



第34回日本バイオレオロジー学会年会

プログラム・抄録集

会 期：平成23年6月3日(金)・4日(土)

年会長：関 眞佐子 (関西大学システム理工学部)

会 場：関西大学 100 周年記念会館



日本バイオレオロジー学会
<http://www.biorheology.jp>

日バイレオ誌 (B & R, 電子版) 第25巻 第2号
J. Jpn. Soc. Biorheol. 25(2) (2011)

第 34 回 日本バイオテクノロジー学会年会 プログラム・抄録集



会 期：平成 23 年 6 月 3 日（金），4 日（土）

年会長：関 眞佐子
関西大学 システム理工学部 物理・応用物理学科

会 場：関西大学 100 周年記念会館

問い合わせ先：関西大学 システム理工学部 機械工学科
年会実行委員長 田地川 勉

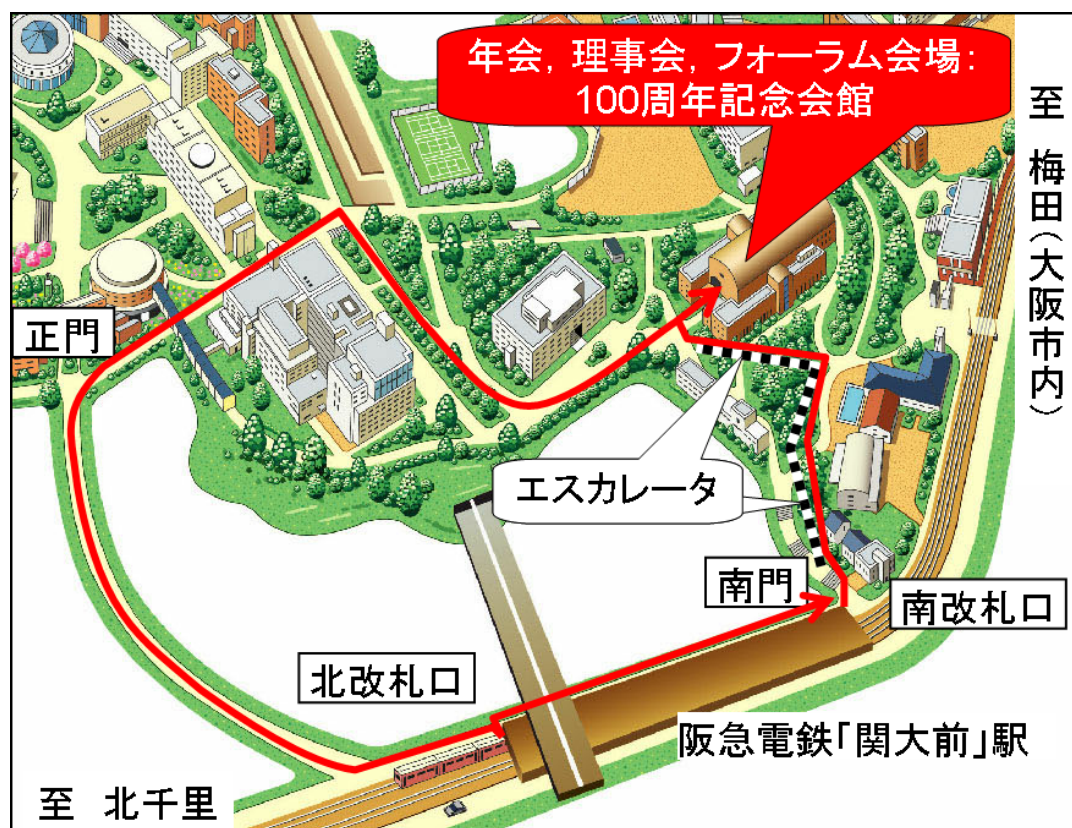
実行組織

年会長	関 眞佐子	関西大学	システム理工学部
実行委員長	田地川 勉	関西大学	システム理工学部
実行委員	山本 秀樹	関西大学	環境都市工学部
	桜井 篤	藍野大学	医療保健学部
	郡 慎平	藍野大学	医療保健学部
	秋永 剛	関西大学	システム理工学部
事務局	板野 智昭	関西大学	システム理工学部
	藤原 秀誠	関西大学大学院	理工学研究科

日本バイオレオロジー学会年会のあゆみ

回	年会長	所 属	会 場	会 期
1	深田 栄一	理化学研究所	東京慈恵会医科大学 高木会館講堂	1978/6/19
2	岡 小天	国立循環器病センター	国立循環器病センター 講堂	1979/6/30～7/1
3	東 健彦	信州大学	信州大学 医学部第一講義堂	1980/6/28～29
4	谷口 興一	東京医科歯科大学	東京医科歯科大学 5号館	1981/6/20～21
5	梶谷 文彦	川崎医科大学	川崎医科大学 現代医学教育博物館	1982/6/26～27
6	稲垣 義明	千葉大学	千葉県文化会館 小ホール	1983/6/18～19
7	神谷 瞭	北海道大学	北海道自治会館 自治ホール	1984/6/16～17
8	浅野 牧茂	国立公衆衛生院	国立公衆衛生院 講堂	1985/6/15～16
9	志賀 健	愛媛大学	愛媛県医師会館 ホール	1986/6/11～13
10	磯貝 行秀	東京慈恵会医科大学	東京慈恵会医科大学 高木会館講堂	1987/6/13～16
11	松田 保	金沢大学	金沢大学 医学部十全講堂	1988/6/2～4
12	大島 宣雄	筑波大学	筑波大学 大学会館国際会議室	1989/7/5～7
13	峰下 雄	帝塚山短期大学	奈良県新公会堂	1990/6/21～23
14	品川 嘉也	日本医科大学	日本医科大学 大講堂	1991/6/20～22
15	平川 千里	岐阜大学	岐阜市文化センター	1992/6/25～27
16	菅原 基晃	東京女子医科大学	東京女子医科大学 弥生記念講堂	1993/6/16～17
17	松信 八十男	清和大学	エーザイホール	1994/6/17～18
18	貝原 学	帝京大学	TEPCO 地球館	1995/6/15～16
19	辻 隆之	国立循環器病センター	千里ライフサイエンスセンター	1996/6/6～7
20	増田 善昭	千葉大学	千葉大学 けやき会館	1997/6/5～6
21	前田 信治	愛媛大学	エスポワール愛媛文教會館	1998/6/11～13
22	貝原 真	理化学研究所	理化学研究所 鈴木梅太郎記念ホール	1999/6/10～11
23	辻岡 克彦	川崎医科大学	倉敷公民館	2000/6/8～9
24	谷下 一夫	慶應義塾大学	慶應義塾大学 創想館マルチメディアホール	2001/6/7～8
25	大橋 俊夫	信州大学	信州大学 旭会館大会議室	2002/6/6～7
26	西成 勝好	大阪市立大学	大阪市立大学学術情報総合センター	2003/6/5～6
27	内村 功	東京医科歯科大学	東京医科歯科大学 特別講堂	2004/6/10～11
28	佐藤 正明	東北大学	東北大学 マルチメディア教育研究棟	2005/7/7～8
29	丸山 功	九州大学	九州大学医学部 コラボステーション	2006/6/12～13
30	佐々木 直樹	北海道大学	北海道大学 学術交流会館	2007/6/14～15
31	安藤 譲二	東京大学	東京大学理学部 小柴ホール	2008/6/5～6
32	土橋 敏明	群馬大学	桐生市民文化会館	2009/6/4～5
33	氏家 弘	東京労災病院	理化学研究所 鈴木梅太郎記念ホール	2010/6/3～4
34	関 眞佐子	関西大学	関西大学 100周年記念会館	2011/6/3～4

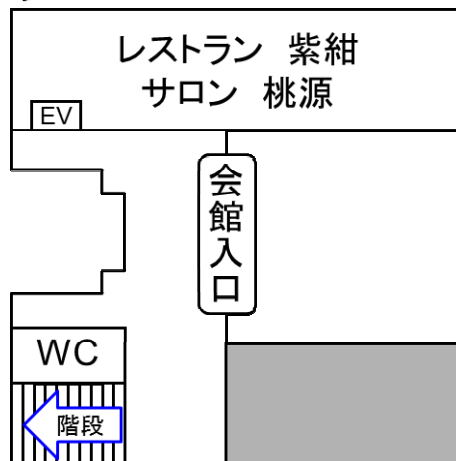
年会，総会，理事会，リサーチ・フォーラム会場へのアクセス



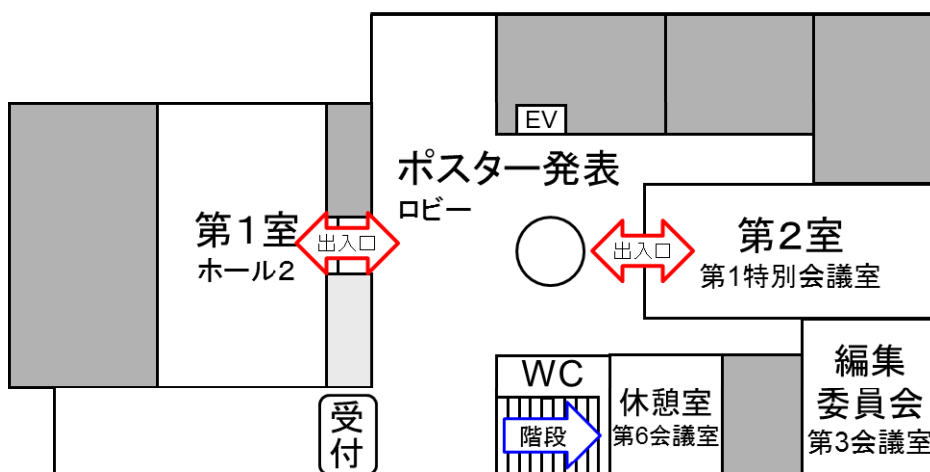
年会，フォーラム，理事会，各編集委員会会場：関西大学 千里山キャンパス 100周年記念会館
 阪急電鉄「関大前」駅 南改札口より南門から入構，エスカレーターを経由し徒歩 5 分

年会，総会，理事会，リサーチ・フォーラム，各委員会会場
（100 周年記念会館）見取り図

3階 エントランス・レストラン



2階 講演会，理事会，委員会会場



年会会場

第1室 : ホール2

第2室 : 第1特別会議室

ポスター発表 : ロビー

休憩室 : 第6会議室

総会

: ホール2

理事会評議員会合同会議

: 第1特別会議室

JBR 編集委員会，電子版 B&R 編集委員会

: 第3会議室

リサーチ・フォーラム会場

: 第1特別会議室

リサーチ・フォーラム懇親会

: 第6会議室

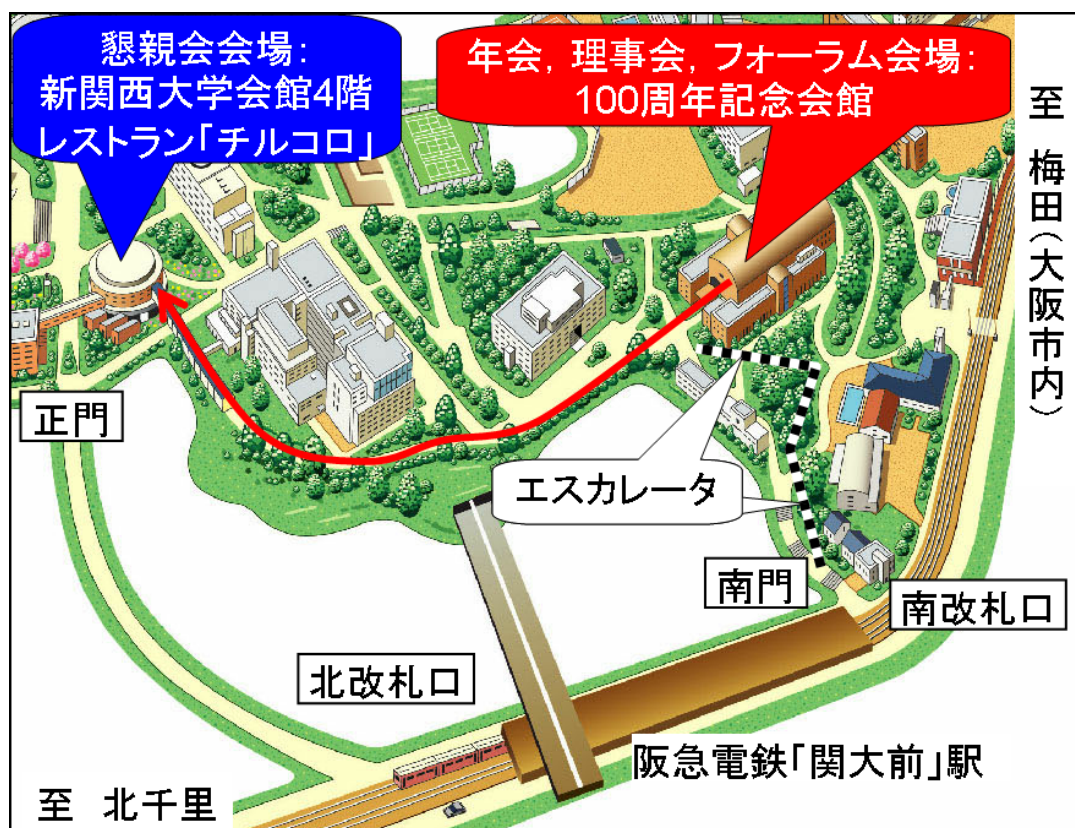
リサーチ・フォーラム運営委員会

: 第1特別会議室

■インターネット接続サービスについて

2階ロビーにて無線 LAN によるインターネット接続が可能です。詳細は、休憩室にてご案内します。

懇親会会場へのアクセス



懇親会会場： 関西大学 新関西大学会館（正門）南棟 4 階
「レストラン チルコロ」

年会会場の 100 周年記念会館より徒歩 5 分

（100 周年記念会館からは渡り廊下を通り，新関西大学会館南棟 3 階入館後，階段で 4 階へ）

阪急電鉄関大前駅北改札口から徒歩 7 分

（正門側からは新関西大学会館南棟入館後エレベータで 4 階へ

※当日，年会会場からご案内いたします．

交通のご案内

・100 周年記念会館までのアクセス

□大阪(梅田)から

阪急電鉄「梅田」駅から、

千里線「北千里」行で「関大前」駅下車（この間約 20 分）

または「河原町」行（通勤特急以外）で「淡路」駅にて、「北千里」行に乗り換え「関大前」駅下車、徒歩 5 分。

□京都(河原町)から

阪急電鉄「梅田」行で「淡路」駅下車、「北千里」行に乗り換えて「関大前」駅下車、徒歩 5 分。

□大阪市営地下鉄を利用

地下鉄堺筋線（阪急電鉄千里線に相互乗入）で「北千里」または「高槻市」行に乗車。阪急電鉄「淡路」駅を経て「関大前」駅下車（「高槻市」行の場合は、阪急電鉄「淡路」駅で乗り換えが必要）、徒歩 5 分。

□新幹線「新大阪」駅から

○地下鉄および阪急電鉄利用の場合

JR「新大阪」駅から地下鉄御堂筋線「なかもず」行で「西中島南方」駅下車、阪急電鉄に乗り換え「南方（みなみかた）」駅から「淡路」駅を経て「関大前」駅下車（この間約 30 分）、徒歩 5 分。

○JR 利用の場合

JR「新大阪」駅から、JR 京都線（東海道本線）「京都」方面行普通電車で「吹田」駅下車（この間約 5 分）。その後、「JR 京都線（東海道本線）を利用」のアクセスを参照

□JR京都線(東海道本線)を利用

JR「吹田」駅下車（普通電車のみ停車）の後、

①阪急バス「JR吹田北口」停留所から「関西大学」停留所下車（この間約 7 分～25 分間隔で運行）、徒歩約 10 分。

②北口ロータリーからタクシーで会場前まで 10～15 分（約 1,000 円前後）

□大阪(伊丹)空港から

大阪モノレール「大阪空港」駅から「門真市（かどまし）」行で「山田」駅下車、阪急電鉄に乗り換え「関大前」駅下車（この間約 30 分）、徒歩 5 分。

□関西国際空港から

南海電鉄「関西空港」駅から「なんば」行で「天下茶屋」駅下車後、地下鉄堺筋線「天下茶屋」駅にて、「北千里」または「高槻市」行きに乗り換え。その後「大阪市営地下鉄を利用」のアクセスを参照。

■ご注意

会場および会場周辺に駐車場はありませんので自家用車でのご来場はご遠慮下さい。

ご 案 内

- ご参加の皆様へ

受 付 時 間 : 6 月 3 日 (金) 8:30 より
場 所 : 関西大学 100 周年記念会館 2 階総合受付
参加費 : 5,000 円 (会員)
7,000 円 (非会員) (参加費には, 講演抄録集 1 冊の代金が含まれます.)
3,000 円 (学生) (聴講のみの大学院生・学部学生は無料)
講 演 抄 録 集 : 1,000 円
懇 親 会 日 時 : 6 月 3 日 (金) 18:30~20:00
場 所 : 関西大学 新関西大学会館南棟 4 階「レストラン チルコロ」
参加費 : 4,000 円 (受付にてお申し込み下さい.)

- 会員の皆様へ

総会

開 催 日 時 : 6 月 4 日 (土) 11:40~12:15
場 所 : 第 1 室 (関西大学 100 周年記念会館 ホール 2)

- 名誉顧問・名誉会員・理事・監事・評議員の皆様へ

理事会評議員会合同会議

開 催 日 時 : 6 月 2 日 (木) 13:00~15:30
場 所 : 第 2 室 (関西大学 100 周年記念会館 第 1 特別会議室)

- バイオレオロジー・リサーチ・フォーラムご参加の皆様へ

開 催 日 時 : 6 月 2 日 (木) 16:00~18:00
場 所 : 第 2 室 (関西大学 100 周年記念会館 第 1 特別会議室)

- バイオレオロジー・リサーチ・フォーラム運営委員の皆様へ

運営委員会

開 催 日 時 : 6 月 2 日 (木) 18:30~19:30
場 所 : 第 2 室 (関西大学 100 周年記念会館 第 1 特別会議室)

- JBR 編集委員の皆様へ

JBR 編集委員会

開 催 日 時 : 6 月 3 日 (金) 12:00~13:15
場 所 : 関西大学 100 周年記念会館 第 3 会議室
※昼食をご用意いたします。

- 電子版 B&R 編集委員の皆様へ

電子版 B&R 編集委員会

開 催 日 時 : 6 月 4 日 (土) 12:15~13:15
場 所 : 関西大学 100 周年記念会館 第 3 会議室
※昼食をご用意いたします。

● 口頭発表セッションの座長の皆様へ

ご担当されるセッション開始時間の 10 分前までには次座長席にお着き下さい。活発な討論となりますようお願い申し上げます。

● オーガナイズドセッション、シンポジウム、学会賞受賞講演 発表者の皆様へ

- (1) オーガナイズドセッション、シンポジウムおよび学術奨励賞応募講演の発表時間は 10 分、討論は 5 分です。学会賞受賞講演につきましては、別途ご連絡いたします。
- (2) 各演者は、発表時間の 30 分前までに受付をお済ませ下さい。
- (3) 会場には、液晶プロジェクターとレーザーポインター、およびマイクをご用意いたします。
- (4) 各演者は前演者が発表している間に次演者席にお着き下さい。

機器の使用について

1. 会場にはコンピュータ切替器（2 ポート）を用意いたしますので、各演者はご自身のコンピュータを前演者が発表している間に空きポートに接続して下さい。会場にはコンピュータを用意致しませんので、各自でコンピュータをご用意ください。
2. コンピュータの操作は、発表者自身または共同演者で行ってください。
3. 会場には、プロジェクターとの接続コードとしてミニ D-Sub 15 ピン（オス）のケーブルを用意します。（下図参照）出力端子がこれに合わない場合はアダプタをご持参下さい。また音声は会場スピーカーへの直接出力は準備しておりません。音声ご使用の際は、演者用マイクを近づけるなどして下さい。
4. ノートパソコンは機種によって、端子の形状や操作の異なる場合があります。ご自身のパソコンを熟知した上でお越し下さい。
5. 接続したコンピュータは、電源を切ったりサスペンドの状態などにしたりはしないで、すぐに発表ができる状態にしておいてください。
6. 接続トラブル等による発表時間の延長は認められません。講演開始前の休憩時間に、予め試写をしていただきますようお願いいたします。



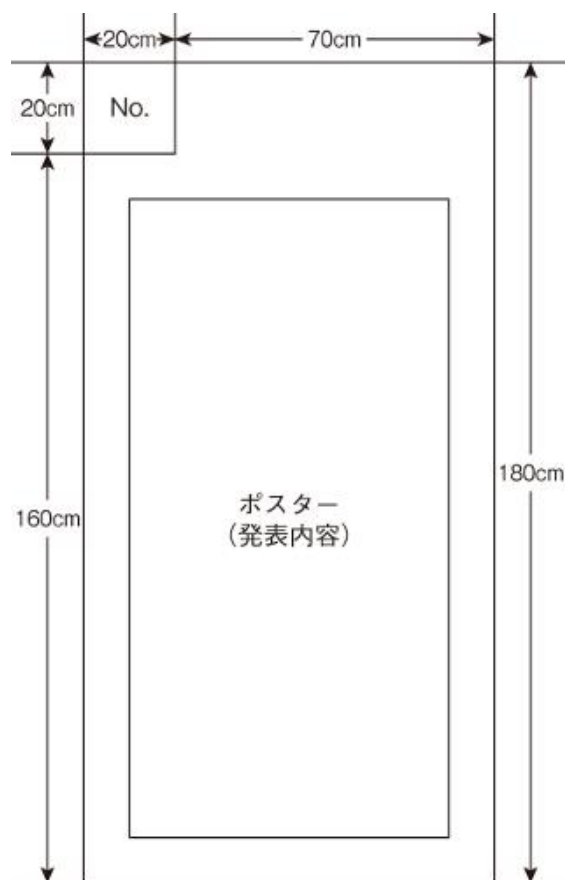
プロジェクター・パソコン接続用ケーブル端子（D-sub 15 ピン）

● ポスター発表者の皆様へ

- (1) ポスターの掲示は、6 月 3 日（金）12:00 までに、指定場所に貼りつけてください。（ピンなどは年会にて用意します。）
- (2) ポスターセッションは、6 月 3 日（金）17:10～18:05 です。セッション中は、ポスターの前に立ち、聴衆に対して説明と質疑応答を行ってください。
- (3) ポスター発表では、登壇しての発表はありませんが、ポスターセッション中に、演題毎に座長を割り当て、コアタイムを設定します。コアタイムになれば、座長の指示に従い、ポスターの前で 5 分程度の説明と 2 分程度の質疑応答を行ってください。なお発表時間および座長については、ポスター掲示用パネル上部に貼り付けてある演題番号下にも記載してあります。
- (4) ポスター前で PC などを使いながら説明をすることも可能ですが、電源は用意していません。
- (5) ポスターは、6 月 4 日（土）の 13:00 以降に撤去してください。なお 6 月 4 日（土）の 18:00 を過ぎて放置されているポスターは、年会事務局にて処分します。

ポスターの作成について

1. ポスターを貼り付けるパネルのサイズは、ヨコ 90cm×タテ 180cm です。このパネルのサイズに収まるよう、ポスターを作成してください。演題番号は年会でパネル左上端に貼っておきます。（下左図参照）
2. 文字や図表のサイズ、レイアウトを工夫し、離れたところからでもわかりやすいポスターを作成することを心がけてください。
3. 「目的」・「方法」・「結果」・「結論」などを明確にし、目的は左上部に、結論は右下部になるように配置してください。（下右図参照）
4. タイトル・発表者氏名・所属に続いて代表者の連絡先メールアドレスを記入してください。



ポスター掲示用パネルのサイズ

**第34回バイオレオロジー学会年会 ポスターセッション
—ポスターの作成について(例)—**

○郡 慎平*, 田地川 勉**, 板野 智昭***, 関 眞佐子***
*藍野大学医療保健学部 臨床工学科
 **関西大学システム理工学部 機械工学科
 ***関西大学システム理工学部 物理・応用物理学科
 連絡先: web@biorheology.jp

講演タイトル
 筆者(発表者に○を付す)
 所属
 連絡先(代表者のメールアドレス)

これら情報はかならず記載すること

以下、発表内容を
 1. 緒言・目的
 2. 実験装置および方法
 3. 結果
 4. 考察
 5. 結論
 等、項目に分けて記載
 (できる限り緒言・目的は左上部、結論は右下部になるように配置する)

フォントサイズ等については、特に指定しませんが、聴講者が読みやすいように比較的大きめのサイズにしておいてください。

ポスターの作成例

特別講演のご案内

6 月 3 日（金）16:10～16:55 第 1 室

司会：年会長 関眞佐子（関西大）

「循環・呼吸の力学とバイオレオロジー」

大場謙吉（関西大）

シンポジウムのご案内

シンポジウム I

6 月 3 日（金）9:00～10:30 第 2 室

「脳動脈瘤の CFD による解析」

オーガナイザー： 氏家弘（東京労災病院）

深作和明（理化学研究所）

シンポジウム II

6 月 4 日（土）15:40～17:10 第 2 室

「臓器微小循環の可視化とバイオレオロジー」

オーガナイザー： 関淳二（国立循環器病研究センター）

精山明敏（京都大）

シンポジウム III

6 月 3 日（金）10:45～12:00 第 1 室

「デバイス技術による細胞解析・制御の最前線」

オーガナイザー： 大橋俊朗（北海道大）

須藤亮（慶應義塾大）

宮崎浩（大阪大）

シンポジウム IV

6 月 4 日（土）15:40～16:40 第 1 室

「誤嚥症状判定用溶液の作成による嚥下困難者の食の QOL 向上」

オーガナイザー： 佐藤恵美子（新潟県立大）

市川寿（長崎大）

西成勝好（大阪市立大）

バイオレオロジー・リサーチ・フォーラムのご案内

6 月 2 日（木）16:00～18:00 第 2 室

司会： 須藤亮（慶應義塾大）

「微細加工技術とバイオレオロジー」

1. 「ボトムアップ組織工学：MEMS で生体組織を組み立てる」

松永行子（東京大）

2. 「バイオ MEMS を用いたマルチスケール細胞操作」

益田泰輔（名古屋大）

岡小天賞・論文賞受賞講演のご案内

6 月 4 日（土）13:15～14:15

司会： 会長 谷下一夫（慶應義塾大）

岡小天賞受賞講演

「バイオレオロジーと私」

峰下雄（帝塚山大）

論文賞受賞講演

「膜を通る物質輸送における電荷の影響」

秋永剛（関西大）

学術奨励賞応募講演のご案内

6 月 3 日（金）13:15～14:45 第 1 室

座長： 土橋敏明（群馬大）、佐々木直樹（北海道大）

優れた研究発表をした若手の日本バイオレオロジー学会会員を顕彰します。応募者の本セッションでの発表に対する審査員の評点で、学術奨励賞受賞論文を決定します。年会 2 日目の総会で受賞論文名を発表し、受賞者には賞状および副賞として金一封を授与します。

ベストポスター賞選考のご案内

6 月 3 日（金）17:10～18:05 ポスター発表会場

座長： 青木友浩（京都大）、喜多理王（東海大）、金田勇（酪農学園大）、東藤正浩（北海道大）、
外山吉治（群馬大）、古澤和也（北海道大）、槇靖幸（群馬大）、山田宏（九州工業大）、
坂元尚哉（東北大）、西田正浩（産業研）、宮崎浩（大阪大）、百武徹（横浜国立大）

優れたポスター発表を行った研究者を顕彰します。本セッションでのポスター発表に対する審査員の評点で、ベストポスター賞受賞論文を決定します。年会 2 日目の総会で受賞論文名を発表し、受賞者には賞状を授与します。

第34回日本バイオレオロジー学会年会プログラム

○印：口頭発表登壇者，またはポスター発表の発表者

第1日目 6月3日（金）

第1室

9:00～10:30 OS4：細胞・分子のメカノバイオロジー

座長： 大橋俊朗（北海道大）

p.22～27

OS4-1 アクチン細胞骨格構造に着目した細胞 - 基質相互作用の解析

○三好洋美（理化学研究所），朱正明，山形豊，Sang Min Lee（PNU），Dong Jin Cho，
Jong Soo Ko，安達泰治（京都大・理化学研究所）

OS4-2 骨芽細胞の機能に及ぼす力学刺激の影響

○花崎洋平（北海道大），伊東大輔，古澤和也，福井彰雅，佐々木直樹

OS4-3 空間的せん断応力勾配環境下における内皮細胞の RhoGTPase 活性応答

○大谷祥一郎（東北大），坂元尚哉，佐藤正明

OS4-4 血管内皮 PECAM-1 の集積による単球の内皮下浸潤ポジティブフィードバック

○片岡則之（川崎医療福祉大），橋本謙（川崎医科大），毛利聡，梶谷文彦（川崎医療福祉大）

OS4-5 交流平等電界中での細胞群の挙動

○多田茂（防衛大），夏谷智之，塚本哲

OS4-6 Ca イオン応答伝播時における血管内皮細胞内 PKC α の局在

○寺田麻理枝（芝浦工業大院），島田知弥，島村友理，岡本諭，高柳翔（芝浦工業大），
工藤奨

10:45～12:00 シンポジウムⅢ：「デバイス技術による細胞解析・制御の最前線」

座長： 須藤亮（慶應義塾大）

p.28～32

S4-1 流れずり応力による循環内皮前駆細胞の分化誘導

○小尾正太郎（東京大），増田治史（東海大），山本希美子（東京大），阿部裕輔，
安藤譲二（獨協大），浅原孝之（東海大）

S4-2 マイクロ流体デバイスにおける血管内皮細胞－間葉系幹細胞共培養系の構築

○山本興子（慶應義塾大），須藤亮，池田満里子，谷下一夫

S4-3 マイクロピラーデバイスによる流れ負荷血管内皮細胞の牽引力計測

○大橋俊朗（北海道大），田中綾一，前田英次郎，佐藤正明（東北大）

S4-4 接着基材の伸展により生じる血管平滑筋細胞の局所的ひずみの計測

○宮崎浩（大阪大），森暁彦（クボタ），和田成生（大阪大）

S4-5 伸展刺激を受ける細胞のその場観察用マイクロデバイスの開発と試作

○佐藤克也（徳島大），門司亮（山口大），中島雄太，南和幸

13:15～14:45 学術奨励賞応募講演

座長：土橋敏明（群馬大），佐々木直樹（北海道大）

p.33～38

A-1 臍組織内環境を模擬した微小溝付き薄膜細胞培養デバイスの開発

○前田英次郎（北海道大院），萩原康史，James HC Wang（Univ. of Pitts.），大橋俊朗（北海道大院）

A-2 多糖類ゲルの構造異方性

○槇靖幸（群馬大），細谷奈津季，伊藤圭，米山知加純，古澤和也（北海道大），
土橋敏明（群馬大），山本隆夫

A-3 コラーゲン自己組織化における構造変化の観測

○前原鈴子（大阪大），福島修一郎，紀ノ岡正博，荒木勉

A-4 広帯域誘電分光法によるポリ(N-イソプロピルアクリルアミド)溶液中の高分子のダイナミクス

○中野慎也（東海大院），鳥垣歩，鈴木慶，喜多理王，新屋敷直木，八木原晋

A-5 家蚕の5齢期間における絹糸腺のレオロジー挙動

○富田奈緒子（群馬大），大塚佑馬，槇靖幸，土橋敏明，中野慎也（東海大），渡邊清鋭，
喜多理王，八木原晋，馬越淳（農業生物資源研究所），中村邦男（酪農学園大）

A-6 高柔軟性脳血管ステントによる血管壁への応力負荷の軽減

○正林康宏（慶應義塾大），立嶋智（Univ. of California），谷下一夫（慶應義塾大）

15:00～16:00 OS5：ティッシュエンジニアリング・人工臓器（1）

座長：築谷朋典（国立循環器病研究センター）

p.39～42

OS5-1 血液ガス反応を伴う物質移動の数値解析手法を用いた

人工肺内の酸素・炭酸ガス移動量推定に関する検討

○片桐伸将（国立循環器病研究センター），舟久保昭夫（東京電機大），
築谷朋典（国立循環器病研究センター），巽英介，水野敏秀，武輪能明，妙中義之，
福井康裕（東京電機大）

OS5-2 開口位バイオバルブの開発

ー鋳型の設計、バイオバルブの作製と生体外実験による弁機能評価ー

○松井悠一（関西大院），田地川勉（関西大），大場謙吉，山南将志（京都府立医科大），
武輪能明（国立循環器病研究センター），中山泰秀

OS5-3 モノピボット遠心血液ポンプの数値流体力学解析による血液適合性評価

○西田正浩（産業技術総合研究所），山根隆志，丸山修，小阪亮，桑名克之（泉工医科工業），
山本好宏，山海嘉之（筑波大），筒井達夫OS5-4 モノピボット遠心血液ポンプの *in vitro* 血液試験による血液適合性評価○丸山修（産業技術総合研究所），山根隆志，西田正浩，小阪亮，桑名克之（泉工医科工業），
山本好宏，山海嘉之（筑波大），筒井達夫

