

り良いと考えられた。

平成18年度

昨年度の臨床例のなかには、エンドトキシン高値の患者1例、培養した骨髄細胞患者由来と考えられるパルボ B19 ウィルスが検出された1例を確認した。両例の移植ともに、感染した細胞は用いなかったため、今回の移植後の経過観察からも移植した細胞の安全性は評価できた。

電子システムソフトは、取り扱い、管理の規定策定が必要とされるが、今後患者への情報開示にも役立つと考えられる。

平成19年度

支援システムに作業管理をもたせるため、時間的要件と検査試料量を考慮し、移植前に評価できる方法と移植後に評価する方法の組み合わせを決定した。エンドトキシン検査は、バリデーションをとることが必要と考えられた。培養液と培養細胞の検査は、移植前後のそれぞれに評価できる検査方法と検査回数を選択することがより良いと考えられた。支援システムはバリデーションを行って、将来は GCP に対応する必要がある。

## 5. 再生医療に用いる安全な細胞・培養技術の確立とその評価法

本年度は、ヒト精子を材料として、DSB、SSB 観察法の基礎的検討を行い、個々の細胞においてこれらを観察できるようになった。また数メガベースの DNA を電気泳動的に展開することが可能となり、次年度においては DNA fiber 上における遺伝子の解析法確立に取り組みたい。

われわれは細胞を生体内における溶存酸素濃度により近い条件で培養することを目的とし、低酸素培養システムを開発した。細胞を生体内における溶存酸素濃度により近い条件で培養することは、活性酸素抵抗性の低い細胞種においても *in vitro* 増殖が可能、さらに DNA 変異等の防止等に有用である可能性が考えられる。

## 6. 細胞移植・組織移植におけるアロ応答に関するモニタリングと制御に関する研究 澤 芳樹)

重症心不全に対する同種移植治療では、対象患者が免疫学的に感作されている場合が多く、綿密なアロ免疫応答モニタリングと巧妙な拒絶反応治療が必要になると考えられた。

心筋梗塞急性期に対するアロ MSC 移植において、移植細胞は自家 MSC と同様に早期に脱落し、かつ免疫応答を惹起しないことから自家 MSC 移植と同等の安全性があることが示唆された。また、治療効果に関しても VEGF などサイトカインを介した血管新生により心機能の増悪抑制効果を認めた。

一方心筋梗塞急性期に対するアロ skMB 移植において、免疫応答を惹起し、自家 skMB と比して脱落が早く、治療効果を認めなかった。

以上よりアロ MSC は将来的に他家細胞移植は自家

細胞に代替しうるアプリケーションとなりうることが示唆された。一方、アロ skMB 移植は今後慎重に検討する必要がある。

## 7. 再生医療に用いる安全な細胞・培養技術の確立とその評価法

ヒト胎盤絨毛組織、また臍帯血由来細胞中に骨、軟骨細胞へ分化しうる間葉系細胞が存在することを確認した。骨髄由来間葉系細胞と比べると臍帯血由来間葉系細胞は特に軟骨細胞への分化能が高かった。40PDL まで培養した臍帯血由来間葉系細胞は染色体の異常が見られなかったことから、細胞の安全性が確認された。今後 *in vivo* での詳細な実験を追加するとともに、臍帯血間葉系細胞をコンスタントに得て凍結保存するシステムを開発し、品質管理の面から臍帯血バンクシステムを利用した、胎盤と臍帯血由来間葉系細胞の再生医療の有効な細胞ソースとしての検討をさらにすすめていく必要がある。

## 8. 間葉系幹細胞の免疫制御（寛容）システムに関する研究

複数の hMSC (ヒト由来) でマウスの活性化 T 細胞の細胞増殖を抑制できたことから MSC による抑制の普遍的なメカニズムは種のバリアを超えているかもしれないことが示唆された。細胞上清の粗分画を用いた実験から PGE<sub>2</sub> が抑制効果に関わっていることが示唆されたが、インヒビターを用いて PGE<sub>2</sub> の合成を阻害しても MSC の抑制効果にほとんど変化がなかったことから、MSC の抑制効果のメインの因子が別に存在することが示唆された。そこで、Whole Human genome DNA マイクロアレイを用いた遺伝子発現の網羅的解析を行ったところ、抑制効果に関与すると考えられる候補遺伝子が複数得られた。その中には既知の報告でサイトカインに特化したアレイでの解析結果で抑制効果を発揮している MSC で発現が高い遺伝子として同定されてきた IL-6 遺伝子が含まれており、この実験系が上手く動いていることが確認された。よって、この系で得られている候補遺伝子の中に MSC の免疫抑制効果に直接関与している遺伝子が含まれている可能性が高いと考えられる。

現在 MSC の培養にはウシの血清 (FBS) が入った培地を用いられていることが多く、この異種動物由来の血清タンパク質の混入が移植の際、免疫応答を引き起こしてしまうといった問題がある。仮にヒトの血清の使用するにしても、肉体的、経済的負担だけでなく血清による MSC への影響が個体間によって大きいという問題が残される。より安全で安定した品質の MSC を供給するためにはその培養過程で無血清培地を用いるのが良いと考えられる。今回の結果から、STK2 培地で培養された hMSC は活性化した T 細胞の細胞増殖抑制効果は維持していることが確認できた。しかしながら、サイトカインの量は血清含有の培地で培養した系と異なるパターンをしめしていた。こ

れは1)検出法の問題2)T細胞の分化(Th1, Th2, Th17, Treg)のプロファイルが変わっている可能性などが考えられる。今後、各サイトカインおよび各分化マーカーを用いた細胞内染色FACSやRT-PCRを行い詳細な解析を行う必要があると思われる。

## 9. 動物組織由来製品の安全性に関する研究

医療機器の安全性試験では動物実験は必須となるが国際的に動物実験代替法の実践が必要となってきた。

このため世界各国における、この問題の考え方の情報収集は必須である。またBSEによる生物由来材料の安全性確保には決定的な方法は見出されていないため、ISO文書を作成して国際協調することが重要となる。今回の研究においてISO文書に我が国の政策にそった文章を入れることができた。また獲得した情報は国内外学協会にて論文で発表した。

## 10. 新しい無血清培地のヒト間葉系幹細胞における増殖能評価に関する研究

細胞組織利用医療機器への使用を意図してhMSCを増殖培養する際使用する培地には、血清が不要であることが望ましい。本研究では、新しい無血清培地STK2のhMSC培養能について従来の血清含有培地との比較を行った。加藤らは、STK2とDMEMでhMSCの培養を行い、35日間の培養の結果、STK2ではDMEMに対して20倍の細胞が得られたことを報告している。本研究では、4日間の培養で、STK2での細胞数がDMEMに対して2倍以上という結果が得られた。これは、35日間に換算すると20倍を上回る値であり、加藤らの報告した細胞増加量は十分妥当であると考えられる。

本研究では、骨再生を想定してHApを混合した培地でも培養を行い、各培地でのhMSC活性の相違を調べた。その結果、HApを細胞と直接接触させて培養した場合、およびHAp混合培地の上澄みで培養した場合の両者において、STK2での細胞活性はDMEM・MSCBMを上回る結果が得られた。このことから、STK2の使用は、HApに播種したhMSCを*in vitro*で培養する場合にも有効であることが予想される。

HAp混合培地の上澄みを使用した培養では、HAp粉末を各ウェルに入れた培養よりも全体的に細胞活性が高い結果が得られた。これは、ウェル底面にHAp粉末が堆積すること自体による影響、あるいは培地成分の吸着やイオン溶出が両者で異なることによる影響、もしくはその両者によるものであろう。

今回、実験2では、TetraColor ONEを定量に使用した。TetraColor ONEは、細胞内での脱水素酵素の働きを利用した試薬であるため、検体の濃度によって細胞の活性が変化する可能性がある状況では、正しく生細胞数を反映しない可能性がある。しかし、今回は細胞の活性をも含めた影響を調べるためにTetraColor ONEを使用することとした。実験1で使用したCrystal Violet染色法ならば染色体量に比例

した結果が得られるため、細胞活性の影響を受けずに細胞数を定量できる。しかし、HApがCrystal Violetによって染色される可能性があったため、実験2では使用しなかった。ただし、事前に実験2と同様の実験を行った際、TetraColor ONEでの測定後にCrystal Violet法でも測定を行ったが、両者で同様な結果が得られている。この予備実験では、Crystal Violet染色を行う前にウェル底面に堆積したHApをPBSで洗浄して取り除いた。それが測定結果に影響している可能性もあるが、TetraColor ONEによる測定結果でも概ね細胞数を反映していると考えている。

本研究では、焼成前のHAp粉末を培地に混合して実験を行ったが、HApの応用では成型して焼成されたものに細胞を播種することになるであろう。焼成前の粉末は吸着性が焼成後よりも強いことが想定されるため、よりその影響が大きい状態で測定していることになる。今後、焼成したHApプレート上での細胞増殖・骨分化能を調べることによって、より実際の使用条件に近いと考えられる状況にて同様の検討を行いたい。

今回の研究では、細胞増殖については培地間で比較検討を行ったものの、hMSCの分化能維持等については検討を行わなかった。加藤らは、STK2を使用して継代5代の培養の後にも、骨細胞、軟骨細胞、脂肪細胞への分化能が維持されていた事を報告している。今後当部でも、hMSCを含む各種細胞での増殖・分化に培地が及ぼす影響について、培地間の比較検討を行っていきたい。

## E. 結論

### 1. 幹細胞を用いた細胞組織医療機器の安全性評価に関する研究

幹細胞は癌細胞と同様に自己複製能を持つが、未分化の幹細胞を生体内に移植してもただちに癌化する可能性は低いことがわかった。ただし、細胞組織利用医療機器の材料として用いる場合に*in vitro*での培養工程を経なければならぬため、その培養期間前後で細胞の性質が変化(癌化のような不都合な変化)していない事を確かめる必要がある。その評価法の一つとして、骨髄由来間葉系幹細胞におけるp16とCx43の遺伝子発現を細胞利用時に確認すること(ただし細胞の増殖能との兼ね合いも考慮する必要があると思われる。)と、*in vitro*培養期間前後におけるc-myc、Bmi-1、PTEN、KLF4、STAT5、ATMの発現レベルの変化について確認することが挙げられた。

### 2. 組織工学用スキャホールドのエンドトキシン試験法の確立と感染リスクの排除

MM6-CA8細胞又はヒト末梢血細胞を利用したHCPTは煩雑な抽出操作を行うことなく、IL-6産生誘導能を指標として、高感度且つ容易に組織工学製品のヒトに対する微生物学的安全性を評価できることが判明した。また、同試験では、凍結保存したヒト末梢

