

機関番号：32660

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2008～2010

課題番号：20300170

研究課題名（和文） 大型組織構築に向けたスフェロイドアレイの3次元積層化

研究課題名（英文） Three dimensionally layered spheroid array for tissue organization

研究代表者

大塚 英典（OTSUKA HIDENORI）

東京理科大学・理学部・准教授

研究者番号：00344193

研究成果の概要（和文）：

スフェロイド間隔を系統的に制御したスフェロイドパターンニング技術を開発した結果、軟骨大型化のために最適なスフェロイド設計指針を確定できた。さらに分化誘導のための添加因子を用いることにより細胞外マトリクスの産生能を長期間維持させることに成功した。これらの検討から最適化されたスフェロイド状態において、再生エレメントとして、スフェロイドの体積にして約10倍という大型化を達成した。次にこの技術と合わせ、スフェロイドをより実際的な移植可能な材形へと展開するためのマトリックス材料の設計と合成を行った。このような一連の実験を統合し、運動器系組織の再生技術として開発を進めた結果、関節軟骨における動物実験において移植する構造体として十分機能する再生エレメントであることを示した

研究成果の概要（英文）：

For formation of tissue elements, spheroid is successfully constructed with a diameter of 100 or 200 μ m on a micropatterned substrate coated with polyethylene glycol (PEG). The PEGylated surface as a cytophobic region was regulated by controlling the polymer density through photolithography. This spheroid formation induces epitaxially growing chondrocyte spheroids perpendicular to the surface with long-term viability. Such interesting observation was resulted from the spontaneous production of extracellular matrix (ECM) protein and concomitant formation of native cartilage-like tissue. This approach aims to overcome the disadvantages associated with the hanging drop and suspension culture methods by providing control over the size, shape, and other features of the cellular assembly in a scalable manner. It is envisioned that with the integration of presented technologies with biomaterials such as photocrosslinkable gels and microfluidics, more complex tissue sections for therapeutic applications can be fabricated.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	8,000,000	2,400,000	10,400,000
2009年度	3,300,000	990,000	4,290,000
2010年度	3,300,000	990,000	4,290,000
年度			
年度			
総計	14,600,000	4,380,000	18,980,000

研究分野：コロイド・界面化学、生体材料

科研費の分科・細目：人間医工学・医用生体工学、生体材料学

キーワード：高分子ゲル、マイクロパターンニング、スフェロイド、軟骨再生

1. 研究開始当初の背景

スフェロイドはその形態から、生来の組織に最も近い機能を保持するものとして注目されていたが、これまでの研究では、スフェロイドは mm オーダーの大変大きなものや、大きさを一定に制御することが難しく、大きさが異なると細胞の機能・分化状態も均一にならない。これらの大きなスフェロイドは、スフェロイド内部まで酸素や栄養の透過が十分に行われなことから、内部細胞壊死の問題があり、実際に医療に応用することが難しかった。このような課題を解決する手段として応募者は、均一な大きさを保つ、微小細胞スフェロイドアレイの創製を試みた。細胞非接着表面にマイクロアレイ状に接着部位をパターンニングすることで、細胞接着をひとつのプレートの上で高度に制御するシステムを確立し、機能細胞をアレイ状に微小細胞スフェロイド化することに成功した〔基盤 B (一般)、H16~18, No.16300165〕。細胞種として、再生医療において最も重要視される組織のひとつである軟骨組織中の軟骨細胞を選択した場合、作製された軟骨細胞スフェロイドは、高い分化機能を維持した。

2. 研究の目的

微小組織エレメントであるスフェロイドの再分化誘導技術、スフェロイド内包高分子ゲルシートの作成、そのゲルシートの 3 次元積層化、骨・軟骨複合型関節の 3 次元臓器構築、以上を共通横断的に達成し、形態的にも機能的にも生体に類似した 3 次元複合臓器構造体（運動器）を作製するための基盤技術の創出を目指す。さらに上記 4 つの要素技術の融合により、従来のティッシュ・エンジニアリングでは克服できなかった、医療ニーズに即した再生関節組織の獲得、生理的な機能を再現する複合組織構造の構築を目的とする。

3. 研究の方法

【1】スフェロイドの大量調製法

① 分子設計（末端官能基を有するポリエチレングリコール(PEG)の合成)

