

平成18年度

政策創薬総合研究
重点研究報告書（Ⅱ）

財団法人 ヒューマンサイエンス振興財団

平成18年度

政策創薬総合研究

重点研究報告書（Ⅱ）

目 次

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 ……	589
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	脇田隆宇 ……	636
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 ……	656
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 ……	671
KH51044	食品添加物等の新機能性に関する研究	広瀬雅雄 ……	680
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 ……	691
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 ……	707
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 ……	720
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 ……	728
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 ……	740
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 ……	761
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 ……	772
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 ……	783
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 ……	795
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 ……	814
KH51058	天然抗酸化剤を利用した創薬化学	福原 潔 ……	826
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 ……	836
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 ……	839
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 ……	919
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 ……	939
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の確立に関する研究	乾 賢一 ……	951
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 ……	966

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 …… 979
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 …… 1000
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 …… 1021
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 …… 1042
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 …… 1054
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 …… 1070
KHB1201	タンパクリン酸化酵素SIKの糖・脂質代謝における役割と創薬標的評価系の開発	竹森 洋 …… 1080
KHB1202	家族性黄斑変性カニクイザルを用いた加齢黄斑変性の新規治療及び予防薬の開発	寺尾 恵治 …… 1086
KHC1203	弱毒性ウイルスワクチンの品質向上、生産性向上に関する研究	大隈 邦夫 …… 1090
KHC1204	チオレドキシシンなど抗酸化反応性活性酸素種処理分子の高発現を促す新しい健康増進医薬の開発	井上 達 …… 1096
KHC2206	腹膜癒着予防剤の開発と応用	土肥多恵子 …… 1106
KHD1205	ヒト乾燥羊膜の機能再生医療材料への実用化に関する研究	阿久津英憲 …… 1111
KHD2207	ヒト由来細胞・組織バンクの活用拡大のためのシステム構築と研究資源の高度化に関する研究	後藤 雄一 …… 1115

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移植・外科研究部
研究者 絵野沢 伸

研究要旨：日本において調達された人由来研究資源が公共的バンクを通じて公正かつ円滑に研究者に配分されるしくみを作るための活動を行った。人由来研究資源として、創薬研究に密接に関わる人肝細胞を対象とし、技術的要素として保存法や長期安定培養技術の開発を行い、社会的整備として、製薬企業に望まれる資源形態の模索を行った。最終的には医療機関で調達された手術摘出肝由来肝細胞を、本研究班で取り組んだ細胞アレイ上で培養し、製薬企業にて評価を行った。すなわち、黒川答申にいうわが国のスキームの試行を行い、全体計画が統合できた。尚、本報告最後に、平成19年3月に行った最終班会議にて議論した「創薬ツールは必要か、どのようなものが望まれるか」の結果にも触れる。

分担研究者

- | | |
|--------------------------|-------|
| (1) 東京医科大学外科学第三講座 | 青木達哉 |
| (2) 昭和大学医学部第二薬理学 | 安原 一 |
| (3) 東京大学大学院工学系研究科 | 片岡一則 |
| (4) 東京理科大学理学部応用科学科 | 大塚英典 |
| (5) (独) 農業生物資源研究所 | 竹澤俊明 |
| (6) 国立がんセンター研究所 | 落谷孝広 |
| (7) 自治医科大学臓器置換研究部 | 小林英司 |
| (8) 北海道大学大学院医学研究科 | 尾崎倫孝 |
| (9) (NPO) HAB研究機構 | 鈴木 聡 |
| (10) (株) アビー | 大和田哲男 |
| (11) 協和発酵工業 (株) | 布施英一 |
| (12) 田辺製薬 (株) | 山田泰弘 |
| (13) エーザイ (株) | 吉村 勉 |
| (14) 日本農産工業 (株) | 榎本康弘 |
| (15) 東洋合成工業 (株) | 池谷武志 |
| (16) (株) コーニンク インターナショナル | 田向康人 |

A. 研究目的

創薬研究における人肝細胞の重要性は言うまでもなく、薬物動態研究をはじめ様々な開発段階で必要である。研究の場にいると忘れがちであるが、細胞調達の陰にはドナーの存在がある。欧米では移植医療に使われない臓器が、我が国では手術摘出検体から人由来研究資源を得ている。いずれの場合も極めて非日常的状況からの提供であることを忘れてはならず、どんな状態の試料でも、最大限の研究成果を挙げることが研究者の使命である。初代肝細胞は凍結保存に非常に弱く、融解後には

生細胞率はもちろん、培養に重要な要素となる接着率が著しく低下する。我々は、このような細胞も培養実験に用いることができるようなツールの開発、あるいは凍結を経ることなく培養状態で保存、移動が可能となる長期安定培養ツールの開発を目指した。

一方、人由来研究資源の調達には社会的な基盤整備が必要である。その取組みのひとつとして、ヒューマンサイエンス振興財団は、厚生労働省の支援のもとに、ヒューマンサイエンス研究資源バンク (Health Science Research Resource Bank、大阪府泉南市) 内にヒト組織バンク (以下 HSRRB ヒト組織バンク) を稼働させた。ここは我が国唯一の手術摘出検体を取り扱う公共的バンクで、平成13年度より研究用由来組織の収集を開始し、平成14年度から産官学の研究機関に譲渡している。主な取り扱い組織は、薬物動態研究用として肝組織、肝細胞、肝ミクロソーム、癌マーカー研究用として消化器系癌組織および同一検体の非癌部位、ヒト型モノクローナル抗体作製などを見込んだ扁桃リンパ球などがある。本年2月現在の在庫は、凍結組織135検体、口蓋扁桃14種類236本、凍結肝細胞4種類27本、肝プールドミクロソーム1ロット20本、パラフィンブロック50検体である。今までの譲渡実績は、平成14年度11検体、平成15年度8検体、平成16年度37検体、平成17年度41検体である。

このように HSRRB 人組織バンクは重要な使命を持って業務を行っているが、取り扱い量や収益が

ら見ると円滑に動いているとはいえない。その原因として、バンクが有する資源が研究者の求める資源になっていないこと、バンクが研究者にとって利用しにくいことが考えられる。おそらく、この摺り合わせが、今後、HSRRB ヒト組織バンクを活用するための鍵となると考えられる。今後のバンク運営に生かすことを目的として、ここに関係者の意見をまとめ、報告する。

以上、本研究は、公共的ヒト組織バンクが創薬研究の即戦力資源を提供するために、手術摘出肝組織からマイクロソーム、分離肝細胞、細胞アレイの供給システムを、組織資源の流れ、保管、保存、品質管理を含め総合的に検討することを目的として行った。

B. 研究方法

図1に研究組織、図2に年次計画を示した。以下、簡単に内容を記す。尚、分担研究者の他に、ヒューマンサイエンス流動研究員として、宮本義孝（国立成育医療センター）、高橋総司（東京医科大学）が研究に参加した。また筑波大学長崎幸夫教授が研究協力者として参加した。

1) 手術摘出肝のバンク提供システム、外科医・病理医との協力体制の構築（東京医科大学〔青木、高橋〕、昭和大学〔安原〕、国立成育医療センター〔絵野沢〕、協和発酵工業〔布施〕、HAB研究機構〔鈴木〕、自治医科大学〔小林〕）。