16:10～16:55 特別講演

司会：関眞佐子（関西大）

p.43

循環・呼吸の力学とバイオレオロジー

○大場謙吉（関西大）

第 2 室

9:00～10:30 シンポジウム I :「脳動脈瘤の CFD による解析」

座長： 深作和明（理化学研究所）

p.44～49

S1-1 ステントを留置した球形動脈瘤内流れの可視化

○金子誠（芝浦工業大）、氏家弘（東京労災病院）、山口隆平（芝浦工業大）

S1-2 ステント留置における血管壁への応答と再狭窄のメカニズム

○奥田聡（慶應義塾大院）、正林康弘、立嶋智（Univ. of California）、谷下一夫（慶應義塾大）

S1-3 脳動脈瘤内の流れの遷移性に関して：計測・計算の比較によるモデリング留意点

○八木高伸（早稲田大）、高橋彩来、戸部泰貴、岩崎清隆、梅津光生、高尾洋之（慈恵医大）、
村山雄一

S1-4 動脈瘤治療用多孔薄膜カバードステントの設計最適化のための生体外模擬実験

○紅林芳嘉（関西大院）、中川雄太、田地川勉（関西大）、大場謙吉、
中山泰秀（国立循環器病研究センター）、西正吾（札幌東徳洲会病院）

S1-5 計算流体力学による脳動脈の拍動流解析と瘤形成部位における血行力学的負荷の評価

○下権谷祐児（兵庫県立大）、田代一馬、伊藤和宏、熊丸博滋

S1-6 離脱式コイルの流れに及ぼす影響

○深作和明（理化学研究所）、根来真（藤田保健衛生大）、小西善史（杏林大）、
野田茂穂（理化学研究所）、奈良一成（碑文谷病院）、高木周（理化学研究所）

10:45～12:00 OS1：血管内治療

座長： 氏家弘（東京労災病院）

p.50～54

OS1-1 ProstaglandinE₂-EP2 シグナル伝達系は血流ストレスにより活性化され

脳動脈瘤形成に関与する

○青木友浩（京都大）、古屋敷智之、山本希美子（東京大）、福田美雪（京都大）、
宮本享、成宮周

OS1-2 脳動脈瘤の増大パターンと血流動態

○庄島正明（東京大）、西堂創、金太一、大島まり、斉藤延人

OS1-3 未破裂脳動脈瘤の破裂リスクに関する 3 次元可視化システムを用いた CFD 解析の試み

○入江恵子（藤田保健衛生大）、太田信（東北大）、安西眸、中山敏男、
根来真（藤田保健衛生大）、廣瀬雄一

OS1-4 破裂脳動脈瘤の新しい 4D-CTA による構造解析と CFD 解析

○石田藤麿（三重中央医療センター）、梅田靖之（三重大）、鈴木秀謙、松島聡、滝和郎

OS1-5 CFD 解析を用いた ENTERPRISE VRD がもたらす脳動脈瘤内血行力学的効果の検討

○梅田靖之（三重大）、石田藤麿（三重中央医療センター）、鈴木秀謙（三重大）、松島聡、
滝和郎

15:00～16:00 OS6：生体物質の構造形成と機能発現・制御（1）

座長： 藤井修治（長岡技術科学大）

p.55～58

OS6-1 DNA 異方性ゲルの構造とレオロジーに関する研究

○古澤和也（北海道大），福井彰雅，佐々木直樹

OS6-2 イオンの拡散によって形成される異方性コラーゲンゲルの形成過程および構造

○増元淳一（北海道大），古澤和也，福井彰雅，佐々木直樹

OS6-3 3 重らせんペプチドと高分子電解質の複合体形成

○寺尾憲（大阪大），金永亮子，佐藤尚弘，水野一乗（シュライナーズ子供病院），

Hans Peter Bachinger

OS6-4 放射光 X 線回折による骨アパタイトーコラーゲン複合構造の力学挙動観察

○東藤正浩（北大工），Jörg Goldhahn（ETH Zurich），Philipp Schneider，Ralph Müller，

Oliver Bunk（Paul Scherrer Institut），但野茂（北海道大）

ポスター発表会場

17:10～17:25 ポスターセッション コアタイム（1）

p.59～66

座長： 青木友浩（京都大）

P-1 軟組織再生用足場としての応用を目指した温度応答性インジェクタブルゲル

○鈴木浩之（関西大），城戸博隆，大矢裕一

P-2 反射干渉分光法からみる DNA アプタマーの抗原特異的結合機構

○伊藤克法（シスメックス・JST 委託開発），加畑博幸

座長： 喜多理王（東海大）

P-3 DNA 水溶液の乾燥過程のダイナミクス II

○猪狩徹平（群馬大），土橋敏明，山本隆夫

P-4 寒天ゲルの物性に及ぼすテラピア鱗由来コラーゲンペプチドの分子量の影響

○小野寺允（兵庫県立大），深江亮平，西成勝好（大阪市立大），吉村美紀（兵庫県立大）

座長： 金田勇（酪農学園大）

P-5 魚肉と鶏肉の混合熱ゲルの特徴

ー魚肉の季節変動の影響ー

○吉元梓（長崎大），市川寿，土橋敏明（群馬大）

P-6 ガラス及びゲル中の超音波応力の鋭敏色可視化

○泉野香奈（関西大），山本健

座長： 東藤正浩（北海道大）

P-7 サブトラクション放射光 CT による骨欠損修復早期の骨再生及び血管新生定量イメージング

○後藤大智（大阪大），松本健志，内藤尚，田中正夫

P-8 能動的超音波ドップラー法による頸動脈血流中の栓子と気泡の識別方法の開発

○河合翔平（関西大院），郡慎平（藍野大），田地川勉（関西大），大場謙吉

17:30～17:45 ポスターセッション コアタイム (2)

p.67～74

座長： 外山吉治（群馬大）

P-9 PZT セラミックスの非線形圧電性を用いた横波位相共役波の発生

○青柳将史（関西大）、大野正弘（千葉工業大）、山本健（関西大）

P-10 天然多糖キチンの溶液内挙動

○南昇吾（関西大）、古池哲也、田村裕

座長： 古澤和也（北海道大）

P-11 12-ヒドロキシステアリン酸ゲル中の自己凝集構造による誘電緩和

○腰越俊章（群馬大）、吉場一真、武野宏之

P-12 融解過程における水和したプルランオリゴマーの分子運動

○曾我恒太（群馬大）、吉場一真

座長： 槇靖幸（群馬大）

P-13 高分子ゲル中の水/DMSO 混合溶媒の誘電分光と核磁気共鳴によるダイナミクスの観測

○斉藤宏伸（東海大院）、加藤隼平、喜多理王、新屋敷直木、八木原晋、福崎稔

P-14 模擬中咽頭としてコラプシブルチューブを用いたいびきの発生機序に関する生体外実験

○大塚富裕（関西大院）、田地川勉（関西大）、板東潔、大場謙吉

座長： 山田宏（九州工業大）

P-15 ヒト声帯弾性膜モデルを用いた異常時の発声メカニズムに関する実験的研究

ー声門閉鎖不全かつ声帯状態不均衡の発生音と声帯の振動挙動ー

○安積晃（関西大院）、藤野裕太郎、田地川勉、板東潔、大場謙吉

P-16 喘息の生体外模擬実験

ー二層構造の細気管支モデルの外層弾性率を変化させたときの座屈挙動についてー

○辻本勉（関西大院）、田地川勉（関西大）、板東潔、大場謙吉

17:50～18:05 ポスターセッション コアタイム (3)

p.75～80

座長： 坂元尚哉（東北大）

P-17 紅蓼由来サポニン分画の血液保存における赤血球レオロジー機能障害に対する保護効果

○鈴木洋司（愛媛大）、大久保信孝、寒川慶一、青戸守、満田憲昭

P-18 マイクロチャンネルを用いたヒト赤血球の形状回復に関する時定数の測定

ー脂質二重膜の硬さと内部液体の粘度が及ぼす影響ー

○村西史哉（関西大院）、久保田麻紀、田地川勉（関西大）、大場謙吉

座長： 西田正浩（産業技術総合研究所）

P-19 単軸引張から解放されたヒト赤血球の形状回復に関する時定数の測定

ー変形様式が時定数に及ぼす影響ー

○新池谷崇（関西大院）、郡慎平（藍野大）、田地川勉（関西大）、大場謙吉

P-20 Y 字型マイクロチャネルの合流流れにおける混合過程

安田弘誓（関西大），○糸田和博，羽山大貴，板野智昭，関眞佐子

座長： 宮崎浩（大阪大）

P-21 マイクロチャネル内赤血球サスペンション流れにおける血小板模擬粒子の分散係数

○保井一仁（関西大），板野智昭，関眞佐子

P-22 マイクロチャネル内の障害物近傍に形成される血漿層の計測 II

○西本雅達（関西大），板野智昭，関眞佐子

第 2 日目 6 月 4 日（土）**第 1 室**

9:00～10:15 OS5：ティッシュエンジニアリング・人工臓器（2）

座長： 岩崎清隆（早稲田大）

p.81～85

OS5-5 ヒト血液性状を保持した超急性免疫反応評価実験システムの開発と

無細胞組織の補体活性の評価

○岩崎清隆（早稲田大），東宮裕人，利根川明宏，宮川充，永井美玲（東京女子医科大），
藤本哲男（早稲田大），尾崎重之（東邦大），梅津光生（早稲田大）

OS5-6 積層細胞シート内の流動

○紀ノ岡正博（大阪大）

OS5-7 灌流培養における 3 次元心筋組織の構築

○坂口勝久（早稲田大），清水達也（東京女子医科大），岩崎清隆（早稲田大），
大和雅之（東京女子医科大），梅津光生（早稲田大），岡野光夫（東京女子医科大）

OS5-8 Dorsal skinfold chamber を用いた生体内肝臓組織形成の可視化に関する検討

○若杉美樹（慶應義塾大），須藤亮，牛山明，谷下一夫

OS5-9 流れ負荷時における共培養モデルでの肝細胞機能の評価

○藤田陵佑（芝浦工業大），隅井干城（慶應義塾大院），谷下一夫（慶應義塾大），
工藤奨（芝浦工業大）

10:30～11:30 OS2：循環器系ダイナミクスと疾患（1）

座長： 南山求（広島国際大）

p.86～89

OS2-1 血流解析による偽腔閉塞型大動脈解離から起因する

Ulcer-Like Projection(ULP)の経時変化に関する研究

○森太志（北陸先端科学技術大），大竹裕志（金沢大），眞田順一郎，木村圭一，松井修，
渡邊剛，松澤照男（北陸先端科学技術大）

OS2-2 Flow Diverting Stent の流れに及ぼす影響

○深作和明（理化学研究所），根来真（藤田保健衛生大），小西善史（杏林大），
野田茂穂（理化学研究所），奈良一成（碑文谷病院），高木周（理化学研究所）

OS2-3 頸動脈脂質コア部の血圧負荷下での応力状態に関する検討

○山田宏（九州工業大），坂田則行（福岡大）

OS2-4 血圧・血流による弁の変形が大動脈弁硬化症発症に及ぼす影響

ー大変形した弁モデルの 3 次元形状とひずみ分布測定ー

○權愛美里（関西大院），藤元彰（関西大院），田地川勉（関西大），大場謙吉，
星賀正明（大阪医科大），發知淳子（大阪医科大）

11:40～12:15 日本バイオレオロジー学会総会

13:15～14:15 学会賞受賞講演

司会： 谷下一夫（慶應義塾大）

p.90～91

13:15～13:35 論文賞受賞講演

膜を通る物質輸送における電荷の影響

○秋永剛（関西大）

13:35～14:15 岡小天賞受賞講演

バイオレオロジーと私

○峰下雄（帝塚山大）

14:30～15:30 OS2：循環器系ダイナミクスと疾患（2）

座長： 野田茂穂（理化学研究所）

p.92～95

OS2-5 弾性動脈瘤モデル内の壁せん断応力の測定

○前川信二（芝浦工業大院），山口隆平（芝浦工業大），氏家弘（東京労災病院）

OS2-6 筋性動脈と弾性動脈の加齢性変化

ー三要素モデルによる検討ー

○岡村法宜（広島国際大），南山求

OS2-7 バイパス手術における血管吻合角度の血流への影響

○姫野雅子（理化学研究所），野田茂穂，深作和明，姫野龍太郎

OS2-8 加齢による血液の凝固亢進と赤血球の凝固活性に関する検討

○貝原真（理化学研究所），氏家弘（東京労災病院），鈴木嘉昭（理化学研究所）

15:40～16:40 シンポジウムⅣ：「誤嚥症状判定用溶液の作成による嚥下困難者の食の QOL 向上」

座長： 佐藤恵美子（新潟県立大），市川寿（長崎大）

p.96～99

S7-1 レオロジー特性の異なる溶液嚥下時のレントゲンビデオによる誤嚥判定

○西成勝好（大阪市立大），武政誠，L. Su，道脇幸博（武蔵野赤十字病院），水沼博（首都大），大越ひろ（日本女子大）

S7-2 液状食塊の嚥下のシミュレーション

○水沼博（首都大），園村光弘，道脇幸博（武蔵野赤十字病院），西成勝好（大阪市立大）

S7-3 シミュレーターによる誤嚥機構解明とビデオフルオログラフイーによる誤嚥症例の検討

○道脇幸博（武蔵野赤十字病院），西成勝好（大阪市立大），水沼博（首都大），大越ひろ（日本女子大）

S7-4 とろみ調整食品のレオロジー特性と食の QOL 向上に寄与する指標

○大越ひろ（日本女子大），岩崎裕子，高橋智子（神奈川工科大），道脇幸博（武蔵野赤十字病院），西成勝好（大阪市立大）

16:50～18:05 OS7：ヘルスケア食品レオロジー

座長： 佐藤恵美子（新潟県立大），吉村美紀（兵庫県立大）

p.100～104

OS7-1 高齢者におけるトロミ調整食品が嚥下に与える影響

○高橋智子（神奈川工科大），二藤隆春（東京大），田山二郎（国際医療センター），

大越ひろ（日本女子大）

OS7-2 テクスチャーからみた魚肉練製品の咀嚼性の位置付け

山下瞳（長崎大），Juan Qian（上海海洋大），〇市川寿（長崎大）

OS7-3 キャッサバデンプン配合麺の高齢者による咀嚼性

〇江口智美（兵庫県立大），吉村美紀

OS7-4 本葛澱粉ゲルの力学特性に及ぼすショ糖とゴマ油添加の影響

〇佐藤恵美子（新潟県立大），若井友梨恵

OS7-5 溶融チョコレート流動特性に対するショ糖脂肪酸エステルの影響

〇金田勇（酪農学園大），伊藤桃，水戸歩美

第 2 室

9:00～10:15 OS6：生体物質の構造形成と機能発現・制御（2）

座長：寺尾憲（大阪大）

p.105～109

OS6-5 アミロイド線維溶液の流動複屈折と線維の弾性率

須磨俊輔（北海道大），斉藤有奈，古澤和也，福井彰雅，〇佐々木直樹

OS6-6 細菌べん毛繊維の多型変換機構

ー巨大タンパク質集合体の形態変化を導く局所的相互作用ー

〇林史夫（群馬大院），都丸英敏，指田優花，池田佳奈美，古川英嗣，大澤研二

OS6-7 植物培養細胞表面における生合成マイクロフィブリルの

磁場による構造形成制御とその異方的機械特性

堺田英孝（千葉工業大），藤村祐（オンチップ・バイオテック），〇飯野正昭（千葉工業大）

OS6-8 複合二分子膜ラメラ相のずり誘起オニオン形成

〇藤井修治（長岡技術科学大），光増大輔，五十野善信

OS6-9 リポソーム内外の pH 及びイオン強度差が与えるリポソームの変形

黒田修未（佐賀大），瀬戸洋繁，〇成田貴行，大石祐司

10:30～11:30 OS3：血液レオロジーと微小循環（1）

座長：望月精一（川崎医療福祉大）

p.110～113

OS3-1 小型 Falling Needle Rheometer を用いた血液流動特性自動解析装置の開発

〇山本秀樹（関西大），鈴木貴雅，川村公人（アサヒビール），

Dominik Bernitzky（Medical Univ. of Vienna），Roberto Plasenzotti

OS3-2 QCM を用いたコンカナバリン A 及びフィブリノゲンとトリプシン処理を施した

赤血球表面との相互作用の測定

〇外山吉治（群馬大院），中村真彦，窪田健二

OS3-3 高血圧ラットおよび糖尿病ラットにおける赤血球変形能の低下

〇丸山徹（九州大），古川陽介，深田光敬，小田代敬太，藤野武彦

OS3-4 マイクロ流路アレイ中の液体の通過時間からの粘度の推定

〇槇靖幸（群馬大），遠藤夢乃，福島美野子，西山真由美，土橋敏明，角野博之，村上正巳

14:30～15:30 OS3：血液レオロジーと微小循環（2）

座長：丸山徹（九州大）

p.114～117

OS3-5 多孔質膜の溶質輸送特性に及ぼす電荷の影響

○大谷英之（関西大院），秋永剛，関眞佐子

OS3-6 流体シミュレーションを用いた微小血管内の人工赤血球動態に関する研究

○百武徹（横浜国立大），足立文也，赤木裕貴（岡山大），柳瀬眞一郎

OS3-7 脳動脈瘤発生に関する血行力学的因子

○柿崎龍一（慶應義塾大），村田祐樹，立嶋智（Univ. of California），Fernando Vinuela，
田之上哲也（慶應義塾大），須藤亮，谷下一夫

OS3-8 静脈の動脈血灌流によるリンパ系への影響

○小山富康（元北海道大），笹嶋唯博（旭川医科大）

15:40～17:10 シンポジウムⅡ：「臓器微小循環の可視化とバイオレオロジー」

座長：精山明敏（京都大），関淳二（国立循環器病研究センター）

p.118～123

S3-1 冠微小循環の可視化

ー急性心筋梗塞時の冠微小循環変化ー

○矢田豊隆（川崎医科大），小笠原康夫

S3-2 顕微分光分析法による肺微小循環パラメータのリアルタイム計測

○精山明敏（京都大）

S3-3 ドップラ OCT 法によるラット脳微小循環の可視化

○関淳二（国立循環器病研究センター），鈴木崇士，大井康浩（大阪大）

S3-4 腎における微小循環の可視化

○仲本博（川崎医科大），小笠原康夫，梶谷文彦，中山和彦（神戸薬科大），江本憲昭

S3-5 造影超音波検査による泌尿器臓器微小循環のイメージングと臨床応用

○山本徳則（名古屋大），舟橋康人，佐々直人，青木久佳（GE 横河メディカルシステム）
土屋拓真，松川宣久（名古屋大），加藤真史，水谷一夫，吉野能，服部良平，後藤百万

S3-6 皮膚透過性と微小血管応答

○南山求（広島国際大），山本明美（帝塚山大）

17:20～18:05 OS8：バイオレオロジー全般

座長：櫻井篤（藍野大）

p.124～126

OS8-1 呼吸運動による気管支内痰塊の変形移動

○多羅尾範郎（聖隷クリストファー大）

OS8-2 熱対流中の不安定ロール状構造

○板野智昭（関西大），藤原秀誠，S.C.ジェネラリス（アストン大），秋永剛（関西大），
関眞佐子

OS8-3 血管分岐におけるマイクロバブル移動に関する簡単な計算

○多羅尾範郎（聖隷クリストファー大）

第 1 日目
6 月 3 日（金）

アクチン細胞骨格構造に着目した細胞 - 基質相互作用の解析

○三好洋美*, 朱正明*, 山形豊*, Sang Min Lee**,
Dong Jin Cho**, Jong Soo Ko**, 安達 泰治*, ***

*理化学研究所, 超精密加工技術開発チーム [〒351-0198 埼玉県和光市広沢 2-1]

**Pusan National University, Graduate School of Mechanical Engineering

***京都大学 バイオメカニクス研究領域

1. 緒言

細胞の運動状態は、細胞種やそれらの分化の度合いに応じて変化する細胞内因子、細胞外マトリックスおよび周囲の細胞から構成される細胞外環境との相互作用により多様に変化する。多くの細胞において、移動運動は、特定の時期－形態形成、組織再生、がん化・浸潤転移能の獲得時－に限られる。細胞外環境との相互作用の観点からは、例えば基底膜上は移動するが細胞間隙は移動しないなど、特定の特徴を持つ基質上に限り移動運動する細胞がほとんどである。細胞内アクチン細胞骨格構造により与えられる機械的制限は、マイクロ構造における細胞移動運動能の重要な決定因子であることが知られている。本研究では細胞運動の時空間制御メカニズムについて明らかにすることを目的として、細胞内因子としてアクチン細胞骨格に着目し、細胞とマイクロ構造化基質の相互作用を解析した。

2. 実験方法

2・1 マイクロ構造化基質の作成

単線マイクロ溝(幅 1.5 – 20 μm)から成る基質、および平面と格子状マイクロ溝表面から成る基質を作製した¹⁾。

2・2 細胞試験

細胞試験には、移動性の典型的なモデル細胞 keratocyte, およびがん細胞浸潤アッセイの標準株 HT1080 を用いた。平面からマイクロ構造化表面へと移動してきた細胞を光学顕微鏡を用いて観察、撮影し、マイクロ構造に対する細胞の応答性の違いを評価した。

細胞内アクチン細胞骨格構造の分布は、細胞を 4%パラホルムアルデヒドで固定後、蛍光ファロイジンを用いて標識し、観察した。

3. 実験結果および考察

最初に、シンプルな構造である単線溝に対する keratocyte の応答を解析した。Keratocyte は細胞と同程度のサイズ(幅 20 μm)の単線溝を下って登

りスムーズに横切った。一方、狭い溝(幅 1.5 μm)に遭遇した keratocyte はもと来た側に方向転換した(図 1a)。Keratocyte の方向転換が、溝幅、溝配置パターンのいずれに対する応答かを検討するために、幅 1.5 μm の格子溝表面に対する keratocyte の応答を調べた。幅 1.5 μm の格子溝に対しても同様に方向転換したことから、keratocyte が方向転換するか否かの決定因子は溝幅であると考えられる。これに対して HT1080 は、幅 1.5 μm の直線溝を下ることなく溝を横切った(図 1b)。

Keratocyte の葉状仮足の網目状のアクチンネットワーク(図 1c)は、HT1080 のアクチンストレスファイバー(図 1d)と比較して曲げ剛性が小さいことが予想される。これが幅 1.5 μm の狭い溝に対する応答性の違いの原因であると考えられる。

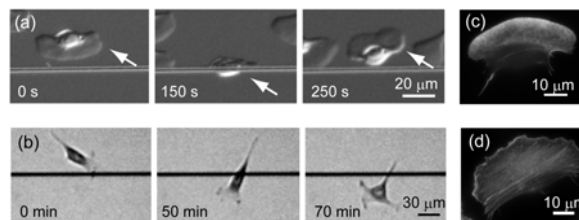


Fig. 1 Migratory behavior of (a) a keratocyte and (b) a HT1080 cell encountering a single line groove of 1.5 μm . Actin fluorescent images of (c) a fixed keratocyte and (d) a fixed HT1080 cell.

4. 結言

本研究は、細胞運動の時空間制御メカニズムの解明のみならず、細胞－基質間の力学的相互作用を利用した機能性細胞培養基質の設計指針を与えることから、幅広く医工学研究への展開の可能性がある。

文 献

- 1) Miyoshi H et al.: Control of highly migratory cells by microstructured surface based on transient change in cell behavior, *Biomaterials*, **31**, 8439-8445, 2010.

骨芽細胞の機能に及ぼす力学刺激の影響

○花崎洋平*, 伊東大輔**, 古澤和也*, 福井彰雅*, 佐々木直樹*

*北海道大学大学院 生命科学学院 生命融合科学コース [〒080-0610 北海道札幌市北 10 条西 8 丁目]

**北海道大学 大学院工学研究院 応用物理学専攻

1. 緒言

骨芽細胞は骨を作る細胞である。in vivo ではコラーゲンを主とする細胞外マトリックス (ECM) 中に存在し、コラーゲンを分泌するとともに、ECM にハイドロキシアパタイト (HAp) を沈着させて石灰化を行う。骨芽細胞は骨形成タンパクなどの化学的なシグナルと同様に、物理的なシグナルである力学刺激に応答し、骨分化誘導を起こすことが知られている。多くの研究では、周期的な張りや引っ張り応力などの動的な刺激が印加されている。しかしながら、周波数や印加時間といった力学刺激の最適条件は確立されていない。そのため本研究では印加時間に着目し、骨芽細胞に対する力学刺激の最適条件を探索することを目的とした。native な状態に近いコラーゲンを骨格として使用し、マウス頭頂骨由来の骨芽細胞様細胞株である MC3T3-E1 細胞を播種した。増殖培地中でコンフルエントまで培養した。その後分化培地で培養し、上下方向の力学刺激を印加した。力学刺激の効果を調査するため、RT-PCR 法による骨分化マーカーの発現量の解析を行った。

2. 実験方法

MC3T3-E1 骨芽細胞を増殖培地で培養した後に、コラーゲンゲル上に播種した。コラーゲンゲルは Cellmatrix Type I-A を使用し、直径 22mm、高さ 3mm の円柱状のゲルを作成した。ゲル上に 1×10^5 個の骨芽細胞を播種した。コンフルエントになった後に増殖培地に 2 mM の β -グリセロリン酸と 50 mg/mL の L-アスコルビン酸を添加した骨分化培地で培養した。培養 48 時間後に力学刺激を印加した。印加時間は 10 分、1 時間、3 時間の 3 種類とした。周波数は 3 Hz、歪は 3000 μ d に統一した。力学刺激印加後 1 時間、2 時間、4 時間、8 時間後に RNA を回収して RT-PCR を行い、I 型コラーゲン、オステオポンチン (OPN) の mRNA 発現量を解析した。

3. 実験結果

RT-PCR の結果を図 1 に示した。I 型コラーゲン mRNA の発現量は全ての試料において変化しなかった。OPN の発現量は力学刺激を加えていないコントロールと比較して、全ての印加時間の試料で発現量の増

加が見られた。特に印加時間 1 時間の試料の発現量が最も多かった。また、RNA 回収の時間が遅くなると OPN の発現量が容量依存的に増加した。

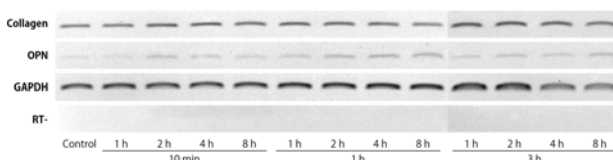


Fig. 1 Results of RT-PCR analysis. GAPDH was used as a control.

4. 考察

力学刺激の印加によって OPN の発現量が上昇したものの、I 型コラーゲンの発現量が変化しなかった。I 型コラーゲンは初期の骨分化マーカーであり、中期まで発現しつづける。また、OPN は中期の骨分化マーカーである。本研究では骨分化培地を使用したため、骨芽細胞が中期に移行した可能性があり、それにより中期の骨分化マーカーである OPN のみに影響を与えた可能性がある。

今回は力学刺激の最適化の中で、力学刺激の印加時間に着目した。10 分、1 時間、3 時間の印加時間のうち、1 時間の力学刺激が最も高い OPN の発現を示した。これは 3 種類の印加時間の中で 1 時間の力学刺激の印加が最適な条件の可能性もあるが、より正確に評価するため定量的な解析が必要であると考えられる。

5. 結言

力学刺激印加によって骨芽細胞分化が促進され、印加時間 1 時間が最適条件である可能性が示された。

空間的せん断応力勾配環境下における内皮細胞の RhoGTPase 活性応答

○大谷祥一朗*, 坂元尚哉**, 佐藤正明*, **

*東北大学 医工学研究科[〒980-8579 宮城県仙台市青葉区荒巻字青葉 6-6-01]

**東北大学 工学研究科

1. 緒言

我々はこれまでにせん断応力(SS)だけでなく空間的なせん断応力勾配(SSG)が内皮細胞の形態および細胞骨格構造変化に影響を与えると報告している¹⁾。しかし, SSG に対する内皮細胞の形態変化メカニズムは明らかになっていない。本研究では蛍光共鳴エネルギー移動(FRET)を用いて, 細胞骨格のリモデリングに関与する RhoGTPase の内 RhoA および Rac1 の経時的な活性変化に対する SS および SSG の影響を調べた。

2. 実験方法

FRET プローブである Raichu-Rac1, Raichu-RhoA をそれぞれ遺伝子導入したヒト臍帯静脈内皮細胞に対して平行平板型フローチャンバを用いて 2Pa の SS のみ, または T 型フローチャンバ¹⁾を用いて 2Pa の SS と 8Pa/mm の SSG の組み合わせの流れ環境を 90 分間加えた。倒立型蛍光顕微鏡を用いて, 青色蛍光タンパク質 (CFP) 励起光を照射し流れ負荷開始 10 分前から 5 分間隔で内皮細胞の蛍光画像を 100 分間にわたって取得した。コントロールとして静置培養した細胞の蛍光画像を同様に得た。取得した画像を CFP と黄色蛍光タンパク質(YFP)の画像に分割し, 2 つの画像蛍光比である FRET 効率 (=YFP/CFP)を算出し, 流れ負荷直前の FRET 効率を 1 として規格化した。

3. 実験結果

Rac1 と RhoA の経時的な活性変化を図 1 に示す。

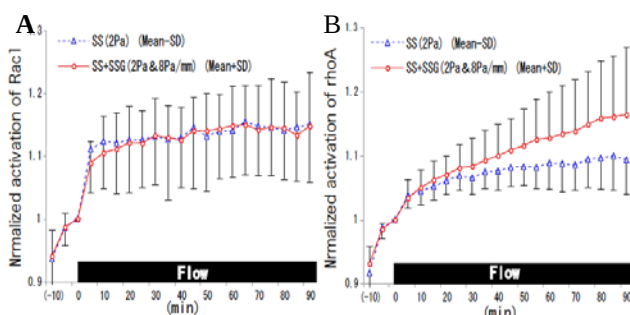


Fig. 1 Time course of changes in normalized activations of Rac1(A) and RhoA(B) in ECs exposed to flow .

SS のみにさらした内皮細胞と SSG および SS にさらした内皮細胞の両方で Rac1 活性が流れ負荷後約 10 分までに約 10%上昇し, その後維持された(図 1A). RhoA の場合, SS のみにさらした内皮細胞では約 10 分後に RhoA 活性が約 10%上昇し, その後流れ負荷の間活性が維持された。一方, SS および SSG にさらされた内皮細胞では流れ負荷の間 RhoA 活性が上昇し続けた(図 1B).

4. 考察

RhoA 活性の上昇は方向性を有する細胞遊走を抑制する²⁾。流れ刺激に対する内皮細胞の遊走と形態変化は深く関係すると考えられることから SSG および SS 環境下におかれた内皮細胞の過剰な RhoA 活性が遊走の方向性を失わせ, 内皮細胞の形態応答を抑制している可能性が考えられる。

5. 結言

本研究では, 流れ負荷環境下における内皮細胞の RhoGTPase の経時的な活性変化を FRET 法を用いて計測した。その結果, SSG および SS 環境下にさらされた内皮細胞の RhoGTPase 活性が経時的に異なることが明らかになった。

謝 辞

本研究では科学研究費補助金特別推進研究(20001007)の援助を受けて行われた。また, FRET プローブは京都大学大学院生命科学研究科 松田道行教授よりご提供いただいた。ここに記して謝意を表す。

文 献

- 1) Sakamoto, N, Saito, N, Han, X, Ohashi, T, Sato, M.: Effect of spatial gradient in fluid shear stress on morphological changes in endothelial cells in response to flow. *Biochem Biophys Res Commun*, **395**, 264-269, 2010.
- 2) Zhang, Z, Chometon, G, Wen, T, Qu, H, Mauch, C, Krieg, T, Aumailley, M.: Migration of epithelial cells on laminins: RhoA antagonizes directionally persistent migration. *Euro Cell Biol*, **90**, 1-12, 2001.

血管内皮 PECAM-1 の集積による単球の内皮下浸潤 ポジティブフィードバック

○片岡則之*, 橋本謙**, 毛利聡**, 梶谷文彦*

*川崎医療福祉大学 臨床工学科 [〒701-0193 岡山県倉敷市松島 288]

**川崎医科大学 生理学 1 教室

1. 緒言

動脈硬化発生初期において、酸化 LDL 等によって傷害された血管内皮細胞に血中の単球が接着し、続いて内皮下へ浸潤する。慢性的な単球浸潤はマクロファージの内膜蓄積、泡沫化を引き起こして動脈硬化病変を進行させる¹⁾。ところで、Platelet-Endothelial Cell Adhesion Molecule-1 (PECAM-1)は内皮細胞間隙に局在する膜貫通型タンパクで、単球にも発現し、両細胞間の homophilic 結合が単球浸潤に関与すると考えられている²⁾。

本研究では、ヒト末梢血から分離した単球を血管内皮細胞に二段階に分けて添加し、一つの単球浸潤イベントがその後の浸潤に及ぼす影響について、内皮細胞間接着タンパクの発現の影響を考慮して検討した。

2. 実験方法

ヒト臍帯静脈内皮細胞 (HUVEC) を 35mm ガラスボトムディッシュ上に培養し、IL-1 β で刺激を加えた。ヒト末梢血より分離した単球 (CD14+) を約 30~40 分の間隔で 2 回添加して 30 秒ごとに位相差画像を取得、観察した。得られた画像を基に、stage 1, 2 で個別に単球の浸潤率を求めた。

IL-1 β で刺激した HUVEC に単球を添加してインキュベータ内で 50 分間、共培養した後、フローサイトメーター (FACS) で HUVEC 表面の PECAM-1 及び VE-cadherin の発現を解析した。

3. 実験結果および考察

HUVEC に 30 分の間隔において単球を二段階添加(stage1,2) し、生きたサンプルにおける全ての単球を追跡して各 stage 個別に浸潤率を算出した結果 (n=11)、浸潤率は stage2 で 1.5 倍に増加していた。

単球と共培養後の HUVEC における PECAM-1 と VE-cadherin の発現を FACS を用いて計測したところ、PECAM-1 は 1.3 倍程度まで増加し、VE-cadherin は 0.7 倍程度まで減少した。

内皮細胞上の PECAM-1 は、単球側にも発現している同分子との homophilic 結合を介して浸潤を促進、VE-cadherin は内皮細胞間隙のバリアとして機能することで浸潤を抑制すると考えられているので^{2,3)}、今回観察された変化は、更なる単球の浸潤を促進する方向の変化であると考えられる。

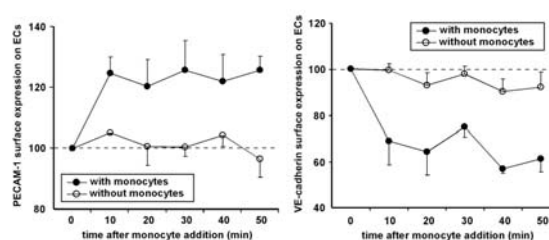


Fig. 1 FACS analysis of PECAM-1 and VE-cadherin on HUVEC

4. 結言

単球の浸潤が内皮細胞間隙分子の変化 (PECAM-1 増加、VE-cadherin 減少)を引き起こし、そのことが更なる単球の浸潤、及び内皮下での蓄積に繋がる、というポジティブフィードバック機構の存在が示唆された。

文 献

- 1) Springer T.A.: Traffic signals for lymphocyte recirculation and leukocyte emigration: the multistep paradigm. *Cell* 76, 301-314, 1994.
- 2) Mamdough Z., Chen X., Pierini L.M., Maxfield F.R., Muller W.A.: Targeted recycling of PECAM from endothelial surface-connected compartments during diapedesis. *Nature* 421, 748-753, 2003.
- 3) Hashimoto K., Kataoka K., Nakamura E., Tsujioka K., Kajiya F.: Oxidized LDL specifically promotes the initiation of monocyte invasion during transendothelial migration with upregulated PECAM-1 and downregulated VE-cadherin on endothelial junctions. *Atherosclerosis* 194(2), e9-e17, 2007.

交流平等電界中での細胞群の挙動

○多田茂, 夏谷智之, 塚本哲

防衛大学校 応用物理学科 [〒239-8686 神奈川県横須賀市走水 1-10-20]

1. 緒言

誘電体微粒子をシリコンオイルなどの非電解質液に懸濁させ、高周波不平等電界を印加すると、電場の二乗のこう配に比例する誘電分極力と、微粒子間には多重極子相互作用力が誘起される。この現象は誘電泳動(DEP: Dielectrophoresis)と呼ばれ、誘起される DEP 力の大きさ・方向は交流周波数や微粒子の誘電分極特性に大きく依存する。近年ではこの原理を利用したセルソーターやフローサイトメーターなどが発案されている。本研究では HeLa 細胞の培地懸濁液に高周波平等電界を印加させた際の細胞群の挙動を明らかにするため、数値シミュレーションを行い、実験と比較した。

2. 数値解析方法

2.1 数値解析モデル 図 1 に示す質量 m 、直径 $d(=10\mu\text{m})$ 、密度 $\rho_p(=1.04\text{g/cm}^3)$ の細胞 i が、細胞 j の双極子により生じる電界から力を受けるとき、細胞 i の運動は位置ベクトルを $\mathbf{r}_i$ として Langevin 方程式

$$m \frac{d^2 \mathbf{r}_i}{dt^2} = \mathbf{F}_i - \mathbf{S}_i + \frac{4}{3} \pi (\rho_p - \rho_f) \left(\frac{d}{2} \right)^3 \mathbf{g} \quad (1)$$

により記述される。ただし、 $\rho_f(=1.003\text{g/cm}^3)$ は培地密度である。 $\mathbf{F}_i$ 、 $\mathbf{S}_i$ は細胞 i に作用する電気力と粘性力

$$\mathbf{F}_i = \sum_{j \neq i} \mathbf{f}_{ij}, \quad \mathbf{S}_i = 3\pi\eta d \frac{d\mathbf{r}_i}{dt}, \quad (2)$$

であり、 $\mathbf{g}$ は重力加速度ベクトル、 $\eta(=8.94 \times 10^{-4} \text{Pa} \cdot \text{s})$ は培地の粘度である。ここで、 $\mathbf{f}_{ij}$ は細胞 i, j 間に作用する力

$$\mathbf{f}_{ij} = \nabla \Psi_{ij} \quad (3)$$

ただし、電場ポテンシャル Ψ_{ij} は

$$\Psi_{ij} = \frac{\mathbf{p}_i \cdot \mathbf{p}_j - 3(\mathbf{n} \cdot \mathbf{p}_i)(\mathbf{n} \cdot \mathbf{p}_j)}{4\pi\epsilon_0\epsilon_f |\mathbf{r}_{ij}|^3}, \quad (4)$$

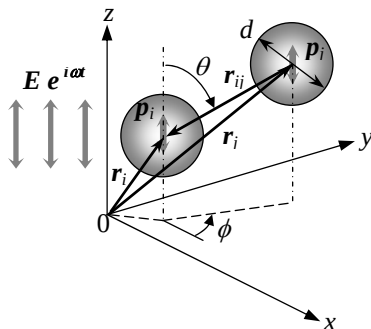


Fig.1 Schematic of the coordinate system

$$\mathbf{n} = \frac{\mathbf{r}_{ij}}{|\mathbf{r}_{ij}|}, \quad \mathbf{p}_i = 4\pi\epsilon_0\epsilon_f \left(\frac{d}{2} \right)^3 \text{Re}(\beta) \mathbf{E}$$

であり、 $\mathbf{p}_i$ 、 ϵ_0 、 ϵ_f 、 $\text{Re}(\beta)$ 、 $\mathbf{E}$ はそれぞれ、電気双極子モーメント、真空誘電率、液体の比誘電率、細胞の複素 Clausius-Mossotti factor の実部、電界ベクトルである。

2.2 解析条件 数値解析は一辺 0.3mm、高さ 0.1, 0.3, 0.5 mm の直方体単位セルを用いて行った。セルの上下面を電極面とし、側面は周期境界条件とし、力場のカットオフ半径を $10d$ とした。印加交流電界は 20kV/m, 1kHz とした。周波数 1kHz での HeLa 細胞の $\text{Re}(\beta)$ は文献値¹⁾を参考にし、 $\text{Re}(\beta)=-0.40$ とした。細胞密度は 0.5(v/v)% とし、時間ステップ $\Delta t=2 \times 10^{-6} \text{s}$ で計算を行った。

3. 数値解析結果および考察

図 2 は実験¹⁾と同じ条件で数値解析を行った結果である。ギャップ間隔は 0.3mm である。平等電界であるため、DEP 力は細胞間でのみ作用するが、その力により細胞群はクラスターを局所に形成する。時間の経過と共に細胞が電場に対し並行に、かつ数珠状に凝集し、同時に培地との比重の違いにより沈殿してゆく様子は実験結果をよく再現している。細胞と培地との密度差を低くし、細胞群の凝集過程を適切に制御することが可能になれば、従来にはない厚みのある細胞シート作成技術への応用が期待できる。現在は細胞を浮遊させた状態でシート状に培養することを試みている。

文 献

- 1) 夏谷智之・ほか 2 名: 誘電泳動力による細胞の位置制御, 日本機械学会第 17 期関東支部総会講演論文集, 437-438, 2011.

