

200706010B

厚生労働科学研究費補助金
再生医療等研究事業
(ヒトゲノム・再生医療等研究事業)

重度熱傷、皮膚潰瘍等に対する新規超微細多孔質薄膜
を活用した培養皮膚再生技術の開発

平成 17 ～ 19 年度 総合研究報告書

マクミラン ジェームス
主任研究者 **McMillan, James R.**

平成 20 (2008) 年 3 月

目 次

I	班員構成	1
II	総合研究報告	
	重度熱傷、皮膚潰瘍等に対する新規超微細多孔質薄膜を活用した 培養皮膚再生技術の開発	3
	主任研究者 McMillan, James R. (北海道大学)	
III	研究成果の刊行に関する一覧表	9

I 班員構成

I 班員構成

研究者名	研究実施場所	職名	主な研究分担
主任研究者 McMillan, James R.	北海道大学・ 創成科学共同研究機構	特任教授	研究の総括、人工皮膚に関する研究
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	徐放剤の作製に関する研究
下村 政嗣	東北大学・多元物質科学研究所・ 合成化学	教授	人工膜の作製に関する研究
芝木 晃彦	北海道大学 北海道大学病院皮膚科	講師	人工皮膚を用いた動物実験に関する研究
阿部理一郎	北海道大学 北海道大学病院皮膚科	講師	人工皮膚を用いた細胞培養、および表皮幹細胞分離に関する研究

II 総合研究報告

厚生労働科学研究費補助金
再生医療等研究事業
(ヒトゲノム・再生医療等研究事業)
総合研究報告書
重度熱傷、皮膚潰瘍等に対する新規超微細多孔質薄膜を活用した
培養皮膚再生技術の開発
主任研究者 McMillan, James R.
北海道大学・創成科学共同研究機構
特任教授

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成である。これまでの人工皮膚は長期生着は困難であり、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。本研究において、新規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成をすることに成功した。

分担研究者：

田畑泰彦 京都大学・再生医科学研究所
教授
下村政嗣 東北大学・多元物質科学研究所 教授
芝木晃彦 北海道大学・北海道大学病院
皮膚科講師
阿部理一郎 北海道大学・北海道大学病院
皮膚科講師

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、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。加えて、新規徐放剤を作成し、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

A. 研究目的

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、

効果のあるサイトカイン、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。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点である。

B. 研究方法

①マウス細胞による人工皮膚をマウス皮膚創傷部に移植し、創傷治癒に対する効果の検討

これまでの検討で、孔径3ミクロンの多孔質薄膜が最も薄膜上での表皮細胞の増殖および遊走に適していることを見出し、これを用いた多孔質膜を用いた人工皮膚を作製する。同時に線維芽細胞を用いた人工皮膚も作成する。Balb/cマウスの背部に全層欠損の皮膚創傷を作成し、この人工皮膚を移植し、創傷治癒過程に対する影響を観察する。

②ヒト細胞による人工皮膚を免疫不全マウス皮膚創傷部に移植し、創傷治癒に対する効果の検討

上記と同様に、ヒト表皮細胞または線維芽細胞を用いて人工皮膚を作成する。免疫不全マウスの背部に皮膚全層欠損創を作成し、ヒト細胞人工皮膚を移植し、創傷治癒過程に対する影響を観察する。

③創傷部への人工皮膚移植の創傷治癒過程に対する影響

人工皮膚の創傷治癒過程に対する詳細な影響を検討する。さらに経時的に同部位を組織学的に検討した。上記のように作製した人工皮膚を用いて、マウス皮膚創傷部に被覆し、創傷治癒への関与も検討した。

④多孔質薄膜の製膜条件の最適化

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。

加えて、多孔質薄膜への吸着タンパク質組成の検討として、10%血清の培地を37℃、2時間浸漬し、緩衝溶液で洗浄後、アルブミン、フィブロネクチン、ラミニン、ビトロネクチンそれぞれの抗体により染色を行った。緩衝溶液中で共焦点レーザー顕微鏡により吸着タンパク質の観察を行った。平膜を対照実験とした。

