

Artificial Organs 2009, in press.

32. Ito A, Hosokawa S, Miyoshi S, Soejima K, Satoshi O, Arai T., The myocardial electrical blockade induced by photosensitization reaction. IEEE Transactions on Biomedical engineering 2009, in press.
 33. 矢澤隆志、梅澤明弘、宮本 薫：間葉系幹細胞からのステロイド産生細胞. 特集・再生医療の将来と産婦人科. 産科と婦人科 76(10),1189-1194, 2009.
 34. Yazawa, T., Inaoka, Y., Okada, R., Mizutani, T., Yamazaki, Y., Usami, Y., Kuribayashi, M., Orisaka, M., Umezawa, A., Miyamoto, K.: Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator-1 alpha regulates progesterone production in ovarian granulosa cells with steroidogenic factor-1 and liver receptor homolog-1. Mol. Endocrinol. 24(3), 485-496, 2010.
 35. Yazawa, T., Inaoka, Y., Mizutani, T., Kuribayashi, M., Umezawa, A., Miyamoto, K. : Liver Receptor Homolog-1 regulates the transcription of steroidogenic enzymes and induces the differentiation of mesenchymal stem cells into steroidogenic cells. Endocrinology 150(8), 3885-3893, 2009.
- 2 学会発表
- 1 Takehiro Kimura, Shunichiro Miyoshi, Seiji Takatsuki, Kojiro Tanimoto, Seiji Takatsuki, Toshiaki Sato, Nobuhiro Nishiyama, Kazuma Okamoto, Kyoko Soejima New frontier for cardiac minor surgery by use of novel pericardial endoscope, optimization of endoscope for pericardial space. 日本循環器学会 (京都) (2010)
 - 2 Hiroko Tsuji, Shunichiro Miyoshi, Naoko Hida, Nobuhiro Nishiyama, Ikuko Togashi, Hikaru Nakamizo, Yukinori Ikegai, Kaoru Segawa, Yasunori Yoshimura, Satoshi Ogawa, Akihiro Umezawa Pretreatment with IL-10 significantly improved efficiency of immunological tolerance and rate of survival of cardiomyocyte transdifferentiated from human amniotic membrane-derived mesenchymal stem cell in vivo. 日本循環器学会 (京都) (2010)
 - 3 Shunichiro Miyoshi, Arisa Itoh, Takuro Kajihara, Mizuki Ide, Hajime Suenari, Mei Takahasi, Takehiro Kimura, Kojiro Tanimoto, Kotaro Fukumoto, Seiji Takatsuki, Kyoko Soejima, Toshiaki Satoh, Yasuhiko Futami, Satoshi Ogawa, Tsunenori Arai Cavo-tricuspid Isthmus Ablation by Novel Photodynamic Laser Catheter in Swine Heart in vivo. 日本循環器学会 (京都) (2010)
 - 4 Daisuke Shinmura, Shunichiro Miyoshi, Hiroko Tsuji, Nobuhiro Nishiyama, Naoko Hida, Hikaru Nakamizo, Ikuko Togashi, Kaoru Segawa, Yukiko Tsukada, Akaru Ishida, Makoto Handa, Satoshi Ogawa, Akihiro Umezawa Dramatic Improvement of in vivo Cardiomyogenic Transdifferentiation Efficiency of Pioglitazone-treated Human Marrow-derived Mesenchymal Stem Cells. 日本循環器学会 (京都) (2010)
 - 5 Shunichiro Miyoshi, Arisa Itoh, Takuro Kajihara, Mizuki Ide, Hajime Suenari, Mei Takahasi, Takehiro Kimura, Kojiro Tanimoto, Kotaro Fukumoto, Seiji Takatsuki, Kyoko Soejima, Toshiaki Satoh, Yasuhiko Futami, Satoshi Ogawa, Tsunenori Arai Cavo-tricuspid Isthmus Ablation by Novel Photodynamic Laser Catheter in Swine Heart in vivo. American College of Cardiology (Atlanta) (2010)
 - 6 Yohei Numasawa, Shunichiro Miyoshi, Takehiro Kimura, Nobuhiro Nishiyama, Hiroko Tsuji, Naoko Hida, Daisuke Shinmura, Hikaru Nakamizo, Ikuko Togashi, Kaoru Segawa, Yuiko Tsukada, Akaru Ishida, Makoto Handa, Akihiro Umezawa, Satoshi Ogawa Angiotensin Receptor Blockers Improved Cardiomyogenic Transdifferentiation Efficiency of Human Marrow-derived Mesenchymal Stem Cells in vitro. American College of Cardiology (Atlanta) (2010)
 - 7 福本耕太郎, 高月誠司, 西山信大, 富樫郁子, 相澤義泰, 谷本耕司郎, 佐藤俊明, 三好俊一郎, 小川聡 心房細動に対する電氣的拡大肺静脈隔離術において治療難渋例は予後不良なのか (日本不整脈学会学術大会) 心電図 29 卷 Suppl.3 PageS-3-450(2009)
 - 8 福本耕太郎, 高月誠司, 西山信広, 富樫郁子, 相澤義泰, 谷本耕司郎, 佐藤俊明, 三好俊一郎, 小川聡 発作性心房細動に対する電氣的肺静脈隔離術 double Lasso は必須か (日本不整脈学会学術大会) 心電図 29 卷 Suppl.3

- 9 村木浩司, 富樫郁子, 佐藤俊明, 西山信大, 福本耕太郎, 相澤義泰, 谷本耕司郎, 三好俊一郎, 高月誠司, 小川聡 恒久型ペースメーカー植込み患者におけるペースング率低下を目的とする新しい薬物療法 (日本不整脈学会学術大会) 心電図 29 巻 Suppl.3 PageS-3-397(2009)
- 10 佐藤俊明, 前田明子, 高月誠司, 三好俊一郎, 谷本耕司郎, 相澤義泰, 福本耕太郎, 富樫郁子, 西山信大, 小川聡 デバイスマonitoringが可能にした病態の解明と治療法の新たな展開 CareLink によるデバイス遠隔モニタリング, その利点と課題について (日本不整脈学会学術大会) 心電図 29 巻 Suppl.3 PageS-3-214(2009)
- 11 高月誠司, 福本耕太郎, 谷本耕司郎, 西山信大, 富樫郁子, 相澤義泰, 福田有希子, 佐藤俊明, 三好俊一郎, 小川聡 心房細動アブレーションのリアルワールド 治療困難例から合併症管理まで 心房細動アブレーション後の再発に関するリアルワールド カルジオフォンを用いた検討 (日本不整脈学会学術大会) 心電図 29 巻 Suppl.3 PageS-3-169(2009)
- 12 Toshiaki Sato, Akiko Maeda, Seiji Takatsuki, Shunichiro Miyoshi, Kojiro Tanimoto, Kotaro Fukumoto, Yoshiyasu Aizawa, Satoshi Ogawa, Yoshihisa Abe, Kenji Ando, Junjiro Koyama, Morio Shoda Patients' Acceptability of a Novel Remote Monitoring System (Progress Report for the CareLink Pilot Study in Japan (日本循環器学会学術集会) Circulation Journal 73:Suppl.I Page424(2009)
- 13 Shunichiro Miyoshi, Kyoko Soejima, Kojiro Tanimoto, Koutaro Fukumoto, Toshiaki Sato, Seiji Takatsuki, Takehiro Kimura, Hirotaka Yada, Ikuko Togashi, Nobuhiro Nishiyama, Hikaru Nakamizo, Satoshi Ogawa Efficacy and Feasibility of Pericardial Endoscopy by Percutaneous Subxiphoid Approach (日本循環器学会学術集会) Circulation Journal 73:Suppl.I Page581(2009)
- 14 村田光繁, 湯浅慎介, 服部文幸, 福田恵一, 三好俊一郎 (シンポジウム) Future of Arrhythmology 再生医療 細胞工学を用いた細胞移植法 心臓再生療法への応用 (日本不整脈学会学術大会) 心電図 29 巻 Suppl.3 PageS-3-254(2009)
- 15 矢澤隆志, 稲岡斉彦, 水谷哲也, 宮本 薫: 転写共役因子 PGC-1 α の卵巣機能における役割. 第 82 回日本内分泌学会学術総会 公開シンポジウム 4 間脳下垂体性腺系の分子機構の新知识. 2009,4,23-25,前橋. 日本内分泌学会雑誌 85(1), 213, 2009.
- 16 稲岡斉彦, 矢澤隆志, 水谷哲也, 上坂美紀, 梅澤明弘, 宮本 薫: ラット卵巣でのゴナドトロピンによる P450 oxidoreductase の発現調節とエストロゲン産生に及ぼす効果. 第 82 回日本内分泌学会学術総会. 2009,4,23-25,前橋. 日本内分泌学会雑誌 85(1), 348, 2009.
- 17 稲岡斉彦, 矢澤隆志, 水谷哲也, 梅澤明弘, 宮本 薫: ラット卵巣におけるゴナドトロピンによる P450 oxidoreductase の発現調節とエストロゲン産生への影響. 日本生化学会北陸支部第 27 回大会. 2009,5,23, 福井. 要旨集 26,2009.
- 18 矢澤隆志, 稲岡斉彦, 水谷哲也, 岡田令子, 山崎由希子, 栗林真悠, 梅澤明弘, 宮本 薫: PGC-1 α のステロイドホルモン合成に対する作用. 日本生化学会北陸支部第 27 回大会. 2009,5,23, 福井. 要旨集 27,2009.
- 19 矢澤隆志: 間葉系幹細胞からのステロイドホルモン産生細胞の作製. 第 27 回内分代謝学サマーセミナー. シンポジウム 幹細胞研究の最前線. 2009,7,16-17, 福井. 抄録集 30,2009.
- 20 矢澤隆志, 稲岡斉彦, 岡田令子, 水谷哲也, 山崎由希子, 宇佐美陽子, 栗林真悠, 梅澤明弘, 宮本 薫: PGC-1 α は卵巣顆粒膜細胞のプロジェステロン合成を亢進させる. 日本動物学会第 80 回大会. 2009,9,17-20,静岡.
- 21 水谷哲也, 矢澤隆志, 上坂美紀, 稲岡斉彦, 具云峰, 岡田令子, 松浦かおる, 上木康衣, 梅澤明弘, 宮本 薫: Identification of a novel enhancer region in the human steroidogenic acute regulatory protein (StAR) gene. 第 82 回日本生化学会大会. 2009,10,21-24,神戸.
- 22 矢澤隆志, 宮本 薫: マウス生殖腺における魚類アンドロゲン・11-KT 産生. 第 34 回日本比較内分泌学会大会・日本比較生理生化学会第 31 回大会 合同大会 (CompBiol2009). 2009, 10,22-24,千里.
- 23 水谷哲也, 矢澤隆志, 上坂美紀, 稲岡斉彦, 具云峰, 岡田令子, 松浦かおる, 上木康衣, 梅澤明弘, 宮本 薫: ヒト Steroidogenic Acute Regulatory Protein (StAR) 遺伝子における新たな SF-1/Ad4BP 結合領域の同定. 第 14 回日本生

