

令和元年5月27日現在

機関番号：32607

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K10173

研究課題名(和文) 自己毛包幹細胞由来の心筋シートや幹細胞を用いた心不全と神経損傷部の再生医療

研究課題名(英文) Transplanted hair follicle stem cells promoted the recovery of peripheral nerve and spinal cord injuries and have the potential for heart regeneration as well.

研究代表者

天羽 康之 (Amoh, Yasuyuki)

北里大学・医学部・教授

研究者番号：10306540

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円

研究成果の概要(和文)：我々は、ヒトの頭部毛包から分離した毛包幹細胞 (human HAP (hHAP) stem cells) を用いて、心筋細胞への分化能を明らかにした。さらに我々は、移植可能なヒト頭部毛包由来の心筋シートの作製と、脊髄損傷部に移植可能な毛包幹細胞を組み込んだバイオマテリアルシートの作製、さらに移植後の安全性の確認を行った。本研究成果は有効な治療法の存在しない心機能低下患者への拍動する心筋シートを用いた再生医療と、脊髄損傷部の再生医療につながると考える。

研究成果の学術的意義や社会的意義

毛包幹細胞 (hHAP stem cells)を用いた再生医療は、皮膚という最も採取しやすい部位に分布している毛髪から簡便な方法で採取、利用することができる。また、hHAP stem cellを用いた再生医療の臨床応用においては、自己の毛包幹細胞を活用することができるため、拒絶反応の問題が少なく、他の生体幹細胞、iPS細胞やES細胞と比較して、腫瘍化の危険性が少なく、倫理面の縛りを受けず、安全性の高い治療法になることが期待される。

研究成果の概要(英文)：Nestin, a neuron specific stem cell marker, is expressed in hair follicle stem cells, which are located in the bulge area. Hair follicle stem cells differentiate to neurons, glial cells, keratinocytes, smooth muscle cells, melanocytes and cardiac muscle cells in vitro. Heart disease remains a leading cause of death worldwide. Due to the limited regenerative capacity of heart tissue, cardiac regenerative therapy has emerged as an attractive approach. In this study, we investigated whether cardiac muscle cells from hair follicle stem cells have potential for regeneration in clinics. Hair follicle stem cells differentiated to cardiac muscle cells and the differentiated potential to cardiac muscle cells keeps with age. It was induced by isoproterenol, activin A, BMP4 and bFGF. Beating cardiac tissue sheets were established in this culture system. These results suggest that cardiac muscle cells from hair follicle stem cells have potential for regeneration clinics.

研究分野：再生医療

キーワード：毛包幹細胞 ネスチン 心筋再生 再生医療

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

ネスチンは IV 型中間径フィラメントに属する細胞骨格タンパク質である。マウス、ラット、ヒトの胚発生初期において、中枢神経系 (CSN) 幹細胞や神経前駆細胞に強発現し、分化に伴って発現は減少、消失する。神経領域において、ネスチンは重要な神経幹細胞マーカーとして注目されている。

毛包幹細胞の正確な位置は 2004 年に Amoh らによって初めて明らかとなった。彼らは、ネスチン遺伝子のプロモーターと第 2 イントロンの間に GFP を組み込んだトランスジェニックマウス (ネスチン-GFP マウス) を用いて、毛包脂腺付着部位に分布する毛包幹細胞がネスチンを強く発現し、ネスチンを発現した毛包幹細胞が毛周期と一致して増えていることを明らかにした (1)。また、ネスチン陽性毛包幹細胞に連結する真皮血管網にもネスチンが強く発現しており、毛周期に伴って血管新生を誘導すると報告した (2)。

ネスチン陽性毛包幹細胞は多分化能を有し、これまでに神経細胞、グリア細胞、角化細胞、平滑筋細胞、色素細胞への分化能を持つことが明らかとなっている (3,4)。毛包を B-27 含有 DMEM-F12 培養液に bFGF を添加し培養すると、球体構造をとった毛包幹細胞を分離することができる。分離した毛包幹細胞をヌードマウスの切断した末梢神経間や損傷した脊髄間へ移植すると、この毛包幹細胞が主にグリア細胞に分化し、シュワン細胞となって既存の神経軸索の再生を促進させ、末梢有髄神経や脊髄の神経線維を再生した (5,6)。さらに、最近我々は、マウス髭毛包の毛包幹細胞が心筋細胞への分化能を持つことを報告した。毛包幹細胞由来の心筋細胞は心筋細胞の構造特異的タンパクである心筋トロポニン T を発現しており、自律的拍動は isoproterenol 添加によって上昇し、propranolol 添加によって抑制される。マウス髭毛包を上、中、下の三部位に分け、それぞれ分化培養すると毛包上部から最も心筋細胞が分化し、毛包幹細胞領域を含む毛包上部が最も心筋細胞へ分化しやすいと報告した。

