

令和 3 年 6 月 7 日現在

機関番号：32653

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K12084

研究課題名(和文)力学刺激環境場を利用した肝組織機能と構造の維持・制御のための新たな試み

研究課題名(英文) Mechanical stimulation for maintaining and controlling hepatic structure and its physiological function

研究代表者

秋山 義勝 (AKIYAMA, Yoshikatsu)

東京女子医科大学・医学部・講師

研究者番号：20349640

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)：本提案者が開発した伸展性温度応答性細胞培養表面(PI-PDMS)の伸展培養への応用を試みた。その結果、PI-PDMSに繰り返し伸展刺激を付加しながら培養することで細胞の配向性が確認できたとともに、培養細胞からのコラーゲン分泌能の向上も示唆された。伸展培養時の細胞剥離を抑制するため、固定化高分子量やFN吸着量の最適化を行ったが、その後の細胞シート回収にはさらなる工夫が必要であることが示唆された。その一方、ECMを化学固定させることでより安定なPI-PDMS表面が構築できる可能性が示唆された。さらに、新しい伸展培養基材としての応用が期待できる新規機能性高分子の開発にも成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

伸展培養基材として古くから利用されているPDMSから培養細胞を非侵襲的に回収できない。一方、本研究提案者が開発した伸展性温度応答性細胞培養表面(PI-PDMS)は伸展可能な温度応答性細胞培養表面である。PI-PDMS表面を用いて、伸展刺激による細胞培養への応用を行い、細胞の配向性やコラーゲン分泌の向上を確認した。これらの結果から、PI-PDMSを利用することで配向性や機能性が向上した細胞シートの作製が期待される。poly(N-acryloyl nipecotamide)等の新規な温度応答性高分子の開発に成功し、これら機能性高分子を利用することで新規な伸展材料基材への応用が期待される。

研究成果の概要(英文)：We tried to apply the stretchable temperature-responsive cell culture surface (PI-PDMS) developed by the proposer to stretch culture. As a result, the orientation of cells was confirmed by culturing the PI-PDMS with repeated stretching stimuli. In addition, it was suggested that the collagen secretion ability of the cultured cells was further improved. The amount of immobilized polymer and FN adsorbed was optimized to prevent cell detachment during stretch culture, but it was suggested that further innovations were needed for cell sheet recovery. On the other hand, chemical immobilization of ECM may provide a more stable surface for PI-PDMS. In addition, we succeeded in developing a new functional polymer that can be applied as a new extensible culture substrate.

研究分野：バイオマテリアル、細胞シート工学、温度応答性高分子

キーワード：ポリ(N-イソプロピルアクリルアミド) 細胞シート PDMS 温度応答性高分子

1. 研究開始当初の背景

肝臓は肝実質細胞および類洞内皮細胞、星細胞、Kupper 細胞などの肝非実質細胞から構成され、アミノ酸代謝、解毒、脂質代謝等の生体機能維持に必要な生化学的な反応を担っている。肝臓は肝小葉構造を最小の構造ユニットであり、肝小葉構造の類洞構造には肝実質細胞および非肝実質細胞（類洞内皮細胞、クッパー細胞、肝星細胞）がシート状で階層的に配置されたディッセ腔があり、これら細胞種の複雑な相互作用により、肝臓の複雑な機能、構造が維持されている（図1）。in vitroで肝組織を構築するには、ディッセ腔構造を模倣するとともに、線維芽細胞様の肝星細胞を活性化しない培養環境の工夫が指摘されている。実際、細胞足場として高分子材料を使い、ディッセ腔構造を模倣した培養系が報告されているが、短期間で培養細胞の形態、構造が変化し、肝組織としての機能も失われる（J. Tissue. Eng. Part A. 2012, 18, 1045., J Tissue Eng Regen Med. 2015, 9, 247）。これは、ディッセ腔には存在しない人工高分子足場を利用するため、各細胞が何等かの細胞に分化するためであると考えている。正常肝組織中の肝星細胞は類洞内皮層と肝実質細胞層の間に分布している。肝組織全体の15%程度を占め、正常な肝機能および肝組織構造の維持において何等かの役割を担っていると考えられているが、後述する肝線維化のプロセスも含め、具体的なメカニズムは不明な点が多い。また、肝組織から単離した細胞自体、機能を維持させたまま長期培養することが困難である。