血細胞も利用できると共に、異物による免疫応答も検出できることが判明した。

### 3. 間葉系幹細胞の均質性/同一性、および品質検査法の開発 加藤 幸夫)

間葉系幹細胞のマーカーが移植用細胞としての品質検査に役立つことが判明した。

### 4. 幹細胞の安全性に関する研究 コンピューターによる品質管理支援システム)

平成17年度

自家間葉系幹細胞移植に際して、術前から術後までの各検査の時期と方法を検討し病原体の否定試験等の手順を決定し、提案した。

平成18年度

自家間葉系幹細胞の臨床例で安全性を評価できた。電子システムソフトを用いてデータ管理を安全にかつ簡便にできるようになった。

平成19年度

感染リスクの排除や品質管理のための安全性検査のプログラムは、再生医療の安全性及び有効性の検証(2年間)に有用であると期待できる。

### 5. 再生医療に用いる安全な細胞・培養技術の確立とその評価法

ヒト精子の DNA 損傷は極めて多様であり、構造正常性 (DSB、SSB 観察)、遺伝子など多面的な解析が必要であることが示唆された。

組織培養において、環境因子は物理因子 (温度、湿度、ガス組成) と化学環境 (培養液のイオン組成、微量成分等) に大別される。これまで化学環境については詳細に研究されてきたが、物理環境の整備も重要であることが認識された。

### 6. 細胞移植・組織移植におけるアロ応答に関するモニタリングと制御に関する研究

重症心不全に対する同種移植治療では、対象患者が免疫学的に感作されている場合が多く、綿密なアロ免疫応答モニタリングと巧妙な拒絶反応治療が必要になる。

心筋梗塞急性期に対するアロ MSC 移植において、移植細胞は自家 MSC と同様に早期に脱落し、かつ免疫応答を惹起しないことから自家 MSC 移植と同等の安全性があることが示唆された。また、治療効果に関しても VEGF などサイトカインを介した血管新生により心機能の増悪抑制効果を認めた。

一方心筋梗塞急性期に対するアロ skMB 移植において、免疫応答を惹起し、自家 skMB と比して脱落が早く、治療効果を認めなかった。

アロ MSC は将来的に他家細胞移植は自家細胞に代替するアプリケーションとなりうることを示唆された。一方、アロ skMB 移植は今後慎重に検討する必要がある。

### 7. 再生医療に用いる安全な細胞・培養技術の確立とその評価法

ヒト胎盤絨毛組織、また臍帯血由来細胞中に骨、軟骨細胞へ分化しうる間葉系細胞が存在することを確認した。骨髄由来間葉系細胞と比べると臍帯血由来間葉系細胞は特に軟骨細胞への分化能が高かった。40PDL まで培養した臍帯血由来間葉系細胞は染色体の異常が見られなかったことから、細胞の安全性が確認された。今後 in vivo での詳細な実験を追加するとともに、臍帯血間葉系細胞をコンスタントに得て凍結保存するシステムを開発し、品質管理の面から臍帯血バンクシステムを利用した、胎盤と臍帯血由来間葉系細胞の再生医療の有効な細胞ソースとしての検討をさらにすすめていく必要がある。

### 8. 間葉系幹細胞の免疫制御 (寛容) システムに関する研究

細胞を利用した治療に MSC を利用していく上で MSC の機能とそのメカニズムを明らかにすることはその有効性、安全性の面からも必須であると思われる。この研究で、MSC の免疫抑制効果に関わる因子の同定を試み、いくつかの候補遺伝子を得てきた。今後、これらの遺伝子と免疫反応の関連性を検討し、免疫抑制機構カニズムの解明をめざしたい。ここで得られた結果は、MSC を用いた細胞組織医療機器を作製する際、より適切な細胞を選択する為のよい指標になるだけでなく、移植の際の拒絶反応の軽減に応用できると期待される。

さらに無血清培地による MSC の培養では、その免疫抑制効果は失われないことが確認され、無血清培地の有用性が示された。これらの結果から、特に臨床応用をめざした MSC の培養では無血清培地を使用することで、より安全で安定した品質の細胞を提供できるようになると考えられる。

### 9. 動物組織由来製品の安全性に関する研究

医療機器の安全性に関する情報収を行うため ISO の会議に参加し、ISO 文書を作成し、その成果を国内外で公表した。

### 10. 新しい無血清培地のヒト間葉系幹細胞における増殖能評価に関する研究

1. 新しい無血清培地 STK2 の hMSC 増殖能について、従来 hMSC の培養に使用されている血清含有培地 2 種 (DMEM, MSCBM) との比較を行った。その結果、STK2 は、無血清であるにも関わらず従来の血清含有培地を上回る細胞数が得られることが確認できた。このことから STK2 は、血清の使用に由来する問題が生じないだけでなく、短期間で必要な細胞数を得る上でも、従来の培地に対して優位にあるといえる。

2. hMSC の応用例として骨再生を想定し、ハイドロキシアパタイト (HAp) 粉末が存在する環境下での hMSC の増殖・活性について、培地間で比較する実験を行った。HAp 粉末と hMSC を直接接触させて培養し

た結果、10 mg/ml を超える添加量ではすべての培地で顕著な細胞活性の低下が見られた。その一方、1 mg/ml までの添加量では、DMEM と MSCBM での細胞活性は HAp 添加量に応じて阻害されたが、STK2 では同条件下で阻害が見られなかった。このことから in vitro で HAp に播種した hMSC を培養するような場合でも STK2 の使用は有効であることが示唆された。

#### F. 健康危険情報 なし

#### G. 研究発表

1. Takashi Yamada, Rumi Sawada and Toshie Tsuchiya, The effect of sulfated hyaluronan on the morphological transformation and activity of cultured human astrocytes. Biomaterials accepted 2008
2. Takashi Yamada, Duk-Young Jung, Rumi Sawada, Atsuko Matsuoka, Ryusuke Nakaoka, and Toshie Tsuchiya, Different effects of [60] fullerene brain injection and i.p. injection on the brain monoamine and behavior in the rats., J. of Nanoscience and Nanotechnology accepted 2008.
3. Saiffudin Ahmed, Toshie Tsuchiya, Misao Nagahata-Ishiguro, Rumi Sawada, Nasreen Banu and Tsutomu Nagira, Remarkable enhancing action by sulfated hyaluronan on Connexin-26, -32, and -43 gene expressions during the culture of normal human astrocytes, Journal of Biomedical Materials Research: Part A, in press.
4. Tomomi Ito, Rumi Sawada, Yoko Fujiwara, Toshie Tsuchiya, FGF-2 increases osteogenic and chondrogenic differentiation potentials of human mesenchymal stem cells by inactivation of TGF- $\beta$  signaling. Cytotechnology 2008, 56, 1-7.
5. Takashi Yamada, Duk-Young Jung, Rumi Sawada, Toshie Tsuchiya: Intracerebral microinjection of stannous 2-ethylhexanoate affects dopamine turnover in cerebral cortex and locomotor activity in rats. Journal of Biomaterial Materials Research: Part B-Applied Biomaterials accepted 2008
6. Kumada H., Haishima Y., Watanabe K., Hasegawa C., Tsuchiya T., Tanamoto K., Umemoto T., :Biological properties of the native and synthetic lipid A of Porphyromonas gingivalis lipopolysaccharide. Oral Microbiology Immunology 2008, 23, 60-69.
7. Matsuoka A., Haishima Y., Hasegawa C., Matsuda Y. and Tsuchiya T.: Organic-solvent extraction of model biomaterials for use in the in vitro chromosome aberration test. J. Biomed. Mater. Res. Part A., Oct. 16 (2007).
8. 土屋利江、粒子特性評価法及び毒性評価法—in vitro、「ナノ粒子・微粒子の毒性評価研究の動向と暴露対策の現状」技術情報協会、2007 pp371-380
9. 中岡竜介、松本富美子、宗林さおり、柳橋哲夫、土屋利江、視力補正を目的としないカラーコンタクトレンズの細胞毒性、衛研報告2007、125、61-64.
10. Ito T, Sawada R, Fujiwara Y, Seyama Y, Tsuchiya T., FGF-2 suppresses cellular senescence of human mesenchymal stem cells by down-regulation of TGF-beta2, Biochem Biophys Res Commun, 2007, 359, 1, 108-114.
11. Shigeyuki Wakitani, Masashi Nawata, Amu Kawaguchi, Takahiko Okabe, Kunio Takaoka, Toshie Tsuchiya, Ryusuke Nakaoka, Hiroya Madsuda, and Kyosuke Miyazaki, Serum Keratan sulfate is a promising marker of early articular cartilage breakdown. Rheumatology 46:1652-1656, 2007.
12. Masato Tamai, Ryusuke Nakaoka and Toshie Tsuchiya, S042- substituted hydroxyapatite enhances in vitro osteogenic property of normal human osteoblasts, Biomaterials, ??
13. Ito, T., Sawada, R., Fujiwara, Y.\* and Tsuchiya, T.: TGF- $\beta$  gene expression analysis in the human mesenchymal stem cells (hMSCs)-Relation between TGF- $\beta$  and hMSCs multidifferentiation-, Animal cell Technology: Basic & Applied Aspects, in press
14. Ahmed, S. and Tsuchiya, T, In vitro cytotoxic effects of tin compounds on normal human astrocytes, Animal cell Technology: Basic & Applied Aspects, in press
15. Banu, N. and Tsuchiya, T., Effects of tin compounds on human chondrogenic activity in vitro, Animal cell Technology: Basic & Applied Aspects, in press
16. Bayar Hexig, Ryusuke Nakaoka, Toshie Tsuchiya, Safety Evaluation of Surgical Materials by

