

令和 5 年 6 月 14 日現在

機関番号：22701

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20H02595

研究課題名(和文)好中球の多様な挙動を指標とした炎症評価生体模倣システムの開発

研究課題名(英文)Development of microphysiological systems for evaluating inflammation

研究代表者

小島 伸彦(Kojima, Nobuhiko)

横浜市立大学・理学部・准教授

研究者番号：90342956

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、骨髄細胞(好中球)の挙動をもって臓器モデルの炎症応答の検出を可能とする炎症評価Microphysiological Systems(MPS)の開発を目的とした。平面や3次元環境下(メチルセルロース培地中)において炎症性サイトカインなどに応答する骨髄細胞(好中球)の挙動をトラッキングして評価することに成功した。スフェロイドの形状評価をAIによって行うシステムを構築した。様々な細胞からなる正常および疾患モデルスフェロイドを作製した。これらの要素を組み合わせることで、従来にはない炎症評価MPSを構築できると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

炎症応答を検出する試験管内システムは、ELISAによる炎症性サイトカインの検出やBoydenチャンバーを通過する好中球の個数を数えるという方法しかなかった。本研究の成果は、好中球の移動距離や移動速度などのパラメータ計測が可能であること、またさまざまな疾患モデルスフェロイドとの組み合わせが可能であることを示している。従来法を大きく超えた高い汎用性・拡張性をもつMPSとなることが期待できる。

研究成果の概要(英文)：In this study, we aimed to develop an inflammation evaluation microphysiological system (MPS) that enables the detection of inflammatory responses in organ models from the behavior of bone marrow cells (neutrophils). We succeeded in tracking and evaluating the behavior of bone marrow cells (neutrophils) that respond to inflammatory cytokines in a flat and three-dimensional environment in methylcellulose medium. We constructed a system that evaluates the shape of spheroids using AI. Normal and disease model spheroids composed of various types of cells were formed. By combining these elements, it was considered possible to construct a unique inflammation evaluation MPS.

研究分野：細胞生物学、組織工学、臓器設計学

キーワード：好中球 骨髄細胞 MPS migration 炎症 スフェロイド

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

生理学性を十分に担保した *in vitro* 培養システム、すなわち Microphysiological Systems (MPS) を開発し、これを用いて動物実験を代替するという研究が大いに注目を浴びている。MPS に備わるべき生理学性には機械的運動性や多臓器連結性などが挙げられるが、医薬品開発の毒性を正確に予測するためには、炎症応答性が不可欠である。本来、炎症は組織や臓器を守るための防御機構であるが、炎症自体が生体を傷つけ、急性および慢性疾患に繋がることが少なくないためである。一般的な培養細胞/組織の炎症検出法は以下の2種類がよく知られる。1つ目は培養細胞/組織に障害が生じると分泌される複数の炎症性サイトカインを、ELISA で定量するというものである。この方法の問題点は、複数のサイトカインの組み合わせがどのように好中球の応答を引き起こすのかという生理学的な解釈を得ることはできない点にある。2つ目は炎症性サイトカインに対する好中球の migration (遊走) 反応を、Boyden チャンバー (カルチャーインサート) 上部から下部への細胞移動を指標として定量するものである。ELISA に比べると生理学的な応答を評価できるが、細胞が何個移動したかという限られた情報しか得られない。全白血球の50%を占める好中球は常に体内を循環しており、炎症の初期に動員される。その挙動は、migration だけでなく、swarming (密集形成)・NETosis (neutrophil extracellular trap=好中球細胞外トラップを放出する細胞死) と多様である。これらの挙動を連続的に検出できれば、生体内の反応を再現し得る生理学性の高い炎症評価 MPS となる。

2. 研究の目的

本研究では、好中球の挙動をもって臓器モデルの炎症応答の検出を可能とする炎症評価 MPS の開発を目的とする。具体的には骨髄細胞 (好中球) が炎症性サイトカインなどに対して示す migration などの挙動変化を検出・定量化することを目的とする。また、骨髄培養と共培養するための肝臓や膵島、脳に関する正常臓器モデルや疾患臓器モデルを作製することを目的とする。