東京医科大学病院と昭和大学にて標記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。この枠組みにて手術摘出肝組織由来肝細胞を製薬企業で評価することをを行った。青木は、肉眼的正常部位におけるがん細胞の微細転移を調べた。小林は、提供医療現場の問題点のフィードバックによるルール、手順の改良を提言した。

2) 肝細胞・肝組織の長期保存法の確立（国立成育医療センター〔絵野沢、宮本（流動研究員）〕、昭和大学〔安原〕、農業生物資源研〔竹澤〕、アビー〔大和田〕、日本農産工業〔榎本〕）。

人あるいは予備的に動物肝細胞の凍結解凍の影響を生存率、生着率、機能（薬物代謝、誘導）で検討した。凍結器械としてアビー大和田開発のCAS凍結機、凍結用基材として農業生物資源研竹澤開発の硝子化コラーゲン薄膜を用いた。

3) 肝細胞資源有効利用の為の新しい細胞培養環境の開発。

3-1) 細胞アレイを用いたヒト肝細胞長期培養技術の確立（東京理科大学〔大塚〕、東京大学〔片岡〕、国立成育医療センター〔絵野沢、宮本〕、田辺製薬〔山田〕、協和発酵工業〔小林、布施〕、エーザイ

〔吉村〕、東洋合成工業〔池谷〕、トランスパレント〔澤田、佐倉（協力）〕、HAB研究機構〔鈴木〕）。

ポリエチレングリコールブラシによる表面加工を施し、牛大動脈内皮由来HH細胞株との共培養による培養基板、細胞アレイで、人肝細胞を培養し、薬物代謝活性で評価を行った。また、結果をフィードバックしながら基板の改良を行った。

3-2) 細胞アレイ以外の方法による肝細胞長期培養技術の開発（北海道大学〔尾崎〕、コーニングインターナショナル〔田向〕）。

細胞アレイ以外の培養基材としてコーニングインターナショナルが開発したCell Bind ディッシュの評価を行った。

図1 研究組織図。研究のキーワードは、ヒト肝細胞の研究利用、倫理性の確保、組織・細胞の保存、流通機構整備、アッセイデバイス構築、幹細胞由来分化肝細胞である。

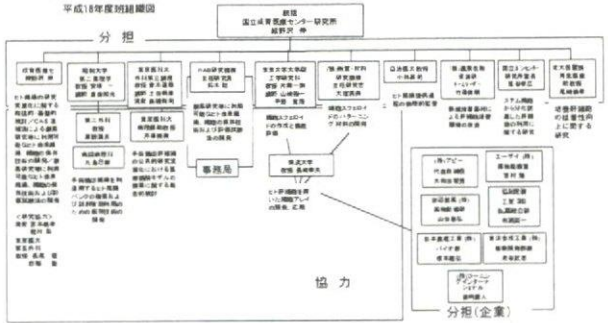


図2 年次計画

平成16年度	平成17年度	平成18年度
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)		
2. 肝細胞・肝組織の長期保存法の確立		
3. ヒト肝を想定した効率的な肝細胞分離法の確立		
4. 肝細胞資源有効利用の為の新しい細胞培養環境の開発		
5. 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		
6. 1-5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		
7. ヒト肝の研究利用に関する社会調査		
8. 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		
9. ヒト組織の研究への提供過程の倫理的監査		

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(国立がんセンター〔落谷〕、田辺製薬〔山田〕)

人骨髄および人脂肪組織由来の間葉系幹細胞から、肝細胞を誘導することと、誘導細胞の薬物代謝活性の評価を行った。

5) 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(国立成育医療センター〔絵野沢、宮本〕、HAB研究機構〔鈴木〕)

プールドマイ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 多型解析を行った。

6) ヒト肝の研究利用に関する法的根拠に関する考察 (HAB 研究機構 [鈴木])

心停止下の肝組織の一部を提供してもらうことについて、有識者による法的根拠の考察を行った。

7) 海外における人肝細胞利用研究の調査 (国立成育医療センター [絵野沢])

米国カリフォルニア州の臓器調達機関ワンレガシー (OneLegacy) を訪問、調査した。

8) わが国で調達の人由来研究資源の形態の在り方について。(国立成育医療センター [絵野沢])

ヒアリングによる。対象は、製薬会社研究職、人由来研究資源提供医療機関職員、医薬基盤研職員である。

9) 平成 18 年度研究会議議題「創薬ツールは必要か、どのようなものが望まれるか」要旨。

平成 19 年 3 月 22 日に国立成育医療センター研究所セミナー室 21 で行った研究会議の議論をまとめた。出席者は関係者計 16 名。

C. 研究結果

1) 手術摘出肝のバンク提供システム、外科医・病理医との協力体制の構築。

昭和大学では運用案に則り、本学医学部第二外科にて肝部分切除を受ける患者より得られた肝臓組織から細胞を分離し、種々培養条件下で共同研究施設に運搬し細胞の持つ薬物代謝能、細胞の生存率や接着率に及ぼす運搬方法、保管方法の影響を検討した。

肝臓試料の入手は、通常臨床にて治療目的で肝臓の部分切除を受ける患者 (男性、60 歳代、ウイルス感染 (B 型肝炎、C 型肝炎、HIV および梅毒無し)) より事前に担当医より「研究への協力のお願ひ」と題する説明文書を本人に渡し、これをもとに、研究の目的、提供していただく試料、試料の採取方法、試料の使用法、試料の管理と保管、試料提供に伴う利益・不利益、自由意思による同意と同意撤回の自由、研究への参加を断っても診療上の不利益は受けないこと、プライバシーの保護、個人の解析結果は原則的に開示しないこと、倫理性の審査、研究に関わる費用、研究結果の公開、知的財産権、質問の自由、に関して説明し十分納得されたことを確認した後に同意を得た。

手術室にて切除完了後直ちに第二外科学教室担当者が術者より切除肝臓を受け取り冰冷無菌生理食塩水または UW 液に浸漬し手術室隣接の写真撮影室に運搬、写真撮影を行なった。撮影完了後直ちに再度

冰冷し、手術担当医と共に患者家族などへの説明を行なった。説明終了後、病院病理科へ搬入し病理医による確定診断用切除試料の採取を行なった。確定診断用試料採取後病理医が残余試料と判断した肝臓試料の一部 (見かけ上正常と思われる、明らかな癌病巣を含まない部分) を当該研究用試料として使用した。使用する肝臓試料の量は、術式、切除部分、癌病巣の大きさなどにより画一的に規定することは困難であるため、可能な限り採取可能な量とした。当該研究用の肝臓試料の採取量の決定は病理医が行なうこととし、約 10g を使用した。

肝細胞は常法に従いコラゲナーゼ灌流法により単離肝細胞を得た。単離直後は生存率 88%、細胞数 2.2×10^7 個であった。接着率は概ね 40~50% であった。単離肝細胞は 3 種類の培養方法、即ち、コラーゲンコートプレート、マトリゲルコートプレートおよび細胞アレイに播種した。尚、コラーゲンコートプレートは市販のものを用い、マトリゲルコートプレートおよび細胞アレイについては国立成育医療センター研究所 移植・外科研究部実験外科研究室にて作成されたものの提供を受けた。細胞播種後、牛胎仔血清含有 William's Medium E (WME) あるいは無血清の Hepato ZYME-SFM で培養した。得られた細胞は、播種 10 時間後に培養液の交換を行い、各培養プレートを発泡スチロール製ケースに梱包し、東京都品川区、昭和大学より、静岡県三島市、協和発酵株式会社医薬研究センター 薬物動態研究所に公共交通機関を利用し、人手にて運搬した。

