板上に培養した血管内皮細胞のマトリゲルへの転写

パターン化基盤の上に血管内皮細胞を播種後、基

盤の上に接着した細胞をマトリゲルコートガラス版上に重ね、さらに培養した。その後、基盤をはがすことにより、血管内皮細胞をマトリゲルに転写した。この転写工程中に血管内皮細胞は管腔を形成する。

6) 作成した血管の *in vivo* への移植実験

パターンニングした基板から羊膜に転写して作製した血管付き羊膜シートを、下肢の血管を結紮した *occlusion* モデルマウスに移植し、血流、行動パターンを観察し、スコア化した。また、蛍光色素を取り込ませた血管内皮細胞を用い、蛍光染色された血管に血液が流れているかを組織化学的に検討した。

(倫理面への配慮)

ヒト由来の生体試料を用いる場合は、試料提供者は一切不利益、危険性が伴わないように配慮し、人権擁護を含めたインフォームドコンセントのもとに試料を採取するとともに、研究目的を含め、研究内容の倫理的、科学的妥当性について適正な倫理委員会による審査・承認を得た上で行った。

C. 研究成果

C-1. EPC 増幅法に関する検討

我々はこれまで、ヒト末梢血あるいは臍帯血から分画した AC133 陽性細胞から EPC を分化・誘導する系を確立し、AC133 陽性細胞に由来する CD31 強陽性細胞が活性の高い EPC であることを報告してきた。EPC を移植される患者の負担やリスクを軽減するには、AC133 陽性細胞から CD31 強陽性細胞を効率よく増幅する方法の確立が望まれる。

AC133 陽性細胞に、VEGF 単独、あるいは TPO や SCF を添加して培養し、細胞数の増加と CD31 強陽性細胞の比率の変化を解析し、CD31 強陽性細胞の増加率を定量した。VEGF に SCF を添加しただけでは CD31 強陽性細胞数の比率は観察できなかった。一方、VEGF に TPO を添加すると、末梢血では対照の 0.46% から 2.3% に臍帯血では 0.35% から 2.6% にと CD31 強陽性細胞の比率が増加した。これらの結果から、TPO により CD31 強陽性細胞の増幅が起こることが示された。

C-2. EPC の特性指標の解析

CD31 強陽性細胞と CD31 陽性細胞のサイトカイン産生能を測定した。GM-CSF、TNF- α 、bFGF、G-CSF の産生能はそれほど高くないと考えられた。

一方、VEGF 産生能は比較的高いが、末梢血及び臍帯血由来 CD31 強陽性細胞と CD31 陽性細胞の間で産生能に大きな差は認められなかった。IL-8 の産生能は CD31 強陽性細胞が顕著に高く、100-200 ng/ml 以上の IL-8 産生が認められた。細胞表面分子のフローサイトメトリー解析により、CD31 強陽性細胞はコネクシン 37 陽性、Lox-1 弱陽性、VE-Cadherin 陰性であることが分かった。

C-3. IL-8 の OEC 遊走促進効果

臍帯血単核球を 2 週間程度培養すると、CD31 陽性、eNOS 陽性の均一な細胞集団 Outgrowth Endothelial Cell(OEC)が得られる。OEC はそれ自身が管腔形成能を有するとされており、生体内で EPC と相互作用しながら血管形成に関わっていると考えられる。

EPC が高い IL-8 産生能を持つことから、IL-8 が OEC に作用する可能性を考え、OEC の IL-8 受容体発現をフリーサイトメトリーにより解析し、さらに、細胞遊走を指標として OEC の IL-8 に対する反応性を解析した。OEC における IL-8 受容体の発現をその抗体を用いて解析した結果、OEC は IL-8 受容体を発現していることが明らかとなった。ポイデンチンバー法を用いて IL-8 による OEC の遊走促進効果を検討したところ、0.1 ng/ml という低濃度の IL-8 で OEC の遊走が有意に促進され、1.0 ng/ml で最大効果を示した。