3. 研究の方法

- (1) マウス骨髄細胞組織の採取：8~10 週齢の C57BL/6NCrSlc 雄マウスを麻酔下で安楽死させ、大腿骨、脛骨、上腕骨を取り出した。骨端を切り落とし、氷上のペトリ皿において、23G の針を装着したシリンジに培地を満たし、骨端に培地を吐出して骨髄組織を回収した。骨髄組織をピペッティングで分散状態にし、洗浄や溶血処理ののち、血球計算盤を用いて細胞数を計測した。
- (2) セルソーターによる好中球の分取：骨髄細胞組織の懸濁液を 2%FBS バッファーでブロッキングしたのちに、抗体を添加した。洗浄後、PBS(-)に再懸濁し、解析直前に PI solution を 1 μ L 添加し懸濁した。細胞の分取及び解析はセルソーター-sh800 (ソニー) で行った。ダブレットを除く細胞のうち、PI-CD45+Gr-1+CD11b+の画分を分取した。抗体は、FITC anti-mouse CD45 Antibody (BioLegend)、APC Anti-Human/Mouse CD11b (TONBO bioscience)、PE-Cy7 Anti-Mouse Ly6G (TONBO bioscience) を用いた。
- (3) 炎症惹起因子と細胞との混合：細胞と各種の炎症惹起因子、Recombinant Murine MIP-2 (CXCL2; PEPROTECH) および Lipopolysaccharides from Escherichia coli O55:B5 (SIGMA) とを混合し、例えば市販の血球計算盤 (WATSON) へ滴下した。DAMPs として使用した細胞破砕液は、10% FBS RPMI で培養した THP-1 を無血清培地 200 μ L 中でホモジナイズして作製した。
- (4) メチルセルロース (MC) 法によるスフェロイドの作製：MC 法では、各種の細胞を細胞懸濁液が 4000cells/ μ L になるように調製した。懸濁液を例えば 0.5 μ L ずつ 3%MC 培地に吐出し、37°C、5%CO₂ のインキュベーターで1~2 日間培養した。3%MC 培地は各細胞用の培地とオートクレーブで滅菌処理した MC (4000 cP; SIGMA) を質量パーセント濃度で3%加え、4°Cの低温室内でスターラーを用いて 24 時間攪拌して作製した。必要に応じて、細胞凝集時に細胞外マトリックスを添加することで、スフェロイド内部の細胞外マトリックスを薄膜状に充填した。
- (5) 細胞のトラッキングやスフェロイドの形状評価：細胞のトラッキングやスフェロイドの形状解析は CellPathfinder (横河電機) を用いて行った。細胞のトラッキングでは CQ1 (横河電機) で撮影したタイムラプスデータを用い、時間経過とともに細胞挙動を計測した。スフェロイドの形状評価では特に CellPathfinder の DeepLearning 機能を活用した。
- (6) 統計：移動距離等に関するパラメーター値の多重比較には、Ordinary one-way ANOVA 検定、Tukey's multiple comparison test を用いて、危険率 5%で有意差検定を行った。

4. 研究成果

(1) 平面環境下における好中球の挙動を利用した炎症等の検出

好中球は炎症状態の組織や細胞から分泌された炎症性サイトカインやケモカインに応答し、炎症部位に遊走する。病原体由来の分子構造である病原体関連分子パターン (PAMPs) と損傷した細胞や組織由来の内因性の分子構造であるダメージ関連分子パターン (DAMPs) も、免疫細胞が応答して炎症反応が引き起こされる。PAMPs には、リポポリサッカライド (LPS) やザイモサンなどが挙げられ、DAMPs には、ATP やミトコンドリア DNA、尿酸等が含まれる。本研究では、市販のディスポーザブルな血球計算盤を活用し、炎症惹起因子に応答する骨髄細胞及び好中

球の挙動を定量化することで、従来法の課題を解決することを目的とした。

① 観察のインターバル条件の検討

インターバル 300 秒では追跡可能な細胞が急増し、最短の 10 秒でも追跡可能な細胞が存在した。同じ細胞の遊走距離をインターバル条件で比較すると、総移動距離 (Total distance) では有意に 10 秒での遊走が最も長くなったが、120 秒～300 秒間には有意差はなかった。一方で、始点と終点の距離 (Net distance) では、インターバル条件間に有意差は検出されなかった。