光重合基を分子末端に有するマルチアーム型 PEG の合成法を確立した後、種々基盤表面への光架橋反応を使った PEG ゲル薄膜構築法を確立し、細胞接着を極度に抑制する表面を達成する。

② マイクロパターンニングによるアレイ作成

光リソグラフィーを使ったゲル表面のパターンニングによって均質なスフェロイドの大量生産を可能とする。hole 直径 d (基盤表面が露出) と hole 間隔 l を $100\ \mu\text{m} \sim 1000\ \mu\text{m}$ の間で系統的に変化させ、パターンサイズと細胞スフェロイド形成過程の相関関係を調べる。

細胞スフェロイドを安定供給できる細胞培養条件（培地種類、添加因子など）の最適化を図る。

【2】光架橋ゲルを用いたスフェロイドのマトリックス材料への組み込み

非侵襲的な架橋ゲルの合成
活性化した光重合基で末端修飾した PEG の合成を合成し、細胞存在下でも非侵襲的に架橋可能なゲル材料を新規に確立する。

② スフェロイドアレイのゲル内包

【1】で調整したスフェロイドアレイの上で *in situ* ゲル化を行い、初代軟骨・骨芽細胞を組み込んだスフェロイド含有ゲルを確立する。

【3】再分化誘導培地によるスフェロイドのさらなる軟骨基質蓄積

研究分担者の協力のもと、脱分化型軟骨細胞を再分化させる再分化誘導培地として、現在上市されている薬剤あるいは試験段階の 12 種類の薬剤 (FGF-2, PTH, IGF-I, insulin, BMP-2, growth hormone, estrogen, testosterone, IL-1 receptor antagonist, thyroid hormone, vitamin D, dexamethasone) のうちから、最適な組み合わせを統計学的に解析する。

【4】スフェロイドシートの動物移植・組織適合性評価

スフェロイドアレイの力学的特性を網羅的に解析し、移植前機能の標準化を目指す。次に、軟骨細胞、骨芽細胞の初代正常細胞のスフェロイドアレイ培養下、*in situ* ゲル化を行い、光架橋による細胞毒性、組織としての性能を検討する。

4. 研究成果

本研究では、複合形成により高度化、集積化、情報化が可能な再生エレメントの設計・製造にかかわる技術全般の確立にむけて、スカフォールドを用いた再生エレメントの設計・製造について、技術開発を行うことを目的とした。再生エレメントの高機能化へのアプローチとして、細胞が 3 次元的に存在するために生体の環境に近く、分化機能の維持に有利である凝集塊(スフェロイド)培養に注目した。スフェロイド形状の培養期間に伴う経時変化について、培養条件、細胞数や細胞機能、タンパク質産生といった観点から生化学的な評価を行い、スフェロイドの大きさと機能に関する情報を精査し、研究のまとめを行った。特に軟骨に着目し、スフェロイド直径と間隔を系統的に制御したスフェロイドパターンニング技術を開発した結果、軟骨大型化のために最適なスフェロイド設計指針を確定できた (図 1, 2)。さらに分化誘導のための添加因子である BIT (BMP-2, insulin, T3) を用いることによりスフェロイドのサイズが増大することが明らかとなった (図 3)。この結果はスフェロイドの組織性の向上を示唆

するものと考えられる。そこで、軟骨細胞が産生する細胞外マトリクスとして、酸性ムコ多糖 (GAG) を定量した結果、添加因子によりその産生能を長期間維持できることが明らかとなった (図4)。またそのGAG産生量は、ある特定濃度のアスコルビン酸添加との共刺激によって、シナジー効果を誘導できることが新規に見出された。これらの検討から最適化されたスフェロイド状態において、再生エレメントとしてのスフェロイドの大型化を達成した。

次にこの技術と合わせ、スフェロイドをより実際的な移植可能な材形へと展開するためのマトリクス材料の設計と合成を行った。つまり、スフェロイドアレイの細胞凝集塊を機能を維持したまま高次元化するためのスフェロイド集積化材料を検討／導入することによって、大型化・集積化するための検討を行った。具体的には骨、軟骨組織の再生を目指し、これまでに確定した集積化・大型化スフェロイド技術と融合する生体親和性マトリクスとしてのゲル化材料を開発した。材料特性として、分子構造と強度・物質透過性・細胞機能との相関性といった観点から調べ、目的達成に最適な条件を確定した。そしてスフェロイドマトリクス複合体を作成し、動物移植実験によって三次元複合構造体の構築について実用検証を行った。このような一連の実験を統合し、運動器系組織の再生技術として研究を進めた結果、関節軟骨における動物実験において移植する構造体として十分機能する再生エレメントであることを示した。