近年、血管組織、心筋組織等をはじめとした組織、臓器を構成する細胞は、常に圧力、ずり応力、伸展・伸縮、膨張等の力学的な刺激を数多く受け、このような力学刺激環境場が細胞、組織の生理的機能の向上や恒常性に影響を与える例が数多く報告され、その重要性も認識されてきている。その中で、創傷治癒の研究から、in vitroにおいて力学刺激（機械的張力）を与えた環境で線維芽細胞を培養すると、線維芽細胞は細胞骨格を発達させながら、積極的にECMを分泌し、これを再構成（線維化し、サイトカイン等の生理活性物質の放出しながら筋線維芽細胞前駆体を経て筋線維芽細胞に分化することが細胞生物学的な観点から解明されつつある（Nature reviews, 2002, 3, 349）。

最近、Mueller（ハイデルベルグ大学、ドイツ）は肝線維化にともなう類洞内血管の血圧の上昇やそれに伴う血管の拡張によって、類洞内血管を取り巻く細胞群（肝実質細胞や非肝実質細胞）が伸長、ずり応力の力学的刺激を受け、肝線維化が進行するという類洞圧仮説（the sinusoidal pressure hypothesis）を提唱している（図3、World. J. Gastroenterology, 2016, 48, 10482）（通常の類洞圧は12mmHgよりも低い。この値を超えると肝組織の炎症や線維化が疑われる）。実際、ラット肝由来の肝星細胞のみを伸展・収縮培養を行うことで、レチノイン酸レセプターの減少、型平滑筋アクチンの発現、細胞の伸展をとめない活性化肝星細胞へと分化する。活性化肝星細胞になるとコラーゲン分泌を促進させるTGF- β やTIMP(Tissue inhibitors of metalloprotease)の増加が認められる（Euro. J. Clinical Investigation, 2004, 34, 129., Pathophysiology 2004, 11, 153., Biotechnol Lett, 2015, 37, 1141.）これらの研究報告から、力学的刺激による肝星細胞の活性化が肝線維化の要因の可能性の1つであることが示唆されている。一方、力学的な刺激を受けた肝星細胞（活性化肝細胞）がMMP(matrix metalloproteinase)を分泌するといった、線維化が改善されるような現象も報告されている（Gut, 2000, 46, 443, Pathophysiology 2004, 11, 153）。

2. 研究の目的

本研究提案では「肝組織の機能や組織構造を長期的に維持させるには、肝星細胞が活性化しない適切な共培養系と最適な力学的刺激環境場が必要である」というコンセプトのもと研究を実施する。細胞シート工学を活用し、ディッセ腔模倣型の肝組織構造体を作製し、生体内の力学刺激である「ずり応力」や「伸展・収縮刺激」等を肝組織構造体やそれを構成する細胞や細胞シートに与える。力学的刺激によりこれらの機能、構造がどのような変化を起こすのを、力学刺激の強度を変えながら評価し、そのメカニズムを明らかにすることで、作製した組織の長期的な機能、構造の維持を目指す。その際、肝星細胞の機能変化に着目して研究を進め、肝組織線維化のメカニズムや繊維化を逆行させる治療方法も探索する。力学刺激環境場を細胞に与える具体的な方法として、流路デバイスや伸展・収縮可能な温度応答性細胞培養表面等を利用する。これらの研究課題を進めるとともに、従来、伸展培養基材として利用されてきたポリジメチルシロキサン（PDMS）とは異なる、新しい伸展培養基材の開発についても検討した。

3. 研究の方法

(1) ポリ(N-イソプロピルアクリルアミド)(PIPAAm)ゲルを固定化したPDMS表面の作製

PDMS (STB-CH-4W、ストレックス STREX) 表面を使い、電子線照射重合によりPIPAAm超薄膜ゲルを修飾したPIPAAmゲル修飾PDMS表面(PI-PDMS)を作製し、固定化したPIPAAm量が12 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 付近のPI-PDMS (Lar-PI-PDMS)と8 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 付近のPI-PDMS (Low-PI-PDMS)の固定化量の異なる2