C-4. 微細加工基盤作製技術の確立

EPC や OEC を用いた細胞治療薬の生物活性や有効性の評価を目的とした新規毛細血管形成技術の開発を行った。コーティング材料としてエチレングリコール (TEG) 系材料を用いた微細加工基盤作製技術を検討し、細胞マイクロパターンングを応用した *in vitro* での毛細血管形成法を確立することができた。また、細胞の種類に応じて TEG コーティングの水和能を制御することによって、最適な細胞パターンニング/転写条件を設定することができた。

C-5. *In vitro* で作製した血管の移植実験

パターンニングされた基板を利用して作製した血管付き羊膜を免疫不全マウスに移植し、血流、動物動態、組織染色などを行った。その結果、組織染色においては、蛍光色素を取り込ませた donor の血管内皮細胞由来毛細血管においても、その内腔に血球が

確認された。さらに、既存の血管を結紮した下肢の血流が羊膜のみを移植(control)した動物に比較し、速やかに回復することが確認された。また、運動機能の回復が認められた。この結果から、in vitro で形成し血管が生体内においても機能し得ることが確認できた。

C-6. 再生医療に用いるべき細胞の有用性に関する研究

現実に細胞治療で用いられている EPC に関し、微細加工基盤を利用した管腔形成の実験系でその血管構築への影響を調べたところ、lateEPC は既存の血管とともに管腔形成に関与するが、earlyEPC は既存の血管を構築していた血管内皮細胞の遊走・増殖を促進することにより血管を最終的に増加させる可能性が示された。従って、本方法により、従来よりもより迅速に細胞の有用性の評価ができる系の構築ができたと考えられる。

D. 考察

血管内皮前駆細胞を細胞組織利用医薬品として用いることを考えると、ドナーは患者自身であると想定されるため、製造工程関連の要素としては細胞誘導の方法が特に重要であり、また、最終製品の安全性、生物活性や力価、純度に影響する試薬、添加剤なども重要な要素になると考えられる。一方で、確認試験や力価などの製品の品質特性を示す規格および試験方法を設定するには、細胞誘導の方法が確立され、目的とする細胞の特性指標が明らかになっていなければならないことから、現状では、血管内皮前駆細胞の誘導方法の確立と細胞特性指標の探索が最も重要な課題であると考えられる。本研究の成果は、血管内皮前駆細胞を細胞治療薬として用いる際の製造方法ならびに品質評価法の確立に有用であると考えられる。

E. 結論

幹細胞や前駆細胞を素材とする細胞・組織加工医薬品等の製造過程における品質・安全性確保技術や製品の評価方法に関する研究として、血管内皮前駆細胞 (EPC) の増幅法ならびに特性指標に関する検討を行い、Thrombopoietin が EPC の誘導促進効果をもつことを明らかにした。また、EPC の特性指標として CD31 強陽性、IL-8、コネキシン 37 強陽性、

Lox-1 弱陽性、VE-Cadherin 陰性を同定した。IL-8 については Outgrowth Endothelial Cell の遊走促進作用を持つことが明らかになり、EPC の産生する IL-8 が EPC の重要な特性指標となることが示された。

