

課題番号	LR010
------	-------

**先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム)
実施状況報告書(平成25年度)**

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	テーラーメイド再生軟骨実現化のための基盤技術開発
研究機関・ 部局・職名	東京大学大学院・工学系研究科(工学部)・准教授
氏名	古川 克子

1. 当該年度の研究目的

本研究の実施によって、研究期間全体を通じて、生体の関節軟骨と同様の膝軟骨関節全面の構築手法を開発することを目標とした。平成22年度は組織ユニットの大量形成を実現させた。平成23年度は、せん断応力、圧縮応力、静水圧が存在すると考えられる動的培養装置の開発を行った。平成24年度は、新規なマルチレーザ光造形技術の開発を試みた。

平成25年度は、本研究で開発してきた技術を統合することによって、膝関節様の構造を有する組織構築を試みた。軟骨組織は担体を用いないスキャフォールドフリーのコンセプトを採用することによって表面が平滑な層を形成できる。その下に配置する骨様構造物は、光重合の技術を用いてその担体を構築して組織形成するモデルを検討した。そして、軟骨・骨様の構造を有する組織体を動的培養装置で培養できる関節様組織の形成を目指した。

2. 研究の実施状況

細胞から微小組織ユニットを大量形成し、組織同士の結合力により、スキャフォールドフリーの再生軟骨層を形成する技術を作った。そして、軟骨下骨層は光造形技術を用いて、生体内分解性の材料から構成される構造体モデルを作製した。組織ユニットを担体内部に播種する方法を模索し、骨様構造体と、軟骨層を上下方向に動的培養装置内にセットする方法を考案した。動的培養装置に設置された組織では、せん断応力、圧縮応力、静水圧がスキャフォールドフリーの軟骨層に存在するとの仮説のもとに、せん断応力とひずみ量を任意の推定オーダに制御した系を組み立て、実験を行ったところ、物理量の変化が軟骨の成熟に効果を及ぼすことを見出した。そして、動的培養で生じる静水圧の効果は細胞膜の流動性の変化によって制御されていることをはじめて発見した。このことは、細胞膜の流動性によって制御されるメカノセンサーの存在を示唆しており、関節様組織のさらなる成熟や軟骨分化・病変組織の形成の関係をひも解く重要な発見であると考えられる。軟骨下骨の形成のために新規に開発した光造形装置によって、本来の目的であったナノメータからサブミリメータオーダの精度で同時に造形できる装置の開発に成功した。軟骨下骨構造として、最も適した構造体とはなにか、間葉系幹細胞を用いて多角的に検証した結果、マイクロメータオーダのトポロジカルな特徴を有する3次元構造体が最も骨芽細胞様の細胞誘導に有効であることをはじめに見出した。これらの結果から本研究では、関節様の組織を構築するための構造と環境デザインには、3次元造形技術やバイオリクターによる細胞の応力や物理環境のデザインが重要であることを示した。“国民の科学・技術対話”の推進活動については、1)東京大学の学園祭5月祭、2)スーパーサイエンススクール選定校、3)女子中高生のための各種イベントにおいて広く企画を行い、本事業を説明する機会を設定した。