- 殖内分沁学会学術集会. 2009,11,28,東京.
- 24 矢澤隆志, 稲岡斉彦, 岡田令子, 水谷哲也, 山崎由希子, 宇佐美陽子, 栗林真悠, 梅澤明弘, 宮本 薫: 卵巣顆粒膜細胞における転写共役因子 PGC-1 α の機能. 第 14 回日本生殖内分沁学会学術集会. 2009,11,28,東京.
 - 25 Mizutani, T., Yazawa, T., Uesaka, M., Inaoka, Y., Ju, Y., Okada, R., Matsuura, K., Kamiki, Y., Umezawa, A., Miyamoto, K.: Identification of a novel enhancer region in the human steroidogenic acute regulatory protein (StAR) gene. 14th International Congress of Endocrinology. 2010, 3, 27-30, Kyoto.
 - 26 Yazawa, T., Miyamoto, K.: PGC-1 α regulates progesterone production in ovarian granulosa cells with SF-1 and LRH-1. 14th International Congress of Endocrinology. 2010, 3, 27-30, Kyoto.
 - 27 矢澤隆志, 稲岡斉彦, 水谷哲也, 宮本 薫: 転写共役因子 PGC-1 α の卵巣機能における役割. 第 82 回日本内分沁学会学術総会 公開シンポジウム 4 間脳下垂体性腺系の分子機構の新知識. 2009,4,23-25,前橋. 日本内分沁学会雑誌 85(1), 213, 2009.
 - 28 稲岡斉彦, 矢澤隆志, 水谷哲也, 上坂美紀, 梅澤明弘, 宮本 薫: ラット卵巣でのゴナドトロピンによる P450 oxidoreductase の発現調節とエストロゲン産生に及ぼす効果. 第 82 回日本内分沁学会学術総会. 2009,4,23-25,前橋. 日本内分沁学会雑誌 85(1), 348, 2009.
 - 29 稲岡斉彦, 矢澤隆志, 水谷哲也, 梅澤明弘, 宮本 薫: ラット卵巣におけるゴナドトロピンによる P450 oxidoreductase の発現調節とエストロゲン産生への影響. 日本生化学会北陸支部第 27 回大会. 2009,5,23, 福井. 要旨集 26,2009.
 - 30 矢澤隆志, 稲岡斉彦, 水谷哲也, 岡田令子, 山崎由希子, 栗林真悠, 梅澤明弘, 宮本 薫: PGC-1 α のステロイドホルモン合成に対する作用. 日本生化学会北陸支部第 27 回大会. 2009,5,23, 福井. 要旨集 27,2009.
 - 31 矢澤隆志: 間葉系幹細胞からのステロイドホルモン産生細胞の作製. 第 27 回内分沁代謝学サマーセミナー. シンポジウム 幹細胞研究の最前線. 2009,7,16-17, 福井. 抄録集 30,2009.
 - 32 矢澤隆志, 稲岡斉彦, 岡田令子, 水谷哲也, 山崎由希子, 宇佐美陽子, 栗林真悠, 梅澤明弘, 宮本 薫: PGC-1 α は卵巣顆粒膜細胞のプロジェステロン合成を亢進させる. 日本動物学会第 80 回大会. 2009,9,17-20,静岡.
 - 33 水谷哲也, 矢澤隆志, 上坂美紀, 稲岡斉彦, 具云峰, 岡田令子, 松浦かおる, 上木康衣, 梅澤明弘, 宮本 薫: Identification of a novel enhancer region in the human steroidogenic acute regulatory protein (StAR) gene. 第 82 回日本生化学会大会. 2009,10,21-24,神戸.
 - 34 矢澤隆志, 宮本 薫: マウス生殖腺における魚類アンドロゲン・11-KT 産生. 第 34 回日本比較内分沁学会大会・日本比較生理生化学会第 31 回大会 合同大会 (CompBiol2009). 2009, 10,22-24,千里.
 - 35 水谷哲也, 矢澤隆志, 上坂美紀, 稲岡斉彦, 具云峰, 岡田令子, 松浦かおる, 上木康衣, 梅澤明弘, 宮本 薫: ヒト Steroidogenic Acute Regulatory Protein (StAR) 遺伝子における新たな SF-1/Ad4BP 結合領域の同定. 第 14 回日本生殖内分沁学会学術集会. 2009,11,28,東京.
 - 36 矢澤隆志, 稲岡斉彦, 岡田令子, 水谷哲也, 山崎由希子, 宇佐美陽子, 栗林真悠, 梅澤明弘, 宮本 薫: 卵巣顆粒膜細胞における転写共役因子 PGC-1 α の機能. 第 14 回日本生殖内分沁学会学術集会. 2009,11,28,東京.
 - 37 Mizutani, T., Yazawa, T., Uesaka, M., Inaoka, Y., Ju, Y., Okada, R., Matsuura, K., Kamiki, Y., Umezawa, A., Miyamoto, K.: Identification of a novel enhancer region in the human steroidogenic acute regulatory protein (StAR) gene. 14th International Congress of Endocrinology. 2010, 3, 27-30, Kyoto.
 - 38 Yazawa, T., Miyamoto, K.: PGC-1 α regulates progesterone production in ovarian granulosa cells with SF-1 and LRH-1. 14th International Congress of Endocrinology. 2010, 3, 27-30, Kyoto.
- G. 知的財産権の出願・登録状況
1. 三好俊一郎・小川聡・他 「心嚢内視鏡、周辺デバイス、及び手技について」先行特許調査中 (平成 21 年 9 月 16 日)
 2. 三好俊一郎・小川聡・他「間葉系細胞の心筋誘導及び積極的免疫学的寛容の成立を行い、他家移植を行う方法」国内 (特願 2009-100248、平成 21 年 4 月 16 日出願)
 3. 三好俊一郎・小川聡・他「心筋細胞分化誘導促進剤及びその使用方法」国内 (特願 2007-315920、平成 19 年 12 月 6 日出願・平成 21 年 6 月 25 日公開 2009-136209)

4. 三好俊一郎・小川聡・他「心筋細胞分化誘導促進剤及びその使用方法」国内(特願 2007-315921、平成 19 年 12 月 6 日出願・平成 21 年 7 月 16 日公開 2009-153514)

規格化された高品質な成育バイオリソースと異種由来成分を排除した完全ヒト型培養システムの構築—再生医療・細胞治療の有効性、安全性の検証システムの標準化—

所属 国立成育医療センター研究所 生殖・細胞医療研究部
研究者 梅澤明弘

研究要旨 間葉系幹細胞は、神経幹細胞、造血幹細胞と共に再生医療という治療戦略の重要な一翼を担う。臨床においても、すでに造血幹細胞の生着促進を目的に骨髄移植と同時に骨髄間質細胞の移植が行われている。同時に、骨髄移植において生着不全を防ぐことを目的に、骨髄間質細胞移植が始められている。これらの臨床試験は、移植細胞の生着促進のみならず、移植片対宿主反応を抑制する可能性を示した。近年、間葉系幹細胞に純化しないままの骨髄細胞を用いて、in vivo において中枢神経細胞、心筋細胞、肝細胞に分化したという報告が相次いでいる。分化した細胞の同定はされていないが、間葉系幹細胞が最も近い位置にあると考えられている。また、卵巣黄体化顆粒膜細胞と極めて類似した、ステロイドホルモン産生細胞への分化誘導に成功した。臍帯血由来の間葉系幹細胞を用いることで、卵巣黄体化顆粒膜細胞と極めて類似したステロイドホルモン産生細胞への分化誘導法を開発した。さらに、ヒト間葉系幹細胞を用いた心筋細胞移植方法の実現に向けた前臨床試験を行った。その細胞ソースとして主に、活性化ヒト(あるいはイヌ)骨髄間葉系幹細胞による自己細胞移植を、心筋梗塞モデルでの有効性を検証した。ヒト組織由来の間葉系細胞の増殖をコントロールし移植への系を確立することは移植医療の新たなパラダイムの獲得につながり、さらに先天性代謝疾患を含めた成育疾患は細胞移植の最もよい対象であり、その治療法の確立をめざした本研究は、臨床応用までを視野に入れた具体的なアプローチである。

分担研究者

- | | |
|----------------------------|-------|
| (1) 慶應義塾大学医学部 | 三好俊一郎 |
| (2) 福井大学医学部 | 宮本 薫 |
| (3) 株式会社ツーセル | 仁科 博道 |
| (4) ジェイ・エム・エス株式会社 | 鈴木 康二 |
| (5) アルブラスト株式会社 | 井上 剛臣 |
| (6) 株式会社カネカ | 櫻井 裕士 |
| (7) 中外製薬株式会社 | 森口 佳之 |
| (8) セルテスコメディカルエンジニアリング株式会社 | 藤沢 章 |
| (9) オリンパス株式会社 | 田村 知明 |
| (10) 株式会社ミラキュア | 松崎 正晴 |
| (11) 株式会社ジー・シー | 山中 克之 |

A. 研究目的

間葉系幹細胞は、神経幹細胞、造血幹細胞と共に再生医療という治療戦略の重要な一翼を担い、骨髄細胞と共に細胞治療における事実上の標準となっている。骨髄由来間葉系細胞の寿命延長を可能とした「ストレスのない培地 (Stress-free

medium)」の開発経験に基づき、成育バイオリソース(胎盤、臍帯血、骨髄、胎児付属物等)由来のヒト間葉系細胞を増殖させ、先天性代謝疾患を含めた遺伝病および細胞治療が有効とされる疾病に対する新たな細胞治療法を開発する。具体的には、ヒト間葉系細胞の分離培養、細胞のプロファイルの確定後、培養細胞の寿命延長過程における細胞の検討を行う。それらの細胞を移植することにより、免疫不全化(SCID化)した疾病モデル動物に対する治療効果を詳細に明らかにする。

B. 研究方法

心筋分化細胞に関する前臨床試験・臨床プロトコルの作製・検討

細胞ソースとして、ヒト(またはイヌ)骨髄間葉系幹細胞を、培養期間中にPPAR- γ 活性化物質ピオグリタゾンにて前処置した細胞と、無処置の細胞を準備。免疫学的反応の無い、NudeRat心筋梗塞モデル、あるいはイヌ自己骨髄間葉系幹細胞を用いてイヌ心筋梗塞モデルに移植、血圧・心臓超音波検査・マツソントリクローム染色による心筋梗塞領域の検討を行うと同時に、EGFPラベルした間葉系幹細胞を移植し、その心筋への分化を免疫組織化学的実験で評価した。

間葉系幹細胞の心筋分化アッセイ

マウス細胞に対しては脱メチル化剤を処理することにより、心筋分化を誘導する。ヒト細胞に対しては、マウス胎児心筋細胞との共培養により、心筋分化誘導する。心筋分化は、拍動、心筋関連遺伝子発現、活動電位測定、免疫細胞化学によって行う。

ステロイドホルモン産生細胞の分化誘導

ヒト骨髄由来間葉系幹細胞にレトロウィルスを用いて、転写因子 LRH-1 を導入し、恒常的発現細胞株を樹立した。これらの細胞株に cAMP を加え、さらに 2-7 日培養しステロイドホルモン産生細胞への分化誘導を行った。細胞分化は、StAR, CYP11A1, CYP17, CYP21A2, CYP11B1 等のステロイド合成酵素遺伝子の発現を RT-PCR により検出することで解析し、同幹細胞に SF-1 を導入して作製したステロイドホルモン産生細胞の遺伝子発現と比較検討した。

(倫理面への配慮)

当研究所においては、ヒト間葉系細胞の培養に関し、研究面において既に倫理審査を受け、承認を受けている(国立成育医療センター研究所、受付番号 25、26 及び 27、平成 15 年 1 月承認、受付番号 49、平成 15 年 10 月承認、受付番号 55、平成 15 年 11 月承認、受付番号 88、89、90、91 平成 16 年 7 月承認、受付番号 55、平成 16 年 11 月追加承認、受付番号 146、平成 17 年 4 月承認、受付番号 156、平成 17 年 7 月承認)。また、それぞれの組織については倫理的な手続きおよび考え方が年次毎に異なると予想され、「ヒト幹細胞等を用いる臨床研究に関する指針」に従い、最新の社会的な影響を十分に考慮する。

実験動物を用いる研究については、国立成育医療センター研究所動物実験指針に準拠して研究を実施する(承認番号 2003-002, 2005-003)。特に、動物愛護と動物福祉の観点から実験動物使用は、目的に合致した最小限にとどめる。またその際、麻酔等手段により苦痛を与えない等の倫理的配慮をおこなう。実験者は、管理者と相互協力のもと適切な環境のもと飼育管理を行う。

C. 結果

心筋分化細胞への分化

ピオグリタゾン前処置によってヒト骨髄間葉系幹細胞の心筋誘導効率は、 $1.9 \pm 0.2\%$ から、 $39.5 \pm 4.7\%$ に有意に増大した。このピオグリタゾン前処置心筋細胞を、NudeRat 心筋梗塞モデルに移植する事で、非処置動物に比べて、移植後の左室短縮率変化率が有意に改善($-4.8 \pm 2.1\%$ $n=17$ vs $5.2 \pm 1.5\%$, $n=30$)した。左室収縮期血圧も 107.5 ± 4.3 から 124.8 ± 2.3 mmHg に改善した。心筋梗塞領域も $15.7 \pm 1.5\%$ から $11.0 \pm 0.8\%$ と有意に改善した。また pioglitazone 前処置を行う事で、Cardiac troponin-I で明瞭な横紋を有するヒト骨髄間葉系幹細胞由来の心筋

細胞の生着が in vivo で著明に改善した ($0 \pm 0\%$ vs $0.07 \pm 0.04\%$)。一方でイヌ心筋梗塞モデルを作製、同様の検証を行い、左室駆出率変化率で、 $-3.3 \pm 2.3\%$ ($n=2$) から $+17.8 \pm 4.2\%$ ($n=3$) と著明改善傾向を認め、現在例数を増やして検証をすすめている。

間葉系細胞の心筋への分化と生体内の心拍動に関する検討

マウス骨髄より CD34・CD117 陽性、CD45 陰性の細胞株を取得し、本細胞が心筋に対する分化能を有することを見出した。間葉系に対する分化能のみを有するヒト骨髄由来間葉系幹細胞は CD90 陽性、CD34・CD45 陰性である。また同様のマウス骨髄間葉系幹細胞は CD34・CD117・CD45 陰性である。