さらに多孔質薄膜の安全性試験としてウサギを用いる短期筋皮下埋植試験を行った。埋植期間は1週及び4週、動物数は各埋植期間につき6匹とし、肉眼的観察用及び病理組織学的観察用にそれぞれ3匹ずつ使用した。また、陰性対照試料として高密度ポリエチレンロッドを併せて埋植した。

⑤新規徐放剤の作製

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. 研究結果

①マウス細胞による人工皮膚をマウス皮膚創傷部に移植し、創傷治癒に対する効果の検討

孔径3ミクロンの多孔質薄膜を用い表皮細胞を表面に付着させた人工皮膚を作製した。同時に線維芽細胞を用いた人工皮膚も作成した。Balb/c マウスの背部に全層欠損の皮膚創傷を作成し、この人工皮膚を移植し、創傷治癒過程に対する影響を検討したところ、表皮細胞をつけた人工皮膚は有意に創傷治癒を促進させた。一方線維芽細胞を付けた人工皮膚は創傷治癒に対する効果はほとんど認められなかった。

②ヒト細胞による人工皮膚を免疫不全マ

ウス皮膚創傷部に移植し、創傷治癒に対する効果の検討

上記と同様に、ヒト表皮細胞または線維芽細胞を播種した孔径3ミクロンの多孔質薄膜の人工皮膚を作成した。免疫不全マウスの背部に皮膚全層欠損創を作成し、ヒト細胞人工皮膚を移植し、創傷治癒過程に対する影響を見たところ、上記と同様に、表皮細胞を播種した人工皮膚は有意に創傷治癒を促進させた。

③創傷部への人工皮膚移植の創傷治癒過程に対する影響

人工皮膚の創傷治癒過程に対する詳細な影響を検討するため経時的に同部位を組織学的に検討した。病理学的に人工皮膚移植により、特に血管新生促進がみられた。また移植した人工皮膚の構成細胞も比較的長期に移植部で生存することが明らかになった。

④多孔質薄膜の製膜条件の最適化

孔径制御には、溶媒蒸発時間を制御する溶剂量、溶液の厚み、基板の温度が効果的なパラメーターであることがわかった。例えば、直径10cmのガラスシャーレ上で製膜する場合、溶液濃度1mg/mlの高分子溶液を2mlキャストすることによって、孔径3ミクロンの多孔質薄膜が製膜できることがわかった。

多孔質薄膜への吸着タンパク質組成の検討としては、平膜には主にアルブミンが吸着し、フィブロネクチンはほとんど吸着していないのに対して、ハニカムフィルムではフィブロネクチンがハニカムの細孔内に選択的に吸着していた。また、ハニカムフィルムの孔径を3μm、5μm、20μmと変えることで、フィブロネクチ

ンの吸着構造が大きく異なることが観測された。これらの結果から、フィブロネクチンの吸着構造がハニカムフィルムと平膜で大きく異なること、および、フィブロネクチンの吸着構造はハニカムフィルムの孔径に依存することがわかった。

多孔質薄膜の安全性試験においては、埋植部位では、肉眼的観察において埋植期間1週及び4週ともに出血、被包形成、変色などの異常は認められなかった。病理組織学的には、線維芽細胞の浸潤を伴う線維性皮膚及びマクロファージを主体とする細胞浸潤が若干認められた。

⑤新規徐放剤の作製

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) とトランスフォーミング増殖因子 (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

今回の研究で、多孔質薄膜、および細胞・培養条件の最適条件をそれぞれ検討し、研究成果に基づく人工皮膚を作製した。さらに作製した人工皮膚をマウス皮膚創傷部に移植し、創傷治癒を促進する

ことを明らかにした。

さらに、皮膚由来細胞の接着率と増殖率が向上する孔径3ミクロン多孔質薄膜作製の最適条件を検討した。蒸発時間を決定する溶液の厚みの制御が重要であることがわかった。また、フィブロネクチンの吸着構造がハニカムフィルムによって決定され、それが細胞の分化、増殖あるいは機能に影響を及ぼすことを示すデータが得られた。

多孔質薄膜をウサギ皮下へ埋植した場合の組織反応は、線維性被膜の増殖及びマクロファージによる異物処理反応を主体としたものであり、多孔質薄膜のウサギ皮下組織への炎症はないものと考えられる。多孔質薄膜はFDA認可実績のある医療製品に使用されている生分解性高分子で作製しているため、安全性および生体適合性に優れていると考えられる。

