

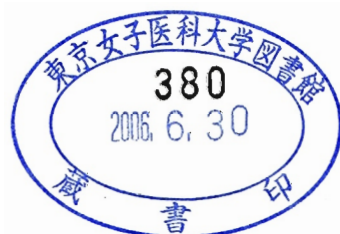
上皮幹細胞の増幅と機能維持のための
生理活性分子固定化温度応答性培養皿の開発

(課題番号 16300161)

平成16年度～平成17年度 科学研究費補助金

(基盤研究(B)(2))

研究成果報告書



平成18年3月

研究代表者 大和 雅之

(東京女子医科大学 医学部 助教授)



はしがき

本研究成果報告書は、平成 16 年度および平成 17 年度日本学術振興会科学研究費補助金（基盤研究(B) (2))（課題番号 16300161）により行った「上皮幹細胞の増幅と機能維持のための生理活性分子固定化温度応答性培養皿の開発」に関する研究成果をまとめたものである。

研究組織

- 研究代表者：大和 雅之（東京女子医科大学医学部 助教授）
- 研究分担者：菊池 明彦（東京女子医科大学医学部 助教授）
- 秋山 義勝（東京女子医科大学医学部 助手）
- 西田 幸二（大阪大学医学部助教授 助教授）

交付決定額

（金額単位：千円）

	直接経費	間接経費	合計
平成 1 6 年度	9,300	0	9,300
平成 1 7 年度	5,800	0	5,800
総 計	15,100	0	15,100

研究発表

(1) 学会誌等

1. K. Nishida, M. Yamato, Y. Hayashida, K. Watanabe, N. Maeda, H. Watanabe, K. Yamamoto, S. Nagai, A. Kikuchi, Y. Tano and T. Okano, "Functional bioengineered corneal epithelial sheet grafts from corneal stem cells expanded ex vivo on a temperature-responsive cell culture surface", *Transplantation*, **77** (3), 379-385 (2004).
2. K. Itoga, M. Yamato, J. Kobayashi, A. Kikuchi and T. Okano, "Cell micropatterning using photopolymerization with a liquid crystal device commercial projector", *Biomaterials*, **25**, 2047-2053 (2004).
3. M. Ebara, M. Yamato, T. Aoyagi, A. Kikuchi, K. Sakai and T. Okano, "Temperature-responsive cell culture surfaces enable "on-off" affinity control between cell integrins and RGDS ligands", *Biomacromolecules*, **5** (2), 505-510 (2004).
4. K. Watanabe, K. Nishida, M. Yamato, T. Umemoto, T. Sumide, K. Yamamoto, N. Maeda, H. Watanabe, T. Okano and Y. Tano, "Human limbal epithelium contains side population cells expressing the ATP-binding cassette transporter ABCG2", *FEBS Lett.*, **565** (2004), 6-10 (2004).
5. K. Itoga, M. Yamato, J. Kobayashi, A. Kikuchi and T. Okano, "Micropatterned surfaces prepared using a liquid crystal projector-modified photopolymerization device and microfluidics", *J. Biomed. Mater. Res.*, **69A** (3), 391-397 (2004).
6. M. Ebara, M. Yamato, T. Aoyagi, A. Kikuchi, K. Sakai and T. Okano, "Immobilization of cell-adhesive peptides to temperature-responsive surfaces facilitates both serum-free cell adhesion and noninvasive cell harvest", *Tissue Eng.*, **10** (7/8), 1125-1135 (2004).
7. K. Nishida, M. Yamato, Y. Hayashida, K. Watanabe, K. Yamamoto, E. Adachi, S. Nagai, A. Kikuchi, N. Maeda, H. Watanabe, T. Okano and Y. Tano, "Corneal reconstruction with tissue-engineered cell sheets composed of autologous oral mucosal epithelium", *N. Engl. J. Med.*, **351** (12), 1187-1196 (2004).
8. M. Ebara, M. Yamato, S. Nagai, T. Aoyagi, A. Kikuchi, K. Sakai and T. Okano, "Incorporation of new

carboxylate functionalized co-monomers to temperature-responsive polymer-grafted cell culture surfaces”, *Surface Science*, **570** (1-2), 134-141 (2004).