ステロイドホルモンの産生

ヒト骨髄間葉系幹細胞にレトロウィルスを用いて、転写因子 SF-1 あるいは LRH-1 を導入し、それぞれ恒常的発現細胞株を樹立した。これらの細胞株に cAMP を加え、さらに 2-7 日培養しステロイドホルモン産生細胞への分化誘導を行い、ステロイドホルモン合成酵素遺伝子の発現および培養液中に分泌されるステロイドホルモンを測定した。その結果、LRH-1 は SF-1 と全く同等の分化誘導能を持つことが明らかとなった。ステロイドホルモン合成酵素遺伝子の発現パターン、および培養液中に分泌されたステロイドホルモンの量及びパターンも、ほとんど差がなかった。これらの実験結果は、SF-1 だけでなく、もうひとつの NR5A ファミリーである LRH-1 にも間葉系幹細胞をステロイドホルモン産生細胞へと分化誘導する活性が存在することが明らかとなった。

D. 考察

1. ピオグリタゾンは、ミトコンドリア遺伝子 PCG-1a を介して、ミトコンドリアの遺伝子プロファイルを変化させる事が予想されている。心臓の分化にとって、ミトコンドリアは重要である。なぜならば心臓は唯一ミトコンドリアの形態が他の臓器と異なり、非常に高いエネルギー消費を唯一脂肪酸でまかなっている特異な臓器である。そのためミトコンドリアの変化が心筋誘導に何らかの変化を来している可能性がある。我々の検証では、心筋への分化誘導効率はそれほど高くは無かったが、ヒト骨髄間葉系幹細胞の心筋分化効率は生体位心ではほぼゼロであり、それ故に、心筋への分化がピオグリタゾン処理によって生じた意義は大きい。また心筋誘導効率だけでなく、ヒト骨髄間葉系幹細胞のパラクラインによる能力の増大によって、心筋梗塞後に生じる左室リモデリングを著明に改善する事で、心機能改善効果をもたらした可能性が高い。

2. 細胞移植を行う場合、移植する細胞数を多くするために、細胞培養することが要求され、その

過程で生じる細胞老化では単に DNA 合成が阻害されているだけと考えられていた。しかし、実は細胞質分裂も阻害されていることが示され、このことがより安定に増殖停止を起こしている理由の一つと考えられる。その細胞老化が誘導されると ROS の産生が上昇するため細胞周期の複数のチェックポイントが活性化される。このことは老化細胞が安定に増殖停止を起こす原因となっていると考えられるが、もしかすると様々な遺伝子異常を引き起こす原因にもなっている可能性も考えられる。

3. 本研究では間葉系幹細胞に LRH-1 を導入し、分化誘導活性を解析したが、その結果 LRH-1 は SF-1 と全く同等な分化誘導能を有していることが明らかとなった。また様々な間葉系幹細胞に上記の操作を行ったところ、すべての間葉系幹細胞でステロイドホルモン産生細胞への分化誘導が確認されたものの、それぞれのステロイドホルモン分泌パターンは使用した細胞株ごとに異なっていた。これは、使用した間葉系幹細胞株ごとに、すでに分化形質が異なっておりステロイドホルモン産生のパターンに違いが出てくるものと考えられる。これらの細胞株のうち、臍帯血由来間葉系幹細胞株は、卵巣黄体化顆粒膜細胞と極めて類似したステロイドホルモン分泌パターンを示したが、この細胞株では転写共役因子である PGC-1 α が特異的に発現していた。このため本研究では PGC-1 α が卵巣顆粒膜細胞でのステロイドホルモン分泌パターンを決める重要な因子である可能性を解析した。その結果、PGC-1 α は LRH-1 と相互作用し、プロゲステロン産生を制御する因子であることを明らかにした。これは、細胞分化において、ステロイドホルモンの分泌パターンを決定している因子の一つを同定できたことを示しており、今後組織特異的ステロイドホルモン分泌を再現できる幹細胞分化誘導法の開発につながるものと期待される。

4. 骨髄間質細胞は、臨床において、すでに造血幹細胞の生着促進を目的に骨髄移植と同時に移植が行われ始めている。これらの臨床試験は、移植細胞の生着促進のみならず、移植片対宿主反応を抑制する可能性を示した。そのような状況の中で、近年、間葉系幹細胞に純化しないままの骨髄細胞を用いて、*in vivo* において中枢神経細胞、心筋細胞、肝細胞に分化したという報告が相次いでいる。本研究の成果によって、これらの間葉系細胞を用いた細胞治療の実現化に向けて、月経血、臍帯血、末梢血を供給源として示されたことは骨髄のみならず、他の組織を利用して細胞を得ることができることを意味している。また、本研究は骨髄間葉系細胞を用いた研究成果を生かす点でも極めて重要な意味をもち、政策医療の観点からも急務であり、欠くことの出来ない問題である。

心筋細胞が *in vitro* で大量に確保できるという状況が現れれば、それらの細胞を用いた細胞移植という方法論で、末期重症心不全の治療に用いることが可能であろう。*In vivo* において、胎児

心筋細胞を用いて心臓への移植の可能性が証明されて以来、遺伝子を導入した細胞、骨格筋細胞、平滑筋細胞、無処置の骨髄細胞などがドナー細胞として用いられてきた。また、胎児性幹細胞を用いた実験も報告されているが、倫理的問題を含んでいる。現在、ヒト胎児由来の間葉系細胞および間質由来の間葉系細胞の培養に成功し、転写因子を導入することで細胞移植の供給源として提供できるよう研究をすすめている。

E. 結論

1. ピオグリタゾン前処置骨髄間葉系幹細胞は、自己細胞を用いたヒト心臓再生医療の切り札となるだろう。特に現在安全性がクリアーされていって施行可能な細胞治療法として、心筋再生を期待出来る初めての方法となる。

2. 間葉系幹細胞に転写因子 SF-1/LRH-1 を導入することで、ステロイドホルモン産生細胞への分化誘導に成功しているが、本研究により再生医療では欠かせない組織特異的ステロイドホルモン産生のための制御因子を同定することができた。この成果は、組織特異的ステロイドホルモン分泌を再現できる幹細胞分化誘導法の開発につながるものと期待される。

3. 多くの細胞を得る際に、増殖因子を用いる場合に、パラドキシカルに細胞老化が誘導されることが分かっており、これらの経過を明確にできることは極めて価値がある。また、p16 蛋白の発現を化学発光によりモニター出来る細胞を用いることで、ヒト正常細胞の分裂寿命を規定する分子メカニズムを明らかにし、正常な細胞機能を保持したまま分裂寿命の延長を可能にする薬剤等のスクリーニングシステムを構築することができることになり、当初の目的が達成された。また、ヒト細胞を増殖させ、疾病に対する新たな細胞治療法の開発に関する基盤的情報を得ることができ、それらについての情報を米国・欧州のデータベースに登録できた。

4. 再生医療・細胞治療に用いる細胞の安全性の検証システムはこのような基盤的情報のデータベース構築からそれを利用するバイオインフォマティクスの確立、さらに実際に細胞を取り扱う際の作業工程におけるバリデーション項目を医薬品製造レベルまで高めていくことが必要不可欠であるとともに、生命倫理に照らし合わせた一つ一つの手続きを踏むことが重要である。

F. 研究発表

1. Kawamichi Y, Cui CH, Toyoda M, Makino H, Horie A, Takahashi Y, Matsumoto K, Saito H, Ohta H, Saito K, Umezawa A. Cells of Extraembryonic Mesodermal Origin Confer Human Dystrophin in the Mdx Model of Duchenne Muscular Dystrophy. *J Cell Physiol* (in press)

2. Haraguchi Y, Sekine W, Shimizu T, Yamato M, Miyoshi S, Umezawa A, Okano T. Development of a new assay system for evaluating the permeability of various substances through 3-dimensional tissue. *Tissue Eng Part C Methods*. 2009, doi:10.1089/ten.TEC.2009.0459. (in press)
 3. Yamada M, Hamatani T, Akutsu H, Chikazawa N, Kuji N, Yoshimura Y, Umezawa A. Involvement of a novel preimplantation-specific gene encoding the high mobility group box protein Hmgpi in early embryonic development. *Hum Mol Genet*. 19(3):480-493, 2010.
 4. Nagata S, Toyoda M, Yamaguchi S, Hirano K, Makino H, Nishino K, Miyagawa Y, Okita H, Kiyokawa N, Nakagawa M, Yamanaka S, Akutsu H, Umezawa A, Tada T. Efficient reprogramming of human and mouse primary extra-embryonic cells to pluripotent stem cells. *Genes Cells*. 14(12):1395-1404, 2009.
 5. Takahashi H, Toyoda M, Birumachi J, Horie A, Uyama T, Miyado K, Matsumoto K, Saito H, Umezawa A. Shortening of human cell life span by induction of p16ink4a through the platelet-derived growth factor receptor beta. *J Cell Physiol*. 221(2):335-342, 2009.
 6. Makino H, Toyoda M, Matsumoto K, Saito H, Nishino K, Fukawatase Y, Machida M, Akutsu H, Uyama T, Miyagawa Y, Okita H, Kiyokawa N, Fujino T, Ishikawa Y, Nakamura T, Umezawa A. Mesenchymal to embryonic incomplete transition of human cells by chimeric OCT4/3 (POU5F1) with physiological co-activator EWS. *Exp Cell Res*. 315(16):2727-2740, 2009.
 7. Akutsu H, Miura T, Machida M, Birumachi JI, Hamada A, Yamada M, Sullivan S, Miyado K, Umezawa A. Maintenance of pluripotency and self-renewal ability of mouse embryonic stem cells in the absence of tetraspanin CD9. *Differentiation*. 78(2-3):137-142, 2009.
 8. Yazawa, T, Inanoka Y, Mizutani T, Kuribayashi M, Umezawa A, Miyamoto K. Liver receptor homolog-1 regulates the transcription of steroidogenic enzymes and induces the differentiation of mesenchymal stem cells into steroidogenic cells. *Endocrinology*. 150(8):3885-3893, 2009.
 9. Katsube K, Ichikawa S, Katsuki Y, Kihara T, Terai M, Lau LF, Tamamura Y, Takeda S, Umezawa A, Sakamoto K, Yamaguchi A. CCN3 and bone marrow cells. *J Cell Commun Signal*. 3(2):135-145, 2009.
 10. Segawa Y, Muneta T, Makino H, Nimura A, Mochizuki T, Ju YJ, Ezura Y, Umezawa A, Sekiya I. Mesenchymal stem cells derived from synovium, meniscus, anterior cruciate ligament, and articular chondrocytes share similar gene expression profiles. *J Orthop Res*. 27(4):435-441, 2009.
 11. Miyagawa Y, Okita H, Itagaki M, Toyoda M, Katagiri YU, Fujimoto J, Hata J, Umezawa A, Kiyokawa N. EWS/ETS regulates the expression of the Dickkopf family in Ewing family tumor cells. *PLoS One*. 4(2):e4634, 2009.
 12. Ikegami Y, Miyoshi S (corresponding author), Nishiyama N, Hida N, Okamoto K, Miyado K, Segawa K, Ogawa S, Umezawa A. Serum-independent cardiomyogenic transdifferentiation in human endometrium-derived mesenchymal cells. *Artificial Organs* 2009, in press.
 13. Ito A, Hosokawa S, Miyoshi S, Soejima K, Satoshi O, Arai T. The myocardial electrical blockade induced by photosensitization reaction. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering* 2009, in press.
 14. 矢澤隆志、梅澤明弘、宮本 薫：間葉系幹細胞からのステロイド産生細胞。特集・再生医療の将来と産婦人科。産科と婦人科 76(10),1189-1194, 2009.
 15. Yazawa, T., Inaoka, Y., Okada, R., Mizutani, T., Yamazaki, Y., Usami, Y., Kuribayashi, M., Orisaka, M., Umezawa, A., Miyamoto, K.: Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator-1 alpha regulates progesterone production in ovarian granulosa cells with steroidogenic factor-1 and liver receptor homolog-1. *Mol. Endocrinol*. 24(3), 485-496, 2010.
 16. Yazawa, T., Inaoka, Y., Mizutani, T., Kuribayashi, M., Umezawa, A., Miyamoto, K. : Liver Receptor Homolog-1 regulates the transcription of steroidogenic enzymes and induces the differentiation of mesenchymal stem cells into steroidogenic cells. *Endocrinology* 150(8), 3885-3893, 2009.
2. 学会発表
 - 1 Takehiro Kimura, Shunichiro Miyoshi, Seiji Takatsuki, Kojiro Tanimoto, Seiji Takatsuki, Toshiaki Sato, Nobuhiro Nishiyama, Kazuma Okamoto, Kyoko Soejima New frontier for cardiac minor surgery by use of novel pericardial endoscope, optimization of endoscope for pericardial space. 日本循環器学会 (京都) (2010)
 - 2 Hiroko Tsuji, Shunichiro Miyoshi, Naoko Hida, Nobuhiro Nishiyama, Ikuko Togashi, Hikaru Nakamizo, Yukinori Ikegai, Kaoru Segawa, Yasunori