細胞のマイクロパターンニングが可能な微細加工基盤作製技術を確立し、in vitro で自在にパターン化された毛細血管網を形成する方法を確立した。in vitro で作成した血管は、in vivo において血管として十分に機能するものであった。また、この方法は採取した細胞の血管新生能の評価系としても応用可能であった。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kanayasu-Toyoda T, Fujino T, Oshizawa T, Suzuki T, Nishimaki-Mogami T, Sato Y, Sawada J, Inoue K, Shudo K, Ohno Y, Yamaguchi T, *J. Steroid Biochem Mol* 94(4), 303-9 (2005)
- 2) Hosono T, Mizuguchi H, Katayama K, Xu Z.L., Sakurai F, Ishii-Watabe A, Kawabata K, Yamaguchi T, Nakagawa S, Mayumi T, Hayakawa T. Adenovirus vector-mediated doxycycline-inducible RNA interference. *Hum. Gene Ther.*, 15, 813-819 (2004)
- 3) Uchida E, Sato K, Iwata A, Ishii-Watabe A, Mizuguchi H, Hikata M, Murata M, Yamaguchi T, Hayakawa T: An improved method for detection of replication competent retrovirus in retrovirus vector products, *Biologicals*, 32, 139-146 (2004)
- 4) Yoji Sato, Ryo Nakamura, Mitsutoshi Satoh, Kayoko Fujishita, Satoko Mori, Helen Kiriazis Seiichi Ishida, Teruhide Yamaguchi, Kazuhide Inoue, Taku Nagao and Yasuo Ohno: Thyroid Hormone Targets Matrix Gla Protein Gene Associated with Vascular Smooth Muscle Calcification. *Circulation Res.* 97, 550-557 (2005)
- 5) Fuminori Sakurai, Kenji Kawabata, Naoya Koizumi, Naokazu Inoue, Masaru Okabe, Teruhide Yamaguchi, Takao Hayakawa, and Hiroyuki Mizuguchi: Adenovirus serotype 35 vector-mediated transduction into human CD46-transgenic mice. *Gene Therapy*. in press (2006)
- 6) Ishii-Watabe A, Kobayashi T, Suzuki T,