9. J. Kobayashi, M. Yamato, K. Itoga, A. Kikuchi and T. Okano, “Preparation of microfluidic devices using micropatterning of a photosensitive material by a maskless, liquid-crystal-display projection method”, *Adv. Mater.*, **16** (22), 1997-2001 (2004).
10. A. Kushida, M. Yamato, Y. Isoi, A. Kikuchi and T. Okano, “A noninvasive transfer system for polarized renal tubule epithelial cell sheets using temperature-responsive culture dishes”, *Eur. Cell. Mater.*, **10** (2005), 23-30 (2005).
11. T. Umemoto, M. Yamato, K. Nishida, J. Yang, Y. Tano and T. Okano, “p57^{Kip2} is expressed in quiescent mouse bone marrow side population cells”, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **337** (1), 14-21 (2005).
12. T. Umemoto, M. Yamato, K. Nishida, C. Kohno, J. Yang, Y. Tano and T. Okano, “Rat limbal epithelial side population cells exhibit a distinct expression of stem cell markers that are lacking in side population cells from the central cornea”, *FEBS Lett.*, **579** (29), 6569-6574 (2005).
13. T. Asano, R. Takazawa, M. Yamato, Y. Kageyama, K. Kihara and T. Okano, “Novel and simple method for isolating autologous mesothelial cells from the tunica vaginalis”, *BJU Int.*, **96** (9), 1409-1413 (2005).
14. T. Ide, K. Nishida, M. Yamato, T. Sumide, M. Utsumi, T. Nozaki, A. Kikuchi, T. Okano and Y. Tano, “Structural characterization of bioengineered human corneal endothelial cell sheets fabricated on temperature-responsive culture dishes”, *Biomaterials*, **27**, 607-614 (2005).
15. 大和雅之, 岡野光夫, “再生医学研究の現状と将来展望：消化器組織構築のバイオマテリアル”, *Frontiers in Gastroenterology*, **9** (1), 62-68 (2004).
16. 大和雅之, “次世代再生医工学のテクノロジー (特集・次世代科学技術の飛躍)”, *ケミカルエンジニアリング*, **49** (1), 24-29 (2004).
17. M. Yamato and T. Okano, “Cell sheet engineering”, *Materials Today*, **7** (5), 42-47 (2004).
18. 大和雅之, “癌治療における細胞シート工学・再生医療の展開”, *Cancer Frontier*, **6**, 71-77 (2004).
19. 大和雅之, 岡野光夫, “細胞シート工学”, *Medical Science Digest*, **30** (12), 2-3 (2004).
20. 秋山義勝, 大和雅之, “ナノテクノロジーによる細胞アレイ技術”, *バイオマテリアル-生体材料*, **22** (6), 407-414 (2004).
21. 原口裕次, 清水達也, 大和雅之, 菊池明彦, 岡野光夫, “細胞シート工学を用いた組織再構築および再生医療への応用”, *再生歯誌*, **2** (2), 83-92 (2004).
22. 大和雅之, 岡野光夫, “10. 培養細胞を活用する次世代 DDS”, *ファインケミカルシリーズ ドラッグデリバリーシステムの新展開 -究極の薬物治療をめざして-*, 永井恒司 監修, シーエムシー出版, 362-371 (2004).
23. 大和雅之, “細胞シート工学”, 最近の化学工学 56 先端医療における化学工学, 化学工学会編, 67-78 (2004).