加えて徐放剤に関しては、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、グルタルアルデヒドを用いない熱脱水処理を利用したハイドロゲルの作製条件が明らかとなった。得られたハイドロゲルからは、それらの成長因子が異なる時間パターンで徐放化されること、また、そのパターンがハイドロゲルの生体吸収性パターンによって制御されることがわかった。加えて、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。

E. 結論

本研究において、皮膚構成細胞、およ

び多孔質薄膜、さらに成長因子などを含有した徐放剤からなる、人工皮膚を作成することが出来た。この皮膚は創傷治癒を有意に促進させることができた。今後、この人工皮膚をさらに臨床応用できるよう発展させることが必要であると思われた。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

研究成果の刊行に関する一覧表にまとめた。

H. 知的財産の出願・登録状況

特許の名称：骨髄幹細胞移植治療用医薬

出願番号：JP2004/369272

発明者：清水 宏、阿部理一郎、猪熊大輔

出願人：北海道大学

出願日：平成16年12月21日

特許の名称：骨髄幹細胞移植治療用医薬

出願番号：PCT/JP2005/020697

発明者：清水 宏、阿部理一郎、猪熊大輔

出願人：北海道大学

出願日：平成17年11月11日

特許の名称：皮膚再生用の細胞シートを製作するための構造体およびその利用

出願番号：特願 2005-188948

発明者：ジェイムズ ロバート マクミラン、田中賢、山本貞明、清水 宏、下村政嗣

出願人：北海道大学

出願日：平成17年6月28日

特許の名称：180kD 類天疱瘡抗原欠損ノックアウトマウス

出願番号：特願 2005-325275

発明者：澤村大輔、清水 宏

出願人：北海道大学

出願日：平成17年8月30日

特許の名称：角化異常症の診断支援方法

出願番号：特願 2006-019199

発明者：中川裕章、秋山真志、清水 宏、西村紳一郎、近藤裕郷

出願人：北海道大学、塩野義製薬株式会社

出願日：平成18年1月27日

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

発表者氏名	論文タイトル名	発表雑誌	巻号	ページ	出版年
Tsubota A, Akiyama M, Sakai K, Yanagi T, <u>McMillan JR</u> , Higashi A, Shimizu H:	Congenital ichthyosiform erythroderma mimicking ichthyosis bullosa of Siemens	Br J Dermatol	158	191-194	2008
Yamanaka Y, Akiyama M, Sugiyama-Nakagiri Y, Sakai K, Goto M, <u>McMillan JR</u> , Ota M, Sawamura D, Shimizu H	Expression of the keratinocyte lipid transporter ABCA12 in developing and reconstituted human epidermis.	Am J Pathol	171	43-52	2007
Sawamura D, Goto M, Sakai K, Nakamura H, <u>McMillan JR</u> , Akiyama M, Shirado O, Oyama N, Satoh M, Kaneko F, Takahashi T, Konno H, Shimizu H	Possible involvement of exon 31 alternative splicing in phenotype and severity of epidermolysis bullosa caused by mutations in PLEC1.	J Invest Dermatol	127	1537-15 40	2007
Sakai K, Akiyama M, Sugiyama-Nakagiri Y, <u>McMillan JR</u> , Sawamura D, Shimizu H	Localization of ABCA12 from Golgi apparatus to lamellar granules in human upper epidermal keratinocytes.	Exp Dermatol	16	920-926	2007
Qiao H, <u>McMillan JR</u>	Gelsolin segment 5 inhibits HIV-induced T-cell apoptosis via Vpr-binding to VDAC.	FEBS Lett	581	535-540	2007
Nishie W, Sawamura D, Goto M, Ito K, Shibaki A, <u>McMillan JR</u> , Sakai K, Nakamura H, Olasz E, Yancey KB, Akiyama M, Shimizu H	Humanization of autoantigen.	Nat Med	13	378-383	2007