3. 研究発表等

<p>雑誌論文 計 15 件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計 12 件</p> <p>A.Tamura, T.Asaoka, K.Furukawa, T.Ushida and T.Tateishi, Application of α-TCP/HAp functionally graded porous beads for bone regenerative scaffold, <i>Advances in Science and Technology</i>, Vol.86, 63-69, 2013</p> <p>K.Kumagai, T.Asaoka, K.Furukawa and T.Ushida, Fabrication of scaffold for bone regeneration by taylor made stereolithography, <i>Advances in Science and Technology</i>, Vol.86, 70-74, 2013</p> <p>金子 知世, 津川 由紀子, 古川 克子, 岩本 敏志, 西澤 誠治, 牛田 多加志, テラヘルツ時間領域分光分析法を用いた軟骨組織の分光計測, <i>日本臨床バイオメカニクス学会誌</i>, Vol.34, 421-426, 2013</p> <p>Akira Tsukamoto, Kei Tanaka, Tatsuya Kumata, Kenji Yoshida, Yoshiaki Watanabe, Shogo Miyata, Katsuko S. Furukawa, Takashi Ushida, 1-MHz ultrasound enhances internal diffusivity in agarose gels, <i>Applied Acoustics</i>, 74, 1117-1121, 2013</p> <p>Azhim A, Ono T, Fukui Y, Morimoto Y, Furukawa K, Ushida T, Preparation of decellularized meniscal scaffolds using sonication treatment for tissue engineering, <i>Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc.</i> 2013;2013:6953-6</p> <p>Asaoka T, Ohtake S, Furukawa KS, Tamura A, Ushida T, Development of bioactive porous α-TCP/HAp beads for bone tissue engineering, <i>J Biomed Mater Res A.</i> 2013 Nov;101(11):3295-300</p> <p>Seo CH, Jeong H, Furukawa KS, Suzuki Y, Ushida T, The switching of focal adhesion maturation sites and actin filament activation for MSCs by topography of well-defined micropatterned surfaces, <i>Biomaterials.</i> 2013 Feb;34(7), 1764-71</p> <p>Seo CH, Jeong H, Feng Y, Montagne K, Ushida T, Suzuki Y, Furukawa KS., Micropit surfaces designed for accelerating osteogenic differentiation of murine mesenchymal stem cells via enhancing focal adhesion and actin polymerization, <i>Biomaterials.</i> 2014 Feb;35(7):2245-52</p> <p>Montagne K, Uchiyama H, Furukawa KS, Ushida T, Hydrostatic pressure decreases membrane fluidity and lipid desaturase expression in chondrocyte progenitor cells, <i>J Biomech.</i> 2014 Jan 22;47(2):354-9</p> <p>Dajiang Du,1 Takashi Ushida,2,3 Katsuko S Furukawa3,4,5, Influence of cassette design on three-dimensional perfusion culture of artificial bone, <i>JOURNAL OF BIOMEDICAL MATERIALS RESEARCH B: APPLIED BIOMATERIALS</i>, 2014, VOL 00B, ISSUE 00</p> <p>Azhim A, Syazwani N, Morimoto Y, Furukawa K, Ushida T., The use of sonication treatment to decellularize aortic tissues for preparation of bioscaffolds, <i>J Biomater Appl.</i>, 2014 Jan 2</p> <p>Erna G. Santoso1*, Keita Yoshida1*, Yasushi Hirota2, Masanori Aizawa1, Osamu Yoshino3, Akio Kishida4, Yutaka Osuga2, Shigeru Saito3, Takashi Ushida1, 5, Katsuko S. Furukawa, Application of detergents or high hydrostatic pressure as decellularization processes in uterine tissues and their subsequent effects on in vivo uterine regeneration in murine models, <i>PLOS ONE</i>, Vol.9(7), E103201, 2014</p> <p>(掲載済み一査読無し) 計3件</p> <p>古川克子, 牛田多加志, バイオリアクター技術の課題と現状ー 骨組織再生用バイオリアクター, <i>整形・災害外科の増刊号</i>, Vol.56, No.5, 2013</p> <p>牛田多加志, 古川克子, 再生医工学におけるメカノバイオロジー-I, <i>DOJINDO Bioscience シリーズ</i>, 化学同人シリーズ, 2013</p> <p>古川克子, 技術情報協会「PHARM STAGE」, 動物細胞の培養を成功させる条件設定集～細胞死・細胞凝集・増殖不良・不安定化対策集～第2章 細胞死・細胞凝集・増殖不良・不安定化を防ぐ培養の成功させる条件設定 第3節 培養基質からアプローチする細胞培養を成功させる条件設定(三次元、担体など) ○再生医療用 軟骨細胞培養における三次元培養技術とその評価</p> <p>(未掲載) 計 0 件</p>
------------------------	--