### 2. 研究の目的

本研究ではマウス髭毛包を用いて、毛包幹細胞から分化した心筋細胞の臨床応用への有効性を検討した。まず、毛包幹細胞から心筋細胞への分化能の週齢によるちがいを検討した。次に、毛包幹細胞から心筋細胞への誘導条件を検討し、心筋シートを作成した。さらに、毛包幹細胞から分化した心筋細胞を SCID マウスの心臓上に移植し、生着能を確かめた。

さらに我々は、polyvinylidene fluoride membrane 上で毛包幹細胞を培養し、末梢神経損傷部の再生を誘導した。我々は移植可能なヒト頭部毛包由来の心筋シートの作製と、脊髄損傷部に移植可能な毛包幹細胞を組み込んだバイオマテリアルシートの作製、さらに移植後の安全性の確認を行った。本研究成果は有効な治療法の存在しない心機能低下患者への拍動する心筋シートを用いた再生医療と、脊髄損傷部の再生医療につながると考える。

### 3. 研究の方法

#### (1) マウス

C57BL/6J マウス (4,10,20,40 週齢) および、重症複合免疫不全 (severe combined immunodeficiency ; SCID) マウス (C.B-17/ lcr-scid) は CLEA 社 (Kawasaki, Japan) から購入した。C57BL/6-EGFP 遺伝子組換えマウス (GFP マウス) は北里大学薬理学より分与を受けた (14)。すべての動物実験は北里大学のガイドラインに基づいて行った。

#### (2) 毛包採取・培養

マウスを炭酸ガス吸入で安楽死させ、解剖用ハサミを用いて髭毛包を含む上唇を切り取った。実体顕微鏡下において上唇を解剖し、髭毛包をピンセットで真皮側に引き抜いた。

採取したマウス髭毛包を実体顕微鏡下で 3 部 (上・中・下) に切り分けた。毛包上部はマトリゲル基底膜マトリックス (BD Bioscience, Bedford, MA) で培養皿上に固定し、37 °C、5 % CO<sub>2</sub> / 95 % Air の条件下で培養した。培養液は 10 % 牛胎児血清 (FBS) を含む DMEM (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) に 50 µg / ml gentamycin (Gibco, Grand Island, NY)、2 mM L-glutamine (Gibco)、10 mM Hepes (MP Biomedicals, Santa Ana, CA) を添加したものを使用した (10 % FBS DMEM)。

心筋細胞への分化誘導は 10 % FBS DMEM に 3 µM isoproterenol (Sigma-Aldrich) または、3 µM isoproterenol (Sigma-Aldrich)、10 ng / ml activin A (HumanZyme, Chicago, IL)、10 ng / ml bone morphogenetic protein 4 (BMP4) (HumanZyme)、5 ng / ml basic fibroblast growth factor (bFGF) (Millipore, Temecula, CA) を 4 日ごとに添加し行った。

#### (3) Cell ELISA

マウス髭毛包上部を 24 well cell plate (Corning, Kennebunk, ME) 上で 4 週間培養し、分化した細胞を 4 % パラホルムアルデヒドで固定した。その後、マウス抗心筋トロポニン T 抗体 (cardiac troponin T; cTnT) (1:2000, Gene Tex, Hsinchu City, Taiwan) と室温で 1 時間反応させた。その後、HRP-protein A/G Purified Recomb® (1:10000, Thermo science, Rockford, IL) と室温で 1 時間反応させた。