<u>McMillan JR</u> , Akiyama M, Tanaka M, Yamamoto S, Goto M, Abe R, Sawamura D, Shimomura M, Shimizu H	Small-diameter porous poly (epsilon-caprolactone) films enhance adhesion and growth of human cultured epidermal keratinocyte and dermal fibroblast cells.	Tissue Eng	13	789-798	2007
<u>McMillan JR</u> , Akiyama M, Rouan F, Mellerio JE, Lane EB, Leigh IM, Owaribe K, Wiche G, Fujii N, Uitto J, Eady RA, Shimizu H	Plectin defects in epidermolysis bullosa simplex with muscular dystrophy.	Muscle Nerve	35	24-35	2007
Ito H, Akiyama M, Nakagawa H, Uematsu R, Deguchi K, <u>McMillan JR</u> , Nishimura S, Shimizu H	N-Linked neutral oligosaccharides in the stratum corneum of normal and ichthyotic skin.	Arch Dermatol Res	298	403-407	2007
Akiyama M, Titeux M, Sakai K, <u>McMillan JR</u> , Tonasso L, Calvas P, Jossic F, Hovnanian A, Shimizu H	DNA-based prenatal diagnosis of harlequin ichthyosis and characterization of ABCA12 mutation consequences.	J Invest Dermatol	127	568-573	2007
Akiyama M, Sakai K, Sato T, <u>McMillan JR</u> , Goto M, Sawamura D, Shimizu H	Compound heterozygous ABCA12 mutations including a novel nonsense mutation underlie harlequin ichthyosis.	Dermatology	215	155-159	2007
Akiyama M, Sakai K, Ogawa M, <u>McMillan JR</u> , Sawamura D, Shimizu H	Novel duplication mutation in the patatin domain of adipose triglyceride lipase (PNPLA2) in neutral lipid storage disease with severe myopathy.	Muscle Nerve	36	856-859	2007

Akiyama M, Sakai K, Arita K, Nomura Y, Ito K, Kodama K, <u>McMillan JR</u> , Kobayashi K, Sawamura D, Shimizu H	A novel GJB2 mutation p.Asn54His in a patient with palmoplantar keratoderma, sensorineural hearing loss and knuckle pads.	J Invest Dermatol	127	1540-1543	2007
Shinkuma S, Nishie W, <u>Shibaki A</u> , Sawamura D, Ito K, Tsuji-Abe Y, Natsuga K, Chan P, Amagai M, Shimizu H	Cutaneous type pemphigus vulgaris with skin manifestations similar to the classical mucocutaneous type: a case report and review of the literature.	Clin Exp Dermatol,			in press.
Aoyagi S, Akiyama M, Mashiko M, <u>Shibaki A</u> , Shimizu H	Extensive proliferative nodules in a case of giant congenital naevus.	Clin Exp Dermatol	33	125-127	2008
Nishie W, Sawamura D, Goto M, Ito K, <u>Shibaki A</u> , McMillan JR, Sakai K, Nakamura H, Olasz E, Yancey KB, Akiyama M, Shimizu H	Humanization of autoantigen.	Nat Med	13	378-383	2007
Natsuga K, Abe R, Ujiie H, <u>Shibaki A</u> , Sawamura D, Nishio M, Fujimoto K, Koike T, Shimizu H	Non-Hodgkin lymphoma preceded by recalcitrant eczema.	Eur J Haematol	79	369-370	2007
Moriuchi R, <u>Shibaki A</u> , Yasukawa K, Onozuka T, Sato T, Kaneda M, Iguchi A, Kobayashi R, Shimizu H	Neonatal vesiculopustular eruption of the face: a sign of trisomy 21-associated transient myeloproliferative disorder.	Br J Dermatol	156	1373-1374	2007
Hoshina D, <u>Shibaki A</u> , Aoyagi S, Kimura K, Shimizu H	Giant dermatofibroma: a rare variant of dermatofibroma preferentially developing on the lower limbs.	Clin Exp Dermatol	32	132-134	2007