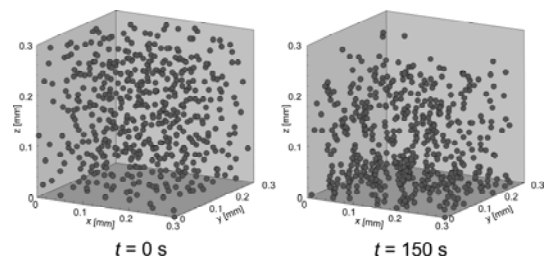


Fig.2 Simulation results of living HeLa cells aggregations at (left) the beginning and at (right) 150 s after the onset of the field exposure.

Ca イオン応答伝播時における血管内皮細胞内 PKC α の局在

○寺田麻理枝*, 島田知弥*, 島村友理*, 岡本諭*, 高柳翔**, 工藤奨**

*芝浦工業大学大学院 理工学研究科 機械工学専攻 [〒135-8548 東京都江東区豊洲 3 丁目 7-5]

**芝浦工業大学 工学部 機械工学科

1. 緒言

血管内皮細胞は創傷した際に創傷領域に周囲の細胞が集団遊走することで修復する。細胞に傷を与えると傷を与えた細胞を中心に細胞内の Ca イオン濃度が上昇する Ca イオン応答伝播が発生する²⁾。そのため我々は Ca イオン応答伝播と PKC α (Protein Kinase C α) に注目した。PKC α は Ca イオン濃度上昇に伴い細胞質から細胞膜に移動する¹⁾。しかしながら、単一細胞に傷を与え Ca イオン応答伝播が発生させたときの PKC α の局在は明らかになっていない。本研究では 1 つの細胞に傷を与え Ca イオン応答伝播が発生させ、その時の傷を与えていない細胞内の PKC α の局在を観察し、Ca イオン応答伝播と PKC α の移動の関係性を調査した。

2. 実験方法

PKC α を可視化するために蛍光タンパク質 mKeima Red (CoralHue[®] mKeima-Red, Amalgaam) を使用した。mKeima-Red と PKC α の融合タンパク質 PKC α -mKR を発現する遺伝子 pPKC α -mKR を作製し、ウシ大動脈血管内皮細胞 (BAECs; Bovine Aortic Endothelial Cells, 東洋紡) にトランスフェクションすることで細胞内の PKC α を可視化した。Ca イオンは CG-1 (Calcium Green-1, Invitrogen) を用いて標識した、キセノンランプ (C7773, HAMAMATSU) で励起光の照射と波長の切り替えをし、観察した。単一細胞に傷を与えるためにマイクロマニピレータ (06004, NARISHIGE) にハウケイ酸ガラス電極 (B100-75-10, SUTTER INSTRUMENT) を取り付けたものを使用した。結果の検定には Kruskal-Wallis 検定を用いた。

3. 実験結果

図 1 は細胞に傷を与える前後の蛍光画像である。×印の部分の細胞に傷を与えた。傷を与えた直後に Ca イオン応答伝播が発生した。一方 PKC α では傷を与えた後、Ca イオン応答伝播に伴い細胞質から細胞膜へ蛍光集中部位が変化した。特に矢印部で傾向の集中が見られた。蛍光の集中が見られたのは傷を与えた細胞に隣接する部分である。また、傷を与えた細胞に隣接する細胞に対し、傷近傍側と遠い側で、傷負荷前の蛍光強度を 1 として比較したところ傷近傍側で蛍光が強くなったことがわかった(図 2 N=8, n=23)。

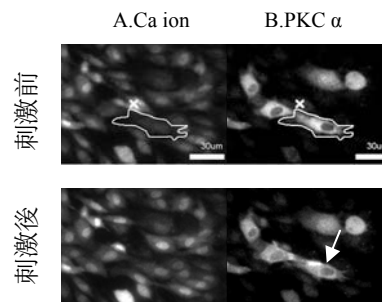


Fig. 1 Fluorescence image of Ca ion and PKC α .

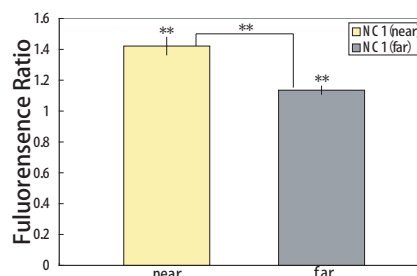


Fig 2 PKC α translocation

4. 考察

細胞に傷を与え Ca イオン応答伝播が発生させると、隣接する細胞の PKC α の局在が細胞膜の一部、特に傷を与えた細胞側に集中した。このことから、PKC α の偏在と創傷部位の感知に関連があるのではないかと考えられる。

5. 結言

傷を与えたことによって Ca イオン応答伝播が発生し、傷を与えた細胞に隣接する細胞の PKC α は、Ca イオン応答伝播に伴い傷を与えた細胞側に局在を移動させた。また PKC α の局在の移動によって刺激を感知している可能性が示唆された。

文 献

- 1) Sirosh M. et al. Regulation of Skin Microvasculature Angiogenesis, Cell Migration, and Permeability by a Specific Inhibitor PKC α , J Invest Dermatol **126** : 460-467, 2006.
- 2) Zhao Z et al. Intracellular Ca²⁺ stores are essential for induced Ca²⁺ signaling and re-endothelialization : J Cell Physiol **214** (3), 595 - 603, 2008

流れずり応力による循環内皮前駆細胞の分化誘導

○小尾正太郎^{*, **}, 増田治史^{*, **}, 山本希美子^{*}, 阿部裕輔^{*}, 安藤譲二^{***}, 浅原孝之^{**, *}

^{*}東京大学医学系大学院 生体物理医学専攻 [〒113-0033 東京都文京区本郷 7-3-1]

^{**}東海大学医学部 再生医療科学, ^{***}独協医科大学医学部 生体医工学

1. 緒言

血内皮前駆細胞（EPC）は、虚血性心疾患や慢性閉塞性動脈硬化症に対して血管新生を促進させる治療法として研究されているが、そのメカニズムはまだ不明な点が多い。EPC は骨髄から末梢血に動員され、既存の血管内皮に接着後、増殖・分化して新たな血管を形成する。この過程において EPC は血流に起因する流れずり応力の影響を受けると考えられる。以前我々は、流れずり応力が接着した EPC をより成熟した血管内皮に分化誘導し、さらには静脈よりはむしろ動脈に分化させることを報告した。そこで今回、流れずり応力が血管内を循環中のより未熟な EPC の分化に及ぼす効果に関して検討した。

2. 実験方法

EPC の培養方法。ヒト臍帯血から単核球を密度勾配遠心法で精製し、磁気ビーズを用いて CD133 陽性細胞を単離した。この細胞を生体外で 1 週間培養した後に回収し、流れずり応力の実験に用いた。研究はヘルシンキ宣言に則り、被験者のインフォームド・コンセントを得て行った。また、東海大学医学部倫理委員会および東海大学臍帯血バンク倫理委員会の承認を得た。

流れずり応力負荷実験。回転円盤型流れずり応力負荷装置を用いて EPC に流れずり応力(2.5 dynes/cm²)を 48 時間負荷した。

蛋白解析。フローサイトメトリーで表面蛋白の発現率を解析した。

遺伝子解析。PCR で遺伝子の発現レベルを検討した。

3. 実験結果

内皮マーカーである KDR、Flt1、Tie2 及び内皮接着マーカーである VE-cadherin、VCAM、integrin alpha v/beta3 (CD51/61) の蛋白発現率は、流れずり応力によりいずれも約 2 倍に増大した(図 1)。

遺伝子発現レベルでは、流れずり応力により KDR の増大を認めた。

増殖能に関しては、流れずり応力により約 2 倍増大した。

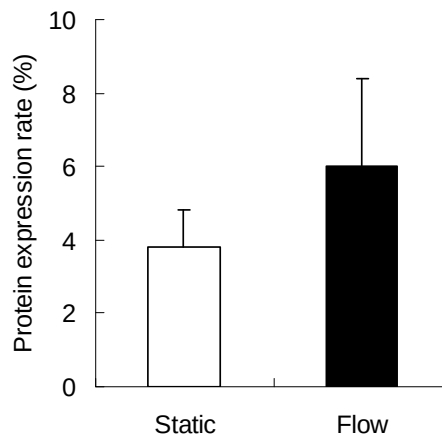


Fig. 1 Shear stress increases KDR expression. N=5, * P<0.05 vs. static control.

0.3mM 過酸化水素水負荷によるアポトーシス誘導では、静的条件化のサンプルはアポトーシスが約 3 倍誘導されたのに対して、流れずり応力を負荷したサンプルはアポトーシスがほとんど誘導されなかった。このことは流れずり応力により抗アポトーシス能が増大したことを意味する。

接着能に関しては、流れずり応力により約 2 倍に増大した。

脈管形成能に関しては、流れずり応力により脈管形成が有意に増大した。

4. 考察

流れずり応力は浮遊 EPC を血管内皮に分化誘導した。このことは流れずり応力が、接着している EPC だけでなく、血管内を循環している EPC も血管内皮に分化誘導することを示唆している。また EPC が流れずり応力を感知し、その情報を細胞内部に伝達して細胞応答をおこすことを意味する。今後流れずり応力を利用した新たな再生医療が期待される。

5. 結言

流れずり応力は血管内を循環している EPC を血管内皮に分化誘導する。

マイクロ流体デバイスにおける血管内皮細胞-間葉系幹細胞 共培養系の構築

○山本興子*, 須藤亮*, **, 池田満里子*, 谷下一夫*, **

*慶應義塾大学大学院 理工学研究科 [〒223-0061 神奈川県横浜市港北区日吉 3-14-1]

**慶應義塾大学 理工学部 システムデザイン工学科

1. 緒言

酸素と栄養の拡散限界よりも厚い三次元組織の再生には、毛細血管の再生が必要不可欠であり、その安定化メカニズムを解明することが重要である。毛細血管の安定化にはペリサイトによる被覆と、流れによる刺激が必要である。まず、ペリサイトを伴う毛細血管を再生するために、ペリサイトへ分化する間葉系幹細胞を血管内皮細胞と共培養した。この時、マイクロ流体デバイスで培養すると、細胞の配置や細胞周囲の微小環境を制御することができ、リアルタイムで血管形成のプロセスを観察可能となる。本研究では、マイクロ流体デバイスを用いてヒト臍帯静脈内皮細胞 (HUVEC) とヒト間葉系幹細胞 (HMSC) を共培養し、ペリサイトを伴う毛細血管の再生に必要な微小環境要因を明らかにすることを目的とした。

2. 実験方法

ソフトグラフィー法によってマイクロ流体デバイスを作製した (図1)。

まず、一方の流路に HUVEC を播種して単独培養を行い、細胞増殖因子 (VEGF, bFGF) の濃度、コラーゲンゲルの硬さ、HUVEC の播種濃度を調節して毛細血管の形成に必要な条件を検討した。次に、HUVEC 単独培養の結果を踏まえて、HUVEC と HMSC の共培養を行った (図2A)。ペリサイトを伴う毛細血管の再生に必要な HMSC の播種濃度を、以下に示す条件で検討した。この時 HUVEC と HMSC は同日に播種した。

HMSC の播種濃度 { ① 1.0×10^6 cells/ml ② 5.0×10^5 cells/ml
③ 2.0×10^5 cells/ml ④ 1.0×10^5 cells/ml
また HUVEC の血管形成後に HMSC を③の濃度で播種し (条件⑤)、共培養の開始時期も検討した。

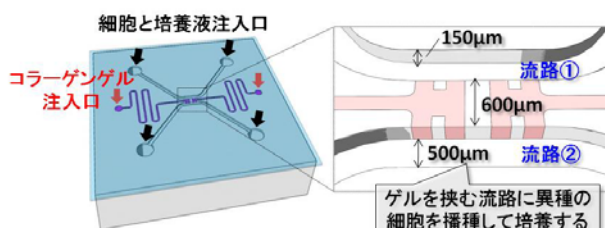


Fig. 1 A schematic image of a microfluidic device.

3. 実験結果

以下の条件 (*) では、ゲルの溶解を伴わず血管が形成された。HUVEC-HMSC 共培養では、条件①, ③, ⑤において HUVEC は毛細血管を形成し、HMSC はペリサイトへ分化して毛細血管を包み込むように局在した (図2A)。この時、再生された毛細血管には連続した内腔が存在した (図2B, C)。

* { • コラーゲンゲル pH : 3.0 mg/ml, 7.4
• HUVEC の播種濃度 : 1.0×10^6 cells/ml
• 増殖因子 (VEGF, bFGF) の濃度 : 10 ng/ml

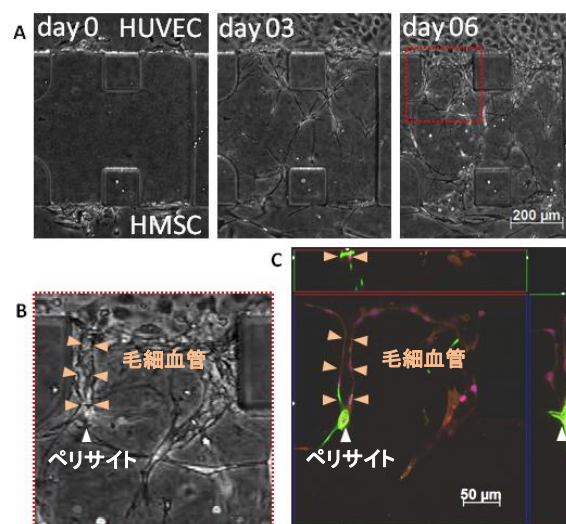


Fig. 2 HUVEC-HMSC coculture.

(A) Phase-contrast images of HUVEC and HMSC in the process of capillary formation. (B, C) An enlarged image and the corresponding confocal image on day 6. Red, actin; green, pericyte; blue, nuclei.

4. 考察

条件 (*) の培養において、ゲルの大きな溶解を伴わなかったのは、細胞内で発現したタンパク質分解酵素の量と、細胞が遊走する上でゲルの分解に必要な酵素の量が釣り合ったためと考えられる。

ペリサイトへ分化した HMSC による血管の被覆は、血管の安定化に寄与することが考えられる。

5. 結言

ペリサイトを伴う毛細血管が形成される微小環境要因を見出した。

マイクロピラーデバイスによる流れ負荷血管内皮細胞の牽引力計測

○大橋俊朗*, 田中綾一*, 前田英次郎*, 佐藤正明**

*北海道大学大学院 工学研究院 [〒060-8628 札幌市北区北13条西8丁目]

**東北大学大学院 医工学研究科

1. 緒言

血管内皮細胞は流れ負荷によって流れの方向に伸長・配向することは良く知られている。しかしながら、その過程における細胞内の力学環境については十分に解明されていない。内皮細胞をはじめとする接着細胞は焦点接着斑を通して細胞外基質に対し牽引力を作用させる。そこで本研究では、流れ負荷内皮細胞の牽引力変化を経時的に観察するための新規デバイスを開発した。マイクロピラーをアレイ状に配置した基質を平行平板型流路に組み込み、流れせん断応力下における内皮細胞底面の力学場を検討した。

2. 実験方法

試料としてウシ大動脈由来内皮細胞 (BAECs) を用いた。BAECs は pmaxGFP ベクター (Amara) を導入することで蛍光標識した。PDMS 製マイクロピラー (直径 3 μm , 高さ 11 μm , 中心間距離 9 μm) 基質は、鋳型を用いてダブルモールドニング法により作製し、35 mm 細胞培養ディッシュ底面に設置した。BAECs はフィブロネクチンでコーティングしたマイクロピラー上に播種し、コンフルエントになるまで 1~2 日間培養した後、培養液による 2 Pa のせん断応力を 24 時間負荷した。細胞形態観察および牽引力計測は顕微鏡画像を取得して行った。細胞牽引力はマイクロピラーのたわみ量を明視野画像から求め、マイクロピラーのばね定数を乗じて算出した。

3. 実験結果

図 1A および B に、流れ負荷開始時における細胞形態と牽引力の同時計測の一例を示す。流れ負荷開始時では、細胞は敷石状コンフルエント状態であり円形に近い形態を示した (図 1A)。牽引力ベクトル図から細胞底面で局所的に発生している牽引力が観察される (図 1B)。流れを負荷するに伴い細胞は形態を変化させ 24 時間後では流れ方向に細長く伸長した。牽引力分布の時間変化を図 1C に示す。牽引力中央値は実験時間を通して 2~3 nN であった。一方、最大牽引力値は 3~6 時間、6~9 時間において約 20 nN に到達した後、流れ負荷前のレベルまで減少した。

4. 考察

マイクロピラー上においても平面上の培養時と同様に BAECs は流れせん断応力に対して形態的リモデリングを行なうことが確認された。最大細胞牽引力が顕著に上昇した 3~9 時間は、せん断応力負荷下における内皮細胞の VE-カドヘリン発現量の減少と時間的スケールが一致することから、細胞間接着が流れせん断応力に対するリモデリングに大きく関与していることが示唆される。

5. 結言

本研究では、流れ負荷時の内皮細胞の牽引力ダイナミクスを計測する新しいマイクロピラーデバイスを作製しその有効性を確認した。

謝 辞

本研究は特別推進研究 (代表: 佐藤正明, No.20001007) の援助を受けた。微細加工は北海道大学創成科学研究棟オープンファシリティを利用した。

文 献

- 1) Noria, S., Cowan, D., Gotlieb, A. and Lagille, B.: Transient and steady-state effects of shear stress on endothelial cell adherence junctions. *Circ Res.*, **85**, 504-514, 1999.

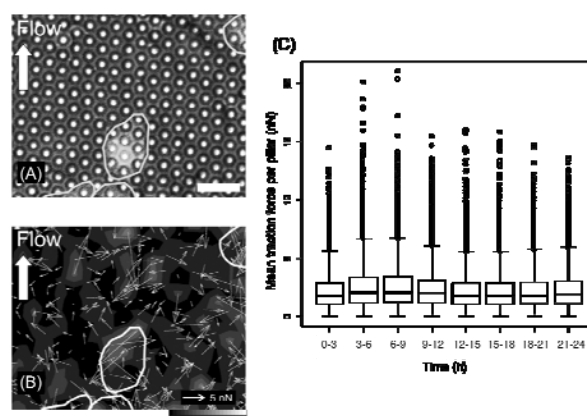


Fig. 1 (A) Fluorescent image of GFP-tagged BAECs (outlined in white) merged with bright field image of micropillars at 0 h; (B) corresponding traction force contour and vectors; (C) box plot of temporal profiles of traction force distribution. Thick lines represent median values. Open circles indicate traction forces that are larger than the majority of the data set. Scale bar = 20 μm .

接着基材の伸展により生じる血管平滑筋細胞の局所的ひずみの計測

○宮崎浩*, 森暁彦**, 和田成生*

*大阪大学大学院 基礎工学研究科 [〒560-8531 大阪府豊中市待兼山町 1-3]

**クボタ

1. 緒言

細胞が接着した弾性基材を繰り返し伸展させると細胞の形態や構造、機能などが変化することが知られている。この機序を理解するためには、基材から細胞内部にどのようにひずみが伝達されるのかを把握する必要があるが、細胞内部に生じるひずみの分布はほとんど明らかにされていない。本研究では、弾性膜上に接着させた細胞に単軸伸展ひずみを負荷することのできるデバイスと共焦点レーザー顕微鏡を用いて、弾性膜に静的伸展ひずみを与えたときに細胞内部に生じる局所的ひずみの分布を、蛍光染色したミトコンドリアを標点にして調べた。

2. 実験方法

ラット胸大動脈から酵素消化法により採取して培養した血管平滑筋細胞（VSMC, 継代数 6~10）を、Type I コラーゲンで被覆した厚さ 0.05 mm のシリコン膜上に播種し、10% FBS 添加 DMEM 中で 48 時間培養した。400 nM の MitoTracker Green FM (Molecular Probes) を含む培地中で 1 時間インキュベート (37°C) して細胞のミトコンドリアを染色したものを試料とした。

ひずみ負荷装置は、シリコン膜の両端部を互いにリンクさせたグリップで把持し、シリコン膜を両端からほぼ均等に伸展させる仕組みになっている。伸展方向に直交する方向の膜の変形を妨げることで細胞にほぼ単軸のひずみを負荷することができる。倒立型共焦点レーザー顕微鏡のステージ上に設置した装置に上記シリコン膜を取り付けて、ほぼ伸展方向に配向している細胞を選び、無負荷状態において細胞高さの約 50%（中層部）、75%（上層部）の位置で蛍光スライス画像を取得した。膜に 10% の単軸伸展ひずみを負荷した後、同様に蛍光画像を取得した。観察は室温のハンス液中で行った。

伸展前後の画像に共通してみられるミトコンドリアを頂点とする三角形要素で細胞内を 6~10 分割し、細胞核の位置を含む要素と含まない要素に分けて、要素内に生じた主ひずみの大きさと主方向を求めた。細胞核が細胞に生じるひずみに及ぼす影響を調べるとともに、細胞の上層部、中層部に生じたひずみを比較した。

3. 実験結果と考察

細胞内部に生じた第 1 主ひずみの方向は、ほぼ伸展方向と一致していた。細胞質領域と核領域に分けて各細胞について求めた主ひずみの平均値を領域ごとに平均した結果を図 1 に示す。細胞内部のひずみは不均一で、細胞中層部よりも上層部の方が第 1 主ひずみは小さかった。細胞骨格によって細胞底面のひずみが上部にまで伝達されたものと考えられるが、基材からの距離が大きくなるとともに、ひずみが減衰した。また、核領域に生じたひずみ量は細胞質領域に生じたひずみ量よりも有意に小さかった。細胞核は細胞質よりも弾性係数が大きく、核位置を含む領域では細胞が変形しにくいいため、細胞質領域よりも核領域のひずみが小さくなったものと考えられる。

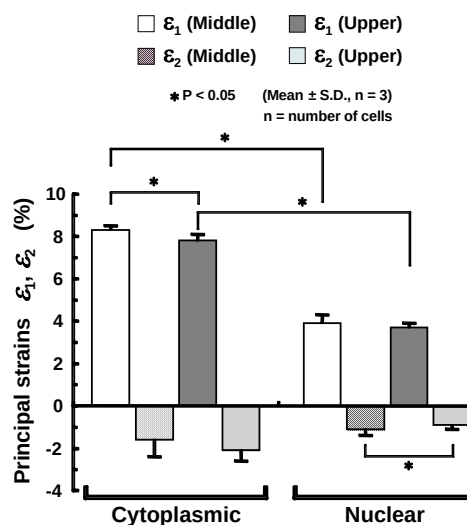


Fig. 1 Principal strains induced in VSMCs.

4. 結言

接着基材の伸展により細胞内部に生じるひずみは不均一であり、細胞核付近のひずみは小さく、また、細胞上層部のひずみは小さい。

文 献

実験に使用したシリコン膜は、同志社大学仲町英治先生よりご提供いただいた。記して謝意を表す。

伸展刺激を受ける細胞のその場観察用マイクロデバイスの開発と試作

佐藤克也*, 門司亮**, 中島雄太**, 南和幸**

*徳島大学大学院 エコシステム工学コース [〒770-8506 徳島市南常三島 2-1]

**山口大学大学院 機械工学専攻

1. 緒言

細胞の力学刺激感知機構においては、焦点接着や細胞骨格、膜たんぱく質などが構成要素として寄与していると言われている。個々の要素についてはサブセラーレベルでの検討によってその寄与が明らかにされている。しかしながら、例えば伸展変形を受ける細胞において変形中の詳細なその場観察を行い、これらの構成要素の動態や相互作用、メカノトランスダクションパスウェイについて明らかにした例はない。著者らは MEMS 技術を応用し、顕微鏡観察下で細胞に伸展変形を付与できるマイクロデバイスの開発を行ってきた。本報では、試作したデバイスについて報告する。

2. 細胞伸展マイクロデバイス

2. 1 初期型デバイス

まず、プロトタイプとして開発した初期型デバイスについて述べる。図 1 に示すように、デバイスの全長は約 2mm である。駆動機構部分の構造材料は感光性フォトレジストであり、フォトリソグラフィによって製作する。一方、細胞を播種、接着させて伸展変形を与えるチャンバー部分は透明なシリコンエラストマーをモールドニングにより成形し製作している。このデバイスをカバーガラス上に製作することで、倒立型顕微鏡による観察を可能としている。

デバイスの動作は、マイクロマニピュレーターに接続したニードルでスライダ部分をスライドさせることにより、軸受け構造で支持されたアームが回転動作を行い、チャンバーを図中左右方向へ引張る。

初期型デバイスでは、製作プロセスの妥当性検証、およびデバイスのバイオコンパティビリティなどについて評価した。

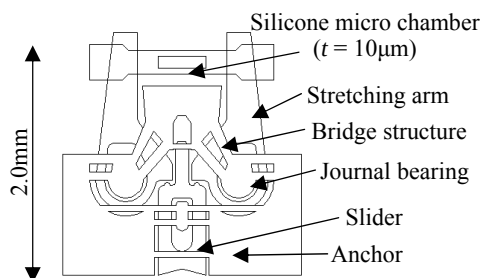


Fig.1 Schematic of the original micro stretching device

2. 2 改良型デバイス

初期型デバイスによる動作試験を行ったところ、顕微鏡観察下においてチャンバーを伸展させた際に、焦点軸方向へのチャンバー変位が大きく、ピントずれを起こすため、詳細なその場観察を行う上で問題となることが分かった。そこで、焦点ずれを抑制した改良型デバイスを開発した。

初期型デバイスにおいて、焦点ずれを起こす原因の一つとして、軸受け構造部における動作ガタが挙げられた。製作プロセスの制約上、軸受けとアームを密着させることは困難であった。そこで、改良型デバイスでは、図 2 に示すように弾性ヒンジによってアームを支持する構造とした。

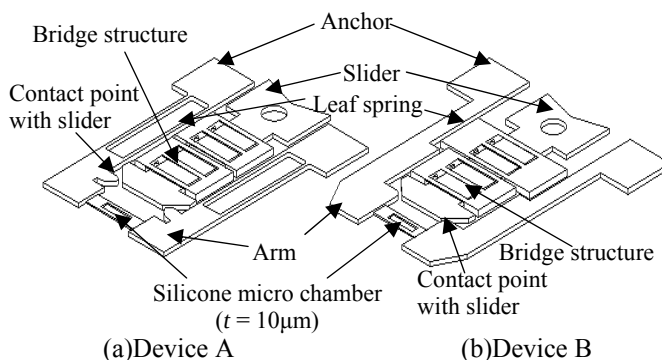


Fig.2 Schematics of improved micro stretching devices

3. 製作結果

改良型デバイスの製作においては、改良点が構造設計の変更のみであり、製作プロセスの流用が可能であったため製作上の問題は生じなかった。また、実際に動作試験を行ったところ弾性ヒンジの破断等は生じず正常に動作し、チャンバーに対して引張りを付与可能であることが確認された。

4. 結言

伸展変形を受ける細胞の詳細なその場観察を可能とする細胞伸展マイクロデバイスの開発を行った。初期型デバイスでは、伸展時の焦点ずれが問題となったため、焦点ずれを抑制した改良型デバイスの設計と試作を行った。チャンバーを弾性ヒンジ支持とすることで伸展時のチャンバー変位を抑制することができた。

参考文献省略

腱組織内環境を模擬した微小溝付き 薄膜細胞培養デバイスの開発

○前田英次郎*, 萩原康史*, James HC Wang**, 大橋俊朗*

*北海道大学大学院 工学研究院 [〒060-8628 札幌市北区北13条西8丁目]

**Department of Orthopaedic Surgery, University of Pittsburgh, USA

1. 緒言

腱には関節の動きに伴って主に張力が繰り返し作用している。これまで *in vitro* で腱細胞に繰り返し引張りひずみを負荷し、その応答を検討する研究が多くなされてきた。また、近年では組織変形に伴い発生する間質流れが腱細胞に流れせん断刺激を及ぼすことが示唆されている¹⁾。しかしながら、流れせん断応力に対する腱細胞の応答はほとんど調べられていない。

そこで本研究では、微細加工技術を用いて腱細胞の *in situ* 環境を模擬した微小溝を作製し、微小流路系を組み合わせることで、培養腱細胞に流れ刺激と引張り刺激の同時負荷が可能となる新規デバイスの開発を目指す（図1a）。ここではデバイス内微小溝面への細胞接着の確認と、デバイス内での流れ場の検証を行なったので報告する。

2. 実験方法

腱細胞はウシ中手指関節伸筋腱から単離した。腱細胞は腱組織内で組織長軸方向に配向したコラーゲン線維の間に細長い形態を示す。この特徴を *in vitro* で再現するため、細胞培養面には幅と間隔の異なる4種類の微小溝を作製した（幅×間隔：10×5, 10×10, 15×5, 15×10 μm 、深さ10 μm ）。微小溝はフォトリソグラフィ法によって鋳型を作製し、polydimethylsiloxane (PDMS) を用いて成型した。別途作製したPDMS製フローセル底面には高さ1 mmの矩形流路を設けた（図1a, b）。フローセルと微小溝付き薄膜を接着させることで微小溝上に流れを負荷することが可能となり、したがって微小溝内の細胞に流れせん断応力を作用させることができる（図1c）。微小溝内の流れ場の実証実験として蛍光ビーズ（直径2.6 μm ）を用いたmicroPTVを行い、有限要素法解析を用いて実験結果の検証と細胞に作用するせん断応力を算出した。

3. 実験結果・考察

微小溝に播種した腱細胞は、播種6時間後には微小溝内に接着し、*in situ* と同様の長軸方向に伸長した形態を示した（図1d）。

微小溝内流れ場を測定した結果、矩形流路内の平均流速80～1600 $\mu\text{m}/\text{sec}$ の範囲において、微小溝底面

近傍では速度毎秒0.6～17 μm の流れが生成されることがわかった。この結果は有限要素法解析の結果と良く一致した。また解析結果から、矩形流路内と矩形流路外（微小溝内）において異なる曲線度を有する放物線流れが生じることが分かった（図1c）。別途、共焦点レーザー顕微鏡画像から再構築した微小溝内腱細胞の有限要素モデルにこの速度分布を与えたところ、腱細胞に作用するせん断応力として生理的とされる0.45 mPa ¹⁾の負荷が可能であることが確認された（図1e）。

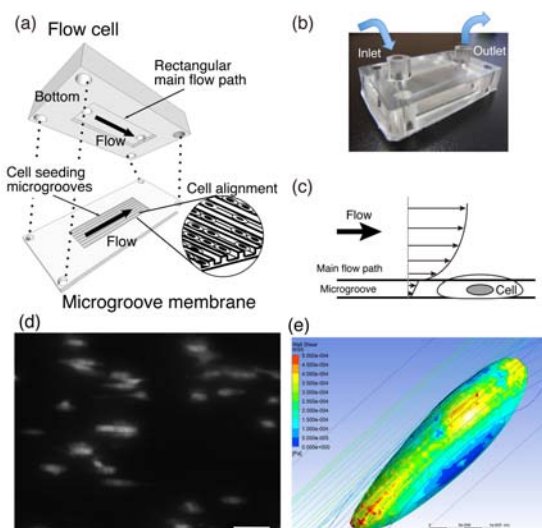


Fig. 1 (a) A schematic and (b) a photo of the newly developed cell culture device; (c) a flow pattern within the device; (d) fluorescent image of tenocytes within microgrooves. Bar = 50 μm ; (e) a typical result of FEM analysis.

4. 結言

本デバイスを用いることにより生理的なせん断応力を作用させることが可能であることがわかった。今後、流れせん断刺激と引張り刺激の同時負荷に対する腱細胞の応答を調べる。

謝 辞

微細加工は北海道大学創成科学研究棟オープンファシリティーを利用した。

文 献

- 1) Lavagnino, M., Arnoczky, S. P., Kepich, E., Caballero, O., Haut, R. Biomechan. Model Mechanobiol. 7, 405-416, 2008.

多糖類ゲルの構造異方性

○榎靖幸*, 細谷奈津季*, 伊藤圭*, 米山知加純*, 古澤和也**, 土橋敏明*, 山本隆夫*

*群馬大学大学院 工学研究科 [〒376-8515 群馬県桐生市天神町 1-5-1]

**北海道大学 先端生命科学研究院

1. 緒言

多価イオンの添加により多糖類の水溶液はしばしばゲル化する。例えば、褐藻などに含まれる多糖類であるアルギン酸水溶液は、カルシウムイオン存在下でゲル化する。アルギン酸のゲルは、アルギン酸水溶液を塩化カルシウム水溶液に滴下することにより容易に作製することができる。このようなアルギン酸ゲルビーズは、クロスニコル下で十字の縞を持つ複屈折パターンが観察されることから、ゲル化に伴う異方的な分子配向の生成が報告されている¹⁾。配向構造の形成においては、ミクロスコピックなレオロジー過程（アルギン酸分子のダイナミクス、アルギン酸分子を架橋するカルシウムイオンの拡散、アルギン酸とカルシウムイオンの結合による架橋の生成など）が関連しており、実際に生成する構造には、これらの過程が反映されていると考えられる。異方性ゲルの構造の詳細についてはこれまで明らかにされていない。本研究では、複屈折と X 線小角散乱測定を用いて、ゲルの異方的構造を詳しく調べた。

2. 実験方法

＜ゲルの調製＞ 試料として、アルギン酸ナトリウム（和光純薬）を用いた。粘度平均分子量は $M_v=2.5 \times 10^5$ であった。アルギン酸水溶液（2.0-5.0 wt%）を透析チューブ（φ28mm）に入れ、塩化カルシウム水溶液（8g/dL）中で 6-9 時間透析することにより、アルギン酸ゲルを作製した¹⁾。

＜複屈折・X 線小角散乱測定＞ 得られた円筒状のゲルを約 1mm の厚さに切り出したものを測定に用いた。クロスニコル下の観察により複屈折パターンを調べた。二枚の偏光板または円偏光板の間に試料を置いて観察することにより、複屈折特性を調べた。X 線小角散乱（SAXS）測定は、つくばの高エネルギー加速器研究機構 Photon Factory BL-15A において行った。異なる断面で切り出した試料を用意し、X 線小角散乱パターンの X 線照射方向および位置依存性を調べた。

3. 実験結果

図 1 に、円筒形ゲルを円盤状に切り出した試料について、クロスニコル下および二枚の円偏光板下で観察した時の写真を示す。ゲルの直径は 24mm である。クロスニコル下では十字の黒い縞のパターンが観察された。円偏光板下の観察では、青とオレンジの扇形のパターンが観察された。

X 線散乱測定では、入射 X 線を長軸方向または円周方向から照射した場合には、非対称な散乱パターンが観察された。散乱パターンの非対称性はゲルの表面付近で大きく、中心ではほとんど対称的だった。入射 X 線を動径方向から照射した場合には、散乱パターンは対称的であった。

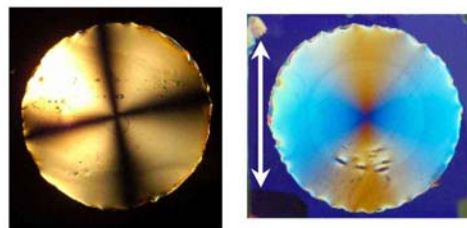


Fig.1 Photographs of the calcium alginate gel observed under crossed nicols (left) and under a pair of circular polarizers (right). The arrow represents the direction of the slow axis of the quarter wave plates.

