総説

特集:脈管研究のための基盤テクノロジーの進歩 医薬工連携

組織工学と再生臓器

松田 武久

要 旨:再生臓器の中核技術には,細胞のクローナル選別と大量培養技術,細胞外微現的環境を 支配する細胞外マトリックス技術,生体力学ストレスに応答する骨格基材,およびそれらをアッ センブル化して力学刺激を負荷する培養技術のマルチスケールでマルチモードの生体外操作が必 須である。これらは密接なる医理工連携によって,加速度的に工程と行程が明確になり,新しい 高品位の医療を提供することになる。(J Jpn Coll Angiol, 2006, 46: 805–816)

Key words: tissue engineering, mechanical stress fields, artificial extracellular matrix

組織工学

生体外細胞操作と細胞外環境設計によって,細胞と 人工骨格基材と人工細胞外マトリックスからex vivoあ るいはin situで組織を作製し,これを病変組織と代替さ せて機能・構造の再生する分野は組織工学と呼ばれて いる。このようにして再構築された組織・臓器は人工 臓器と移植臓器の中間の"第三の臓器"と位置付けら れ,これを実現するためには密接なる医工連携が必要 であり,これによって近未来の再生医療が大きく推進 されることが期待されている¹⁻³)。

組織工学による組織再生には,

適切なる細胞ソースの確保と細胞のクローナル選別技術とその高速増殖技術を可能にする生体外細胞操作細胞の微視的外的環境設計・整備,すなわち細胞の 接着・伸展・増殖・移動・分化あるいは脱分化・再分化を担当する細胞外マトリックス(extracellular matrix: ECM)および生理活性蛋白質(サイトカイン等)の複合体による細胞直近の環境設計

細胞が集団化して組織として機能するアッセンブル 化技術(単層化・重層化,分散化,高密度,階層 化,配向化等)

高次の生体組織体を形成させ,かつ力学的構造を付 与し,望むマクロな形状を与える骨格基材(scaffold) とその成型・加工技術。すなわち,組織の巨視的形

金沢工業大学ゲノム生物工学研究所

状設計(例えば管状,シート状,ロッド状)と生体内 の内在応力あるいは外力に抗し,かつ力学的ストレ ス場を感応できる力学的・構造設計

の低次から高次の各段階に要求される材料・技術を合 目的的に設計することが必要であり,そのためには, 材料工学,生物工学,細胞生物学やマトリックス工 学,幹細胞工学等の多面的な協同作業が必要である。

は, , のミクロ環境を最大限に機能化させるの に加えて,マクロな組織体を形成させ,欠失あるいは 病変した組織の形状にフィットするマクロな形状,お よび,以下に説明する生体組織のマクロ構造および力 学的性質を模倣し,かつ生体組織が常時さらされてい る内在する,あるいは外的な力学的ストレス場に感応 する構造体(mechano-active scaffold)であることが望ま しい。

生理的力学場について説明すると,生体組織・臓器 を構成している細胞は,多かれ少なかれ生体の内在的 な,あるいは外的な力学的ストレスを受け,これに よって細胞・組織の恒常性を維持していることが明ら かにされつつある(Fig.1)。一般に,細胞はストレスに さらされると,それに対して的確に適応して形態形成 と機能発現とを行い,過度のストレスの場合には,破 綻死する。この中でも力学的ストレスは物理的な力と して細胞や生体が受ける刺激であり,摩擦力,ずり応 力(shear stress),伸展応力,圧縮応力,経壁圧力などで

²⁰⁰⁶年9月28日受理

ある。細胞は,内外に生じた力による変形に対して, それに適応するように(応力を小さく,エネルギー損失 を最小にするように)自らの形を変える能力を持ってい るので,細胞は変形を感知してその情報を形に変換し ていると言える。細胞にとって力学的環境要因は大切



Figure 1 Physiological stress fields affect tissue regeneration potentials and integrity of tissue architecture of stressloaded tissues such as vascular and cartilage tissues. な外的情報の一つであり,どのように感知して(メカノ センサの存在),どのような応答プログラム(シグナル 伝達)が整備・配置されているのかは,この10年間の細 胞生物学,特に血管内皮細胞の研究分野で明らかにさ れつつある。