② 計測のコントロール条件と再現性

血清成分を含まない RPMI-1640 中では、好中球が自発的なネクロシスを生じる。含有させるべき血清の量について、好中球の挙動を観察・解析することで検討した。その結果、FBS を 0.25% 含有する RPMI で総移動距離が有意に最短となり、1% の FBS を含有する RPMI 中での好中球の遊走は有意に長かった。無血清培地条件下と 0.25% FBS 含有条件下での細胞の形状に違いがみられたため、Circularity (真円度) として定量化した。その結果、両者の真円度の値には有意差があり、0.25% の FBS 条件下で好中球の方がより円形に近い形状であった。FBS は好中球の生存に最低限の濃度が必要だが、同時に好中球の挙動に影響を与える因子が含まれていた。再生医療等製品に使用する細胞の培養には、血清代替成分が使用されることもあるため、FBS に対する反応は考慮しなくても良い可能性がある。

③ 炎症関連因子存在下での好中球の遊走

好中球の遊走パラメーターが炎症性サイトカイン等で変化するかどうかについて、各因子を添加したときの細胞挙動を観察・解析することで検証した。FBS に関しては前述と同様、1% の含有で好中球の有意な遊走が検出された (Fig. 1A, B)。ケモカインの一種である CXCL2 に対する好中球の有意な遊走は確認できなかった (Fig. 1C, D)。PAMPs の一種である LPS については 1 ng/ml 以上で、有意な遊走が観察された (Fig. 1E, F)。CXCL2 が検出できなかったことは想定外であった。CXCL2 は Boyden チャンバーでは正常に好中球の走化性を誘導した (ただし測定には 24 時間を要した)。我々の手法は Boyden チャンバーとは異なり、炎症惹起因子による濃度勾配が存在していない。これによって典型的な遊走がみられていない可能性がある。

④ 細胞破碎液中での好中球の遊走

細胞内容物が混入した細胞破碎液と好中球を混合し、好中球の遊走を観察し、どの程度の細胞死を検出できるか検証した。その結果、 5×10^5 cells 以上の条件で有意な遊走が検出された (Fig. 2A, B)。DAMPs としての細胞破碎液に応答できることがわかった。

(2) スフェロイド形状の評価システム

本研究では薬剤処理したスフェロイドや疾患モデルスフェロイドを作製することが一つの目標となる。我々が用いるスフェロイドは、従来法とは異なる「MC 法」によって作製されたものである。これらのスフェロイドはマイクロピペットによって吐出するという手作業で作られており、それなりの個体差が生じる。スフェロイドの形状評価はデータの安定化には不可欠である可能性もあり、画像解析によるスフェロイド評価法の開発を行った。スフェロイドを観察する装置として CQ1 を用い、解析のソフトウェアとして CellPathfinder を使用した。

Hep G2 細胞を用いてスフェロイドを作製し、96 サンプル分の明視野画像を取得した。CellPathfinder の認識機能を利用してスフェロイド部分の平面像を認識させることができた。この平面像の真円度、長軸短軸比、直径を算出して一定条件を満たすことで「良い」スフェロイド、それ以外を「悪い」スフェロイドと判定させるプログラムを作成した。その結果、我々が「良い」と感じるスフェロイドが「悪い」と判定されるなど、人とプログラムとで判定結果の乖離が生じることがわかった。この原因の一つは「良い」スフェロイドと「悪い」スフェロイドとの数値パラメーターの差をそれほど大きく設定できない点にある。また、スフェロイド部分を認識させる