- Yoshimura, Satoshi Ogawa, Akihiro Umezawa Pretreatment with IL-10 significantly improved efficiency of immunological tolerance and rate of survival of cardiomyocyte transdifferentiated from human amniotic membrane-derived mesenchymal stem cell in vivo. 日本循環器学会 (京都) (2010)
- 3 Shunichiro Miyoshi, Arisa Itoh, Takuro Kajihara, Mizuki Ide, Hajime Suenari, Mei Takahashi, Takehiro Kimura, Kojiro Tanimoto, Kotaro Fukumoto, Seiji Takatsuki, Kyoko Soejima, Toshiaki Satoh, Yasuhiko Futami, Satoshi Ogawa, Tsunenori Arai Cavo-tricuspid Isthmus Ablation by Novel Photodynamic Laser Catheter in Swine Heart in vivo. 日本循環器学会 (京都) (2010)
- 4 Daisuke Shinmura, Shunichiro Miyoshi, Hiroko Tsuji, Nobuhiro Nishiyama, Naoko Hida, Hikaru Nakamizo, Ikuko Togashi, Kaoru Segawa, Yukiko Tsukada, Akaru Ishida, Makoto Handa, Satoshi Ogawa, Akihiro Umezawa Dramatic Improvement of in vivo Cardiomyogenic Transdifferentiation Efficiency of Pioglitazone-treated Human Marrow-derived Mesenchymal Stem Cells. 日本循環器学会 (京都) (2010)
- 5 Shunichiro Miyoshi, Arisa Itoh, Takuro Kajihara, Mizuki Ide, Hajime Suenari, Mei Takahashi, Takehiro Kimura, Kojiro Tanimoto, Kotaro Fukumoto, Seiji Takatsuki, Kyoko Soejima, Toshiaki Satoh, Yasuhiko Futami, Satoshi Ogawa, Tsunenori Arai Cavo-tricuspid Isthmus Ablation by Novel Photodynamic Laser Catheter in Swine Heart in vivo. American College of Cardiology (Atlanta) (2010)
- 6 Yohei Numasawa, Shunichiro Miyoshi, Takehiro Kimura, Nobuhiro Nishiyama, Hiroko Tsuji, Naoko Hida, Daisuke Shinmura, Hikaru Nakamizo, Ikuko Togashi, Kaoru Segawa, Yuiko Tsukada, Akaru Ishida, Makoto Handa, Akihiro Umezawa, Satoshi Ogawa Angiotensin Receptor Blockers Improved Cardiomyogenic Transdifferentiation Efficiency of Human Marrow-derived Mesenchymal Stem Cells in vitro. American College of Cardiology (Atlanta) (2010)
- 7 福本耕太郎, 高月誠司, 西山信大, 富樫郁子, 相澤義泰, 谷本耕司郎, 佐藤俊明, 三好俊一郎, 小川聡 心房細動に対する電氣的拡大肺静脈隔離術において治療難渋例は予後不良なのか (日本不整脈学会学術大会) 心電図 29 卷 Suppl.3 PageS-3-450(2009)
- 8 福本耕太郎, 高月誠司, 西山信大, 富樫郁子, 相澤義泰, 谷本耕司郎, 佐藤俊明, 三好俊一郎, 小川聡 発作性心房細動に対する電氣的肺静脈隔離術 double Lasso は必須か (日本不整脈学会学術大会) 心電図 29 卷 Suppl.3 PageS-3-402(2009)
- 9 村木浩司, 富樫郁子, 佐藤俊明, 西山信大, 福本耕太郎, 相澤義泰, 谷本耕司郎, 三好俊一郎, 高月誠司, 小川聡 恒久型ペースメーカー植込み患者におけるペースング率低下を目的とする新しい薬物療法 (日本不整脈学会学術大会) 心電図 29 卷 Suppl.3 PageS-3-397(2009)
- 10 佐藤俊明, 前田明子, 高月誠司, 三好俊一郎, 谷本耕司郎, 相澤義泰, 福本耕太郎, 富樫郁子, 西山信大, 小川聡 デバイスマonitoring が可能にした病態の解明と治療法の新たな展開 CareLink によるデバイス遠隔モニタリング、その利点と課題について (日本不整脈学会学術大会) 心電図 29 卷 Suppl.3 PageS-3-214(2009)
- 11 高月誠司, 福本耕太郎, 谷本耕司郎, 西山信大, 富樫郁子, 相澤義泰, 福田有希子, 佐藤俊明, 三好俊一郎, 小川聡 心房細動アブレーションのリアルワールド 治療困難例から合併症管理まで 心房細動アブレーション後の再発に関するリアルワールド カルジオフォンを用いた検討 (日本不整脈学会学術大会) 心電図 29 卷 Suppl.3 PageS-3-169(2009)
- 12 Toshiaki Sato, Akiko Maeda, Seiji Takatsuki, Shunichiro Miyoshi, Kojiro Tanimoto, Kotaro Fukumoto, Yoshiyasu Aizawa, Satoshi Ogawa, Yoshihisa Abe, Kenji Ando, Junjiro Koyama, Morio Shoda Patients' Acceptability of a Novel Remote Monitoring System (Progress Report for the CareLink Pilot Study in Japan (日本循環器学会学術集会) Circulation Journal 73:Suppl.I Page424(2009)
- 13 Shunichiro Miyoshi, Kyoko Soejima, Kojiro Tanimoto, Koutaro Fukumoto, Toshiaki Sato, Seiji Takatsuki, Takehiro Kimura, Hirotaka Yada, Ikuko Togashi, Nobuhiro Nishiyama, Hikaru Nakamizo, Satoshi Ogawa Efficacy and Feasibility of Pericardial Endoscopy by Percutaneous Subxiphoid Approach (日本循環器学会学術集会) Circulation Journal 73:Suppl.I Page581(2009)
- 14 村田光繁, 湯浅慎介, 服部文幸, 福田恵一, 三好俊一郎 (シンポジウム) Future of Arrhythmology 再生医療 細胞工学を用いた細胞移植法 心臓再生療法への応用 (日

- 15 矢澤隆志, 稲岡斉彦, 水谷哲也, 宮本 薫: 転写共役因子 PGC-1 α の卵巣機能における役割. 第 82 回日本内分泌学会学術総会 公開シンポジウム 4 間脳下垂体性腺系の分子機構の新知識. 2009,4,23-25,前橋. 日本内分泌学会雑誌 85(1), 213, 2009.
- 16 稲岡斉彦, 矢澤隆志, 水谷哲也, 上坂美紀, 梅澤明弘, 宮本 薫: ラット卵巣でのゴナドトロピンによる P450 oxidoreductase の発現調節とエストロゲン産生に及ぼす効果. 第 82 回日本内分泌学会学術総会. 2009,4,23-25,前橋. 日本内分泌学会雑誌 85(1), 348, 2009.
- 17 稲岡斉彦, 矢澤隆志, 水谷哲也, 梅澤明弘, 宮本 薫: ラット卵巣におけるゴナドトロピンによる P450 oxidoreductase の発現調節とエストロゲン産生への影響. 日本生化学会北陸支部第 27 回大会. 2009,5,23, 福井. 要旨集 26,2009.
- 18 矢澤隆志, 稲岡斉彦, 水谷哲也, 岡田令子, 山崎由希子, 栗林真悠, 梅澤明弘, 宮本 薫: PGC-1 α のステロイドホルモン合成に対する作用. 日本生化学会北陸支部第 27 回大会. 2009,5,23, 福井. 要旨集 27,2009.
- 19 矢澤隆志: 間葉系幹細胞からのステロイドホルモン産生細胞の作製. 第 27 回内分泌代謝学サマーセミナー. シンポジウム 幹細胞研究の最前線. 2009,7,16-17, 福井. 抄録集 30,2009.
- 20 矢澤隆志, 稲岡斉彦, 岡田令子, 水谷哲也, 山崎由希子, 宇佐美陽子, 栗林真悠, 梅澤明弘, 宮本 薫: PGC-1 α は卵巣顆粒膜細胞のプロジェステロン合成を亢進させる. 日本動物学会第 80 回大会. 2009,9,17-20,静岡.
- 21 水谷哲也, 矢澤隆志, 上坂美紀, 稲岡斉彦, 具 云峰, 岡田令子, 松浦かおる, 上木康衣, 梅澤明弘, 宮本 薫: Identification of a novel enhancer region in the human steroidogenic acute regulatory protein (StAR) gene. 第 82 回日本生化学会大会. 2009,10,21-24,神戸.
- 22 矢澤隆志, 宮本 薫: マウス生殖腺における魚類アンドロゲン・11-KT 産生. 第 34 回日本比較内分泌学会大会・日本比較生理生化学会第 31 回大会 合同大会(CompBiol2009). 2009, 10,22-24,千里.
- 23 水谷哲也, 矢澤隆志, 上坂美紀, 稲岡斉彦, 具 云峰, 岡田令子, 松浦かおる, 上木康衣, 梅澤明弘, 宮本 薫: ヒト Steroidogenic Acute Regulatory Protein (StAR) 遺伝子における新たな SF-1/Ad4BP 結合領域の同定. 第 14 回日本生殖内分泌学会学術集会. 2009,11,28,東京.
- 24 矢澤隆志, 稲岡斉彦, 岡田令子, 水谷哲也, 山崎由希子, 宇佐美陽子, 栗林真悠, 梅澤明弘, 宮本 薫: 卵巣顆粒膜細胞における転写共役因子 PGC-1 α の機能. 第 14 回日本生殖内分泌学会学術集会. 2009,11,28,東京.
- 25 Mizutani, T., Yazawa, T., Uesaka, M., Inaoka, Y., Ju, Y., Okada, R., Matsuura, K., Kamiki, Y., Umezawa, A., Miyamoto, K.: Identification of a novel enhancer region in the human steroidogenic acute regulatory protein (StAR) gene. 14th International Congress of Endocrinology. 2010, 3, 27-30, Kyoto.
- 26 Yazawa, T., Miyamoto, K.: PGC-1 α regulates progesterone production in ovarian granulosa cells with SF-1 and LRH-1. 14th International Congress of Endocrinology. 2010, 3, 27-30, Kyoto.
- 27 矢澤隆志, 稲岡斉彦, 水谷哲也, 宮本 薫: 転写共役因子 PGC-1 α の卵巣機能における役割. 第 82 回日本内分泌学会学術総会 公開シンポジウム 4 間脳下垂体性腺系の分子機構の新知識. 2009,4,23-25,前橋. 日本内分泌学会雑誌 85(1), 213, 2009.
- 28 稲岡斉彦, 矢澤隆志, 水谷哲也, 上坂美紀, 梅澤明弘, 宮本 薫: ラット卵巣でのゴナドトロピンによる P450 oxidoreductase の発現調節とエストロゲン産生に及ぼす効果. 第 82 回日本内分泌学会学術総会. 2009,4,23-25,前橋. 日本内分泌学会雑誌 85(1), 348, 2009.
- 29 稲岡斉彦, 矢澤隆志, 水谷哲也, 梅澤明弘, 宮本 薫: ラット卵巣におけるゴナドトロピンによる P450 oxidoreductase の発現調節とエストロゲン産生への影響. 日本生化学会北陸支部第 27 回大会. 2009,5,23, 福井. 要旨集 26,2009.
- 30 矢澤隆志, 稲岡斉彦, 水谷哲也, 岡田令子, 山崎由希子, 栗林真悠, 梅澤明弘, 宮本 薫: PGC-1 α のステロイドホルモン合成に対する作用. 日本生化学会北陸支部第 27 回大会. 2009,5,23, 福井. 要旨集 27,2009.
- 31 矢澤隆志: 間葉系幹細胞からのステロイドホルモン産生細胞の作製. 第 27 回内分泌代謝学サマーセミナー. シンポジウム 幹細胞研究の最前線. 2009,7,16-17, 福井. 抄録集 30,2009.
- 32 矢澤隆志, 稲岡斉彦, 岡田令子, 水谷哲也, 山崎由希子, 宇佐美陽子, 栗林真悠, 梅澤明弘, 宮本 薫: PGC-1 α は卵巣顆粒膜細胞のプロジェステロン合成を亢進させる. 日本動物学会第 80 回大会. 2009,9,17-20,静岡.
- 33 水谷哲也, 矢澤隆志, 上坂美紀, 稲岡斉彦, 具 云峰, 岡田令子, 松浦かおる, 上木康衣, 梅澤明弘, 宮本 薫: Identification of a novel enhancer region in the human steroidogenic acute regulatory protein (StAR) gene. 第 82 回日本生化学会大会. 2009,10,21-24,神戸.
- 34 矢澤隆志, 宮本 薫: マウス生殖腺における魚類アンドロゲン・11-KT 産生. 第 34 回日

本比較内分泌学会大会・日本比較生理生化学会第 31 回大会 合同大会(CompBiol2009). 2009, 10,22-24,千里.