- Cytotoxicity Test, Journal of Biomedical Materials Research:Part A, ? ?
17. 土屋利江、テッシュエンジニアリングとガイドライン、テッシュエンジニアリング2007、岡野光夫、田畑泰彦編、2007、241-244
  18. 土屋利江、再生医療の現状、再生医療品における幹細胞とバイオマテリアル=開発から臨床まで、土屋利江編、培風館、2007、印刷中
  19. 土屋利江、次世代医療機器審査WG平成17年度のまとめと18年度の間報告、日本歯科再生医学会誌、2007、vol.4、No.2、132-133
  20. Nakaoka, R. and Tsuchiya, T. , The responses of osteoblasts and chondrocytes cultured on an alginate gel modified with nano-patterned cell adhesive peptides, Proceedings of the 5th International Symposium on Nanotechnology, 34-35 (2007)
  21. Ito T, Sawada R, Fujiwara Y, Seyama Y, Tsuchiya T., FGF-2 suppresses cellular senescence of human mesenchymal stem cells by down-regulation of TGF- $\beta$ 2, Biochem Biophys Res Commun, 2007, 359, 1, 108-114.
  22. 澤田留美、伊藤友美、土屋利江、細胞組織利用医療機器に用いられる幹細胞の品質および安全性評価について、薬学雑誌、2007、127、5、851-856
  23. 山口照英、土屋利江、細胞組織利用医薬品・医療機器の安全性とその有用性評価、薬学雑誌、2007、127、5、839-840
  24. 土屋利江：細胞組織医療機器開発総論、薬学雑誌、127、847-850 (2007)
  25. Banu N, Tsuchiya T, Sawada R., Effects of a biodegradable polymer synthesized with inorganic tin on the chondrogenesis of human articular chondrocytes., J Biomed Mater Res A. 2007, 82, 1, 263-264.
  26. 土屋利江、俵木登美子、スペシャル対談日本の医療機器の研究開発と制度の動向、バイオテクノロジージャーナル、2007、3-4、198-203
  27. Nasreen Banu, Toshie Tsuchiya, Markedly different effects of hyaluronic acid and chondroitin sulfate-A on the differentiation of human articular chondrocytes in micromass and 3-D honeycomb rotation culture. J. Biomed. Mater. Res. 2007, 80, 257-267.
  28. 土屋利江、再生医療製品のギャップ結合細胞間連絡機能評価の重要性について、再生医療技術の最前線、岡野光夫、大和雅之監修、2007、pp241-248.
  29. D. Y. Jung, Y. B. Kang, T. Tsuchiya, S. Tsutsumi, A novel non-destructive method for measuring elastic moduli of cultivated cartilage tissues Key Engineering 2007, 342-343, 853-856.
  30. Tsutomu Nagira, Misao Nagahata-Ishiguro and Toshie Tsuchiya, Effects of sulfated hyaluronan on keratinocyte differentiation and Wnt and Notch gene expression. Biomaterials 2007, 28, 844-850.
  31. 山越葉子、中澤憲一、土屋利江、原子間力顕微鏡(AFM)による蛋白質のイメージング、日本臨床、2007、二号、270-277
  32. Masato Tamai, Kazuo Isama, Ryusuke Nakaoka and Toshie Tsuchiya, Synthesis of novel  $\beta$ -tricalcium phosphate/hydroxyapatite biphasic calcium phosphate containing niobium ions and evaluation of osteogenic properties. J Artif Organs. 2007;10(1):22-28.
  33. Matsubara, T., Suardita K., Ishii, M., Igarashi, A., Oda, R., Nishimura, M., Saito, M., Nakagawa, K., Yamanaka, K., Miyazaki, K., Shimizu, M., Tsuji, K., Nakamura, K., Kato, Y. Alveolar bone marrow as a cell source for regenerative medicine: differences between alveolar and iliac bone marrow stromal cells. Journal of Bone and Mineral Research, 20(3), 399-409, 2005.
  31. Ishii, M., Koike, C., Igarashi, A., Yamanaka, K., Pan, H., Higashi, Y., Kawaguchi, H., Sugiyama, M., Kamata, N., Iwata, T., Matsubara, T., Nakamura, K., Kurihara, H., Tsuji, K., and Kato, Y. Molecular Markers Distinguish Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells from Fibroblasts. Biochemical and Biophysical Research Communication. 332(1), 297-303, 2005.
  33. Fujimoto, K., Hamaguchi, H., Hashiba, T., Nakamura, T., Kawamoto, T., Sato, F., Noshiro, M., Uk, B., Suardita, K., and Kato, Y. Transcriptional repression by the basic helix-loop-helix protein Dec2: multiple mechanism through E-box elements. International Journal of Molecular Medicine, in press.
  34. Ozaki, Y., Nishimura, M., Sekiya, K., Suehiro, F., Kanawa, M., Nikawa, H., Hamada, T., Kato, Y. Comprehensive analysis of chemotactic factors for bone marrow mesenchymal stem cells. Stem Cells and Development, in press.
  35. Kawamoto, T., Noshiro, M., Furukawa, M., Honda, K. K., Nakashima, A., Ueshima, T.,

- Usui, E., Katsura, Y., Fujimoto, K., Honma, S., Honma, K., Hamada, T., Kato, Y. Effects of fasting and re-feeding on the expression of *Dec1*, *Per1*, and other clock-related genes. *Journal of Biochemistry*, 140(3), in press.
36. Hasegawa N, Kawaguchi H, Hirachi A, Takeda K, Mizuno N, Nishimura M, Koike C, Tsuji K, Iba H, Kato Y, Kurihara H. Behavior of transplanted bone marrow-derived mesenchymal stem cells in periodontal defects. *J Periodontol*. 77(6):1003-7, 2006.
37. Iwata, T., Kawamoto, T., Sasabe, E., Miyazaki, K., Fujimoto, K., Noshiro, M., Kurihara, H., Kato, Y. Effects of overexpression of basic helix-loop-helix transcription factor *Dec1* on osteogenic and adipogenic differentiation of mesenchymal stem cells. *European Journal of Cell Biology*, 85, 423-431, 2006.
38. Umemura, T., Nishioka, K., Igarashi, A., Kato, Y., Ochi, M., Chayama, K., Yoshizumi, M., Higashi, Y. Autologous bone marrow mononuclear cell implantation induces angiogenesis and bone regeneration in a patient with compartment syndrome. *Circulation Journal* 70, 1362-1364, 2006.
39. Kayakabe, M., Tsutsumi, S., Watanabe, H., Kato, Y., Takagishi, K. Transplantation of autologous rabbit bone marrow-derived mesenchymal stem cells expanded in Vitro with FGF into joint defect with hyaluronic acid sponge. *Cytherapy*, 8(4), 343-53, 2006.
40. 加藤幸夫、五十嵐晃、金輪真佐美 ヒト細胞材料最新活用法 ヒト間葉系幹細胞 (MSC) バイオテクノロジージャーナル, 6(6), 693-696, 2006.
41. 加藤幸夫、加家壁正知、Pan Haiou、五十嵐晃、堤真一、松原全宏、河本健、辻絃一郎、中村耕三、高岸憲二 軟骨修復に用いられる間葉系幹細胞の基本的性質 関節外科 25 卷 4 月増刊号 63-69, 2006.
42. 加藤幸夫、辻絃一郎 再生医療の潮流と歯科への応用 *DENTAL DIAMOND* 31(443), 70-73, 2006.
43. 加藤幸夫、久保裕嗣、清水正和、五十嵐晃、辻絃一郎、河本健、中島歩 間葉系幹細胞の基礎 (2) 間葉系幹細胞の性質 腎と骨代謝, 19(4), 307-312, 2006.
44. Yunokawa M, Tanimoto K, Nakamura H, Nagai N, Kudo Y, Kawamoto T, Kato Y, Hiyama E, Hiyama K, Nishiyama M. Differential regulation of *DEC2* among hypoxia-inducible genes in endometrial carcinomas. *Oncol Rep*. 2007 Apr;17(4):871-8.
45. Fujimoto K, Hamaguchi H, Hashiba T, Nakamura T, Kawamoto T, Sato F, Noshiro M, Uk B, Suardita K, and Kato Y. Transcriptional repression by the basic helix-loop-helix protein *Dec2*: multiple mechanisms through E-box elements. *International Journal of Molecular Medicine*, 2007 Jun;19(6):925-32.
46. Fujita T, Iwata T, Shiba H, Igarashi A, Hirata R, Takeda K, Mizuno N, Tsuji K, Kawaguchi H, Kato Y, Kurihara H. Identification of marker genes distinguishing human periodontal ligament cells from human mesenchymal stem cells and human gingival fibroblasts. *J Periodontol Res*. 2007 Jun;42(3):283-6
47. Noshiro M, Usui E, Kawamoto T, Kubo H, Fujimoto K, Furukawa M, Honma S, Makishima M, Honma K, Kato Y. Multiple mechanisms regulate circadian expression of the gene for cholesterol 7 $\alpha$ -hydroxylase (*Cyp7a*), a key enzyme in hepatic bile acid biosynthesis. *J Biol Rhythms*. 2007 Aug;22(4):299-311.
48. Igarashi A, Segoshi K, Sakai Y, Pan H, Kanawa M, Higashi Y, Sugiyama M, Nakamura K, Kurihara H, Yamaguchi S, Tsuji K, Kawamoto T, Kato Y. Selection of Common Markers for Bone Marrow Stromal Cells from Various Bones Using Real-Time RT-PCR: Effects of Passage Number and Donor Age. *Tissue Eng*. 2007 Oct;13(10):2405-17.
49. Ehata S, Hanyu A, Hayashi M, Aburatani H, Kato Y, Fujime M, Saitoh M, Miyazawa K, Imamura T, Miyazono K. Transforming Growth Factor- $\beta$  Promotes Survival of Mammary Carcinoma Cells through Induction of Antiapoptotic Transcription Factor *DEC1*. *Cancer Res*. 2007 Oct 15;67(20):9694-703.
50. 加藤幸夫 軟骨/骨/脂肪/他組織での転写因子 *DEC1/DEC2* の役割 生体の科学 58 (3), 171-174, 2007.
51. 加藤幸夫、邵金昌、桂由紀、坂井将典、坂井裕大、久保裕嗣、辻絃一郎 再生医療 現在と未来 (Part2) - 歯科での再生医療の実現と普及への取り組み - 日本歯科技工学会雑誌 28 (1), 30-33, 2007.
52. 加藤幸夫、五十嵐晃、清水正和、久保裕嗣 第 10 章 間葉系幹細胞 3 間葉系幹細胞の特質 「バイオテクノロジーシリーズ 再生医療に用いられる細胞・再生組織の評価と安全性」大串始監修 シーエムシー出版 総ページ数 332, 226-236, 2007 年 6 月 29 日発行
53. 加藤幸夫、坂井裕大、本田清昌、五十嵐晃、辻絃一郎、西村正宏 間葉系幹細胞の遊走能、癌化リスク、病的変化 *Bio Clinica*, 22(12), 43-49, 2007.
54. 河本健、加藤幸夫 生体時計に関与する転写因子