各種 CYP 活性は、概ね全ての分子種で細胞単離 1 週間までに急激な活性低下が認められたがマトリゲル培養では他の培養条件と比較して若干ではあるが活性の長時間維持の傾向が認められた。培地の影響に関してみると HepatoZyme での培養では、各種 CYP 活性の低下は WME による培養と比較して早かった。抱合系の酵素活性については今回得られた肝細胞では比較的長期間にわたり高い活性維持が認められた。また、その活性維持は WME による培養にて顕著であった。一方、HepatoZyme での培養では、マトリゲルによる培養で、UGT 活性は比較的長時間活性の維持が示されたが、他の培養条件では急速な活性低下が示された。一部の細胞に対し CYP3A の誘導剤として Rifampicin、CYP1A の誘導剤として Omeprazole を作用させた。その結果、CYP3A に関してはマトリゲルと細胞アレイ培養で誘導が確認された。また、CYP1A に関してマトリゲル培養において、若干ではあるが酵素誘導が起きている事が明らかとなった。

(この項の詳細は平成 18 年度安原分担報告を参照)

東京医科大学病院においても、ヒューマンサイエンス研究資源バンクへの提供に関する院内システムを構築した。その上で、肉眼的正常部位の正常性、すなわち微小転移の有無の検討を行った。提供され

る患者はそのほとんどが非ウイルス性肝癌または転移性肝癌である。これまでは、提供するための肝組織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が、より高い精度で癌陰性を確認するために微小転移に注目した。微小転移は肉眼的に癌陰性であっても免疫染色などによる分子生物学的手法にて確認される転移性病変である。現在いくつかの物質が用いられているが、我々は癌腫瘍マーカーとしても用いられているCEAと、正常組織ではほとんど発現せず、癌組織により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。平成18年3月までは、組織バンクへ提供する肝組織と同一検体を用いてCEA及びサイトケラチン20の免疫染色、RT-PCRを行った。また、平成18年4月から平成19年3月までは、転移性肝癌6症例から摘出した手術検体を2つに分け、一方を組織バンクに提供し、残りの検体を用いてCEA及びサイトケラチン20の免疫染色、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の発現を認めたと、正常組織内では全く発現は認められなかった。（この項の詳細は平成18年度青木分担報告を参照）

小林分担者は、研究グループの倫理性を監査する役を担った。通常、臨床研究は機関内倫理審査で許可される。この方式の欠点は、倫理審査基準が必ずしも機関毎に一定水準ではないことと、許可後の監査がない点である。これを補い、また、今後の研究に役立てることを目的として活動した。平成16年度から行ってきた研究会議の資料をもとに「患者さんへのバンク協力をお願いを考える」をまとめ分担となっている施設・研究者へ配布した。さらに現状の管理上の問題点のヒアリングを行った。バンクへの提供の説明実施における要点は次の4点である。1. 人から切り離された組織を研究利用するには、研究試料が提供者から時間的、空間的にリモート（遠隔）性が生じることを自覚する必要がある。2. したがってインフォームド・コンセントにあたっては、研究用であることの他に「バンク化」の意味を研究試料提供者となる患者にわかりやすく説明しなければならない。3. 一方、ヒト組織を管理する側となるバンク運営者には、ヒト組織の由来を尊重し適性に運営するための資格が必要である。4. さらにバンクから研究試料の提供を受ける研究者にあたっては、ヒト組織の善意を最大限理解し、研究成果を公表する義務がある、とするものである。現状は、これらの施設は研究費等のまかないで人件費等捻出しており、今後このようなシステム維持のための経費が問題であることが指摘された。本研究班では自主ルールに基づき、ヒト組織の研究利用をするための倫理的プロセスを慎重にすすめていた。今後も自主ルールに関する資料が各施設でどれほど遵守されている

かを継続調査する必要がある。（この項の詳細は平成18年度小林分担報告を参照）

2) 肝細胞・肝組織の長期保存法の確立。

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オリゴ糖を添加することによって、著名な生細胞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る。（詳細は平成18年度竹澤分担報告参照。あるいは絵野沢論文発表文献1参照）

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) 細胞アレイを用いた人肝細胞長期培養技術の確立。

初代肝細胞は凍結保存に非常に弱く、融解後には生細胞率はもちろん、培養に重要な要素となる接着率が著しく低下する。我々は、このような細胞も培養実験に用いることができるようなツールの開発、あるいは凍結を経ることなく培養状態で保存、移動が可能となる長期安定培養ツールの開発を目指している。今回用いた方法は、大塚、片岡らが考案の親水性ポリマー表面加工によるパターン化基板上で牛大動脈内皮細胞株HH細胞と肝細胞を共培養する方法である（PCT/JP02/07539 動物の培養細胞のスフェロイドを含む培養細胞構築物およびその使用、2005/6/2 発行）。従来のパターン基板は21mm径（12穴培養プレートに相当）であったが、今回は96穴プレートの穴に相当する大きさで、薬物代謝活性、薬物誘導試験を検証した。米国Xenotech社の凍結人肝細胞（播種生細胞数 4.5×10^4 細胞/穴）を通常の細胞培養皿とパターン基板でそれぞれHH細胞の存在、非存在下で培養、経日的にMidazolam、Phenacetinをプローブとして代謝活性を測定、またRifampicin、PhenytoinによるCYP誘導能を測定した。共培養は、通常培養皿、パターン培養とも機能持続に有効であった。後者は培養開始8日目の代謝実験および18日目の誘導評価まで機能維持を確認した。形態観察では、いわゆる浮遊培養用とされる融解後に接着率の低いロットでも、パターン基板を用いた共培養系では良好にスフェロイド形成がみられた。また、フィーダー細胞があると、長期培養でも細胞が脱落しにくかった。以上より、パターン基板上共培養系は、通常の培養皿では接着しない凍結人肝細胞も培養でき、誘導実験など、中長期実験に用いるためのよいツールになり得ると考えられた。

また、マイクロアレイ表面の更に詳細な物理化学的特性の解析を行い、スフェロイドアレイ形成メカ

ニズムとの相関を解明することによって、スフェロイドアレイを簡便に大量生産体制の整備を行った。さらに光リソグラフィーを用いた細胞アレイについて、アレイ形成用分子の骨格構造、アレイ表面の物理化学的特性に詳細な解析を加え、細胞アレイの効率的な調製法、より安定に細胞を保持するためのアレイ表面の設計指針を明らかとした。（詳細は平成18年度大塚分担報告、片岡分担報告を参照）