- Yamaguchi, T., Kawanishi, T., Influences of the recombinant artificial cell adhesive proteins on the behavior of human umbilical vein endothelial cells in serum-free culture. *Biologicals*, (in press)
- 7) Nana Kawasaki, Satsuki Itoh, and Teruhide Yamaguchi: LC/MSn for glycoproteome analysis: Glycosylation analysis and peptide sequencing of glycopeptides, *Methods in Molecular Biology*, (in press)
- 8) Uchida, E., Kogi, M., Oshizawa, T., Furuta, B., Satoh, S., Iwata, A., Murata, M., Hikata, M., Yamaguchi, T.: Optimization of the virus concentration method using polyethyleneimine-conjugated magnetic beads and its application to the detection of human hepatitis A, B and C viruses. *Journal of Virological Methods*, (in press)
- 9) Kanayasu-Toyoda, T., Suzuki, T., Oshizawa, T., Uchida, E., Hayakawa, T., Yamaguchi T.: Granulocyte Colony-Stimulating Factor Promotes The Translocation of Protein Kinase C α in Neutrophilic Differentiation Cells, *Journal of Cellular Physiology*. **211**, 189-196, (2007)
- 10) Yamaguchi, T., Uchida, E.: Regulatory Aspects of Oncolytic Virus Products. *CCDT Journal*, **7**, 203-208, (2007)
- 11) Sakurai F., Kawabata K., Koizumi N., Inoue N., Okabe M., Yamaguchi T., Hayakawa T., Mizuguchi H. Adenovirus serotype 35 vector-mediated transduction into human CD46-transgenic mice. *Gene Ther.*, **13**, 1118-1126 (2006)
- 12) Minamisawa S, Uemura N, Sato Y, Yokoyama U, Yamaguchi T, Inoue K, Nakagome M, Bai Y, Hori H, Shimizu M, Mochizuki S, Ishikawa Y.: Post-transcriptional downregulation of sarcolipin mRNA by triiodothyronine in the atrial myocardium. *FEBS Lett*, **580**, 2247-2252 (2006)
- 13) 内田恵理子、石井明子、山口照英：遺伝子治療薬及び細胞治療薬のウイルス安全性確保。 *日本臨床ウイルス学会誌*、印刷中
- 14) Chen BK, Huang CC, Chang WC, Chen YJ, Kikkawa U, Nakahama KI, Morita I, Chang WC. PP2B-mediated Dephosphorylation of c-Jun C-Terminus Regulates Phorbol Ester-induced c-Jun/Sp1 Interaction in A431 Cell. *Mol Biol Cell*. 2007 in press
- 15) Xu JW, Morita I, Ikeda K, Miki T, Yamori Y. C-reactive protein suppresses insulin signaling in endothelial cells. ---Role of Syk tyrosine kinase *Mol Endocrinol*. 2006 in press
- 16) Kojima T, Nakahama K, Yamamoto K, Uematsu H and Morita I. Age- and cell cycle-dependent changes in EPC-1/PEDF promoter activity in human diploid fibroblast-like (HDF) cells. *Mol. Cell. Biochem.*, **293**(1-2): 63-69, 2006
- 17) 森田育男. 微細加工技術を用いた毛細血管形成法/特集: THE SUPESIAL EDITION ノテク・MEMS で進化する細胞培養・マニピュレーション. *BIO INDUSTRY* (シーエムシー出版) **23**(2): 41-47, 2006年1月19日
- 18) 森田育男. 研究会 第39回河口湖心臓討論会. 討論者. *心臓* **38**(2):151-216, 2006. 日本心臓財団
- 19) Kim Y, Sato K, Asagiri M, Morita I, Soma K and Takayanagi H. Contribution of nuclear factor of activated T cells c1 to the transcriptional control of immunoreceptor osteoclast-associated receptor but not triggering receptor expressed by myeloid cells-2 during osteoclastogenesis. *J. Biol. Chem.*, **280**(38):32905-32913, 2005
- 20) Hosomichi J, Yasui N, Koide T, Soma K, Morita I. Involvement of the collagen I-binding motif in the anti-angiogenic activity of pigment epithelium-derived factor. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **335**:756-761, 2005
- 21) Ohno-Matusi K, Ichinose S, Nakahama K, Yoshida T, Kojima A, Mochizuki M, Morita I. The effects of amniotic membrane on retinal pigment epithelial cell differentiation. *Mol Vis.*, **11**:1-10, 2005
- 22) Nakamura M, Kobayashi A, Takagi F, Watanabe A, Hiruma Y, Ohuchi K, Iwasaki Y, Horie M, Morita I, Takatani S. Biocompatible inkjet printing technique for designed seeding of individual living cells. *Tissue Engineering* **11**(11/12); 1658-1666, 2005
- 23) 森田育男. 印刷技術を応用して毛細血管網を作ることに成功/わだい. *Medical Technology* **33** (5): 443-444, 2005
- 24) 森田育男: 製版と光触媒技術を活用した毛細血管の再生. *Review/バイオサイエンス. 未来材料* **6**(5):15-19, 2005
- 25) 森田育男. 印刷技術で血管を形成/世界初の血