- の機能制御とタンパク質間相互作用 生体の科学、58(5),468-470,2007.
55. 中内啓光、加藤幸夫、村上伸也、上田実、水上哲也 特別座談会 再生医療の新たな潮流—再生医療に歯科界の活路を見出せるか— ザ・クインテッセンス 26(12)別冊,33-45,2007.
  56. Yoshida S, Shimmura S, Shimazaki J, Shinozaki N, Tsubota K. Serum-free spheroid culture of mouse corneal keratocytes. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2005 46:1653-1658.
  57. Shimmura S, Miyashita H, Konomi K, Shinozaki N, Taguchi T, Kobayashi H, Shimazaki J, Tanaka J, Tsubota K. Transplantation of corneal endothelium with Descemet's membrane using a hydroxyethyl methacrylate polymer as a carrier. Br J Ophthalmol. 2005 89:134-137.
  58. Kaneko, S., Human sperm processing in assisted reproduction technology. J. Mamm. Ova Res. 22: 224-228, 2005
  59. Individual tissue culture system in a disposable capsule with hypoxic atmosphere, Kaneko S, Takamatsu K, Yoshida J, Miyaji K, Ishikawa H, Kawamata T, Shinozaki N, Ann. Cancer Res. Therap., 16: 8-11 2008
  60. Allogenic Mesenchymal Stem Cell Transplantation has a Therapeutic Effect in Acute Myocardial Infarction in Rats, Journal of Molecular and Cellular Cardiology 2007 in press
  61. 高橋恒夫、張曉紅、伊倉宏一. 臍帯血と胎盤組織由来細胞を用いた再生医療の可能性。ティッシュエンジニアリング 2006. 田原泰彦、岡野光夫(編) 日本組織工学会監修。日本医学館(東京)、p175-186, 2006.
  62. Zhang X, Mitsuru A, Igura K, Takahashi K, Ichinose S, Yamaguchi S, Takahashi TA. Mesenchymal progenitor cells from chorionic villi of human placenta for cartilage tissue engineering. Biochem Biophys Res Commun. 340, 944-952, 2006.
  63. Zhang X, Soda Y, Takahashi K, Mitsuru A, Bai Y, Ogia K, Satoh H, Yamaguchi S, Tani K, Tojo A, Takahashi TA. Successful immortalization of mesenchymal progenitor cells derived from human placenta and the differentiation abilities of immortalized cells. Biochem Biophys Res Commun. 351, 853-859, 2006.
  64. 張曉紅、伊倉宏一、高橋賢次、三鶴亜矢子、高橋恒夫 胎盤絨毛由来間葉系細胞から軟骨細胞への分化誘導. 日本炎症、再生医学会雑誌 Vol.25(2) p102-106, 2005
  65. Shoko Obora(1), Masaru Tajima(1), Tomomitsu Miyoshi(2), Hajime Swai(2), Tsutomu Kurosawa(1). The Depth of Ketamine Based Anesthesia Evaluated by Visual Evoked Potential in Mice The 19th Annual Meeting of JSAAE, AATEX II (Supplement). JSAAE(Japanese Society for alternative to Animal Experiments) Vol.11 Supplement March 31 2006
  66. 黒澤努、麻薬を含む麻酔薬の管理と使用、獣医学産新報 60(8):646-652, 2007
  67. 黒澤努、獣医学的管理、麻酔、安楽死処分は科学者の自主規制か、法的な規制か 実験動物と環境 15(2):126-133, 2007
- 2) 学会発表
1. 土屋利江 「再生医療の支援技術・基盤技術の概要」 第7回日本再生医療学会 (2008.3)
  2. 藤井妙恵、江副幸子、松山章文、東谷賢児、長尾杏奈、武田香里、高岡文、大石晴樹、名井陽、土屋利江、澤芳樹 「細胞・組織治療におけるエンドトキシン測定法の有用性」 再生医療学会 (2007.11)
  3. 脇谷滋之、川口杏夢、徳原善雄、福永健治、今井祐記、高岡邦夫、増田茂樹、富田直秀、堤 定美、土屋利江 「軟骨修復の評価技術の検討」 日本再生医療学会総会 (2008.3)
  4. 土屋利江 「細胞治療等の安全性検証システム」 第80回日本整形外科学会総会 (2007.5)
  5. 靨島由二、長谷川千恵、岡野理紗、村松知明、村井敏美、中川ゆかり、土屋利江. ヒト細胞を使用した新規 *in vitro* 発熱性物質試験法の有用性評価. 第29回日本バイオマテリアル学会大会 (2007年11月・大阪).
  6. 靨島由二、長谷川千恵、小園 知、佐々木和夫、中川ゆかり、村井敏美、土屋利江. エンドトキシン汚染と生物学的安全性:規格値の設定と定量法について. 平成19年度厚生科学研究成果発表会 (2008年2月・東京).
  7. 靨島由二、小園 知、長谷川千恵、岡野理紗、村松知明、佐々木和夫、土屋利江. 医療機器・医用材料の適用例に応じてエンドトキシン規格値の設定. 第28回日本バイオマテリアル学会大会 (2006年11月・東京).
  8. 靨島由二、長谷川千恵、岡野理紗、村松知明、村井敏美、中川ゆかり、土屋利江. ヒト細胞を使用した *in vitro* 発熱性物質試験法の有用性評価. 第28回日本バイオマテリアル学会大会 (2006年11月・東京).
  9. 靨島由二. 感染因子含有材料の *in vivo* 動態評価手法の開発. 医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業「医療機器・医用材料の安全性評価手法開発に関する研究」成果発表会 (2006年3月・東京).
  10. 靨島由二、長谷川千恵、小園 知、佐々木和夫、矢上 健、土屋利江. 菌体成分含有コラーゲンの生体親和性と組織再生に対する影響. 第27回日本バイオマテリアル学会大会 (2005年11月・京

- 都).
11. 張曉紅、三鶴亜矢子、伊倉宏一、高橋恒夫 胎盤絨毛部由来間葉系細胞から軟骨細胞への分化誘導。日本炎症、再生医学会雑誌 Vol.25(4) p369 2005
  12. 三鶴亜矢子、張曉紅、伊倉宏一、高橋賢次、高橋恒夫 胎盤絨毛部由来間葉系細胞から軟骨再生医療応用の可能性の検討。日本再生医療学会雑誌 Vol.4 Suppl p174 2005
  13. 張曉紅、三鶴亜矢子、伊倉宏一、高橋賢次、高橋恒夫 ヒト胎盤間葉系細胞の不死化と分化能。日本再生医療学会雑誌 Vol.4 Suppl p195 2005
  14. Zhang X, Mitsuru A, Igura K, Takahashi K, Ichinose S, Yamaguchi S, and Takahashi TA. Mesenchymal progenitor cells derived from chorionic villi of human placenta for cartilage tissue engineering. International Workshop on Placenta Derived Stem Cells. P38, March 2007, Brescia, Italy.
  15. Takahashi TA. Mesenchymal stem cell derived from human placenta and cord blood. 2nd Korea Mesenchymal Stem Cell Symposium Nov.2007 Seoul, Korea.
  16. 張曉紅、平井雅子、伊倉宏一、高橋恒夫。ALDEFLUOR Kit による臍帯血の造血幹、前駆細胞の同定。第 29 回日本造血細胞移植学会総会 p173 2007
  17. 五十嵐晃、河本健、栗原英見、河口浩之、東幸仁、鎌田伸之、杉山勝、邵金昌、辻紘一郎、加藤幸夫 再生医療における移植用間葉系幹細胞の検定の重要性と検定方法の検討 第 4 回日本再生医療学会総会 2005 年 3 月 1-2 日 吹田市
  18. 山中克之、五十嵐晃、坂井将典、吉松真一郎、栗原英見、河口浩之、東幸仁、杉山勝、辻紘一郎、加藤幸夫 下顎骨からヒト間葉系幹細胞を採取・増幅するための骨髓液の質の評価方法 第 4 回日本再生医療学会総会 2005 年 3 月 1-2 日 吹田市
  19. 原真依子、瀬越和美、邵金昌、五十嵐晃、石井正和、辻紘一郎、加藤幸夫 ヒト間葉系幹細胞の特徴：未分化状態での骨、軟骨、脂肪関連遺伝子の発現及びVD3に対する応答性 第4回日本再生医療学会総会 2005 年 3 月 1-2 日 吹田市 (ポスター発表)
  20. 山中克之、山本克史、坂井裕大、金子正、辻紘一郎、加藤幸夫 間葉系幹細胞の増幅・分化に適した生分解性 Scaffold (ポリ乳酸系) の表面構造 第 4 回日本再生医療学会総会 2005 年 3 月 1-2 日 吹田市 (ポスター発表)
  21. 清水正和、河本健、五十嵐晃、阪恵美、山中克之、西村正宏、辻紘一郎、加藤幸夫 間葉系幹細胞の遺伝子発現パターン解析 I 第 15 回中国・四国骨代謝研究会 2005 年 7 月 9 日 岡山市
  22. 阪恵美、河本健、清水正和、五十嵐晃、西村正宏、辻紘一郎、加藤幸夫 間葉系幹細胞の遺伝子発現パターン解析 II 第 15 回中国・四国骨代謝研究会 2005 年 7 月 9 日 岡山市
  23. 清水正和、河本健、阪恵美、五十嵐晃、金輪真佐美、山中克之、西村正宏、辻紘一郎、加藤幸夫 間葉系幹細胞システムにおける基本的デザインの追求 第 19 回日本軟骨代謝学会 2006 年 3 月 3 日-4 日 横浜市
  24. 坂井裕大、瀬越和美、坂井将典、山中克之、関谷健裕、西村正宏、加藤幸夫、辻紘一郎 顎骨から穿刺法を用いて確実に間葉系幹細胞を採取する方法の検討 第 5 回日本再生医療学会総会 2006 年 3 月 8 日-9 日 岡山市
  25. 五十嵐晃、河本健、邵金昌、金輪真佐美、吉橋久男、清水正和、原真依子、栗原英見、東幸仁、杉山勝、河野博隆、中村耕三、辻紘一郎、加藤幸夫 各種の骨髓より分離した間葉系幹細胞の共通マーカー遺伝子；線維芽細胞との比較 第 5 回日本再生医療学会総会 2006 年 3 月 8 日-9 日 岡山市
  26. 坂井裕大、瀬越和美、金輪真佐美、久保裕嗣、清水正和、五十嵐晃、河本健、辻紘一郎、加藤幸夫 間葉系幹細胞 (MSC) と線維芽細胞 (FB) のマトリックス分解系 (MMP/TIMP) : 炎症刺激応答の検討 第 16 回中国・四国骨代謝研究会 平成 18 年 7 月 1 日 岡山市
  27. 瀬越和美、五十嵐晃、清水正和、原真依子、東幸仁、栗原英見、金輪真佐美、河本健、辻紘一郎、加藤幸夫 間葉系幹細胞の蛋白マーカー ~ サイトカイン定量によるアプローチ~ 第 16 回中国・四国骨代謝研究会 平成 18 年 7 月 1 日 岡山市
  28. 清水正和、河本健、五十嵐晃、金輪真佐美、西村正宏、辻紘一郎、加藤幸夫 間葉系幹細胞システムにおける基本的デザインの追究 第 24 回日本骨代謝学会 平成 18 年 7 月 6-8 日 東京都
  29. 金輪真佐美、五十嵐晃、瀬越和美、辻紘一郎、加藤幸夫 ヒト骨髓間葉系幹細胞の軟骨分化能は年齢とともに低下する 第 24 回日本骨代謝学会 平成 18 年 7 月 6-8 日 東京都
  30. 邵金昌、久保裕嗣、桂由紀、五十嵐晃、金輪真佐美、瀬越和美、辻紘一郎、加藤幸夫 ヒト骨髓由来間葉系幹細胞の無血清長期継代培養におけるリン脂質・脂肪酸の効用について 第 20 回日本軟骨代謝学会 平成 19 年 3 月 2-3 日 岡山市
  31. 久保裕嗣、清水正和、五十嵐晃、河本健、辻紘一郎、加藤幸夫 間葉系幹細胞の自己複製に関わる転写因子についての検討 (ポスター発表) 第 6 回日本再生医療学会総会 平成 19 年 3 月 13-14 日 横浜市
  32. M. Nishimura, K. Sekiya, Y. Sakai, Y. Kato. High HAS1 and low CD44 levels may contribute to viscosity of bone marrow aspirates. (ポスター発表) Hyaluronan 2007 平



