

令和 3 年 8 月 21 日現在

機関番号：82401

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2020

課題番号：18K05251

研究課題名（和文）生物活性ナノセグメント固定化高分子表面上における幹細胞の培養と分化

研究課題名（英文）Stem cell culture and differentiation on polymeric surface immobilized with bioactive nanosegments

研究代表者

樋口 亜紺 (Higuchi, Akon)

国立研究開発法人理化学研究所・開拓研究本部・客員研究員

研究者番号：30189766

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、(1)物理的因子と生物化学的因子双方を考慮した幹細胞培養用基板を設計し、ES細胞並びにiPS細胞の多分化能を維持した状態での大量培養の可能性を検討すること、(2)適切な組織細胞（骨芽細胞、心筋細胞並びに間葉系幹細胞）への分化効率の高い最適な基板の剛性/弾性並びに最適な細胞外マトリックス（ECM）の判明を本研究の目的とした。弾性率が25kPa前後のポリビニルアルコール系ハイドロゲルが基板として最適であった。最適なナノセグメント固定化細胞培養基板上の細胞接着因子ペプチド（ラミニン 4由来ペプチドに2本鎖構造、ジョイント基並びに塩基性リジンを添加したペプチド）が明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

再生医療の発展のためには、特定の組織細胞に幹細胞を高効率で分化させること、さらにヒトiPS細胞並びにES細胞を多分化能状態で、細胞増殖を行なうことが必須である。本研究成果は、幹細胞培養並びに分化に最適な細胞培養基板の剛性/弾性の同定を行なった。さらに、最適な剛性/弾性を有する細胞培養基板上に固定化された最適なナノセグメント（ECM並びに細胞接着因子ペプチド）を同定したことが、学術的意義であり独創的な点である。本研究成果の概念が普及することにより、幹細胞並びにES（胚性幹）細胞の培養並びに分化が容易になり、再生医療に貢献することが期待される（社会的意義）。

研究成果の概要（英文）：The objectives of this study were (1) to design stem cell culture substrates that take into account both physical and biochemical factors, and to investigate the possibility of mass culturing ES and iPS cells while maintaining their pluripotency, (2) to determine the optimal substrate stiffness/elasticity and the optimal extracellular matrix (ECM) and oligopeptide for efficient differentiation into appropriate tissue cells (osteoblasts, cardiomyocytes and mesenchymal stem cells). Polyvinyl alcohol hydrogels with an elastic modulus of around 25 kPa were found to be the most suitable substrates for ES and iPS cell culture. The cell adhesion peptides (peptides derived from laminin 4 with double-stranded structure, joint groups and basic lysine) on the nanosegment-immobilized cell culture substrates were found to be the optimal for peptide-grafted hydrogels for ES and iPS cell culture and differentiation.

研究分野：生体材料

キーワード：幹細胞培養 生体適合性材料 オリゴペプチド 分化 細胞培養基板 細胞接着因子ペプチド 弾性

## 1. 研究開始当初の背景

ヒト ES 細胞並びに iPS 細胞は、幹細胞療法、再生医療への有効性が期待されている。

しかしながら、これらの幹細胞を、動物由来の物質を持ちずに、多分化能を維持した状態で培養することが必須である。現在、ES 細胞並びに iPS 細胞は、線維芽細胞上あるいはマウス癌細胞由来のマトリゲル上で培養することが一般的手法である。非動物由来の材料で、ES 細胞並びに iPS 細胞培養用基板を開発することは、再生医療分野で必須のプロセスである。

ヒト人工多能性幹細胞(iPS 細胞)並びにヒト ES 細胞 (胚性細胞) 細胞は幹細胞療法並びに再生医療において必須な細胞源であるが、これらヒト幹細胞の多分化能状態での培養並びに適切な組織細胞への分化誘導は、いまだに困難を極めている。<sup>1)</sup> 例えば、ヒト ES 細胞、ヒト iPS 細胞からの (a)パーキンソン病への治療として期待されるドーパミン産生神経細胞 (TH 細胞)、 (b) 糖尿病患者への治療として期待されるインスリン産生細胞 ( $\beta$  細胞) への分化は、いまだに分化効率が低く実用化が困難である。さらに、ヒト iPS 細胞並びに ES 細胞の多能性を有する状態での増殖には、一般にマウス胎児性繊維芽細胞 (MEF 細胞、feeder layer) 上でヒト iPS 細胞並びにヒト ES 細胞を培養しており、マウス由来のウイルス等の感染の可能性を否定できない。従って、これらの幹細胞を臨床応用するためには、(c)MEF 細胞を用いない新規バイオマテリアル上でのヒト iPS 細胞並びにヒト ES 細胞の多分化状態での培養法の確立が必須である。