- 管再生法を実現しました。「私たちにできることをする」、社会との新しい関わりを目指しています。印刷技術を核とした、企業市民としての活動に力を入れています。DNP グループ CRS 報告書 2005
- 26) 森田育男. 製版と光触媒技術を活用した毛細血管の再生/Review バイオサイエンス未来材料第5巻第6号(株) エヌティーエス. 光触媒技術情報 No.37 平成17年10月20日号. 309-313頁. (財)神奈川県科学技術アカデミー 光触媒オープンラボ.
 - 27) 森田育男. 次世代の再生医療を実現するバターン培養技術. 特集:進化するテクノロジー. 表面技術 56(12):887-891(181-185),2005 (社)表面技術協会.
 - 28) Asami-Miyagishi R, Iseki S, Usui M, Uchida K, Kudo H, Morita I. Expression and function of PPAR γ in rat placental development. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* , 315(2):497-501, 2004
 - 29) Arikawa T, Omura K, Morita I. Regulation of bone morphogenetic protein-2 expression by endogenous prostaglandin E2 in human mesenchymal stem cells. *J.Cell.Physiol.*, 200:400-406,2004
 - 30) 森田育男:印刷技術による毛細血管の再生/TOPICS、医学のあゆみ 2004
 - 31) 森田育男:印刷技術を利用した血管形成、治療(南山堂) 2004
 - 32) 中村真人、小林暁子、高城富美男、岩崎泰彦、森田育男、高谷節雄. インクジェットによる Tissue Engineering. *人工臓器* 33(2):S-128, 2004
 - 33) Nakamura M, Kobayashi A, Hiruma Y, Morita I, Takatani S. Computer-Aided 2 Dimensional Capillary Vasculature Designing and Engineering. *ASAIO J* 50(2):167, 2004
 - 34) 中村真人、渡辺昭彦、小林暁子、肥留間祐子、高城富美男、片岡弘之、岩崎泰彦、森田育男、高谷節雄. *Computer Aided Tissue Engineering:インクジェットによる二次元生体組織プリンティング*. *生体医工学* 42(suppl.1):245, 2004.
 - 35) 中村真人、渡辺昭彦、高城富美男、小林暁子、肥留間祐子、大内克洋、森田育男、高谷節雄. *Computer-Aided-Tissue-Engineering のためのバイオインクジェットプリンティング*. 第3回日本再生医療学会総会、2004年3月、千葉、再生医療 2004;3(suppl.): 164.
 - 36) 渡辺昭彦、中村真人、高城富美男、肥留間祐子、小林暁子、岩崎泰彦、森田育男、大内克洋、高谷節雄. インクジェットプリントによる細胞ミクロ播種法の研究—血管内皮細胞のバイアピリティ. 第3回日本再生医療学会総会、2004年3月、千葉. 再生医療 2004 ; 3 (suppl.): 105.
 - 37) 森田育男、中村真人. *In vitro* でバターンニングされた毛細血管の作成. 第25回日本炎症・再生医学会. 2004年7月、東京. 炎症・再生 2004 ; 24 (4): 419.
 - 38) 森田育男. COX-2 の生理作用. 特集/COX-2 阻害薬 up to date. *Pharma Medica* 22 (12): 15-17, 2004
 - 39) 小林暁子、森田育男. 印刷技術による毛細血管の再生. *医用工学・医療情報学. 医学のあゆみ* 211 (7): 769-771, 2004.11.3
 - 40) 服部秀志、“印刷技術で毛細血管の再生に挑戦”、*化学と工業*、第58巻、832(2005)
2. 学会発表
 - 1) 古田美玲、内田恵理子、押澤正、山口照英:造血支持能を持つフィーダー細胞の解析について. 第5回日本再生医療学会総会. (2006. 3. 8. 岡山)
 - 2) Kanayasu-Toyoda T., Suzuki T., Oshizawa T., Uchida E., Hayakawa T., and Yamaguchi T: Granulocyte colony-stimulating factor promotes the translocation of protein kinase C α ; in neutrophilic differentiation cells. 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress. (2006. 6. 21, Kyoto)
 - 3) 原園 景, 川崎ナナ, 伊藤さつき, 橋井則貴, 中島 紫, 川西 徹, 山口照英: LC/MS/MS を用いたヒト血清グライコプロテオームの解析. 日本ヒトプロテオーム機構第4回大会 (2006, 7,18-19 東京)
 - 4) 川崎ナナ, 橋井則貴, 伊藤さつき, 原園 景, 中島 紫, 山口照英: 細胞治療/再生医療における糖鎖解析の重要性和糖鎖を利用した細胞特性解析への挑戦. 第4回糖鎖科学コンソーシアムシンポジウム(2006,10,23-24 東京)
 - 5) 古田美玲、内田恵理子、押澤正、山口照英:放射照射による Op9 細胞の造血支持能の誘導; 第6回日本再生医療学会総会、(2007, 3,13-14 横浜)
 - 6) 豊田淑江、押澤正、石井明子、鈴木孝昌、山口