力学的ストレスは物理的な力のベクトルおよびスカ ラー量およびその加重時間プロファイル(繰り返し,持 続あるいは間歇性)によって細胞機能の発現(増殖・分 化・アポトーシス)を起こし,遺伝子レベルの変化が生 じる。また,細胞単体のみならず,同種細胞の局所的 集合化と階層性サブ組織化,さらに組織全体としての 形および超微細構造に大きな変化をもたらす。細胞外 マトリックス分子にはベクトル方向への配向と集合に よる超分子構造体形成が起こる。Fig.2に,血管壁を例 にして細胞および細胞外マトリックスに及ぼす効果と 組織の再生と恒常性の維持に力学的ストレスが積極的 に関与しているシナリオを模式的に示した。

したがって,細胞を主役とする組織工学では,対象 とする臓器が生体内で受ける力学場の強度に対応して



Figure 2 Pulsatile blood flow is a principal modulator of maintaining homeostasis of vascular system. Hydrodynamic stress enhances shape and function of endothelial cells (ECs): high elongation and its orientation pararell to the flow direction as well as enhanced production of nitric oxide (NO), a multipotent regulator acting as a anti-platelet and anti-smooth muscle cells (SMC) proliferative functions. Pulsation induces periodic wall distention, which enhances NO production of ECs and supramolecular matrix assembling and orientation of SMCs, both at the circumferentioal direction. All these effects contribute to regeneration of normal vascular tissue.



Figure 3 Roadmap towards regenerative tissue engineering incorportated with many different disciplines, sciences and technologies.

迅速に変形でき,除重によって速やかに原形に復元で きる力学的細胞外環境場の設計が重要である。すなわ ち,力学ストレス場に感応し,細胞の形態と機能およ び細胞外マトリックスのレベルおよび組織レベルでの 高次構造化を具体化する骨格基材(mechano-active scaffold)の設計が組織工学の基盤とみなせる。力学的ス トレス場が最もかかる硬組織としての骨と歯,および軟 組織としての軟骨および靱帯は間歇的な力学負荷であ る。動脈血管では拍動により一心拍毎のせん断応力,伸 展応力が常時負荷されている。このような生体力学場に 感応する骨格基材の要求条件は以下の通りである。

力学刺激に対して破損・破壊しない力学的性質を有 する。

繰り返しまたは間歇的に受ける力学ストレスに感応 して迅速に伸縮および復元できる基材。

長期間の耐久性および耐ストレスの力学的特性がある。

対象とする臓器によっては,生体内リモデリングに よる正常組織の再生と同調して,骨格基材は分解・ 吸収され消滅する。

組織工学の工程

細胞外のミクロ環境では細胞外マトリックスが主要 な材料であり,マクロな形態は骨格基材である。Fig.3 に軟組織の再生技術として骨格基材の設計・加工技術 における典型的な工程を示した。骨格基材およびその 成型加工技術,およびアクティブ・バイオマテリアル を組み込んだ表面加工技術,化学工学的および機械工 学的知識と技術を組み込んで,生理的ストレスを負荷 すると機能的組織が形成できる。材料加工は組織作製 の初期の工程を担い,形成される組織の質を決定する 重要な因子である。したがって、細胞機能変換、細胞 形態制御から組織の微細構造形成,組織の形造りま で,微視的から巨視的レベルにまで細胞外環境整備と 形態形成・機能発現技術を可能にする基盤材料とアッ センブル化技術が必要である。バイオマテリアルの成 型・加工技術骨格基材として,その形態は液状,フィ ルム状,糸状,メッシュ状,ロッド状,筒状,塊状等 多岐にわたる。これらは汎用の工業技術でできるもの も多いが,その目的に合わせで tailor-made の加工技術 を工夫して開発することも必要とされる。本稿では, まず,人工細胞外マトリックスの分子設計を説明し, ついで自作の成型・加工装置による骨格基材の成型・ 加工技術(fabrication technology)を紹介する。