ES 細胞並びに iPS 細胞を生体内と同様な環境で、未分化状態の維持並びに適切な組織細胞への分化誘導を行なう因子として、さまざまな因子により制御されていることが明らかとなってきた； (1)成長因子に代表される水溶性因子、(2) 細胞—細胞間相互作用、(3) 細胞—バイオマテリアル (細胞外マトリックス) 相互作用、(4) 細胞培養部位 (バイオマテリアル) の物理的パラメータ (剛性、粘弾性等)。これまで、EGF 並びに FGF-2 に代表されるような成長因子の幹細胞に与える効果が主に着目されてきたが、近年、幹細胞の培養を行なうバイオマテリアル (細胞培養基板) が幹細胞の分化誘導を制御していることが明らかとなってきた。例えば、Engler らは、細胞培養基板の剛性 / 弾性 (stiffness) が間葉系幹細胞の分化方向を誘導することを報告している。<sup>2)</sup> 神経細胞が大部分である脳と同様に軟硬度の高いゲル上では、幹細胞は神経細胞に分化する傾向がある。また、骨のように剛性の高い基板では、幹細胞は骨芽細胞に分化する。

ヒト造血幹細胞 (HSC) に関しては、申請者らは、HSC の未分化状態での増殖には最適な剛性/弾性を有する細胞培養基板が必須であることを明らかとしている。<sup>3)</sup> しかしながら、Engler らの研究は物理的因子<sup>1,2)</sup> のみを考慮しており、生化学的因子と物理効果の相乗効果の研究はこれまで行なわれてこなかった。

フィブロネクチン、コラーゲン、ビトロネクチン、ラミニン等の細胞外マトリックス (ECM) を細胞培養基板にコーティングした場合、それぞれの ECM に応じて幹細胞は固有の組織細胞へと分化する傾向があることが明らかとなってきた (図 2 参照)。例えば、コラーゲンは幹細胞を骨芽細胞、軟骨細胞への分化を促進させている。ビトロネクチンは、骨芽細胞への分化を促進させる。さらに、ラミニンは心筋細胞、平滑筋への幹細胞の分化を促進させ、フィブロネクチンは脂肪細胞への分化を促進させることが明らかとなってきた。しかしながら、最適な剛性/弾性を有する基板上における ECM の多能性の維持並びに幹細胞分化 (骨芽細胞、インスリン産生細胞、ドーパミン産生細胞) とに対する効果の検討はこれまで行なわれてこなかった。

ヒト iPS 細胞並びに ES 細胞の多能性を有する状態での増殖には、一般にマウス胎児性繊維芽細胞 (MEF 細胞、feeder layer) 上あるいは、マウス癌細胞由来の Matrigel 上で培養するのが一般的である。近年、MEF 細胞を用いずに、ECM を固定化させた細胞培養基板上における未分化状態でのヒト iPS 細胞並びに ES 細胞の培養が報告されてきているが、十分な結果は得られていない。<sup>1)</sup> 特に、最適な剛性 / 弾性を有する基板上において、ヒト iPS 細胞並びに ES 細胞の増殖における ECM に対する効果の検討はこれまで行なわれてこなかった。

## 2. 研究の目的

幹細胞の運命 (多分化状態の保持、特異的組織細胞への分化) の制御は、幹細胞培養基板の物理的特性 (剛性/弾性 (stiffness)) 並びに生物化学的特性 (細胞接着部位ペプチドの種類並びに表面密度) に大いに依存することが示唆されているが、これらの研究は個別に行なわれてきており、系統的な研究はなされてこなかった。そこで本研究では、(1)物理的因子と生物化学的因子双方を考慮した幹細胞培養用基板を設計し、ES 細胞並びに iPS 細胞の多分化能を維持した状態での大量培養の可能性を検討すること、並びに、(2)適切な組織細胞 (骨芽細胞、ドーパミン産生細胞、インスリン産生細胞) への分化効率の高い最適な基板