3-2) 細胞アレイ以外の方法による肝細胞長期培養技術の開発。

SD ラット初代培養肝細胞を、汎用されているポリスチレン製ディッシュ（Corning 社製）と Cell BIND（同社製）に播種し、細胞接着能、生存・増殖能を評価した。細胞播種後1時間で、培地交換し非接着細胞を除去したが、播種後4時間半の時点までは、汎用ディッシュおよび Cell BIND 両群に数的、形態学的変化を認めなかった。播種後16時間の時点で、両群に数的な有意差を認めた。汎用ディッシュでは、4時間半の時点と16時間の時点で明らかな差を認めなかったが、Cell BIND では、播種後16時間の時点で明らかに細胞密度の増加を認めた。形態学的には大きな変化を認めず、Cell BIND において細胞増殖が促進されたように考えられた。

Cell BIND への播種による細胞への影響を解析する目的で、播種された肝細胞内の接着、増殖および生存に関連する分子の発現と活性化をウェスタンブロット法にて検討した。細胞接着のマーカーとして、E-cadherin および beta-catenin をアッセイし、とくに後者はそのリン酸化も検討した。また、肝細胞増殖および生存に関与する分子のマーカーとして、STAT3 と Akt（およびそらのリン酸化）を検討した。E-cadherin は、播種後早期にはその発現は減弱していたが、24時間ではその発現が強く刺激されていた。しかしながら、汎用ディッシュと Cell BIND 間での差は有意ではなかった。逆に、播種直後に認められていた beta-catenin は、培養時間が延びるにしたがってその発現を弱めた。Cell BIND では、その発現レベルが若干高く保たれる傾向にあった。（この項の詳細は平成18年度尾崎分担報告参照）。

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。

分担研究者落谷は、自身が開発した HIFC 分化誘導システムを用いて、実際のがん患者由来の皮下脂肪組織中に存在する CD105 陽性間葉系幹細胞から作成した肝細胞様細胞の機能解析を行った。リアルタイム PCR 等の解析から、この細胞はアルブミンなどの肝臓特異的遺伝子が明らかに発現しており、また培養液中へのアルブミンの産生も ELISA により確認された。さらにアンモニア解毒作用も有していた他、

ウェスタンブロット法による解析から、CYP1A1, 2C9, 3A4 に加えて、NADPH P450 reductase の蛋白質質も検出され、この脂肪組織由来の間葉系幹細胞は、ヒトの薬剤の応答性を検討する上で有用なソースとなる可能性があると考えられた。（詳細は平成18年度落谷分担報告参照）

5) 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。

HSRRB 検体によるプールドミクロソームの調製は平成15年に継ぎ今回で2回目になる。前回は最少重量2gで開始し、約5mg タンパク入りチューブが20本できたが、1ロット量としては不十分であった。そこで、今回は最少重量4gで開始し、同じく約5mg タンパク入りチューブが40本調製できた。当初目的通り、加工資源として HSRRB にデータとともに提供した。CYP 多型は、全部で13検体を2C9, 2C19, 2D6について解析した。2C9と2D6についてはそれぞれ2例と1例の比較的希な多型がみられ、活性との相関傾向もあった。2C19では2例の Poor Metabolizer があった。これも S-Mephenytoin 4'-hydroxylation 活性で低値を示し、表現形との一致が見られた。（詳細は平成18年度絵野沢分担報告参照）

6) ヒト肝の研究利用に関する法的根拠に関する考察。

平成17年度に報告した市民を対象としたアンケート調査を受け（アンケート結果の詳細は平成17年度鈴木総括報告あるいはHABニュースレター12巻1号26-27頁参照）、HAB研究機構は、町野朔上智大学教授を座長とした委員会を立ち上げ、心停止後の腎提供にあわせた研究用組織提供の法的倫理的検討を行った。ここでは簡単に議論の過程を述べると、心停止後の死体ドナーを対象とするために、生前の本人の意思が組織の提供を拒否するものでないときには、承諾の意思が存在しない場合でも、遺族の承諾によって提供を受けることができる。そして、心停止後の腎臓提供に承諾している遺族からは、研究目的での組織の提供についての理解を得やすい。移植用腎臓の摘出のために既に死体開腹の措置がとられているため、さらに大きく遺体を傷つけることがなく、遺族の感情を傷つけることも少ない。移植のためにドナーの感染症の検査を行うことになることから、移植対象外の組織を研究用に提供してもらう利便性は高い。また、基礎的な研究に関して、研究機関の倫理審査を規定する法令・指針は、現在のところゲノム指針しかないが、本指針は、主たる対象となる研究が生殖細胞系列変異または多型を解析する物であり、慎重な審査の過程を経て承認された研究のみが遂行され、得られた知見も当然慎重に取り

扱わなければならない。一方、本事業は、ゲノム解析研究が目的で試料を収集するわけではない。また、バンク事業は包括同意が原則であり、連結不可能匿名化組織（いわゆる B 群試料等）とすることで、研究者は研究機関内で適切な手続きを行うことで、ゲノム解析を含む広い範囲の研究を行うことが可能となり、生命科学の進歩に貢献できることになる。将来の問題としては、諸外国と同様に、すべての臓器・組織の研究目的での提供を可能とするシステムの構築が必要であると思われるが、そのためには、社会一般の理解を得ることが必要である。このための検討は、今後、慎重に進めて行く必要があると考える。（詳細は平成 18 年度鈴木分担報告参照）

7) 海外における人肝細胞利用研究の調査。

米国全土は 58 の臓器調達機関（Organ procurement organization, OPO）によってカバーされている。本研究期間に、そのうち 2 カ所の訪問の機会を得た。平成 17 年はカンザス州とミズーリ州（一部）をカバーする MIDWEST TRANSPLANT NETWORK を訪問、本年度はロサンゼルスを中心とするカリフォルニア州の人口密集地域を管轄する OneLegacy を訪問した。OneLegacy は全米一の取り扱い数の OPO である。専従職員は、Full time equivalent（全日勤務職員換算数）として 250 名おり、うち事務的な業務に 60 名が配置されている。担当地域には 1900 万人が居住している。提供医療機関は、年間のドナー数に応じ、AA、A、B、C、D とランク付けされている。AA は年間 20 ドナー以上の 3 病院である。2006 年の中途実績は、脳死下提供が 359 件、心停止後提供が 14 件である。この背景には、約 6000 件余の電話連絡があり、うち 1400 件はその前後の時点ですでに脳死状態でなく、死亡のため不適応、1480 件は医学的不適応、残り 3600 件のうち、一次評価でドナー適応が 720 件、インフォームド・コンセントが成立したものが、454 件であった。ただし、この 454 件のうち 81 件は最終医学的評価で不適合となり、前記の数字、脳死下提供 359 件、心停止後提供 14 件であった。ただし、摘出した臓器もすべてが移植に使用できた訳ではなく、全臓器中 8% が廃棄または研究利用されている。尚、廃棄率の全米平均は 15% とのことである。

経営面では、年間 5,000 万ドル（大雑把に 1 ドル 100 円換算すると 50 億円、以下同様）が扱い金額である。うち、4,400 万ドル（44 億円）が臓器に関するもの、550 万ドル（5 億 5 千万円）が移植用組織（心臓弁や骨など）に関するもの、25 万ドル（2500 万円）が研究用試料に関するものである。経営基盤の主体は移植臓器であり、研究用としての分配は、経営的には赤字という。移植臓器の摘出は医療チームによるが、移植用組織や当初から研究目的である組織の摘出は、Surgical technician や外国人医師による。