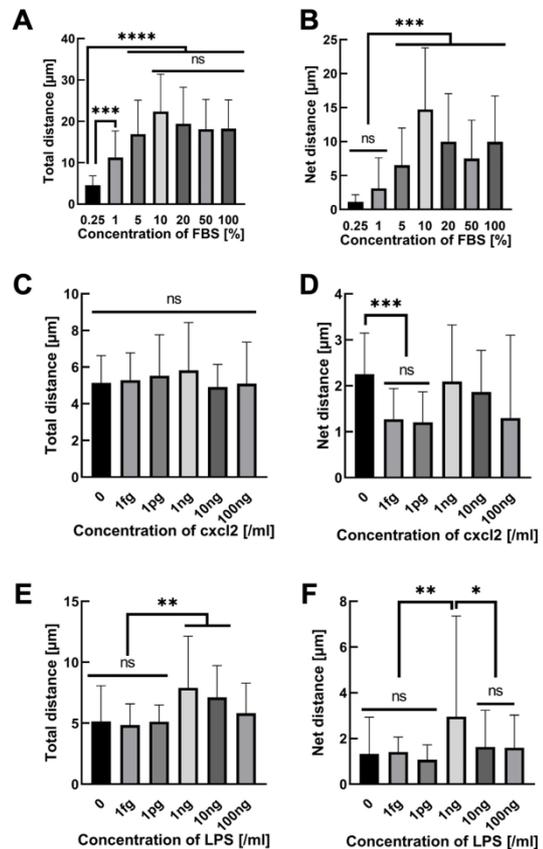


Fig. 1 炎症関連因子による好中球の遊走

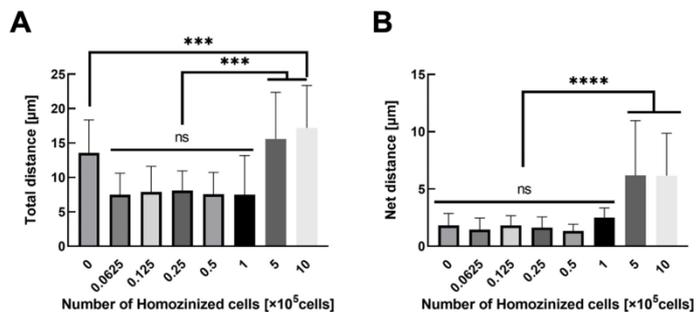


Fig. 2 細胞破碎液による好中球の遊走

こと自体が難しく、域値の設定がわずかに変化するだけで（解析者のスキルの差によって）数値パラメーターが変わってしまうことも問題と考えられた。

解析プロトコルを詳細に作り込むというアプローチには、解析担当者の高度な知識・技術が必要となる。CellPathfinderには、解析プロトコルを作成することなく直感的な操作によって画像のフェのタイプ解析が可能となる DeepLearning 機能が搭載されているため、これを活用することとした。96 サンプルのうち、「良い」スフェロイドを3つ、「悪い」スフェロイドを3つ選んでそれをもとに判定を行った。

スフェロイドの検出自体も DeepLearning 機能を利用した。その結果、人が「良い」と感じるスフェロイド（球状に近く、小さくないもの）を選定できることがわかった (Fig. 3)。学習したデータを他のプレートにもおおよそ適用できることもわかった。ただし、ここで選定した「良い」スフェロイドとはあくまで形状による判断であり、性能・機能的にどのように優れているかについては別の検討を行う必要がある。

● スフェロイドの判定(Deep Image Gate)

赤枠：Goodと判定されたもの

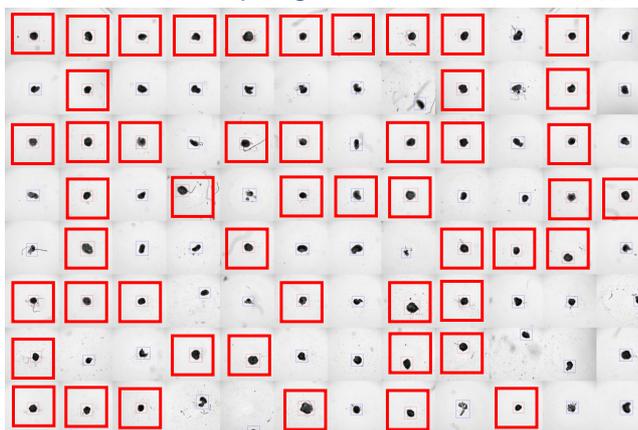


Fig. 3 スフェロイドの形状評価

(3) 様々な細胞によるスフェロイドの作製

本研究では、薬剤を暴露した臓器や組織、あるいは疾患状態を再現した臓器や組織を好中球の挙動として検出することが最終目的である。この目標を達成するために、さまざまな細胞を用いたスフェロイドの作製を試みた。ここでは5種のスフェロイドについて報告する。