Yamagishi S, <u>Abe R</u> , Jinnouchi Y, Matsui T, Imaizumi T, Inoue H	Pigment epithelium-derived factor (PEDF) inhibits vascular endothelial growth factor (VEGF)-induced vascular hyperpermeability both in vitro and in vivo.	J Int Med Res				in press.
<u>Abe R</u> , Murase S, Nomura Y, Natsuga K, Tateishi Y, Tomita Y, Tsuji-Abe Y, Matsumura T, Shimizu H	A case of acquired perforating dermatosis manifesting as elastosis perforans serpigiosa and perforating folliculitis.	Clin Exp Dermatol				in press.
<u>Abe R</u> , Hirayama T, Shimizu H	Disseminated subcutaneous nodules alone as manifestations of Churg-Strauss syndrome.	Int J Dermatol				in press.
Sasaki M, <u>Abe R</u> , Fujita Y, Ando S, Inokuma D, Shimizu H	Mesenchymal stem cells are recruited into wounded skin and contribute to wound repair by transdifferentiation into multiple skin cell type.	J Immunol	180	2581-25 87	2008	
Honda A, <u>Abe R</u> , Makino T, Norisugi O, Fujita Y, Watanabe H, Nishihira J, Iwakura Y, Yamagishi S, Shimizu H, Shimizu T	Interleukin-1beta and macrophage migration inhibitory factor (MIF) in dermal fibroblasts mediate UVA-induced matrix metalloproteinase-1 expression.	J Dermatol Sci	49	63-72	2008	
Asano Y, Makino T, Norisugi O, Watanabe H, <u>Abe R</u> , Shimizu H, Shimizu T	Macrophage migration inhibitory factor (MIF) in bullous pemphigoid.	J Dermatol Sci	49	95-97	2008	
Yaosaka M, <u>Abe R</u> , Ujii H, Abe Y, Shimizu H	Unilateral periorbital oedema due to sarcoid infiltration of the eyelid: an unusual presentation of sarcoidosis with facial nerve palsy and parotid gland enlargement.	Br J Dermatol	157	200-202	2007	

Natsuga K, <u>Abe R</u> , Ujiie H, Shibaki A, Sawamura D, Nishio M, Fujimoto K, Koike T, Shimizu H	Non-Hodgkin lymphoma preceded by recalcitrant eczema.	Eur J Haematol	79	369-370	2007
Murata J, <u>Abe R</u>	Soluble Fas ligand: is it a critical mediator of toxic epidermal necrolysis and Stevens-Johnson syndrome?	J Invest Dermatol	127	744-745	2007
McMillan JR, Akiyama M, Tanaka M, Yamamoto S, Goto M, <u>Abe R</u> , Sawamura D, Shimomura M, Shimizu H	Small-diameter porous poly (epsilon-caprolactone) films enhance adhesion and growth of human cultured epidermal keratinocyte and dermal fibroblast cells.	Tissue Eng	13	789-798	2007
Chen KR, Sakamoto M, Ikemoto K, <u>Abe R</u> , Shimizu H	Granulomatous arteritis in cutaneous lesions of Churg-Strauss syndrome.	J Cutan Pathol	34	330-337	2007
<u>Abe R</u> , Fujita Y, Yamagishi S	Angiogenesis and metastasis inhibitors for the treatment of malignant melanoma.	Mini Rev Med Chem	7	649-661	2007
Xue Lin, Masatoshi Fujita, Naoki Kanemitsu, Yu Kimura, Keiichi Tambara, Goditha U. Premaratne, Atsushi Nagasawa, Tadashi Ikeda, <u>Yasuhiko Tabata</u> , Masatoshi Komeda.	Sustained-Release Erythropoietin Ameliorates Cardiac Function in Infarcted Rat-Heart Without Inducing Polycythemia	Circulation Journal	71(1)	132-137	2007
Y. Arai , M. Fujita, Marui, K. Hirose, H. Sakaguchi, T. Ikeda, <u>Y. Tabata</u> , M. Komeda	Combined treatment with sustained-release basic fibroblast growth factor and heparin enhances neovascularization in hypercholesterolemic mouse hindlimb ischemia.	Circulation Journal	71(3)	412-7	2007