4. 考察

図 1 の十字の黒い縞のパターンは、円周方向または動径方向の分子配向を示唆する。さらに、アルギン酸分子が正の固有複屈折を持つことを考慮すると、青とオレンジの扇形のパターンからアルギン酸分子の配向が円周方向と決定された。X 線散乱パターンの対称性から、異方的構造の対称軸が動径方向であることが示された。

5. 結言

複屈折と X 線小角散乱測定を用いて、アルギン酸ゲルの異方的構造が明らかにされた。

文 献

- 1) Maki, Y., Wakamatsu, M., Ito, K., Furusawa, K., Yamamoto, T., Dobashi, T., J. Biorheol., **23**, 24-28, 2009.

コラーゲン自己組織化における構造変化の観測

○前原鈴子*, 福島修一郎*, 紀ノ岡正博**, 荒木勉*

*大阪大学大学院 基礎工学研究科 [〒560-8531 大阪府豊中市待兼山町 1-3]

**大阪大学大学院 工学研究科

1. 緒言

コラーゲンは結合組織を構成するタンパク質として、また臓器では細胞外基質として生体内に多量に含まれており、組織工学においては細胞の足場として広く用いられている。コラーゲンは酸性溶液中でゾル状だが、中性化・加熱すると分子が自己組織化して線維を形成し、ゲル状になるという特徴がある。本研究では、非侵襲的かつ非接触でコラーゲンを観察することのできる第二高調波発生 (SHG) 顕微鏡により、コラーゲンが線維を形成する過程を経時観察した。

2. 実験方法

試料には、酸可溶性の I 型コラーゲン (Cellmatrix type I-A, 新田ゼラチン) をガラスベースディッシュに滴下し、凍結乾燥により濃縮したものをを用いた。実験装置は、共焦点レーザー顕微鏡 (DESITAL ECLIPSE C1, NIKON) の光源を別途追加し、モード同期 Ti:sapphire レーザー (Cameleon 210, Coherent) で励起できるようにした SHG 顕微鏡である。観察には水浸対物レンズ (Plan Apo 60.0x/1.20, Nikon) を用い、試料から発生した SHG 光は光電子増倍管により検出した。コラーゲンは、顕微鏡ステージ上でリン酸緩衝液 (PBS) を滴下することで中性化し、滴下後 60 分間のコラーゲンの構造変化を 5 分間隔で観察した。

3. 実験結果

コラーゲン酸性溶液の中性化直後、30 分後、45 分後、60 分後に取得した SHG 画像を Fig. 1 に示す。中性化直後には線維を確認することができなかったが、30 分後には細い線維が形成され始め、45 分後には局所的に線維が形成されており、60 分後には全体に長い線維が見られた。また、SHG 光強度は線維上では時間経過とともに増加したが、線維以外の部分では減少した。

4. 考察

SHG 光の強度は、焦点内に存在するコラーゲン分子の密度と配向に依存し、コラーゲン分子が

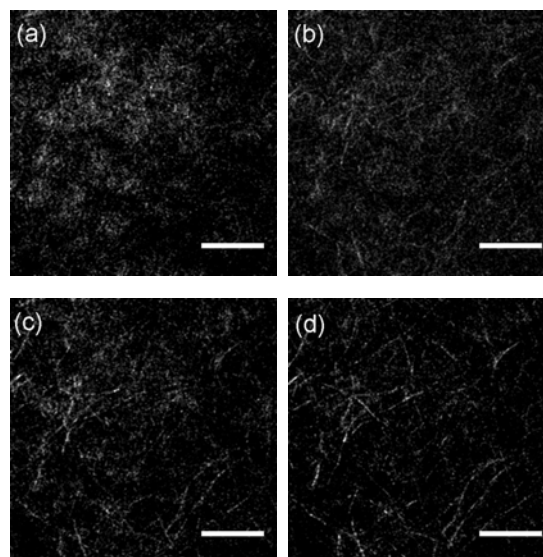


Fig. 1 SHG images of collagen substrate during gelation. (a) 0 min, (b) 30 min, (c) 45 min, (d) 60 min, scale bar = 50 μ m

高密度なほど、また分子の配向が揃うほど強くなる。図 1(a) では線維状の模様は確認できないが、SHG 光が検出されたピクセルが多いことがわかる。これは、サブピクセルスケールでは分子が凝集しているが、画像として認識できるような太く長い線維はまだ形成されていない状態であると考えられる。その後、コラーゲン分子は時間経過とともに高次構造を構築し、図 1(d) に見られるような線維を形成して SHG 光強度が増加したと考えられる。

SHG 光強度は焦点内の分子密度や分子配向を反映するため、コラーゲンを可視化するだけでなく、その微細構造に関する情報も含んでいる。また、従来コラーゲンの微細構造を観察する手段として用いられてきた電子顕微鏡と異なり、試料の乾燥や固定などの処理が不要であるため、同一試料の経時変化を高い時間分解能で観察することが可能である。以上より、SHG 顕微鏡はコラーゲン線維形成の動態観察に有用であることが示された。

広帯域誘電分光法によるポリ（*N*-イソプロピルアクリルアミド）溶液中の高分子のダイナミクス

○中野慎也, 鳥垣歩, 鈴木慶, 喜多理王, 新屋敷直木, 八木原晋
東海大学 総合理工学研究科 [〒259-1292 神奈川県平塚市北金目 4-1-1]

1. 緒言

生体高分子は熱運動に起因する分子レベルでのゆらぎが存在し、これを素過程とする分子ダイナミクスが機能発現と深く関係している。高分子水溶液の誘電分光測定では溶媒分子と高分子鎖の分子運動の特性時間が大きく異なるためそれぞれの分子ダイナミクスを分けて議論することができる¹⁾。同時に高分子鎖のダイナミクスに与える水のダイナミクスとの関連について情報が得られる。しかし測定の難しさから水中の高分子鎖のダイナミクスの研究例は少ない。本研究ではタンパク質のフォールディングモデルとして用いられている水溶性の合成高分子であるポリ（*N*-イソプロピルアクリルアミド）（PNiPAM）を水とそれ以外の様々な溶媒に溶解させ誘電分光測定を行うことで、溶液中の水溶性高分子のダイナミクスを調べた。これにより生体高分子の機能発現に関連する分子ダイナミクスの理解を深めることを目的とする。

2. 実験方法

水、メタノール、1□プロパノール、アセトン、メチルエチルケトン、ジメチルスルホキシド、ジオキサンを溶媒として PNiPAM 溶液を調製した。誘電分光の測定にはアルファ-A アナライザ（ノボコントロール社製：10 m~10 MHz）、インピーダンス・アナライザ（アジレント社製：40 k~100 MHz）、インピーダンスマテリアル・アナライザ（アジレント社製：1 M~1.8 GHz）の装置と時間領域反射法（100 M~20 GHz）を測定試料に適した周波数域に応じてそれぞれ用いた。

3. 結果・考察

純水と高分子濃度 20 wt% の PNiPAM 水溶液およびジオキサン溶液の複素誘電率の実部と虚部の周波数依存性を図 1 に示した。水溶液では 10^{10} Hz 付近と 10^7 Hz 付近に緩和過程が観測され、それぞれ h-、m-緩和とした。h-緩和は純水でも観測され、PNiPAM の添加により緩和強度が減少した。m-緩和は純水では観測されず、PNiPAM を添加することにより出現した。これらのことから h-、m-緩和はそれぞれ水と PNiPAM 鎖の運動に由来する緩和

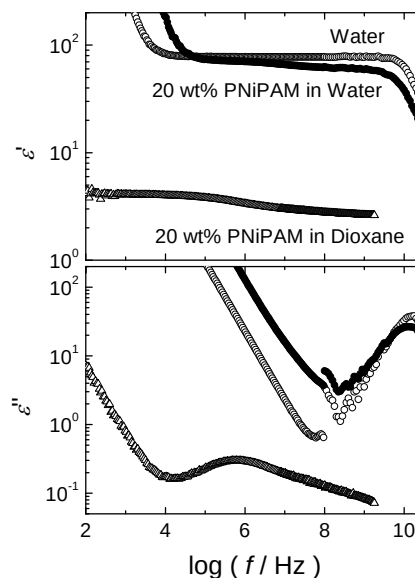


Fig. 1 Frequency dependences of real ϵ' and imaginary parts ϵ'' of complex permittivities for water, 20 wt% PNiPAM ($M_w=4.0 \times 10^5$, $M_w/M_n=1.9$) in water and 20 wt% PNiPAM ($M_w=4.1 \times 10^5$, $M_w/M_n=3.3$) in dioxane at 25 °C.

過程である。一方ジオキサン溶液ではジオキサンが誘電的に不活性であるため h-緩和は観測されず m-緩和のみ明確に観測することに成功した。

発表ではその他の溶液の測定結果を示し PNiPAM 溶液の高分子鎖のダイナミクスについて議論を行う。さらに観測された m-緩和から双極子モーメントを算出することにより高分子と溶媒の双極子相関について解析した結果を示す。

4. 結言

高分子鎖と溶媒の分子ダイナミクスの観測に成功した。得られた緩和過程の解析により PNiPAM の緩和挙動は溶媒との双極子相関および分子性の相互作用によって整理されることが明らかとなり、分子ダイナミクスについて新たなメカニズムを提唱することができた。

文 献

- 1) N. Shinyashiki et al., J. Phys. Chem. B **111**, 2181-2187 (2007).

家蚕の 5 齢期間における絹糸腺のレオロジー挙動

○富田奈緒子*, 大塚佑馬*, 槇靖幸*, 土橋敏明*, 中野慎也**

渡辺清鋭**, 喜多理王**, 八木原晋**, 馬越淳***, 中村邦男****

*群馬大学大学院 工学研究科 物質創製専攻 [〒376-8515 群馬県桐生市天神町 1-5-1]

東海大学, *農業生物資源研究所, ****酪農学園大

1. 緒言

蚕はフィブロインとセリシンを絹糸腺内で合成し、糸を吐き繭を作り蛹の期間を繭の中で過ごし、蛾になる。産業用に使われている家蚕は、繭糸を吐く寸前の 5 齢の期間に絹タンパクを合成、熟成させ、効率よく紡糸をする準備を行う。しかし、その基礎的研究においては未だ新しい実験事実が多数報告されている。本研究では、絹タンパクの合成、熟成においてダイナミックな変化が起こる 5 齢の期間の日齢依存性に着目した。この期間におけるイオンの流入、pH の変化、フィブロインとセリシンの接触などにより起こる複雑な生体内過程による凝集構造変化をレオロジー測定により追跡し、緩和関数のカーブフィットから得られる緩和時間とその分布パラメータから考察することを試みた。

2. 実験方法

家蚕(*Bombyx Mori*, ぐんま 200 (1 齢から 4 齢まで桑の葉を餌とし、5 齢では人工餌または桑の葉を与えたもので、群馬県蚕糸技術センターより提供された))は 5 齢の 3 日目から 25℃に制御された部屋に保管した。測定の前には家蚕から中部絹糸腺中区を取り出したあと、表面の薄膜を純水中で剥ぎそのままシリンジにとぐろを巻くように静かに押し込んだ。次に、蒸発を防ぐために純水を試料の上に載せた。測定は応力-ひずみ比直接測定によるレオメータを用いて行なった。温度はシリコーンバス恒温槽のシリコーンを試料を囲むジャケットに循環することにより制御した。測定周波数範囲は 0.02Hz から 10Hz である。実験は (1)日齢依存性と(2)部位依存性について行なった。

3. 結果と考察

25℃における中部絹糸腺中区から得た液状絹の損失弾性率と貯蔵弾性率の周波数依存性は Ochi らにより発表されている絹タンパク水溶液（濃度 27.5%）の挙動とほぼ一致した。つまり、レオロジー測定では、不均一な液状絹をそのままの状態でもこれまでの研究で用いられてきた絹糸腺から複数の工程を経て得られる均一濃厚水溶液と同程度の議論が可能であり、蚕の日齢変化を研究する上で十分な実験系であることを示している。レオロジー測定から得られた弾性率の

周波数依存性に対する Cole-Cole plot ではつぶれた非対称な円弧状となり、単一緩和では表せなかった。一方、Kohlrausch -Williams-Watts 緩和関数では実験結果をよくフィッティングすることが出来、緩和時間 τ とその分布を表す指数(R)を求めることが出来、これらのパラメータを用いて状態変化を調べることができ分かった。

中部絹糸腺の部位依存性の測定では、貯蔵弾性率は吐糸口に近い前部絹糸腺が一番小さく、次に中部絹糸腺、後部絹糸腺と吐糸口から遠ざかるにつれて大きくなることがわかった。これはフィブロイン濃度の部位依存性を反映したものと思われる。

日齢依存性の測定では、蚕が糸を吐き始める前日まで貯蔵弾性率は大きくなり、当日になると小さくなった。緩和時間 τ は、糸を吐く寸前あるいは糸を吐き出すと小さくなったが、緩和時間の分布 β はほぼ一定であることがわかった。絹糸腺内の水分濃度は糸を吐き出すと大きくなるが、濃度変化はそれほど大きくなく、 τ の変化は水分の変化だけでは説明できない。中部絹糸腺の日齢の増加にともなう熟成作用においては、セリシンとの接触による pH 変化に起因したフィブロインの構造変化などが挙げられ、緩和パラメータの挙動への寄与が考えられる。

高柔軟性脳血管ステントによる血管壁への応力負荷の軽減

○正林康宏*, 立嶋智**, 谷下一夫***

*慶應義塾大学大学院 理工学研究科 [〒223-8522 神奈川県横浜市港北区日吉 3-14-1]

**カリフォルニア大学ロサンゼルス校放射線科学科

***慶應義塾大学 理工学部 システムデザイン工学科

1. 緒言

脳動脈瘤のステント治療は近年最も注目される血管内治療技術である。しかしながら、頭蓋内の血管組織は細く柔らかく、また複雑に展開しているため、ステント留置による血管の変形や損傷が懸念される¹⁾。このため血管壁への応力負荷を回避するステントデザインが求められているが、これまで脳血管ステント治療に関してステント構造と血管壁への応力負荷の関係を調べた研究は少ない。そこで本研究では有限要素法による数値解析を用いて表面構造の異なるステントを血管内に留置し、その際に血管内部に発生する応力を調べ評価することで、血管壁への負荷を軽減するステントデザインを提案した。

2. 方法

本研究では、柔軟性の高い脳動脈瘤治療用の closed-cell 構造のステントに着目した²⁾。まず、このステント形状を基に 3DCAD プログラム Solid Edge (SIEMENS PLM Software)を用いて図1の様な構造の異なるステントモデルを作成し、汎用有限要素プログラム Marc.Mentat (MSC Software)にインポート、10 節点 4 面体要素による有限要素モデルを作成した。また血管モデルは円筒形状とし 8 節点 6 面体要素で作成した。ステントの材料特性には Ni-Ti 超弾性合金を仮定し、血管壁には、Mooney-Rivlin の非圧縮超弾性モデルを使用した。解析では、まずステントを半径方向に縮径し、その後拡張させていくことで図2の様に血管壁にステントを接触させた。これより異なる構造を持つステントにより発生する血管壁の応力を計算し、各々のモデルにおける血管壁の応力分布を調べ、評価した。

3. 実験結果及び考察

図3に数値解析より得られたステント留置による血管壁内の円周方向の応力分布図を示す。これより留置されるステント構造により血管壁の応力分布が異なることが分かった。またこの結果より血管壁内の高応力領域はステントのワイヤ間に集中しており、その応力値は図3(a)のステントモデルにより(b)の方がおよそ1.5倍高い値を示した。この原因としてステントの表面を構成しているセルの幾何形状の違いが考えられる。

図1(b)のステントモデルでは、その表面を構成しているセルの幾何形状が円周方向に長い形状をしているため、ステントが半径方向に拡張する際、ワイヤが拘束されず変形し易いと考えられる。以上より図1(b)の様な表面構造を持つステントが血管壁にかかる応力負荷を軽減すると考えられる。

4. 結言

ステント表面を構成する幾何形状が円周方向に長いステントモデルでは、血管壁に生ずる円周方向の応力が軽減された。

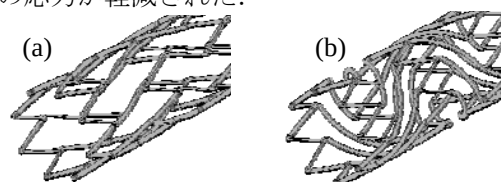


Fig.1 The 3D geometries of the stents.

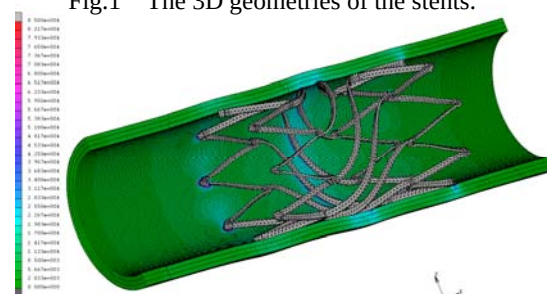


Fig.2 Results of FEM simulation for stent-vessel interaction.

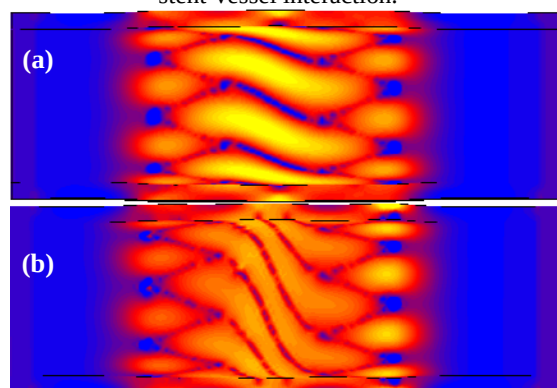


Fig.3 Circumferential stress distribution in the artery for stent models.

文 献

- 1) Turk, A.S., et al., Influence of patient age and stenosis location on wingspan in-stent restenosis, *29*, 23-27, 2008.
- 2) Shobayashi, Y., et al., Mechanical design of an intracranial stent for treating cerebral aneurysms. *Med Eng Phys*, **32**, 1015-1024, 2010.

血液ガス反応を伴う物質移動の数値解析手法を用いた人工肺内の酸素・炭酸ガス移動量推定に関する検討

○片桐伸将*, 舟久保昭夫**, 築谷朋典*, 巽英介*,
水野敏秀*, 武輪能明*, 妙中義之*, 福井康裕**

*国立循環器病研究センター研究所 [〒565-8565 大阪府吹田市藤白台 5-7-1]

**東京電機大学 理工学部電子・機械工学系

1. 緒言

現在の人工肺の主流は、外径数百ミクロンの中空糸膜を介して膜内側のガス層と膜外側の血液層間にてガス交換を行う外部灌流方式の中空糸膜型肺である。人工肺内のガス移動は、微細な中空糸束構造内の血液流れや、血中溶存酸素・炭酸ガスと血液との化学反応といった複雑さを伴う移動現象である。このため、設計段階におけるガス交換性能推定が容易ではなく、新しい人工肺開発をするにあたり、高頻度に血液実験を要する場合も多い。この問題を防ぐために、本研究では、コンピュータ上にモデル化した中空糸束の一部を対象に、我々が考案した数値流体解析手法にて酸素・炭酸ガスの濃度分布を計算することで、血液実験を要することなくガス移動量推定値を算出し、解析モデルに相当する対象人工肺局所のガス移動量実測値と比較検討することを目的とした。

2. 実験方法

考案した数値解析手法は、物質移動と流れの計算が可能な市販数値流体解析ソフトに、酸素と炭酸ガスの膜移動成分および血液ガス反応成分を計算する独自のプログラムを組み合わせ、血液層とガス層を同時に計

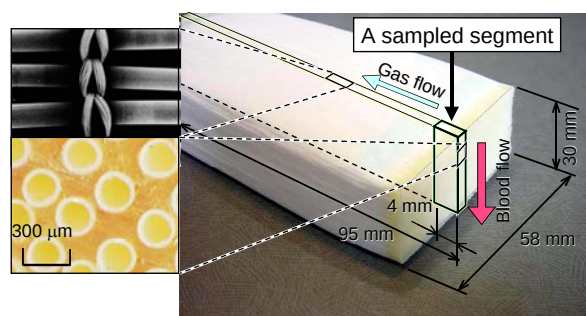


Fig. 1 A sampled segment in a referred hollow fiber bundle for computational analysis.

算処理するものである。

対象とした人工肺は、並列に配糸した中空糸膜を積み重ねて、直方体状の中空糸束を有している。この中空糸束の血液流入側から血流方向全長の 30 mm, ガス流入側からガス流方向に 4 mm の一部分を解析モデル

とした(図 1)。流速条件は、対象人工肺に対して血流量(Q)=1, 3, 5 L/min とガス血液流量比(V/Q)=1 で使用した場合を想定して求めた。濃度条件は、流入血液を標準静脈血性状とし、流入ガスを 100%酸素とした。さらに、pH の影響についても検討した。比較のための血液実験では、対象人工肺局所の血液流出側に採血ポートを設け、想定した流量条件にて局所ガス移動量を求めた。

3. 実験結果

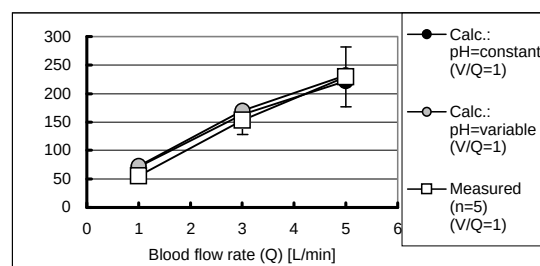


Fig. 2 O_2 transfer rate at each blood flow rate.

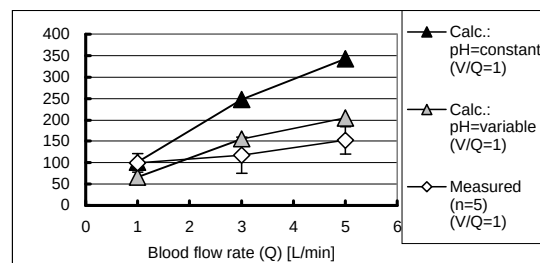


Fig. 3 CO_2 transfer rate at each blood flow rate.

血流量(Q)に対する酸素移動量および炭酸ガス移動量を Fig.2 および Fig.3 にそれぞれ示した。推定した酸素移動量の実測値に対する誤差は、pH 固定の解析と pH 可変の解析がほぼ同様に 30%以下を示した。推定した炭酸ガス移動量の実測値に対する誤差は、pH 固定の解析で最大 126%, pH 可変の解析で最大 35%であり、可変 pH 導入による改善が認められた。

4. 結言

可変 pH 値の導入は炭酸ガス移動解析に対して選択的に有効であり、酸素・炭酸ガス共に実的な移動量推定値が得られた。

開口位バイオバルブの開発 — 鋳型の設計、バイオバルブの作製と生体外実験による弁機能評価 —

○松井悠一*, 田地川勉*, 大場謙吉*, 山南将志**, 武輪能明***, 中山泰秀***

*関西大学 システム理工学部 機械工学科 [〒564-8680 吹田市山手町 3-3-35]

京都府立医科大学 心臓血管外科, *国立循環器病研究センター研究所

1. 緒言

我々は生体内組織形成技術を用いて、自己組織のみからなる人工弁(以下バイオバルブ)を開発している。生体内組織形成技術とは生体内をバイオリアクターとして用いて再生医療用組織体を作製しようとするバイオプロセスのことである。これまでの研究では、無負荷時において弁が閉じた状態で形成される鋳型を用いてきたが、鋳型の構造上、作製されたバイオバルブの弁葉交連部に隙間が生じ逆流が発生してしまった。そこで無負荷時に弁が開いた状態で形成されるよう鋳型を見直し、バイオバルブの作製と弁機能評価を行った。

2. 実験方法

2-1 バイオバルブの作製

設計・作製した鋳型(図1)を成ヤギ皮下に2ヶ月間埋入して作製した。



Fig. 1 An aperture-shaped mold for biovalve.

2-2 弁機能評価

図2に弁機能の評価に使った生体外模擬循環回路の概略図を示す。拍動流ポンプを用いて拍動流を起こし、生理食塩水を循環させた。コンプライアンスタンクは血管の弾性を、流量調節バルブは末梢抵抗を模擬している。テストセクションにバイオバルブを取り付け、周期 $T=0.97$ s, 平均流量 $\bar{Q}=0.63$ L/minを与え、カメラを用いてバイオバルブの開閉挙動を25 fpsで撮影した。

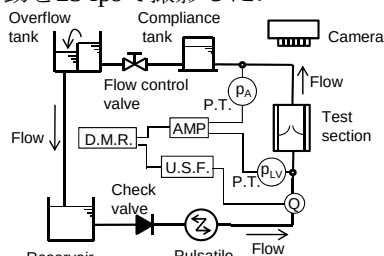
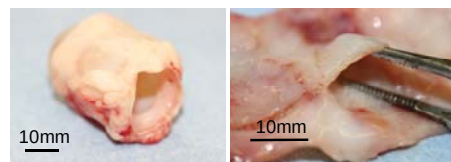


Fig. 2 Schematic diagram of experimental apparatus.

3. 結果および考察

3-1 バイオバルブの作製

図3に示すように、弁閉鎖位の弁葉交連部の隙間がほとんどないバイオバルブが得られた。



(a) Appearance (b) Leaflet
Fig. 3 Biovalve.

3-2 弁機能評価

図4にバイオバルブに与えた圧力・流量波形を示す。逆流量 Q_{rev} は0.10 L/min, 式(1)で定義される逆流率 R_R は約10 %程度と小さく、バイオバルブが逆止弁として正常に機能することが分かった。図5にカメラで撮影したバイオバルブの開閉挙動の画像を示す。圧力負荷時においても、弁葉間の隙間は生じず、スムーズに開閉していた。

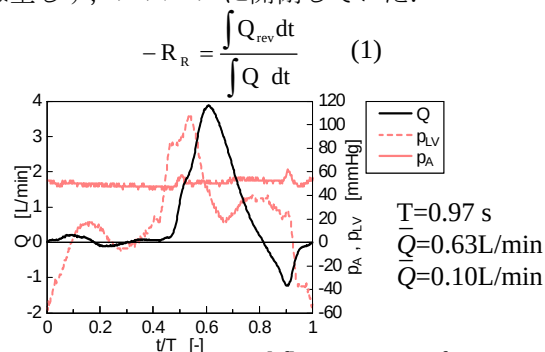


Fig. 4 Pressure and flow rate waveforms.

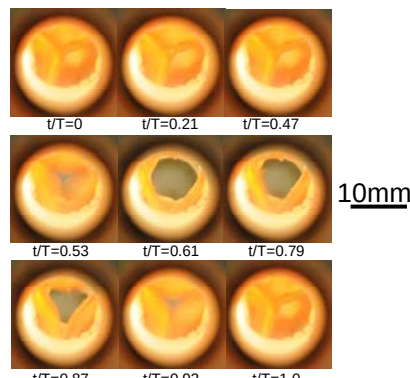


Fig. 5 Opening and closing behavior of a biovalve.

4. 結言

無負荷時に弁が開放状態で形成されたヒト大動脈弁形状バイオバルブの作製に成功した。生体外模擬循環回路を使いバイオバルブの開閉挙動を観察した結果、スムーズな開閉が得られ、また弁葉交連部の隙間がなくなり、逆流をほぼ抑えられたことから、ヤギ大動脈弁への適応を検討中である。

モノピボット遠心血液ポンプの 数値流体力学解析による血液適合性評価

○西田正浩*, 山根隆志*, 丸山修*, 小阪亮*

桑名克之**, 山本好宏**, 山海嘉之***, 筒井達夫****

*産業技術総合研究所 [〒305-8564 茨城県つくば市並木 1-2-1]

** 泉工医科工業株式会社, *** 筑波大学システム情報工学研究科, **** 筑波大学人間総合科学研究科

1. 目的

血液ポンプの開発において、ポンプの内部流れは圧力流量特性および血液適合性に密接に関連するため、数値流体力学解析を用いて内部流れを解析することは、有効な設計手順の一つである。

モノピボット遠心血液ポンプは、インペラ後面を支持するピボットの周りが通常淀み易い領域であるため、インペラの後面隙間においてボリュートから回転中心への圧力差から生じる内向きの二次流れを利用して、ピボットの周りを洗い流している。さらに、ピボットの周りに裏羽根を設け、裏羽根に区切られて形成される渦により、ピボット周りの洗い流しをさらに促進している。

本研究では、モノピボット遠心ポンプの内部流れをピボット形状の裏羽根の形状に着目して解析し、種々プロトタイプを評価した。

2. 方法

汎用の格子作成ソフトウェアを用いて、血液部分をおよそ 800,000 セルの非構造格子に分割した。格子形状は、壁関数 $y^+ < 3$ (厚さ 0.05 mm) の三角柱壁が 2 層とし、それ以外は三角錐または四角錐とした。解析には有限体積法の汎用ソフトウェアを用いて、血液の密度を 1,000 kg/m³、粘度 3 mPa・s とし、境界条件として入口ポートからの流入量 4 L/min およびインペラの回転数 3,290 rpm とした。本条件は、発生圧力 300 mmHg および流量 4 L/min のポンプ駆動条件を実現する。乱流モデルは、標準 $k-\epsilon$ モデルとし、スライディングメッシュ法により計算した。

比較したプロトタイプは、1) 裏羽根が長く、隅が直角、2) 裏羽根が長く、隅が丸、3) 裏羽根が短く、隅が丸の 3 種類とした。

3. 結果

ポンプ発生圧力のプロトタイプ間の差は、4%程度であった。

ポンプ内速度分布について、入口ポートからの流入流れは、インペラ内の直線流路に流れ込み、インペラ端に設けた切欠きを利用して、ボリュート内の流体を

回転させた。ボリュート幅は 5 mm と余裕を持たせているため、ボリュート内の流れにおけるインペラ直線流路内からの噴流がケーシングに達しておらず、ボリュート内速度が回転方向に均一であった。さらに、舌部から吐出口に向けて流れ込み、吐出口における速度分布は内壁側に緩く歪んだ。以上について、プロトタイプ間の速度分布の差はなかった。したがって、ボリュート壁の下部やインペラ前面隙間の狭い隙間部にみられるポンプの高せん断応力分布にもプロトタイプ間の差は見られず、プロトタイプ間の溶血量の差はないと考えられた。

図 1 に、ピボット軸受付近の壁せん断応力分布のプロトタイプ間の比較を示す。プロトタイプ 1 および 3 に比べ、プロトタイプ 2 の壁せん断応力分布には低せん断応力域が少なかった。したがって、ピボット軸受付近の形状として、裏羽根が長く、隅が丸であることが、本ポンプの抗血栓性に対する影響を考える上で好ましいことがわかった。

4. 結論

モノピボット遠心血液ポンプにおいて、裏羽根を長くし、隅が丸くすると、低せん断応力の領域が少なくなり、ピボット付近の洗い流しが良くなることが推測された。

文 献

- 1) Nishida, et al., Artificial Organs, 33, (2009) 378-386.



(a) Prototype 1 (b) Prototype 2 (c) Prototype 3

Fig. 1 Shear stress distribution on impeller wall around the pivot.

モノピボット遠心血液ポンプの in vitro 血液試験による血液適合性評価

○丸山修*, 山根隆志*, 西田正浩*, 小阪亮*, 桑名克之**,
山本好宏**, 山海嘉之***, 筒井達夫****

*産業技術総合研究所 [〒305-8564 茨城県つくば市並木 1-2-1]

泉工医科工業株式会社, *筑波大学大学院 システム情報工学研究科, ****筑波大学 臨床医学系

1. 緒言

産業技術総合研究所（産総研）では、体内埋込み型人工心臓として使用するため、インペラの一端がピボット軸受で、他端が磁気軸受で支持されるモノピボット遠心血液ポンプの開発を行ってきた。血液適合性に優れた本ポンプの技術を応用し、2週間以上の補助循環を実現するため、泉工医科工業株式会社と共同で、補助循環ポンプとして使用する「MERA モノピボット遠心血液ポンプ」を開発している（図1）。



Fig. 1 MERA モノピボット遠心血液ポンプ

モノピボット軸受の導入により、血液適合性に優れ、安価な補助循環ポンプの製作に期待できる。また、流れの可視化及び数値流体力学解析によって、せん断応力分布を算出し、流体力学的に優れた血液適合性を示すよう設計・改善されている。

2. 目的

流体力学的手法によりポンプ内流れを改善した MERA モノピボット遠心血液ポンプについて、in vitro による溶血試験および抗血栓性試験により、その血液適合性を評価する。

3. 実験方法

ピボット受形状、支持羽根形状の異なるモデル、TRY1.0～9.0 を試作した。それぞれのモデルについて、ウシ血液を使用した in vitro 溶血試験及び in vitro 抗血栓性試験(ともに 200mmHg, 4.0L/min, 37℃)を実施した。

4. 実験結果および考察

各ポンプモデルの溶血特性を、市販の遠心血液ポンプと比較した相対溶血成績として表すと、ポンプモデルの進行に伴って溶血成績は向上し、最終モデルである TRY9.0 の NIH は、市販の BPX-80 の 0.4 倍であった。

これはモデル進行にともなってインペラの回転安定性が向上したことによるものと考えている（図2）。

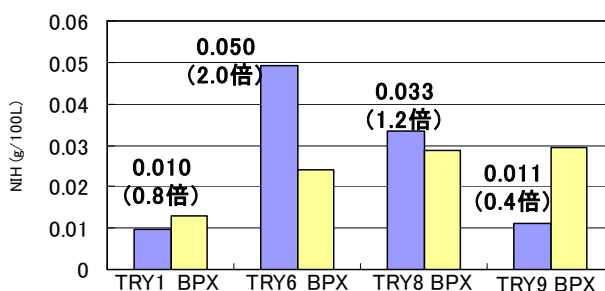


Fig. 2 MERA モノピボット遠心血液ポンプの溶血成績

In vitro 抗血栓性試験では、ポンプモデルの進行にともなって、ピボット軸受部、ケーシングはめ合い部、及び支持羽根部の血栓は減少し、最終モデルの TRY9.0 では、完全に血栓は消失したことから、相対的に抗血栓性が向上していることが確認された（図3）。これは、ピボット軸受部の密着性の向上によるものと考えている。

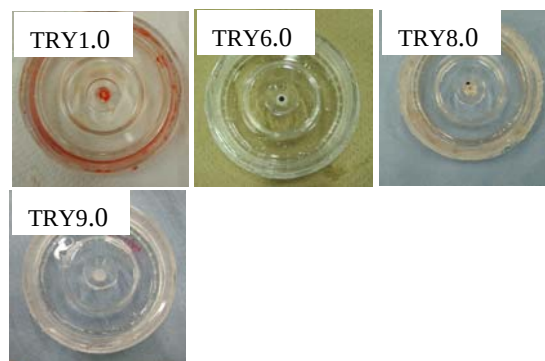


Fig. 3 MERA モノピボット遠心血液ポンプの抗血栓性評価

5. 結論

MERA モノピボット遠心血液ポンプ最終モデル TRY9.0 においては、溶血特性および抗血栓性ともに優れており、長期補助循環ポンプとして血液適合性に優れていることがわかった。

循環・呼吸の力学とバイオレオロジー

○大場謙吉

関西大学 システム理工学部 機械工学科 [〒564-8680 大阪府吹田市山手町 3-3-35]

1. はじめに

ヒトの循環器系、呼吸器系、泌尿器系、消化器系では様々な形で弾性を持つ膜、管、袋、殻と血液、空気、尿、泥状懸濁物などの流れとの間で相互作用が生じている。ヒトの体内での生命維持活動そのものであるこれらの相互作用は力学的観点から見ると、弾性力学と流体力学の両方が関係する連成現象と考えられる。本稿は主に循環・呼吸についてこのような観点から上記現象を捉え、主に弾性膜と流れとの相互作用について述べ、バイオレオロジーの果たす役割についても触れる。内容は研究トピックスの総説というよりも基礎に重点を置く教育的講演である^{1),2)}。

2. モデル流体、モデル弾性体の構成方程式

上記のヒト臓器系を構成している組織、臓器は、動脈・静脈血管、心臓、心臓弁の弁葉（弁尖、弁膜）、赤血球の脂質二重膜、気管支、細気管支、肺胞、声帯の声門、食道、胃、小腸、大腸、膀胱、尿管など、複雑な多層構造の粘弾性膜構造体である。しかし、最も単純な力学モデルではこれら全てをたった1種類の弾性体モデル、すなわち「フック弾性体 (Hookean elastic solid)」によって近似的に表現する。ここに、フック弾性体とは“応力とひずみが比例する。”という「フックの法則」に従う材料のことである。一方、血液、空気、尿なども最も単純な力学モデルでは1種類の流体モデル、すなわち「ニュートン流体 (Newtonian viscous fluid)」によって近似的に表現する。ここに、ニュートン流体とは“せん断応力とせん断ひずみ速度が比例する。”という「ニュートンの粘性法則」に従う粘性流体のことである。上記のような、弾性体、流体などの力学的性質、すなわちその材料についての応力 (stress) とひずみ (strain) の関係を定める式を「構成方程式 (constitutive equation)」と呼ぶ。

3. 弾性膜の基礎式

弾性膜の基礎式はラプラスの法則と二次元応力状態における応力対ひずみの方程式である。薄肉弾性球殻（球形ゴム風船）と薄肉弾性円筒（円筒形ゴム風船）において、風船の内圧を p_i [Pa]、周囲の圧力を p_e [Pa]、風船の膜張力（膜面内の垂直応力を膜厚方向に積分し

たもの）を T [N/m]、風船の半径を r とすると、 p_i 、 p_e 、 T による風船の半径方向の力の釣り合いより、

$$p_i - p_e = 2T/r \quad : \text{球形風船}$$

$$p_i - p_e = T/r \quad : \text{円筒形風船}$$

となる。これらを「ラプラス(Laplace)の法則」と呼ぶ。生体内の弾性膜は非常に薄いので曲げ剛性を無視できることが多い。この時の膜および膜変形のモデルとして等方性薄肉弾性膜の二次元応力状態（平面応力状態）が用いられる。その基礎式は、応力とひずみの x 、 y 方向成分を各々 σ_x 、 σ_y 、 ε_x 、 ε_y 、ポアソン(Poisson)比を ν 、ずり応力を τ 、ずりひずみを γ とすると、フックの法則より、 $\varepsilon_x = (\sigma_x - \nu\sigma_y)/E$ 、 $\varepsilon_y = (\sigma_y - \nu\sigma_x)/E$ 、 $\tau = G\gamma$ となる。

4. 弾性膜と流体の連成運動

以下の連成運動を（ ）内のモデルを用いて理論解析し、実験結果と比較する。

- ・動脈中の脈波の伝播（液体の体積弾性率と弾性管のコンプライアンスの直列接続モデルを用いた線形波動 [微小振幅波] 理論）
- ・動脈の最低血圧の発生 (Compliance のみを持つ弾性管と流動抵抗のみを持つ剛細管が直列に接続した Windkessel モデル)
- ・喘息気道の閉塞 (細気管支を模擬した Collapsible Tube 断面の座屈モデル)
- ・単軸引張りまたは単軸圧縮から解放されたヒト赤血球の形状回復過程の時定数 (ケルビン粘弾性体モデルの瞬時応力徐荷に対する応答理論)
- ・マイクロカプセルの圧縮変形 (弾性膜カプセルの平板による軸対称圧縮変形の理論解析) など。

5. おわりに

弾性膜と流体の連成運動について単純な力学モデルと解析法、実験結果との比較を示し、関連するバイオレオロジーについて言及した。

文 献

- 1) 大場: 血流の数学モデル入門, 工学と技術, 12, pp.41-45, 2000.
- 2) 大場: 弾性膜と粘弾性体の力学の基礎, 工学と技術, 17, pp.7-11, 2010.