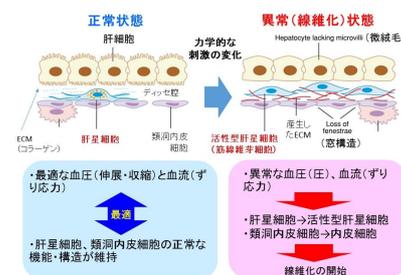


図1 肝小葉の類洞のディッセ腔構造。左) 正常状態、右) 異常(線維化)状態のモデル。正常状態では最適な力学刺激環境(左)だが、強度な力学刺激では細胞に異常が生じ、1方向的に線維化が進む(右)

種類のサンプルを作製し以降の評価に用いた。その際、伸展 PI-PDMS 表面として専用の伸展デバイスを用いて PI-PDMS を一軸方向に伸展させた（伸展率は 20%とした）。

(2) Low-および Lar-PI-PDMS 表面の表面接触角測定

Low-および Lar-PI-PDMS 表面を温度制御ステージに静置し温度を一定（20 もしくは 37）に保った。表面温度が目的の温度に達したのを温度計で確認した後、5.0 μ l の液滴を表面に滴下し、30 秒後の液滴の接触角を測定した。表面の長期安定性を評価するため、同一表面において接触角を測定した（約 2 カ月間）。

(3) 蛍光ラベル化フィブロネクチン (FN) を利用した表面への FN 吸着実験

ローダミンで標識されたフィブロネクチンをダルベッコリン酸緩衝生理食塩水 (PBS, Mg および Ca 不含) で濃度が 8 μ g/ml となるように溶解した (FN 溶液)。FN 溶液 (800 μ l) を、PDMS、Lar-および Low-PI-PDMS の各チャンバーの 3 つの well に添加し 37 または 20 で 20 時間インキュベートした。その際、伸展率が 0% (未伸展) および 20% (伸展) の PDMS、Lar-および Low-PI-PDMS を使用した。インキュベーション後、FN 溶液を取り出しプレートリーダーで FN 濃度を測定し、添加前の FN 濃度から引いた濃度から表面に吸着した FN 濃度を計算で求めた。

(4) コラーゲン修飾 PDMS 表面の作製と FT-IR/ATR による評価

既報 (Chuah Y., et al., Sci. Rep. 5, 18162 (2016)) のプロトコルを参考に PDMS 表面を酸素プラズマ処理 (400 W, 3 分間) した後、3-アミノプロピルトリメトキシシラン (10% (v/v)、60、2 時間)、グルタルアルデヒド (2.5% (v/v)、室温、1 時間) で処理し、型コラーゲン溶液に浸漬 (4、一晚) させた、コラーゲンを PDMS 表面に化学固定した (Col-PDMS)。作製した Col-PDMS 表面は FT-IR/ATR で測定を行った。

(5) 細胞培養評価

Low-PI-PDMS 表面の細胞接着性および剥離性を評価するため、図 2 に示したプロトコルに従い、ウシ血管内皮細胞 (5.0×10^3 cells/cm²) を播種、培養し 24 時間 (37) の細胞接着数を位相差顕微鏡像から計測した。さらに、培養表面を 20 のインキュベータに入れ Protocol A-D に従って、温度および収縮刺激を付与し、接着細胞数を同様な手法で計測した。

伸展培養による細胞接着形状の評価を行うため、フィブロネクチン (FN) 溶液で処理した PIPAAm-PDMS 表面に NIH3T3 を播種し 37 で 15 時間培養した (細胞播種密度: 5.0×10^4 cells/cm²)。その後、伸展培養装置 (ストレックス社製) に PIPAAm-PDMS を取り付け、一方向性の繰り返し伸展培養を行った (伸展率: 20%、周波数: 1 kHz)。

Col-PDMS 表面の細胞接着性および増殖性の評価を行うため、 2.0×10^4 cells/cm² の播種密度で筋芽細胞を播種し細胞接着性の評価を行った。37、24 時間の培養後、伸展培養を行い細胞の接着性と増殖性について評価した。