Y. Takahashi, M. Yamamoto, K. Yamada, O. Kawakami, And <u>Y. Tabata</u>	Skull bone regeneration in nonhuman primates by controlled release of bone morphogenetic protein-2 from a biodegradable hydrogel.	Tissue Engineering	13(2)	293-300	2007
M. Nagae, T. Ikeda, Y. Mikami, H. Hase, H. Ozawa, KI. Matsuda, H. Sakamoto, <u>Y. Tabata</u> , M. Kawata, T. Kubo	Intervertebral Disc Regeneration Using Platelet-Rich Plasma and Biodegradable Gelatin Hydrogel Microspheres.	Tissue Engineering	13(1)	147-157	2007
K. Hori, C. Sotozono, J. Hamuro, K. Yamasaki, Y. Kimura, M. Ozeki, <u>Y. Tabata</u> , S. Kinoshita	Controlled-release of epidermal growth factor from cationized gelatin hydrogel enhances corneal epithelial wound healing.	J Control Release	118(2)	169-176	2007
H. Park, J.S. Temenoff, <u>Y. Tabata</u> , A.I. Caplan, and A.G. Mikos	Injectable Biodegradable Hydrogel Composites for Rabbit Marrow Mesenchymal Stem Cell and Growth Factor Delivery for Cartilage Tissue Engineering.	Biomaterials	28(21)	3217-3227	2007
T. A. Holland, E. W. H. Bodde, V. M. J. I. Cuijpers, L. S. Baggett, <u>Y. Tabata</u> , G. Mikos, J. A. Jansen	Degradable hydrogel scaffold for in vivo delivery of single and dual growth factors in cartilage repair.	OsteoArthritis and Cartilage	15(2)	187-197	2007
Y. Kimura, <u>Y. Tabata</u> .	Experimental tissue regeneration by DDS technology of bio-signaling molecules.	J DermatolSci			in press
Akishige Hokugo, Yasunori Sawada, Rie Hokugo, Hiromitsu Iwamura, Masakiyo Kobuchi, Toshiyuki Kambara, Shosuke Morita and <u>Yasuhiko Tabata</u>	Controlled release of platelet growth factors enhances bone regeneration at rabbit calvaria.	Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.	104(1)	44-48	2007

Kazunari Ishida, Ryosuke Kuroda, Masahiko Miwa, <u>Yasuhiko Tabata</u> , Akishige Hokugo, Teruya Kawamoto, Ken Sasaki, Minoru Doita and Masahiro Kurosaka	The Regenerative Effects of Platelet-Rich Plasma on Meniscal Cells In Vitro and Its In Vivo Application with Biodegradable Gelatin Hydrogel.	Tissue Engineerin g	13(5)	1103-11 12	2007
Takayuki Aimoto, Eiji Uchida, Akira Matsushita, <u>Yasuhiko Tabata</u> , Teruo Takano, Masaaki Miyamoto, Takashi Tajiri	Controlled release of basic fibroblast growth factor promotes healing of the pancreaticojejunal anastomosis: A novel approach toward zero pancreatic fistula.	Surgery	142(5)	734-740	2007
N Kikuchi, C Kitamura, T Morotomi, Y Inuyama, H Ishimatsu, <u>Y. Tabata</u> , T Nishihara, M Terashita	Formation of dentin-like particles in dentin defects above exposed pulp by controlled release of fibroblast growth factor 2 from gelatin hydrogels.	J. Endod	33(10)	1198-20 2	2007
A Marui, <u>Y. Tabata</u> , S Kojima, M Yamamoto, K Tambara, T Nishina, Y Saji, K Inui, T Hashida, S Yokoyama, R Onodera, T Ikeda, M Fukushima, M Komeda	A novel approach to therapeutic angiogenesis for patients with critical limb ischemia by sustained release of basic fibroblast growth factor using biodegradable gelatin hydrogel: an initial report of the phase I-IIa study.	Circ. J.	71(8)	1181-11 86	2007
Miho Kusanagi, Osamu Matsui, Junichiro Sanada, Takahiro Ogi, Shigeyuki Takamatsu, Hongshan Zhong, Yu Kimura, and <u>Yasuhiko Tabata</u> .	Hydrogel-Mediated Release of Basic Fibroblast Growth Factor From a Stent-Graft Accelerates Biological Fixation With the Aortic Wall in a Porcine Model.	J Endovasc Ther			in press