臓器提供を啓発する社会活動は極めて熱心に取り組まれている。広報の専門家がおり、マスコミやカーニバルなどの機会をうまく利用して市民への情報提供と協力依頼を行っている。OneLegacy とは、「遺産」の意である。もともとは Southern California Organ Procurement Center という名称だったが、改組改編の際に、より親しみやすい OneLegacy という名称に変えている。移植は、おそらく米国でも医療全体に占める比率はさほど高くはないと考えられるが、社会的な重みはそれに比べてはるかに高い。研究用試料の調達もこういったしくみに下支えされている。（詳細は平成 18 年度絵野沢分担報告参照）

8) わが国で調達の人由来研究資源の形態の在り方について。

提供医療機関の意見としては次のことが挙げられた。基本的に公共的ヒト資源バンクの理念に賛成である。医療機関と研究機関が個別に共同研究の関係をもち、患者からの検体を授受するのでは、倫理上の問題が生じやすくなるのではないか。感染症陽性の検体もバンクで受け入れられないか。病気を治すための研究をしようと言っておきながら、感染症陽性の場合には提供できない、という説明にいつも矛盾を感じる。厚生労働科学研究などによって形成された人由来資源パネルを、研究後にバンクに提供することにはどうか。米国からの輸入人由来組織、特に凍結肝細胞のよいロットが減っているの、国内での供給は必要だろう。移植不適合臓器は提供の意思を生かすという意味で、研究転用を可とすべきではないか。それも含めたバンク構想を。手術摘出の新鮮組織は、取りに来てさえくれれば対応できる。ただ、使用者にはそのままの状態ですることになるので、研究者がそれを良しとするかは不明だが。

管理に関わる問題と意見は次のことが挙げられた。使用が見込めない組織の判別、受け入れ謝絶のルール設定。長期間使用されない在庫資源への対応。コストを見直し、容認できるものであれば継続、できなければ廃棄を含めた処理を考えなくてはならない。加工資源化の検討。分離細胞、培養細胞、ゲノム DNA、cDNA、mRNA などにして、使用者のニーズに合わせる。

研究者、使用者側の意見として次のことが挙げられた。人由来資源として、凍結組織はまず使う可能性はない。肝ミクロソーム、凍結肝細胞、パラフィン包埋試料は使うかもしれない。薬物の吸収試験は Caco2 細胞（大腸がん由来腸管上皮細胞株）のデータの蓄積があるので、取えて腸管組織や初代腸管上皮細胞が欲しいということはない。PSC 細胞や PSC 細胞由来 DNA はよい資源と考えられる。HSRRB ヒト組織バンクの問題点は、存在を知らなかった。HSRRB の理念、存在意義は認める。だからといってすぐに

利用したいという気は起きない。企業が人由来組織を用いる研究を行う場合は、標的疾患の専門家と共同研究契約を結んで進める。その方が、試料入手だけでなく、情報やアイデアも得られる利点がある。製薬会社は国内海外を問わず、有利な場所で研究開発を進めるものだ。企業の倫理審査は極めて厳格であり、それをバンクで再度審査される時間的ロスは大きな負担である。海外で臨床試験を行うので、日本人のマイクロソームや肝細胞が特に有用という訳ではない。薬物動態では、細胞やマイクロソームを使う実験もあるが、一人に100 μ g程度を投与して動態を見るマイクロドージングという方法も採られるようになってきた。この方法には問題点もあるが、今後*in vitro*の動態研究の必要性が軽くなるかもしれない。予備試験の場合にはHSRRBヒト資源バンクの組織切片は使えるかもしれない。検体提供者がHIV検査を未実施であることは、必ずしもその試料を使わない理由にはならない。実験時のバイオセーフティーレベルを上げることで対応可能。欲しい資源、有効な資源は、例えば肝細胞、肝マイクロソーム。ただし、いろいろ選べること、ロットがある程度大きいことが必要。滑膜。新鮮なガン組織。生活習慣病の標的病変組織。正常組織。死後短時間の脳。組織切片や遺伝子。何百検体もあると自ずと使い道ができる。各製薬会社で重点開発項目を挙げている。各社はその項目に対応したものが欲しいはず。例)武田GTタンパク関連レセプター(G protein coupled receptor)作用薬。アステラスm抗体やリガンド、他。メリットが必要。すなわち、低価格、すばやい納品、高品質、有益な付帯情報、知的所有権のしぼりが付いてこない。など。現状の価格は高すぎる。設定を見直してはどうか。パラフィン切片は有効資源となる可能性あり。用途として、免疫組織染色だけでなく、切片上培養という新手法(農業生物資源研竹澤俊明博士考案)の出現も好材料となろう。(詳細は平成18年度絵野沢分担報告参照)

9)平成18年度研究会議議題「創薬ツールは必要か、どのようなものが望まれるか」要旨。

新薬開発は不確実な要素が多く、系統立ったノウハウがないと言われる(桑島健一 不確実性のマネジメント 日経BP)。しかし、一方で膨大な候補物質を対象としたスクリーニングや開発途中での再チェックなど、ロボット化の必要性は高い。さらに、動物実験代替法への関心の高まりや、人への薬の開発は人の細胞で行うべきという考え方の浸透から、*in vivo*を反映できる*in vitro*試験法の開発の重要性は増していると考えられている。本研究グループでも、細胞アレイをひとつの研究課題として取り組んだ。

実際、用手実験手技を機械化したロボットや96穴

プレートなどに播種した細胞の状態を画像モニタリングする機械が創薬の現場で使用されている。一方、化学工学分野では、細胞が有する機能を最大限に発揮させる培養環境や、生体内の循環系を加味した流れのある培養システムの開発がなされている。最近、Cornell大学のMichael Schuler教授はAnimal on tipという概念を提唱し、動物細胞を播種した微小培養器を組み合わせ、体内の臓器相互作用を再現しようとしている(Viravaidya et al. Development of a microscale cell culture analog to probe naphthalene toxicity. Biotechnol Prog 20:316-23, 2004)。後者と前者の違いは、製薬企業が行っている実験操作の機械化と化学工学研究者が主体となって考案された機械という差である。また、前者は主に探索的な薬効薬理試験に使用され、後者は薬物動態試験が応用範囲と考えられる。薬物動態研究では、通常の静置培養(化学工学分野では回分培養という)でも種々の仮定を置くことによって、体内動態を外挿することが可能という。また、一回の実験に長時間を費やせないといった状況も多く、複雑な装置によるよりは通常の培養からデータを得る方がよい。もちろん研究の進展によって、動物実験が不要になるほどの能力のある機器ができれば自ずと利用価値が高まるであろうが、現状では、化学工学研究者の目指しているものが、製薬企業研究者の欲しいものと合致しているとは言えない。ただ、本研究で行った細胞アレイのように、細胞機能を高める、機能の持続時間を延ばす、肝細胞で言えば浮遊ロットのように生育の悪い細胞も培養できる、といった基板技術に関わるものは、大いに関心が向くところである。

分野の違う者が討議をする機会は少なく、また研究者は基本的に自身の強い主張を研究の原動力としているため、直接のニーズ、シーズマッチングはなかなか難しい。第三者的な仲介が必要と考えられる。その意味で、本研究会議はマッチングの在り方を考えるモデルケースになった。