#### (4) 蛍光免疫染色

マウス髭毛包上部を 35mm glass bottom culture dish (Mat Tek corporation, Ashland, MA) 上で 4 週間培養した。分化した細胞を 4% パラホルムアルデヒドで 30 分間固定した。ブロッキング・浸透化液 (4 % BSA, 0.5 % Triton X-100, 0.04 % NaN<sub>3</sub> 含有 PBS-) で 30 分間処理したあと、一次抗体と室温で 3 時間反応させた。

#### (5) フローサイトメトリー

マウス髭毛包上部を 6 well plate (Corning) 上で 4 週間培養し、分化した細胞を 4 %パラホルムアルデヒドで固定した。その後、マウス抗心筋トロポニン T 抗体(1:200, Gene Tex)、マウス抗 SMA 抗体(1:200)または PE 標識抗ラット CD31 抗体(1:200, BD Bioscience) と室温で 30 分間反応させた。洗浄後、PE 標識抗マウス IgG 抗体 (1:500, Abcam, Cambridge, UK) と室温で 20 分間反応させた。これらを FACS Verse (BD Bioscience) で測定し、FACS Suite™ (BD Bioscience) を用いて解析した。洗浄および抗体の希釈は 2 % FBS、0.5 % Tween-20、2 mM EDTA 含有 PBS-を使用した。

#### (6) リアルタイム-PCR

Total RNA は毛包上部 20 個から RNeasy® Plus Mini Kit (QIAGEN, Hilden, Germany) を用いて精製し、OneStep™ PCR Inhibitor Removal Kit (ZYMO RESEARCH, Irvin, CA) によってメラニン除去処理を行った。その後、SuperScript® VILO™ cDNA Synthesis Kit によって cDNA 合成を行った。リアルタイム PCR は TaqMan Gene Expression Assays (Applied Biosystems, Foster City, CA) と TaqMan Probes(GAPDH: Mm99999915\_g1: Nanog: Mm02019550\_s1: Nestin: Mm00450205\_ml Oct3/4: Mm03053917\_g1: Sox2: Mm03053810\_s1 and SSEA1: Mm00487448\_s1) を用いて CFX96 (Bio-Rad, Hercules, CA) で測定した。発現量は GAPDH で標準化し、4 週齢との相対発現量で示した。

#### (7) 細胞内カルシウムイメージング

マウス髭毛包上部を 35mm glass bottom culture dish (Mat Tek corporation) 上で培養した。分化した細胞を HEPES Ringer 液で洗浄した後、Fluo-3AM (Molecular Probes) と 37 °C で 20 分間反応させた。Fluo-3AM 蛍光 (励起波長: 508 nm、蛍光波長: 527 nm) は共焦点レーザー顕微鏡(Carl Zeiss)を用いて毎 150mm 秒間隔で撮影し、計測した。

#### (8) 移植

4 週齢 GFP マウスから採取した髭毛包上部を 10 % FBS DMEM に 3 μM isoproterenol (Sigma-Aldrich)、10 ng / ml activin A (HumanZyme)、10 ng / ml BMP4(HumanZyme)、5 ng / ml bFGF (Millipore) を 4 日ごとに添加し、2 週間培養した後、心筋細胞懸濁液とした。SCID マウスの腹腔内に三種混合麻酔( midazolam 0.5 mg / kg、bupropion-tetrate 0.5 mg / kg、medetomidine hydrochloride 0.3 mg / kg) 後、実験動物人工呼吸器 SN-40(SHINANO manufacturing, Tokyo, Japan) を用いた呼吸管理下で、心筋細胞懸濁液を 29G のシリンジ (TERUMO, Tokyo, Japan) で SCID マウス心臓に移植した。2 週間後、麻酔下で開胸し心筋細胞の生着を蛍光顕微鏡下で観察、撮影した。さらに、取り出した心臓を凍結切片にし、蛍光免疫染色にて心筋細胞の生着を確かめた。

#### (9) hHAP stem cell を有するヒト頭部毛包上部の分離

5 人の外科的切除された頭皮組織の正常頭皮から毛包を分離した。5 人の患者は男性 3 人、女性 2 人であり、患者の年齢は 42-63 歳で平均値 49.8 ± 8.7 歳であった。組織採取にあたり、当該患者には、北里大学医学部倫理委員会の規定に則り、インフォームドコンセントを取得し、生体試料の実験的使用はヘルシンキ宣言の指針に従い行った。頭皮の毛髪を双眼実体顕微鏡下でメスを用いて毛包 1 本ずつ、正常頭皮組織から分離し、hHAP stem cell が分布する毛包上部で切離した。頭皮の標本サンプルの大きさは約 0.5 × 0.5 × 0.5cm 大で、1 人の患者から 80 ± 26 本の毛包全体を分離した。すべての外科的切除は無菌操作下で行った。