の剛性/弾性並びに最適な細胞接着因子ペプチドあるいは細胞外マトリックス (ECM) の判明を、本研究の目的とした。

### 3. 研究の方法

本申請研究は、(a) 様々な剛性/弾性 (stiffness) を有する幹細胞培養基板の調製を行なった。細胞培養基板の剛性/弾性 (stiffness) は、基板高分子ゲルの架橋度を調整して制御する。調製した細胞培養基板の剛性/弾性は原子間力顕微鏡により計測した。(b) 様々な剛性 /弾性を有する細胞培養基板表面に、細胞外マトリックスをカルボジイミド法を用いて固定化させた。(d) 細胞外マトリックス並びに細胞接着因子ペプチド固定化細胞培養基板 (ナノセグメント固定化細胞培養基板) 上でヒト iPS 細胞並びにヒト ES 細胞の培養を行い、多能性状態に何継体まで培養可能か評価した。さらに、(e)ヒト iPS 細胞並びに ES 細胞をナノセグメント固定化細胞培養基板上で培養を行い、間葉系幹細胞、心筋細胞への分化実験を行い、各分化細胞に対する最適なナノセグメントの特性並びに表面濃度を評価した。

### 4. 研究成果

hPSC (ヒト多能性幹細胞) を特定の細胞系譜に分化させるための最適かつ効率的な分化方法を開発する上で、細胞培養用生体材料は重要な要素である。我々は、細胞の凝集体やコロニーが表面から容易に剥離し、細胞生存率が劇的に低下させることが可能な hPSC の心筋細胞への分化に最適な細胞培養用生体材料を検討した。本研究では、数種類の細胞外マトリックス (ECM) コートディッシュを選択した。ここで選択した ECM は、コラーゲン (COL)、フィブロネクチン (FN)、CellStart™、ヒトビトロネクチン、組み換え型ビトロネクチン (rVN)、マトリゲル、Synthemax II、ラミニン-511 (LN-511)、ラミニン-521 (LN-521) である。図 1 (a) は、胚性幹細胞 (hESC) から心筋細胞への分化誘導中に、様々な ECM コートディッシュで培養した hESC の生存率における時間依存性を示す。すべての ECM コートディッシュで培養した細胞生存率は、分化時間が長くなるにつれて低下することが明らかとなった。コラーゲンコート、CellStart™ コート、ヒトビトロネクチンコートした細胞培養基板では、hESC から分化した細胞が接着せず、3~5 日後にはすべての細胞がこれらの ECM コートディッシュから剥離することが明らかとなった。

hPSC を分化させて 10 日後において、Matrigel コート、Synthemax コート、rVN コート、LN-511 コート、LN-521 コート、FN コートの各ディッシュで培養した細胞の生存率は、10%以上を維持したものの、30%以下に減少することが判明した。

また、マトリゲルコート、Synthemax コート、rVN コート、LN-511 コート、LN-521 コート、FN コートさせた各ディッシュは、細胞生存率の観点から、hESCs から心筋細胞への分化に適した細胞培養用バイオマテリアルであることが明らかとなった。さらに、マトリゲルコート、Synthemax コート、rVN コート、LN-511 コート、LN-521 コート、FN コートの各ディッシュで得られた拍動コロニー数を計測した。その結果を図 1 (b) に示した。各 ECM コートディッシュ上における拍動コロニー数を評価したところ、6cm ディッシュあたり 60 個以上のコロニーが拍動していることが確認された。Matrigel コート、Synthemax コート、LN-521 コート、FN コートの各ディッシュで分化した細胞の拍動コロニー数は、本研究で用いた他の種類の ECM コートディッシュで分化した細胞よりも高いことが明らかとなった。さらに、Matrigel コート、Synthemax コート、rVN コート、LN-511 コート、LN-521 コート、FN コートの各ディッシュにおける拍動振動数を調べ、その結果を図 1 (c) に示した。Matrigel コート、Synthemax コート、LN-521 コートのディッシュで培養した hESC 由来の心筋細胞の拍動回数は約 50~55 回/分であり、これは成人の心臓拍動回数 (60~70 回/分) に近いことがわかった。