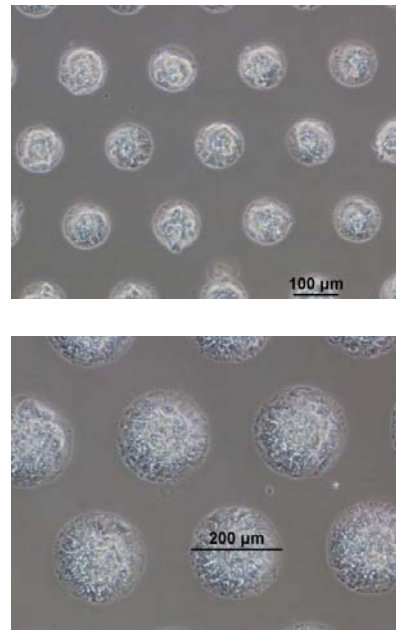


図1. ウシ軟骨スフェロイドの14日間培養の後の結果。(上) : ϕ 100 μm 、(下) ϕ 200 μm 。

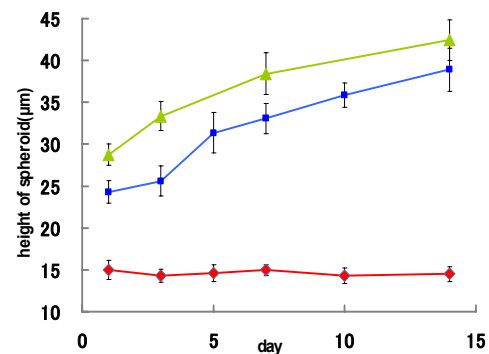


図2. 軟骨スフェロイドの培養経過に伴う高さ成長。◆ : 単層、■ : ϕ 100 μm 、▲ : ϕ 200 μm 。

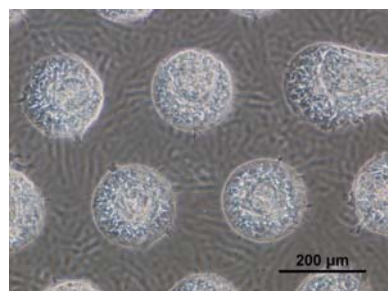
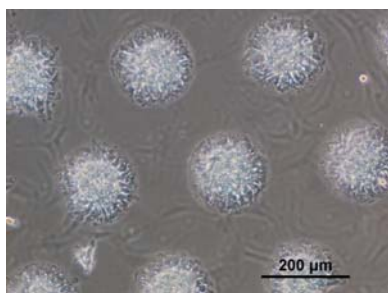


図 3. 軟骨スフェロイドの添加因子に対する分化誘導効果。スフェロイド；φ200 μm

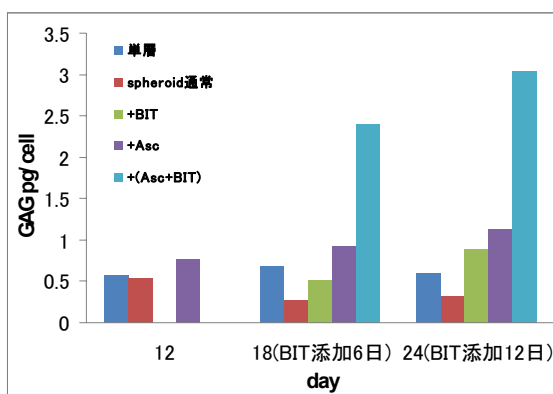


図 4. スフェロイドに分化誘導因子を添加したときのGAG定量結果。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 28 件)

1. Polymer-Stabilized Nanoparticles and Their Dispersion Properties. Yoshihiro SAITO, Hidenori OTSUKA, J. Jpn. Soc. Colour Mater., 84(1), 12-17 (2011)
2. Hepatocyte Spheroids Underlayered with Nonparenchymal Cells for Biomedical Applications. Yuichi Nakasone, Masashi Yamamoto, Tetsuya Tateishi, Hidenori Otsuka, IEICE Trans. ELECTRON., 2011, Vol. E94-C, No. 2,

176-180.