#### (10) 毛包幹細胞を有するヒト頭部毛包上部の培養とヒト毛包幹細胞 (hHAP stem cell) コロニーの分離・培養

hHAP stem cell を分離・培養するために、6 ウェル平底細胞培養皿 (Corning, Kennebunk, ME) を用いて、10%ウシ胎仔血清 (FBS)、50 μg/ml ゲンタマイシン (Gibco, Grand Island, NY)、2mM グルタミン (Gibco)、2mM ヘペス緩衝液 (MP Biomedicals, Santa Ana, CA) を含む DMEM (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) 培地を用いて、毛包上部のみを培養した。

#### (11) 毛包幹細胞を有するヒト頭部毛包上部から分化した細胞と hHAP stem cell コロニーから分化した細胞の免疫蛍光染色と FACS 解析

hHAP stem cell コロニーは幹細胞マーカー、抗 SSEA1 抗体、抗 SSEA3 抗体、抗 SSEA4 抗体、抗 Nanog 抗体、抗 Oct3/4 抗体、抗ネスチン抗体で免疫蛍光染色を行った。また、毛包幹細胞を有するヒト頭部毛包上部から分化した細胞と hHAP stem cell コロニーから分化した細胞は、それぞれ神経系マーカー；抗 III チューブリン抗体、グリア細胞マーカー；抗 GFAP 抗体、角化細胞マーカー；抗 K15 抗体、平滑筋細胞マーカー；抗 SMA 抗体、さらに心筋細胞マーカー；抗 cTnT 抗体を用いて免疫蛍光染色にて分化を確認した。

### 4. 研究成果

#### (1) 毛包幹細胞の週齢による心筋分化能の比較

毛包幹細胞の週齢による心筋細胞への分化能のちがいを調べるために、4, 10, 20, 40 週齢マウスから採取した髭毛包上部を 4 週間分化培養し、比較した。

マウス髭毛包は上唇の左右に分布しており、片側を 1 パッドとした。マウス髭毛包は 1 パッド内で規則的に分布し、その大きさは耳側から鼻側にかけて小さくなる。本研究では耳側に位置する大きな毛包 20 個を ear side、鼻側に位置する小さな毛包 11 個を nose side とした。

4, 10, 20, 40 週齢マウス髭毛包上部を髭毛包分布どおりに 24well plate に配置した。培養 4 週間後、心筋細胞が分化したウェル数を比較した。4 週齢マウスでは 10, 20, 40 週齢と比較して 1 パッドあたりの心筋細胞を分化した髭毛包数が有意に高かった。一方で、10, 20, 40 週齢間に有意な差は認められなかった。

(2) 毛包幹細胞の週齢による多分化能の比較

毛包幹細胞の週齢による多分化能のちがいを免疫染色で確かめた。4, 10, 20, 40 週齢マウス髭毛包上部を 4 週間培養し、分化した細胞を抗  $\beta$ -III tublin 抗体、抗 GFAP 抗体、抗 K15 抗体、抗 SMA 抗体で免疫染色を行うと、全週齢から各種抗体陽性細胞を確認できた。

(3) 毛包幹細胞の週齢による未分化マーカー発現量の比較

毛包幹細胞の週齢による未分化マーカー発現量のちがいを確かめた。4, 10, 20, 40 週齢マウス髭毛包の未分化マーカー発現量 (nestin, nanog, oct3/4, sox2, SSEA1) をリアルタイム-PCR を用いて週齢ごとに比較した。いずれも週齢による発現量に有意な差は認められなかった。