我々の開発した分化プロトコル 4 を用いて、Matrigel コート、Synthemax コート、rVN コート、LN-511 コート、LN-521 コート、FN コートした各ディッシュで培養した hESC 由来の心筋細胞における cTnT (心筋細胞マーカー) の発現量を評価し、各種類の ECM コートディッシュで調製した hESC 由来の心筋細胞の純度を検討した。その結果を Fig.2 に示す。Matrigel コート、Synthemax コート、LN-521 コートした各ディッシュ上で分化させた hESC 由来の心筋細胞のうち、60%以上の細胞が cTnT の発現を示していた。特に本研究では、シンテマックスコートしたディッシュ上で分化させた hESC 由来の心筋細胞の 90~97%は cTnT の発現を示していることが明らかとなった。

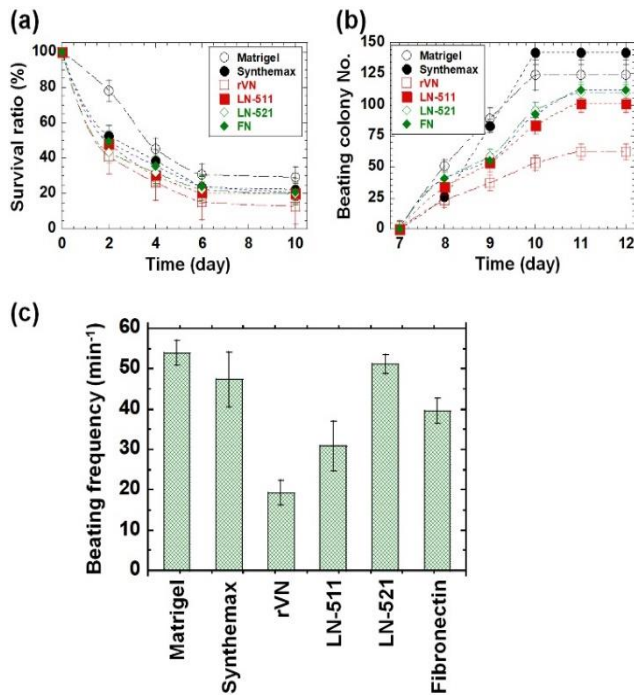


図 1 プロトコル 4 を用いた hESCs の心筋細胞への分化に対する ECM コートディッシュの効果。(a) Matrigel コート、Synthemax コート、rVN コート、LN-511 コート、LN-521 コート、FN コートした各ディッシュ上で心筋細胞に分化させた hESC (H9) の生存率の時間依存性。(b) 6cm ディッシュ上で心筋細胞への分化を誘導させた hESCs(H9)の拍動コロニー数の時間依存性。(c) 14 日目における心筋細胞に分化させた hESCs(H9)の拍動回数。