- 35 水谷哲也, 矢澤隆志, 上坂美紀, 稲岡齊彦, 具 云峰, 岡田令子, 松浦かおる, 上木康衣, 梅澤明弘, 宮本 薫: ヒト Steroidogenic Acute Regulatory Protein (StAR) 遺伝子における新たな SF-1/Ad4BP 結合領域の同定. 第 14 回日本生殖内分泌学会学術集会. 2009,11,28,東京.
- 36 矢澤隆志, 稲岡齊彦, 岡田令子, 水谷哲也, 山崎由希子, 宇佐美陽子, 栗林真悠, 梅澤明弘, 宮本 薫: 卵巣顆粒膜細胞における転写共役因子 PGC-1 α の機能. 第 14 回日本生殖内分泌学会学術集会. 2009,11,28,東京.
- 37 Mizutani, T., Yazawa, T., Uesaka, M., Inaoka, Y., Ju, Y., Okada, R., Matsuura, K., Kamiki, Y., Umezawa, A., Miyamoto, K.: Identification of a novel enhancer region in the human steroidogenic acute regulatory protein (StAR) gene. 14th International Congress of Endocrinology. 2010, 3, 27-30, Kyoto.
- 38 Yazawa, T., Miyamoto, K.: PGC-1 α regulates progesterone production in ovarian granulosa cells with SF-1 and LRH-1. 14th International Congress of Endocrinology. 2010, 3, 27-30, Kyoto.

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 三好俊一郎・小川聡・他 「心嚢内視鏡、周辺デバイス、及び手技について」先行特許調査中 (平成 21 年 9 月 16 日)
2. 三好俊一郎・小川聡・他「間葉系細胞の心筋誘導及び積極的免疫学的寛容の成立を行い、他家移植を行う方法」国内 (特願 2009-100248、平成 21 年 4 月 16 日出願)
3. 三好俊一郎・小川聡・他「心筋細胞分化誘導促進剤及びその使用方法」国内 (特願 2007-315920、平成 19 年 12 月 6 日出願・平成 21 年 6 月 25 日 公開 2009-136209)
4. 三好俊一郎・小川聡・他「心筋細胞分化誘導促進剤及びその使用方法」国内 (特願 2007-315921、平成 19 年 12 月 6 日出願・平成 21 年 7 月 16 日 公開 2009-153514)

人由来組織利用研究円滑化のための社会的・技術的 インターフェースの整備

所 属 国立成育医療センター研究所・外科研究部

研究者 絵野沢 伸

研究期間 平成 19 年 4 月～平成 22 年 3 月

研究要旨：標記研究課題について細胞生物学的側面から検討を行った。ヒト肝細胞からの代替細胞として期待される幹細胞分化肝細胞様細胞について、ヒト皮下脂肪に由来する間葉系幹細胞を取り上げ、薬物代謝活性ならびに同活性誘導能の有無を評価した。分化細胞で各種 CYP 活性ならびに rifampicin, omeprazole による CYP 誘導能が検出でき、その活性値は対照として測定したヒト凍結肝細胞の 20～80%にも達し、肝実質細胞の代替細胞として十分使用しうると考えられた。三次元細胞アレイプレートによる多ロット混合肝細胞培養で安定した薬物代謝活性および誘導能が維持された。3 ドナー由来凍結肝細胞を混合培養した well は、個々の肝細胞が示す活性の算術平均値に近い値を示した。この活性は約 1 ヶ月の間保たれ、実験用に待機させることが可能とわかった。この時形成される三次元人工肝小葉の排泄トランスポーター活性を調べた。プローブとして CDFDA を用い Mrp2 の機能を共焦点レーザー顕微鏡で調べた。胆汁プールの蛍光が検知された。Ca²⁺非存在下ではその境界が不鮮明になることから、肝細胞による排泄と微細胆管構造の構築がなされているものと考えられた。手術摘出肝組織由来肝実質細胞を用いた三次元細胞アレイプレートの評価は分担研究者の協力を得て複数の医療機関で行った。CYP3A4mRNA 発現量の維持について比較検討したところ、細胞アレイでは従来の培養法よりも高く維持され、同 CYP 誘導能もよく保持されていた。接着基質として、ヒト可溶性羊膜 HSAP を評価した。使用したヒト凍結肝細胞のロット（接着型、非接着型）それぞれにおいて、基質面における細胞占有率は、HSAP>コラーゲン>対照、の順であった。ヒト可溶性羊膜 HSAP はヒト凍結肝細胞の培養において従来のコラーゲンに勝る細胞 Scaffold になりうる可能性が示唆された。新しい凍結技術 CAS 凍結については、昨年度の研究で磁界強度に依存して冷却曲線が変化することがわかったので、磁界強度を変えてラットおよびヒトの肝細胞を凍結し、解凍時の生細胞率を測定した。その結果、磁界強度の中に最適値のあることを示唆する結果を得た。創薬研究に必要なヒト由来組織、特に肝実質の調達に関して分担研究者の HAB 研究機構は人試料委員会を作り心停止ドナーからの採取可能性について議論した（H17/12/1～H19/8/13 に 11 回。絵野沢は委員として参加。結果は「バイオバンク構想的・倫理的検討- その実践と人間の尊厳-」として出版された）。適切な説明と同意が得られれば現行法下でも可能であるとの結論を得、絵野沢はその実現のためのしくみについて考察し報告を行った。

分担研究者

- | | |
|--------------------|-------|
| (1) 東京医科大学外科学第三講座 | 青木達哉 |
| (2) 東京理科大学理学部応用科学科 | 大塚英典 |
| (3) 国立がんセンター研究所 | 落谷孝広 |
| (4) 帝京平成大学薬学部 | 石館光三 |
| (5) 聖マリアンナ医科大学 | 熊井俊夫 |
| (6) (NPO) HAB 研究機構 | 鈴木 聡 |
| (7) (株) アビー | 大和田哲男 |
| (8) 田辺三菱製薬 (株) | 山田泰弘 |
| (9) 東洋合成工業 (株) | 池谷武志 |
| (10) (株) トランスパレント | 城村友子 |
| (11) (株) 生物資源応用研究所 | 桜川宣男 |

しいことから、安定して入手することは難しい。近年の再生医療研究の進展に伴い、幹細胞から肝細胞様細胞を分化できたとする報告が相次いでいる。そこで、この方法で得られた肝細胞様細胞が薬物動態研究に使用できるレベルの CYP 活性、同誘導能を表出しているかを調べることにした。

薬物代謝酵素の活性や誘導能における個人差の影響を弱めるために、創薬研究では複数ドナーからの肝細胞を用いることが実験上も申請面からも望ましいとされる。そこで東洋合成工業社が表面加工を加えた細胞アレイプレートを用い、複数ロットの凍結ヒト肝細胞およびそれらを混合したプールド肝細胞の薬物代謝活性を調べた。

A. 研究目的

薬物動態研究においてヒト肝細胞は必須の研究ツールである。しかしながら、供給が少なく保存が難

初代肝細胞の単層培養は形態的にも機能的にも十分に in vivo の状態を反映しているとはいえない。近年、肝細胞の機能維持に優れる培養系として 3 次

元スフェロイド培養が注目されている。我々は3次元培養基板の一つ、トランスパレント社のCell-ableの特性を評価している。Cell-ableは均一な大きさの肝細胞スフェロイドをアレイ状に配置できる培養システムである。またフィーダー細胞として血管内皮細胞を使用する特徴がある。今回は排泄トランスポーター機能の解析を胆管腔構造およびトレーサー実験で検討した。

創薬スクリーニングにおいて初代ヒト肝細胞の使用は不可避である。ヒト肝細胞のソースは死体肝あるいは手術摘出肝組織であるが、世界的に流通しているのは前者由来の細胞である。すなわち肝移植のために提供を受けたが、医学的理由により移植に用いることができない(移植不適合)肝から分離される。このルートはわが国では現在法により禁止されているので、欧米で得られた肝細胞が凍結状態で輸入、販売されている。問題は肝細胞が極めて凍結保存に弱いことである。調製された過半数のロットは、凍結・融解後に細胞接着能が低下し、培養に適さなくなる。我々はこういった非接着ロット細胞も培養可能となる接着基質を探索している。今回、HSAPをこの目的で評価した。

肝実質細胞の凍結保存は未だに満足の行く結果が得られていない。そこで凍結保存技術の改良について、株式会社アビー製CAS凍結機で磁界強度を変えてラットおよびヒトの肝細胞を凍結し、解凍時の生細胞率を測定し、磁界の及ぼす効果を調べた。

B. 研究方法

1) 間葉系幹細胞分化肝細胞様細胞の評価

ヒト皮下脂肪由来間葉系幹細胞の分化は落谷の方法によった¹⁾。薬物プローブの代謝物測定は山田泰弘博士によった。

¹⁾Banas, Ochiya et al. Rapid hepatic fate specification of adipose-derived stem cells and their therapeutic potential for liver failure. J Gastroenterol Hepatol 24:70, 2009

2) 細胞アレイによる三次元培養系に関する評価

3 ドナー由来の凍結ヒト肝細胞(接着型, Xenotech, lot770, 808, 817)とそれらを混合した細胞を96穴細胞アレイプレート(Cell-Able)で培養した(2x10⁴/well)。フィーダー細胞として牛動脈内皮細胞株HHを用いた。培養28日目までの6種のCYP活性(1A2, 2B6, 2C9, 2C19, 2D6, 3A)と2種の抱合酵素活性をLC-MS/MSによって調べた。CYP誘導剤はomeprazoleとrifampicinを用いた。

排泄トランスポーター活性の検出プローブとして5(6)-carboxy-2',7'-dichlorofluorescein Diacetate (CDF-DA)を使用した。ヒト肝細胞は国立成育医療センターにて得られた手術摘出肝組織(Monosegment化ドナー肝余剰部、オルニチントランスカルバミラーゼ欠損症肝)から分離した(倫

理審査No.305)。分離肝細胞は、フィーダー細胞(ウシ大動脈内皮由来HH細胞, JCRB0099)を前培養したCell-ableに播種し、肝細胞用指定培地にて培養した。培養開始後4,7日目にCa²⁺存在下・非存在下におけるCDFの分布を共焦点レーザー顕微鏡にて観察した。トレーサー実験には³H-estrone sulfateを用いた。Cell-ableはトランスパレント社製を用いた。

細胞アレイによる三次元培養系の評価は熊井分担者によっても別の視点から行われた。熊井分担者が所属する聖マリアンナ医科大学大学病院にて肝癌および肝疾患の外科手術適応患者より研究参加の同意を受けて得られた肝組織の非疾患部位(正常部位)2例から分離した初代肝細胞とNPO法人HAB研究機構から得られた移植不適合肝臓組織2例、凍結ヒト肝細胞(Xenotech, Lenexa, KS, USA)2例を用いた。細胞内CYP3A4の定量は、Real-time RT-PCR法によった。誘導能はrifampinまたはdexamethasone, 20μMを添加し48時間培養して測定した。

3) 新規細胞接着基質、ヒト可溶性羊膜HSAPの評価

ヒト凍結肝細胞は、米国XENOTECH社の接着型(Lot.768)と非接着型(Lot.713)を日本農産工業より購入した。HSAPは細胞応用資源研究所より供与を受けた。肝細胞は常法に従い解凍後、12穴プレートに1.9x10⁵cells/well(Lot.768)または2.5x10⁵cells/well(Lot.713)の密度で播種した。接着基質として、対照(Tissue culture plate)、HSAPコート(5, 10ug/cm²)、コラーゲンコート(Falcon, BioCoat)を比較した。

4) 肝細胞凍結に対する磁界の効果検討

分離直後のラットおよびヒト肝細胞をCP-1液に懸濁し、CAS凍結機により凍結した。各検体は5x10⁶細胞を0.5mLに懸濁した。凍結後は液体窒素中に保存し、1ヶ月~6ヶ月後に解凍した。解凍は、37℃温浴で90秒間加温し、解凍後直ちに氷冷した10mLのDMEM培地と混合した。遠心後、上清を除き、新しい培地に懸濁し、一部にトリパンブルーを加え細胞計数板で生死細胞を計数した。ラット肝細胞は10検体の平均とSDで、ヒト肝細胞は2検体の平均と差で表した。

5) 創薬研究のためのヒト由来試料調達に関する研究

NPO)HAB研究機構の雨宮浩理事長(当時)が委員長、町野朔上智大学教授が座長となり第1回H17/12/1 ~ 第11回H19/8/13の議論を行った。<委員>

町野 朔 上智大学法学研究科 教授

雨宮 浩 国立小児病院 名誉センター長

嶋津 格 千葉大学理事、法経学部教授

池田敏彦 三共株式会社薬剤動態研究所元所長、

東大院薬学研究科特任教授、横浜薬大教授

辰井聡子 明治学院大学法学部准教授

絵野沢 伸 国立成育医療センター研究所室長

木内政寛 千葉大学名誉教授 法医学教室
小幡裕一 独) 理化学研究所筑波研究所所長
中村幸夫 独) 理化学研究所筑波研究所バイオリ
ソースセンター室長
丸山英二 神戸大学大学院法学研究科教授
宇都木 伸 東海大学大学院実務法学研究科
隅蔵康一 政策研究大学院大学准教授