(2) 口頭発表

1. 第3回日本再生医療学会総会 2004. 3. 23-25 幕張, 千葉
 - ・ 梅本晃正, 大和雅之, 西田幸二, 渡辺克彦, 河野千夏, 田野保雄, 岡野光夫, “角膜輪部上皮 SP 細胞における幹細胞・前駆細胞マーカーの発現解析”, *再生医療*, **3** (Suppl.), 137(2004).
2. 7th World Biomaterials Congress 2004. 5. 17-21 Sydney, Australia
 - ・ M. Ebara, M. Yamato, T. Aoyagi, A. Kikuchi, K. Sakai and T. Okano, “Low temperature- triggered cell release from temperature-responsive culture surfaces as a sensitive index for cell adhesion strength revealed by fibronectin synergy sequence co-immobilization”, Transaction [CD-ROM], 780 (2004).
3. 9回 化学とマイクロ・ナノシステム研究会 2004. 5. 21-23 京都
 - ・ 小林 純, 大和雅之, 糸賀和義, 菊池明彦, 岡野光夫, “改造液晶プロジェクトを利用したマイクロ流体デバイスの作製と細胞マイクロパターンニングへの応用”, 講演要旨集, 44 (2004).
4. Regenerate Tissue Engineering The Human Body 2004. 6. 9-12 Seattle, USA
 - ・ T. Umemoto, M. Yamato, K. Nishida, K. Watanabe, Y. Tano and T. Okano, “Limbal epithelial side population cells have stem cell- like phenotypes”, Program, 8 (2004).
5. 第7回日本組織工学会 2004. 7. 1-2 東京
 - ・ 角出泰造, 西田幸二, 大和雅之, 井手 武, 前田直之, 渡辺 仁, 菊池明彦, 岡野光夫, 田野保雄, “ヒト培養角膜内皮細胞シートにおける Na/K ATPase pump site の検討”, プログラム・抄録集, 87 (2004).
 - ・ 野崎貴之, 大和雅之, 西田幸二, 串田 愛, 長井 慈, 田野保雄, 岡野光夫, “温度応答性培養皿上で作製した培養角膜上皮細胞シートの凍結保存方法の検討”, プログラム・抄録集, 88 (2004).
 - ・ 梅本晃正, 大和雅之, 西田幸二, 河野千夏, 渡辺克彦, 田野保雄, 岡野光夫, “角膜輪部上皮 SP 細胞における幹細胞・前駆細胞マーカーの発現解析”, プログラム・抄録集, 89 (2004).
6. 第25回日本炎症・再生医学会 -炎症の人為的制御- 2004. 7. 13-14 東京
 - ・ 野崎貴之, 大和雅之, 西田幸二, 串田 愛, 長井 慈, 田野保雄, 岡野光夫, “温度応答性培養皿上で作製した培養角膜上皮細胞シートの凍結保存方法の検討”, *炎症・再生*, **24** (4), 453 (2004).
 - ・ 梅本晃正, 大和雅之, 西田幸二, 河野千夏, 田野保雄, 岡野光夫, “角膜輪部上皮 SP 細胞における幹細胞/前駆細胞マーカーの発現解析”, *炎症・再生*, **24** (4), 500 (2004).
7. 第77回日本生化学会大会 2004. 10. 13-16 横浜, 神奈川
 - ・ 梅本晃正, 大和雅之, 西田幸二, 河野千夏, 渡辺克彦, 田野保雄, 岡野光夫, “角膜輪部上皮 SP 細胞の幹細胞マーカーの発現解析”, *生化学*, **76** (8), 150 (2004).
8. 日本バイオマテリアル学会 シンポジウム2004 2004. 11. 15-16 つくば, 茨城
 - ・ 西田幸二, 大和雅之, 林田康隆, 菊池明彦, 岡野光夫, 田野保雄, “細胞シート工学による角膜再生”, 予稿集, 85 (2004).
9. 第14回バイオ・高分子シンポジウム 2004. 7. 26-27 東京
 - ・ 小林 純, 大和雅之, 糸賀和義, 菊池明彦, 岡野光夫, “マスクレス光重合装置による PDMS 製マイクロ流体チップのラピッドプロトタイピング”, 講演要旨集, 57-58 (2004).
10. 第53回高分子討論会 2004. 9. 15-17 北海道
 - ・ 小林 純, 大和雅之, 糸賀和義, 菊池明彦, 岡野光夫, “改造液晶プロジェクトによる光造形法

を利用したマイクロ流路の作製”，*高分子学会予稿集*, 53 (2), 4356-4357 (2004).