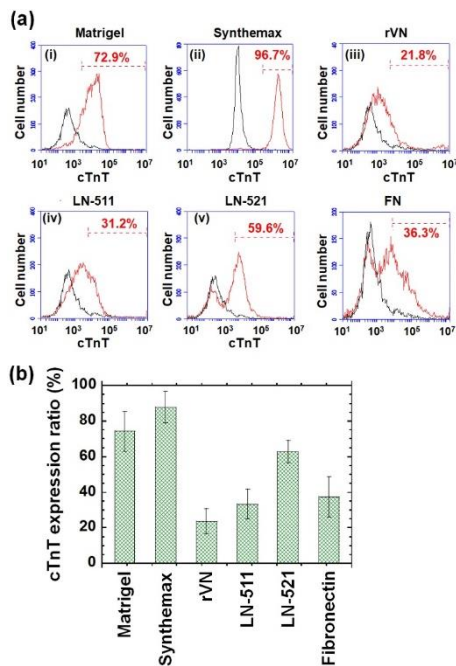


図 2 プロトコル 4 を用いた hESC 由来の心筋細胞における心筋細胞マーカーの発現をフローサイトメトリーで解析した結果。細胞は数種類の ECM コートディッシュで培養した。(a) 分化 14 日目における Matrigel コート、Synthemax コート、rVN コート、LN-511 コート、LN-521 コート、FN コートしたディッシュ上で心筋細胞に分化誘導させた hESC (H9) の cTnT 発現を計測させたフローサイトメトリーヒストグラム。(b) 分化 14 日目における Matrigel コーティング、Synthemax コーティング、rVN コーティング、LN-511 コーティング、LN-521 コーティング、FN コーティングしたディッシュ上で心筋細胞に分化誘導させた hESCs(H9)の cTnT (心筋細胞マーカー) 発現率。

以上のことから、本研究では、hESC 由来心筋細胞の生存率だけでなく、拍動コロニー数や振動数、さらには hESC 由来心筋細胞の純度 (高い cTnT 発現率) の観点から、マトリゲルコート、シンテマックスコート、LN-521 コートディッシュが心筋細胞分化培養用として好ましいバイオマテリアルであることが明らかとなった。

hESC 由来の心筋細胞における 3 つの特異的な心筋細胞タンパク質、 $\alpha$ -アクチニン、MLV2c (ミオシン軽鎖)、cTnT の発現を、免疫染色法により調べた。細胞は Matrigel コート、Synthemax コート、rVN コート、LN-511 コート、LN-521 コート、FN コートの各ディッシュ上で培養し、その結果を図 3 に示した。今回調べたいずれの ECM コートディッシュを用いて分化させた hESC 由来の心筋細胞は、 $\alpha$ -アクチニン、MLV2c、cTnT を広範囲に発現していることが明らかとなった。

本研究で検討したいずれの ECM コートディッシュ上で分化させた hESC 由来心筋細胞において、共焦点レーザー顕微鏡による  $\alpha$ -アクチニンの発現解析により、サルコメア構造 (ラダーモルフォロジー) が明確に観察された。Matrigel コート、Synthemax

コート、rVN コート、LN-511 コート、LN-521 コート、FN コートの各ディッシュ上で分化させた hESC 由来の心筋細胞の平均サルコメア長（ラダー形態のピッチ）を評価した。

Matrigel コート、Synthemax コート、LN-511 コート、LN-521 コート、FN コートした各ディッシュ上でプロトコル 4 を用いて分化させた hESC 由来の心筋細胞のサルコメア長は 1.4-1.7  $\mu\text{m}$  であった。これは健康なヒト心臓組織のサルコメア長（1.5  $\mu\text{m}$ ）とほぼ同等であった。さらに、Matrigel コート、LN-521 コートしたディッシュ上の心筋細胞では、rVN コートしたディッシュ上における心筋細胞よりもサルコメアの長さが長いことが明らかとなった ( $p < 0.05$ )。

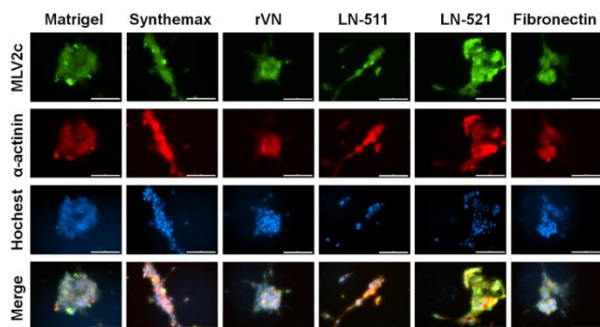


図 3 数種類の ECM コートディッシュ上で分化させた hESC 由来の心筋細胞の免疫染色法による解析。分化 14 日目における Matrigel コート、Synthemax コート、rVN コート、LN-511 コート、LN-521 コート、FN コートした各ディッシュ上で分化させた hESC 由来心筋細胞の  $\alpha$ -アクチニンと MLV2c の発現を免疫染色法で解析した。核は Hoechst 33342 で染色した。スケールバーは 100  $\mu\text{m}$  を示す。