3. Otsuka, H. Nanofabrication of Nonfouling Surfaces for Micropatterning of Cell and Microtissue. *Molecules* 2010, 15(8), 5525-5546.
4. Construction and functional estimation of NHDF spheroid array for the three dimensional skin equivalent. Satomi Yoda, Satomi Tomomi, Koji Ueno, Hidenori Otsuka, *Fragrance Journal*, Vol.36, No.9, pp.65-69, 2008.
5. Metal and Semiconductor Nanoparticle Dispersion. H. Otsuka, J. Jpn. Soc. Colour Mater., 2008, 81 (6), 219-225.
6. Spheroid array incorporated in hydrogel as a tissue-engineered construct. M. Yamamoto, T. Satomi, K. Ueno, H. Otsuka, *Trans. Mater. Res. Soc. Jpn.*, 2008, 33(3), 725-728.
7. Characterization of newly synthesized dendron-type sugars with self-assembling properties. Y. Yamazaki, K. Ueno, H. Otsuka, *Trans. Mater. Res. Soc. Jpn.*, 2008, 33(3), 747-750.
8. Physicochemical characterization of the pyridine-g-PEG copolymer at the interface. M. Fukaishi, T. Satomi, K. Ueno, H. Otsuka, *Trans. Mater. Res. Soc. Jpn.*, 2008, 33(3), 721-724.
9. Physicochemical characterization of PEG hydrogel to estimate biocompatibility. R. Sato, K. Ueno, H. Otsuka, *Trans. Mater. Res. Soc. Jpn.*, 2008, 33(3), 775-777.
10. 応用物理分野のアカデミック・ロードマップ、バイオエレクトロニクス、応用物理、第79巻、第8号、723-725 (2010年)。
11. 2-D aligned spheroid for high-throughput screening and regenerative medicine., Otsuka H, Satomi T, Ueno K, Yamamoto M, Nakasone Y, ABSTRACTS OF PAPERS OF THE AMERICAN CHEMICAL SOCIETY 巻: 236: 137-PMSE: AUG 17 2008.
12. Controlling protein and cell interactions with engineered surface by PEG-modification. Otsuka H, Satomi T, Ueno K, Yamamoto M, Yamazaki N, Fukaishi M, ABSTRACTS OF PAPERS OF THE AMERICAN CHEMICAL SOCIETY 巻: 236: 434-POLY: AUG 17 2008.
13. 細胞の3次元自己組織化材料、大塚英典、化学工業、vol.61, no.1, pp.14-20, 2010.
14. 再生医療応用を目指す材料開発、大塚英典、化学と工業、Vol. 62-5 May 2009、