様式19 別紙1

<p>会議発表 計 23 件</p>	<p>専門家向け 計 23 件 Katsuko S Furukawa, Masashi Yoshimoto, Takashi Ushida, Biodegradable scaffold design for tissue-engineered vascular graft with non-linear mechanical characteristic, 第 13 回東京大学生命科学シンポジウム, 2013/06/08, 東京大学, poster presentation Katsuko S Furukawa, Non-Invasive Evaluation of Tissue-Engineered Cartilage by Terahertz Time Domain Spectroscopy, ICAVS7, August 25-30, 2013, Kobe (poster presentation) Katsuko S FURUKAWA*, Masashi YOSHIMOTO, Takashi USHIDA, Biodegradable Tissue-Engineered Vascular Graft Design with Non-Linear Mechanical Characteristic, The 7th Asian Pacific Conference on Biomechanics, Aug.29-31, 2013, Seoul Chang Ho SEO, Takashi USHIDA, Katsuko S. FURUKAWA*, Micro-Topographical Effects on Focal Adhesion Kinase (FAK) Activation and Focal Adhesion Maturation Sites, The 7th Asian Pacific Conference on Biomechanics, Aug.29-31, 2013, Seoul 小林一穂(東大), 小笠原年宏, 増本憲泰(日本工大), 牛田多加志(東大), 古川克子, 再生血管の動的培養において負荷される拍動力学刺激パターンの評価, 日本機械学会 2013 年度年次大会, 2013/9/8-11, 岡山大学津島キャンパス 津川由紀子(東大), 金子知世, 岩本敏志(先端赤外), 西澤誠治, 古川克子(東大), 牛田多加志, テラヘルツ時間領域分光分析法の軟骨組織非侵襲評価への応用, 日本機械学会 2013 年度年次大会, 2013/9/8-11, 岡山大学津島キャンパス 長坂南(東大), 中村亮介, 古川克子, 牛田多加志, 圧縮応力負荷下における関節軟骨組織の動的特性の計測, 日本機械学会 2013 年度年次大会, 2013/9/8-11, 岡山大学津島キャンパス Katsuko S. Furukawa, Real-time evaluation of hemocompatible materials by substandard human blood for transplantation by blood bank, Joint International Congress 2013 in Yokohama, September 27-29,2013, Pacifico Yokohama Stephanie Yin Wai Ting, Takashi Ushida, Katsuko S Furukawa, Low-intensity pulsed ultrasound modulates hypertrophic effects of rotational culture on scaffoldfree cartilage tissues, Joint International Congress 2013 in Yokohama, September 27-29,2013, Pacifico Yokohama 畑裕己, 横山貴穂, 堤祐介, 埴隆夫, 水原和行, 牛田多加志, 古川克子, PEG 電着表面の動的な血液適合性の評価 (Dynamic hemocompatibility evaluation of PEG electrodeposited Ti surface), Joint International Congress 2013 in Yokohama, September 27-29,2013, Pacifico Yokohama, (poster presentation) Takashi Ushida, Tomoyo Kaneko, Yukiko Tsugawa, Seiji Nishizawa, Katsuko Furukawa, Feasibility of Terahertz Time Domain Spectroscopy for in vitro Evaluating Regenerated Cartilages as a Non-Invasive Measurement”, Termis AP Annual Conference, Oct.23-36, 2013, Shanghai & Wuzen Katsuko S FURUKAWA*, Masashi YOSHIMOTO, Takashi USHIDA, Biodegradable scaffold design with non-linear mechanical charecteristics for vascular graft, Termis AP Annual Conference, Oct.23-36, 2013, Shanghai & Wuzen Katsuko S Furukawa, Tetsuya Tateishi, Takashi Ushida, Scaffold-free Cartilage Tissue by Mechanical Stress Loading for Tissue Engineering, Tenth International Conference on Flow Dynamics, 2013/11/25-27, Sendai International Center,(Invited) モンターニュ ケヴィン、内山 博樹、古川 克子、牛田 多加志, 軟骨前駆細胞における静水圧力による膜流動性とデサチュラーゼ遺伝子の発現の変更, 日本機械学会第 26 回バイオエンジニアリング講演会, 2014/1/12, 東北大学, 仙台 古川克子, Dajiang Du, 牛田多加志, in vitro 骨再生のための動的培養システム, 東大病院先端医療開発フォーラム, 2014/1/24, 東京大学(poster presentation) 渡辺 翔太, 小林 一穂, Gondo Santoso Erna, 廣田 泰, 吉田 圭太, 吉野 修, 齊藤 滋, 大須賀 穰, 牛田多加志, 古川 克子, 動的培養による子宮組織の再構築, 日本機械学会関東支部第 20 期総会・講演会, 2014/3/14-15, 東京農工大学小金井キャンパス 小松 寛, 小林 一穂, 渡辺 翔太, 増本 憲泰, 牛田 多加志, 古川 克子, エレクトロスピンニング法を用いた非線形力学特性を持つ再生血管用担体の作製, 日本機械学会 関東学生会 卒業研究発表講演会, 2014/3/14, 東京農工大学小金井キャンパス 佐々木 悠人, 中村 亮介, 牛田 多加志, 古川 克子, 再生軟骨の拘束圧縮培養による組織構築, 光造形法を用いた細胞の機能制御能を有する担体の 3 次元造形, 日本機械学会 関東学生会 卒業研究発表講演会, 2014/3/14, 東京農工大学小金井キャンパス 小林 洋次郎, 牛島 宏太, 篠原 誠, 牛田 多加志, 古川 克子, 光造形法を用いた細胞の機能制御能を有する担体の 3 次元造形, 日本機械学会 関東学生会 卒業研究発表講演会, 2014/3/14, 東京農工大学小金井キャンパス 田代 真司, 牛田 多加志, 古川 克子, モンターニュ ケビン, チャン ミンギ, 力学刺激による細胞内シグナル伝達のリアルタイムイメージング, 日本機械学会 関東学生会 卒業研究発表講演会, 2014/3/14, 東京農工</p>
-----------------------------	---