6) 倫理的配慮

ヒト肝細胞は凍結標品の購入あるいは国立成育医療センターにて得られた手術摘出肝組織 (Monosegment 化ドナー肝余剰部) から分離して使用した (倫理審査 No. 305)。動物実験は国立成育医療センター研究所動物実験委員会の審査・承認の下に行った (No. 2000-001)。

C. 研究結果

1) 間葉系幹細胞分化肝細胞様細胞の評価

分化細胞において各種 CYP 活性ならびに rifampicin、omeprazole による CYP 誘導能が検出できた。分化細胞の活性値は対照として測定したヒト凍結肝細胞の 20~80%と高く (図 1~4)、代替細胞として十分使用しうると考えられた。

2) 細胞アレイによる三次元培養系に関する評価

すべての CYP 活性と誘導剤への反応性は細胞アレイプレートで良好に維持された。プールド肝細胞は個々の肝細胞が示す活性値のほぼ平均的な活性値を示した (図 5)。7-hydroxycoumarin のグルクロン酸抱合活性と硫酸抱合活性は CYP 活性と同じく維持された (図 6)。尚、本プレートでは well がどの位置にあるかによる影響は見られず、同じ細胞を播種した well 間のばらつき (群内変動) は小さく抑えられていた (図 7)。

ヒト肝細胞はスフェロイド形成後、局所に蛍光を発しており、微小胆管腔様構造が形成されたことを示唆していた (図 8)。胆管腔構造は培養日数が経過するとともにスポットが大きくなり、発達しているようにみられた。また Tight Junction が開く Ca^{2+} 非存在下では明らかにスポットが消失し、蛍光化合物は胆管腔に蓄積することなく培地中に拡散していると考えられた。また、凍結保存を経た後に再度同条件下で実験をおこなった場合も同様の結果が確認できた。Estrone sulfate を用いたトレーサー実験では、3 日目、7 日目ともに同程度の排出活性値が得られた。単層培養では 3 日目、7 日目ともに活性が見られなかった。

聖マリアンナ医科大学では肝癌および肝疾患の外科手術適応患者より組織採取の同意を得られる患者は、年間平均約 30 件である。その中で非感染症患者の検体は約 45%を占めるが、初代培養肝細胞に使用できる検体数は約 5 件/年である (図 9)。平成 22 年度はこのうち 2 件を本研究に使用した。その他の供給により計 6 ロットを実験に使用した。

単層培養を行った肝細胞の細胞形態は、William E に成長因子を添加した培地を使用した場合とランフォード培地を使用した場合のどちらでも 5 日間までその形態を維持して生存していた。7 日目に、肝細胞の一部において線維芽細胞様に変化する細胞がみられた。また、cell-able を利用した肝細胞は 1 日目にフィーダー細胞 (牛大動脈内皮細胞株: HH 細胞) 上に集積し、3 日目にはスフェロイド様の形成が見られ、7 日間維持された。Cell-able 上培養で William E 培地を用いた場合の CYP3A4 mRNA 発現量は、7 日目まで単層培養より高い発現量が維持された (図 10)。CYP3A4 の誘導は、各培養条件で確認できた (図 11)。

3) 新規細胞接着基質、ヒト可溶性羊膜 HSAP の評価

解凍直後の生細胞率は Lot. 768 が 43.7%、Lot. 713 が 47.9%であった。播種後 3 日目の顕微鏡観察で肝細胞の培養状態は、接着型、非接着型それぞれの場合ともに、基質面における細胞占有率で、HSAP>コラーゲン>対照、の順であった (図 12)。HSAP の濃度の違いは培養へ顕著な影響を及ぼさなかった。予備検討として測定した CYP3A4 活性 (Promega P450-Glo) は、各条件間で有意な差はみられなかった。凍結肝細胞の基質接着能が落ちる理由は不明である。

4) 肝細胞凍結に対する磁界の効果検討

ラット肝細胞では、解凍時の生細胞率の平均値が 20.2~23%と低く、また磁界強度の変化は特に差をもたらさなかった (図 13)。一方、ヒト肝細胞では磁界強度 5 でやや落ち、また 6 はばらつきが大きいことからこのあたりに冷却の特異点があるのではないかと考えられた (図 14)。

5) 創薬研究のためのヒト由来試料調達に関する研究

今回の議論ではまず採取対象を心停止ドナーとした。わが国では心停止ドナーは腎臓、眼球 (角膜)、脾臓 (脾臓は生前の意思表示がある場合のみ) が対象で、肝臓は移植のための摘出対象にならないので、医療との競合がなく、はじめから研究用について提供を考えてもらえるからである。死体解剖保存法との関係は辰井の解釈によれば、同法の射程外となる。同じく、臓器移植法についても射程外である。移植用に摘出された臓器の研究転用ではないからである。心停止ドナーからの研究用肝組織提供の手順案を絵野沢が構築した。法律、指針上は運用可能なシステムであるが、一般社会の理解、適切な説明と同意 (インフォームド・コンセント)、採取側の協力体制、などの整備が必要である。

D. 考察

今まで幹細胞を肝細胞様に分化させた報告は相当数ある。それらの研究では、肝細胞分化の指標としてアルブミン合成・分泌、他、肝細胞特異的マーカーの mRNA 発現やタンパク発現によっていた。

また、中には簡易アッセイキットを用いて薬物代謝活性、同活性誘導能を調べたものもあったが、創薬研究者の視点によって活性を調べたものはなかった。今回の研究で得られた CYP 活性は今までの幹細胞分化肝細胞様細胞の中でおそらく最高値であり、十分に創薬研究に使えたと期待できるものである。

創薬研究においては細胞数の確保が必要である。今回用いた皮下脂肪組織由来間葉系幹細胞は多分化能を有した状態で数パッセージの継代が可能である。現状のわが国における供給は手術摘出検体に依存しているが、1ドナー由来である程度の数量は確保できると考えられる。しかしながら今後は、死体からの採取も視野に入れるべきであろう。

プールド肝細胞は肝細胞ドナーの個人差を打ち消すことができ、仮に poor metabolizer が含まれていたとしても総体として誘導、阻害などのデータを得ることができる。また肝細胞をまとめることによって多くの同一活性の 96 穴プレートを作成することができる。さらに細胞アレイ化することによって、約 1 ヶ月の間実験に供するために待機させることが可能である。本研究により、細胞アレイ上のプールド肝細胞培養は薬物動態研究における費用と時間を縮減、短縮できると考えられた。

CDF-DA は細胞内に受動的（一部能動的）に取り込まれ MRP2 トランスポーターによって排泄される。CDF-DA は細胞でエステラーゼによって DA が水解され CDF となり発色する。また estrone も MRP2 によって排出される。本アッセイは培養液中の Ca²⁺の有無により tight junction が開閉することを利用したもので今までも単層培養で行われてきたが、肝細胞のロットによっては活性が低いあるいは検出できないことも多かった。今回、Cell-able 上で 3 次元培養をすることによって、単層培養系よりも顕著な結果を得ることができた。

Cell-able によるヒト肝細胞培養は、分担者により別の実験系、視点によっても客観的評価がなされた。その結果から、熊井分担者は、フィーダー細胞の播種を手間とする以外は、従来の単層培養法と同じ培地で培養が可能であり、CYP3A4 mRNA の発現量を維持または誘導を保持できるため有用な培養法であるといえる。（中略）今後は、CYP3A4 蛋白の発現や活性を評価し、また他の CYP 機能や輸送蛋白の機能も併せて検討し、薬効評価のツールとして有効な Cell-able の活用を確立したいと考える。と報告している。

市販ヒト凍結肝細胞で、接着型ロットは全体の 1-2 割とされ、価格も高い。非接着型細胞が培養実験に用いられるようになれば意義は極めて大きい。現在、その目的にもっとも適った系は、ウシ血管内皮細胞をフィーダー細胞として用いる三次元培養系、Cell Able（株）トランスパレント）であるが、フィー

ダー細胞を使用しない系では未だ満足のゆく結果は得られていない。HSAP の可能性に期待したい。

食品の冷凍保存に優れた性能を発揮している CAS 凍結は、医療における冷凍保存にも大きな期待が持たれている。昨年度の研究では機械的特性と凍結に及ぼす物理的影響を調べ、CAS 凍結槽内での磁場分布および CAS 目盛と磁場強度の関係、さらにこの強度変化が溶媒の冷却に及ぼす影響がわかった。本年度はこの条件がラットおよびヒトの肝細胞の凍結にどのように効果を示すかを検討した。ラット肝細胞は以前より凍結が極めて難しいとされてきた。実際、今回も解凍時の平均生細胞率が 20% 余りと非常に悪かった。この状態では CAS 凍結の効果は特に見られなかった。ヒト肝細胞は状況によっては凍結解凍後に 60-80% 以上の生細胞率が得られる場合がある。今回のヒト肝細胞では、そこまで高率ではなかったが、50% 超の生細胞率が得られ、またその後には培養も可能であった。CAS 目盛 5 の位置で生細胞率が落ち、ここが何らかの特異点ではないかと考えられた。今後、さらにデータロガーと組合せ、詳細な検討を進めたい。

創薬研究のためのヒト由来試料調達は、欧米のように死体からの採取を行う方向で社会や行政に働きかける必要があると考えられた。この理由は、いわゆる黒川答申で提案された手術摘出検体では量的に不足することがまず理由として挙げられる。また、世界的に動物愛護への関心が高まり、動物実験代替法の発展を基盤から支援するためにヒト由来組織の研究利用の推進が必要である。さらに、このしくみを円滑に動かすためにはヒューマンサイエンス研究資源バンクのような公共的ヒト組織バンクが軸となって、システムの公平性、透明性を維持することが適切と考えられる。

E. 結論

- 1) ヒト皮下組織由来間葉系幹細胞から分化誘導した肝細胞様細胞は、現状の分析系で十分検出できる CYP 活性ならびに同活性誘導能を有し、薬物動態研究に使用できると期待される。
- 2) 東洋合成工業社制作の三次元細胞アレイプレートによる肝細胞培養で安定した薬物代謝活性および誘導能が活性ならびに mRNA 発現量の測定から維持されることがわかった。複数ドナー由来肝細胞を混合して培養した well は、個々の肝細胞が示す活性の平均値を示した。この時形成される肝小葉類似の構造体は分泌トランスポーター活性も有することがわかった。
- 3) ヒト可溶性羊膜 HSAP はヒト凍結肝細胞の培養において従来のコラーゲンに勝る細胞 Scaffold になりうる可能性が示唆された。

- 4) 磁界強度調節型 CAS 凍結機の磁界強度を変えてラットおよびヒト初代肝細胞を凍結したところ、ヒト肝細胞において、磁界強度の影響と考えられる特異点があった。磁場強度が凍結過程に明らかに何らかの影響を与えていることが示唆された。
- 5) 創薬研究のためのヒト由来試料調達に関する研究

心停止ドナーからの研究用肝組織提供は、法律、指針上は運用可能なシステムであるが、一般社会の理解、適切な説明と同意（インフォームド・コンセント）、採取側の協力体制、などの整備が必要である。