(4) 70 週齢マウス髭毛包幹細胞の多分化能の検討

70 週齢マウスから採取した毛包幹細胞が多分化能を有するか免疫染色で確かめた。70 週齢マウス髭毛包上部を 4 週間培養し、分化した細胞を抗心筋トロポニン T 抗体、抗  $\beta$ -III tublin 抗体、抗 GFAP 抗体、抗 K15 抗体、抗 SMA 抗体で免疫染色を行うと、全ての抗体陽性細胞を確認できた。また、明視野像では色素細胞を確認できた。毛包幹細胞の心筋細胞、神経細胞、グリア細胞、平滑筋細胞、角化細胞への分化能は 70 週齢でも維持されることがわかった。

(5) 毛包幹細胞から心筋細胞への分化誘導条件の検討

マウス髭毛包から心筋細胞へ効率良く分化誘導される培養条件を検討した。

(6) 毛包幹細胞からの心筋シートの作成

毛包幹細胞から心筋シートを作成するために、マウス髭毛包上部を適当な間隔をおいて glass bottom culture dish に配置し、Isoproterenol+activinA+BMP4+bFGF の培養条件 (10 % FBS DMEM に isoproterenol, activin A, BMP4, bFGF を 4 日ごとに添加) で 14 日間培養した。培養 3 日目には毛包から分化した細胞が培養皿上に広がり、培養 7 日目には心筋細胞が毛包の周囲に広がった。培養 10 日目から 14 日目には拍動する心筋シートが毛包間に観察できた。心筋シートの免疫染色像では心筋細胞が心筋シート全体に分布していることが確認できた。また、心筋シートに含まれる心筋細胞の細胞内カルシウムイメージングを行うと、拍動に同調するカルシウムトランジェントが確認できた。

(7) 毛包幹細胞由来心筋細胞の生着能の検討

毛包幹細胞から分化した心筋細胞の生着能力を調べた。4 週齢の GFP マウス髭毛包上部を Isoproterenol+activin A+BMP4+bFGF 培養条件で 14 日間培養し、分化した細胞を SCID マウスの心臓上に移植した (図 1A)。毛包から分化した細胞には 17.76  $\pm$  0.77 % の心筋細胞が含まれていた (図 1B, C)。移植 2 週間後、SCID マウスを麻酔下で開胸し蛍光顕微鏡下で観察すると、心臓上への GFP 陽性細胞の生着が認められた。さらに、取り出した心臓を凍結切片にし、抗心筋トロポニン T 抗体を用いて免疫染色すると、SCID 心臓内に GFP を発現した抗心筋トロポニン T 抗体陽性細胞が認められた (図 1D)。

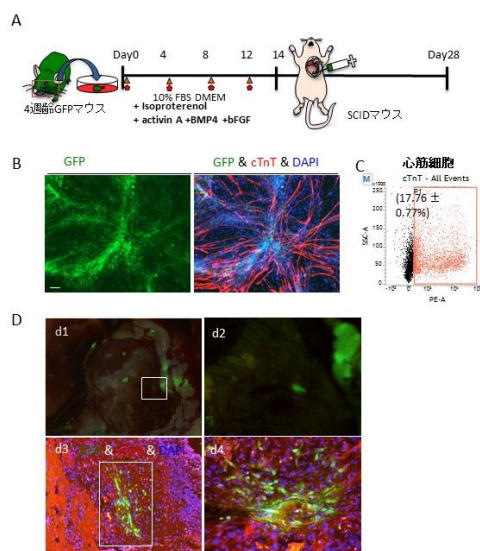


図1. 毛包幹細胞由来心筋細胞の生着  
 (A)心筋細胞移植のプロトコール。  
 (B)培養14日目の免疫染色像。緑=GFP、赤=cTnT、青=DAPI。  
 (C)培養14日目のフローサイトメトリー解析。  
 (D)心筋細胞の移植後14日後の実体顕微鏡写真(d1, d2)と免疫染色像(d3, d4)。緑=GFP、赤=cTnT、青=DAPI。

(8) 毛包幹細胞を有するヒト頭部毛包上部からの心筋細胞、神経細胞、グリア細胞、角化細胞、平滑筋細胞への分化

ヒト毛包上部を分離し 10%FBS を含む DMEM で培養した。培養後、hHAP stem cell はそれぞれ cTnT 陽性の心筋細胞、ネスチン、III チュープリン陽性の神経細胞、GFAP 陽性のグリア細胞、K15 陽性の角化細胞、SMA 陽性の平滑筋細胞に分化した。FACS 解析でも心筋細胞、神経細胞、グリア細胞、角化細胞、平滑筋細胞への分化が明らかになった。