- pp547-550, .
15. Integration of Surface Modification and Cell Culture for Cell-based Assays, Hidenori Otsuka, Tomomi Satomi, in Surface Design and Modification of Biomaterials. for Clinical Applications, 2008, Chapter 6, pp.127-144, Transworld Research Network.
 16. Administration of the insulin into the scaffold atelocollagen for tissue engineered cartilage. Ko E et al., J Biomed Mater Res A, in press.
 17. The optimization of porous polymeric scaffolds for chondrocyte/atelocollagen based tissue-engineered cartilage. Tanaka Y et al., Biomaterials, 4506-4516, 31, 2010.
 18. The optimal conditions of chondrocyte isolation and its seeding in the preparation for cartilage tissue engineering. Yonenaga K et al., Tissue Eng Part C Methods, 1461-1469, 16, 2010.
 19. Kruppel-like factor 5 causes cartilage degradation through transactivation of matrix metalloproteinase 9. Yusuke Shinoda et al., J Biol Chem, 24682-24689, 283, 2008.
 20. Aptitude of auricular and nasoseptal chondrocytes cultured under a monolayer or three-dimensional condition for cartilage tissue engineering. Yukiyo Asawa et al., Tissue Eng., inpress.
 21. Selection of highly osteogenic and chondrogenic cells from bone marrow stromal cells in biocompatible polymer-coated plates. Guangyao Liu et al., J Biomed Mater Res., inpress
 22. Tissue Reactions to Engineered Cartilage Based on Poly-L-Lactic Acid Scaffolds. Yuko Fujihara et al., Tissue Eng, inpress
 23. Selection and effect of ointment bases for preparing collagenase inhibitor ointment using HPLC and franzcell apparatus. Satoru Nishizawa et al., Annal Plast Surg, inpress
 24. An animal model study for tissue-engineered trachea fabricated from a biodegradable scaffold using chondrocytes to augment repair of tracheal stenosis. Makoto Komura et al., J Pediatr Surg, 2141-2146, 43, 2008
 25. Growth factor contents of autologous human sera prepared by different production methods and their biological effects on chondrocytes. Yoko Tanaka et al., Cell Biol Int, 505-514, 32, 2008
 26. Human tracheal chondrocytes as a cell source for augmenting stenotic tracheal segments: the first feasibility study in an in vivo culture system. Makoto Komura et al., Pediatr Surg Int, 1117-1121, 24, 2008
 27. Current concepts of bone biomineralization. Hidehiro Ozawa et al., J Oral Biosci, 1-14, 50, 2008
 28. Phosphorylation of GSK-3beta by cGMP-dependent protein kinase II promotes hypertrophic differentiation of murine chondrocytes. Yosuke Kawasaki et al., J Clin Invest, 2506-2515, 228, 2008
- [学会発表] (計 39 件)
1. ラット初代肝細胞の粒径、共培養とその分化機能への影響
沖村沙耶・佐々木皓平・中曽根祐一・平野覚浩・片岡一則・大塚英典
日本化学会第 91 春季年会, 2011 年 3 月 26 日~29 日
 2. Py-*b*-PEG ブロック共重合体のナノ粒子化に関する詳細検討
池永祐介, 上野耕治, 大塚英典
日本化学会第 91 春季年会, 2011 年 3 月 26 日~29 日
 3. Py-*g*-PEG で安定化された金銀コアシェルナノロッドの開発と癌温熱療法への応用
沓沢好一, 黒沢俊彦, 大塚英典
日本化学会第 91 春季年会, 2011 年 3 月 26 日~29 日
 4. 糖鎖高分子を用いた生体認識挙動の解析
緑川文, 大塚英典
日本化学会第 91 春季年会, 2011 年 3 月 26 日~29 日
 5. ラクトースグリコポリマーの表面固定化の検討とその肝細胞接着特性
佐々木皓平, 山本紗有里, 中曽根祐一, 上野耕治, 大塚英典
日本化学会第 91 春季年会, 2011 年 3 月 26 日~29 日
 6. bpy (bipyridine) -*g*-PEG 共重合体の金属錯体高分子として