RNA センダイウイルスベクターを用いたゼノフリー、フィーダーフリーの条件で、ヒト羊水からヒト誘導多能性幹細胞 (hiPSC) を様々な生体適合材料上で作製した。ゼノフリーの培養液をもちいて、羊水からのヒト羊水幹細胞の樹立効率に与える影響を評価した。さらに、ヒト羊水幹細胞から hiPSC へのリプログラミングの際における細胞培養用バイオマテリアルがリプログラミング効率に及ぼす影響を検討した。

ラミニン 511、ラミニン 521、シンテマックス II でコートしたディッシュ並びに、最適な弾性率を持つハイドロゲルにビトロネクチン由来の特異的オリゴペプチドをグラフトさせた基板に培養させた細胞は、高効率で hiPSC にリプログラミングさせた。この細胞は、多能性タンパク質を発現し、生体外および生体内において 3 胚葉に由来する細胞に分化させる能力を有していた。hiPSC は、完全に動物非由来物質をもちいた条件で、高い効率 (0.15-0.25%) で生成することが明らかとなった。

羊水由来幹細胞から hiPSC へのリプログラミングには、2 種類のタイプの細胞培養用バイオマテリアルを使用した。(a) COL-PS, FN-PS, CELLstart-PS, Syn II-PS, LN-511-PS, LN-521-PS, Matrigel-coated dish などの ECM (細胞外マトリックス) コートディッシュ、(b) 異なる弾性率を有しオリゴビトロネクチン (P-Y-VN2C) をグラフトさせたポリ (ビニルアルコール-酢酸ビニル-コイタコン酸) ハイドロゲル。今回用いた P-2-VN2C, P-4-VN2C, P-6-VN2C, P-12-VN2C, P-24-VN2C, P-48-VN2C の各ハイドロゲルの弾性率は、それぞれ 10.6, 11.1, 15.8, 18.3, 25.3, 30.4kPa であった。

各バイオマテリアル上で培養した羊水由来幹細胞について、初期化(リプログラミング)効率を評価した。マトリゲルを塗布したディッシュ (動物由来物質含有ディッシュ) で培養した細胞の初期化効率は約 0.2% であり、いくつかのヒト細胞種 (線維芽細胞、血液細胞、hADSCs) を用いて報告されている初期化(リプログラミング)効率と同程度であることが明らかとなった。COL-PS ディッシュ上でも初期継代で hiPSC を作製できることが明らかとなった。しかし、コラーゲン I 型はウシ由来物質であり、初期化効率はマトリゲルコートディッシュを用いた場合よりも低いことが明らかとなった。

我々は、ヒト羊水から最適な生体材料に、RNA センダイウイルスベクターを用いて多能性遺伝子を導入することにより、高効率 (0.15-0.25%) で hiPSC を作製することに成功した。ラミニン-511、ラミニン-521、シンテマックス II をコーティングしたディッシュと、最適な弾性率を有するハイドロゲルに、ビトロネクチン由来の特定のオリゴペプチドを導入した細胞培養基板が、hAFSCs を高効率で hiPSC に初期化するための最適な細胞培養用バイオマテリアルであることが明らかとなった。リプログラムされた細胞は、多能性タンパク質を発現し、生体外および生体内において 3 胚葉に由来する細胞に分化する能力を持っていることが明らかとなった。本研究のプロトコルは、前臨床研究や臨床研究における幹細胞治療の実施を容易にするものである。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 10件／うち国際共著 10件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Tzu-Cheng Sung, Jia-Sin Yang, Chih-Chen Yeh, Ya-Chu Liu, Yi-Peng Jiang, Ming-Wei Lu, Qing-Dong Ling, S. Suresh Kumar, Yung Chang, Akihiro Umezawa, Hao Chen, Akon Higuchi,*	4. 巻 221
2. 論文標題 The design of a thermoresponsive surface for the continuous culture of human pluripotent stem cells	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biomaterials	6. 最初と最後の頁 119411
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.biomaterials.2019.119411	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 該当する
1. 著者名 Yan Gao, Nien-Ju Ku, Tzu-Cheng Sung, Akon Higuchi,* Chi-Sheng Hung, Henry Hsin-chung Lee, Qing-Dong Ling, Nai-Chen Cheng, Akihiro Umezawae, Lassina Barro, Thierry Burnouf, Qingsong Ye and Hao Chen	4. 巻 7
2. 論文標題 The effect of human platelet lysate on the differentiation ability of human adipose-derived stem cells cultured on ECM-coated surfaces	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Materials Chemistry B	6. 最初と最後の頁 7110-7119
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/c9tb01764j	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 該当する
1. 著者名 Tzu-Cheng Sung, Hsing-Fen Li, Akon Higuchi,* S. Suresh Kumar, Qing-Dong Ling, Yu-Wen Wu, Thierry Burnouf, Michio Nasu, Akihiro Umezawa, Kuei-Fang Lee, Han-Chow Wang, Yung Chang, Shih-Tien Hsu	4. 巻 230
2. 論文標題 Effect of cell culture biomaterials for completely xeno-free generation of human induced pluripotent stem cells	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biomaterials	6. 最初と最後の頁 119638
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.biomaterials.2019.119638	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 該当する
1. 著者名 Higuchi Akon, Suresh Kumar S., Benelli Giovanni, Ling Qing-Dong, Li Hsing-Fen, Alarfaj Abdullah A., Munusamy Murugan A., Sung Tzu-Cheng, Chang Yung, Murugan Kadarkarai	4. 巻 103
2. 論文標題 Biomaterials used in stem cell therapy for spinal cord injury	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Progress in Materials Science	6. 最初と最後の頁 374 ~ 424
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.pmatsci.2019.02.002	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 該当する