ステントを留置した球形動脈瘤内流れの可視化

○金子誠*, 氏家弘**, 山口隆平***

*芝浦工業大学大学院 [〒135-8548 東京都江東区豊洲 3-7-5]

東京労災病院, *芝浦工業大学 機械工学科

1. 緒言

Robert ら¹⁾は臨床において脳動脈瘤の血管治療にステントのみを用い、血管造影によってステントが瘤内への血流の流入を妨げ、動脈瘤を閉塞させたと報告している。本研究では、このようなステントの動脈瘤への効果を可視化実験によって検討した。また、可視化を定量的に評価するパラメータとして、壁せん断応力(WSS)の測定を行った。

2. 実験方法

実験では、図1に示す、直管に球形の瘤を設けたシリコーンモデルを製作し、PIV(Double pulse YAG)により、モデル内の速度ベクトルを得た。作動流体はモデルと屈折率を合わせたグリセリン水溶液で、トレーサとして直径 $15\mu\text{m}$ の蛍光粒子を混入している。流動条件は前大脳動脈の血流を参考に、平均レイノルズ数 $Re_m=400$ 、ウォーマースリ数 $\alpha=2.9$ の正弦波状の拍動流とした。拍動流の最大、最小レイノルズ数はそれぞれ $Re_{max}=550$ 、 $Re_{min}=250$ である。この拍動条件下において1/4周期毎にPIV撮影を行った。また、得られたPIV画像データを基に、WSSの算出を行った。

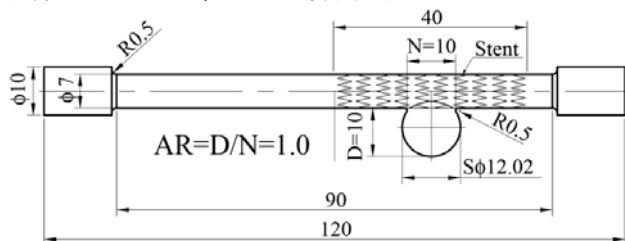


Fig. 1 Sketch of experimental model.

3. 実験結果

図2はステント留置後の速度ベクトルの分布である。撮影の結果、ステントの留置に関わらず全ての撮影時刻で瘤内に旋回流が確認された。しかし、その速度スケールはステント留置によって、最大 6.0cm/sec から 2.0cm/sec に縮小した。減速効果は、特に撮影時刻 $\omega t=3\pi/2$ において顕著で、瘤頸部を除いて流速はほぼ一様に 0.4cm/sec 以下となった。また旋回流は瘤底部壁面近傍で非常に小さくなることを確認された。

図3にはWSSの分布を示した。この結果からステント留置が瘤の底部においてWSSを大きく減じ、全体平均で60%減少することが確認された。

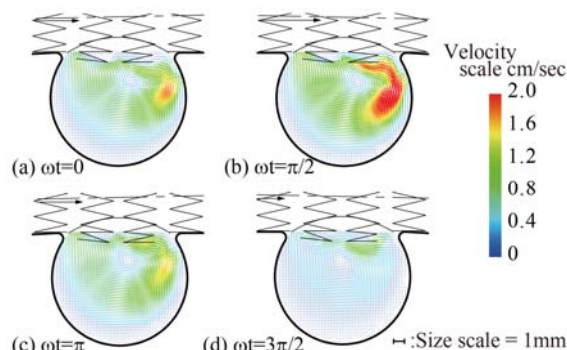


Fig.2 Velocity vector within aneurysm in pulsating flow with stent. ($Re_m=400$, $\alpha=2.9$, $A=0.38$, $AR=1.0$)

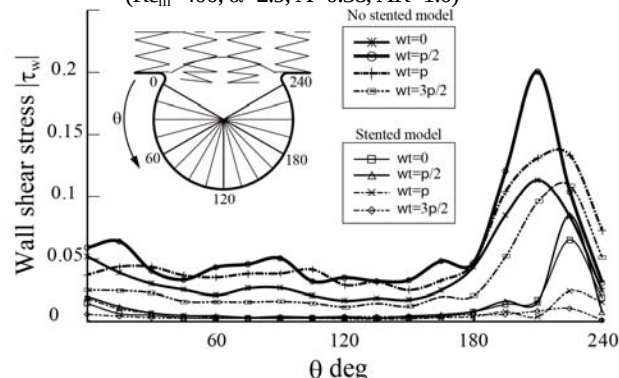


Fig.3 Comparison of stented model with no stented model about wall shear stress. ($Re_m=400$, $\alpha=2.9$, $A=0.38$)

4. 考察

ステントの留置によって、瘤内のWSSが低下することから、血栓の形成が期待され²⁾、動脈瘤の閉塞に効果があることが示唆される。

5. 結言

PIVによる可視化の結果、モデルの中間面においてステントによって流速が1/3に減じる減速効果が確認された。その減速に比例してWSSも約60%減少した。とくに瘤底部でのWSSの減少が著しく、主管WSSの1%程度であり、仮に主管WSSを 1Pa とすれば1%という値は血栓形成を促進し動脈瘤を閉塞させる要因の1つとなりえると考えられる。

文 献

- 1) Robert Juszkat et al, Complete Obliteration of a Basilar Artery Aneurysm after Insertion of a Self-Expandable Leo Stent into the Basilar Artery without Coil Embolization, Korean J Radiol 2008; 9:371-374.
- 2) Shigehiro Hasimoto et al, Effect of Shear Rate On Clot Growth at Foreign Surfaces, Artif. Organ, 1985; 9(4):345-350.

ステント留置における血管壁への応答と再狭窄のメカニズム

○奥田聡*, 正林康弘*, 立嶋智***, 谷下一夫**

*慶應義塾大学大学院 理工学研究科 総合デザイン工学専攻 [〒223-8522 横浜市港北区日吉 3-14-1]

**慶應義塾大学 理工学部 システムデザイン工学科

***カリフォルニア大学ロサンゼルス校 放射線科学科

1. 緒言

ステントとは狭窄した血管の開通性を確保し、維持するための医療器具である(図1). 現在, 血管内治療として, ステント治療が広く行われている. しかし, ステントを留置した患者で再狭窄が報告されており, その回避に関心が集まっている. 再狭窄の原因として, ステント留置時のステントの拡張圧力による血管壁の障害および血管壁に生じる壁面せん断応力(WSS)が誘発する内膜の過生成が挙げられる. 両者に関する研究は数多く存在するが^{1,2)}, その両方を満たし, 再狭窄を防ぐようなデザインパラメータは未だに提案されていない. 本研究では応力解析, 流体解析を行うことで, 力学特性と流体特性の血管壁への影響を調べ, 両者の影響を考慮したステントデザインを提案することを目的とする.

2. 解析方法

まず, 血管にステントを留置したときの血管壁の応力分布を調べるため, 数値解析で血管内でのステント拡張を再現した. まず, 3D-CAD を用いてステントおよび血管壁の形状を再現した. ステントは既存の冠動脈ステント(Express2, Boston Scientific, CA, USA)を使用し, 血管壁は円筒の理想モデルとした. 汎用有限要素解析プログラムANSYS12.0で有限要素モデルの作成, 解析を行い, ステントを血管壁の内側で拡張したときの血管壁の変形および応力分布を調べた. なお解析モデルは計算コストを減らすため図2に示したようにステントは長軸方向に単一ユニット, 円周方向 1/4 モデルにサイズを削減している.

ステントと血管壁の材料をそれぞれ 316L ステンレス鋼の弾塑性体および非圧縮超弾性の Mooney-Rivlin 体と定義した. 弾塑性材料のヤング率およびポアソン比はそれぞれ 200GPa および 0.3 とし, 初期降伏応力は 375MPa, 接線係数は 1GPa とした.

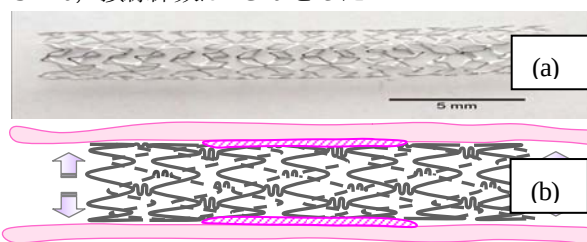


Fig.1 (a) An expanded coronary stent.
(b) Schematic illustration of stent expansion.

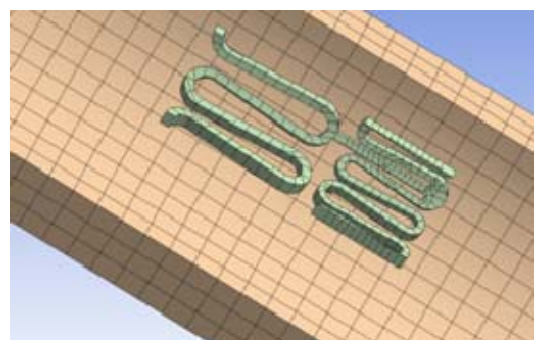


Fig.2 FEM model of stents and coronary artery (quarter model).

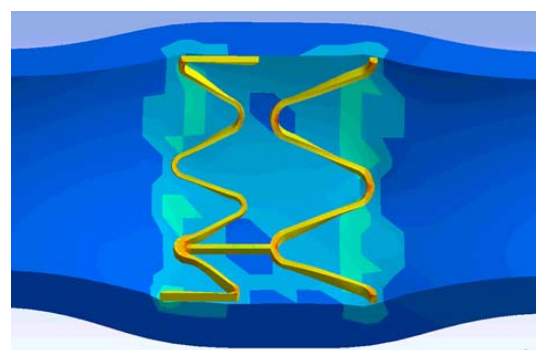


Fig.3 Equivalent strain distribution of an expanded stent.

3. 結果

ステント拡張時の血管壁との接触解析を行った結果の相当応力の分布は図3のようになった. ステント形状に沿った血管壁の変形が確認でき, ステントストラットの頂点の間で相当応力が大きくなっていることがわかる. ストラット近傍ではストラットが血管壁を半径方向に押す力が強いので血管壁損傷の可能性が考えられる. Schwartz らは血管障害度と血管壁の新生内膜厚さは比例していると述べていることから³⁾この部分で再狭窄が起こる可能性が高い. また, ストラット間で広範囲に応力が高くなっている部分では伸展張力が高くなっており, 内皮細胞および平滑筋細胞の増殖が促進されると考えられる⁴⁾.

文 献

- 1) H. Zahedmanesh et. al., *Med. Biol. Eng. Comput.* **47**, 385–393, 2009.
- 2) R. Ballosino et. al., *J. Biomech.* **41**, 1053–1061, 2008.
- 3) R.S.Schwartz et. al., *J.Am. Coll. Cardiol* **19**, 267–274, 1992.
- 4) 神谷瞭, 循環系のバイオメカニクス, コロナ社, 2005.

脳動脈瘤内の流れの遷移性に関して： 計測・計算の比較によるモデリング留意点

○八木高伸*, 高橋彩来*, 戸部泰貴*, 岩崎清隆*, 梅津光生*, 高尾洋之**, 村山雄一**

*早稲田大学 先端生命医科学センター [〒162-8480 東京都新宿区若松町 2-2 TWIns 03C204]

**東京慈恵会医科大学 脳神経外科

1. 緒言

脳動脈瘤の血流解析では数値計算 (CFD) がよく用いられるが, 解析の前提条件やスキームの妥当性を検証した論文は乏しい. 原因としては, 複雑血管内の境界層流れを三次元計測する実験技術が欠如したためであろう. 我々は, 患者実形状ベースで, 壁面せん断応力を三次元計測する新たな可視化技術 (FS-SPIV) を開発した¹⁾. 血流の衝突部位で, 壁面せん断応力 (WSS) の時空間分布を解析すると, 流れが過渡的に遷移することで高周波振動していることが分かってきた¹⁾. このことは, 層流を前提条件とするのではなく, 流れの遷移性を考慮する必要性を示している. 本稿は, CFD の精度評価の第一歩として, 計測・計算結果を比較し, 血流解析に関する留意点を検討した.

2. 方法

2-1 実験

破裂脳動脈瘤 (女性, 63 才) を対象とし, 血管形状は破裂 9 日前の撮像画像をもとに再現した (ネック径 4.3 mm, アスペクト比 1.1). モデル壁厚は約 1 mm, ヤング率 1.0 MPa の透明シリコーンゴムから構成され, コンプライアンスは $1.1 \times 10^{-3} \text{ mmHg}^{-1}$ (100 mmHg) であり, 正常なヒト内頸動脈と同等である. モデルは内頸動脈 (IC), 後交通動脈 (PC), 前大脳動脈 (AC), 中大脳動脈 (MC) からなり, 瘤は IC-PC 分岐部に発症した. 実験は生理的な血圧のもと拍動流 ($Re_{\text{peak}} = 450$) で行った. FS-SPIV は高速パルスレーザと高速度カメラ (2 台) からなり, 瘤全域を平面スキャン計測した (総断面数 41, 面内解像度 94 μm , 面外解像度 150 μm). 粒子は, 蛍光粒子 (FLUOSTAR, EBM) を使用した.

2-2 計算

数値計算は壁弾性を除いて実験と同一条件で行った. 形状は, モデル内圧を 100 mmHg に保ち, マイクロ CT により撮像し再構築した. 境界条件は, 実験と同じ拍動波形を使用した (滑り無). 境界層にはプリズムメッシュ, 内部にはテトラメッシュを使用し, 総要素数は約 160 万であった.

タイムステップは 0.1 ms であり, クーラン数 $C \ll 1$ を条件とした.

3. 結果・考察

実験における WSS は粒子画像ベースで再構築した血管形状にメッシュを作成することで算出した. 計測・計算の結果は概ね一致していたが, 流入部では顕著な違いが確認された. そこでは, 衝突流れが形成され, 分岐した流れが瘤内に壁面ジェットを形成している. 実験では, 衝突部から後部にかけて WSS が滑らかに減少していくが, 計算では, WSS が急激に下降することで, 実験では確認されない低せん断領域が局所的に出現している. 原因としては, 衝突部での流れの遷移と壁運動が考えられるだろう. 衝突部のよどみが壁運動の影響を受けることは, Torii らも指摘しているが²⁾, 同様なことが確認された. 加えて, 衝突部での流れの遷移は, 流入境界層の逆圧力勾配による流れの剥離を低減することに繋がっていると推察された.

4. 結言

脳動脈瘤内の血流を実験・計算解析し, 結果を比較した. 流入部で観察された相違は, 流れの遷移や壁運動の重要性を示唆するとともに, 数値計算の効果と限界を検証していく必要性が示された.

謝 辞

本研究は厚生労働科学研究費補助金 (H20-医工一般-001) の援助により行われた. 関係者諸氏に厚く御礼申し上げる.

文 献

- 1) 八木高伸, 他, 脳動脈瘤の破裂を予測する医工学技術の確立に向けて, 人工臓器 39 巻 3 号, 227-231, 2010.
- 2) Torii, R. et. al., Influence of wall elasticity in patient-specific hemodynamic simulations, Computers & Fluids 36, 160-168, 2007.

動脈瘤治療用多孔薄膜カバードステントの 設計最適化のための生体外模擬実験

○紅林芳嘉*, 中川雄太**, 田地川勉*, 大場謙吉*, 中山泰秀***, 西正吾****

*関西大学大学院 理工学研究科 [〒564-8680 大阪府吹田市山手町 3-3-35]

関西大学システム理工学部 機械工学科, *国立循環器病研究センター研究所 生体医工学部

****札幌東徳洲会病院 脳神経外科

1. 緒言

我々は、脳動脈瘤の新しい治療デバイスとして、図1に示す多孔薄膜カバードステントの開発を行っている。本カバードステントは、カバー薄膜に多数の微細孔を有する構造的特徴を有している。これまで動物実験において微細孔の開口率を12.6%から23.6%に増加させても完全な動脈瘤の塞栓が維持され、内膜肥厚が抑制されることが分かっている。さらなる開口によって、より早期の内膜形成が期待されるが、瘤塞栓が不完全になることが懸念される。そこで、本研究では微細孔の最適化を目的として、多孔薄膜の径と密度が瘤内流れに及ぼす影響を生体外模擬実験によって調べた。

2. 実験方法

生体外模擬循環回路の概略図を図2に示す。定常流を動脈瘤モデルに流し、瘤内流れの可視化を行った。用いた動脈瘤モデルを図3に示す。瘤内の二次流れの影響を極力なくするため単純化した二次元動脈瘤モデルとし、アクリルを切削して作製した。親血管は一辺5mmの正方形断面とし、治療対象の血管径と、式(1)で示される水力平均直径 D を合わせた。ここで s は管の周長、 A は管断面積を表す。動脈瘤モデルに設置する微細多孔膜は、カプトン(polyimide, 厚さ $25\mu\text{m}$) フィルムにエキシマレーザーを用いて、孔径 d [μm] と開口率 A^* [%] を系統的に変化させた孔を加工して作製した。作動流体にはヒト血液と同じ動粘度に調整した45wt%グリセリン水溶液($\rho_w=1090\text{kg/m}^3$, $\nu=4.03\times 10^{-6}\text{m}^2/\text{s}$)を用いた。流入条件は式(2)で定義される Reynolds 数 Re

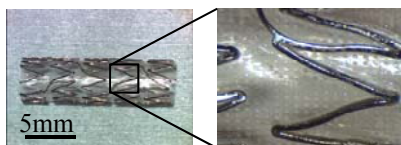
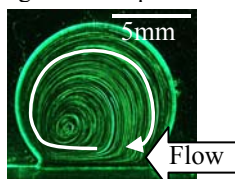


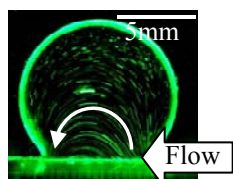
Fig.1 Microporous covered stent.

$$D = \frac{4A}{s} \quad (1)$$

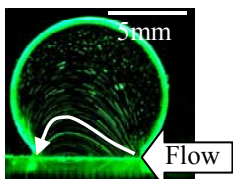
$$Re = \frac{uD}{\nu} \quad (2)$$



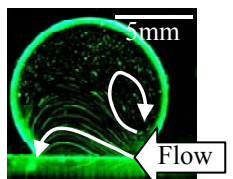
(A) Without film.



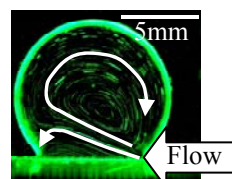
(B) $d = 400\mu\text{m}$, $A^* = 60\%$, $Re = 170$



(C) $d = 400\mu\text{m}$, $A^* = 60\%$, $Re = 290$



(D) $d = 400\mu\text{m}$, $A^* = 60\%$, $Re = 580$



(E) $d = 400\mu\text{m}$, $A^* = 60\%$, $Re = 950$

Fig.4 Flow patterns in aneurysm.

をヒト脳動脈内血流と同じ $Re = 170 \sim 950$ とした。ここで u は親血管平均流速である。可視化には、 Ar^+ レーザー(波長 514.5nm)を光源としたシート光をモデルの中央断面に照射し、モデルの正面から露光時間を調節しながら撮影した。トレーサー粒子はフライアッシュ(密度 1.95g/cm^3 , 平均粒径約 $20\mu\text{m}$)を用いた。

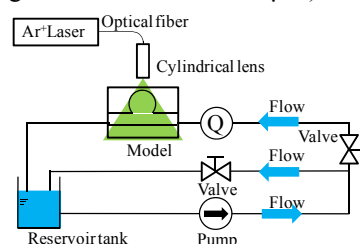


Fig.2 Schematic diagram of experimental apparatus.

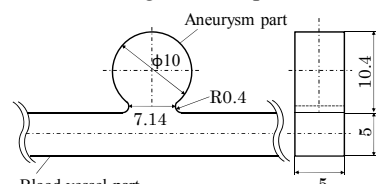


Fig.3 Dimension of aneurysm model.

3. 実験結果

撮影した瘤内の流れの様子を図4に示す。微細多孔薄膜を留置しない場合は、瘤開口部の流体が主流のせん断を受けて流動する回転流れ(主流誘起型)となった。微細多孔膜をモデル開口部に留置した場合、低 Re 領域では留置しなかった場合と回転流れの向きが逆になった。微細多孔膜を瘤の開口部に留置することで瘤内流れが主流と分断され、親血管内流れの摩擦圧力損失が駆動力となった流れ(圧力損失型)と考えられる。 Re を増加させていくと、瘤内流れが圧力損失型から主流誘起型へ遷移していくことが確認できた。また、フローパターンの遷移過程で、瘤内上部に流れの澱みが確認され、塞栓に有利と考えられた。

計算流体力学による脳動脈の拍動流解析と 瘤形成部位における血行力学的負荷の評価

○下権谷祐児, 田代一馬, 伊藤和宏, 熊丸博滋

兵庫県立大学 大学院工学研究科 [〒671-2201 兵庫県姫路市書写 2167]

1. 緒言

これまで多くの実験的研究により、脳動脈瘤の発生段階における血行力学的負荷の重要性が指摘されている¹⁾。血行力学的負荷の評価においては、近年特に医用画像ベースの計算流体力学(CFD)が一つの有効な手段となっているが、瘤の発生との関連を調べるうえでは、実際の瘤部位における“発生前の”情報が本質的に重要である。しかしながら瘤発生前の画像が併せて存在するような症例は稀であり、多くのデータを取得するのは容易ではない。

そこで本研究では、医用画像ベースの血管形状から瘤を仮想的に取り除くアプローチを採用する。これにより瘤発生前の形状を近似的に再現し、血行力学的負荷と瘤の発生との関連について調べる。

2. 方法

2・1 瘤の除去 独自の手法により、医用画像ベースの3次元血管形状から瘤を仮想的に取り除くことで、瘤発生前の親動脈形状を近似的に再現した。手法の詳細については既報²⁾を参照されたい。

2・2 血流計算 血液は非圧縮のニュートン流体として扱い、血管壁は剛体と仮定した。流体計算には汎用CFDソルバーのOpenFOAM (OpenCFD社が開発し、現在はオープンソース)を用いた。また、脳動脈の典型的な拍動波形に基づく速度境界条件を流入口に与えることで、血流の拍動性を考慮した。

3. 結果および考察

図1(a)および(b)は、瘤を取り除く前後の血管形状を示したものである。また図1(b)には、壁面せん断応力(拍動周期平均)の分布を併せて示している。この図より、今回のケースでは、壁面せん断応力は特徴的な分布とはなっていないことが確認できる。一方、図2(a)は、近年著者らが提案している血行力学量 Gradient Oscillatory Number (GON)²⁾の分布である。複数の部位において相対的に高い値を示しているが、そのうちの一部は、図2(b)(瘤を重ねて表示)から確認できるように、瘤形成部位の周辺に分布する結果となった。

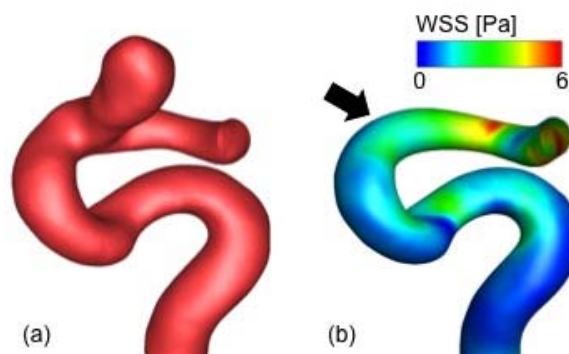


Fig. 1 Original geometry with an aneurysm (a) and cycle-averaged wall shear stress distribution (b).

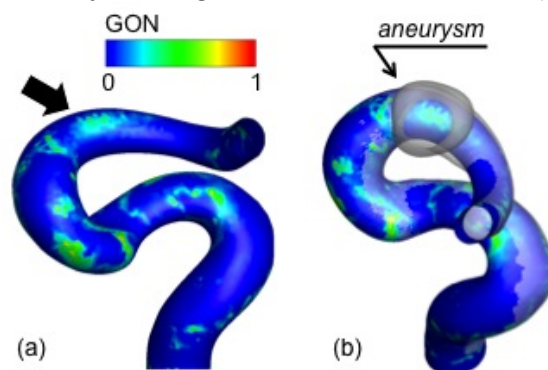


Fig. 2 Gradient Oscillatory Number (GON) distribution.

ここで GON とは、拍動一周期中における、壁面せん断応力勾配 (WSSG) ベクトルの時間的変動を評価する量である。血流が血管内腔表面を伸張しようとする負荷あるいは圧縮しようとする負荷が WSSG であるとするれば、GON が高い値を示す部位においては、このような負荷が、大きさ・方向の激しい時間的変動を常に伴いながら作用している可能性がある。現在、他の複数の床例に対する検討を進めているところである。

謝 辞

本研究の一部は、文部科学省科学研究費補助金 研究活動スタート支援 (No.21890228) の助成により行われた。また、形状データの入手に際し、東北大学 太田信先生にご協力いただいた。記して謝意を表する。

文 献

- 1) Hashimoto, N., et al., Surg. Neurol., **10**, 3-8, 1978.
- 2) Shimogonya, Y., et al., J. Biomech., **42**, 550-554, 2009.

離脱式コイルの流れに及ぼす影響

○深作和明*, ****, 根来真***, 小西善史****, 野田茂穂**, 奈良一成****, 高木周*

*理化学研究所 次世代生命体統合シミュレーション研究推進グループ 臓器全身スケールチーム

[〒351-0198 埼玉県和光市広沢 2-1]

理化学研究所 情報基盤センター, *藤田保健衛生大学 脳神経外科,

****杏林大学 脳神経外科, *****碑文谷病院 脳神経外科

1. 緒言

脳動脈瘤に対するコイル塞栓術で、良好な成績を上げるためには、瘤内にある程度以上の量のコイルを密に充填する必要がある。そのために、体積塞栓率 (VER: Volume Embolization Ratio, 瘤内空間のコイルによる占有率) が提唱され、少なくとも 25 % 以上の VER 程度は必要である¹⁾とされている。この VER はあくまでも経験則である。我々は、これまで直管を用いた動脈瘤塞栓モデルで、side wall type, terminal type それぞれでの VER の増大に伴う流れの変化を計算機流体解析により検討²⁾してきた。しかし、臨床で遭遇する動脈瘤はそれぞれに形状が異なる。そこで今回、臨床的に得られた破裂動脈瘤に対して、いくつかの VER のコイルを置いたら流れがどのように変化するかを検討したので報告する。

2. 実験方法

計算モデルは、クモ膜下出血で発見された、後交通動脈分岐部の破裂脳動脈瘤(図 1)である。その三次元 DSA 画像に対して、Osirix で動脈瘤とその他の血管構造を分離、ImageJ により、動脈瘤にランダムなドットを作成し、再び一連の血管構造に合成した。これにより、様々な VER を模した。解析には理化学研究所にて開発したボクセルベースの解析システム^{3,4)}を用い、RICC にて計算を行った。計算結果は理研 VCAD で開発した Visio を用いて可視化した。

3. 実験結果

破裂動脈瘤を扱ったため、VER が 0 % であっても、瘤内への流れ込みは不良(図 2)である。図 3 は占有率 20 % での計算結果であるが、動脈瘤への流れ込みは著明に減少した。

4. 考察

ランダムなドットが線状のコイルをきちんと再現していないことは明らかであるが、塞栓率の上昇に伴って流れが変化することは示し得た。塞栓後の動脈瘤が基質化し完治するためには、流体解析だけではなく、生体側の反応をきちんと考慮しなければならない。と

はいえ、現実の治療に当たっては、コイルによって瘤内の流れを押さえている訳で、本検討は塞栓術の効果判定にある程度の有用性が期待できよう。臨床的に得られた動脈瘤に対する塞栓率の目安を作れば、と考えている。

5. 結言

脳動脈瘤に対するコイル塞栓術における塞栓率の流れに対する影響を臨床的な動脈瘤にランダムなドットを置くことで再現できた。有効な塞栓率の検討に対しての有用性が期待された。

文 献

- 1) Satoh K, Satomi J, Matsubara S, Nagahiro S., Measurement of volume ratio to predict coil compaction, on aneurysmal embolization. Interv Neuroradiol. 1998 Nov 30;4 Suppl 1:179-82.
- 2) Fukasaku K, Negoro M, Konishi Y, Noda S, Yokota H, Himeno R, Nara I, Fukui K and Shiokawa Y, Computational Analysis for Flow Pattern Change while Coil Embolization of Brain Aneurysm, 第 22 回日本脳神経血管内治療学会総会講演集: 138 - 144, 2006
- 3) Noda, S., Fukasaku, K. and Himeno, R., World Congress on Medical Physics and Biomedical Engineering, (2006), pp.36-40.
- 4) 医療画像データを用いた血流の三次元シミュレーション, 計算工学 Vol.14, No.4 2009 2171 - 2172.

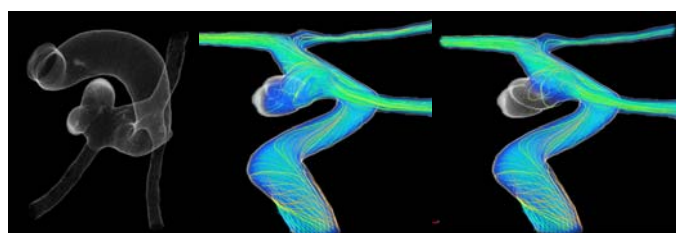


Fig 1

Fig 2

Fig 3

ProstaglandinE₂-EP2 シグナル伝達系は血流ストレスにより 活性化され脳動脈瘤形成に関与する

○青木友浩^{*, **}, 古屋敷智之^{*}, 山本希美子^{***}, 福田美雪^{*, **}, 宮本享^{**}, 成宮周^{*}

^{*}京都大学大学院 医学研究科 神経細胞薬理学 [〒606-8501 京都府京都市左京区吉田近衛町]

^{**}京都大学大学院 医学研究科 脳神経外科学, ^{***}東京大学大学院 医学研究科 システム生理学

1. 緒言

脳動脈瘤は、一般人口の数パーセントに認められる高頻度の疾患であり、かつ致死的な疾患であるくも膜下出血の主要な原因である。しかし現在、脳動脈瘤形成の分子機序の詳細は明らかでなく、有効な薬物治療法は存在しない。

近年の主にモデル動物を使用した検討から、脳動脈瘤形成には脳血管壁に生じる慢性炎症反応が深く寄与する事が明らかとなってきた。その中でも特に、転写因子 NF-κB の役割が注目されている¹⁾。一方、脳動脈瘤形成には脳血管壁にかかる血流ストレスが重要である事が流体力学的解析の結果から推定されている。しかしながら、血流ストレスがどのような機序で脳動脈瘤形成に関与するかの詳細は明らかでない。

ProstaglandinE₂ (PGE₂) は、炎症反応の主要な仲介因子であり、種々の炎症性疾患で病態形成に必須な役割を果たす。また、PGE₂ 合成酵素 COX-2 が血流ストレスにより誘導される事はよく知られており脳動脈瘤形成との関与が示唆される。

2. 実験方法

先に確立した脳動脈瘤モデル動物に COX-2 阻害薬および各種 PGE 受容体欠損マウスを供し脳動脈瘤形成への PGE₂ 系の関与を検討する。また、初代培養ヒト頸動脈内皮細胞を使用し、血流ストレス下での COX-2, NF-κB, PGE 受容体の誘導と活性化を検討する。

3. 実験結果

モデル動物に誘発された脳動脈瘤で、COX-2 おおび PGE 受容体のサブタイプである EP2 の発現誘導が RT-PCR 法、免疫染色法、Western Blot 法で確認された。また、選択的 COX-2 阻害薬はモデル動物の脳動脈瘤形成を有意に抑制した。さらに、各 PGE 受容体欠損マウスに脳動脈瘤誘発を行った結果、EP2 欠損マウスでのみ脳動脈瘤形成が抑制された。COX-2 阻害薬処置、EP2 欠損は共に脳動脈瘤壁内での NF-κB を中心とする炎症反応を有意に抑制していた。また、NF-κB が COX-2 発現誘導を制御している事から COX-2—PGE₂-EP2-NF-κB の正のフィードバック経路の存在が明らかとなった。

さらに、初代培養ヒト頸動脈内皮細胞に *in vitro* でシエラストレス (1.5Pa) を与えることにより、COX-2、NF-κB、EP2 の発現誘導、活性化を確認した。また、選択的 EP2 刺激薬により内皮細胞では、脳動脈瘤形成に関与する CCL-2 の誘導が NF-κB 依存的に生じる事が確認された。これらの結果から、脳動脈瘤形成には血流ストレスによる内皮細胞での COX-2—EP2—NF-κB 経路の活性化が関与することが示唆された。

4. 考察

本検討から、従来提唱されてきた血流ストレスを誘因とする脳動脈瘤形成の分子機序の一端を明らかにすることができた。また、現時点で有効な薬物治療の存在しない脳動脈瘤に対して、PGE₂-EP2 経路の遮断が有効な治療戦略となり得ることを示唆した。

5. 結言

血流ストレスにより脳血管内皮細胞に誘導される COX-2—PGE₂-EP2-NF-κB シグナル伝達経路が、正のフィードバック経路を形成することにより脳動脈瘤形成に関与する事が示唆された²⁾。

謝 辞

選択的 COX-2 阻害薬および選択的 EP2 刺激薬の提供に対しファイザー株式会社、小野薬品工業株式会社に深謝します。

文 献

- 1) Aoki, T. and Nishimura, M.: Molecular mechanism of cerebral aneurysm formation focused on NF-κB as a key mediator of inflammation. *J. Biorheol.* **22**, 16-21, 2010
- 2) Aoki, T., Nishimura, M., Matsuoka T., Yamamoto, K., Furuyashiki, T., Kataoka, H., Kitaoka, S., Ishibashi, R., Ishibazawa, A., Miyamoto, S., Morishita, R., Ando, J., Hashimoto, N., Nozaki, K. and Narumiya S.: PGE₂-EP2 signaling in endothelium is activated to hemodynamic stress and induces cerebral aneurysm through an amplifying loop via NF-κB. *Br. J. Pharmacol.* in press.