- 照英: Thrombopoietin(TPO)による AC133 陽性細胞より分化する血管内皮前駆細胞(EPC)の分化促進作用、日本薬学会第 127 年会 (2007. 3. 28, 富山)
- 7) 黒田正敏、服部秀志、小林暁子、森田育男、“光触媒リソグラフィで任意にパターンニングされた毛細血管の作製”、第 115 回日本印刷学会秋期研究発表会、京都、2005
 - 8) 大河内則彦、黒田正敏、服部秀志、“血管内皮細胞の高速転写を可能にするパターンニング基板の開発”、第 55 回高分子討論会、9 月 20-22 日、2006、富山。
 - 9) Hattori H, Okochi N, Kuroda M, Hase M, “Cell transfer printing technology”, Gordon Research Conference “Biointerface Science”, October 22-27, 2006 Les Diablerets, Switzerland.
 - 10) 服部秀志、大河内則彦、黒田正敏、長谷政彦、“細胞転写印刷技術”、日本動物実験代替法学会第 20 回大会、12 月 8, 9 日、2006、東京。
 - 11) 土屋雄彦、林 秀隆、浅川恭行、前村俊満、間崎和夫、中浜健一、田中政信、竹田 省、森田育男、久保春海。卵巣腫瘍における血管新生調節因子の発現パターンの解析。第 58 回日本産科婦人科学会学術講演会。横浜。2006 年 4 月 22~25 日
 - 12) 水野暁子、森田育男、竹田 省。パターンニングされた毛細血管の作成とその応用。第 58 回日本産科婦人科学会学術講演会。横浜。2006 年 4 月 22~25 日
 - 13) Onodera M, Nakahama K, Sato T, Morita I. Effects of N-3 polyunsaturated fatty acids on the susceptibility to VEGF through downregulation of VEGFR-2 expression. 14th International Vascular Biology Meeting, The Netherlands, June 6-10, 2006
 - 14) Kobayashi A, Kuwana R, Hattori H, Ota M, Takeda S, Morita I, Ichinose S. In vitro capillary engineering and angioplasty. 14th International Vascular Biology Meeting, The Netherlands, June 6-10, 2006
 - 15) Mukai N, Kobayashi A, Kuwana R, Amagasa T, Morita I. Comparison of early with late endothelial progenitor cells in tube formation activity in vitro. The Nexus of Histochemistry and Molecular Genetics, The Seventh Joint Meeting of The Histochemical Society and The Japan Society of Histochemistry and Cytochemistry, Hawaii, August 23-27, 2006
 - 16) 向井奈々、小林暁子、安部まゆみ、森田育男。血管内皮細胞前駆細胞の血管新生への関与。第 36 回血管研究会。東京。2006 年 11 月 2 日
 - 17) 向井奈々。印刷技術を用いた in vitro 毛細血管構築法と再生医療に適した血管内皮前駆細胞の選択。先端歯学スクール 2006 学生発表。先端歯学国際教育研究ネットワーク。三浦。2006 年 11 月 29 日 (最優秀賞)
 - 18) 向井奈々、小林暁子、桑名るみ子、天笠光雄、森田育男。2つの異なるタイプの血管内皮前駆細胞 early EPC および late EPC の tube forming activity の検討。第 14 回日本血管生物医学会。東京。2006 年 12 月 13~15 日
 - 19) 小林暁子、桑名るみ子、黒田正敏、服部秀志、中浜健一、竹田 省、森田育男。パターンニングされた毛細血管の作成と生体応用。第 26 回日本炎症・再生医学会。東京。2005 年 7 月 12~13 日
 - 20) 桑名るみ子、小林暁子、服部秀志、中浜健一、森田育男。管腔形成過程における血管内皮細胞の血管新生関連遺伝子の変動。第 26 回日本炎症・再生医学会。東京。2005 年 7 月 12~13 日
 - 21) 小林暁子、桑名るみ子、服部秀志、太田正人、市野瀬志津子、森田育男。パターンニングされた毛細血管の作成と生体応用。第 16 回再生医療・細胞治療研究会。東京。2005 年 9 月 16 日
 - 22) Pleumsampant S, Safronova O, Nakahama K, Morita I. Hypoxia and IL-1 β activate histone deacetylase through CK2 dependent mechanism. Signal transduction, October 20, 2005, Room Poster. 第 78 回日本生化学会大会。神戸。2005 年 10 月 19~22 日。
 - 23) Onodera M, Muneta T, Miyazaki K, Yoshimasu H, Morita I. Effects of hyaluronan on inflammation-induced angiogenesis. 45th Annual Meeting. The American Society for Cell Biology, San Francisco, USA, December 10-14, 2005
 - 24) 中村真人、渡辺昭彦、高城富美男、小林暁子、肥留間祐子、大内克洋、森田育男、高谷節雄。Computer-Aided-Tissue-Engineering のためのバイオインクジェットプリンティング。第 3 回日本再生医療学会総会、2004 年 3 月、千葉
 - 25) 渡辺昭彦、中村真人、高城富美男、肥留間祐子、小林暁子、岩崎泰彦、森田育男、大内克洋、高谷節雄。インクジェットプリントによる細胞マイクロ播種法の研究—血管内皮細胞のバイアビリティ。第 3 回日本再生医療学会総会、2004 年 3 月、千