- の応用
高橋理一, 上野耕治, 大塚英典
日本化学会第91春季年会, 2011年3月
26日~29日
7. シアル酸認識能を有するフェニルポロ
ン酸ポリマーの合成と物性評価, 高橋 陽
輔, 松元亮, 片岡一則, 宮原裕二,
大塚英典, 第14回高分子表面研究討論会,
京都大学宇治キャンパス, 2011年01月28
日
 8. ピリジンとPEGからなるグラフト共重合
体の界面物性とその分子構造との相関性.
斎藤美宏, 石塚崇, 深石真之, 上野浩二,
立石哲也, 大塚英典, 第14回高分子表面
研究討論会, 京都大学宇治キャンパス,
2011年01月28日.
 9. キトサンとPEGから形成されるインジェ
クタブルゲルの創製, 川原吹 望, 中曾根
祐一, 沓沢 好一, 立石 哲也, 大塚 英典
, 第22回高分子ゲル研究討論会, 2011年
01月12日~2011年01月13日
 10. Biochemical analysis of chondrocytes
spheroids by gene and protein
expressions: Masaaki Sakurai, Koichi
Kutsuzawa, Hidenori Otsuka. 第20回日
本MRS学術シンポジウム, Session N
"Nano-biotechnologies on interfaces"
(International Session), December 21
(Tue.) -22 (Wed.), Yokohama Media &
Communications Center.
 11. Hepatocyte spheroids underlayered
with nonparenchymal cells for
biomedical applications: Kohei Sasaki,
Koichi Kutsuzawa, Hidenori Otsuka. 第
20回日本MRS学術シンポジウム, Session
N"Nano-biotechnologies on interfaces"
(International Session), December 21
(Tue.) -22 (Wed.), Yokohama Media &
Communications Center.
 12. 「Nonfouling Surface by
PEG-Modification for Biomedical
Application」, Hidenori Otsuka, 第20
回日本MRS学術シンポジウム, Session
N"Nano-biotechnologies on interfaces"
(International Session), December 21
(Tue.) -22 (Wed.), Yokohama Media &
Communications Center.
 13. Development of Py-g-PEG stabilized
Silver on Gold core/shell nanorods and
application for cancer thermal therapy,
Kutsuzawa Koichi, Kurosawa Toshihiko,
Otsuka Hidenori, 第3回日印国際シンポ
ジウム, 2010年12月13日.
 14. Hidenori Otsuka, Nonfouling Surface
by PEG-modification for biomedical
application, Symposium on Life
Science (on 15 October 2010) at
Auditorium Meeting Room, NITECH.
Co-organized by Institute of Ceramics
Research and Education, NITECH and
JSPS International Training Program
 15. ピリジン(Py)を吸着サイトとする
Py-g-PEGグラフト共重合体の分散剤特性,
大塚英典, 齊藤美宏, 高橋理一, 深石真
行, 色材コンファレンス2010, 平成22
年11月4日(木)~5日(金), タワ
ーホール船堀
 16. ピリジンを反応サイトに有するPy-PEG共
重合体の精密合成とその金属ナノ粒子化,
高橋理一, 齊藤美宏, 上野耕治, 大塚英
典, 色材コンファレンス2010, 平成22年
11月4日(木)~5日(金), タワーホ
ール船堀
 17. 多価ピリジンのマルチヴァレント効果を
有する分散剤を利用した金属ナノ粒子の
合成, 柳本航佑, 齊藤美宏, 上野耕治, 大
塚英典, 色材コンファレンス2010, 平成
22年11月4日(木)~5日(金), タワ
ーホール船堀
 18. Py(ピリジン)-b-PEGブロック共重合体の
ナノ粒子化に関する詳細検討, 池永祐介,
上野耕治, 大塚英典, 色材コンファレン
ス2010, 平成22年11月4日(木)~5日
(金), タワーホール船堀
 19. コア-シェルナノロッドの合成とその光
学/分散特性, 黒沢俊彦, 沓沢好一, 大
塚英典, 色材コンファレンス2010, 平成
22年11月4日(木)~5日(金), タワ
ーホール船堀
 20. 肝細胞スフェロイドの高機能化のメカニ
ズム解析と再生医療への応用, 中曾根
祐一, 山本 雅, 沓沢 好一, 片岡 一則,
立石 哲也, 大塚 英典, 第59回高分子討
論会, 2010年9月15日(水)~17日(金),
北海道大学
 21. AFMを用いた高分子末端糖鎖のタンパク
質認識解析, 大塚 英典, 吉田 真理, 上野
耕治, 緑川 文, 第59回高分子討論会,
2010年9月15日(水)~17日(金), 北海
道大学
 22. 再生医療を目指した初代肝細胞スフェロ
イドアレイの作製と機能評価, 中曾根 佑
一, 山本 雅, 里見 智美, 片岡 一則, 立
石 哲也, 大塚 英典, 2010 日本機械学会
関東支部茨城講演会(2010 JSME The
Japan Society of Mechanical Engineers
IBARAKI CONFERENCE), 2010年8月27日,
茨城大学
 23. Hepatocyte Spheroids Underlayered
with Nonparenchymal Cells for
Biomedical Applications. Yuichi
Nakasone, Masashi Yamamoto, Kazunori
Kataoka, Tetsuya Tateishi, Hidenori
Otsuka. The 6th International