M. Tanaka, Tkayama, E. Ito, H. Sunami, S. Yamamoto, <u>M. Shimomura</u>	Effect of pore size of self-organized honeycomb-patterned polymer films on spreading, focal adhesion, proliferation, and function of endothelial cells	J. Nanosci. Nanotech	7	763-772	2007
J.R. McMillan, M. Akiyama, M. Tanaka, S. Yamamoto, M. Goto, R. Abe, D. Sawamura, <u>M. Shimomura</u> , H. Shimizu	Small diameter porous biodegradable membranes enhance adhesion and growth of human cultured epidermal keratinocyte and dermal fibroblast cells,	Tissue Eng,	13	789-798	2007
T. Okajima, M. Tanaka, S. Tsukiyama, T. Kadowaki, S. Yamamoto, <u>M. Shimomura</u> , H. Tokumoto	Stress relaxation of HepG2 cells measured by atomic force microscopy	Nanotechnology	18	1-5	2007
S. Yamamoto, M. Tanaka, H. Sunami, S. Yamashita, Y. Morita, <u>M. Shimomura</u>	Effects of honeycomb-patterned surface topography on the adhesion and signal transduction of porcine aortic endothelial cells	Langmuir	23	8114-8120	2007
Y. M. Chen, M. Tanaka, JP Gong, K Yasuda, S. Yamamoto, <u>M. Shimomura</u> , Y. Osada	Platelet adhesion to endothelial cells cultured on various hydrogel scaffolds	Biomaterials	28	1752-1760	2007
M. Tanaka, K. Yoshizawa, Tsuruma, H. Sunami, S. Yamamoto, <u>M. Shimomura</u>	Formation of hydroxyapatite on self-organized honeycomb-patterned polymer film, Colloids and Surfaces A	Physicochemical and Engineering	313-314	515-519	2008
K Arai, M. Tanaka, S. Yamamoto, <u>M. Shimomura</u>	Effect of pore size of honeycomb films on the morphology, adhesion and cytoskeletal organization of cardiac myocytes, Colloids and Surfaces A	Physicochemical and Engineering	313-314	530-535	2008

Y. Fukuhira, H. Kaneko, M. Yamaga, M. Tanaka, S. Yamamoto, <u>M. Shimomura</u>	Effect of honeycomb-patterned structure on chondrocyte behavior in vitro, Colloids and Surfaces A	Physicoche mical and Engineerin g	313-314	520-525	2008
Tsuruma, M. Tanaka, S. Yamamoto, <u>M. Shimomura</u>	Control of neural stem cell differentiation on honeycomb films, Colloids and Surfaces A	Physicoche mical and Engineerin g	313-314	536-540	2008
Daisuke Ishii, Hiroshi Yabu, <u>Masatsugu Shimomura</u>	Selective metal deposition in hydrophobic porous cavities of self-organized honeycomb-patterned polymer films by all-wet electroless plating, Colloids and Surfaces A	Physicoche mical and Engineerin g	313-314	590-594	2008
Y. M. Chen, M. Tanaka, JP Gong, K Yasuda, S. Yamamoto, <u>M. Shimomura</u> , Y. Osada	Tuning of cell proliferation on tough gels by critical charge effect	J. Biomed. Mater. Res. A			in press
Y. Fukuhira, M. Ito, H. Kaneko, Y. Sumi, M. Tanaka, S. Yamamoto, <u>M. Shimomura</u>	Prevention of postoperative adhesions by honeycomb-patterned poly(lactide)film in rat experimental model	J. Biomed. Mater. Res.			in press
T.Okajima, M.Tanaka, S.Tsukiyama, T.Kadowaki, S.Yamamoto, <u>M. Shimomura</u> , H.Tokumoto	Stress Relaxation and Fluctuation of Living Cells Measured by Atomic Force Microscopy	Jp. J. Appl. Phys.			in press
T. Hayashi, M. Tanaka, S. Yamamoto, <u>M. Shimomura</u> , M. Hara	Direct observation of biocompatibility of PMEA(poly(2-methoxyet hyl acrylate)) using Atomic Force Microscopy	Biointerpha se			in press
Qiao H, McMillan JR.	Gelsolin segment 5 inhibits HIV-induced T-cell apoptosis via Vpr-binding to VDAC.	FEBS Lett	581	535-40	2007