(6) 新規機能性高分子の合成と評価

再結晶、乾燥した N-acryloylnipecotamide (NANAm) (1.0g)、RAFT 剤 (CTA) として 4-Cyano-4-[(dodecylsulfanylthiocarbonyl)sulfanyl]pentanoic acid (CDSP) (もしくは Cyanomethyl dodecyl trithiocarbonate (CDTC))、重合開始剤 (initiator) として 4,4'-Azobis(4-cyanovaleric acid) (ACVA) (もしくは 2,2'-Azodiisobutyronitrile (AIBN)) を DMSO (10ml) に溶解した (Table 1)。その際、CTA と Initiator のモル比 (CTA/Initiator) が 5.0 となるようにし、NANAm/CTA のモル比を変化させ、反応溶液を調製した。反応溶液を凍結融解法で脱気し、70°C で重合反応を行った。反応後、反応溶液をアセトン/メタノールの混合溶媒に滴下し沈殿物を濾過、乾燥し、目的とする PNANAm を得た。得られた PNANAm をダルベッコリン酸緩衝生理食塩水 (PBS、Ca²⁺、Mg²⁺ 不含) に溶解させ、温度可変機能付きの分光高度計を使い、PNANAm 水溶液の相転移温度を評価した (波長: 600nm、昇温および降温速度: 0.3°C/min)。その際、降温時における PNANAm 水溶液の透過率が 90%となる温度を相転移温度とした。

4. 研究成果

(1) PI-PDMS 表面の表面の化学的安定性評価

PDMS 表面は Hydrophobic recovery (疎水性回復、HR) と呼ばれる現象がある。例えば、プラズマ処理や PEG 等の親水性高分子を PDMS 表面に化学結合させ PDMS 表面を親水性にして時間とともに、未反応の PDMS 鎖が表面に露出することで PDMS が再び疎水性に戻る現象を指す。今回、電子線照射重合で作製した PI-PDMS 表面にも同様な現象が起こるかどうか、長期的に接触角を測定し、HR の可能性について評価した (図 2)。その結果、PI-PDMS 表面は固定化量にかかわらず、合成後、約 2 カ月後でも固定化した PIPAAm に由来

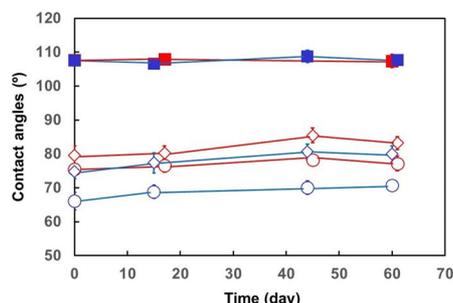


図 2 表面接触角による濡れ性の変化。PDMS (●)、Lar-PI-PDMS (■)、Low-PI-PDMS (▲)、赤: 37、青: 20。

する親水性が維持され、さらに温度変化にともなう PIPAAm の水和、脱水と現象が確認できた (Heliyon, 7(3), E06520, 2021)。

(2) Low-PI-PDMS 表面における細胞接着性および剥離性の評価

Low-PI-PDMS 表面にウシ血管内皮細胞を播種し細胞接着性および剥離性について評価を行った。その際、伸展させた Low-PI-PDMS 表面には細胞を播種し伸展刺激による細胞接着性への影響も評価した。また、細胞播種 24 時間後に細胞剥離挙動を評価するため、温度刺激 (温度を 20 に変化) および収縮刺激 (伸展率を 20% から 0% に低下) あるいはその両方を用いた。その結果、高い接触角を示した伸展 Low-PI-PDMS 表面への細胞接着性は非伸展 Low-PI-PDMS よりも低い傾向を示した。一方、伸展 Low-PI-PDMS 表面からの細胞剥離は温度刺激と収縮刺激を併用することで細胞剥離が加速することが確認できた (図 3) (Heliyon, 7(3), E06520, 2021)。

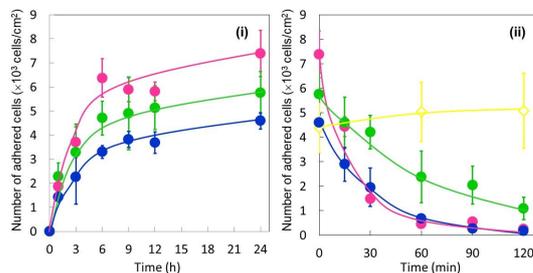


図 3 Low-PI-PDMS 表面への(i)細胞接着および(ii)剥離挙動の評価

(3) PI-PDMS への繰り返し伸展刺激による培養細胞への影響 (物理吸着 FN 処理)