- 葉
- 26) 加藤幸太郎、細道 純、森田育男. 網膜色素上皮由来因子(PEDF)の定量系の確立. 第 77 回日本薬理学会年会. 大阪. 2004 年 3 月 8~10 日.
- 27) Morita I, Yoshida T, Nakahama K, Ohno-Matsui K. Regulation of pigment epithelium-derived factor (PEDF) production – Role in the development of choroidal neovascularization of age-related macular degeneration. The 13th International Vascular Biology Meeting, 1-5 June, 2004, Toronto, Canada
- 28) Morita I. Docosapentaenoic acid (DPA) suppressed Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) – induced angiogenesis in animal model. Conference on Seal Oil, Collagen and Proteins Products, The Canadian Department of Foreign Affairs and International Trade, 7-8 June, 2004, Ottawa, Canada
- 29) Kobayashi A, Hiruma Y, Miyake H, Hattori H, Nakamura M, Akiyoshi K, Takeda S, Morita I. A new technology for fully designed capillary formation in vitro. The 13th International Vascular Biology Meeting, 1-5 June, 2004, Toronto, Canada
- 30) Nakamura M, Kobayashi A, Hiruma Y, Morita I, Takatani S. Computer-Aided 2 Dimensional Capillary Vasculature Designing and Engineering. June 22, 2004. at Drexel University, Philadelphia, USA. (招待講演)
- 31) 森田育男、中村真人. in vitro でパターンニングされた毛細血管の作成/ワークショップ 11 ナノサイエンスの再生・抗炎症への応用 – 基礎から炎症へ. 第 25 回日本炎症・再生医学会. 2004 年 7 月 14 日. 東京
- 32) Nakamura M, Kobayashi A, Takagi F, Morita I, Takatani S. Inkjet technique for the formation of alginate hydrogel containing living cells. Abstract Booklet of Bioprinting and Biopatterning Workshop, 27-28 September 2004. Manchester Conference Centre, Session 2, 2004. (招待講演)
- 33) 森田育男. 口腔炎症と血管新生. 口腔疾患は血管により全身に/サテライトシンポジウム. 講演. 第 20 回日本歯科医学会総会. 横浜. 2004 年 10 月 29–31 日
- 34) Kobayashi A, Kuwana R, Miyake H, Takeda S, Morita I. A fully designed capillary formation in vitro using fine - processing. Poster-1. Angiogenesis, VEGF. The 1st Annual Meeting of the Japanese Vascular Biology and Medicine Organization (第 1 回日本血管生物医学会) & Korea - Japan Joint Symposium on Vascular Biology 2004. November 4-6, 2004, Awaji island, Hyogo, Japan
- 35) Hosomichi J, Yasui N, Koide T, Soma K, Morita I. PEDF regulation pathological neovascularization through PEDF-collagen I interaction. Poster-7. Regeneration, senescence and anti-angiogenic factors. The 1st Annual Meeting of the Japanese Vascular Biology and Medicine Organization (第 1 回日本血管生物医学会) & Korea - Japan Joint Symposium on Vascular Biology 2004. November 4-6, 2004, Awaji island, Hyogo, Japan
- 36) Nakamura M, Kobayashi A, Takagi F, Iwasaki Y, Morita I, Ishihara K, Takatani S. Biocompatible Inkjet Hed For Printing with Viable Cells. Abstract Book of Joint meeting of the Tissue Engineering Society International and the European Tissue Engineering Society, Lausanne, Switzerland, October 10th-13th, 2004. p.80
- 37) Morita I. In vitro patterning capillary formation using fine - processing. 2004 Symposium on Cell Signaling and Gene Regulation. Shanghai International Conference on Physiological Biophysics 2004, (SHANGHAI ICPB 2004), Shanghai, China, November 9-13, 2004
- 38) Morita I. Angiogenesis-related diseases. Fudan University, Shanghai, China, November 11, 2004 (特別講演)
- 39) Onodera M, Nakahama K, Morita I. Docosapentaenoic Acid (DPA) Suppressed responsibilities for vascular endothelial growth factor in endothelial cells. 44th Annual Meeting. The American Society for Cell Biology, Washington, DC, USA, December 4-8, 2004
- 40) Hosomichi J, Yasui N, Koide T, Soma K, Morita I. Involvement of collagen – binding motif in anti – angiogenic activity of pigment epithelium – derived factor. 44th Annual Meeting, The American Society for Cell Biology, Washington, DC, USA, December 4-8, 2004
- 41) Nakamura M, Watanabe A, Kobayashi A, Hiruma Y, Takagi F, Kataoka H, Iwasaki Y, Morita I, Takatani S. Computer Aided Tissue Engineering. The 43rd Annual Conference of Japanese Society for Medical and