(9) ヒト頭部毛包上部からの hHAP stem cell コロニーの形成

毛包の上部を DMEM+10%FBS で培養し、培養 4 週後に FBS を含まない DMEM/F12 培地にヒト毛包上部から増殖した細胞を移した。その 1 週後に hHAP stem cell のコロニーを数多く形成した。hHAP stem cell コロニーは SSEA1 陰性、SSEA3、SSEA4、Nanog、Oct3/4、ネスチン陽性であった。

(10) ヒト毛包上部から形成された hHAP stem cell コロニーの心筋細胞、神経細胞、グリア細胞、角化細胞、平滑筋細胞への分化

hHAP stem cell コロニーを 1 週間 2 日毎に bFGF を加えた B-27 を含む DMEM/F12 培地から DMEM+10%FBS 培地に移して 2 日後にネスチン陽性の hHAP stem cell コロニーから分化しつつある細胞が見られた。hHAP stem cell コロニーはトロポニン陽性の心筋細胞、ネスチン、III チュープリン陽性の神経細胞、GFAP 陽性のグリア細胞、K15 陽性の角化細胞、SMA 陽性の平滑筋細胞に分化した。FACS 解析でも心筋細胞、神経細胞、グリア細胞、角化細胞、平滑筋細胞への分化が明らかになった。

#### <引用文献>

Li L, Mignone J, Yang M, Matic M, Penman S, Enikolopov G, et al. Nestin expression in hair follicle sheath progenitor cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100: 9958-61.

Amoh Y, Li L, Yang M, Moossa AR, Katsuoka K, Penman S, et al. Nascent blood vessels in the skin arise from nestin-expressing hair-follicle cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101: 13291-5.

Amoh Y, Li L, Katsuoka K, Penman S, Hoffman RM. Multipotent nestin-positive, keratin-negative hair-follicle bulge stem cells can form neurons. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102: 5530-4

Amoh Y, Mii S, Aki R, Hamada Y, Kawahara K, Hoffman RM, et al. Multipotent nestin-expressing stem cells capable of forming neurons are located in the upper, middle, and lower part of the vibrissa hair follicle. *Cell Cycle* 2012; 11, 3513-7.

Amoh Y, Li L, Campillo R, Kawahara K, Katsuoka K, Penman S et al. Implanted hair follicle stem cells form Schwann cells that support repair of severed peripheral nerves. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102: 17734-8

Amoh Y, Li L, Katsuoka K, Hoffman RM. Multipotent hair follicle stem cells promote repair of spinal cord injury and recovery of walking function. *Cell Cycle* 2008; 7: 1865-9.

#### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計6件)

Koya Obara, Natsuko Tohgi, Kyoumi Shirai, Sumiyuki Mii, Yuko Hamada, Nobuko Arakawa, Ryoichi Aki, Shree Ram Singh, Robert M. Hoffman, Yasuyuki Amoh Hair-Follicle-Associated Pluripotent (HAP) Stem Cells Encapsulated on Polyvinylidene Fluoride Membranes (PFM) Promote Functional Recovery from Spinal Cord Injury. *Stem Cell Reviews and Reports* 15, 59-66, 2019, 10.1007/s12015-018-9856-3. 査読有

Aiko Yamazaki, Kohya Obara, Natsuko Tohgi, Kyoumi Shirai, Sumiyuki Mii, Yuko Hamada, Nobuko Arakawa, Ryoichi Aki, Robert M. Hoffman, Yasuyuki Amoh Implanted hair-follicle-associated pluripotent (HAP) stem cells encapsulated in polyvinylidene fluoride membrane cylinders promote effective recovery of peripheral nerve injury. *Cell Cycle* 16, 1927-1932, 2017, 10.1080/15384101.2017.1363941. 査読有

Kyoumi Shirai, Yuko Hamada, Nobuko Arakawa, Aiko Yamazaki, Natsuko Tohgi, Ryoichi Aki, Sumiyuki Mii, Robert M. Hoffman, Yasuyuki Amoh Hypoxia enhances differentiation of hair follicle-associated-pluripotent (HAP) stem cells to cardiac muscle cells. *Journal of Cellular Biochemistry* 118, 554-558, 2017, 10.1002/jcb.25734. 査読有