様式19 別紙1

	<p>大学小金井キャンパス</p> <p>JeongHyun Kim, Kevin Montagne, Ushida Takashi, Katsuko S Furukawa, Effect of Hydrostatic pressure on chondrogenesis and c-Fos, 日本機械学会 関東学生会 卒業研究発表講演会, 2014/3/14, 東京農工大学小金井キャンパス</p> <p>Erna G. Santoso, Keita Yoshida, Yasushi Hirota, Masanori Aizawa, Osamu Yoshino, Akio Kishida, Yutaka Osuga, Shigeru Saito, Takashi Ushida, Katsuko S. Furukawa, Reconstruction of rat uterine tissue using a decellularized tissue scaffold, 第13回日本再生医療学会総会, 2014/3/4-6, 京都</p> <p>Stephanie Yin Wai Ting, Yoshihide HASHIMOTO, Akio KISHIDA, Takashi USHIDA, Katsuko FURUKAWA, Decellularized matrices and negative pressure reseeding for cartilage tissue engineering, 第13回日本再生医療学会総会, 第13回日本再生医療学会総会, 2014/3/4-6, 京都</p> <p>一般向け 計0件</p>
<p>図書</p> <p>計2件</p>	<p>古川克子, 第三章 からだの再生・再建, 失われた機能を細胞で再生(再生医療)., 三田村好矩編, 新型コロナナシリーズ書籍「先端医療を支える工学—生体医工学への誘い—」, コロナ社, (2014)</p> <p>古川克子ほか著;書籍番号:M017(生体適合性高分子)生体適合性制御と要求特性掌握から実践する高分子バイオマテリアルの設計・開発戦略～モノマー(いち)からデザインするバイオインターフェイスと上市までの道筋～第11章医療機器開発現場にみる高分子材料への要求特性とニーズ～医療機器開発現場り～(4)急務は4mm以下の小口径人工血管に使用されるポリマー材料への要求特性</p>
<p>産業財産権 出願・取得状況</p> <p>計0件</p>	<p>(取得済み) 計0件</p> <p>(出願中) 計0件</p>
<p>Webページ (URL)</p>	<p>東京大学大学院工学系研究科バイオエンジニアリング専攻 古川研究室ホームページ</p> <p>http://www.furukawa.t.u-tokyo.ac.jp/index.html</p>
<p>国民との科学・技術対話の実施状況</p>	<p>2013年5月18日～19日</p> <p>東京大学5月祭で, 一般来場者を対象にした, 東京大学機械系見学会に古川研究室が参加. 参加者数はおよそ200名であった.</p> <p>2013年7月20日</p> <p>工学系研究科バイオエンジニアリング専攻が主催する, 父兄のための研究室見学会に古川研究室が参加. 工学系研究科の父兄を対象に, 専攻の概要説明および研究室見学を行った. 参加者数はおよそ50名であった.</p> <p>2013年8月7日</p> <p>東京大学オープンキャンパス2013 工学部コース企画「女子高生向け説明会 理系女子のススメ-工学部がールって??」企画に古川研究室が参加. 参加者はおよそ150名であった.</p> <p>2013年8月8日</p> <p>研究課題アウトリーチ活動として, SSH(スーパーサイエンスハイスクール)愛知県立刈谷高校/岡崎高校のみなさんに研究室の見学会を開催した. 参加者数はおよそ20名であった.</p> <p>2013年8月7日～8日</p> <p>研究課題アウトリーチ活動として, 東京大学工学部・工学系研究科が主催する「高校生のためのオープンキャンパス2013」に古川研究室が参加. 高校生を対象に, 研究室見学を行った. 再生軟骨や再生血管などの三次元的な形状を自由に設計し, 正常に近い構造物を生体内に戻す手法についての説明を行い, 実際に作製する現場を実演した. 参加者数はおよそ50名であった.</p>
<p>新聞・一般雑誌等掲載</p> <p>計0件</p>	
<p>その他</p>	<p>特筆すべき事項はない.</p>