1. 著者名 Irawan Vincent、 Sung Tzu-Cheng、 Higuchi Akon、 Ikoma Toshiyuki	4. 巻 15
2. 論文標題 Collagen Scaffolds in Cartilage Tissue Engineering and Relevant Approaches for Future Development	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Tissue Engineering and Regenerative Medicine	6. 最初と最後の頁 673 ~ 697
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s13770-018-0135-9	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 該当する

1. 著者名 Kiruthiga V.、 Vinodhini A.、 Higuchi Akon、 Murugan K.、 Singaravelu G.	4. 巻 29
2. 論文標題 Bombyx mori Silk: An Eco-friendly Source to Produce Nanogold?Silk Bioconjugates and Gold Nanoparticles	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Cluster Science	6. 最初と最後の頁 1161 ~ 1167
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10876-018-1422-2	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 該当する

1. 著者名 Lien Cheng-Chi、 Yeh Lu-Chen、 Venault Antoine、 Tsai Shao-Chi、 Hsu Chen-Hua、 Dizon Gian Vincent、 Huang Yu-Tzu、 Higuchi Akon、 Chang Yung	4. 巻 565
2. 論文標題 Controlling the zwitterionization degree of alternate copolymers for minimizing biofouling on PVDF membranes	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Membrane Science	6. 最初と最後の頁 119 ~ 130
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.memsci.2018.07.054	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 該当する

1. 著者名 Chou Ying-Nien、 Venault Antoine、 Wang Yu-Hsiang、 Chinnathambi Arunachalam、 Higuchi Akon、 Chang Yung	4. 巻 6
2. 論文標題 Surface zwitterionization on versatile hydrophobic interfaces via a combined copolymerization/self-assembling process	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Materials Chemistry B	6. 最初と最後の頁 4909 ~ 4919
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/C8TB01054D	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 該当する

1. 著者名 Qiang Shi, Alsaeedi Hiba Amer, Yuhong Cheng, Yang Hao, Tong Li, Kumar Suresh, Higuchi Akon, Alarfaj Abdullah A., Munisvaradass Rusheni, Ling Mok Pooi, Cheng Pei	4. 巻 183
2. 論文標題 Morphological and genetical changes of endothelial progenitor cells after in - vitro conversion into photoreceptors	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology	6. 最初と最後の頁 127 ~ 132
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jphotobiol.2018.04.003	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 該当する