脳動脈瘤の増大パターンと血流動態

○庄島正明*, 西堂創*, 金太一*, 大島まり**, 斉藤延人*

*東京大学 医学部付属病院 脳神経外科 [〒113-8655 東京都文京区本郷 7-3-1]

**東京大学 生産技術研究所

1. 緒言

未破裂脳動脈瘤は総じて破裂リスクは低いと考えられているが、経過観察中に増大が認められたケースは破裂が切迫しており、早急な治療が必要と考えられている。

未破裂脳動脈瘤の増大／破裂には、高血圧や喫煙などのリスクファクターのほか、脳動脈瘤に作用する血行力学的ストレスの関与も大きい。経過観察中に蓄積された三次元画像を元に、どのような血行力学的ストレスが作用していると脳動脈瘤の増大が認められやすいかを明らかにできれば、未破裂脳動脈瘤に対する手術の必要性をより明らかにできると思われる。

2. 実験方法

東京大学付属病院で経過観察が行われた未破裂脳動脈瘤のうち、2 動脈瘤で長期間の経過観察が行われた中で、動脈瘤の増大が生じていた。この2 動脈瘤を研究対象とした。

Magnetic resonance angiography, もしくは Three-dimensional computed tomographic angiography で得られた脳動脈瘤の三次元データから血管形状を抽出し、脳動脈瘤近傍の速度場をコンピューターシミュレーションにより算出した。血液はニュートン性流体と仮定し、血管壁は剛体として取り扱った。入口境界条件は、当該血管の正常流速をポアズイユ分布させて与えた。すべての出口に対して表面圧力ゼロを適用した。

計算には SCRYU/Tetra for Windows ver. 7 を用いた。経時的に得られた脳動脈瘤形状を Rigid registration することで形状変化部位を明らかにし、血流動態との比較／検討を行った。

3. 実験結果

症例 1: 5 年間経過観察を続けている前交通動脈瘤。増大を続けてはいるものの、未だ破裂には至っていない。脳動脈瘤の増大は壁面せん断応力が低い領域で生じていた。母血管の血流が動脈瘤壁に衝突する領域の近傍から増大が始まっていた。

症例 2: 前大脳動脈遠位部脳動脈瘤。動脈瘤がほぼ全体的に大きくなっていた。増大部位では壁面せん断応力は低値であった。

4. 考察

著者らは過去に、脳動脈瘤壁の一部が水疱状に小さく膨らんだケースに対して同様の研究を行った。 「将来、水疱状に膨らむ部位では、1. 壁面せん断応力が著しく低い 2. Spatial shear gradient が大きい」という所見を報告している¹⁾。本研究では、動脈瘤が局所的ではなく全体的に増大した症例を対象として研究を行った。

局所的増大症例の解析と比較すると、全体的増大の症例では増大部位と壁面せん断応力の相関を明らかにしづらかった。これは動脈瘤形状が経時的に変化する際に、どの部位が増大したかを同定できないことに由来する。しかし、そのような制限はあるものの、壁面せん断応力が低く、Spatial shear gradient が高い領域が動脈瘤増大を予測しうる因子と推察された。

5. 結言

脳動脈瘤の増大は、壁面せん断応力が低く、Spatial shear gradient が高い領域で生じると思われた。

文 献

- 1) Shojima, M., Nemoto, S., Morita, A., Oshima, M., Watanabe, E., Saito, N. Role of Shear Stress in the Blister Formation of Cerebral Aneurysms. Neurosurgery, 67, 1268-1275, 2010.

未破裂脳動脈瘤の破裂リスクに関する 3次元可視化システムを用いたCFD解析の試み

○入江恵子*, 太田信**, 安西眸**, 中山敏男***, 根来真*, 廣瀬雄一*

*藤田保健衛生大学 医学部 脳神経外科 [〒470-1192 愛知県豊明市杣掛町田楽ヶ窪 1-98]

東北大学 流体科学研究所, *東北大学 医工学研究科

1. はじめに

無症候性未破裂脳動脈瘤の経過観察において瘤が増大傾向を示してくも膜下出血をきたした例において経時的にCFD解析を行い、動脈瘤の破裂原因を考察する上で示唆に富む所見を経験したので報告する。

2. 症例提示

57歳の女性。初診時、頭部CTAで左内頸動脈瘤を認めた。2009年5月12日に経過観察のために再度精査すると、前回と比べ瘤の増大傾向を認めた。破裂してくも膜下出血に至る2週間前のCTAでさらに瘤の増大を認め、壁の一部に変形を認めた。

3. 流体力学的解析

脳動脈瘤形状は3次元CTより得られたDICOMデータより抽出し、STLフォーマットにて再構築を行った。解析ソフトウェアにはFluent 6.3 (Fluent Inc.)を使用した。3次元可視化については、東北大学流体力学研究所未来流体情報創造センター内のリアライゼーションワークスペース (RWS) を用いた。可視化ソフトはEnSight Gold 8.2 (CEI Inc.)を使用した。

4. 解析結果

経過中の動脈瘤の増大傾向にともない、瘤内の平均流速、平均WSSは漸次減少傾向を示した。瘤のCFD画像解析では、ドーム側はWSSが高い傾向が認められたが、他の領域ではWSSが低い傾向が認められた

(図1A,B,C)。壁の陥凹部に一致してWSSが局所的に高くなり、流線の変化が認められた。さらに、瘤内の流れを、3次元可視化装置を用いて観察すると、経過にしたがってうず状の不規則な流れが認められた。

5. 考察

経過中の動脈瘤の増大傾向にともない、瘤内の平均流速、平均WSSは漸次減少傾向を示した。瘤のCFD画像解析では、ドーム側はWSSが高い傾向が認められたが、他の領域ではWSSが低い傾向が認められた(図1A,B,C)。壁の陥凹部に一致してWSSが局所的に高くなり、流線の変化が認められた。さらに、瘤内の流れを、3次元可視化装置を用いて観察すると、経過にしたがってうず状の不規則な流れが認められた。

6. 結言

経過中の動脈瘤内の流れの変化と増大の関係について、3次元可視化装置を用いた観察によって直感的に理解でき、その関係の可能性が示された。

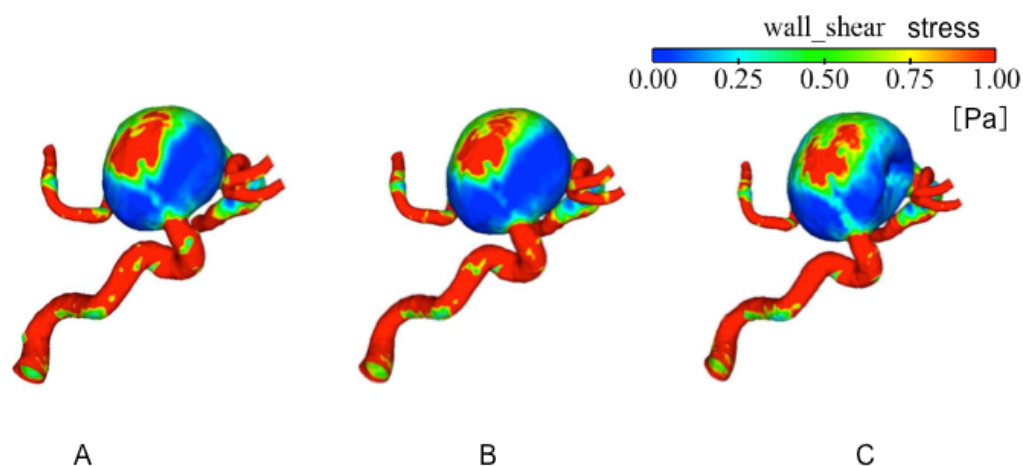


Fig.1 WSSの経時的変化

破裂脳動脈瘤の新しい4D-CTAによる構造解析とCFD解析

○石田藤麿*, 梅田靖之**, 鈴木秀謙**, 松島聡**, 滝和郎**

*三重中央医療センター 脳神経外科 [〒514-1101 三重県津市久居明神町 2158-5]

**三重大学 脳神経外科

1. 緒言

血行力学的評価による脳動脈瘤の病態を解明するために、多くのコンピューター数値流体 (Computational Fluid Dynamics, CFD) 解析の報告があるが、解析に使用する形状モデルは血管弾性の不均一性を考慮していない。そこで、拍動に伴う構造解析を目的に新しい 4D-CT angiography (Dynamic Four-dimensional CT angiography, DFA) を開発検討し¹⁾、臨床応用を開始した。今回、破裂内頸動脈後交通動脈分岐部動脈瘤症例において、DFA による構造解析と CFD 解析による血行力学的所見を比較検討したので報告する。

2. 方法

症例は 81 歳・女性で、くも膜下出血にて入院となった。脳血管撮影にて左内頸動脈後交通動脈分岐部動脈瘤と診断され、術中動脈瘤をクリップ後、動脈瘤壁を切除し、破裂部の病理診断を行った。

DFA は 64 列マルチスライス CT (Aquilion 64, TOSHIBA Medical Systems Co., Ltd.) で撮影し、DFA support software Version 4.1, TOSHIBA Medical Systems Co., Ltd.) を用いて再構成を行った。各時相の DICOM データを Magics 13.0 (Materialise Japan, Yokohama, Japan) で STL に変換し、全て同じ座標軸で重ね合わせ、1 心拍中の構造変化を overlap image として可視化した。

一方、CFD 解析は 3D rotational angiography から得られた VRML データを Magics 13.0 で STL に変換し、ICEM CFD 12.1 (ANSYS Inc., Canonsburg, PA, USA) でメッシュモデルを作成した。格子の要素は tetrahedral mesh を用いて作成し、形状表面に 3 層で厚さ 0.15mm の prism mesh を追加し、十分に発達した層流を確保するため内頸動脈 C5 セグメントから直線上に延長した入口端を設定した。脳動脈瘤内の血流は、非圧縮性・層流のニュートン流体と仮定し、ソルバーは CFX 12.1 (ANSYS) を使用した。密度は 1056 kg/m^3 、粘性は $0.0035 \text{ Pa} \cdot \text{sec}$ とし、入口端では頸動脈超音波から得られた総頸動脈血流の積分平均波形を 1sec 周期で設定し、出口端は 0 Pa とし、time step 0.01 sec で 3sec の非定常解析を行った。

3. 結果

切除した脳動脈瘤の病理所見では、動脈瘤体部は不均一な壁厚であったが内皮の連続性は保たれていた。一方動脈瘤先端部では、壁内にマクロファージや好中球などの炎症細胞浸潤、壁内出血を認め、内皮の連続性は消失し破裂部と診断された。

DFA 撮影では 1 心拍中に 5 時相の DICOM データを獲得できた。DFA ムービー及び overlap image (図 1) で拍動解析すると、動脈瘤先端部ではその他の部位と比較し大きな壁の構造変化を認めた。

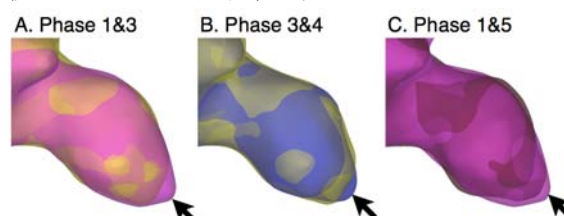


Fig. 1 Overlap images of DFA.

CFD 解析は 3 周期目の計算結果で評価した。動脈瘤先端部の Wall shear stress (WSS) は収縮期・拡張期ともに低く、瘤内の cross-sectional plane でベクトルを可視化すると (図 2), 先端部に遅い速度の vortex が観察された。

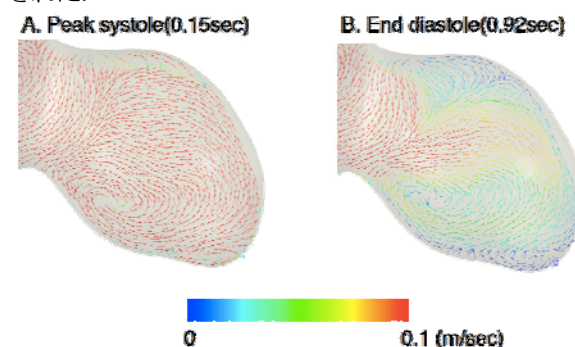


Fig. 2 Intra-aneurysmal cross-sectional vector velocity.

4. 考察

DFA は病理診断された破裂部位を大きな拍動として描出した。このような所見は、これまでの modality や解析方法では得られず、DFA により血管弾性や壁厚といった血管壁の性状を、患者固有情報として獲得できる可能性が示唆された。

文 献

- 1) Umeda Y, Ishida F, Hamada K, et. al: Novel dynamic four-dimensional CT angiography revealing 2-type motions of cerebral arteries. Stroke 42, 815-818, 2011.

CFD 解析を用いた ENTERPRISE VRD がもたらす 脳動脈瘤内血行力学的効果の検討

○梅田靖之*, 石田藤麿**, 鈴木秀謙*, 松島聡*, 滝和郎*

*三重大学医学部 脳神経外科 [〒514-8507 三重県津市江戸橋 2-174]

**三重中央医療センター 脳神経外科

1. 緒言

脳動脈瘤に対する血管内治療は新しいデバイスの開発によって飛躍的な進歩を遂げている。2010年7月から本邦でも自己拡張型頭蓋内ステント ENTERPRISE Vascular Reconstruction Device (VRD) が使用可能となった。このデバイスを使用によりコイルが母血管に逸脱するのを防ぎ、コイル塞栓術が困難な広い頸部の動脈瘤の血管内治療が可能となった。最近の報告では、ステント補助コイル塞栓術は術後コイル安定化の効果もあることが示唆されている¹⁾。そこでCFD解析により、ENTERPRISE VRDの脳動脈瘤に対する効果を検討した。

2. 方法

脳動脈瘤モデルは3D rotational angiographyから作成した。ENTERPRISE VRDは、マイクロCT (R_mCT2, Rigaku corporation, Tokyo, Japan)にて撮影しDICOMデータをINTAGE Volume Editor (KGT, Tokyo, Japan)でSTLに変換した。これを脳動脈瘤モデルと合成することで、ステント留置モデルとし、脳動脈瘤モデルと血行力学的パラメーターを比較検討した。

格子作成は、ICEM CFD 12.1 (ANSYS Inc., Canonsburg, PA, USA)を用いて行った。脳動脈瘤内の血流は、非圧縮性・層流のニュートン流体と仮定し、ソルバーはCFX 12.1 (ANSYS Inc.)を使用した。密度は1056 kg/m³、粘性は0.0035 Pa·secとし、入口端に頸動脈超音波から得られた総頸動脈血流の積分平均波形を1 sec周期で設定し、出口端は0 Paとした。time step 0.01 secで3 secの非定常解析を行い、結果は3周期目のデータで評価した。

血行力学的パラメーターは、Wall shear stress (WSS), Flow Velocity (FV)をdome, parent arteryで比較し、さらに留置モデルにおけるストラット周囲のvector velocityを血管走行に垂直なcross-sectional planeで評価した。

3. 結果

ステント留置モデルは脳動脈瘤モデルと比較し、動脈瘤壁のtime averaged WSSを12.7%減少させ、その変化は拡張末期で大きかった。また瘤内血流パターンは変化なかったが、拡張末期で血流速度は14.3%

減少していた (図1)。ストラット周囲ではcomplex flowの出現と局所的なvector velocityの低下を認めた (図2)。

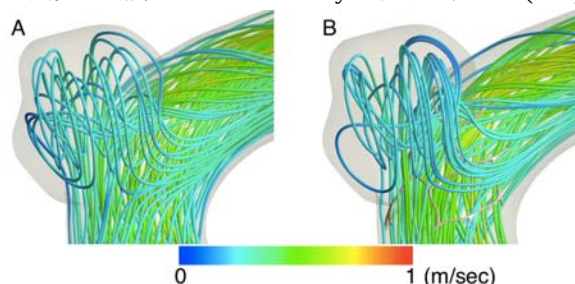


Fig. 1 3D streamlines of blood flow velocity at end diastole (A: Non-stented model, B: Stented model)

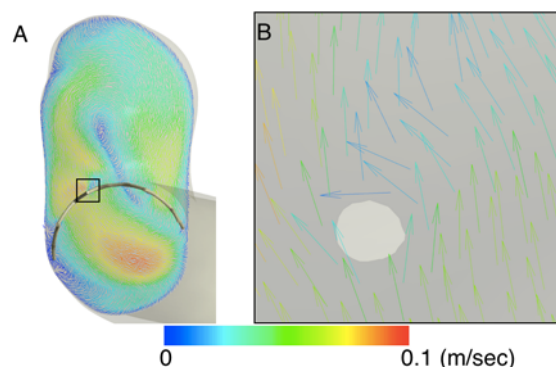


Fig. 2 Cross-sectional vector velocity at end diastole (A: Intra-aneurysm plane, B: Local plane around strut)

4 考察

脳動脈瘤コイル塞栓術では、瘤内におけるコイルの充填が血流を減少させ血栓化することで閉塞するが、術後の再開通が約30%で認められるのが問題である。ステント補助コイル塞栓術は、本来治療が困難な脳動脈瘤のために認可されたが、コイル塞栓術後の再発率を低下させ血行力学的効果を持つことが示唆されている。このような効果は、ENTERPRISE VRD留置がストラット周囲の局所的な血流構造変化とWSSの低下が寄与していると考えられた。

文 献

- 1) Piotin M, Blanc R, Spelle L, et. al: Stent-assist coiling of intracranial aneurysms: clinical and angiographic results in 216 consecutive aneurysms. Stroke 41, 110-115, 2010.

DNA 異方性ゲルの構造とレオロジーに関する研究

○古澤和也, 福井彰雅, 佐々木直樹

北海道大学 先端生命科学研究院 [〒060-0810 札幌市北区北 10 条西 8 丁目]

1. 緒言

濃厚な電解質高分子水溶液を、多価金属カチオン水溶液中に透析すると、異方的な構造を有するゲルが自己組織化的に形成される^{1,2)}。この異方性ゲルは、有害物質のセンサーや新しい細胞足場としての応用が期待されている。しかしながら、異方性ゲルの力学特性と構造の関係は、十分に明らかにされていない。

水溶液中の電解質高分子は、溶媒の pH や誘電率などに依存して、荷電状態が変化する。電解質高分子と多価金属カチオンとの間の相互作用は、異方性ゲルの構造や力学特性に大きな影響を与える。それゆえ、電解質高分子溶液の pH や誘電率は、構造や力学特性を制御するための有力な変数として考えることができる。

本研究では、透析によって調製される異方性ゲルとして DNA 異方性ゲルを選択し、この DNA 異方性ゲルの力学特性に与える pH の影響について調べる。また、様々な pH の DNA 水溶液を用いて調製された DNA 異方性ゲルの小角光散乱測定により、DNA 異方性ゲルの構造を明らかにする。DNA 異方性ゲルの構造と力学特性の間の関係について議論する。

2. 実験

日本化学飼料株式会社より提供していただいた、サケ白子由来の二重らせん DNA (平均塩基対数=10kbp) を pH の異なる 0.02M 四ホウ酸ナトリウム水溶液 (pH7.1 ~ pH9.2) に溶解し、1wt% の DNA 水溶液を調製した。

DNA ゲルの構造に与える pH の影響: pH7.1~pH9.2 の DNA 水溶液を二枚のカバーガラスの間にはさみ、これを 0.1M 塩化アルミニウム水溶液中に浸漬してフィルム状の DNA ゲルを作成した。この DNA ゲルの巨視的な形態を自然光および偏光の下で観察した。また、小角光散乱法による構造解析を行った。

緩和弾性率の測定: pH9.2 および pH7.1 の DNA 水溶液を異方性ゲル調製用セル (両方とも 20mm×20mm×3mm の大きさ) に充填し、0.1M 塩化アルミニウム水溶液中 (pH2.3) に浸漬して、DNA 異方性ゲルを調製した。直径 6mm (= 2a) の円筒状のインデンターが取り付けられたロードセルを用いて、一定の押し込み変形 ($d=0.3\text{mm}$) を調製された試料に与え、緩和弾性率の測定を行った。

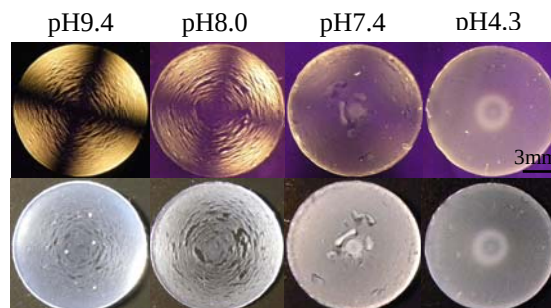


Fig. 1 DNA gel films prepared from DNA solutions with various pH. Upper panels show that the DNA gel films observed under polarized light. Lower panels show that the DNA gel films observed under natural light.

3. 結果と考察

調製された DNA ゲルフィルムの写真を図 1 に示した。用いる DNA 水溶液の pH の減少とともに、ゲルの巨視的形態が均一になることが分かった。これは、高い pH の条件の下で形成されたゲルの架橋密度が低い pH で形成されたゲルのものよりも高い事に起因する。中性から塩基性の条件の下で形成された DNA ゲルは複屈折を持つが、酸性の条件の下で形成された DNA ゲルには複屈折が観察されなかった。この結果は、DNA ゲルの構造異方性が用いる DNA 水溶液の pH の減少とともに大きく減少すること示している。講演では、このような DNA ゲルの構造に与える pH の影響が、DNA ゲルのレオロジー特性とどのように関係しているのかについて議論する。

文 献

- 1) Dobashi, T.; Nobe, M.; Yoshihara, H.; Yamamoto, T.; Konno, A., *Langmuir* **2004**, 20, 6530-6534.
- 2) Dobashi, T.; Furusawa, K.; Kita, E.; Minamisawa, Y.; Yamamoto, T., *Langmuir*, **2007**, 23, 1303-1306.

イオンの拡散によって形成される 異方性コラーゲンゲルの形成過程および構造

○増元淳一，古澤和也，福井彰雅，佐々木直樹

北海道大学大学院 生命科学院生命融合科学コース [〒060-0810 札幌市北区北 10 条西 8 丁目]

1. 目的

リン酸緩衝液（PBS）中のイオンをコラーゲン水溶液中に拡散させると、この構造は相分離とゲル化のカップリングによって形成される。このゲルはこれまでにない新しい形態を持ち、それは相分離によって形成される。本研究では、この異方性コラーゲンゲルが形成される機構を明らかにし、その構造を制御することを目指す。

2. 方法

実験に用いたコラーゲンゲルは以下のようにして調製した。まず $70\mu\text{L}$ の 5mg/ml 酸性コラーゲン水溶液を型に充填した。次に Na_2HPO_4 と KH_2PO_4 で調製した PBS 中のイオンを、透析膜を介してコラーゲン水溶液中に浸透させることでゲル化させた。

ゲルの相分離構造が成長する過程を動画に撮り、相分離構造の孔（希薄相）のサイズの時間変化を解析した。異なるイオン強度 ($I = 64\text{mM}$, 128mM , 192mM , および 256mM) の PBS でゲルを調製し、小角光散乱法 (SALS) を用いて構造解析を行った。

3. 結果

ゲル化する過程を録画した動画より、相分離構造の希薄相の出現は同時に起こること、孔のサイズはそれぞれの時間ではほぼ均一であることが分かった。孔の半径 l の $\log$ を時間 t の $\log$ に対してプロットしたグラフの近似直線の傾きの平均値は 0.31 ± 0.02 であり、ほぼ $1/3$ とみなせた。よって、孔の半径 l の増大は時間 t の $1/3$ 乗に比例する。

SALS 測定では等方的な散乱パターンが観察された。散乱パターンを円環平均することで散乱プロファイルを求めた。得られた散乱プロファイルを Cross-sectional Guinier 式を用いて解析し、ゲル中のコラーゲン繊維の直径を求めた。繊維直径の平均値のイオン強度依存性を図 1 に示す。繊維直径はイオン強度に依存して有意に変化し、高いイオン強度では繊維直径が大きくなることが示された。

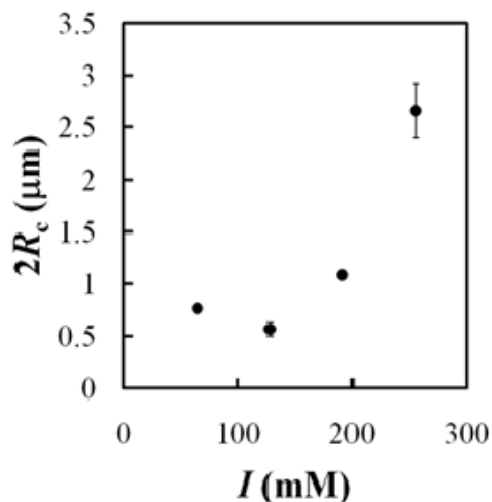


Fig. 1 Dependence of collagen fiber diameter on

4. 考察

l の増大が t の $1/3$ 乗に比例することは、相分離の後期過程で、コラーゲン分子の拡散によって相分離構造が成長していることを示す。一連の結果から、ゲル形成過程で核生成核成長ではなくスピノーダル分解で相分離が進行することが確かめられた。イオン強度 I もしくは pH のクエンチにより系を不安定領域に移動することでスピノーダル分解が起きて異なる二つの濃度領域に相分離する。この相分離機構はゲル化によってピンングされる。コラーゲン繊維は主に濃厚層で形成されることが考えられる。

3 重らせんペプチドと高分子電解質の複合体形成

○寺尾憲*, 金永亮子*, 佐藤尚弘*, 水野一乗**, Hans Peter Bächinger**

*大阪大学 理学研究科 [〒560-0043 豊中市待兼山町 1-1]

**Shriners Hospital for Children

1. 緒言

コラーゲンモデルペプチドは溶液中において天然のコラーゲンと同様に 3 分子からなる 3 重らせんを形成する。この 3 重らせん構造の安定性はアミノ酸残基の化学構造や溶液条件(温度、pH など)に影響される。最近、我々はメタノール中でコラーゲンモデルペプチド (CMP) と高分子電解質を混合すると、複合体を形成し、3 重らせん構造が安定化されることを見出した。しかし、得られた複合体の溶解性は低く、複合化挙動を詳細に調べることはできなかった。本研究では、様々な系を検討し、図 1 に化学構造を示す(Gly-Pro-Hyp)₉ (GPO9)とポリアクリル酸ナトリウム(NaPAA)の混合水溶液中において 3 重らせん構造が有意に安定化されることを見出した。この結果は複合体の形成を示唆するが、両者の混合比によらず混合溶液に濁りはなく、この複合体の溶解性は高い。そこで、小角 X 線散乱 (SAXS)を用いて複合体の構造について調べると共に、円二色性測定(CD)から 3 重らせん構造の安定性について調べた。

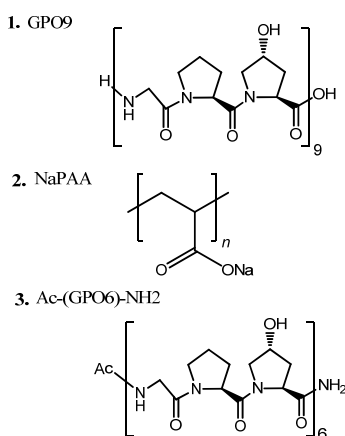


Fig. 1. Chemical structures of the investigated samples.

2. 実験方法

GPO9に対するNaPAAの電荷のモル比 α が3-30、NaCl濃度が20 mM、100 mMの混合水溶液について、SAXS測定及びCD測定を行い、前者から複合体のモル質量、回転半径、散乱関数を、後者からモル楕円率 $[\theta]$ 、及び3重らせんの融解温度 T_m を求めた。ただし、CD測定は純水溶液系についても行った。

3. 実験結果と考察

散乱強度データを解析し、CMPの3重らせんが完全に解けている75 °Cでは各成分がほぼ分子分散しているのに対し、15 °Cでの散乱強度ははるかに大きくなることがわかった。塩濃度100 mMのNaCl水溶液中、 α が30及び10の場合、ほぼすべてのCMPがNaPAA鎖と複合体を形成しているのに対し、 α が3の場合には複合体形成に参加するのは4割程度にとどまり、CMP数の8倍近くの負電荷が存在する場合にすべてのCMPが複合体を形成することがわかった。他方、塩濃度20 mMでは調べた α の範囲では、 α が3のでも100 mMの2倍程度のCMPがNaPAA鎖と複合体を形成しているという結果が得られ、塩濃度の上昇に伴い、複合体形成が阻害されること、すなわち複合体形成の駆動力が主にペプチドN末端の正電荷とNaPAA鎖間の負電荷であることが示唆された。また15 °Cでの $\alpha = 10$ の複合体の回転半径 $\langle S_z \rangle^{1/2}$ はNaPAAの $\langle S_z \rangle^{1/2}$ と比較して2倍程度大きい。用いたモデルペプチド鎖がNaPAA鎖に比べて十分短く、複合体の $\langle S_z \rangle^{1/2}$ にはほとんど影響し得ないことを考慮すると、この $\langle S_z \rangle^{1/2}$ の増加は、主にNaPAA鎖の広がりの増加に起因するものであり、NaPAA鎖と複合化したCMP同士及びNaPAA主鎖-モデルペプチド鎖間の相互作用によりNaPAA主鎖が広げられたためと考えられる。さらに、GPO9単独溶液中より混合溶液中の方が T_m は約10 °C高いことが分かった。この T_m の上昇は塩濃度が増加すると共に顕著ではなくなる。またGPO9とトリカルボン酸ナトリウムの混合溶液($\alpha = 10$)とGPO9単独溶液の T_m に有意な変化はなく、末端電荷のないAc-(Gly-Pro-Pro)₆-NH₂ (Ac-(GPO6)-NH₂)とNaPAAの混合溶液の T_m は、Ac-(GPO6)-NH₂単独溶液とほとんど変わらなかった。これらのことから、GPO9の3重らせんの安定化にはペプチド末端電荷と高分子電解質の高電荷密度が必要であることが示された。

放射光 X 線回折による骨アパタイトーコラーゲン 複合構造の力学挙動観察

○東藤正浩*, Jörg Goldhahn**, Philipp Schneider**,
Ralph Müller**, Oliver Bunk***, 但野茂*

*北海道大学大学院 工学研究院 [〒060-8628 札幌市北区北 13 条西 8 丁目]

Institute for Biomechanics, ETH Zurich, * Paul Scherrer Institut

1. 緒言

骨組織は微視的には無機質のアパタイトと有機質のコラーゲンから構成されている。骨量を示す見かけの骨密度や、強度・剛性に優れるアパタイト含有量は骨強度の重要な要素であることは良く知られているが、近年、加齢や骨粗鬆症といった事例においてコラーゲンもまた重要な要素である可能性が指摘されている。本研究では、アパタイト結晶からの広角回折およびコラーゲン周期長に由来する小角散乱を用いて外的負荷に対する微視的力学挙動を同時観察し、その力学挙動メカニズムについて検討した。

2. 実験方法

回折実験は、シンクロトロン放射光施設（cSAXS Beamline, Swiss Light Source, PSI, Switzerland）で行った。X 線エネルギーは 18.58 keV（波長: 0.0667 nm）とした。コラーゲンからの小角散乱像およびアパタイト結晶からの広角回折像を同時に検出するため、図 1 に示す実験系にて測定を行った。小角散乱像は、試験片から 7 m 後方に設置した検出器（PILATUS 2M）により撮像した。広角回折像は前方に 20.5~44.9 deg の散乱角となるよう検出器（PILATUS 100k）を設置し、撮像した。

試験片として、ヒト股関節骨頭頸部（71.4±9.5 歳, n=7）より短冊状皮質骨試験片（16.0×2.5×1.5 mm）を骨軸方向が長軸方向となるよう採取した。試験片は小型圧縮荷重装置¹⁾に設置した。X 線ビームサイズは 400×300 μm, 撮像時間は 0.230 sec/image とした。撮像系と荷重制御系を同期させ、圧縮荷重下における連続観察を可能とした。得られた回折画像を解析し、負荷前に対する負荷中の結晶格子ならびに分子配列の構造的变化から力学的ひずみを算出した。

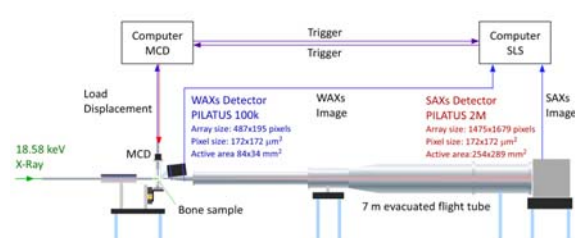


Fig. 1 Experimental setup.

3. 実験結果

図 2 に、巨視的に骨組織に動的圧縮負荷を与えたときのアパタイトーコラーゲン相の各々のひずみ変化を示す。総じて、アパタイトよりもコラーゲンのひずみが大きいことが観察された。

4. 考察

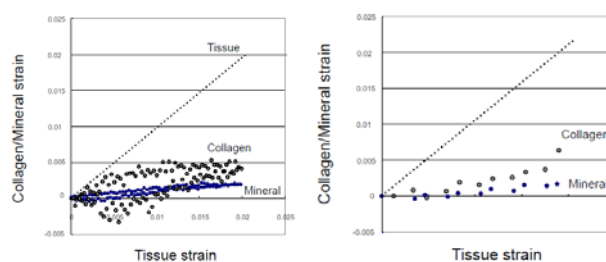
圧縮荷重下では、巨視的な骨組織のひずみに対し、コラーゲンで 25%, アパタイトで 12% 程度のひずみが測定された。またひずみ速度 0.0014 の場合、コラーゲンにのみヒステリシスが見られるのに対し、ひずみ速度 0.014 では両者とも見られず、アパタイトーコラーゲン複合構造においてもコラーゲンの粘弾性効果が確認できた。

5. 結言

X 線照射によるコラーゲンからの小角散乱およびアパタイト結晶からの広角回折測定により、外的負荷における骨組織中の無機・有機両成分の力学的挙動を観察することができた。その結果から、骨組織内のコラーゲン-アパタイト両成分において、ひずみ分担、ひずみ速度の影響を評価することができた。

文 献

- 1) Meier, M. et al.: Investigation of microdamage in murine bone under dynamic load. J. Biomech., **41**, S76, 2008.



(a) strain rate: 0.0014

(b) strain rate: 0.014

Fig. 2 Changes in mineral, organic and tissue strains.

軟組織再生用足場としての応用を目指した 温度応答性インジェクタブルゲル

○鈴木浩之, 城戸博隆, 大矢裕一

関西大学 化学生命工学部 [〒564-8680 大阪府吹田市山手町 3-3-35]

1. 緒言

室温ではゾル (液体) 状態であり, 生体内に注入することで体温に感応して *in situ* でヒドロゲルを形成するポリマーはインジェクタブルポリマー (IP) と呼ばれている. 生分解性を有するIPは水溶液状態で細胞や薬物を懸濁する事が可能で, 体内に注入する事でそれらを封入したIPゲルが得られ, 分解物が体内蓄積性を示さないため軟組織再生用足場材料や薬物徐放デバイスとしての応用が期待されている. これまでに温度応答型IPとして, ポリエチレングリコール (PEG) と脂肪族ポリエステルからなる直鎖型ブロック共重合体などが報告されているが, ゲル状態において力学強度が低いことが応用にあつての問題の一つであった. 我々はこれまでに, 分岐型PEG (8-arm PEG) とポリ乳酸 (PLA) との星型ジブロック共重合体末端に疎水性のコレステロール基を導入した 8-arm PEG-*b*-PLA-cholesterol 結合体 (CP-*chol*) が, 室温と体温の間にゾル-ゲル転移温度を示し, ゲル状態で高い力学強度を示すことを報告している¹⁾. 本研究では, このCP-*chol*を軟組織再生用足場材料として用いる事を想定し, IPゲル内での細胞接着性の向上を意図して, 細胞接着性を有するArg-Gly-Asp (RGD) 配列を持つペプチドをゲル中に固定化する手法を検討した. 具体的には, 細胞外マトリックス (ECM) の構成成分であり生体適合性に優れた多糖であるヒアルロン酸 (HA) と RGDペプチドとを結合したHA-peptideを合成し, これをCP-*chol*水溶液に少量添加するという簡便な手法によりRGD配列を固定化したIPゲルの調製を試み, 足場材料としての基礎的性質を検討した.