D. 考察

現在、米国から輸入の凍結肝細胞で、接着培養が可能なロットはきわめて品薄である。米国XENOTECH社の凍結肝細胞の輸入代理店、日本農産工業では、培養可能ロットは昨年1ロット、それが売り切れた後は、欠品状態になっている(本年1月現在)。一時、下火になった中国からの肝細胞輸入も、再考される状況になっているようである。さらに、もっと基本的な問題として、肝細胞の供給方法として、凍結は好ましいものではない。むしろ、培養状態で保存、移動する方が、活性維持にも実験の利便性にも優れる。本年度行ったパターン基板上共培養系は、通常の培養皿では接着しない凍結人肝細胞も培養でき、誘導実験など、中長期実験に用いるためのよい

ツールになり得ると考えられた。

上述のように、人由来研究資源は極めて貴重でありながら、HSRRB 所蔵の人組織は必ずしも有効利用されていない。これについては、以下の改善が必要と考えられる。まずは譲渡手続きの簡素化。特に研究機関とバンクでの二重審査の可否の議論。その他にも現状の手続きに過剰な部分があることは否めない。次いで、使用が見込めない組織の判別、受け入れ謝絶、廃棄のルール設定。さらに、バンクという保管だけでなく、幹細胞としての機能を模索することも必要と考える。この点については、本年度より、整形外科手術で切除、廃棄されている新鮮骨髄組織の分譲が開始されており、対策が進んでいると言ってもよい。

こういった状況を踏まえ、本年度は前回の2倍のスケールで HSRRB 検体を用いた日本人由来プールドミクロソームの調製と加工資源としての再提供を行った。ヒアリング時にも聞かれたように、研究にはロット規模が大きいたることが必要である。米国から輸入されるプールドミクロソームに比べればまだまだ少量であり、今後もロット規模を増やす工夫と努力が必要である。

HSRRB ヒト組織バンク開設後、現在まで、提供者の人権を護ることと、研究に関するインフォームド・コンセントの在り方、特に提供者の負担をいかに軽減するかという考察が行われ、理論と実践の構築がなされた。しかしながら、研究目的で提供された検体は、研究に利用されて初めて提供された方の意思に報いることができる。換言すれば、利用されて初めて倫理性が完結するのである。公共的ヒト組織バンクの理念、存在意義は今回のヒアリングでも明らかになったように、衆目の一致するところであるから、是非とも、社会に役立つようになることを期待している。本研究はこのための第一歩として意義深いものと考えられる。

E. 結論

創薬研究に重要な人肝細胞の供給は世界的にも不足しており、わが国独自の調達体制や、稀少資源を有効活用するための技術的、社会的システムの整備が重要である。技術的には、障害を受けた細胞でも培養可能で、長期間安定した機能を維持できるパターン化基板上で牛大動脈内皮細胞株 HH 細胞と肝細胞を共培養する方法の有効性が確かめられた。稀少資源である人肝細胞は、凍結して保存するよりも、細胞アレイなどによる長期培養系で研究者のもとに送る方がロスが少ないと考えられた。初代肝細胞に代わるツールとして間葉系幹細胞分化肝細胞の有効性が認められた。社会システムとしては、研究者のニーズとのマッチングが重要であることがわかった。この研究者のニーズのひとつとしてある

プールドミクロソームの調製と HSRRB への加工資源としての提供を行った。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Miyamoto Y, Suzuki S, Nomura K, Enosawa S. Improvement of hepatocyte viability after cryopreservation by supplementation of long-chain oligosaccharide in the freezing medium in rats and humans. *Cell Transplantation* 15(10); 911-919, 2006
2. Tokiwa T, Yamazaki T, Xin W, Sugae N, Noguchi M, Enosawa S, Tsukiyama T. Differentiation potential of an immortalized non-tumorigenic human liver epithelial cell line as liver progenitor cells. *Cell Biology International* 30; 992-998, 2006
3. 絵野沢 伸. 書評 ビッグ・ファーマ 製薬会社の真実. *Organ Biology* 13(2); 181-182, 2006
4. Katsumata K, Sumi T, Hisada M, Tsuchida A, Aoki T: Detection and evaluation of epithelial cells in the blood of colon cancer patients using RT-PCR. *Int J Clin Oncol* 11:385-389, 2006
5. 大塚英典、片岡一則. 再生医療のためのバイオエンジニアリング、エンジニアリング 6 章、pp114-128、コロナ社 (2007 年 4 月 12 日)
6. 大塚英典、片岡一則. ナノテクノロジー入門シリーズ II, ナノテクのための化学・材料入門. 第 2 章 高次構造: ミセル, コロイド, ナノファイバー. pp.36-64、共立出版 (2007 年 3 月 30 日)
7. Satomi T, Nagasaki Y, Kobayashi H, Otsuka H, Kataoka K. Density control of Poly (ethyleneglycol) layer to regulate cellular attachment. *Langmuir* in press
8. Otsuka H, Ikeya T, Okano T, Kataoka K. Activation of lymphocyte proliferation by boronate-containing polymer immobilised on substrate: the effect of boron content on lymphocyte proliferation. *Eur Cell Mater* 12; 36-43, 2006
9. Kim W, Yamasaki Y, Kataoka K. Development of a fitting model suitable for the isothermal titration calorimetric curve of DNA with cationic ligands. *J Phys Chem B* 110(22); 10919-10925, 2006
10. Koide A, Kishimura A, Osada K, Jang WD, Yamasaki Y, Kataoka K. Semipermeable polymer vesicle (PICsome) self-assembled in aqueous medium from a pair of oppositely charged block copolymers: physiologically stable micro-/nanocontainers of water-soluble macromolecules. *J Am Chem Soc* 128(18); 5988-5989, 2006
11. 片岡一則. 特集にあたって. *バイオインダストリー* 23(1); 5, 2006
12. 西山伸宏、片岡一則. 医学のためのナノ工学 *日本臨床* 64(2); 199-205, 2006
13. 西山伸宏、鄭 雄一、片岡一則. 循環器疾患の治療のためのナノ DDS. *呼吸と循環* 55(3); 317-324, 2007