人工細胞外マトリックスの設計

細胞の再構築においては細胞接着・伸展配向等の細 胞レベルでの基本形態,サブ組織レベルでのこれらの 細胞の組織内での局在化・階層性、より巨視レベルで の組織全体の形造りを細胞外マトリックスは担ってお り,このような微視的から巨視的な細胞外環境を設計 できる機能的人工細胞外マトリックスの設計が望まれ ている。生体組織のマトリックス高分子はコラーゲ ン,エラスチンの構造蛋白質,コラーゲン,フィブロ ネクチン, ラミニン等の接着蛋白質, ヒアルロン酸等 のムコ多糖である。これらの異なるマトリックスは、 局在化に加えて自己組織化によって超分子構造化して 機能を担っている。また,サイトカイン等の生理活性 物質を担持,創傷時に徐放する機能を有している。人 工細胞外マトリックスとして, 細胞外マトリックス の生体高分子の主要機能構造支持体,細胞接着・増殖 床,サイトカイン貯蔵と徐放,保水性,耐圧縮性,弾 性的性質等 を人工的に模倣 , あるいはこれらの生体高 分子を化学修飾して機能化する, 細胞と混合して組 織を作成する際にゾルからゲルの物理的相転移を起こ し,不溶化・ゲル化するという2つの機能が重要であ る。これらの一群の機能的人工細胞外マトリックスの 設計と合成とその組み合わせにより,異種細胞を局在 化して階層的に重層でき,またサイトカインを固定・ 包埋でき,かつ生体内の力学的ストレス場に感応でき る高次組織体が形成できることになる。

生体の細胞外マトリックス高分子の主要な生理活性 部位のリガンドを人工材料あるいは生体材料に組み込 んだハイブリッド型マトリックスがある。例えば,細 胞接着の共通リガンドであるアミノ酸配列(RGD: Arg-Gly-Asp)を人工材料あるいは非接着性蛋白質のアルブ ミンに化学結合させて接着床を形成できる。また,ガ ラクトース鎖を組み込んだ人工基材は肝細胞のマト リックスとして機能することが報告されている。

一方,細胞を三次元的に包埋するためには,混合後 にゲル化する性質を有する細胞外マトリックスを用い ることが必須である。天然型のものを例に挙げると, 生理的温度に加温するとコラーゲンは線維形成し、つ いでゲル化する。この性質を利用してハイブリッド皮 膚、ハイブリッド肝臓が開発されている。アガロース の低温ゲル化能を利用してハイブリッド膵臓が開発さ れている。三次元人工細胞外マトリックスとしては、 熱による相転移あるいは光照射によるゲル化による細 胞包埋、あるいは上記のアガロースにRGDペプチドを 一部分化学結合させることによって人工細胞外マト リックスを形成できることになる。これらのゲル化能 を有する細胞外マトリックスを用いると、細胞を含む 層を階層的に構築できる。

熱によるものは感温性ポリマーを細胞外マトリック スにグラフトすることによって達成される。poly(Nisopropylacrylamide: PNIPAM)の水溶液の下限臨界点温 度(lower critical solution temperature: LCST)は31°Cであ る。これ以下では水溶性,これ以上では析出し,温度 変化による相分離特性を有することはよく知られてい る。後述するように, PNIPAMポリマーのコーティン グあるいは電子線グラフト重合により,感温性人工接 着基材が設計され,温度変化のみによって細胞に傷害 を与えずに細胞および単層シートが回収でき,再生医 療の中心技術とみなされている(東京女子医大 岡野光 夫教授)。ゼラチン,ヒアルロン酸にPNIPAMをグラフ ト重合したものは,感温性三次元マトリックスとして 応用されている。例えば、常温で軟骨細胞と混合し、 関節に注入することによって,内部でゲル化して軟骨 組織が形成できた(injectable matrix)。

一方,光によってゲル化する人工細胞外マトリック スとして,生体高分子,例えばゼラチンの側鎖のリジ ン残基にラジカル重合できるビニル基を導入したもの は,光開裂ラジカル開始剤の存在下で光照射すること によって重合しゲル化する。紡糸中およびマンドレル の中で重合させることによって,神経接合管が作製で き,生体内で機能した。また,光二重化反応を起こす 珪皮酸やクマリン基を側鎖に導入すると,分子間二量 化反応によってゲル化する。これらの光反応性マト リックスは血管内腔のコーティング材として応用され た。

成型・加工技術

(1) 多孔質体形成 ポリマ - フィルム膜は溶液を塗布してから溶媒を蒸

脈管学 Vol. 46, 2006



Figure 4 Elastomeric microporous scaffold made of poly- (L-lactide-co- ε -caprolactone) for cartilage tissue prepared with a conventional salt-leaching technique.



Figure 5 Micropillar array prepared by custom-designed μ stereolithographic technique using biodegradable polymerizable prepolymer with a moving ultraviolet light pen operated on a CAD/CAM system.