Biological Engineering, Organized Session "Progress in Artificial Organs", Kanazawa, May 2004 (招待講演)

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

1) 発明の名称：人工細胞組織の作成方法、及びそのための基材

(出願番号：PCT/JP2004/015656)

① 発明者：森田育男、中村真人、三宅秀之、服部秀志、小林弘典、栗原正彰

② 出願日：2004年10月15日

③ 出願人：森田育男、中村真人、大日本印刷株式会社

国際出願

2) 発明の名称：人工組織体及びその製造方法
(出願番号：特願 2004-163512)

① 発明者：森田育男、中村真人、三宅秀之、服部秀志、小林弘典、鶴野雄介

② 出願日：2004年6月1日

③ 出願人：森田育男、大日本印刷株式会社
国内出願

3) 発明の名称：人工血管及びその製造方法
(出願番号：特願 2004-162900)

① 発明者：森田育男、三宅秀之

② 出願日：2004年6月1日

③ 出願人：森田育男、大日本印刷株式会社
国内出願

4) 発明の名称：人工細胞組織の作成法、及びそのた

めの基材

(出願番号：PCT/JP2004/015656)

日本国出願番号 特願 2005-514873

出願日：平成16(2004)年10月15日

出願人：森田育男、中村真人、
大日本印刷株式会社

国内出願

5) 発明の名称：細胞含有シート

(出願番号：特願 2005-178394)

① 発明者：森田育男、小林暁子、服部秀志、黒田正敏

② 出願日：平成17(2005)年6月17日

③ 出願人：国立大学法人東京医科歯科大学、
大日本印刷株式会社

国内出願

6) 発明の名称：血管新生抑制剤

特許出願番号：特願 2001-111306

起案日：平成19年1月18日

発明者：森田育男

特許出願人：株式会社スプルリナ研究所

7) 特願 2004-129721

8) 特願 2004-117175

9) 特願 2005-165641

平成18年度

政策創薬総合研究
重点研究報告書(Ⅰ)

平成19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