- Symposium on Organic Molecular Electronics (ISOME2010), Chiba University, June 10-11, 2010.
24. 軟骨スフェロイドアレイの分化機能安定化と再生医療への展開, 櫻井正晃, 中曽根祐一, 杳沢好一, 立石哲也, 大塚 英典, 第58回高分子学会年次大会, 2010年 5月26日(水) ~ 28日(金), パシフィコ横浜
 25. 移植担体への適用を目指した軟骨スフェロイドアレイの作製, 櫻井 正晃・中曽根 佑一・杳沢 好一・大塚 英典, 日本化学会第90春季年会, 近畿大学本部キャンパス, 2010年3月26日(金)~29日(月)
 26. Two dimensionally aligned NHDF spheroid to create the three dimensional high-performance skin equivalent, Satomi Yoda, Tomomi Satomi, Koji Ueno, Hidenori Otsuka, 第32回日本分子生物学会年会, 2009年12月12日, パシフィコ横浜
 27. 再生医療を目指した初代肝細胞スフェロイドアレイの作製と機能評価, 中曽根 佑一, 山本 雅, 里見 智美, 片岡 一則, 立石 哲, 大塚 英典, 第58回高分子討論会, 2009年9月16日~18日, 熊本大学
 28. 再生医療を目指した初代肝細胞スフェロイドアレイの作製と機能評価, 中曽根佑一・山本雅・里見智美・片岡一則・立石哲也・大塚英典, 第58回高分子学会年次大会, 2009年5月27日~29日, 神戸国際会議場
 29. 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
明石京子, 上野耕治, 大塚英典
バイオ・マイクロシステム研究会ーバイオチップのスマート 化技術ー
2009年2月27日(金)
東京大学内会議室(東京大学 本郷地区 工学部1号館 第15講義室)
 30. 組織再生へ向けたスフェロイドアレイの作製と機能化, 山本 雅, 里見智美, 上野耕治, 立石哲也, 大塚英典, つくば医工連携フォーラム2009, 2009年1月14日, (独) 産業技術総合研究所つくば中央 共用講堂
 31. 再生医療への応用を目指した初代肝細胞スフェロイドアレイの作製と機能評価, 中曽根佑一, 里見智美, 上野耕治, 大塚英典, つくば医工連携フォーラム2009, 2009年1月14日, (独) 産業技術総合研究所つくば中央 共用講堂
 32. 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
依田理美, 里見智美, 上野耕治, 大塚英典
 33. 再生医療を目指した初代肝細胞スフェロイドアレイにおける共培養の検討
中曽根佑一, 里見智美, 上野耕治, 大塚英典
日本バイオマテリアル学会シンポジウム2008
2008年11月17日(月), 18日(火)
東京大学本郷キャンパス
 34. マイクロテッシュとしてのスフェロイド含有ハイドロゲルの機能化
山本 雅・里見 智美・上野 耕治・立石 哲也・大塚 英典
日本バイオマテリアル学会シンポジウム2008
2008年11月17日(月), 18日(火)
東京大学本郷キャンパス
 35. 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
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
第21回日本動物実験代替法学会, 2008年11月13日(木)・14日(金), 埼玉会館(埼玉)
 36. 組織再生へ向けたスフェロイドアレイの作製と機能化
山本雅・里見智美・上野耕治・立石哲也・大塚英典
第57回高分子討論会
2008年9月24日(水)~26日(金)
大阪市立大学 杉本キャンパス
 37. 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
依田理美・里見智美・上野耕治・大塚英典
第57回高分子討論会
2008年9月24日(水)~26日(金)
大阪市立大学 杉本キャンパス
 38. 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
山本雅・里見智美・上野耕治・立石哲也・大塚英典
第57回高分子学会年次大会
2008年5月28日(水)~30日(金)
パシフィコ横浜 展示ホールD・アネックスホール
 39. 第7回国際バイオフォーラム、細胞スフェロイドアレイを基盤とした動物実験代替法及び再生医療への展開, 大塚英典、東京ビッグサイト、2008年7月2日 [図書] (計8件)