11. Micro Total Analysis Systems 2004 (μ TAS 2004) 2004. 9. 26-30 Malmö, Sweden
 - ・ J. Kobayashi, M. Yamato, K. Itoga, A. Kikuchi and T. Okano, “Rapid prototyping of PDMS microchannels using a liquid crystal projector-modified maskless photopolymerization device”, *Proceedings of μ TAS 2004*, 1, 545-547 (2004).
12. 「ナノテクノロジー分野別バーチャルラボ」 ナノメディシン -ナノテクノロジーが招く未来医療- 2004. 11. 10 東京
 - ・ 小林 純, 糸賀和義, 大和雅之, 菊池明彦, 岡野光夫, “改良液晶プロジェクタを利用した光造形法によるマイクロ流路のラピッドプロトタイピングと細胞マイクロパターニングへの応用” (2004).
13. 日本バイオマテリアル学会 シンポジウム 2004 2004. 11. 15-16 つくば, 茨城
 - ・ 小林 純, 大和雅之, 糸賀和義, 菊池明彦, 岡野光夫, “改造液晶プロジェクタを利用したマイクロ流路の作製と細胞マイクロパターニング”, *予稿集*, 59 (2004).
14. 第 10 回化学とマイクロ・ナノシステム研究会 2004. 11. 25-26 高松, 香川
 - ・ 糸賀和義, 小林 純, 大和雅之, 菊池明彦, 岡野光夫, “縮小投写型液晶プロジェクタによる細胞のマイクロパターニング” (2004).
15. 第 4 回日本再生医療学会総会 2005. 3. 1-2 大阪
 - ・ 林田康隆, 西田幸二, 大和雅之, 杉山洋章, 菊池明彦, 岡野光夫, 田野保雄, “エキシマレーザ角膜切除術と培養細胞シート移植術の併用による新しい角膜再生治療法の開発”, *再生医療*, 4 (Suppl.), 97 (2005).
 - ・ 西田幸二, 大和雅之, 林田康隆, 渡辺克彦, 前田直之, 菊池明彦, 岡野光夫, 田野保雄, “自己口腔粘膜上皮から組織工学的に作製した培養上皮細胞シート移植による角膜再生”, *再生医療*, 4 (Suppl.), 114 (2005).
 - ・ 浅野桐子, 大和雅之, 高沢亮治, 影山幸雄, 木原和徳, 岡野光夫, “培養中皮細胞シートを用いた癒着防止の試み”, *再生医療*, 4 (Suppl.), 200 (2005).
16. 第 14 回インテリジェント材料/システムシンポジウムアジアワークショップ 2005. 3. 9-10 東京
 - ・ 小林 純, 大和雅之, 糸賀和義, 菊池明彦, 岡野光夫, “改造液晶プロジェクタを利用した縮小投影法によるマスクレス微細加工”, *講演要旨集*, 52-53 (2005).
17. 第 11 回化学とマイクロ・ナノシステム研究会 2005. 5. 23-24 福岡
 - ・ 小林 純, 大和雅之, 糸賀和義, 菊池明彦, 岡野光夫, “改造液晶プロジェクタを利用したマスクレス微細加工とソフトリソグラフィー”, *講演要旨集*, 42 (2005).
18. 第 54 回高分子学会年次大会 2005. 5. 25-27 横浜
 - ・ 小林 純, 大和雅之, 菊池明彦, 岡野光夫, “縮小投影型液晶プロジェクタによるマスクレスマイクロパターニングとソフトリソグラフィーへの応用”, *高分子学会予稿集*, 54 (1), 2239 (2005).
19. The 6th International Conference on Intelligent Materials and Systems, Nanotechnology Frontier 2005. 7. 4-6 Tokyo
 - ・ J. Kobayashi, M. Yamato, K. Itoga, A. Kikuchi and T. Okano, “Rapid prototyping of micropatterns for biomedical applications by maskless, liquid-crystal-display projection method”, *Proceedings*, 221-222 (2005).