発させて造膜して作製できる。微細孔を形成した多孔 質体(フォーム)場合には, 食塩の微細粉をポリマ-が 溶けている有機溶媒に分散し,この不均一溶媒から造 膜し,ついで水(または熱湯)に浸漬して食塩を溶出さ せると,連通した微細孔を有するフォームができる (salt impregnation法)。微細孔の平均サイズや密度は用 いる食塩の微細粉のサイズや量によって操作できる。 また発泡剤を用いることによっても,同様なフォーム が形成される。あるいは造膜時に急速冷却して,相分 離を起こさせてゲル状態にし,低温下で真空乾燥する と,溶媒が揮散し,急速冷却時の冷却速度に応じて, 表面に対して方向性のある連通孔や樹状連通孔が形成 される(thermally induced phase separation法)。軟骨組織 の骨格基材として,生分解性でかつ骨格基材は耐圧縮 能力性と変形に対する迅速なる反発特性が必要とされ る。salt impregnation法によって作製した生分解性かつ 弾性のある高分子 poly(L-lactide-co-ε-caprolactone)の 走査電顕像をFig.4に示した。この材料は比較的大きい 孔を有し,繰り返し圧縮応力に変形し,かつ反発特性 を有しており,軟骨細胞を播種し,間歇的に圧縮応力 を負荷すると,ハイブリッド軟骨組織体が形成された。

(2)マイクロ光造形技術(µstereolithographic technology)

光照射によって光反応性液体プレポリマーを重合・ 硬化させて任意の形状のマイクロ立体構造を作製する 技術は光造形 rapid prototypingあるいはstereolithography) と呼ばれている。照射面積をフォトマスクで小さくし てXY軸で微動する光ペン(driving pen)および液状プレ ポリマーの浴槽にZ軸方向への可動プレートを浸漬し てCAD(computer-assisted design)およびCAM(computerassisted manufacturing)で操作するとFig.5のように突起 をもった数十~数百µmのサイズの立体構造が形成でき る。より複雑な構造体が生分解性の液状プレポリマー から作製でき,鋭い突起をもった構造体から動脈硬化 の血管壁の中膜層へ薬剤を直接注入するデバイスに応 用されつつある。また,細胞非接着性と接着性の液状 プレポリマーを用いることにより,容易に細胞・組織 チップを形成することも可能である(Fig.6)。

(3) 光マクロ造形法

ビニル基を側鎖に導入したゼラチンと水溶性光ラジ カル開裂剤を含有した濃厚水溶液を内筒と外筒とを有 するマンドレルの筒の間に入れ,回転下で光照射する とゲル化して管腔構造体が形成された。一方,紡糸し た直後に光照射することによって水不溶性の繊維が形 成された。予め水溶液の中にラミニンとNGF(nerve growth factor)等を含有させておくと,上記の管腔の中 に束として挿入したもの(Fig.7)は,末梢神経の接合を 促進した。また多数の微細径のステンレススチール ロッドをマンドレルの中に配列させて,上記の水溶液 を流し込んで光照射すると,多数の微細な連通孔をも

組織工学と再生臓器





Figure 7 Nerve guidance conduit is assembled with microfilaments impregnated with nerve growth factor and cell adhesive protein (laminin) and a protective tube, both of which are prepared by photofablication using styrenated gelatin.



Figure 8 Nerve guidance conduit composed of multi-channels prepared with a one-step photofabrication technique.

つロッドが形成できた(Fig.8)。いずれの場合にも,繊 維および微細孔壁をつたって神経組織は再生した。

(4)レーザ加工した微細孔形成体

紫外エキシマ・レーザは単波長のパルス光であり, その尖頭出力は極めて高く,高分子表面に照射する と,表面分解が起こり,2~3原子のガスとなって蒸散 する(laser ablation)。これを用いると,比較的薄い高分 子フィルムに連通の微細孔が精密形成される。高い耐 久性のある合成エラストマー(セグメント化ポリウレタ ン)にレーザ照射(KrF:248nm)して作製した微細孔を有 する筒(膜厚:100µm,内径1.5mm,孔サイズ100µm) が作製できた。孔サイズ,密度および孔配置はCADお よびCAMにより自動化される。このようにして作製し た小口径人工血管は,動脈の生理的圧力範囲で,圧-径相関が正常動脈壁のそれに近似した特性が得られた (compliance matching)。また動物移植実験で微細孔を通 して外側から内腔に組織が侵入し,これによって経壁 的内皮化(transmural endothelialization)が促進された。