PI-PDMS 表面にウシ血管内皮細胞を播種した所、作製した伸展刺激を負荷に関わらず、Lar-PI-PDMS、Low-PI-PDMS は細胞接着性を示した。しかし、細胞接着後に繰り返し伸展・刺激を基材に負荷させた所、接着した細胞が剥離することを確認した。これらの結果を基に、FN で Lar-PI-PDMS、Low-PI-PDMS 表面を処理した所、Low-PI-PDMS 表面において繰り返し伸展・収縮刺激負荷条件下でも接着した細胞 (NIH-3T3) が剥離しないことを確認した。その際、初期の細胞播種密度の違いが繰り返し伸展・収縮刺激による接着細胞の配向性に大きな影響を与えることを見出した。具体的には、コンフルエント濃度で細胞を播種した時には細胞は配向しないが、10,000 cells/cm² のオーダーで細胞を播種し、繰り返し伸展・収縮培養を行う細胞が配向することを見出した (図 4)。

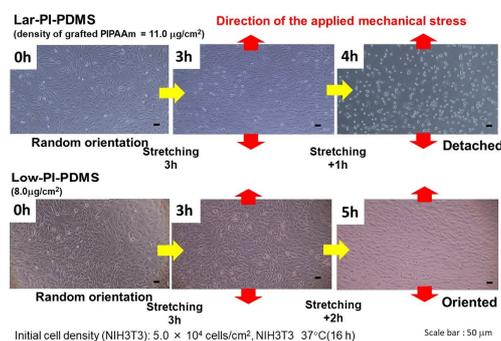


図 4 PI-PDMS 表面への伸展刺激による培養細胞への影響 (1Hz, 20% (伸展率))。

また、ゼラチンゲルを培養細胞上に静置させ、剥離した細胞シートをゼラチンゲル側に吸着させ、細胞シートを回収する手法も試みたが、培養細胞はゼラチンゲル側に吸着せず、Low-PI-PDMS 表面に残存していた。この結果から、培養細胞は Low-PI-PDMS 表面では強く接着していることを確認した。NHDF を用いて、伸展刺激におけるコラーゲン分泌量への影響について ELISA を用いて評価を行った。その結果、伸展培養開始 4 8 時間後の培地中へのコラーゲン分泌量は、非伸展培養では 0.19 pg/cell、伸展培養条件下では 0.29 pg/cell の値となり、Low-PI-PDMS 表面で繰り返し伸展培養を行った培養系においてコラーゲン分泌が向上することが示唆された。

(4) PI-PDMS への繰り返し伸展刺激による培養細胞への影響 (型コラーゲン処理)

伸展培養時における細胞剥離性を抑制することを目的に PDMS 表面に型コラーゲンを化学固定化し、実際に細胞剥離が抑制されるかどうかについて評価した。型コラーゲンの固定化の有無は FT-IR/ATR で評価を行った。その結果、1650cm⁻¹ 付近のアミド基由来のカルボニルのシグナルが現れたことから PDMS 表面上にコラーゲンが存在することが確認できた。型コラーゲンを物理吸着させた PDMS 表面でも同様な傾向が示された。これら表面に筋芽細胞を播種した所、細胞は接着した。培養後、さらに繰り返し伸展刺激 (0.5Hz, 20% (伸展率)) を付加した所、これらの表面では細胞が伸展刺激に対して垂直に配向したが、型コラーゲンを化学固定させた PDMS では細胞が増殖しながら配向する性質を示した。これらの結果から、型コラーゲンを化学固定させることが細胞剥離が抑制されることが示唆された。

(5) 新規機能性高分子の評価

本課題推進中において、新規な機能性高分子のモノマーを発見し、これを使い機能性高分子を合成し評価した。NANAm はアセトン、DMF、エタノール、DMSO の有機溶媒に溶解した。アセトン、DMF、エタノールを溶媒として NANAm を重合すると重合過程で溶液が白濁し PNANAm が沈殿した。DMSO を溶媒として使用した場合、反応溶液の白濁、PNANAm の沈殿が見られなかったことから、DMSO を重合溶媒として選択した。Table 1 に NANAm (Monomer)、RAFT 剤 (CTA)、重合開始剤 (Initiator) の混合モル比、合成した PNANAm の物性 (分子量 (Mn)、分子量分布 (Mw/Mn)) と