① ヒト近位尿細管上皮細胞 (RPTEC) スフェロイド

既存の方法では RPTEC のスフェロイドを作製することが難しく、MC 法によって効率よく凝集・組織化を行うことができた。スフェロイド内部にマトリゲルを充填すると、培養とともにマトリゲル成分が集まり、スフェロイド内部に空間が生じることもわかった (Fig. 4)。

② HUVEC スフェロイド

本研究の研究期間は新型コロナウイルスによる影響を大きく受けることとなった。特にサイトカインストームによる重症化が話題となり、血管の炎症についての研究開発を行うこととした。血管は一層の血管内皮細胞によって形成される。したがって血管内皮細胞（ここでは HUVEC を使用）を多層的にスフェロイド培養することは、シャーレ上の平面培養よりも生理学性は低くなる可能性もあった。しかし、正常な血管、シャーレによる平面培養、スフェロイド培養をマイクロアレイ解析によって比較したところ、シャーレ培養よりもスフェロイド培養のほうが正常な血管の遺伝子発現パターンに近いということがわかった。また、平面培養とスフェロイド培養とで炎症性サイトカインに対する応答も異なることが判明し、血管内皮細胞のスフェロイド培養には平面培養にはない特性があると考えられた。

③ ヒト不死化アストロサイト (HASTR/ci35) のスフェロイド

HASTR/ci35 は研究分担者の降幡教授が作製した細胞であり、温度感受性の SV40-large T antigen と hTERT によって不死化されたものである。この不死化細胞は 33°C、10%ウシ胎仔血清存在下で増殖、37°Cかつ血清フリーで増殖を停止して分化した性質を示す。一方で、その分化の程度は初代培養アストロサイトに比べると低いことが知られており、スフェロイドにすることで分化程度を向上させることができる可能性があった。HASTR/ci35 は一般的なスフェロイド作製方法 (U-bottom プレート) ではスフェロイド周辺部分の組織化が足りず、一部の細胞が脱落することがわかった。一方、MC 法では、スフェロイド周辺部分でも組織化が生じ、使用した細胞の一つのスフェロイドとして効率よく作製できることが明らかとなった。平面培養とスフェロイド培養とを比べると、GS をはじめとした分化マーカーの発現が向上し、共培養した神経細胞の伸長を促進する効果がみられた。また、炎症性サイトカインで刺激すると、平面よりもスフェロイド培養で高い応答性が計測された (Fig. 5)。