- 成 19 年 4 月 22-27 日 Charleston, USA.
33. 坂井将典、邵金昌、桂由紀、パワー・ウジャー  
ル・クマール、西村正宏、加藤幸夫、辻絃一郎 間  
葉系幹細胞 (MSC) を用いた再生療法による骨  
粗鬆症治療の可能性 (ポスター発表) 第 54 回日  
本実験動物学会総会 平成 19 年 5 月 23-25 日  
東京都
  34. 末廣史雄、西村正宏、関谷健祐、西村春樹、久保  
裕嗣、五十嵐晃、河本健、加藤幸夫、濱田泰三 間  
葉系幹細胞の骨分化に関わる転写因子の機能解  
析 第 40 回広島大学歯学会総会 平成 19 年 6 月  
16 日 広島市
  35. 坂井裕大、瀬越和美、金輪真佐美、久保裕嗣、清  
水正和、五十嵐晃、河本健、辻絃一郎、加藤幸夫  
滑膜由来間葉系幹細胞の特徴 中四国骨代謝研究  
会 平成 19 年 7 月 7 日 岡山市
  36. 上嶋太一、河本健、本田清昌、能城光秀、藤本勝  
巳、後藤修、加藤幸夫 軟骨細胞分化の概日リズ  
ムを制御する新規配列の探索とそこに関与する  
転写因子の同定 中四国骨代謝研究会 平成 19  
年 7 月 7 日 岡山市
  37. 清水正和、久保裕嗣、田谷雄二、河本健、島津徳  
人、青葉孝昭、加藤幸夫 間葉系幹細胞の生体内  
分布および未分化維持機構の解明 第 25 回日本  
骨代謝学会学術集会 平成 19 年 7 月 19-21 日  
大阪市
  38. 上嶋太一、河本健、能城光秀、藤本勝巳、本田清  
昌、中島歩、加藤幸夫 軟骨細胞の分化の概日リ  
ズムを制御する数種類の新規制御配列の同定と  
そこに関与する転写因子の探索 (ポスター発表)  
第 25 回日本骨代謝学会学術集会 平成 19 年 7  
月 19-21 日 大阪市
  39. 河本健、本田清昌、藤本勝巳、能城光秀、加藤幸  
夫 DEC1 による概日リズム調節の機構 第 49 回  
歯科基礎医学会 平成 19 年 8 月 29-31 日 札幌  
市
  40. Nakashima A., Kawamoto T., Honda K.,  
Ueshima T., Noshiro M., Fujimoto K., Kubo H.,  
Kato Y. DEC1 modulates circadian phase of  
clock gene expression 2nd World Congress of  
Chronobiology 平成 19 年 11 月 4-6 日 東京都  
(ポスター発表)
  41. Noshiro M., Usui E., Kawamoto T., Sato F.,  
Nakashima A., Furukawa M., Ueshima T.,  
Honda K., Fujimoto K., Honma S., Honma K.,  
Kato Y. The liver X receptors (LXR $\alpha$  and  
LXR $\beta$ ) are potent regulators for hepatic Dec1  
expression 2nd World Congress of  
Chronobiology 平成 19 年 11 月 4-6 日 東京都  
(ポスター発表)
  42. 加藤幸夫 骨髄間葉系幹細胞の不均質性/均質  
性および遺伝子発現パターン 日本組織培養学  
会第 78 回大会 2005 年 5 月 26-27 日 広島市
  43. Y. Kato Characterization of bone marrow  
mesenchymal stem cells using DNA  
microarrays: Application to regenerative  
medicine The 4th Scientific Meeting in  
Dentistry 2005 年 8 月 12 日 Surabaya,  
Indonesia
  44. 加藤幸夫 間葉系幹細胞による再生医療: 幹細胞  
としての特異的遺伝子発現と臨床応用 第 7 回  
鹿児島骨代謝研究会 2005 年 9 月 6 日 鹿児島  
市
  45. 加藤幸夫、五十嵐晃、河本健、清水正和、Pan  
Haiou、阪恵美、金輪真佐美、辻絃一郎 ヒト腸  
骨、顎骨/歯槽骨、大腿骨由来の間葉系幹細胞の  
遺伝子発現パターンの特徴 口腔顔面頭蓋再生  
研究国際シンポジウム 2005 年 9 月 17-20 日  
岡山市
  46. 加藤幸夫 ヒト間葉系幹細胞のマーカー遺伝子  
を用いた品質検定 ナショナルバイオリソースプ  
ロジェクト 「細胞」シンポジウム 2005 年 9  
月 29 日 東京都
  47. 加藤幸夫 間葉系幹細胞の分子マーカー、軟骨分  
化に伴う遺伝子発現の変化および軟骨概日リズ  
ム遺伝子の同定 第 14 回長崎骨粗鬆症研究会  
2005 年 10 月 4 日 長崎市
  48. 加藤幸夫 間葉系幹細胞: 移植用細胞としての現  
実と幹細胞としての本質 第 4 回再生歯科シン  
ポジウム 2005 年 11 月 20 日 東京都
  49. 加藤幸夫 間葉系幹細胞による再生医療: 幹細胞  
としての特異的遺伝子発現と臨床応用 第 7 回  
鹿児島骨代謝研究会 2006 年 2 月 2 日 鹿児島  
市
  50. 加藤幸夫 ヒト骨髄間葉系幹細胞のシステムデ  
ザインと臨床応用 関西広域クラスター再生医  
療シンポジウム「骨軟骨を標的とした再生医療開  
発の現状: 基礎と臨床」2006 年 6 月 16 日 神戸  
市
  51. 加藤幸夫、辻絃一郎 歯周組織と骨/軟骨の細胞  
治療に用いる間葉系幹細胞の培養法と性質 日  
本歯科技工学会 2006 年 9 月 17-18 日 広島  
市
  52. 加藤幸夫 関節症における滑膜線維芽細胞 (間葉  
系幹細胞) の活性化および高分子ヒアルロン酸療  
法 第 39 回日本結合組織学会・第 54 回マトリッ  
クス研究会合同学術集会 平成 19 年 5 月 9-11  
日 東京都
  53. 加藤幸夫 ヒト間葉系幹細胞の無血清培地の開発  
第 5 回医療機器フォーラム 平成 19 年 10 月 27  
日 東京都
  54. 加藤幸夫 時計治療学をめざして: 時計遺伝子  
DEC の発現および日内時刻による遺伝子発現の  
制御 第 35 回薬物活性シンポジウム 平成 19 年  
11 月 29-30 日 広島市
  55. 坂井将典、邵金昌、桂由紀、パワー・ウジャー  
ル、加藤幸夫、辻絃一郎: 間葉系幹細胞を用い  
た再生療法による骨粗鬆症治療の可能性: 第 54

- 回日本実験動物学会総会：平成 19 年 5 月 23 日
56. 坂井裕大、瀬越和美、金輪真佐美、久保裕嗣、清水正和、五十嵐晃、河本健、辻紘一郎、加藤幸夫：滑膜由来間葉系幹細胞の特徴：中四国骨代謝研究会：平成 19 年 7 月 7 日
  57. 久保裕嗣、五十嵐晃、河本健、清水正和、辻紘一郎、加藤幸夫：間葉系幹細胞 (MSC) の分化過程における遺伝子の変動～ECM に対する考察も含めて～ 第 28 回日本炎症・再生医学会：平成 19 年 7 月 17 日～18 日
  58. 坂井宣之、武田克浩、河野秀之、柴 秀樹、河口浩之、辻紘一郎、栗原英見：脳由来神経栄養因子(BDNF)とヒアルロン酸を用いた歯周組織再生療法の開発：第 46 回広島県歯科医学会 併催：第 91 回広島大学歯学会：平成 19 年 10 月 21 日
  59. 坂井将典、原真依子、桂由紀、中村大吉、山縣敏彦、森下強、竹田美佳加藤幸夫、辻紘一郎：間葉系幹細胞 (MSC) のための自動培養装置「ゆりかご」の開発・改良：第 10 回日本組織工学会：平成 19 年 11 月 8 日～9 日
  60. 金輪真佐美：間葉系幹細胞 (MSC) の特長を示す遺伝子群の同定：広島中央サイエンスパーク研究公開フォーラム：平成 19 年 12 月 20 日
  61. 辻紘一郎：火傷・褥瘡など皮膚再生治療材 (Graft-Aid) の開発：平成 19 年度第 2 回医療・福祉機器研究交流会：平成 19 年 12 月 20 日
  62. 石川格、澤田留美、加藤幸夫、辻紘一郎、土屋利江：感染リスクの低い無血清培地によるヒト間葉系幹細胞増殖能：平成 19 年度厚生労働科学研究費補助金 医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業 医療機器・医用材料のリスクアセスメント手法開発に関する研究：平成 20 年 2 月 7 日
  63. 辻紘一郎：間葉系幹細胞を用いた治療の事業化：平成 19 年度山口大学大学院応用分子生命科学産学公連携セミナー「再生医療の実用化への展開、産学公の取り組み」：平成 20 年 3 月 1 日：宇部全日空ホテル (国際会議場)
  64. 篠崎 尚史：細胞外 DNA を指標とする造精機能評価に関する基礎的検討、兼子智、小林健介、片山昌勅、松田兆史、中川博之、宮地系典、富永英一郎、岸郁子、北岡芳久、谷垣伸治、岡崎雅子、石川博通、高松潔、第 23 回 日本受精着床学会 学術講演会、2005 アルカリコメット法では、精子 DNA 損傷を観察できない、郡山純子、兼子智、中川博之、宮地系典、富永英一郎、岸郁子、北岡芳久、谷垣伸治、岡崎雅子、石川博通、高松潔、第 23 回 日本受精着床学会学術講演会、2005
  65. 澤 芳樹：Current status and future prospectives of intrathoracic organ transplantation in Japan. 日本胸部外科学会シンポジウム 2005 年 10 月 5-7 日、岡山
  66. 澤 芳樹：重症心不全における細胞移植療法における同種アロ細胞の有用性の検討 第 6 回