Natsuko Tohgi, Koya Obara, Yuko Hamada, Nobuko Arakawa, Masateru Yashiro, Sumiyuki Mii, Ryoichi Aki, Robert M. Hoffman, Yasuyuki Amoh Human hair-follicle associated pluripotent (hHAP) stem cells differentiate to cardiac-muscle cells

Cell Cycle 16, 95-99, 2017, 10.1080/15384101.2016.1253642. 査読有

Aiko Yamazaki, Yuko Hamada, Nobuko Arakawa, Masateru Yashiro, Sumiyuki Mii, Ryoichi Aki, Katsumasa Kawahara, Robert M. Hoffman, [Yasuyuki Amoh](#)  
Early-age-dependent selective decrease of differentiation potential of hair-follicle-associated pluripotent (HAP) stem cells to beating cardiac muscle cells.  
Cell Cycle 15, 2619-2625, 2016, 10.1080/15384101.2016.1208870 査読有

Aiko Yamazaki, Masateru Yashiro, Sumiyuki Mii, Ryoichi Aki, Yuko Hamada, Nobuko Arakawa, Katsumasa Kawahara, Robert M. Hoffman, [Yasuyuki Amoh](#)  
Isoproterenol directs hair follicle-associated pluripotent (HAP) stem cells to differentiate in vitro to cardiac muscle cells which can be induced to form beating heart muscle tissue sheets.

Cell Cycle 15, 760-765, 2016, 10.1080/15384101.2016.1146837. 査読有

〔学会発表〕(計5件)

Koya Obara, Aiko Yamazaki, Natsuko Tohgi, Kyoumi Shirai, Sumiyuki Mii, Yuko Hamada, Nobuko Arakawa, Ryoichi Aki, Robert M. Hoffman, [Yasuyuki Amoh](#)  
Hair-follicle-associated pluripotent (HAP) stem cells captured on polyvinylidene fluoride membranes promote functional recovery of spinal cord injury  
International Investigative Dermatology (IID 2018), Orland  
2018年5月16日~19日

Koya Obara, Aiko Yamazaki, Natsuko Tohgi, Kyoumi Shirai, Sumiyuki Mii, Yuko Hamada, Nobuko Arakawa, Ryoichi Aki, Robert M. Hoffman, [Yasuyuki Amoh](#)  
Transplantation of nestin-expressing hair spheres rolled in polyvinylidene fluoride membrane (hair sphere roll) promotes the recovery of peripheral nerve injury  
10th World Congress for Hair Research (WCHR2017), Kyoto  
2017年10月31日~11月3日

Natsuko Tohgi, Koya Obara, Yuko Hamada, Masateru Yashiro, Nobuko Arakawa, Sumiyuki Mii, Ryoichi Aki, Robert M. Hoffman, [Yasuyuki Amoh](#)  
Isoproterenol directs human hair follicle-associated pluripotent (hHAP) stem cells to differentiate to cardiac muscle cells  
The 76th Annual Meeting of the Society for Investigative Dermatology, Portland, Oregon  
2017年4月26日~4月27日

Natsuko Tohgi, Koya Obara, Yuko Hamada, Nobuko Arakawa, Masateru Yashiro, Sumiyuki Mii, Ryoichi Aki, Robert M. Hoffman, [Yasuyuki Amoh](#)  
Human hair-follicle associated pluripotent (HAP) stem cells differentiate to neurons, glial cells, keratinocytes, smooth muscle cells, and cardiac muscle cells  
日本研究皮膚科学会第41回年次学術大会・総会(仙台国際センター)  
2016年12月09日~2016年12月10日

Aiko Yamazaki, Yuko Hamada, Nobuko Arakawa, Masateru Yashiro, Sumiyuki Mii, Ryoichi Aki, Katsumasa Kawahara, Robert M. Hoffman, [Yasuyuki Amoh](#)  
Hair follicle pluripotent (HAP) stem cells from young mice have the greatest potential to differentiate to cardiac muscle cells  
日本研究皮膚科学会第41回年次学術大会・総会(仙台国際センター)  
2016年12月09日~2016年12月10日

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究分担者

(2) 研究協力者

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。