1. 著者名 Danjuma Lawal, Mok Pooi Ling, Higuchi Akon, Hamat Rukman Awang, Teh Seoh Wei, Koh Avin Ee-Hwan, Munusamy Murugan A., Arulselvan Palanisamy, Rajan Mariappan, Nambi Arivudai, Swamy K.B., Vijayaraman Kiruthiga, Murugan Kadarkarai, Natarajaseenivasan Kalimuthusamy, Subbiah Suresh Kumar	4. 巻 9
2. 論文標題 Modulatory and regenerative potential of transplanted bone marrow-derived mesenchymal stem cells on rifampicin-induced kidney toxicity	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Regenerative Therapy	6. 最初と最後の頁 100 ~ 110
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.j.reth.2018.09.001	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 該当する

〔学会発表〕 計11件 (うち招待講演 7件 / うち国際学会 11件)

1. 発表者名 Akon Higuchi
2. 発表標題 Effect of Cell Culture Biomaterials for Completely Xeno-free Generation of Human Induced Pluripotent Stem Cells
3. 学会等名 19th Asian BioCeramics Symposium & 2019 International Symposium of Materials for Biomedical Application (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Akon Higuchi
2. 発表標題 Efficient Differentiation of Human ES and iPS Cells into Cardiomyocytes on Biomaterials under Xeno-free Conditions
3. 学会等名 2019 Tissue Engineering and Regenerative Medicine International Society-America Meeting (Termis-AM) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年



1. 発表者名 Akon Higuchi
2. 発表標題 Thermoresponsive Surface for Culture and Differentiation of Stem Cells
3. 学会等名 2019 Tissue Engineering and Regenerative Medicine International Society-Asia Pacific Meeting (Termis-AP) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Akon Higuchi
2. 発表標題 Design of thermoresponsive biomaterials for continuous culture of human pluripotent stem cells
3. 学会等名 2019 International Symposium of Biotechnology on Biomaterials, Stem cells and Tissue engineering (ISBBST) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Akon Higuchi
2. 発表標題 Design of Biomaterials for Culture & Differentiation of Human Pluripotent Stem Cells
3. 学会等名 20th Anniversary International Meeting of Korean Tissue Engineering and Regenerative Medicine Society (KTERMIS) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Akon Higuchi
2. 発表標題 Xeno-free generation and differentiation of human induced pluripotent stem cells on the surface immobilized with ECM and ECM-derived oligopeptide
3. 学会等名 2019 Tissue Engineering and Regenerative Medicine International Society-EU Meeting (Termis-EU) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Akon Higuchi
2. 発表標題 Completely xeno-free generation of human induced pluripotent stem cells on the surface immobilized with ECM and ECM-derived oligopeptide using non-integrated Sendai virus vector
3. 学会等名 ERMIS (Tissue Engineering and Regenerative Medicine International Society) World Congress (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yu-Chun Lee, Nien-Ju Ku, Akon Higuchi
2. 発表標題 A Hybrid-Membrane Migration Method To Isolate High-Purity Of Adipose-Derived Stem Cells From Fat Tissues Through Membranes Coated With Extracellular Matrices
3. 学会等名 2018 BEST Conference & International Symposium on Biotechnology and Bioengineering (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kuan-Ju Lin, Jia-Sin Yang, Akon Higuchi
2. 発表標題 Continuous Culture of hESCs on Thermoresponsive Polymer Surface
3. 学会等名 2018 BEST Conference & International Symposium on Biotechnology and Bioengineering (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Wei-Lun Huang, Ting-Yeh Chen, Akon Higuchi
2. 発表標題 Establishment of Patient-Specific Cancer Cell Lines from Colon Cancer Tissues by Membrane Filtration Method via Nylon Mesh Filter and PLGA-Silk Screen Membranes
3. 学会等名 2018 BEST Conference & International Symposium on Biotechnology and Bioengineering (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yu-Ru Huang, Nien-Ju Ku, Akon Higuchi
2. 発表標題 Differentiation of Human Amniotic Fluid Stem Cells Cultured on Biomaterials Having Nanosegments
3. 学会等名 2018 BEST Conference & International Symposium on Biotechnology and Bioengineering (国際学会)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Akon Higuchi	4. 発行年 2019年
2. 出版社 Royal Society of Chemistry	5. 総ページ数 385
3. 書名 Biomaterials Control of Therapeutic Stem Cells	

〔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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------