日本再生医療学会 2007 年 3 月 13 日  
パシフィコ横浜

67. 澤 芳樹：Allogenic Mesenchymal Stem Cell Transplantation Has a Therapeutic Effect in a rat model of Acute Myocardial Infarction TERMIS-AP 2007 Tissue Engineering International and Regenerative Medicine Society Asia-Pacific Chapter Meeting 2007 2007 年 12 月 3 日 Grand Prince Hotel AKASAKA ラット心筋梗塞急性期モデルに対する他家間葉系幹細胞移植における治療効果の検討 第 7 回 日本再生医療学会 2008 年 3 月 13 日名古屋国際会議場 加藤玲子、土屋利江「間葉系幹細胞(mesenchymal stem cells: MSCs)の免疫免疫制御システムに関する研究」第 6 回日本再生医療学会 (2007. 3)
68. 加藤玲子、土屋利江 「間葉系幹細胞 (Mesenchymal Stem Cell: MSC) の免疫調節に関わる因子の解析」 第 7 回日本再生医療学会 (2008. 3)
69. 石川 格、澤田 留美、加藤 幸夫、辻 紘一郎、邵金昌、山田 貴史、松岡 厚子、土屋 利江. 新規無血清培地 STK2 におけるヒト間葉系幹細胞の増殖能評価. 第 7 回日本再生医療学会総会, 名古屋, 2008 年 3 月.

#### H. 知的財産の出願・登録状況

##### 1). 特許出願

1. 加藤幸夫、河本健、辻紘一郎、五十嵐晃、清水正和：分子マーカーを用いた間葉系幹細胞の識別方法及びその利用  
(出願番号：特願 2005-104563 号、2005)  
(出願人：科学技術振興機構、広島大学、(株) ツーセル)  
出願日：平成 17 年 3 月 31 日
2. 二川浩樹、西村正宏、加藤幸夫、辻紘一郎：動物幹細胞培養用無血清培地  
(出願番号：特願 2005-223242 号、2005)  
(出願人：(株) ツーセル、二川浩樹、加藤幸夫)  
出願日：平成 17 年 8 月 1 日
3. 加藤幸夫、邵金昌、桂由紀、辻紘一郎：動物細胞を無血清培養するための培地用添加剤、キット及びこれらの利用  
(出願番号：特願 2006-006706 号、2006)  
(出願人：独立行政法人科学技術振興機構、(株) ツーセル)  
(出願日：平成 18 年 1 月 13 日)
4. 加藤幸夫、河本健、上嶋太一、能城光秀、後藤修：軟骨・骨概日リズム遺伝子および時計モチーフ  
(出願番号：特願 2007-48189 号、2007)  
(出願人：広島大学、(株) ツーセル)  
(出願日：平成 19 年 2 月 27 日)
5. 加藤幸夫、西村正宏、関谷健祐、久保裕嗣、辻紘一郎：骨分化状態を測定する組成物および骨分化

を調節する組成物

(出願番号：特願 2007-120305 号、2007)

(出願人：広島大学、(株) ツーセル)

(出願日：平成 19 年 4 月 27 日)

6. 加藤幸夫、河本健、中島歩、辻紘一郎：低酸素応答を制御する物質のスクリーニング方法及び低酸素応答を制御する医薬組成物

(出願番号：特願 2007-173127 号、2007)

(出願人：広島大学、(株) ツーセル)

(出願日：平成 19 年 6 月 29 日)

7. 二川 浩樹、西村正宏、辻 紘一郎、廣本 延枝、川端 涼子：新規抗菌性ペプチド及び該抗菌性ペプチドを有効成分とする無血清培地

(出願番号：特願 2006-142505 号(P043P02)、2006)

(出願人：独立行政法人科学技術振興機構、広島大学、(株) ツーセル)

(出願日：平成 18 年 5 月 23 日)

8. 二川浩樹、西村正宏、辻紘一郎、廣本延枝、川端涼子：抗菌性ペプチドを用いた細胞増殖促進剤及び該足棒増殖促進剤を含有する無血清培地を用いる細胞増殖促進方法：

(出願番号：特願：2007-33318)

(出願日：平成 19 年 2 月 14 日)

(出願人：科学技術新興機構、広島大学、ツーセル)

9. 西村正宏、辻紘一郎、梶尾信治：生体再生カプセル：

(出願番号：特願：2007-048174 )

(出願日：平成 19 年 2 月 27 日)

(出願人：広島大学、ツーセル、クリオカプス)

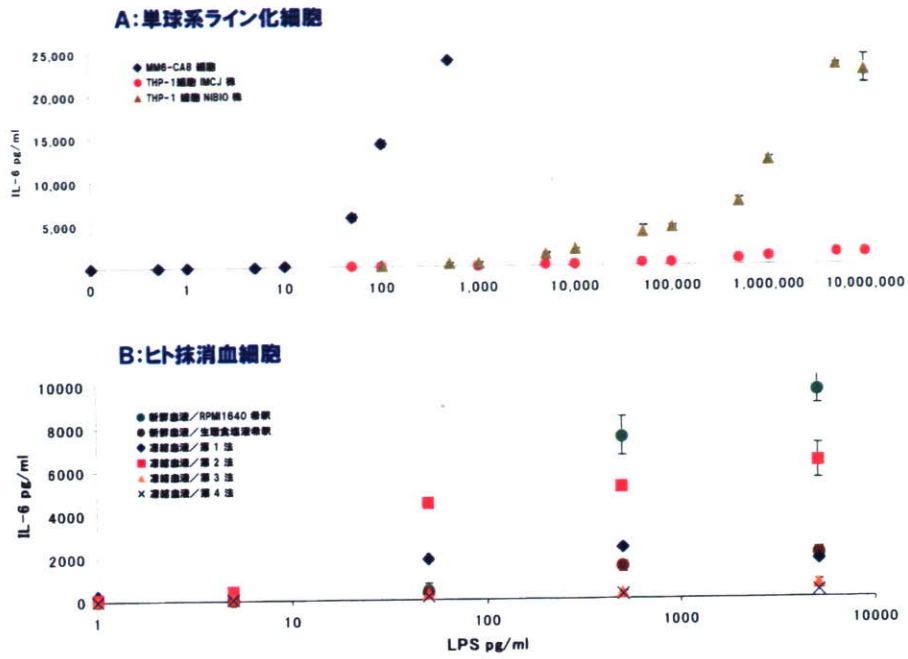


図1. MM6-CA8 細胞、THP-1 細胞及びヒト末梢血細胞の LPS 応答性  
A: 単球系ライン化細胞. B: ヒト末梢血細胞.

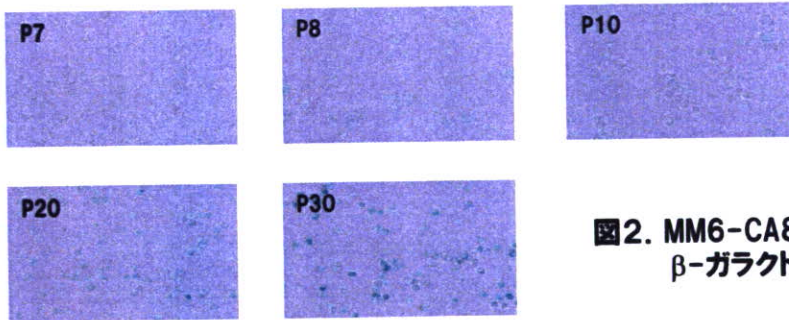


図2. MM6-CA8 細胞の継代に伴う細胞形態とβ-ガラクトシダーゼ染色性の変化

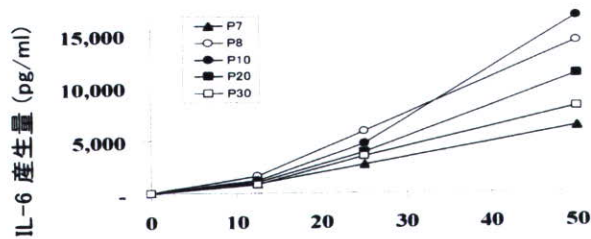


図3. 継代に伴う MM6-CA 細胞の LPS 応答性変化



表1. 市販スキャホールドの性状

販売会社名	材質	平均重量 (mg)	体積 (cm <sup>3</sup> )	ポアサイズ (mm)
ペンタックス	コラーゲン/HA	148.3	1.0	150-300
オリンパス	β-TCP	51.0	0.125	100-400
BD	コラーゲン	3.5	0.039	100-200
BD	リン酸カルシウム	45	0.058	200-400
BD	ポリ乳酸	5.2	0.039	100-200

表2. 凍結ヒト血液の調製方法

方法番号	試験用血液の調製手順
第1法	採取したヒト血液を-80℃で凍結し、液体窒素中で1週間保存した後、解凍し、RPMI1640培地で10倍希釈して使用した。
第2法	採取したヒト血液を3,000 rpmで5分間遠心分離後、破棄した上清と同容量のセルバンカーを加えて、-80℃で凍結し、液体窒素中で1週間保存した後、解凍し、RPMI1640培地で10倍希釈して使用した。
第3法	採取したヒト血液を3,000 rpmで5分間遠心分離後、破棄した上清と同容量のセルバンカーを加えて、-80℃で凍結し、液体窒素中で1週間保存した。解凍後、同様に遠心分離し、破棄した上清と同容量のRPMI1640培地を加え、更にRPMI1640培地で10倍希釈して使用した。
第4法	採取したヒト血液を3,000 rpmで5分間遠心分離後、破棄した上清と同容量のセルバンカーを加えて、-80℃で凍結し、液体窒素中で1週間保存した。解凍後、同様に遠心分離し、破棄した上清と同容量のウシ胎児血清を加え、更にRPMI1640培地で10倍希釈して使用した。