14. 大庭 誠、片岡一則. ナノテクノロジー. 脈管学 46(6); 727-733, 2006
15. 大庭 誠、片岡一則. 産業の観点から見た安全安心の実用化ナノ DDS. 分子心血管病 7(4); 382-387, 2006
16. 位高啓史、片岡一則. 高分子ミセル型ナノキャリアによるDDSとティッシュエンジニアリングへの応用. ティッシュエンジニアリング 2006. pp82-87 田畑泰彦、岡野光夫編、日本医学館 東京 2006
17. Otsuka H, Ikeya T, Okano T, Kataoka K. Activation of lymphocyte proliferation by boronate-containing polymer immobilized on substrate: the effect of boron content on lymphocyte proliferation. *European Cells and Materials*, Vol 12, pp36-43, 2006.
18. Satomi T, Ueno K, Fujita Y, Kobayashi H, Tanaka J, Mitamura Y, Tateishi T, Otsuka H. Synthesis of polypyridine-graft-PEG copolymer for protein repellent and stable interface. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 6(6); 1792-1796, 2006
19. Satomi T, Nagasaki Y, Kobayashi H, Tateishi T, Otsuka H. Physicochemical characterization of densely packed poly (ethylene glycol) layer for minimizing nonspecific protein adsorption. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology* in press, 2006
20. Satomi T, Ueno K, Fujita Y, Kobayashi H, Tateishi T, Otsuka H. Characterization of polypyridine-graft-PEG copolymer at interface. *J Jpn Soc Colour Mater* 79(11); 475-482, 2006
21. Sakata T, Maruyama S, Ueda A, Otsuka H, Miyahara Y. Stable immobilization of an oligonucleotide probe on a gold substrate using tripodal thiol derivatives. *Langmuir*, 23(5); 2269, 2007
22. Otsuka H, Kataoka, K. Multiaarray formation of cell spheroids on a microfabricated PEG-brush surface and their stabilization of tissue like functions. *Bioindustry* 23(1); 23-30, 2006
23. Otsuka H. Construction of nano-biointerface to control cell function and behavior. *Journal of Japanese Society for Biomaterials* 24(2); 115-121, 2006
24. Fujita Y, Otsuka H. Control of interfacial properties for biomedical applications. *J Jpn Soc Colour Mater* 79 (12), 2006
25. 大塚英典、片岡一則. 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 6 章 pp114-128、コロナ社 (2007年4月12日)
26. 大塚英典、片岡一則. ナノテクノロジー入門シリーズ II ナノテクのための化学・材料入門第2章 高次構造: ミセル, コロイド, ナノファイバー、pp36-64、共立出版 (2007年3月30日)
27. Fujita Y, Ueno K, Satomi T, Yajima H, Otsuka H. Physicochemical characterization of the Py-g-PEG copolymer at the interface. *Trans Mater Res Soc Jpn* 31(3); 649-653, 2006
28. Satomi T, Kobayashi H, Tanaka J, Nagasaki Y, Mitamura Y, Tateishi T, Kataoka K, Otsuka H. Uniformly size-controlled chondrocyte spheroid array and evaluation of its function. *Trans Mater Res Soc Jpn* 31(3); 655-658, 2006
29. Otsuka H, Satomi T, Ueno K, Mitamura Y, Tateishi T. Synthesis of polypyridine-graft-PEG copolymer for long-term stability of nonfouling character. *Trans Mater Res Soc Jpn* 31(3); 627-631, 2006
30. 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. *Tissue Engineering* 12(4); 1061-1061, 2006
31. Otsuka H, Satomi T, Ueno K, Tateishi T. Nano-fabricated aligned spheroid for cartilage tissue engineering. *Biomed. Appl. Nano Technol. Adv Sci Technol* 53; 67-69, 2006
32. Banas A, Quinn G, Yamamoto Y, Teratani T, Ochiya T. Adipose tissue-derived mesenchymal stem cells as a source of human hepatocytes. *Hepatology* in press
33. Watanabe H, Ochiya T, Ueda S, Kominami Y, Gon R, Nishiki M, Hayashi M, Sasaki A, Shiraishi M, Kashimoto N, Myojin Y, Kamiya K. Differentiation of a hepatic phenotype after heterotropic transplantation of heart, kidney, brain, and skin tissues into liver in F344 rats. *Biochem Biophys Res Commun* 354(4); 841-845, 2007
34. Banas A, Quinn G, Yamamoto Y, Teratani T, Ochiya T. "Stem cells into liver"--basic research and potential clinical applications. *Adv Exp Med Biol* 585; 3-17, 2006
35. Takeshita F, Kodama M, Yamamoto H, Ikarashi Y, Ueda S, Teratani T, Yamamoto Y, Tamatani T, Kanegasaki S, Ochiya T, Quinn G. Streptozotocin-induced partial beta cell depletion in nude mice without hyperglycaemia induces pancreatic morphogenesis in transplanted embryonic stem cells. *Diabetologia* 49(12); 2948-2958, 2006
36. Kosaka N, Kodama M, Sasaki H, Yamamoto Y, Takeshita F, Takahama Y, Sakamoto H, Kato T, Terada M, Ochiya T. FGF-4 regulates neural progenitor cell proliferation and neuronal differentiation. *FASEB J* 20(9); 1484-1485, 2006
37. Katsumoto T, Aikawa Y, Iwama A, Ueda S, Ichikawa H, Ochiya T, Kitabayashi I. MOZ is essential for maintenance of hematopoietic stem cells. *Genes Dev* 20(10); 1321-1330, 2006
38. Fukaya M, Isohata N, Ohta H, Aoyagi K, Ochiya T, Nakanishi Y, Taniguchi H, Sakamoto H, Shimoda T, Nimura Y, Yoshida T, Sasaki H. Hedgehog signal

activation in gastric pit cell and in diffuse type gastric cancer. *Gastroenterology* 131; 14-29, 2006

39. 寺谷 工、山本雄介、落谷孝広. 研究用ヒト細胞ソースとしての間葉系幹細胞の可能性. *Organ Biology* 13; 419-431, 2006 (日本臓器保存生物医学学会)

40. 鈴木 聡. ヒト組織・臓器— 疾病研究と医薬品開発をサポートするリソース. *バイオテクノロジージャーナル* (羊土社)、11/12、pp707-711, 2006

41. Morioka Y, Nishimura M, Imai T, Suzuki S, Harada M, Satoh T, Naito S. Assessment of Induction of Cytochrome P450 by NO-1886 (Ibrolipim), A Lipoprotein Lipase-Promoting Agent, in Primary Cultures of Human Hepatocytes and in Female Rat Liver. *Drug Metab Pharmacokinet* 21; 19-28, 2006

2. 学会等発表

1. 絵野沢 伸. 人由来組織の医療、研究、創薬の視点からみた利用の現状について. 第 124 回ヒューマンサイエンス振興財団研究資源委員会. 平成 18 年 4 月 21 日、東京

2. 宮本義孝、鈴木 聡、絵野沢 伸. 肝細胞の凍結液組成の基礎的検討—オリゴ糖の効果—. 第 13 回肝細胞研究会. 平成 18 年 6 月 30 日-7 月 1 日 旭川

3. 宮本義孝、鈴木 聡、小川亜希子、絵野沢 伸. セリシンを利用したヒト肝細胞凍結保存液の検討. 第 58 回日本生物工学会大会. 大阪. 平成 18 年 9 月 11-13 日

4. 宮本義孝、絵野沢 伸、竹内朋代、竹澤俊明. ビトリゲル薄膜担体上で培養した状態での細胞の凍結保存と蘇生. 第 33 回日本臓器保存生物医学学会学術集会 一ツ橋、東京 平成 18 年 11 月 23, 24 日

5. 倉田知光、岩瀬万里子、西村有希、政本多美子、安原 一. 細胞分離を目的とした肝臓の凍結保存に関する検討. 第 33 回日本臓器保存生物医学学会学術集会 一ツ橋、東京 平成 18 年 11 月 23, 24 日

6. Otsuka H, Satomi T, Ueno K, Tateishi T. Nano-fabricated aligned spheroid for cartilage tissue engineering. *Conference Internationales Materiaux Et Technologies 2006*, Sicily, Italy, June 4-9, 2006.