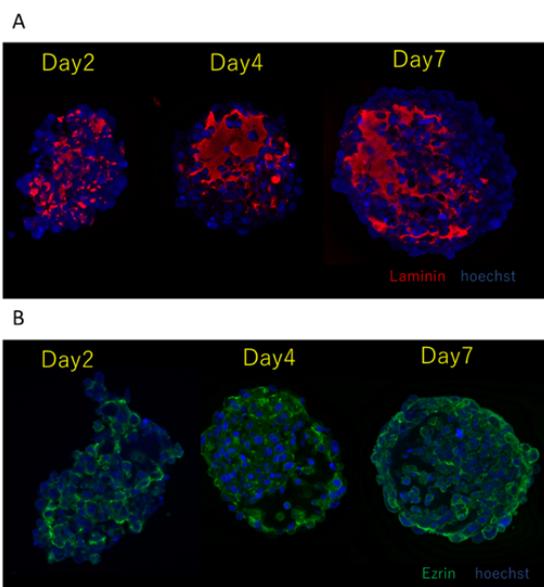


Fig. 4 RPTEC スフェロイド

④ 1型糖尿病モデルスフェロイド

疾患によっては臓器や組織に特定の細胞外マトリックスが蓄積することが知られている。例えば1型糖尿病では膵島内にヒアルロン酸が蓄積することが報告されている。ヒアルロン酸は炎症に関わる細胞外マトリックスであると知られているため、ヒアルロン酸の蓄積→炎症の惹起あるいは増悪→膵β細胞の脱落という流れが1型糖尿病の進行で生じていると考えられている。一方で、生体内ではヒアルロン酸の存在と免疫細胞による炎症応答とを切り分けることができないため、ヒアルロン酸が免疫細胞を介さずβ細胞に及ぼす影響を知ることは困難であった。我々は以前から健康なマウス膵島から単離した膵島細胞をヒアルロン酸とともに凝集させてスフェロイドをつくるという手法で、免疫細胞の非存在化でヒアルロン酸がマウスβ細胞のインスリン分泌活性を低下させることを見出してきた。本研究ではこのマウス1型糖尿病モデル膵島において、β細胞やα細胞だけでなく、δ細胞やPP細胞といった比較的数の少ないポピュレーションが脱落することなく、再構成した膵島に残存することを確認した。つまり我々の作製したマウス1型糖尿病モデル膵島では、δ細胞やPP細胞の関与も検討できることが明らかとなった。

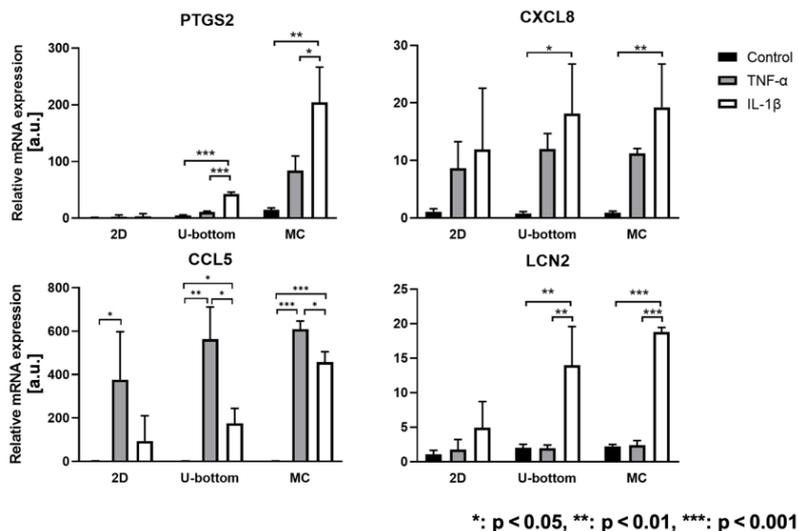


Fig. 5 HASTR/ci35 スフェロイドの炎症応答性

⑤ ウイルス感染による疾患モデルスフェロイド

研究期間中に大きな社会問題となったウイルス感染症の理解や治療法の開発には、ウイルスが感染する培養系を作ることが必須となる。しかし、野生型のウイルスは感染メカニズムがはっきりしないケースや、十分に感染効率が確保できないケースも多い。ウイルス感染は細胞にある表面受容体がウイルスと特異的に結合することが重要だが、ウイルスによっては表面受容体に関係なく細胞のエンドサイトーシスで取り込まれて感染するケースもある。また、受容体依存のとしてもウイルスと細胞とが空間的に密接に接近することが重要である。MC法は100 μmから100 nm程度までの直径を持つ粒状物質を凝集させることができる。大きめのウイルスは100 nm程度のサイズをもつため、MC法で細胞と一緒に凝集・濃縮が可能である。本研究ではMC法によってレンチウイルスと細胞とを凝集・濃縮させて、感染効率の改善がみられるか検証した。その結果、細胞数あたりのウイルス数を同じとしたときに、平面培養に比べてMC法でウイルスとともに凝集させて作製したスフェロイドは高い感染効率を示した。ここでは感染効率のよい市販のレンチウイルスを用いたが、今後は感染の難しい野生のウイルスで実験を継続したい。