PBS 溶液に対する溶解挙動を示す。Run 1~Run 5 では CDSP と ACVA を Run 6~Run 10 では CDTC と AIBN をそれぞれ、RAFT 剤、重合開始剤として使用した。重合時に使用した RAFT 剤の化学構造から Run 1~Run 5 の条件で合成した PNANAm の末端にはドデシル基とカルボキシル基が、Run 6~Run 10 ではドデシル基とシアノメチル基が結合していると考えられる。GPS による分子量測定の結果、分子量 ($M_n=2700 \sim 11300$) の異なる PNANAm を得たことを確認した。カルボキシル基を末端に有する PNANAm (Run 1~Run 5, Table 1) の中で、Run 2 ($M_n=7600$) の条件で合成した PNANAm を PBS 溶液に溶解した PNANAm 水溶液は上限臨界溶液温度 (UCST) を示した (4.0wt% PNANAm: 43.3)。これよりも大きい分子量では PNANAm (Run 1) は PBS 溶液 (1.0wt% PNANAm) には溶解しなかった。また、Run 2 で合成した PNANAm よりも小さい分子量を有する PNANAm (Run 3~Run 5) では PBS に溶解したが、温度変化による相転移変化は示さなかった。一方、末端基にシアノメチル基を有する PNANAm (Run 6~Run 10, Table 1) の中で、Run 10 ($M_n=2700$) の条件で合成した PNANAm を PBS 溶液に溶解した PNANAm 水溶液は UCST を示した (4.0wt% PNANAm: 67.8)。Run 10 で得られた PNANAm よりも大きい分子量 (Run 6~Run 9) を有する PNANAm は PBS 溶液 (1.0wt% PNANAm) に溶解しなかった。これらの結果から、片末端にドデシル基を有する PNANAm では、その分子量やもう一方の末端基の官能基の種類が UCST に影響を与えることが示唆された。Run 2 で合成した PNANAm を PBS に溶解した PNANAm 水溶液 (PBS、4.0wt%~1.0wt% PNANAm) の温度変化にともなう透過率変化を示す。PNANAm 水溶液は温度依存的に低温側では凝集、白濁し、高温側では透明となった。尿素 (2M 濃度) 存在下では PNANAm 水溶液は白濁せず、透明であることから PNANAm の凝集は高分子内、高分子間の水素結合形成に起因することが示唆された。降温時の僅かな温度降下で PNANAm 水溶液の透過率は急激に減少 (4.0wt%PNANAm 水溶液の場合、1.5 の温度変化で透過率が 95%から 5%に変化) したが、昇温時における PNANAm 水溶液の透過率上昇には、より広い温度上昇幅が必要であり、PNANAm 濃度が低くなりに従い、透過率上昇のための温度幅はさらに広くなった。また、PNANAm 濃度の低下にともない、相転移温度も低下した (4.0wt%: 43.3 , 2.0wt%: 39.1 , 1.5wt%: 37.7 , 1.0wt%: 28.6)。これらの結果から、PNANAm の UCST は PNANAm 濃度によって影響を受けることが示唆された。これらの結果から、PNANAm は UCST 型の新規な温度応答性高分子であることが示唆された。また、これらの高分子を応用することで新しい伸展培養基材への応用が期待される。

Table 1 Polymerization of NANAm with CTA and Initiator

Code	Molar ratio		Time (h)	Yield (%)	M_n	M_w/M_n	in PBS
	Monomer	CTA Initiator					
Run 1	1000	5 ^a 1 ^c	24	84.0	10700	1.37	Insoluble
Run 2	670	5 ^a 1 ^c	24	93.9	7600	1.33	UCST
Run 3	500	5 ^a 1 ^c	24	98.3	6300	1.38	Soluble
Run 4	330	5 ^a 1 ^c	24	96.0	4000	1.42	Soluble
Run 5	200	5 ^a 1 ^c	24	86.2	2800	1.30	Soluble
Run 6	1000	5 ^b 1 ^d	4	92.2	11300	1.48	Insoluble
Run 7	850	5 ^b 1 ^d	4	97.1	8600	1.50	Insoluble
Run 8	700	5 ^b 1 ^d	3	92.7	8300	1.38	Insoluble
Run 9	400	5 ^b 1 ^d	1	86.4	4600	1.41	Insoluble
Run 10	200	5 ^b 1 ^d	24	88.3	2700	1.35	UCST