1. Surface Organization of Poly(ethylene glycol) (PEG) based Block Copolymers for Biomedical Applications. Hidenori Otsuka, in *Electrical Phenomena at Interfaces and Biointerfaces: Fundamentals and Applications in Nano-, Bio-, and Environmental Sciences*, to be published by John Wiley & Sons, Inc., 2010.
 2. PEGylated Nanoparticles for Biological and Pharmaceutical Applications. Hidenori Otsuka, in *Electrical Phenomena at Interfaces and Biointerfaces: Fundamentals and Applications in Nano-, Bio-, and Environmental Sciences*, to be published by John Wiley & Sons, Inc., 2010.
 3. 日本分析化学会編「分析化学便覧」第4章「機器分析法」光学顕微鏡（共焦点法），大塚英典，2010.
 4. 応用物理分野の発展史マップ、147-153（2010年3月28日，応用物理学会）
 5. 応用物理分野のアカデミック・ロードマップ改訂版、153-161（2010年3月28日，応用物理学会）
 6. 第5章：技術展望－バイオチップの将来技術、第10節：高分子表面の微細加工技術とスフェロイドアレイ、大塚英典、石塚崇、中曽根佑一、バイオチップ実用化ハンドブック、エヌティーエス、pp. 564-570, 2010年4月.
 7. 新素材の産業化を促進する計測・分析技術の動向調査報告書，平成22年3月，社団法人日本機械工業連合会/社団法人日本分析機器工業会
 8. 新素材の産業化を促進する計測・分析技術の動向調査報告書，平成21年3月，社団法人日本機械工業連合会/社団法人日本分析機器工業会
〔産業財産権〕
 - 出願状況（計15件）
 1. PCT/JP2010/072288, 金-銀コアシェルナノロッド粒子及びその製造方法, 大塚英典, 黒沢俊彦, 沓沢好一, 2010年12月10日.
 2. 特願2010-246907, 「共重合体、金属高分子錯体、及び該金属高分子錯体からなるミセルの分散液」, 大塚英典, 高橋理一, 柳本航佑, 2010年11月2日
 3. 特願2010-210621, リガンド固定化用共重合体及び該共重合体によるリガンドの固定化方法, 大塚英典, 上野耕治, 出願日：2010年9月21日.
 4. 特願2009-21678, リガンド固定化用共重合体及び該共重合体によるリガンドの固定化方法, 大塚英典, 上野耕治, 出願日：2009年9月18日.
 5. 2009-282312 (2009-12-11)、金銀コアシェルナノロッド粒子及びその製造方法
 6. PCT/JP2009/065119, 「重合性モノマー、グラフト重合体及び表面処理剤」, 大塚英典, 深石真行, 石塚崇, 出願日：2009年8月28日.
 7. 特願2009-197915, 「重合性モノマー及びその製造方法、並びにグラフト共重合体」, 大塚英典, 深石真行, 石塚崇, 出願日：2009年8月28日.
 8. PCT/JP2009/065641, スフェロイド複合体およびスフェロイド含有ハイドロゲルならびにその製造方法」, 大塚英典, 里見智美, 上野耕治, 山本雅, 中曽根祐一, 明石京子, 出願日：2009年9月8日.
 9. WO2009/072590, 「分岐ポリアルキレングリコール誘導体、感光性組成物、架橋体及び基板」, 大塚英典, 里見智美, 上野耕治, 公開日2009年6月11日
 10. 特願2008-220573, 表面改質剤、該表面改質剤により改質された被改質体およびナノ粒子の分散液、並びにナノ粒子の製造方法, 大塚英典, 深石真行, 石塚崇, 出願日：2008年8月28日.
 11. 特願2008-327339, インクジェット用インク, 大塚英典, 深石真行, 石塚崇, 上野耕治, 齊藤美宏, 大川輝昭, 江崎直史, 出願日：2008年12月24日
 12. 特願2008-230337, 重合性モノマーおよびその製造方法、並びにグラフト共重合体, 大塚英典, 深石真行, 石塚崇, 出願日：2008年9月8日.
 13. 特願2008-230223, スフェロイド含有ハイドロゲルおよびその製造方法、ならびにスフェロイド含有ハイドロゲル積層体, 大塚英典, 里見智美, 上野耕治, 山本雅, 中曽根祐一, 出願日：2008年9月8日.
 14. 特願2008-230224, スフェロイド複合体およびその製造方法、ならびに多層型スフェロイド複合体, 大塚英典, 里見智美, 上野耕治, 山本雅, 中曽根祐一, 明石京子, 出願日：2008年9月8日.
 15. 特願2008-137224, 「スフェロイドの製造方法、およびスフェロイドアレイ」, 大塚英典, 鄭雄一, 位高啓史, 里見智美, 上野耕治, 山本雅, 中曽根祐一, 出願日：平成20年5月26日
6. 研究組織
- (1) 研究代表者
大塚 英典 (OTSUKA HIDENORI)
東京理科大学・理学部・准教授
研究者番号:00344193
 - (2) 研究分担者
星 和人 (HOSHI KAZUTO)
東京大学・医学部付属病院・准教授