20. 第 26 回日本炎症・再生医学会 -炎症研究と再生研究の融合- 2005. 7. 12-13 東京
- ・ 梅本晃正, 大和雅之, 西田幸二, 田野保雄, 岡野光夫, “角膜輪部上皮 SP 細胞の幹細胞様の性質と増殖能”, *炎症・再生*, **25** (4), 307 (2005).
 - ・ 林田康隆, 西田幸二, 大和雅之, 杉山洋章, 菊池明彦, 岡野光夫, 田野保雄, “エキシマレーザー角膜切除術への培養細胞シート移植術の応用”, *炎症・再生*, **25** (4), 343 (2005).
 - ・ 井手 武, 西田幸二, 大和雅之, 角出泰造, 前田直之, 渡辺 仁, 菊池明彦, 岡野光夫, 田野保雄, “培養角膜内皮細胞の基質による性質の変化”, *炎症・再生*, **25** (4), 343 (2005).
 - ・ 高木 亮, 大和雅之, 西田幸二, 串田 愛, 田野保雄, 岡野光夫, “コロニー形成を指標とする細胞外マトリックス因子の角膜上皮前駆細胞への影響の検討”, *炎症・再生*, **25** (4), 345 (2005).
21. 第 34 回医用高分子シンポジウム 2005. 8. 1-2 東京
- ・ 小林 純, 大和雅之, 糸賀和義, 菊池明彦, 岡野光夫, “マスクレス微細加工法を利用したソフトリソグラフィ”, 講演要旨集, 63 (2005).
22. 第 8 回日本組織工学会 -学際融合と臨床応用技術の開発- 2005. 9. 1-2 東京
- ・ 津田行子, 菊池明彦, 小林 純, 大和雅之, 陳 国平, 岡野光夫, “縮小投影型液晶プロジェクタによる微細加工表面の作製と組織工学への応用”, 抄録集, 160 (2005).
23. 第 54 回高分子討論会 2005. 9. 20-22 山形
- ・ 津田行子, 菊池明彦, 小林 純, 大和雅之, 陳 国平, 岡野光夫, “親水性マイクロパターン化インターフェイスを利用した細胞パターンニングと組織再生への応用”, *高分子学会予稿集*, **54** (2), 5225-5226 (2005).
24. 第 78 回日本生化学会大会 2005. 10. 19-22 神戸
- ・ 梅本晃正, 大和雅之, 西田幸二, 岡野光夫, “CDK inhibitors regulate quiescent state of limbal epithelial side population cells”, *生化学*, **77** (8), 125 (2005).
25. The 8th Annual Meeting of Tissue Engineering Society International 2005. 10. 22-25 Shanghai, China
- ・ K. Itoga, J. Kobayashi, M. Yamato, A. Kikuchi and T. Okano, “Rapid prototyping of cell micropatterns by photolithographic, liquid-crystal-display projection method”, Final Program and Abstract Book, 413 (2005).
26. 第 14 回ポリマー材料フォーラム 2005. 11. 15-16 東京
- ・ 小林 純, 大和雅之, 糸賀和義, 菊池明彦, 岡野光夫 “液晶プロジェクタを利用した縮小投影法によるバイオチップの作製”, 講演予稿集, 203 (2005).
27. 第 27 回日本バイオマテリアル学会大会 2005. 11. 28-29 京都
- ・ 小林 純, 大和雅之, 菊池明彦, 岡野光夫, “液晶プロジェクタを利用した縮小投影法によるマイクロチップの作製”, 予稿集, 228 (2005).
28. 第 28 回日本分子生物学会 2005. 12. 7-10 福岡
- ・ 梅本晃正, 大和雅之, 西田幸二, 田野保雄, 岡野光夫, “CDK inhibitor による輪部上皮 SP 細胞の細胞周期の静止”, 日本分子生物学会, 733 (2005).

招待講演・依頼講演など

1. Workshop “Advances in Biotechnology and Bioengineering” 2004. 1. 12-13 Salt Lake City, USA
- ・ M. Yamato, “Surface micropatterning for cell array chips and oligo-cell biology”, Program (2004).