表3. Bio-Plex Human 27-Plex アレイシステムで測定できるサイトカインとケモカイン

測定項目	IL-1β, IL-1ra, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12(p70), IL-13, IL-15, IL-17, Basic FGF, Eotaxin, G-CSF, GM-CSF, IFN-γ, IP-10, MCP-1(MCAF), MIP-1α, MIP-1β, PDGF-bb, RANTES, TNF-α, VEGF
------	---

表4. 市販スキャホールドから検出される菌体成分

販売会社名	材質	菌体成分		
		LPS (EU/mg)	β-グルカン (pg/mg)	ペプチドグリカン (pg/mg)
ペンタックス	コラーゲン/HA	nd <sup>‡</sup>	0.19	nd
オリンパス	β-TCP	nd	nd	nd
BD	コラーゲン	0.006	nd	nd
BD	リン酸カルシウム	nd	nd	nd
BD	ポリ乳酸	nd	nd	nd

<sup>‡</sup>nd, not detected (検出限界以下)

表5. LPS 以外の TLR アゴニストに対する応答性評価

TLR リガンド	TLR	LPS 含量 (EU/mg)	濃度 (µg/ml)	IL-6 産生量 (pg/ml)		
				MM6-CA8	THP-1	ヒト末梢血細胞
大腸菌 乾燥菌体	TLR2/1, 2/6, 4, 5, 9	159 × 10 <sup>3</sup>	0	34.0 ± 0.4	9.30 ± 3.8	nd
			0.0005	44.5 ± 1.3	12.8 ± 4.5	nt
			0.001	51.3 ± 3.5	14.2 ± 6.4	450.3 ± 11.5
			0.005	280 ± 19	84.1 ± 13	3818.0 ± 236.2
			0.01	1513 ± 13	137 ± 87	7119.0 ± 12.7
			0.05	13575 ± 537	560 ± 4.5	nt
黄色ブドウ球菌 乾燥菌体	TLR2/1, 2/6, 9	0.48	0	34.0 ± 0.4	9.30 ± 3.8	nt
			0.005	40.6 ± 2.8	9.60 ± 0.7	nt
			0.01	70.5 ± 0.6	11.1 ± 1.6	nd
			0.05	78.6 ± 2.1	11.8 ± 2.4	45.9 ± 2.3
			0.1	213 ± 7.1	12.8 ± 1.1	85.8 ± 5.9
			0.5	600 ± 24	22.4 ± 1.1	1863.5 ± 217.1
合成リポペプチド (Pam)	TLR2/1	1.90	0	1.5 ± 0.5	7.20 ± 0.2	nt
			0.1	488 ± 3.5	1395 ± 52	358.4 ± 34.9
			1	6189 ± 89.6	nt	1140.0 ± 124.5
			10	23735 ± 516	2600 ± 149	2815.0 ± 487.9
			100	nt	nt	nt
			1000	nt	nt	nt
Poly (I:C)	TLR3	0.04	0	20.0 ± 0.03	16.4 ± 3.7	nt
			1	25.9 ± 0.13	nt	nt
			10	29.5 ± 0.08	23.3 ± 4.6	nt
			100	29.0 ± 0.15	>500	153.9 ± 13.9
R837	TLR7	nd <sup>1)</sup>	0	20.0 ± 0.03	16.4 ± 3.7	nt
			0.1	21.7 ± 0.05	nt	nt
			1	24.5 ± 0.15	nt	nt
			10	22.7 ± 0.03	11.4 ± 4.5	2520.0 ± 1868.8
大腸菌 DNA	TLR9	3.44	0	20.0 ± 0.03	16.4 ± 3.7	nt
			0.1	27.2 ± 0.17	nt	nt
			1	16.7 ± 0.02	nt	nt
			10	17.7 ± 0.09	11.9 ± 2.5	63.9 ± 36.8

<sup>1)</sup>EndoTrap 精製菌体. <sup>2)</sup>nd, not detect. <sup>3)</sup>nt, not tested.

表6. MM6-CA8 細胞の Bio-Plex 解析における発熱マーカーの S/N 比

TLR ligand	TLR ligand conc. (ng/ml)	S/N ratio for the detection of induced-cytokine (sample/control)									
		IL-1β	IL-1ra	IL-6	IL-8	IFN-γ	MCP-1	MIP-1α	MIP-1β	RANTES	TNF-α
LPS	0.05	14.86	3.58	167.97	>25.62	10.29	2.60	106.37	>76.71	>15.47	21.69
E.Coli O111	10	7.32	3.41	83.16	>25.62	7.14	6.75	33.89	>76.71	>15.47	6.02
209P	100	0.93	0.91	1.29	0.88	0.85	0.95	1.01	1.29	0.79	0.58
Pam	1000	45.13	4.07	995.60	>25.62	20.12	3.60	>426.41	>76.71	15.47	33.69
Poly I:c	100000	1.25	1.58	0.80	1.37	0.90	0.84	1.38	0.91	0.58	0.45
R837	10000	1.47	0.67	1.77	>25.62	1.34	0.27	1.54	2.52	>15.47	0.86
E.Coli DNA	10000	1.33	0.90	3.23	1.58	1.00	1.06	1.25	4.39	1.68	0.97
Micro Sphere	10000	1.19	0.87	3.41	3.09	1.19	0.96	1.07	4.80	0.98	0.93

産生量 : IL-8, RANTES >> MIP-1β, IL-6, IL-1ra, MCP-1, MIP-1α > IL-1β, TNF-α, IFN-γ

表7. ヒト末梢血細胞の Bio-Plex 解析における発熱マーカーの S/N 比

TLR ligand	TLR ligand conc. (ng/ml)	S/N ratio for the detection of induced-cytokine (sample/control)									
		IL-1β	IL-1ra	IL-6	IL-8	IFN-γ	MCP-1	MIP-1α	MIP-1β	TNF-α	
LPS	0.1	605.67	5.56	>517.28	40.85	14.42	>124.97	263.87	21.04	66.67	
E.Coli O111	5	199.17	3.89	>120.69	11.35	6.07	90.40	76.29	11.94	18.97	
209P	500	1114.17	6.20	>583.56	103.05	16.03	>124.97	260.40	20.26	231.21	
Pam	1000	243.00	3.93	>801.13	200.13	13.12	>124.97	1506.13	216.16	21.12	
Poly I:c	100000	90.67	12.92	>75.61	1.90	6.26	5.22	28.44	24.87	12.29	
R837	10000	380.33	13.17	>157.55	15.11	7.07	55.17	83.34	12.72	15.94	
E.Coli DNA	10000	35.50	1.87	>70.37	86.16	3.20	>124.97	208.86	218.12	22.67	
Micro Sphere	10000	81.00	1.89	>47.71	8.14	2.92	13.93	32.35	8.75	8.67	

産生量 : MCP-1 >> IL-6, IL-8, MIP-1αβ, IL-1ra > IL-1β, TNF-α, IFN-γ

表8. MM6-CA8 細胞に対する固形試料の IL-6 産生誘導能

材 料	菌体成分	添加量 (EU/mg)	IL-6 産生量 (pg/ml)
コラーゲンシート	大腸菌 O3 LPS	0	12.0
		1.1	550
		2.1	3,211
		10.7	13,640
	大腸菌 O111 菌体	0	12.0
		3.8	2,245
		7.6	17,370
		38.1	34,860
	黄色ブドウ球菌菌体*	0	12.0
		0.1	16.6
		1.0	26.3
		10.0	81.0
コラーゲン/HA 複合シート	大腸菌 O3 LPS	0	51.0
		0.4	248
		0.8	1,603
		4.0	2,220
	大腸菌 O111 菌体	0	51.0
		1.4	7,620
		2.9	9,220
		14.3	35,000
ネオポーン	-	-	11.9

IL-6 産生バックグラウンド 7.5 pg/ml, \*黄色ブドウ球菌菌体添加量 μg/mg

表9. ペンタックス製人工骨を使用した LPS 添加回収試験

測定法	抽出法	希釈溶液	LPS 実測値 (EU/mg)	LPS 回収率 (%)
エンドトキシン 試験	精製コラーゲナーゼ / 1ml 塩酸法	H <sub>2</sub> O	0.20 ± 0.01	0.07
		0.01M 塩酸法	H <sub>2</sub> O Tris Buffer	5.6 ± 0.7 8.5 ± 0.4
	0.1M 塩酸法	H <sub>2</sub> O Tris Buffer	23.1 ± 1.6 42.2 ± 0.8	8.1 14.8
		1M 塩酸法	H <sub>2</sub> O Tris Buffer	41.1 ± 2.7 75.3 ± 5.4
HCPT	direct		68.0 ± 12	23.8

表10. Direct HCPT による創傷被覆剤の微生物学的安全性評価

原材料	製品名	過去のサーベイ試験結果						Direct HCPT****			
		エンドトキシン試験 (EU/g)			ウサギ 発熱試験** (Δ Tmax, °C)	HCPT with extracts**		試料重量 (mg)	IL-6 産生能 (pg/ml)	LPS換算値 (EU/g)	
		ガイドライン法	温水抽出 (50°C, 24 hr)	精製コラーゲナーゼ / 塩酸法		ホモジナイズ法	抽出濃度 (mg/ml)				IL-6 産生能 (pg/ml)
コラーゲン	アビテン	nd <sup>†</sup>	nd	604	-	nt***	34.5	nt	1.08	2.10 ± 0.99	3.80
	インテگران	1.32	3.70	18101	-	nt	22.7	nt	1.17	303 ± 32	431
	ヘリテン	nd	nd	1971	-	0.1	35.7	nt	1.22	5.90 ± 3.0	24.7
	バイオブレン	nd	nd	nd	-	nt	33.3	nt	1.06	7.40 ± 0.42	38.0
	ウレザックC	1.29	2.58	21.5	-	nt	33.3	nt	1.29	5.10 ± 0.99	19.1
	テルダーミス	nd	98.2	1014	-	1.05	41.7	16960 ± 793	1.31	394 ± 34	449
	テルブラグ	2.01	320	7083	-	1.68	33.3	9850 ± 336	1.23	165 ± 14	311
	ノバコール	0.63	12.6	3.77	-	nt	14.3	1.6 ± 0.40	1.28	3.30 ± 0.71	9.64
	アロアスク	20.6	22.0	37.9	-	nt	50.0	74.9 ± 15	1.15	158 ± 16	328
	アロアスクD	2.88	4.60	3.07	-	nt	50.0	nt	1.18	15.5 ± 14	81.4
インスタット	nd	1.80	nd	-	nt	11.1	nt	1.07	3.45 ± 0.92	12.5	
アルギン酸	ソープサン	1188	2169	-	30308	1.06	25.0	1047 ± 262	1.18	8725 ± 879	11673
	アルゴダーム	152	894	-	12948	0.56	25.0	4640 ± 1392	1.29	47023 ± 5739	59949
	カルトスタット	39.2	4440	-	848	1.15	25.0	9.5 ± 3.0	1.27	28.3 ± 9.3	144