2. 実験方法

8-arm PEGの8個の末端水酸基を開始点, 2-エチルヘキサン酸スズを触媒としたDL-lactideのバルク開環重合を行うことで, 8個の末端水酸基を有する8-arm PEG-*b*-PLAジブロック共重合体を得た. この分岐型ジブロック共重合体とカルボキシル基を有するコレステロール誘導体とをDCC法にてカップリングして, 星型分岐構造を有するCP-*chol*を合成した. 一方, HAのカルボキシル基とペプチドのアミノ基末端をカップリングさせHA-peptideを合成した.

3. 実験結果及び考察

得られた CP-*chol* は室温で水に溶解し, 生体温度である 37°Cでヒドロゲルを形成することが確認された. 詳細なゾル-ゲル転移挙動を調べるためにレオメーター測定を行ったところ, 図1に示す通りゲル状態で 600 Pa という比較的高い貯蔵弾性率(G')を示すことが確認できた. また HA-peptide を少量添加した CP-*chol* 水溶液も CP-*chol* 水溶液と同様に, 37°Cでヒドロゲルを形成し, 37°Cにおける貯蔵弾性率(G')も同程度の値を示すことが確認出来た.

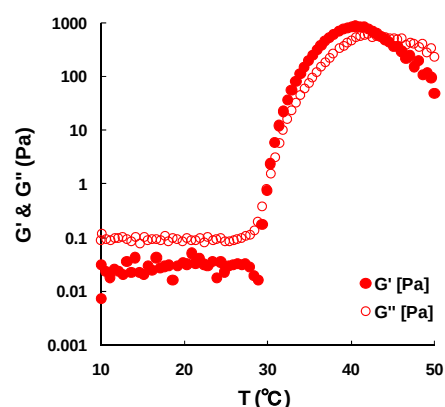


Fig. 1. Storage (G') and loss (G'') modulus as a function of temperature for CP-*chol* aqueous solution (10 wt%) in PBS.

4. 結言

以上の結果より, この HA-peptide を添加した CP-*chol* 水溶液は軟組織再生用足場材料として有望であり, 少量の高分子添加剤を使用する本手法は簡便に IP ゲルに機能性を付与する方法として有用であることが示唆された.

文 献

- 1) K. Nagahama, T. Ouchi, Y. Ohya, *Adv. Funct. Mater.* **2008**, *18*, 1220–1231.

反射干渉分光法からみる DNA アプタマーの抗原特異的結合機構

○伊藤克法, 加畑博幸

シスメックス(株)中央研究所 / JST 独創的シーズ展開事業委託開発 [〒651-2271 神戸市西区高塚台 4-4-4]

1. 緒言

シモンズ病・シーハン病などの臨床検査においては、ACTH ペプチドが、抗原抗体結合を利用した測定法 (EIA など) によって検出されている。しかし、標識の手間や長大な測定時間など、現場が抱える問題点は多い。そこで演者らは、ACTH ペプチドを非標識で迅速に検出することのできる Point Of Care Testing の開発を目指している。近年、抗原抗体結合の新たな応用展開として、アプタマー技術と SPR 法とを組み合わせるなどの光学的検出法の創出が活発である¹⁾。演者らは、SPR と比して小型化がより容易と考えられる反射干渉分光法 (RIfS) とアプタマー技術との融合に取り組んできた。本会では、ACTH と RIfS チップに固定化された抗 ACTH アプタマーとの間の親和性・特異性の機構を、速度定数 (k_{on}) と解離速度定数 (k_{off}) の観点から明らかにしたので、報告する。

2. 実験方法

アプタマーは、20 nt 長の認識部位をもつ全長 100 nt (5'端ビオチン化) のものを 12 種類調製した。RIfS は、ビオチン修飾流路を備えたチップ (コニカミノルタ) を使い、TBS 緩衝液の流中で行った。アプタマーのチップへの固定には、NeutrAvidin (100 nM) を用いた。 k_{off} は、ペプチド (17,000 nM) を注入してアプタマーといったん結合させた後、解離の経時変化を追跡、指数関数にフィットして求めた。 k_{on} は、蛍光滴定により平衡定数を実測後に、 k_{off} で除算して得た。

3. 結果と考察

ACTH を抗原とするアプタマー群を SELEX 法により獲得した。最初にこれらの ACTH に対する特異性の有無を調査したところ、群の中に ACTH との結合に関して $k_{on}=2.8 \times 10^4 \text{ s}^{-1} \text{ M}^{-1}$ 、 $k_{off}=3.3 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ の値をもったもの (002 番と呼称) が見いだされた (図 1)。一方、ACTH 以外のペプチド (Factor XIII、Fibrinogen A、および ITIH4) と 002 番との結合に関しては、優位な k_{on} と k_{off} は得られなかったことから、試験した 4 つのペプチドの中での ACTH への 002 番の特異性が確認された。

興味深いことに、Factor XIII、Fibrinogen A、および ITIH4 は、ACTH と分子サイズが類似しており (21 から 25 の aa 長)、とくに ITIH4 は化学的性質も同様である (10.6 から 12.0 の pI 値)。このことから、002 番

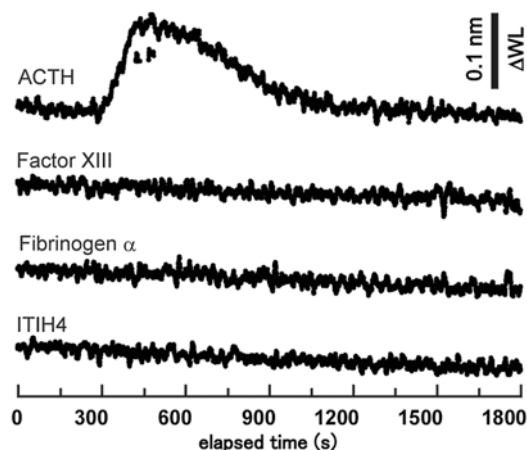


Fig. 1 Association and dissociation observed for anti-ACTH DNA aptamer fixed on RIfS chip surface. (Peptide solutions were injected at 0s in a flow of $0.3 \mu\text{l/s}$. An increase in RIfS wavelength (ΔWL) was detected at 300 s (upper), showing association by the ACTH peptide. Dissociation initiating around 450s were monitored to provide a k_{off} value. Insignificant ΔWL increases were detected for three nonspecific peptides (lower), demonstrating a designed specificity of the aptamer.)

の特異性を産み出す主要因は、ACTH との静電的相互作用であるとは一見考えにくい。しかしながらその一方で、ACTH 結合における k_{on} 値や k_{off} 値の大小に与える溶液のイオン強度の影響を実測したところ (データ略)、イオン強度が 24 倍高い場合、 k_{off} 値は無変化であるにもかかわらず、 k_{on} 値のみが 15 倍程度低下する現象を認めた。つまり結合過程 (特異性の一構成因子) はたしかに静電的相互作用に支配されていた。現在、この作用がアプタマー側の induced fit に寄与しているのか、ペプチド側の電荷クラスターに寄与しているのかなど、考察中である。詳細は、本会にて議論したい。

文 献

- 1) Sassolas et al, *Biosens Bioelectron* (open in EPUB).

DNA 水溶液の乾燥過程のダイナミクス II

○猪狩徹平, 土橋敏明, 山本隆夫

群馬大学 工学研究科 [〒376-0052 群馬県桐生市天神町 1 丁目 5-1]

1. 序論

高分子溶液の乾燥過程はミクロスケールの物質輸送がマクロな量の変化として現れるレオロジー現象である。乾燥過程は一般に拡散、対流、蒸発からなるため非常に複雑な過程である。本研究では濃厚 DNA 水溶液を 2 枚のカバーガラスで挟むことにより対流が起こらない条件とした単純化した系を用いて、メカニズムを調べることを試みた。

2. 実験方法

サケ白子由来の DNA を 20mM 四ホウ酸 Na 水溶液に溶解し、10wt%DNA 水溶液とした。直径 (10mm、12mm、15mm、18mm、22mm) のカバーガラスに厚み 1.13mm になるように DNA 水溶液をはさみ、試料とした。実験は温度を 26°C、湿度を 45% と 60% に制御したグローブボックス内で行なった。試料を一定時間ごとにクロスニコル下で撮影し、画像解析により配向層のフロントラインの位置の時間変化を測定した。また、試料の質量の時間変化を電子天秤で測定した。

3. 結果と討論

配向層の厚み D は約 30 分のうちに約 1/4 に減少し、その後はほとんど減少しなかった。このことから、水溶液中の水の蒸発は最初の約 30 分間にはほぼ終わることが分かった。また、蒸発が終わる時間付近から、複雑な屈折を持つ配向層がカバーガラスの縁から中央に向かって成長し、その幅 x は時間と共に大きくなった。一方、カバーガラスの直径を変えた実験では、直径が大きいほど配向層の成長が遅くなることが分かった。蒸発により秩序-無秩序転移が起こり、ゾル相（無秩序）とゲル相（秩序）の界面が移動すると考え、理論を構築し、実験と比較した。

3-1. 乾燥による DNA 水溶液の重量変化

乾燥による DNA 水溶液の重量変化が次の仮定もとに起こるとする。(1)円柱状水溶液の体積減少は、溶液内を移動した水が表面から蒸発することで起こる。(2)溶液表面からの水の蒸発は表面カイネティクスと、気相での拡散で記述され、それらは（準）定常状態にある。(3)表面からの水の蒸発により、溶液の組成の空間分布が生じ、それによる化学ポテンシャルの傾きが流

れの駆動力になる。この時、円板状カバーガラスの半径の長さを R とすると、乾燥開始時間 t だけ経過したときの液量全体の重さ $W(t)$ は

$$\tilde{W} = \frac{W(t)}{W(0)} \quad (1)$$

$$\tilde{W}_\infty = \lim_{t \rightarrow \infty} \frac{W(t)}{W(0)} \quad (2)$$

とおくと、

$$\tilde{W} = \tilde{W}_\infty + (1 - \tilde{W}_\infty)e^{-t/\tau} \quad (3)$$

と表わされる。また、湿度が低い時 $\tau \propto R^2$ ($R \gg R_c$) となり、湿度が高い時 $\tau \propto R$ ($R \ll R_c$) となる。ここで R_c は、

$$R_c = \frac{2k\rho_0^{eq}}{\gamma}$$

で表わされ、 γ は蒸発の速さ、 k は溶液中での水分子の拡散の速さ、 ρ_0^{eq} は湿度の単純増加関数である。DNA 水溶液の質量の時間変化はカバーガラスの半径の長さ R に依らず、指数関数で表わされる。これらの理論の予測が実験結果と一致することが確かめられた。

3-2. 配向層の幅の時間発展

乾燥による DNA 水溶液の配向化過程が次の仮定のもとに起こるとする。(1)未配向相からの配向相への変化を秩序形成と考える。秩序変数 ϕ を導入し、 $\phi = 0$ の時は未配向相、 $\phi > 0$ の時は配向相と考える。(2)乾燥により、DNA 濃度が上昇すると、未配向相の自由エネルギーが上がり、配向相の自由エネルギーが下がる。(3)十分乾燥し、未配向相と配向相の自由エネルギーが一致した時、配向化が始まるとする。これらの過程に基づいた論より、

$$\tilde{x} = \frac{x}{R} \quad (4)$$

$$\tilde{x} - \frac{1}{2}\tilde{x}^2 = \tilde{K}t \quad (5)$$

$$\tilde{K} = \frac{\Gamma C}{R^2} \quad (6)$$

が得られる。実験の結果、各湿度における配向層の幅は(6)式の理論が予測する式で表わされることが分かった。

寒天ゲルの物性に及ぼすテラピア鱗由来 コラーゲンペプチドの分子量の影響

○小野寺允*, 深江亮平*, 西成勝好**, 吉村美紀*

*兵庫県立大学大学院 環境人間学研究科 [〒670-0092 兵庫県姫路市新在家本町 1-1-12]

**大阪市立大学大学院 生活科学研究科

1. 緒言

コラーゲンペプチド(CP)の力学的及び熱的特性は、分子量やアミノ酸組成に影響されることが言われている。豚皮由来 CP の分子量が寒天ゲルの物性に及ぼす影響については以前報告した¹⁾。そこで、本研究では、平均分子量及び分布状態が異なる3種類のテラピア鱗由来CPを寒天に添加し、CPの分子量が寒天ゲルの物性に及ぼす影響について検討を行った。

2. 実験方法

3種のテラピア鱗由来コラーゲンペプチド(旭陽化学工業(株)製、以下CPとする。)を用いて、10~60% (w/w)ゾルを調製した。また寒天(SIGMA 製、以下AGとする)1%(w/w)に、CP(濃度0, 5, 10, 15, 20% (w/w))を添加し、AG-CPゲルを調製した。測定は、ゲルろ過クロマトグラフィー法[GPC], 動的粘弾性, 破断特性, 離水量, 示差走査熱量測定[DSC]の5項目を行った。

3. 実験結果

①CPのGPC測定: GPCの測定結果を図1に示す。 M_w は、それぞれ 7.4×10^2 , 4.5×10^3 , 1.0×10^4 を示し、 M_w/M_n はそれぞれ2.7, 5.1, 8.2を示した(以下、順にCP1000, CP5000, CP10000と示す)。

②CPゾルの動的粘弾性: 50, 55, 60%(w/w)CP5000ゾル, 25, 30, 35, 40, 45%(w/w)CP10000ゾルは、 G'' が G' よりも高い値を示し、周波数に著しく依存していた。

③AG-CPゲルの破断特性: AG単独ゲルと比べて、CP1000は10%(w/w)以上の添加で、破断応力, 初期弾性率が増加した。CP5000, CP10000において、CPの添加量の増加に伴って破断応力, 初期弾性率は著しく減少した。

④AG-CPゲルの離水量: AG単独ゲルと比べると、CP1000添加による離水抑制効果は見られなかったが、CP5000は10%(w/w)以上、CP10000では5%(w/w)添加で抑制効果が見られた。

⑤CPゾル・AG-CPゾルのDSC測定: 30%(w/w) CP5000ゾルは吸熱ピークのみ、40~60%(w/w) CP5000と30, 40%(w/w)CP10000ゾルは吸熱・発熱ピークともに確認された。AG-30% (w/w)CP5000ゲルにおいて、CPとAGのピークが別々に観察された。AG1mgあたりの融

解やゲル化に伴うエンタルピーは、CPの分子量及び濃度の増加に伴って、大きく減少した。

4. 考察

CP1000を添加することで、AGのゲル強度が増加したことは、CP添加によりAGの実質的濃度が増加したことによると推察される。一方、CP5000, CP10000を添加すると、ゲル強度が低下したことから、CP分子の存在によりAG分子の架橋構造の形成が阻害され、力学的に弱いゲルを形成したと推察された。離水量において、CP1000分子は構造変化を起こしにくいいため、ゲル内に留まることが出来ず、CP1000分子が水を蓄えたまま自由水とともに流出し離水が増加したと考えられ、一方CP5000, CP10000分子はHelix構造や分子同士の絡み合いを起こし、分子運動が妨げられ、ゲル内に留まり、保水力を発揮した結果、離水が抑制されたと推察される。DSC測定において、AG-30%(w/w)CP5000ゲルでは、CPとAGのピークが別々に観察され、AG1mgあたりのエンタルピーが減少したことから、CPとAGは相分離を起こし、不均一で熱的に弱い構造をもつと推察される。

5. 結語

CPがAGゲルの物性に影響を及ぼすかどうかは、平均分子量及び分布状態に依存すると推察され、本研究においてはCP5000やCP10000に分布している高分子量の成分がAG分子の架橋構造の形成を阻害したと推察される。

文 献

- 1) 小野寺允, 深江亮平, 加藤陽二, 西成勝好, 吉村美紀: 寒天ゲルの物性に及ぼす豚皮由来コラーゲンペプチドの分子量の影響, 食科工誌, 58, 2011.

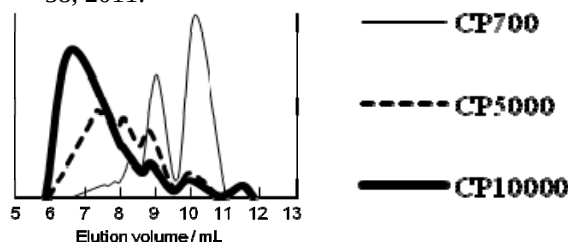


Fig. 1 GPC profiles of CP1000 (thin line), CP5000 (long dash) and CP10000 (thick line).

魚肉と鶏肉の混合熱ゲルの特徴 － 魚肉の季節変動の影響－

○吉元梓*, 市川寿*, 土橋敏明**

*長崎大学大学院 生産科学研究科 [〒852-8521 長崎県長崎市文教町 1-14]

**群馬大学大学院 工学研究科

1. 緒言

先に我々は、魚肉（シログチ）と鶏肉を混合して出来る熱ゲルの破断強度の分析から、両者の混合方法はシログチの坐り効果を期待しない一段加熱で調製する魚肉練製品に適用可能となる事を報告した¹⁾。一方、魚肉の熱ゲル形成能には季節変動がみられる事が知られており²⁾、この影響により魚肉と鶏肉の混合ゲルのゲル形成能が一定に保たれない事も考えられた。そこで、シログチのゲル形成能が優れる時期と劣る時期でその差異を明らかにし、さらに、それらに鶏肉を混合した場合のゲルの性状を検討した。

2. 実験方法

10月期と2月期のシログチについて、普通筋から筋原線維を調製後、食塩濃度3%で塩ずりし、40～80℃で20～120分間加熱後氷冷してゲルを得た。ゲルの押込破断試験を行ない、破断強度、破断時凹量、弾性率、ヤング率を求めた。さらに、両時期のシログチ筋原線維とニワトリ胸肉筋原線維を重量比1:1で混合して同様に調製した熱ゲルの性状を比較した。

3. 実験結果

シログチ筋原線維の熱ゲル形成能は、図1に示したように季節変動がみられた。なお、40℃と60℃の加熱ゲルの強度から求めた坐り指数³⁾と60℃加熱ゲルから求めた戻り指数³⁾は10月期の試料ではそれぞれ211、-7だったが、2月期の試料ではそれぞれ310、60だった。一方、鶏肉筋原線維の熱ゲル形成能には季節変動は認められなかった。

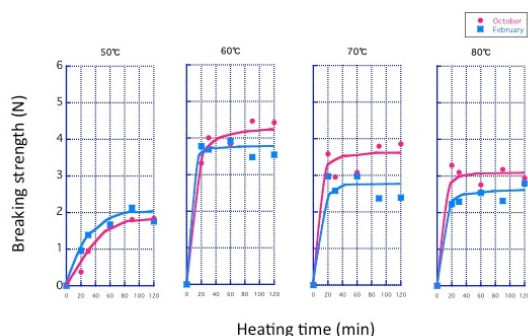


Fig.1 Seasonal variation of gel forming ability of white croaker surimi.

さらに、10月期、2月期のシログチ肉に鶏肉を混合した場合、50℃以上の加熱温度域における熱ゲル形成能の違いは図2のように小さかった。

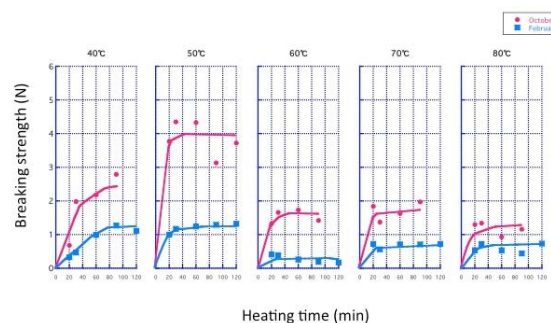


Fig.2 Gel forming ability of 1:1 mixture of white croaker and chicken breast surimi.

4. 考察

シログチ普通筋の熱ゲル形成能は、季節によってやや変動する。しかし、『坐り易さ』は季節変動があるものの極めて坐り易く、『戻り易さ』は戻りにくい特性に区分される。シログチ肉と鶏肉との混合ゲル形成では、シログチの坐りの効果を利用することは出来ないため加熱温度50℃以上で熱ゲルを調製することになり、この加熱条件下では、シログチが有するゲル形成能の季節変動レベルは実質的に鶏肉との1:1混合ゲルの性状に顕著な影響を及ぼす事は無かったものと考えられる。しかし、異なる魚種、例えばエソでは極めて顕著な熱ゲル形成能の季節変動が認められており、坐り易さのみならず戻り易さも捕獲する季節によって大きく異なる²⁾事から、このような魚種と鶏肉混合ゲルを調製する際には、50℃以上の加熱温度域でゲル形成能が変動する事が無いかどうか検討が必要かもしれない。

文 献

- 1) 吉元梓, 市川寿, 土橋敏明: 魚肉と鶏肉の混合熱ゲルの物性, 第33回日本バイオレオロジー学会年会抄録, p. ,2010.
- 2) 八島郁子, 市川寿, 野崎征宣, 田端義明: エソ肉糊の加熱ゲル形成能の季節的変動, 長崎大学水産学部研究報告 74/75,65-71,1993.
- 3) 志水寛, 町田律, 竹並誠一: 日本水産学会誌, 47,95-104,1981.

ガラス及びゲル中の超音波応力の鋭敏色可視化

○泉野香奈, 山本健

関西大学大学院 理工学研究科 [〒564-8680 大阪府吹田市山手町 3-3-35]

1. 緒言

光学的可視化手法を用いることにより, 透明媒質中を伝搬する超音波を観察することができる. 透明固体中の可視化に適している光弾性法¹⁾は, 半波長ごとの超音波応力のみ観察できる. ここで鋭敏色板を用いると, 超音波応力の正負の極性を色彩変化として観察できる²⁾. 今回は, ガラス板中のラム波およびゲル中の弾性波を可視化した.

2. ガラス及びゲル中の超音波の可視化法

2-1 ストロボ鋭敏色可視化法

本可視化法は, 超音波応力による複屈折現象である光弾性効果を利用する手法であり, 図1に示すストロボ光弾性可視化装置に鋭敏色板を組み合わせる. 白色ストロボ光源は音波励起と同期しており, 任意の時間の静止画及びスローモーションでの動画撮影も可能である.

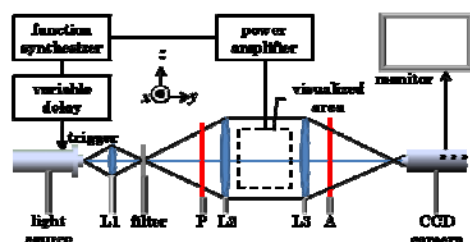


Fig.1. Experimental setup for the visualization system of the stroboscopic photoelastic technique.

2-2 可視化領域の詳細

図1の破線部は可視化領域である. 図2でのラム波の可視化には光学ガラスBK7を用い, 約435 kHzの連続的な電場を印加した. 図3でのゲル中の可視化には0.5wt%のアガロースゲルを用いて, 約430Hzの弾性波を伝搬させた.



Fig.2. Orientation in a sensitive tint optical system, and the glass plate specimen.

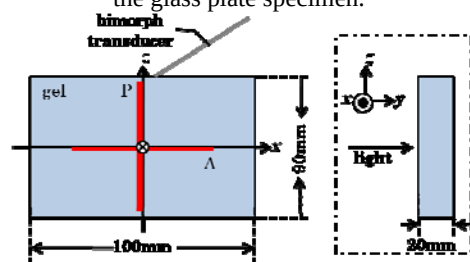


Fig.3. Orientation in a sensitive tint optical system, and the agarose gel specimen.

3. 実験結果

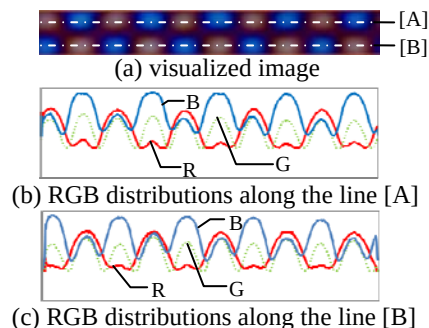


Fig.4. Visualized resonant Lamb wave pattern of A1 mode by sensitive method.



Fig.5. Visualized elastic wave pattern by sensitive method.

4. 考察

図4(a)の可視化像では, 赤と青の明るい箇所の繰り返しが観察できる. 図4(b)及び(c)は可視化画像のライン[A]及び[B]のRGB分布であり, これらの比較によりRとBが逆位相で変化していることが分かる. また, 偏光板はラム波の伝搬方向(x)に対して45°傾いているため, 画像は伝搬方向に対して垂直な方向の応力を見ていることになる. 図5のゲル中を伝搬する弾性波の可視化像では, 表面波と横波を可視化出来ている. 画像から得られる波長から位相速度を求めることにより, ずり弾性率も見積もることができる.

5. 結言

光弾性法に鋭敏色板を挿入することにより, ラム波及びゲル中弾性波の応力の正負の符号を含めた可視化に成功した. 画像解析の結果からも応力の符号の判断が可能なことを示唆している.

文 献

- 1) H. U. Li and K. Negishi, "Visualization of Lamb mode patterns in a glass plate," *Ultrasonics*, 32(4), 243-247, 1993.
- 2) K. Izuno and K. Yamamoto, "Sensitive tint visualization of resonance patterns in glass," *Proceeding. of Symposium on Ultrasonic Electronics*, 31, 449-450, 2010.

サブトラクション放射光 CT による骨欠損修復早期の骨再生及び血管新生定量イメージング

○後藤大智, 松本健志, 内藤尚, 田中正夫

大阪大学 大学院基礎工学研究科 [〒560-8531 豊中市待兼山町 1-3]

1. 緒言

生体組織の損傷時に生じる血管新生は、損傷治癒の過程に必要な栄養や酸素、生理活性物質の運搬といった重要な役割を持つ。骨欠損や骨折の修復過程においても同様に血管新生が生じるが、骨再生と血管新生との関連の詳細は未だ明らかにされていない。骨再生における血管新生の役割を調べることは骨欠損や骨折の治療に役立つ知見を与える。

我々は、異なるエネルギーレベルの放射光を用いて、再生骨及び新生血管の高分解能 CT イメージングを可能とした。ここでは得られた画像から正確に血管像と再生骨像を分離する手法の提案と骨欠損の修復過程の評価を行う。

2. 実験方法

試料には Wister ラット(オス)の右後肢脛骨を用いた。13 週齢のラット全ての脛骨に直径 0.9mm の骨欠損を作製し、術後 5(6)日(n=8), 10 日(n=10)まで飼育した 2 群を対象とした。脛骨摘出直前に腹部大動脈より、ジルコニア造影剤を注入し欠損部にこれを充填した。その後、高輝度放射光施設 SPring-8 にて 17.9keV と 18.1keV の各 X 線強度で CT 計測を行った。18.1keV では、ジルコニアの k-吸収端直上のエネルギーであるため、その CT 画像では骨内の血管形態がより抽出される。

CT 計測により得られた画像は、画像輝度のレンジ調整をした後、画像解析を行った。異なる X 線エネルギーで撮像した画像を位置合わせ¹⁾し、各位置における輝度値の差分を取ることで血管部を抽出し、次いで骨部を抽出した(図 1)。骨欠損部の中央付近 400×400×100 ピクセルの画像について骨及び血管の体積分率を Marching Cubes 法²⁾で算出し、また、骨ミネラル密度分布、骨幅及び血管径、骨辺数、骨間距離、骨の結合数、血管数、血管分岐数を算出した。各指標は骨幅、血管径、骨間距離を除きサンプル体積で除すことにより標準化した。また、データの有意差検定にはパラメトリック両側検定(**: p < 0.01, *: p < 0.05)を用いた。

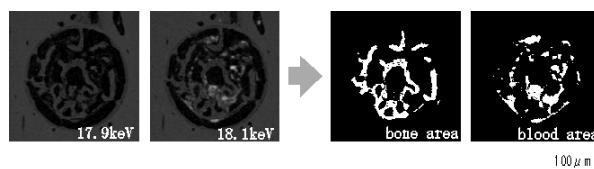


Fig. 1 Newly-formed bone and blood vessels segmented in bone defect.

3. 結果

骨欠損作製から 5(6), 10 日後の骨欠損部における再生骨の体積分率は 4.0 ± 3.7 から 29.3 ± 5.2 に有意に増加(**)し、新生血管の体積分率は 5.1 ± 4.1 から 13.1 ± 8.4 に有意に増加(*)した。骨幅及び血管径、骨辺数、骨の結合数、血管数、血管分岐数もこれに伴って増加し、骨間距離は低下した。また骨ミネラル密度の平均値は 0.74 ± 0.03 から 1.00 ± 0.04 に有意に増加(**)した。

4. 考察

骨欠損部の再生骨と新生血管について定量的な解析を行った。血管は脈管状に成長し、それに伴い再生骨はたがいに結合しながら再生することが確認できた。また本手法により再生骨の形態と新生血管の形態を同時に取得することが可能となり、従来の造影法では取得が困難な微細な血管と再生骨の空間的関連性が評価可能となった。

5. 結言

本研究ではジルコニア造影剤を用いた再生骨と新生血管の同時イメージング手法を提案し、骨欠損修復時の評価を行った。今後、再生骨の形態と新生血管の形態の関係を詳細に評価するために、本手法の特徴を活かした評価指標を検討、導入する予定である。

文 献

- 1) Maes, F., et al. : Multimodality Image Registration by Maximization of Mutual Information, *IEEE Trans Med Imag*, **16**, 163-169, 1997.
- 2) Lorensen, W.E. and Cline, H.E. : Marching Cubes : a high resolution 3D surface construction algorithm. *Computer Graphics*, **21**, 163-169, 1987.

能動的超音波ドップラー法による頸動脈血流中の栓子と気泡の識別方法の開発

○河合翔平*, 郡慎平**, 田地川勉***, 大場謙吉***

*関西大学大学院 理工学研究科 [〒564-8680 大阪府吹田市山手町 3-3-35]

藍野大学 医療保健学部 臨床工学科, *関西大学 システム理工学部 機械工学科

1. 緒言

塞栓症の診断に使われている超音波ドップラー血流装置によって得られる反射信号には、栓子の他に人体に無害な微小気泡によるものも含まれている。これら二つの信号には明確な違いがないため、現在その識別は医師の経験と勘に頼っており、両者の精度良い識別が望まれている。そこで血流への超音波照射によって生じる栓子と気泡の音軸方向移動速度の違いを測定することで、両者の識別を行う能動的超音波ドップラー法を開発し、頸動脈に本手法による識別が可能かどうかを生体外模擬実験によって調べた。

2. 実験装置

図1に実験装置の概略図を示す。テストセクション内を流れる気泡、または模擬栓子に対して超音波を照射して、超音波が照射された粒子の挙動を撮影した。テストセクションには、透明アクリル製で内径 10mm の円管を用い、超音波が通過する区間を肉厚が約 0.1mm のシリコンチューブにした。

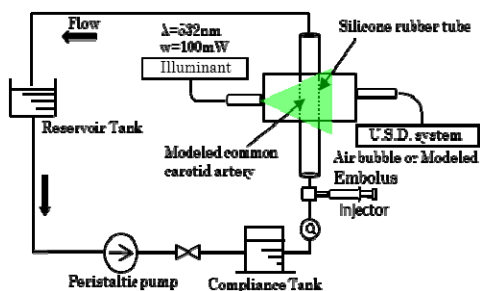


Fig. 1 Schematic diagram of experimental apparatus.

3. 実験結果

3-1. 超音波出力強度が粒子挙動に与える影響

図2に静止流体中で上昇する気泡に発振周波数 2 MHz の超音波を照射し、更に出力強度を変化させることで観察された気泡挙動を示す。また、図3に超音波の出力強度と気泡の音軸方向移動速度の関係を示す。これらより出力強度が増加するにつれて気泡の音軸方向移動速度が増加することが確認できた。また、作動流体が塩化カルシウム水溶液に比べて、水の方が音軸方向移動速度が大きくなった。これは水の粘度が塩化カルシウムの粘度より小さいため、気泡に働く抵抗力が減少したためであると考えられる。

3-2. 気泡直径の音軸方向速度と音響放射の関係

図4に管内平均流速 50mm/s の作動流体を上昇する気泡の直径と音軸方向移動速度及び音響放射力の関係を示す。このとき、超音波の発振周波数 2MHz、出力強度 200mW/cm²である。この図より気泡直径が大きくなるにつれて、気泡の音軸方向移動速度は増加し 700μm でピーク値を示した。一方で、気泡に働く音響放射力は気泡直径が 700μm 以降も上昇した。これより、気泡に働く音響放射力と音軸方向移動速度の最大値は異なることがわかった。

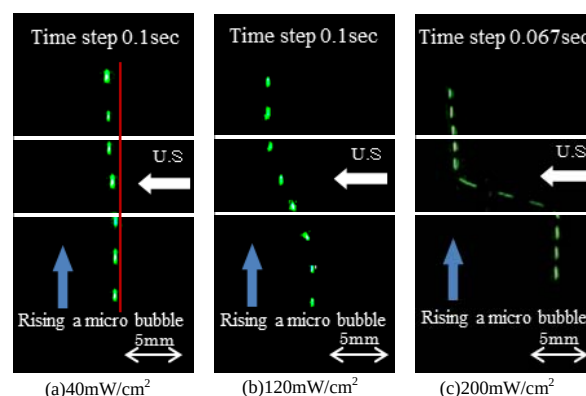


Fig.2 Stroboscopic image showing motions of micro bubbles induced by irradiation of ultrasound.

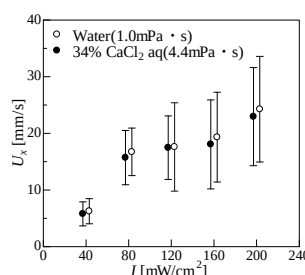


Fig.3 Relationship between sound axial velocity and power intensity.

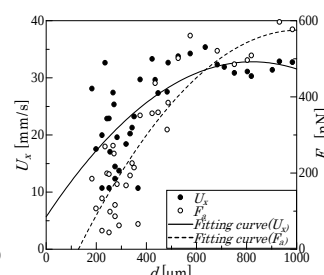


Fig.4 Relationship between bubble diameters, sound axial velocity and radiation force ($V=50\text{mm/s}$).

4. 結言

- (1)超音波出力強度が増加するにつれて、音軸方向移動速度は増加した。
- (2)管内平均流速 50mm/s の状況下では気泡に作用する音響放射力がピーク値に達さずとも、音軸方向移動速度はピーク値を示した。

PZT セラミックスの非線形圧電性を用いた横波位相共役波の発生

○青柳将史*, 大野正弘**, 山本健*

*関西大学大学院 理工学研究科 [〒564-8680 大阪府吹田市山手町 3-3-35]

**千葉工業大学

1. 緒言

ある複素振幅の波が存在するとき、位相の空間情報が反転した波を位相共役波という。位相共役という概念は1970年代において形成されて以来、多くの実験手法が確立されてきた。音波の位相共役波に関しても、いくつかの実験手法や発生材料に関する研究がなされている¹⁻³⁾。位相共役波の発生効率、直流電場を印加した際の音速変化率に大きく依存する⁴⁾。そこで、横波音速変化率の大きなPZTセラミックスを発生材料として採用し、非線形圧電性を用いた超音波の横波位相共役波の発生に成功したので報告する。

2. 位相共役波発生系

PZT セラミックスを用いて横波位相共役波を発生させるための実験系を図1に示す。位相共役波を発生させる材料であるPZTセラミックスに電場を印加するための電極の大きさは 160mm^2 である。横波用超音波トランスデューサから出射した周波数5MHzのトーンバースト波を、ガラス中x方向に伝搬させ、PZTセラミックス中に入射する。横波の偏波方向はy方向である。長さ30mm(x)のガラスは、発生する位相共役波と多重反射成分を時間的に分解するために使用した。相互作用長20mm(x)のPZTセラミックスに周波数10MHzの交流電場を印加する。ここで、PZTセラミックスの非線形圧電性を介した周波数5MHzの音波とその倍の周波数である10MHzの電場のパラメトリックな相互作用により位相共役波が発生する。

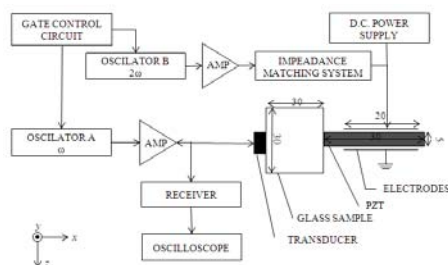


Fig. 1 Generation system of transverse phase conjugate waves using PZT ceramics.