7. 大塚英典. 第 24 回医用高分子研究会講座「形状の機能Ⅱ：二次元平面」、東京大学 山上会館、平成 18 年 11 月 20-21 日

8. 大塚英典. 日本動物実験代替法学会第 20 回大会、東京大学駒場Ⅱキャンパス、2006 年 12 月 8-9 日

9. 大塚英典. 第 160 回フォトポリマー講演会、光応答を用いたバイオ認識界面の創製、森戸記念館 (東京理科大学)、2006 年 10 月 17 日

10. 大鷲圭吾、上野耕治、里見智美、陳国平、田中順三、大塚英典. 光応答性機能性分子の創製、日本化学会第 86 春季年会、2006.03.27-30、日本大学船橋キャンパス

11. 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. 日本化学会第 86 春季年会、2006.03.27-30、日本大学船橋キャンパス

12. 藤田洋平、上野耕治、里見智美、矢島博文、大塚英典. 高分子を用いた界面制御とナノ粒子の分散特性. 色材研究発表会 9 月 5-6 日、千葉工業大学

13. 大鷲圭吾、上野耕治、里見智美、陳国平、大塚英典. 刺激応答性アゾ基含有アゾフェニルポロン酸の光スイッチング. 第 21 回高分子茨城地区「若手の会」、2006.10.26-27

14. Sato Y, Satomi T, Ueno K, Tateishi T, Otsuka H. Synthesis and evaluation of PEG hydrogel incorporating two dimensionally dispersed cell spheroid. 第 21 回茨城地区「若手の会」交流会、2006/10/26-27、ウェルサンピア日立.

15. 佐藤慈之、里見智美、上野耕治、立石哲也、大塚英典. シート状細胞スフェロイド担体の創製と評価. 第 28 回バイオマテリアル学会大会、2006/11/27-28、アルカディア市ヶ谷

16. 大鷲圭吾、上野耕治、里見智美、陳国平、立石哲也、大塚英典. 刺激応答性アゾ基含有アゾフェニルポロン酸の光スイッチング、第 11 回つくばバイオマテリアル研究会、2006.11.24

17. Otsuka H. Nanofabricated aligned spheroid for cartilage tissue engineering. *CIMTEC2006*, 11th International Ceramics Congress & 4th Forum on New Materials, June 4-9, 2006, Acireale, Sicily, Italy

18. Sato Y, Satomi T, Ueno K, Tateishi T, Otsuka H. Synthesis and evaluation of PEG hydrogel incorporating two dimensionally dispersed cell spheroid, *Nanobio-Tokyo2006*, 2006/12/4-7, The University of Tokyo

19. Ohashi K, Ueno K, Satomi T, Chen G, Otsuka H. Photoswitching of a phenylboronic acid bearing an azo group for the stimuli responsive interface, 17th *MRS-Japan Academic Symposium*, 2006.12.8-10, Nihon University, Suruga-dai

20. Sato Y, Satomi T, Ueno K, Tateishi T, Otsuka H. Synthesis and evaluation of PEG hydrogel incorporating two dimensionally dispersed cell spheroid. 17th *MRS-Japan Academic Symposium*, 2006.12.8-10, Nihon University, Suruga-dai

21. 竹澤俊明. 臓器内細胞応答を外挿する培養モデルの構築とその医薬品開発あるいは再生医療への応用. 第 33 回 日本臓器保存生物医学学会総会 (国立大学財務経営センター学術総合センター、2006 年 11 月 23 日) シンポジウム口頭発表; プログラム・抄録集 p.298

22. 竹澤俊明. 生体内細胞応答を外挿する培養モデルの開発. 日本動物実験代替法学会第 20 回大会 (東京大学駒場Ⅱキャンパス、2006 年 12 月 9 日) シンポジウム口頭発表; 大会プログラム・要旨集

23. 落谷孝広. イメージング技術によるがん細胞, ステム細胞の可視化とRNAi治療評価系への応用. 第1回医療バイオワークショップ (2006.4.24 東京工業大学)
24. 落谷孝広. ヒト幹細胞から分化した肝細胞. 第13回HAB研究機構学術年会 シンポジウム (2006.5.19 東京)
25. 落谷孝広. ステム細胞の肝細胞分化制御. (シンポジウム) 第13回肝細胞研究会 (2006.7.1 旭川)
26. 落谷孝広. ヒト間葉系幹細胞から分化誘導した肝細胞の機能解析. 日本動物実験代替法学会第20回大会 (2006.12 東京)
27. Agnes Banas, 徳原 真, 寺谷工, 山本雄介, 大河内仁志, 落谷孝広. Human adipose tissue-derived stem cells as a source of functional hepatocytes. (ポスター) 第6回日本再生医療学会 (2007.3, 横浜)
28. Ochiya T. Generation of hepatocytes from ES cells. FASEB Liver Conference on Liver Growth, Development & Disease. (July 22-27 2006, Colorado, USA) 招待講演
29. Ochiya T. Therapeutic potential of atelocollagen-mediated delivery of siRNA against cancer. The 5th Sino-Japan Joint Conference, (October 5-8 2006, Shanghai, China) 招待講演
30. Ochiya T, Honma K, Takeshita F, Nagahara S. Atelocollagen-mediated delivery of siRNA against cancer. Annual Meeting of the Oligonucleotide Therapeutic Society, (Oct 19-21, 2006, NY, USA) 招待講演
31. Yamamoto Y, Teratani T, Murata S, Matsubara K, Kato T, Ochiya T. Transcriptome profiling of hepatic differentiation from mesenchymal stem cell. 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress. Kyoto, Japan, June 18-23, 2006
32. Yamamoto Y, Teratani T, Murata S, Matsubara K,

Kato T, Ochiya T. Transcriptome analysis to define the hepatic differentiation of human mesenchymal stem cell. Gordon Research Conference-Molecular cell biology July 2-7, 2006, USA

33. Takeshita F, Ochiya T. Efficient Small Interfering RNA delivery to metastatic tumors. 9th International Conference Drug and Gene-based Therapeutics, Agia Pelagia, island of Crete, Greece, September 2-8, 2006 招待講演

34. 鈴木 聡, 雨宮 浩. 米国から空輸された研究用臍島細胞の viability に関して. 第33回臍・臍島移植研究会, 2006年3月, ぱるるプラザ千葉

35. 鈴木 聡, 雨宮 浩. 米国から空輸された研究用臍島細胞の viability に関して. 第33回日本臓器保存生物医学会総会, 2006年11月, 独立行政法人国立大学財務経営センター学術総合センター

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、農業生物資源研究所

発明者; 竹澤俊明、宮本義孝、絵野沢 伸.

発明の名称; 細胞凍結保存方法

出願番号; 特願 2006-139442

2. 特許公開 2006-67987 細胞スフェロイドの回収方法及び細胞スフェロイド, 片岡一則, 平野覚浩, 大塚英典, 長崎幸夫

3. 本国特許公開 2005-280076 片岡一則他 「高分子複合体」

4. 特許公開 2006-275670 (特許出願 2005-93399) 生体分子固定化用の三脚型機能性界面分子とこれを用いた遺伝子検出デバイス, 丸山純夫, 坂田利弥, 大塚英典, 宮原裕二

5. 特許公開 2006-67987 (特許出願 2004-290753) 細胞スフェロイドの回収方法及び細胞スフェロイド, 片岡一則, 平野覚浩, 大塚英典, 長崎幸夫

平成18年度

政策創薬総合研究
重点研究報告書(Ⅱ)

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