様式19 別紙1

4. その他特記事項

実施状況報告書(平成25年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されます

1. 助成金の受領状況(累計)

(単位:円)

	①交付決定額	②既受領額 (前年度迄の 累計)	③当該年度受 領額	④(=①-②- ③)未受領額	既返還額(前 年度迄の累 計)
直接経費	119,000,000	67,750,000	51,250,000	0	0
間接経費	35,700,000	20,325,000	15,375,000	0	0
合計	154,700,000	88,075,000	66,625,000	0	0

2. 当該年度の収支状況

(単位:円)

	①前年度未執 行額	②当該年度受 領額	③当該年度受 取利息等額 (未収利息を除 く)	④(=①+②+ ③)当該年度 合計収入	⑤当該年度執 行額	⑥(=④-⑤) 当該年度未執 行額	当該年度返還 額
直接経費	8,539,691	51,250,000	0	59,789,691	59,290,820	498,871	0
間接経費	20,325,000	15,375,000	0	35,700,000	35,700,000	0	0
合計	28,864,691	66,625,000	0	95,489,691	94,990,820	498,871	0

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	45,562,149	実験用試薬, プラスチック消耗品
旅費	980,692	TERMIS AP Annual Conference 等参加
謝金・人件費等	10,993,727	技術補佐員人件費, 実験補助員謝金
その他	1,754,252	実験装置修理費, ポスター印刷代
直接経費計	59,290,820	
間接経費計	35,700,000	
合計	94,990,820	

4. 当該年度の主な購入物品(1品又は1組若しくは1式の価格が50万円以上のもの)

物品名	仕様・型・性能 等	数量	単価 (単位:円)	金額 (単位:円)	納入 年月日	設置研究機関 名
レーザー測長システム	アジレント・テクノロジー・3軸位置測定ユニット	1	6,594,000	6,594,000	2013/6/25	東京大学
パーキンエルマー社製 マルチモードプレートリーダー	Enspire	1	4,200,000	4,200,000	2013/12/25	東京大学
ザーモサイエンティフィック社 牛胎児血清	Hyclone AXM56561	1	1,732,500	1,732,500	2013/12/26	東京大学
Milli-Q Advantage	ミリポア	1	998,550	998,550	2013/12/13	東京大学
対物レンズポジショナー	P-721.CLQ型、E-665.CR型	1	997,500	997,500	2014/2/14	東京大学
超低温フリーザー	KM-DU34HIJ	1	997,500	997,500	2014/2/4	東京大学
大型滑走式マイクロトーム	REM-710・SB リトトーム	1	977,550	977,550	2013/5/30	東京大学
マルチガスインキュベーター	SMA-165DS	1	934,500	934,500	2014/2/12	東京大学
紫外用パルスモジュレータ、モジュール	モデル1212、モデル535-C-175	1	595,350	595,350	2013/9/5	東京大学
コンプレッサー内蔵型乾燥空気発生装置	SCU-75CT2	1	575,400	575,400	2014/1/14	東京大学