<sup>†</sup>nd, not detect. <sup>\*\*</sup>試料：温水抽出液. <sup>\*\*\*</sup>nt, not tested. <sup>\*\*\*\*</sup>試料濃度：固形試料 1 mg/ml-増地

表11. エンドトキシン試験と direct HCPT による コラーゲンシートからの LPS 回収率

LPS 添加量 (pg/mg)	LPS 活性回収量			
	リムルス試験		HCPT	
	実測値 (pg/mg)	回収率 (%)	実測値 (pg/mg)	回収率 (%)
0	4.4	-	5.0	-
40.0	31.6	68.2	38.0	82.5
80.0	61.8	71.8	98.0	116.3
400.0	134.5	32.5	213	52.0

大腸菌 O3 株 LPS : 1 ng = 27.5 EU



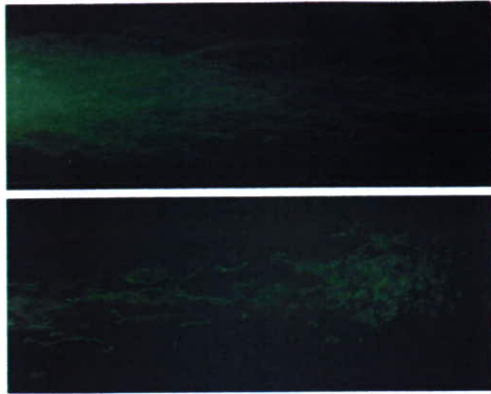


図1 SCPFGEにより展開したDNA fiberと  
その先に分離されたメガベースレベルの  
DNA断片

## II 研究成果の刊行に関する一覧表

## 別紙4

書籍 研究成果の刊行に関する一覧表

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
土屋利江	再生医療製品のギャップ結合細胞間連絡機能評価の重要性について	岡野光夫編	再生医療技術の最前線	CMC出版	東京	印刷中	
土屋利江	ティッシュエンジニアリングとガイドライン	岡野光夫、田畑泰彦編	ティッシュエンジニアリング2007	日本医学館	東京	印刷中	
土屋利江	再生医療の現状	土屋利江	再生医療品における幹細胞とバイオマテリアル=開発から臨床まで	培風館	東京	印刷中	
高橋恒夫、張曉紅、伊倉宏一	臍帯血と胎盤組織由来細胞を用いた再生医療の可能性	田原泰彦、岡野光夫(編)、日本組織工学会監修	ティッシュエンジニアリング2006	日本医学館	東京	2006	pp175-186
加藤幸夫、五十嵐晃、清水正和、久保裕嗣	第10章間葉系幹細胞 3 間葉系幹細胞の特質	大串始監修	「バイオテクノロジーシリーズ 再生医療に用いられる細胞・再生組織の評価と安全性」	シーエムシー出版	東京都	2007年6月29日発行	総ページ数 332、226-236

## 雑誌

発表者名	論文タイトル	発表誌名	巻号	ページ	出版
Takashi Yamada, Rumi Sawada and Toshie Tsuchiya	The effect of sulfated hyaluronan on the morphological transformation and activity of cultured human astrocytes.	Biomaterials	in press		
Takashi Yamada, Duk-Young Jung, Rumi Sawada, Atsuko Matsuoka, Ryusuke Nakaoka, and Toshie Saiffudin Ahmed, Toshie Tsuchiya, Misao Nagahata-Ishiguro, Rumi Sawada, Nasreen Banu and Tsutomu Nagira	Different effects of [60] fullerene brain injection and i.p. injection on the brain monoamine and behavior in the rats.	J. of Nanoscience and Nanotechnology	in press		
Takashi Yamada, Duk-Young Jung, Rumi Sawada, Toshie Tsuchiya	Remarkable enhancing action by sulfated hyaluronan on Connexin-26,-32,and -43 gene expressions during the culture of normal human astrocytes	Journal of Biomedical Materials Research: Part A	in press		
Tomomi Ito, Rumi Sawada, Yoko Fujiwara, Toshie Tsuchiya	FGF-2 increases osteogenic and chondrogenic differentiation potentials of human mesenchymal stem cells by inactivation of TGF-β signaling.	Cytotechnology	56	1-7	2008
Takashi Yamada, Duk-Young Jung, Rumi Sawada, Toshie Tsuchiya	Intracerebral microinjection of stannous 2-ethylhexanoate affects dopamine turnover in cerebral cortex and locomotor activity in rats. : accepted	Journal of Biomaterial Research: Part B-Applied Biomaterials	in press		
Kumada H., Haishima Y., Watanabe K., Hasegawa C., Tsuchiya T., Tanamoto K., Umemoto	Biological properties of the native and synthetic lipid A of Porphyromonas gingivalis lipopolysaccharide.	Oral Microbiology Immunology	23	60-69	2008
Matsuoka A., Haishima Y., Hasegawa C., Matsuda Y. and Tsuchiya	Organic-solvent extraction of model biomaterials for use in the in vitro chromosome aberration test.	J. Biomed. Mater. Res. Part A	Oct. 16		2007
土屋利江、俵木登美子	スペシャル対談日本の医療機器の研究開発と制度の動向	バイオテクノロジージャーナル	3-4	198-203	2007

Nasreen Banu, Toshie Tsuchiya	Markedly different effects of hyaluronic acid and chondroitin sulfate-A on the differentiation of human	J. Biomed. Mater. Res.	80	257-267	2007
土屋利江	細胞組織医療機器開発総論	薬学雑誌	127	847-850	2007
澤田留美、伊藤友美、土屋利江	細胞組織利用医療機器に用いられる幹細胞の品質及び安全性評価について	薬学雑誌	127	851-856	2007
D.Y. Jung, Y.B. Kang, T. Tsuchiya, S.	A novel non-destructive method for measuring elastic moduli of cultivated cartilage tissues	Key Engineering	342-343	853-856	2007
Tsutomu Nagira, Misao Nagahata-Ishiguro and Toshie Tsuchiya	Effects of sulfated hyaluronan on keratinocyte differentiation and Wnt and Notch gene expression.	Biomaterials	28	844-850	2007
山越葉子、中澤憲一、土屋利江	原子間力顕微鏡(AFM)による蛋白質のイメージング	日本臨床	2号	270-277	2007
Masato Tamai, Ryusuke Nakaoka, Kazuo Isama and Toshie Tsuchiya	Synthesis of novel $\beta$ -tricalcium phosphate/hydroxyapatite biphasic calcium phosphate containing niobium ions and evaluation of osteogenic properties.	J. Artificial Organs.	10	22-28	2007
Saiffudin Ahmed, Toshie Tsuchiya	A mouse strain difference in tumorigenesis induced by biodegradable polymers	J. Biomed. Mater. Res.	79A	409-417	2006
Masato Tamai, Ryusuke Nakaoka, Toshie Tsuchiya	Cytotoxicity of Various Calcium Phosphate Ceramics, Bioceramics	Key Material Eng	Vol.30 9-311	263-266	2006
Yuping Li, Tsutomu Nagira, Toshie	The effect of hyaluronic acid on insulin secretion in HIT-T15 cells through the enhancement of gap junctional	Biomaterial	27	1437-1443	2006
Ahmed, S., Tsuchiya, T., Kariya, Y	Studies on the efficacy, safety and quality of the tissue engineered products: Enhancement of proliferation of	Animal Cell Technology	14	81-85	2006
Banu, N., Tsuchiya, T., Ahmed, S., Sawada,	Studies on the efficacy, safety and quality of the tissue engineered products: effects of a catalyst used in the	Animal Cell Technology	14	87-92	2006
Li, Y.P., Nagira, T., Tsuchiya, T.	Increase in the insulin secretion of HIT-T15 cells: Gap Junctional Intercellular Communications Enhanced by	Animal Cell Technology	14	263-269	2006
Sawada, R., Ito, T., Matsuda, Y., Tsuchiya, T.	Safety evaluation of tissue engineered medical devices using normal human mesenchymal stem cells	Animal Cell Technology	14	325-329	2006
Nakamura, N., Tsuchiya, T.	Effect of biodegradable polymer poly(L-LACTIC ACID) on the cellular function of human astrocytes	Animal Cell Technology	14	331-337	2006
盛英三、望月直樹、武田壮一、井上裕美、中村俊、土屋利江	ナノレベルイメージングによる分子構造と機能解析	日本臨床	64巻	358-364	2006
R. Sawada, T. Ito, and T. Tsuchiya	Changes in expression of genes related to cell proliferation in human mesenchymal stem cells during in	J. Artif. Organs	9	179-184	2006
N. Bauu, T. Tsuchiya, and R. Sawada	Effects of a biodegradable polymer synthesized with inorganic tin on the chondrogenesis of human articular	J. Biomed. Mater. Res.	77A	84-89	2006
Iwata, T., Kawamoto, T., Sasabe, E., Miyazaki, K., Fujimoto, K., Noshiro, M.,	Effects of overexpression of basic helix-loop-helix transcription factor Dec1 on osteogenic and adipogenic differentiation of mesenchymal stem cells.	European Journal of Cell Biology	85	423-431	2006
Umemura, T., Nishioka, K., Igarashi, A., Kato, Y., Ochi, M., Chayama, K., Yoshizumi, M., Higashi, Y.,	Autologous bone marrow mononuclear cell implantation induces angiogenesis and bone regeneration in a patient with compartment syndrome.	Circulation Journal	70	1362-1364	2006
Kayakabe, M., Tsutsumi, S., Watanabe, H., Kato, Y., Takagishi, K.	Transplantation of autologous rabbit bone marrow-derived mesenchymal stem cells expanded in Vitro with FGF into joint defect with hyaluronic acid sponge.	Cytherapy	8(4)	343-53	2006
加藤幸夫、五十嵐晃、金輪真佐美	ヒト細胞材料最新活用法 ヒト間葉系幹細胞 (MSC)	バイオテクノロジージャーナル	6(6)	693-696	2006
Hasegawa N, Kawaguchi H, Hirachi A, Takeda K, Mizuno N, Nishimura M, Koike C, Tsuji K, Iba	Behavior of transplanted bone marrow-derived mesenchymal stem cells in periodontal defects.	J Periodontol.	77(6)	1003-1007	2006