(5)高電圧紡糸(electro-spinning: ELSP)によるナノ・ メッシュ

直流高電圧を金属コレクター基板(負極)と金属紡糸 ノズル(正極)間にかけ,高輝発性の極性溶媒にポリマー を溶解した液をノズルから押し出すと,糸状のジェット 流が負極に飛散する。溶液表面は正に大きく帯電し, 負極に接近するにつれて,その荷電密度は大きくな り,ついには電荷反発によりジェット流は不安定にな U(instable jet), 数十nmから数µm径のファイバーに分 散して金属コレクターに集積しnonwovenのメッシュ構 造体を形成する。ファイバー径は操作条件(電圧,コレ クターとノズル間距離等)や紡糸溶液(粘度,濃度,蒸 発速度,誘電率,表面張力等)によって変化し,また蒸 発速度が小さい高沸点溶媒を低沸点溶媒に少し添加す ると,ファイバー間の接触部位で融合(fusionあるいは welding)し、より強固なメッシュが形成される。金属 コレクターを高速回転でかつ軸方向に反復して移動で きるマンドレルを用いると,筒状メッシュ構造体が自 動的に作製できる。高速度のELSPでは円周方向に配向 しやすく,軸方向と円周方向の単軸伸展度あるいはヤ ング率は,ほぼ同じになる(等方性)。低速の時は軸方 向への異方性が高い。このようにして作製した人工血 管は極めて柔軟であり,動静脈用の小口径人工血管と して期待できる(Fig.9)。一方,あらかじめコラーゲン のナノメッシュを内腔面に形成してから合成高分子 メッシュを積層した複合構造体にすることも可能であ る。また,生分解性ポリマーとコラーゲンやヘパリン との混合溶媒より形成させたメッシュは各々の生体高 分子の生理活性を発現するメッシュとなる。

組織工学と再生臓器



Figure 9 Mesh type small-diameter artificial graft made of electrospun segmented polyurethane nano fibers.

(6)細胞播種およびマトリックス形成の自動作製装置 (dispense robot)

人工組織体あるいは骨格基材の任意の空間あるいは 平面に細胞を播種注入したり,あるいは細胞のパター ンを形成する自動装置(cell dispense robot)や細胞の代わ りに光反応性の人工細胞外マトリックスを平面コー ティングあるいは三次元構造体内に注入するdispense robotを紹介する。この装置は接着剤を塗布するために 開発されたものを細胞やマトリックス用に細胞障害を 起こさないように排出口(ニードル)や排出動力を改良 したもので,窒素ガスで目的とする溶液をニードルか ら排出する(Fig. 10)。排出量および塗布面積あるいは 塗布体積は操作パラメータ(電磁弁の開閉時間,ガス圧 およびニードル径)や排出液パラメータ(粘度)によって CADおよびCAMによってかなりの精度で制御される。 Fig. 11に光反応性ゼラチンの格子状マトリックスおよ び細胞コロニーパターン(内皮細胞および平滑筋細胞) を一例として示した。このようなXY平面におけるµm レベルの制御と同様に,深さ方向のZ軸に関しても排 出制御ができる。このdispense robotは現在軟骨細胞の 三次元多孔質体への三次元分配播種および内皮細胞の 三次元フラクタル状播種による毛細血管網の作製に応 用している。

(7) 管状血管組織の製作工場(vascular tissue factory) 細胞シート工学が岡野教授東京女子医科大学先端医 工学センター)らによって提唱され,その概念と技術は 再生医療の中核の一つとして近年多くの機能組織の再 構築に用いられ,従来にない高品位の機能を実現して いる。感温性ポリマー(PNIPAM)を電子線グラフト重 合した基材で生成した組織を常温に静置すると,細胞 シートが酵素を用いずに採取できるもので,この細胞 傷害のないシートを積層すると機能的心筋組織や角膜 組織が生成される。一部臨床応用されている。一方, PNIPAMをグラフト重合したゼラチン(PNIPAM - ゼラ チン)はコーティング可能であり, PNIPAMと同様に温 度に応答して析出・溶解を起こす。これを用いると、 PNIPAM - ゼラチンを塗布した基板に平滑筋細胞 (SMC)を播種し二次元細胞化を形成させ,ついでこの 基板を押して先端の一部分に下部に冷却水を通して冷 却すると,細胞シートが巻き取られる仕組みを考案し てデバイス化した(Fig. 12)。細胞シートは自動的にマ ンドレルに巻き取られて血管壁中膜層を形成する。こ れをマンドレルから抜去し,筒状組織体内面に内皮細 胞を播種して単層充填組織を形成させると内膜と中膜 から構成される管状ハイブリッド血管組織体が形成さ れることとなる(Fig. 13)。一方,動脈血管では内皮細