(4) 3次元環境下における細胞自動追跡システムの構築

本研究の目標は3次元環境下(MC培地中)で好中球の動きを追跡することによって達成される。この追跡は手作業では困難であり、CQ1での観測後CellPathfinderにてトラッキングすることとした。ここで大きな問題は、培養中に予期せぬ対流が生じ、細胞が高速で流れてしまうことであった。いくつかの改善策を講じ、対流による細胞移動が少ない観測結果についてトラッキングを行うこととした。位相差顕微鏡像では培地中のデブリが気になるため、蛍光色素PKH26で骨髓細胞を染色して、蛍光観察像によってトラッキングを行った。タイムラプス観察は1分毎に90回(90分)実施した。Z軸方向には2 μmずつ40 μmにわたっての観測を行った。同一サンプルについて3つの異なるウェルでデータを取得して解析を行った。データの一例ではウェル1、ウェル2、ウェル3についてそれぞれ312個、295個、799個の骨髓細胞をトラッキングした。総移動距離の平均はそれぞれ36.2、36.6、18.2、平均速度は0.0116、0.0197、0.0193 μm/secとなった。これらのデータには対流による移動(バックグラウンド)が少なからず含まれている。しかし、Fig. 6に示すように特徴的な挙動を示す細胞も一定数存在していることから、バックグラウンドによる移動を除き、正味の移動距離や移動速度を算出する作業を行なっている。