- a) 4-Cyano-4-[(dodecylsulfanylthiocarbonyl)sulfanyl]pentanoic acid (CDSP)
b) Cyanomethyl dodecyl trithiocarbonate (CDTC)
c) 4,4'-Azobis(4-cyanovaleric acid) (ACVA), d) 2,2'-Azodisobutyronitrile (AIBN)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Akiyama Yoshikatsu, Miki Matsuyama, Masayuki Yamato, Naoya Takeda, Teruo Okano	4. 巻 19
2. 論文標題 Poly(N-isopropylacrylamide)-Grafted Polydimethylsiloxane Substrate for Controlling Cell Adhesion and Detachment by Dual Stimulation of Temperature and Mechanical Stress	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Biomacromolecules	6. 最初と最後の頁 4014
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1021/acs.biomac.8b00992	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 Akiyama Y.	4. 巻 2021
2. 論文標題 Design of Temperature-Responsive Cell Culture Surfaces for Cell Sheet Engineering	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cyborg and Bionic Systems	6. 最初と最後の頁 1~15
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.34133/2021/5738457	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 -
1. 著者名 Akiyama Yoshikatsu	4. 巻 7
2. 論文標題 Influence of poly(N-isopropylacrylamide) (PIPAAm) graft density on properties of PIPAAm grafted poly(dimethylsiloxane) surfaces and their stability	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Heliyon	6. 最初と最後の頁 e06520 ~ e06520
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.heliyon.2021.e06520	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 -
1. 著者名 Akiyama Yoshikatsu	4. 巻 Accepted
2. 論文標題 Synthesis of Temperature-Responsive Polymers Containing Piperidine Carboxamide and N,N-diethylcarbamoyl Piperidine Moiety via RAFT Polymerization	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Macromolecular Rapid Communications	6. 最初と最後の頁 Accepted
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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 -

〔学会発表〕 計8件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 秋山義勝、武田直也、大和雅之、岡野光夫
2. 発表標題 温度応答性高分子を固定化したPDMS表面の細胞培養基材としての特徴
3. 学会等名 第41回日本バイオマテリアル学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yoshikatsu AKIYAMA, Naoya TAKEDA, Masayuki YAMATO, Teruo OKANO
2. 発表標題 Evaluation of the properties of mechanically stretched poly(N-isopropylacrylamide) gel grafted polydimethylsiloxane surfaces
3. 学会等名 2019 Society For Biomaterials Annual Meeting & Exposition (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 秋山義勝
2. 発表標題 伸展可能な(N-イソプロピルアクリルアミド)固定化ポリジメチルシロキサン表面の伸展刺激による表面物性の変化
3. 学会等名 第28回インテリジェント・ナノ材料シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 秋山義勝、武田直也、大和雅之、岡野光夫
2. 発表標題 温度応答性高分子を固定化したポリジメチルシロキサンの表面物性に関する評価
3. 学会等名 第18回日本再生医療学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 秋山義勝
2. 発表標題 温度応答性高分子 ポリ(N-アクリロイルニペコタミド)の相転移挙動に関する評価
3. 学会等名 第19回 日本再生医療学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 秋山義勝
2. 発表標題 UCSTを有する温度応答性高分子Poly(N-acryloyl nipecotamide)の合成と評価
3. 学会等名 第69回高分子討論会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 秋山義勝
2. 発表標題 温度応答性高分子Poly(N-acryloylnipecotamide)の合成およびその評価
3. 学会等名 第15回ナノ・バイオメディカル学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 秋山義勝
2. 発表標題 Poly(N-acryloylnipecotamide)の水溶液中における相転移挙動の評価
3. 学会等名 第20回日本再生医療学会総会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<https://gyoseki.twmu.ac.jp/twmhp/KgApp?kyoinId=ymdygisggo>

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