Figure 10 Custom-designed cell and matrix dispensing robot operated on a CAD/ CAM system.





А в С

Injection

Figure 11 Patterning of dispensed matrix and cells.

A: Two different types of matrices were dispensed to form cross-hatched striple patterns. B: Cell dispensing. C: Cells dispensed on gelatin region which was dispensed on thermoresponsive non-adhesive polymer-coated dish (×40).



Figure 12 Principle of rolle-up vascular tissue and schematic procedure. SMC: smooth muscle cell, EC: endothelial cell



Figure 13 Rolled vascular tissue factory using thermoresponsive cell-adhesive polymer and automatic rolling-up apparatus.

胞は流れの方向に紡錘状に延伸・配向しており,一 方,平滑筋細胞は円周状に配向して血管壁のホメオス テシスとしての恒常性を発現している。この配向構造 化を実現するためには,前者の組織にある一定期間流 体力学的擅断応力と拍動圧を負荷させるか,以下に述 べるように,予め平滑筋細胞は巻き取り方向に配向さ せておき,一方,先端部分には内皮細胞単層をマンド レルに平行して配向すれば,これらを巻取った場合に は,生体組織の各細胞の配向と同じになることにな る。Fig. 14に例を示した。これはハーバード大学の Whitesides教授考案のMicrosoft stamp法を使い,非接着 性高分子をプリントして実現したものである。



Figure 14 Cell sheet with oriented endothelial cells (ECs) and smooth muscle cells (SMCs) created with Whitesides' microcontact stamp method using themoresponsive non-cell adhesive and cell-adhesive polymers. Using the rolled factory in Figure 13, a rolled vascular tissue composed of EC and SMC, both orientation of which are the same as those in arterial vessel, is created.

終わりに

細胞を組み込んだ組織(engineered tissue)を実験室レベルから臨床応用および産業化へ確実にトランスレーションし,高品位でかつ高信頼性のengineered tissueを 製造するためには,各工程で自動化する必要がある。 本稿では,筆者の研究に限局してtailor-made engineered tissueに必須の人工細胞外マトリックスの設計 概念とプロトタイプのscaffoldの加工技術について概 説した。これ以外にも軟および硬組織の形成加工技術 は多く,研究者,技術者の考案と工夫が実る分野と言 える。密接なる医工連携は,その進行度を確実に加速 し,達成度を増大させ,高信頼かつ高品位の新しい医 療になるものと大いに期待できる。

文 献

- 1)田畑泰彦, 岡野光夫 編: ティッシュエンジニアリング <2005>, <2006>.日本医学館,東京,2005, 2006.
- 2)Lanza RP, Langer R, Vacanti J: Principals of Tissue Engineering. Academic Press, San Diego, 2002.
- 3)Lanza RP, Langer R, Vacanti J:再生医学.エヌ・ ティー・エス,東京,2002.

Engineered Tissues & Regenerative Medicines

Takehisa Matsuda

Genome Biotechnology Laboratory, Kanazawa Institute of Technology, Kanazawa, Japan

Key words: tissue engineering, mechanical stress fields, artificial extracellular matrix

Cell-based tissue engineering proceeds with interdisciplinary efforts, knowledge and techniques in biomaterial, biomechanics, cell biology and clinical fields. It represents one of the most dynamic areas of growth in scientific research and technology development. This article focuses on biomaterial-centered designs of artificial extracellular matrix and mechano-active scaffold, which are effectively incorporated into designed engineered tissues. The emphasis is placed on significance of close collaboration and cross-fertilization of relevant sciences. (J Jpn Coll Angiol, 2006, **46**: 805–816)

> Online publication December 18, 2006 脈管学 Vol. 46, 2006