F. 研究発表

1. 論文発表

- Miyamoto, Ikeya, Enosawa. Pre-conditioned cell array optimized for a three-dimensional culture of hepatocytes. *Cell Transplant* 18; 677-681, 2009
- Miyamoto Y, Enosawa S, Takeuchi T, Takezawa T. Cryopreservation in situ of cell monolayers on collagen vitrigel membrane culture substrata: Ready-to-use preparation of primary hepatocytes and ES cells. *Cell Transplant* 18; 619-626, 2009
- 絵野沢 伸. 医薬品原材料としての生物由来物質の現状. *Organ Biology* 16 (2); 217-223, 2009
- 絵野沢 伸. ヒト肝組織からの肝細胞分離. *Organ Biology* 16 (3); 361-370, 2009
- Kosaka N, Sakamoto H, Terada M, Ochiya T. Pleiotropic function of FGF-4: Its role in development and stem cells. *Dev Dyn* 238:265-276, 2009
- Banas A, Teratani T, Yamamoto Y, Tokuhara M, Takeshita F, Osaki M, Kato T, Okochi H, Ochiya T. Rapid hepatic fate specification of adipose-derived stem cells and their therapeutic potential for liver failure. *J Gastroenterol Hepatol* 24: 70-77, 2009
- Ishikawa T, Banas A, Hagiwara K, Iwaguro H, Ochiya T. Stem Cells for Hepatic Regeneration: the Role of Adipose Tissue derived Mesenchymal Stem Cells. *Curr Stem Cell Res Ther* in press.
- Ochiya T., Yamamoto Y., Banas A. Commitment of stem cells into functional hepatocytes. *Differentiation* in press
- Song X, Guo Y, Duo S, Che J, Wu C, Ochiya T, Ding M, Deng H. A Mouse Model of Inducible Liver Injury Caused by Tet-on Regulated Urokinase for Studies of Hepatocyte Transplantation. *Am J Pathol* 75: 1975-1983, 2009
- 山田泰弘. 創薬における探索薬物動態試験の役割と実践. 田辺三菱製薬研究年報. 2; 1-32, 2009 ISBN 978-4-901118-12-5
- 山田泰弘. 創薬段階におけるハイスループット分析技術. 日薬理誌, 3月号 印刷中
- Araki N, Tsuruoka S, Wang N, Hasegawa G, Yanagihara H, Ando H, Omasa T, Enosawa S, Nagai H, Fujimura A. Human CYP3A4-introduced HepG2 cells: in vitro screening system of new chemicals for the evaluation of CYP3A4-inhibiting activity. *Xenobiotica* 38 (11): 1355-1364, 2008
- Tokiwa T, Yamazaki T, Ono M, Enosawa S, Tsukiyama T. Cloning and characterization of liver progenitor cells from the scattered cell clusters in primary culture of porcine livers *Cell Transplant* 17; 179-186, 2008
- 遠藤光史, 土田明彦, 小澤 隆, 粕谷和彦, 齊藤 準, 高橋総司, 林田康治, 絵野沢 伸, 青木達哉. 手術摘出肝組織の公共的組織バンクへの提供システムの構築. 日本外科系連合会雑誌 33; 574-578, 2008
- 絵野沢 伸. 細胞培養に見る医工連携 —チャールズ・リンドバーグから Cell Able まで—. *ファインケミカル* 37 (12); 42-51, 2008
- Yoda S, Satomi T, Ueno K, Otsuka H. Construction and functional estimation of NHDF spheroid array for the three dimensional skin equivalent. *Fragrance Journal*, Vol.36, No.9, pp. 65-69, 2008.
- Otsuka H. Metal and Semiconductor Nanoparticle Dispersion. *J Jpn Soc Colour Mater*, 81 (6), 219-225, 2008
- Yamamoto M, Satomi T, Ueno K, Otsuka H. Spheroid array incorporated in hydrogel as a tissue-engineered construct. *Trans Mater Res Soc Jpn*, 33 (3), 725-728, 2008
- Yamazaki Y, Ueno K, Otsuka H. Characterization of newly synthesized dendron-type sugars with self-assembling properties. *Trans Mater Res Soc Jpn*, 33 (3), 747-750, 2008
- Fukaishi M, Satomi T, Ueno K, Otsuka H. Physicochemical characterization of the pyridine-g-PEG copolymer at the interface. *Trans Mater Res Soc Jpn*, 33 (3), 721-724, 2008
- Sato R, Ueno K, Otsuka H. Physicochemical characterization of PEG hydrogel to estimate biocompatibility. *Trans Mater Res Soc Jpn*, 33 (3), 775-777, 2008
- Otsuka H, Satomi T. Integration of Surface Modification and Cell Culture for Cell-based Assays, in *Surface Design and Modification of Biomaterials.*, Chapter 6. 2008
- Banas A, Teratani T, Yamamoto Y, Tokuhara M, Takeshita F, Osaki M, Kato T, Okochi H, Ochiya T. Rapid hepatic fate specification of

- adipose-derived stem cells and their therapeutic potential for liver failure. *J Gastroenterol Hepatol* 24:70-77, 2008
24. Banas A, Teratani T, Yamamoto Y, Tokuhara M, Takeshita F, Osaki M, Kawamata M, Kato T, Okochi H, Ochiya T. IFATS Collection: In vivo therapeutic potential of human adipose tissue mesenchymal stem cells after transplantation into mice with liver injury. *STEM CELLS* 26:2705-2712, 2008
25. Yamamoto Y, Banas A, Murata S, Ishikawa M, Lim CR, Teratani T, Hatada I, Matsubara K, Kato T, Ochiya T. A comparative analysis of the transcriptome and signal pathways in hepatic differentiation of human adipose mesenchymal stem cells. *FEBS J* 275:1260-1273, 2008
26. Zhang H, Haga S, Fukai M, Oikawa Y, Inoue H, Ogawa W, Kano A, Maruyama A, Fu XY, Todo S, Enosawa S, Ozaki M. Identification of denovo STAT3 target gene in liver regeneration. *Hepatology Research* 38 (4):374-84, 2008. Epub 2007 Nov 16
27. Yamazaki T, Enosawa S, Tsukiyama T, Tokiwa T. Presence of side-population cells in an immortalized non-tumorigenic human liver epithelial cell line. *In Vitro Cell Developmental Biology* 44(1-2):6-9, 2008. Epub 2007 Dec 22.
28. Takezawa T, Takeuchi T, Nitani A, Takayama Y, Kino-oka M, Taya M, Enosawa S. Collagen vitrigel membrane useful for paracrine assays in vitro and drug delivery systems in vivo. *J Biotech* 131(1):76-83, 2007
29. 絵野沢 伸. 中国における移植不適合肝の研究利用とそこから見えるもの 上海市の Research Institute for Liver Disease を訪問して. 特集; 中国における臓器移植の現状. *日中医学* 22(1):3-6, 2007
30. 絵野沢 伸. 市民アンケートに見る再生医療への期待と不安. *Organ Biology* 14(2):109-117, 2007
31. 絵野沢 伸. 米国の移植臓器調達のシステム形態と経済的基盤. *Organ Biology* 14(2):163-171, 2007
32. 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*, Volume 7, Number 7, pp. 2394-2399(6), 2007.
33. 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*, Vol. 23, No. 5: February 27, 2007, pp 2269-2272.
34. Satomi T, Nagasaki Y, Kobayashi H, Otsuka H, Kataoka K. Density control of Poly(ethyleneglycol) layer to regulate cellular attachment, *Langmuir*, Vol. 23, No. 12: June 5, 2007, 6698-6703.
35. Uchida K, Hoshino Y, Tamura A, Yoshimoto K, Kojima S, Yamashita K, Yamanaka I, Otsuka H, Kataoka K, Nagasaki Y. Creation of a mixed poly(ethylene glycol) tethered chain surface for preventing the non-specific adsorption of proteins and peptides. *Biointerphases*, 2(4), 126-130, 2007.
36. 大塚英典, 里見智美, 山本雅, 中曾根佑一. 高分子表面のパターニング技術とスフェロイドアレイ. *機能材料*. Vol.27, No.11, 61-70, 2007.
37. 大塚英典, 里見智美, 多田陽子, 山本雅, 中曾根佑一. スフェロイドアレイを用いたバイオエンジニアリング. *HAB NewsLetter*, vol.14, No.1, pp.31-36, 2007.
38. 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).
39. 大塚英典, 片岡一則. ミセル, コロイド, ナノファイバー. *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*, 共立出版, 2007年3月30日, chapter2: 高次構造, pp.36-64.
40. 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*, 354:841-845, 2007
41. Morita S, Horii T, Kimura M, Goto Y, Ochiya T, Hatada I. One Argonaute family member, Eif2c2 (Ago2), is essential for development and appears not to be involved in DNA methylation. *Genomics*, 89:687-696, 2007
42. Banas A, Teratani T, Yamamoto Y, Tokuhara M, Takeshita F, Quinn G, Okochi H, Ochiya T. Adipose tissue-derived mesenchymal stem cells as a source of human hepatocytes. *Hepatology*, 46:219-228, 2007
43. Banas A, Yamamoto Y, Teratani T, Ochiya T. Stem cell plasticity: learning from hepatogenic differentiation strategies. *Dev Dyn*, 236:3228-3241, 2007.
44. Yamamoto Y, Banas, A, Kato T, Ochiya T. Plasticity of adult stem cells into liver. *Curr. Res. in Hepatol* 1:1-18, 2007.
45. Takeuchi T, Ochiya T, Takezawa T. Tissue array substratum composed of histological sections: a new platform for orienting

differentiation of embryonic stem cells towards hepatic lineage. *Tissue Eng.* 14(2): 267-274, 2008.

46. Yamamoto Y, Banas A, Murata S, Ishikawa M, Lim CR, Teratani T, Hatada I, Matsubara K, Kato T, Ochiya T. A comparative analysis of the transcriptome and signal pathways in hepatic differentiation of human adipose mesenchymal stem cells. *FEBS J.* 275(6):1260-1273, 2008.
47. Takezawa T, Takeuchi T, Yanagihara K, Nakazawa Y, Nitani A, Terada S, Ochiya T, Ueno K. [Advantages of culture models utilizing substrata made of TOSHI (tissue/organ sections for histopathology) or collagen vitrigel membrane and their application concept for drug development researches] (和文) *Yakugaku Zasshi.* 128(1):51-60, 2008.
48. 雨宮 浩, 鈴木 聡. 人体試料の研究供与 わが国の活動. *医学のあゆみ* 222-2, p99-102, 2007
49. Ehama R, Ishimatsu-Tsuiji Y, Iriyama S, Ideta R, Soma T, Yano K, Kawasaki C, Suzuki S, Shirakata Y, Hashimoto K, Kishimoto J. Hair follicle regeneration using grafted rodent and human cells. *J Invest Dermatol* 127 (9): p2106-2115, 2007

<著書>

1. 絵野沢 伸. 心停止後の移植用臓器提供時における研究用組織提供にかかる諸問題. pp. 127-137, in *バイオバンク構想的・倫理的検討- その実践と人間の尊厳-* 町野 朔, 雨宮 浩 共編 上智大学出版 ISBN978-4-324-08866-1 2009年
2. 山田泰弘. 第一部 探索薬物動態試験, pp. 5-143, 152, 160, 164, 165-167, <探索・非臨床・臨床別>薬物動態試験実践資料集 (株)情報機構 2009年
3. 大政健史, 絵野沢 伸. 代謝デバイスの構築と応用 バイオ人工肝からマイクロリアクター、そしてナノテクの世界へ. 動物実験代替のためのバイオマテリアル・デバイス. pp. 295-301 酒井康行、民谷栄一監修 シーエムシー出版 2007年8月 ISBN978-4-88231-950-4
4. 大塚英典, 片岡一則. 高分子表面の微細加工技術とスフェロイドアレイ. 動物実験代替のためのバイオマテリアル・デバイス, シーエムシー出版, 2007年8月17日, 第3章, pp. 74-83.

<その他>

1. 町野 朔, 鈴木 聡 (編集協力). バイオの法律と倫理指針. 第1回-第3回. *バイオテクノロジージャーナル* 7(4); 446-449, 7(5); 609-612, 7(5); 748-752, 2007
2. 町野 朔, 鈴木 聡 (編集協力). バイオの法律と倫理指針. 第4回. *実験医学* 26(1); 91-94,

2007

2. 学会発表

1. Enosawa, Miyamoto, Kubota, Jyomura, Ikeya. Construction of artificial hepatic lobules-like spheroids on three dimensional culture device, CELL ABLE. Symposium 'Hepatocytes', 10th International Society of Cell Transplantation, Okayama, 4/20-21, 2009
2. Miyamoto, Ikeya, Suzuki, Enosawa. Biological evaluation of multicellular spheroids on microfabricated cell array, CELL ABLE, using cryopreserved/thawed human hepatocytes with low adhesion capability. 10th International Society of Cell Transplantation, Okayama, 4/20-21, 2009
3. 池谷武志, 城村友子, 高橋由里子, 久保田久代, 宮本義孝, 絵野沢 伸. マルチウェル細胞アレイプレート、Cell-able を用いて作成した肝細胞機能小体の特性. 第16回HAB研究機構学術年会 平成21年5月22、23日 東京
4. 絵野沢 伸. ヒト凍結肝細胞接着基質としてのヒト可溶化羊膜 (HSAP). 第2回羊膜再生医療研究会. 平成21年5月23日 北里大学 (神奈川県相模原市)
5. 絵野沢 伸. コラーゲンビトリゲルの幅広い可能性: 創薬前臨床研究から医療材料としての応用まで. 公開シンポジウム 3次元培養担体として利用が進むコラーゲンビトリゲル研究の現状と展望. (独)農業生物資源研究所 主催 平成21年11月20日、コンファレンススクエア エムプラス、東京 (講演要旨集 pp. 24-26, ISBN 978-4-931511-20-0)
6. Enosawa, Kato, Takatsu, Suzuki, Yamada. Successful application of pooled human hepatocytes on 96-well cell array 3D-culture plate for drug-metabolizing enzyme studies in drug discovery. 第24回日本薬物動態学会. 平成21年11月26-29日, 京都
7. 絵野沢 伸. ヒト肝細胞 創薬研究ツールから細胞医薬品へ. 第9回ヒューマンサイエンス研究資源バンクセミナー 平成22年1月27日 大阪、千里ライフサイエンスセンター
8. Enosawa S. Introduction to the development and validation study of the new technology "Cell-able" for new drug discovery. Exhibitor hosted session, 49th Annual Meeting and ToxExpo, Society of Toxicology, 8th Mon - 11th Thur, March, 2010, Salt Lake City, Uta, USA
9. 落谷孝広. 間葉系幹細胞肝細胞による再生医療. 第10回 日本肝臓医生物研究会. 平成21年4月18-19日, 金沢
10. 落谷孝広. 幹細胞由来肝細胞の定義づけに関する勉強会. The Okayama 2009 Joint Conference of