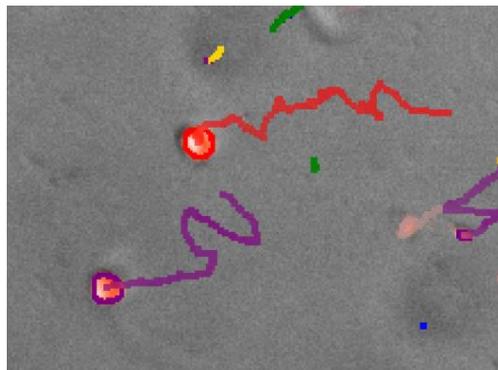


Fig. 6 MC培地中での3次元トラッキング

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Tao Fumiya, Hanada Sanshiro, Matsushima Kazuya, Arakawa Hiroshi, Ishida Naoki, Kato Yukio, Okimura Saya, Watanabe Tomohisa, Kojima Nobuhiko	4. 巻 135
2. 論文標題 Enhancement and maintenance of hepatic metabolic functions by controlling 3D aggregation of cryopreserved human iPS cell-derived hepatocyte-like cells	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Bioscience and Bioengineering	6. 最初と最後の頁 134 ~ 142
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jbiosc.2022.10.006	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tao Fumiya, Kitamura Keita, Hanada Sanshiro, Sugimoto Kazuyuki, Furihata Tomomi, Kojima Nobuhiko	4. 巻 10
2. 論文標題 Rapid and Stable Formation Method of Human Astrocyte Spheroid in a High Viscous Methylcellulose Medium and Its Functional Advantages	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Bioengineering	6. 最初と最後の頁 349 ~ 349
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/bioengineering10030349	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計25件（うち招待講演 16件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 小島伸彦
2. 発表標題 ユニークなスフェロイド作製技術による企業ネットワーク構築の試み
3. 学会等名 とっとりバイオフィロンティアWEBセミナー (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小島伸彦
2. 発表標題 Direct Aggregation Method to Form the Cell Society
3. 学会等名 HVC KYOTO 2022
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小島伸彦
2. 発表標題 強制的なスフェロイド作製技術がもたらす、細胞アッセイの未来
3. 学会等名 第20回 関東骨軟部腫瘍の基礎を語る会 秋セミナー（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小島伸彦
2. 発表標題 横浜市立大学発ベンチャー・エコセル株式会社
3. 学会等名 BioJapan 2022
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小島伸彦
2. 発表標題 細胞凝集技術による産業への挑戦
3. 学会等名 第8回細胞凝集研究会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小島伸彦
2. 発表標題 スフェロイドをデザインする技術が創薬支援に果たす役割
3. 学会等名 第30回WAKO Web受託セミナー 創薬におけるIn vivo～In vitro評価（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 田中大貴, 花田三四郎, 小島伸彦
2. 発表標題 スフェロイド培養によるHUVECの血管らしさと炎症応答性の改善
3. 学会等名 日本動物実験代替法学会第35回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小島伸彦
2. 発表標題 弱小研究室の絶望を希望にかえる大学発ベンチャーへの挑戦
3. 学会等名 PhRMA Translational Research Symposium ~ 神奈川、川崎ではぐくむ日本のシーズと人材 ~ (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kojima, N
2. 発表標題 A Unique Method to Form Spheroids with Various Designs
3. 学会等名 3rd Asian Congress for Alternatives to Animal Experiments (ACAAE) 2022 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小島伸彦
2. 発表標題 細胞外マトリックスを活用したスフェロイド研究 生理学性の向上から疾患モデルまで
3. 学会等名 第36回WAKO Web受託セミナー オルガノイド・スフェロイド研究の最前線 ~ 医薬品開発、再生医療への応用 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小島伸彦
2. 発表標題 スフェロイドが創薬や再生細胞医療に貢献する可能性
3. 学会等名 第47回Tonomachi Cafe (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小島伸彦
2. 発表標題 エコセル株式会社
3. 学会等名 RINK-FESTIVAL 2023 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小島伸彦
2. 発表標題 カスタムスフェロイドによる創薬支援の可能性
3. 学会等名 日本薬学会第143年会 (招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 小島伸彦
2. 発表標題 研究室開設から大学発ベンチャー設立への10年の歴史と研究費
3. 学会等名 「横浜 innovation Day」～自治体と歩む健康・医療分野のスタートアップ成長の道～ (招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Kojima, N.
2. 発表標題 Metabolic maturation of hiPSC-derived hepatocyte-like cells in multicellular spheroid culture
3. 学会等名 11th World Congress on Alternatives and Animal Use in the Life Sciences (WC11) 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小島伸彦
2. 発表標題 スフェロイドに関連したビジネスの基盤創生に向けた取り組み クラウドファンディングによる研究推進におけるメリット・デメリット
3. 学会等名 第12回BVAランチタイムセミナー (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小島伸彦
2. 発表標題 スフェロイドに対する期待と可能性
3. 学会等名 BioJapan 2021
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小島伸彦
2. 発表標題 肝臓をつくる方法、研究者になる方法
3. 学会等名 MPUF研究開発プロフェッショナルの流儀 第10回 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 渡辺吉彦, 竹内沙織, 松島孝弥, 小島伸彦
2. 発表標題 間隙をもつ肝スフェロイドを用いた薬剤応答性の評価
3. 学会等名 日本動物実験代替法学会第34回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 諸角光祐, 花田三四郎, 小島伸彦
2. 発表標題 近位尿細管上皮細胞 (PRTEC) スフェロイドの作製
3. 学会等名 細胞アッセイ研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 鶴貝優梨花, 小島伸彦
2. 発表標題 MIN6m9に対する細胞外マトリックスの影響
3. 学会等名 細胞アッセイ研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小島伸彦
2. 発表標題 スフェロイドに対する期待と可能性
3. 学会等名 再生医療イノベーションフォーラム (FIRM) 第13回ベンチャー創設支援フォーラム シーズ等紹介セッション (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 鶴貝優梨花, 小島伸彦
2. 発表標題 臍 細胞株に対する細胞外マトリックスの影響
3. 学会等名 第7回デザイン生命工学研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小島伸彦
2. 発表標題 強制的な細胞凝集法によるスフェロイドのデザイン
3. 学会等名 電気化学会第89回大会(招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小島伸彦
2. 発表標題 強制的なスフェロイド作製技術によるウイルス感染効率改善法
3. 学会等名 第2回BVAバイオインターフェース(招待講演)
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 日本組織培養学会	4. 発行年 2023年
2. 出版社 朝倉書店	5. 総ページ数 448
3. 書名 細胞培養・組織培養の技術 第4版	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	降幡 知巳 (Furihata Tomomi) (80401008)	東京薬科大学・薬学部・教授 (32659)	
研究分担者	西川 昌輝 (Nishikawa Masaki) (40843149)	東京大学・大学院工学系研究科(工学部)・講師 (12601)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関