2. Fourth International Symposium on Biomimetic Materials Processing (BMMP-4) 2004. 1. 28-30 Nagoya, Aichi
 - ・ T. Okano and M. Yamato, "Nano-tissue engineering", Abstracts, 5 (2004).
3. 第3回日本再生医療学会総会 2004. 3. 23-25 千葉
 - ・ 大和雅之, "細胞シート工学から再生医療へ: 法的諸問題", *再生医療*, 3 (Suppl.1), 70 (2004).
4. Regenerate Tissue Engineering The Human Body 2004. 6. 9-12 Seattle, USA
 - ・ M. Yamato, "Clinical applications of transplantable corneal epithelial cell sheets and oral mucosal epithelial cell sheetsharvested from temperature-responsive culture dishes", Program, 5 (2004).
5. 第26回ラピッド・プロトタイピングシンポジウム 2004. 6. 15 埼玉
 - ・ 大和雅之, "再生医療における三次元組織の再構築の重要性と細胞シート工学", プログラム・抄録集, 85 (2004).
6. 4th Intercontinental meeting of hair research societies 2004. 6. 17-19 Berlin, Germany
 - ・ A. A. Wataru, M. Yamato, K. Kobayashi, "Interactions between the epidermis and dermal papilla in vitro", *Journal of the German Society of Dermatology*, 2004 (6), 505 (2004).
7. 社団法人日本オプトメカトロニクス協会 光センシング技術部会 2004. 6. 24 東京
 - ・ 大和雅之, "細胞チップおよび1細胞生物学のための培養用基板の超微細光加工", *光技術コンパクト*, 42 (9), 57 (2004).
8. 第1回泌尿器科再建再生研究会 2004. 6. 26 東京
 - ・ 白柳慶之, 大和雅之, 岡野光夫, 東間 紘, "細胞シート工学を用いた尿路再建", プログラム・抄録集, 10 (2004).
 - ・ 浅野桐子, 高沢亮二, 景山幸雄, 木原和徳, 大和雅之, 岡野光夫, "人工腹膜の作成とその臨床応用への検討", プログラム・抄録集, 14 (2004).
9. European Cells & Materials. ECM V The cell biomaterials reaction 2004. 6. 28-30 Davos, Switzerland
 - ・ M. Yamato, "Smart biomaterials achieve smart tissue regeneration with cell sheet engineering" (2004).
10. 第51回高分子夏季大学 2004. 7. 12-14 大島, 東京
 - ・ 大和雅之, "ナノティッシュエンジニアリング", プログラム (2004).
11. Advances in Tissue Engineering 2004, 12th Annual Short Course 2004. 8. 11-14 Houston, USA
 - ・ M. Yamato, "Cell sheet engineering using intelligent materials"
12. 共立薬科大学特別講演会 「再生医療から未来医療を展望する」 2004. 10. 10 東京
 - ・ 大和雅之, 岡野光夫, "組織から細胞・臓器を再生するテクノロジー", プログラム, 4-6 (2004).
13. 第48回日本学術会議 材料研究連合講演会 2004. 10. 20-21 東京
 - ・ 小林 純, 大和雅之, 糸賀和義, 菊池明彦, 岡野光夫, "改造液晶プロジェクトを利用した光造形法によるマイクロ流路の作製と細胞マイクロパターンニングへの応用", 講演論文集, 9 (2004).
 - ・ 大和雅之, 清水達也, 菊池明彦, 岡野光夫, "温度応答性培養皿を用いた細胞シート工学による組織・臓器再生", 講演論文集, 15 (2004).

14. NEDO ワークショップ「日本から世界へ、新しい医療技術の芽」 2004. 11. 6 愛媛
・ 大和雅之, “細胞・組織再生の評価技術”, プログラム (2004).
15. 「ナノテクノロジー分野別バーチャルラボ」 ナノメディシン -ナノテクノロジーが拓く未来医療-
2004. 11. 10 東京
・ 大和雅之, “ナノ加工表面を活用する細胞シート工学による再生医療”, 要旨集, 23-26 (2004).
・ 大和雅之, “パネルディスカッション: ナノテクノロジーが拓く未来医療”, 要旨集 (2004).
16. 社団法人日本オプトメカトロニクス協会 フォトンテクノロジー技術部会 2004. 11.25 東京
・ 大和雅之, “ナノテクノロジーを活用する再生医療の最前線”, 光技術コンタクト (2004).
17. 最近の化学工学 56 講習会「先端医療における化学工学」 2004. 12. 9 東京
・ 大和雅之, “細胞シート工学を用いた組織・臓器再生”, 最近の化学工学 56 先端医療における化学工学, 67-78 (2004).

(3) 出版物

特になし

研究成果による工業所有権の出願・取得状況

特になし