CTS & JSOPMB 会議. 平成 21 年 4 月 20-21 日, 岡山

11. 落谷孝広. ヒト間葉系幹細胞を用いた薬物の安全性・毒性試験. 日本薬物動態学会 第 2 回ビジョンシンポジウム. 平成 21 年 6 月 5-6 日, 東京

12. 絵野沢 伸, 宮本義孝, 久保田久代, 佐倉武司, 池谷武志. パターン基板とフィーダー細胞による肝細胞機能小体の培養. 日本組織培養学会第 81 回大会. 平成 20 年 5 月 19-20 日, 茨城県つくば市

13. 宮本義孝, 池谷武志, 絵野沢 伸. 三次元培養ツール, 細胞アレイの凍結保存. 第 44 回日本移植学会総会 平成 20 年 9 月 19, 20 日 大阪国際会議場

14. 宮本義孝, 鈴木 聡, 寺本直純, 佐々木真宏, 林 衆治, 絵野沢 伸. 絹タンパク質セリシンを用いたヒト肝細胞の凍結保存. 第 44 回日本移植学会総会 平成 20 年 9 月 19, 20 日 大阪国際会議場

15. 宮本義孝, 鈴木聡, 寺本直純, 佐々木真宏, 林 衆治, 絵野沢伸. 肝細胞凍結保存における保護剤の有用性. 第 35 回日本臓器保存生物医学学会 平成 20 年 11 月 22-23 日 東京

16. Miyamoto Y, Suzuki S, Takezawa T, Ikeya T, Hayashi S, Enosawa S. Improvement of Cryopreservation of Human and Rat Hepatocytes using Oligosaccharides and 3D Culture Matrix. Workshop6 Technology of cryobiology for liver regeneration, The 35th Annual Meeting of the Japan Society for Low Temperature Medicine, 22nd-23rd Nov, 2008, Tokyo (第 35 回日本低温医学会 平成 20 年 11 月 22-23 日 東京)

17. 剣持麻衣子, 山崎直幸, 上野耕治, 大塚英典. 両親媒性デンドロン型糖鎖の乳化機能. 第 57 回高分子学会年次大会 2008 年 5 月 28 日-30 日, パシフィコ横浜 展示ホールDアネックスホール

18. 吉田真理, 佐藤涼平, 上野耕治, 大塚英典. 高分子末端に存在する糖鎖のタンパク質相互作用力の評価. 第 57 回高分子学会年次大会 2008 年 5 月 28 日-30 日, パシフィコ横浜 展示ホールDアネックスホール

19. 北村育美, 山崎直幸, 大塚英典. 酸化ナノ粒子の糖鎖修飾剤の合成とタンパク質認識凝集. 第 57 回高分子学会年次大会 2008 年 5 月 28 日-30 日, パシフィコ横浜 展示ホールDアネックスホール

20. 山本 雅, 里見智美, 上野耕治, 立石哲也, 大塚英典. 組織再生へ向けたスフェロイド含有ハイドロゲルの機能化. 第 57 回高分子学会年次大会, 2008 年 5 月 28 日-30 日, パシフィコ横浜 展示ホールDアネックスホール

21. 山崎直幸・上野耕治・大塚英典. 表層にデンドロン型糖鎖を有する乳化粒子の合成と機能評価. 第 57 回高分子学会年次大会, 2008 年 5 月 28 日-30 日(金), パシフィコ横浜 展示ホールDアネックスホール

22. 依田理美, 里見智美, 上野耕治, 矢作彰一, 岡

野由利, 正木 仁, 大塚英典. 三次元培養皮膚の創製を目指した真皮線維芽細胞スフェロイドの作製と機能評価. 第 21 回日本動物実験代替法学会, 2008 年 11 月 13・14 日, 埼玉会館 (埼玉)

23. 大塚英典. 医療の革新を目指したバイオ界面科学. 2008 年 10 月 28 日, 第 3 回 総合研究機構フォーラム 2008

24. 佐藤涼平, 上野耕治, 大塚英典. バイオチップへの応用を目指した PEG ハイドロゲルの物理化学的評価. バイオ・マイクロシステム研究会- バイオチップのスマート化技術- 2009 年 2 月 27 日 東京大学内会議室

25. 明石京子, 上野耕治, 大塚英典. パターン化スフェロイドの接着制御を目指した温度応答性培養基板の創製. バイオ・マイクロシステム研究会- バイオチップのスマート化技術- 2009 年 2 月 27 日 東京大学内会議室

26. Ochiya T. RNAi-based therapeutics against cancer. RNAi World Congress 2008, Boston, USA

16) Ochiya T, Honma K, Takeshita F, Nagahara S. Optical imaging of RNAi-mediated silencing of cancer. Progress in Biomedical Optics and Imaging _ SPIE 2008, San Jose, CA, USA

27. Ochiya T. Therapeutic potential of adipose tissue derived mesenchymal stem cells in liver disease. FASEB Summer Research Conference, Colorado, USA

28. Yamamoto Y, Ochiya T. Global expression profiling of miRNA in liver development. FASEB Summer Research Conference, Colorado, USA

29. Ochiya T. Therapeutic potential of adipose derived stem cells on liver failure. The 2nd International Symposium on Regenerative Medicine and Stem Cell Research. 2008, Seoul, Korea

30. Ochiya T. Therapeutic potential of microRNA against cancer. The Right RNAi Meeting in 2008, Brussels, Belgium

31. 幹細胞の持つ肝細胞分化能と肝疾患治療効果. 落谷孝広, 第 15 回肝細胞研究会総会 (2008. 6. 27-28 静岡)

32. 川又理樹, 落谷孝広. Transgenic Rat for Establishment of Embryonic Stem Cells. 第 67 回日本癌学会学術総会 (2008. 10. 28-30 名古屋)

33. 落谷孝広. Organ Biology における再生医学の役割-ヒト間葉系幹細胞による肝再生医療の実現に向けて- (シンポジウム) 第 35 回日本臓器保存生物医学学会定期学術集会 (2008. 11. 22-23 東京)

34. 川又理樹, 清水 卓, 玉井淑貴, 落谷孝広. 未分化ラット ES 細胞の樹立を目指した Oct4/Venus トランスジェニックラットの作成. 第 31 回日本分子生物学会 (2008. 12. 9-12 神戸)

35. 落谷孝広. 脂肪に由来する間葉系幹細胞の創薬・治療研究への応用. 第 8 回ヒューマンサイエ

- ンス研究資源バンクセミナー (2009. 1. 27 大阪)
36. Enosawa S, Miyamoto Y, Hirano A, Suzuki S, Kato N, Yamada Y. Application of cell array 3D-culture system for cryopreserved human hepatocytes with low-attaching capability. 8th International Society for the Study of Xenobiotics (ISSX), Sendai, Japan 10/9-12, 2007
37. Banas A, Yamamoto Y, Kato N, Yamada Y, Suzuki S, Enosawa S, Ochiya T. CY5s metabolizing activities in hepatocytes generated from human adipose tissue-derived cells. 8th International Society for the Study of Xenobiotics (ISSX), Sendai, Japan 10/9-12, 2007
38. Ohshita H, Kobayashi E, Enosawa S, Horie T, Yoshizato K. Non-restraint biliary excretion model as a novel tool for predicting human biliary excretion in PXB-mice --chimeric mice with humanized liver. 8th International Society for the Study of Xenobiotics (ISSX), Sendai, Japan 10/9-12, 2007
39. 絵野沢 伸、宮本義孝、布施英一、浅野目一機、佐倉武司、池谷武志、鈴木 聡. パターン基板と血管内皮細胞共培養の組み合わせによるヒト肝細胞スフェロイド培養系の小スケール化の試み. 第14回HAB研究機構学術年会 平成19年5月18、19日 東京
40. 佐倉武司、城村友子、絵野沢 伸、片岡一則、長崎幸夫. 創薬スクリーニングを目指した細胞アレイの開発. ポスター2) 肝細胞と薬物. 第14回肝細胞研究会 平成19年6月22、23日 鹿児島
41. 絵野沢 伸. 研究対象者保護法07試案を読んで(問題提起). 生命倫理政策研究会・第87回くすり勉強会 共催シンポジウム 2007年7月7日東京 <http://homepage3.nifty.com/kinmokusei04/070707sympo-material/nol4.pdf>
42. 宮本義孝、池谷武志、絵野沢 伸. 新しい三次元培養ツール、細胞アレイのフィーダー播種基板凍結保存. 第34回日本臓器保存生物医学学会学術集会. 平成19年11月16-17日 札幌 (会長賞受賞演題)
43. 絵野沢 伸. 医薬品原材料としての生物由来物質の現状. シンポジウムI. 生体材料の医薬品開発. 第34回日本臓器保存生物医学学会学術集会. 平成19年11月16-17日 札幌
44. 絵野沢 伸. 患者、患者家族のリスクマネジメント. 医療の質・安全学会第2回学術集会. 平成19年11月23-25日 東京
45. 絵野沢 伸. バイオインフォマティクスと再生医療. 近畿大学生物理工学部 大学院インターフェース分野特別講義 平成20年1月17日 和歌山県紀ノ川市
46. 竹澤俊明、竹内朋代、絵野沢 伸. 生体外の組織再構築および生体内の移植に有用なコラーゲンビトリゲル担体. 第7回日本再生医療学会総会 2008年3月13、14日 名古屋国際会議場
47. 大塚英典. 高分子を中心とした表面・界面安定化技術. 顔料物性研究会総会・研究会, 東京, 平成19年3月8日(木), 学士会館
48. 山崎直幸、上野耕治、里見智美、大塚英典. クリックケミストリーを用いた新規ハイパーブランチ型糖鎖の合成と物性評価 日本化学会第87春季年会 (2007) 平成19年3月25日~3月28日, 関西大学千里山キャンパス
49. 山本雅、上野耕治、里見智美、大塚英典. スフェロイドアレイを内包したハイドロゲルの作成と機能評価. 日本化学会第87春季年会 (2007) 平成19年3月25日~3月28日, 関西大学千里山キャンパス
50. 島田和明、里見智美、上野耕治、大塚英典. 骨芽細胞の自己組織化、粒径制御と分化機能誘導. 第56回高分子学会年次大会, 2007年5月29日~31日, 国立京都国際会館
51. 山本 雅、上野耕治、里見智美、大塚英典. スフェロイドアレイを内包した ハイドロゲルの作成と機能評価, 第56回高分子学会年次大会, 2007年5月29日~31日, 国立京都国際会館
52. 深石真行、藤田洋平、里見智美、上野耕治、大塚英典. 高分子を用いた界面制御とその特性評価. 色材協会創立80周年記念会議, 東京理科大学九段校舎, 平成19年9月12日(水), 13日(木), 14日(金)
53. 大塚英典、山本雅、島田和明、佐藤涼平、佐藤慈之、里見智美、立石哲也. スフェロイドアレイを内包したハイドロゲルの作成と機能評価, 第56回高分子討論会, 2007年9月19日(水) ~ 21日(金), 名古屋工業大学
54. 大塚英典、宮越美妃、深石真行、里見智美、藤田洋平. ポリマーインターフェイスでの生体分子認識特性の解明, 第56回高分子討論会, 2007年9月19日(水) ~ 21日(金), 名古屋工業大学
55. 里見智美、鄭雄一、位高啓史、大塚英典. 微細加工高分子表面を用いた初代およびES細胞スフェロイドのパターン培養. 第29回日本バイオマテリアル学会大会, 2007年11月26日(月), 27日(火) 千里ライフサイエンスセンター
56. 山本 雅、里見智美、上野耕治、大塚英典. スフェロイドアレイを内包したハイドロゲルの作製と機能評価, 第29回日本バイオマテリアル学会大会, 2007年11月26日(月), 27日(火) 千里ライフサイエンスセンター
57. Ochiya T, Hokaiwado N, Takeshita F, Nagahara S. Optical imaging of RNAi Therapy. SPIE Photonics West 2008 Biomedical Optics Meeting. (Jan. 21-22, 2008 San Jose, CA, USA.) invited
58. Yamamoto Y, Kosaka N, Kato T, Ochiya T. MicroRNA expression profile to define mouse liver development. 2007 Keystone symposia-MicroRNA and Cancer. (Jun. 10, 2007