3. 実験結果

横波超音波励起とほぼ同時に倍の周波数の電場を印加し、オシロスコープで計測した波形が図2である。

左から順に超音波励起時の漏れ電場、ガラス及びPZTセラミックス端面からのエコー列(↓)の他に、PZTセラミックス端面からのエコーより前に、位相共役波が受信されている(○)。

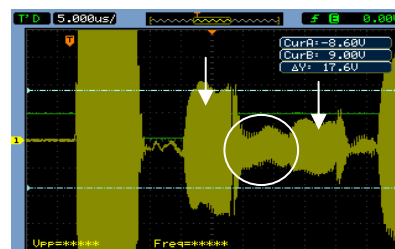


Fig. 2 Received signal when the electric field at 10MHz applied.

4. 考察

図2における(○)の波形が位相共役波と考えられる点を5点挙げる。1. ガラス端面からのエコーより後、PZTセラミックス端面からのエコーより前に信号が現れる。2. 倍の周波数の電場を印加した場合のみ、(○)の波形が検出できる。3. (○)の波形の周波数は5MHzである。4. 印加した電場振幅に比例して信号振幅も変化する。5. 電場のパルス幅に比例して、信号の振幅も変化する。

5. 結論

横波音速変化率の大きなPZTセラミックスを発生材料として採用し、今回PZTセラミックスの非線形圧電性を用いて、超音波の横波位相共役波の発生に成功した。

文 献

- 1) M. Ohno, "Generation of acoustic phase conjugate wave using nonlinear electroacoustic interaction LiNbO₃," *Apply. Phys. Lett.*, 54 1979-80, May 1989.
- 2) K. Yamamoto, et al., "Acoustic phase conjugation by nonlinear piezoelectricity II. Visualization and application to imaging system," *J Acoust. Soc. Am.*, vol. 106 no. 3, pp.1339-1345, June 1999.
- 3) M. Ohno, et al., "Reflection-type ultrasonic phase conjugate imaging system with a waveguide," *Jpn. J. Apply. Phys.*, 44, 4421-4426, June 2005.
- 4) 青柳将史, 他, "音波伝搬モードと位相共役波発生効率," 電子情報通信学会技術研究報告, 11-12, April 2010.

天然多糖キチンの溶液内挙動

○南昇吾, 古池哲也, 田村裕

関西大学 化学生命工学部 化学・物質工学科 [〒564-8680 大阪府吹田市山手町 3-3-35]

1. 緒言

キチンは、分子間の強固な水素結合に起因する非常に硬い結晶構造を有するため、一般的な溶媒に溶解しないが、本研究室では、近年、飽和 $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH}$ 溶液がキチンを極めて良好に溶解することを報告した。また、この溶媒系を用いてキチン溶液を調整したところ、 β -キチン溶液は α -キチン溶液に比べて高い粘度を有することが確認された。そこで、キチンの良溶媒として知られている LiCl-DMAc 溶液においても粘度式を決定し、溶液中での分子形態、分子量を検討した。

2. 実験方法

スルメイカ由来 β -キチン (DAC 37) を 50%NaOH 溶液中 110°C で 4~48 時間攪拌し、部分的に脱アセチル化後、ゲル浸透クロマトグラフィー (GPC) を用いて分子量の測定を行った。その後、時間別 7 種類の脱アセチル化キチンを無水酢酸で再び N-アセチル化¹⁾し、分子量既知の再生キチンとして 0.0125%~0.200% の濃度になるように 5% LiCl-DMAc 溶液に溶解させた。得られた溶液を 25°C で粘度測定を行い、固有粘度 η を求めた。これを利用し、次に示す Mark-Houwink-sakurada 式を用いて $\log \eta$ と $\log M$ の関係をプロットし、得られた直線の傾きから α を、切片から K を求めた。

$$[\eta] = K \cdot M^\alpha$$

$[\eta]$: 固有粘度 M : 分子量 K, α : 定数

3. 実験結果

今回用いたスルメイカ由来 β -キチンの $\log \eta$ と $\log M$ の関係を図 1 に示す。直線の傾きから $\alpha = 1.63$ 、切片から $K = 9.76 \times 10^{-9}$ を得た。この得られた α の値から LiCl-DMAc 溶液内中でのキチンの分子形態が棒状高分子であることを特定した。

Table 1 Equation of viscosity for β -chitin/ LiCl-DMAc and sat. $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH}$

	k	A
(i) LiCl-DMAc	9.76×10^{-9}	1.63
(ii) sat. $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH}$	3.35×10^{-9}	1.78

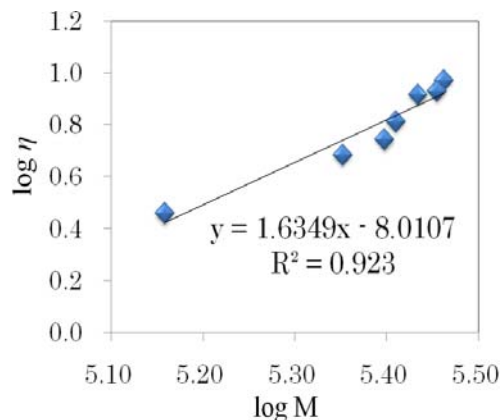


Fig. 1 The relationship between molecular weight and intrinsic viscosity of β -chitin in LiCl-DMAc .

4. 考察

以前に報告した飽和 $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH}$ 溶液の粘度式と今回の粘度式を表 1 に示す。両溶媒を比較すると K、 α にあまり大きな違いは見られなかった。この点から、溶液の違いは α -キチンと β -キチンの粘度の違いに影響を与えない事がわかった。また β -キチンが棒状高分子のため溶媒に接する面積が大きいので粘性が高くなると考えられる。

5. 結言

この研究で溶液の違いはキチン溶液の粘度に大きな影響を与えないことを立証できたが、 α 、 β -キチン溶液の粘度の根本的な原因追究とはならなかった。今後、 α -キチン、由来の異なる β -キチンの粘度式を決定することで、キチンの溶液内挙動が解き明かされることを期待したい。

謝 辞

本研究の一部は「文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業（平成 22 年度~平成 26 年度）」によって行った。

文 献

- 1) Kurita, K., Ishii, S., Tomita, K., Nishimura, S., Shimoda, K., *Polymer Chemistry*. **1994**, 32, 1027.

12 - ヒドロキシステアリン酸ゲル中の 自己凝集構造による誘電緩和

○腰越俊章, 吉場一真, 武野宏之

群馬大学大学院 工学研究科 [〒376-8515 群馬県桐生市天神町 1-5-1]

1. 緒言

12 - ヒドロキシステアリン酸 (以下 12 - HSA と略す) は, 数%の添加により油脂や有機溶媒をゲル化させる低分子ゲル化剤である. 12 - HSA が形成するオルガノゲルは熱可逆的物理ゲルとなる. ゲル化の過程では, まず溶液中に分散した低分子ゲル化剤が分子間相互作用によって凝集し, 結晶性ファイバーを形成する. そしてファイバーによって 3 次元的なネットワーク構造が形成されゲル化すると考えられている¹⁾. 12 - HSA ドデカンゲルは動的粘弾性測定で緩和過程が観測されておらず, 半永続的な架橋点を持った strong gel に分類される^{1,2)}. 本研究では, 12 - HSA 及びドデカンゲルで誘電緩和測定を行い, 両測定で得られた誘電特性の比較によりゲル中のダイナミクスを考察する.

2. 実験方法

12 - HSA (Aldrich 社 純度 99 %) と 12 - HSA のドデカンゲル (2.00 wt %) に対して誘電緩和測定を行った. 293 K ~ 373 K の温度領域において, 超低周波測定を Solartron 1253 により 10 mHz から 1 kHz の周波数範囲, 及びインピーダンス測定を Hewlett Packard 4284A LCR meter により 20 Hz ~ 1 MHz の周波数範囲で測定を行った.

3. 実験結果と考察

試料に用いた 12 - HSA の結晶の融点は, DSC 測定から $T_m = 353.9$ K と求められた. 12 - HSA の誘電緩和曲線を図 1 に示す. 12 - HSA の結晶状態では 293 K から 343 K の温度領域で温度の上昇とともに ϵ' が増加した. 結晶状態では, 測定周波数領域で 1 ~ 10 Hz 付近に ϵ'' に少なくとも 1 つの極大を持ち, 高周波側はショルダーピークとなった. これらは 12 - HSA の結晶構造内の OH 基等の協同的回転によるモードと考えられる. 343 K では, 低周波側にもう 1 つの極大の存在が観測された. 液体状態の 363 K と 373 K では ϵ' は一定となり周波数依存性は見られなかった.

2.00 wt % 12 - HSA ドデカンゲルの誘電緩和の測定結果を図 2 に示す. 誘電測定を行ったゲル状態の全てのデータで ϵ'' の極大が観測された. 293 K ではこのピーク周波数は 1 Hz 付近であったが, 333 K で 10

Hz までシフトした. ϵ'' の高周波側のショルダーピークは温度増加とともにわずかに高周波側へシフトした. ゼル状態では, 緩和過程は観測されず ϵ' は一定となり, 誘電率はドデカンの値に近くなった. 12 - HSA の結晶とドデカンゲルの誘電緩和データの温度依存性が類似することから, ゲル中で観測された誘電モードがゲルネットワーク中の絡み合いと無関係であると考えられる.

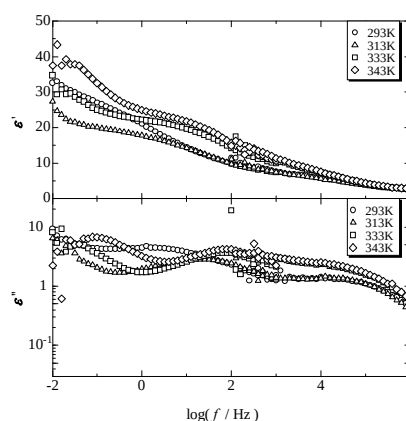


Fig. 1 Dielectric relaxation curves of 12 - HSA

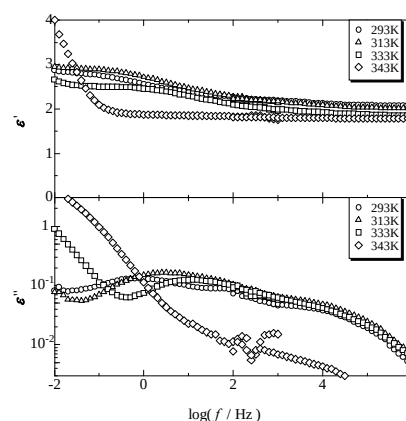


Fig. 2 Dielectric relaxation curves of 12 - HSA / dodecane gel (2.00 wt% of 12 - HSA)

文 献

- 1) Terech, P. and Weiss, R.: Chem. Rev. ,**97**,3133 - 3159,1997.
- 2) Terech, P., Pasquier, D., Bordas, V. and Rossat, C.: Langmuir ,**16**,4485 - 4494,2000.

融解過程における水和したプルランオリゴマーの分子運動

○曾我恒太, 吉場一真

群馬大学大学院 工学研究科 [〒376-8515 群馬県桐生市天神町 1-5-1]

1. 緒言

プルランはマルトトリオースが α -1,6 グリコシド結合により結合した鎖状の水溶性多糖である。この多糖は中性の多糖であり、増粘剤や可食性フィルム、カプセルなどに応用されている。プルランは水中においてランダムコイル形態で溶解し、糖鎖と水との相互作用を研究する上で重要な物質と位置づけられる。誘電分散は、水溶液中の分子運動を広い周波数範囲で検出することのできる有力な方法である。本研究では、プルランオリゴマーであるマルトトリオースの水溶液を実験に用いた。得られた誘電分散曲線を解析し、各分散モードの緩和時間、緩和強度の温度依存性から水和した糖鎖および水の分子運動を議論する。

2. 実験方法

マルトトリオース（林原商事）をイオン交換水に溶かし、60.0 wt%の水溶液を調製した。Hewlett Packard 4284A LCR meter によるインピーダンス測定、および HP8753A による複素反射係数の測定により、100 Hz～1 GHz でのマルトトリオース水溶液の複素誘電率 ($\epsilon^* = \epsilon' - i\epsilon''$) を決定した。測定を 200 K～300 K の温度範囲で行った。

3. 実験結果と考察

誘電分散測定により得られた 60.0 wt%マルトトリオース水溶液の複素誘電率を Cole-Cole の式の重ね合わせにより解析した。得られた誘電緩和時間のアレニウスプロットを図 1 に示す。図中の T_m および T_g は DSC 測定により決定されている。

T_g 以下で観測された 2 つの誘電モードのうち、 l_1 モードはその緩和強度が T_m 以上では観測されず、溶液の水の分率から計算される氷の誘電率が文献値に近い。また決定された緩和時間が $\times$ で示した氷と同じ温度依存性¹⁾ことから、 l_1 の分散モードは氷中のプロトン配向によると考えられる。

h_2 の緩和強度は、 T_g 付近では 13 程度であったが、高温になるにつれ増加し、 T_m 付近で 60 程度まで増加した。また、図 1 の緩和時間をみると T_g から T_m にかけて急激に変化し、 T_m では 180 ps となる。その温度依存性は $+$ で示した水の文献値²⁾に近くなる。

図 1 中の高温側で観測される l_2 モードは、緩和時間が T_m 以上では単調な温度依存性をもつことに対し、 T_m 以下では T_m から T_g にかけて、緩和時間が上昇し、 T_g 付近では l_2 が観測されず測定範囲を超えている。このモードは T_g で緩和時間が 100 s 程度に達し、凍結すると思われる。一方で、 l_2 の緩和強度は T_m 以上の温度ではほぼ一定であったが、 T_m 以下では著しく増加する。この増加は氷の析出に伴い溶液が濃縮され、水和したマルトトリオース分子間の相互作用が増加するためであると考えられる。これらの誘電的に観測された水溶液中の分子運動についての知見は、DSC 測定で作成された状態図から考察される相分離プロセスと矛盾しない。

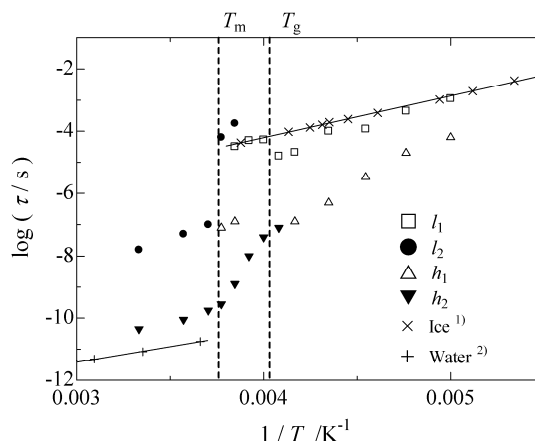


Fig. 1 Temperature dependence of the relaxation times of 60.0wt% aqueous maltotriose solution.

文 献

- 1) G. P. Johari, E. Whalley. J. Chem. Phys. **75**(3), 1337, 1981.
- 2) Kaatz, U., J. Chem. Eng. **34**, 371, 1989.

高分子ゲル中の水/DMSO 混合溶媒の誘電分光と核磁気共鳴によるダイナミクスの観測

○斉藤宏伸*, 加藤隼平*, 喜多理王*, 新屋敷直木*, 八木原晋*, 福崎稔**

*東海大学 理学研究科 [〒259-1292 神奈川県平塚市北金目 4 丁目 1 番 1 号]

**東海大学 情報通信学部 教養教育センター

1. 緒言

高分子ゲルは日常的にあらゆる場所で幅広く用いられている。例えば食品である寒天やコンニャク、ゼリー、さらに工業的な面では乾燥剤や衝撃吸収材などがある。高分子ゲルの一つの特徴として、ゲルがおかれた物理・化学的環境に応じてその体積が収縮、膨張することが知られている¹⁾。ポリ(アクリルアミド) (PAAm) ゲルは水/アセトン、水/ジオキサン混合溶液に浸すことで急激な体積変化を呈する²⁾。本研究ではアセトンと化学構造が類似しているジメチルスルホキシド(DMSO)と水混合溶媒を用いることでPAAmゲルに体積変化を起し、ゲル内部とバルクな状態とで溶媒分子のダイナミクスがどのような違いを呈するのか調べた。これにより高分子ゲル内部の三次元網目構造に取り込まれた溶媒分子のダイナミクスの変化を観測することを目的とする。

2. 実験方法

PAAm 水溶液から同じ体積になるように重合・調製した PAAm ゲルを組成比の異なる水/DMSO 混合溶媒に浸していくことでその体積変化を測定した。加えて体積の異なるゲル中の水/DMSO 混合溶媒の分子ダイナミクスを誘電分光の一手法である TDR 法(100MHz ~20GHz)と磁場勾配核磁気共鳴法を用いて観測した。

3. 結果・考察

ゲル調製時の初期体積と組成比の異なる水/DMSO 混合溶媒に PAAm ゲルを浸し体積変化させた時の体積との比を図 1 に示す。水/DMSO 混合溶媒中における PAAm ゲルは溶媒が純水の系から DMSO 濃度が増加するに従って、一度収縮してから膨張していく挙動をとることが分かる。ゲルの収縮に伴って三次元網目構造が凝縮されると、含まれる溶媒分子のダイナミクスは制限を受けると考えられる。逆に膨張する過程では溶媒分子のダイナミクスへのゲルの網目構造による制限は小さくなると考察される。誘電分光法を用いることで溶媒分子の回転拡散運動について、また磁場勾配核磁気共鳴法によって並進拡散運動について観測し、得られた緩和時間や拡散係数の結果を議論することができる。誘電分光から得られたゲル中の溶媒分子の回

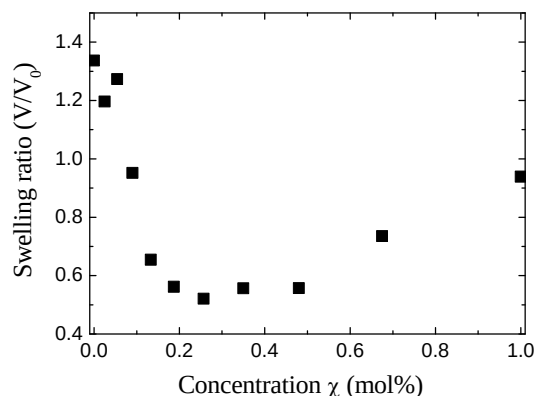


Fig. 1 Mole fraction of DMSO (χ) dependence of swelling ratio V/V_0 for PAAm gels.

転拡散運動の緩和時間と、バルクな溶媒中における緩和時間を比較すると、網目に束縛される溶媒分子のダイナミクスを反映した結果が得られた。ゲルの収縮過程が混合溶媒の組成比によって支配される一方で、ゲルの三次元網目構造内部で束縛されていく溶媒分子のダイナミクスとの対応が明らかになってきた。溶媒分子の液体構造からその分子機構について議論していく。

4. 結言

組成比の異なった水/DMSO 混合溶媒における PAAm ゲルの体積変化に伴うゲル内部の溶媒分子のダイナミクスを、誘電分光法と核磁気共鳴法によって観測・解析した。発表ではさらにバルクな溶媒との違いからゲルの三次元網目構造が溶媒分子のダイナミクスに寄与する分子機構の議論を付け加える。

文 献

- 1) Y. Hirokawa et al., J. Chem. Phys. **81**, 6379-6380 (1984).
- 2) H. Miki et al., Prog. Colloid. Polym. sci. **136**, 101-106 (2009).

模擬中咽頭としてコラプシブルチューブを用いた いびきの発生機序に関する生体外実験

○大塚富裕*, 田地川勉**, 板東潔**, 大場謙吉**

*関西大学大学院 理工学研究科 システムデザイン専攻 [〒564-8680 大阪府吹田市山手町 3-3-35]

**関西大学 システム理工学部 機械工学科

1. 緒言

近年、睡眠時無呼吸症候群（Obstructive Sleep Apnea Syndrome: OSAS）に起因する居眠り事故の多発がきっかけとなり、日本でも睡眠障害の関心が高まっている。これまでに、OSASの発生原因と成り得るいびき音の音響解析に関しては多く報告されているが、いびきの発生メカニズムを理解するためには力学的な考察も必要である。

そこで本研究では、OSASと深く関連するいびきの発生メカニズムを理解するため、OSASの主な原因である舌根の沈下に着目したモデルを作製し、これを使った生体外模擬実験を行うことで、気道閉塞と気流により発生する音の特性を調べた。

2. 実験方法

図1に実験装置の概略図を示す。実験方法としてヒトの呼気と吸気を模擬するために、エアポンプの吹き出し側に流路を繋げることで呼気を、吸い込み側に流路を繋げることで吸気を再現した。3方向弁を切り替えることによって流れ方向を制御し、テストセクション内を通過する流量の調節にはニードルバルブとローターメーターを用いた。コラプシブルチューブは密閉容器内で両端を剛円管に接続され、コンプレッサーからの空気圧によりコラプシブルチューブ外壁に一定の外圧 p_e が印加されることで座屈し流路を閉塞させ、その流路内にエアポンプを用い定常流を流すことでコラプシブルチューブを自励振動させた。そのときに発生した音圧 p_s を大気解放端から20mmの位置に設置したマイクロフォンで、肺側の気道圧 p_1 と大気解放側の気道圧 p_2 は剛管接続部より50mmの位置で圧力トランスデューサーを用いて測定した。

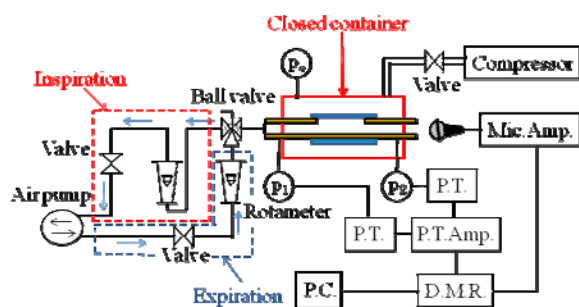
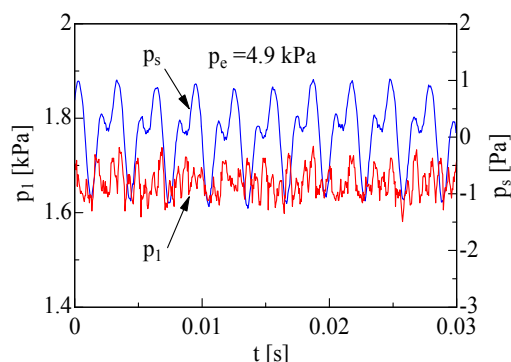


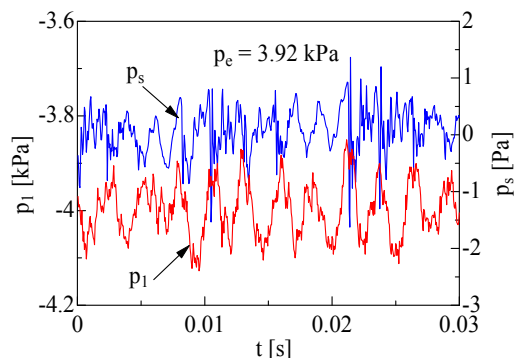
Fig. 1 Experimental apparatus.

3. 実験結果および考察

図2に p_s と p_1 の時間変動波形を示す。図2より、呼気に相当（チューブ内圧が大気圧に対し陽圧）の場合は、1周期間に2つのピークを持つ特徴的な音圧波形を示すのに対し、吸気に相当（チューブ内圧が大気圧に対し陰圧）の場合は、三角波状の周期変動に高周波数の変動成分が重なった様な音圧波形になることがわかった。これは、模擬呼気時（チューブ内腔圧が陽圧）と模擬吸気時（チューブ内腔圧が陰圧）では、チューブ上下流端での圧力境界条件の違いが、チューブの自励振動音の発生メカニズムに影響を与えたと考えられる。



(a) Positive pressure in the tube corresponding to expiration.



(b) Negative pressure in the tube corresponding to inspiration.

Fig. 2 p_1 and p_s waveforms ($Q = 15 \text{ L/min}$)

4. 結言

呼気時と吸気時において舌根の沈下を模擬した咽頭モデルにより発生した模擬いびき音を比較した結果、模擬呼気時（チューブ内腔圧が陽圧）のいびき音は、規則的な音圧波形をとるのに対して、模擬吸気時（チューブ内腔圧が陰圧）の場合は不規則な音圧波形をとることがわかった。

ヒト声帯弾性膜モデルを用いた異常時の発声メカニズムに関する実験的研究 — 声門閉鎖不全かつ声帯状態不均衡の発生音と声帯の振動挙動 —

○安積晃*, 藤野裕太郎*, 田地川勉**, 板東潔**, 大場謙吉**

*関西大学大学院 理工学研究科 [〒564-8680 大阪府吹田市山手町 3-3-35]

**関西大学 システム理工学部 機械工学科

1. 緒言

喉頭疾患を患うと、左右の声帯の緊張が不均等になったり、声門が閉じなかったりすることで、発声障害をきたす。発声障害の治療には喉頭疾患の早期発見が重要であり、臨床での患者への負担の軽減を考えると、簡便な診断システムの開発が望まれている。そこで本研究ではヒト声帯を模擬した弾性膜モデルを用いて生体外模擬実験を行い、発声メカニズムの解明を目指す。最も多い病状である声門閉鎖不全かつ声帯状態不均衡を模擬するため、それぞれの声帯モデルに異なる引張応力をかけ、初期声門開口面積を持つように取り付け、ヒト声帯モデルを用いて、各パラメータが音圧波形および声帯の振動挙動に与える影響を調べた。

2. 実験方法

声帯モデルとなるシリコンゴムシートは、初期膜厚 h を 3 mm とし、ヤング率が 18.6 kPa になるように調節した。図 1 に実験装置概略図、図 2 に声門モデル概略図を示す。アクリル材に開けられた内径 18.0 mm の円形流路出口に、2 枚の声帯モデルをアクリル板で固定した。一対の声帯モデルは y 方向にそれぞれ引張応力 σ_1 [kPa], σ_2 [kPa] をあらかじめ印加し、初期開口面積 A_0 [mm²] を持たせた。 σ_1 を印加した声帯モデルを M_1 , σ_2 を印加したモデルを M_2 とした。実際の発声時の呼気流量を参考にし、流量 184 ml/s で気流を声門モデルに送ることで、声帯モデルを自励振動させ、音を発生させた。発生した音の音圧 p [Pa] をマイクロフォンで、声帯モデル上流側の圧力(声門下圧) p_{sg} [kPa] を圧力トランスデューサで測定した。同時にハイスピードビデオカメラを用いて声帯モデルの振動挙動を撮影し、声門開口面積 A [mm²] を算出した。実験条件は表 1 に示す。

3. 実験結果

図 3 に声門閉鎖不全と声帯状態不均衡の両方を模擬した実験で観察された各声帯モデルの最大開口時の画像を、図 4 に音圧、声門下圧、開口面積の時間変動波形を示す。表 1 に各実験条件で得られた発生音の基本周波数 f_0 [Hz], 基本周波数での音圧レベル SPL [dB] を示す。2 枚の声帯モデルの振動は位相が約 108 度異なるため、開口面積の変動波形は 2 回極大値を持ち、引張

応力が低いモデルの方が開口面積の変動は大きかった。閉鎖不全と不均衡を併発すると生じる音の基本周波数、基本周波数での音圧レベルは正常時、不均衡時、閉鎖不全時を模擬した時よりも低くなった。基本周波数は両方の引張応力を 1.9 kPa とした時の基本周波数に近くなり、引張応力の低い声帯モデルの振動挙動の方が影響は大きいと考えられる。

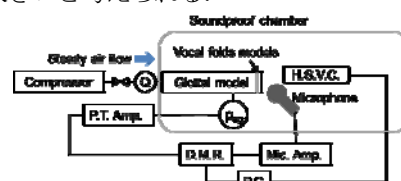


Fig. 1 Schematic diagram of experimental apparatus.

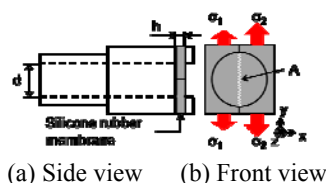


Fig. 2 Schematic diagram of glottal model.

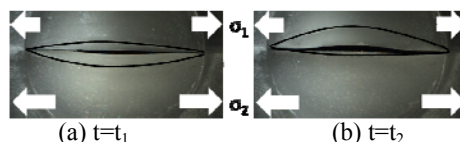


Fig. 3 Unsymmetrical deformation of each membranes at maximum amplitude.

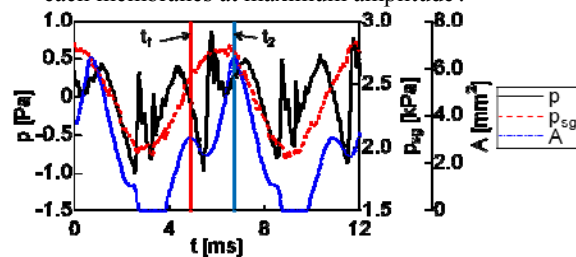


Fig. 4 Waveform of p , p_{sg} and A in Insf & Imbl.

Table 1 Frequency analysis results of sound pressure.

	σ_1 [kPa]	σ_2 [kPa]	A [mm ²]	f_0 [Hz]	SPL [dB]
normal (low tension)	1.9	1.9	0.0	170	93.7
normal (high tension)	9.3	9.3	0.0	244	82.3
imbalance	1.9	9.3	0.0	242	82.1
insufficiency (low tension)	1.9	1.9	4.3	169	80.3
insufficiency (high tension)	9.3	9.3	4.4	244	81.8
Insf & Imbl	1.9	9.3	4.1	166	73.7

喘息の生体外模擬実験 —二層構造の細気管支モデルの外層弾性率を 変化したときの座屈挙動について—

○辻本勉*, 田地川勉**, 板東潔**, 大場謙吉**

* 関西大学大学院 理工学研究科 [〒564-8680 大阪府吹田市山手町 3-3-35]

** 関西大学 システム理工学部 機械工学科

1. 緒言

喘息において、気道の座屈による気道閉塞のメカニズムは、数値シミュレーションでのみ解析されている。そこで本研究では、粘膜下組織と基底膜から成る細気管支を模擬した二層構造の無色透明なコラプシブルチューブを製作し、衝撃波管を用いて急峻な管内外圧力差を与えることで、チューブを座屈させ喘息気道における細気管支の座屈を模擬した。ここでは、リモデリングによる硬化の影響を調べるために、チューブ外層の弾性率の変化が座屈挙動におよぼす影響を調べた。

2. 実験方法

平滑筋収縮による急峻な圧力変化を模擬するために、衝撃波管を用いた。衝撃波管では、真空ポンプで低圧部を作り、低圧部と高圧部を区切る薄膜を破ることで衝撃波を発生させた。実験では、衝撃波管の高圧部に生じる膨張波を、二層構造のコラプシブルチューブ内腔に印可させることで、急峻な管内外圧力差を生じさせて座屈させた。その様子を、 Ar^+ レーザーを光源としたシート光を水平に照射することで、チューブ断面を高輝度化し、ハイスピードビデオカメラによって撮影した。またチューブの内圧は、半導体圧力変換器で測定し、デジタルメモリーレコーダで記録した。

3. 実験結果および考察

チューブ内径 19.3mm、外径 22mm とし、内層と外層の肉厚と内層の弾性率 E_i を一定とし、外層の弾性率 E_o を変化した二層チューブに衝撃波管圧力差 $\Delta p = 60\text{kPa}$ で発生させた膨張波によってチューブを座屈させた。そのときのチューブ断面形状、および管内外圧力差とチューブ断面積の時間変化を図1に示す。グラフは、実線が管内外圧力差 $-p_r$ 、黒丸が断面積比 A/A_0 、星マークが座屈点を表している。また破線は、座屈点までの圧力上昇速度を示す。これらの結果から、外層の弾性率が大きい方が座屈点における断面積比が小さくなった。図2に、座屈点における座屈モード数と外層の弾性率の関係を示すが、外層の弾性率が大きくなると、座屈点における座屈モード数は減少した。

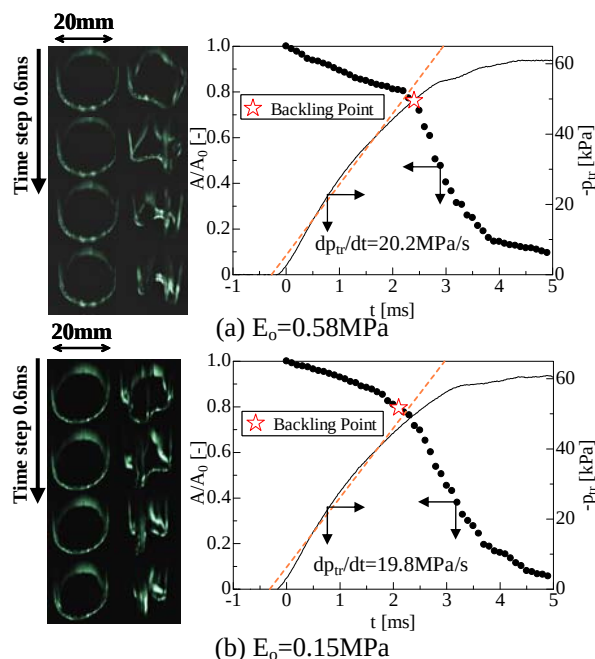


Fig. 1 (left) Visualized images of cross-sectional shape of a tube, (right) Temporal variation of cross-sectional area and transmural pressure of two-layer airway model ($E_i = 1.42\text{MPa}$, $t_i = 0.35\text{ms}$, $t_0 = 1.0\text{ms}$).

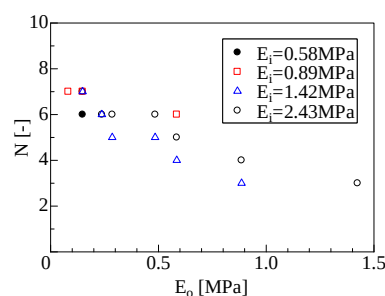


Fig. 2 Relationship between folding number and outer layer Young's modulus ($E_i = 1.42\text{MPa}$).

4. 結言

二層構造のコラプシブルチューブに急峻な管内外圧力差を印加させることで生じるチューブの座屈挙動に及ぼすチューブ外層の弾性率の影響を生体外模擬実験で調べた結果、以下のことが分かった。

- (1) 外層の弾性率が大きくなると座屈点における断面積比が小さくなる。
- (2) 座屈点における座屈モード数は、外層の弾性率が大きくなると減少した。

紅蓼由来サポニン分画の血液保存における 赤血球レオロジー機能障害に対する保護効果

○鈴木洋司*, 大久保信孝*, 寒川慶一**, 青戸守*, 満田憲昭*

*愛媛大学大学院 医学系研究科 統合生体情報学講座生理学分野

[〒791-0295 愛媛県東温市志津川 454]

**愛媛大学大学院 医学系研究科 生体機能解析学講座機能組織学分野

1. 緒言

輸血用の赤血球は保存日数が経過するに従い、赤血球内 ATP 濃度は減少し、赤血球形態は変化し、血液レオロジー特性も血液粘度の増加、赤血球変形能の低下など機能障害を認める。保存条件は低温環境ではあるが、酸素存在下では酸化ストレスの影響から免れないため赤血球膜タンパク質の酸化傷害が起こる。そこで、酸化ストレスに対して保護作用のある紅蓼由来サポニンの血液保存時における効果を検討した。

2. 実験方法

健康成人から採取した血液に CPD 保存液とサポニンまたはサポニン分画を加え 4℃にて 1 週間保存した。赤血球形態は走査電子顕微鏡法で観察した。赤血球内 ATP は化学発光法で計測した。血液レオロジー機能の内、血液粘度は円錐-平板型粘度計にて測定した。赤血球変形能は高圧レオスコープ法にて楕円板状に変形した赤血球の長径と短径を計測し、変形指数 = (長径-短径) / (長径+短径) により評価した。赤血球膜の過酸化脂質はチオバルビタール法にて、膜タンパク質のチオール基の残量はイールマン氏薬により測定した。また、生体試料についてはヘルシンキ宣言に準拠して取り扱った。

3. 実験結果

保存 1 週間後の血液において、保存前と比較すると血液粘度は増加し、赤血球変形能は低下した。赤血球形態は有棘化を認め、赤血球内 ATP は減少した。赤血球膜の過酸化脂質は増加し、膜タンパク質のチオール残基は減少した。保存時にサポニン(0.05mg/mL)を入れた血液では粘度の増加と変形能低下が抑えられ、膜タンパク質のチオール残基の減少も抑制された。一方で、赤血球形態、ATP 量、膜過酸化脂質量の変化について抑制効果は認められなかった。

サポニン中の有効な成分を同定する目的で分画成分(各 0.01mg/mL)を保存時に加えてみた所、ジンセノサイド Rg2 および Rh1 が 1 週間血液保存による膜タンパク質チオール残基の減少を抑制した (Fig. 1 参照)。

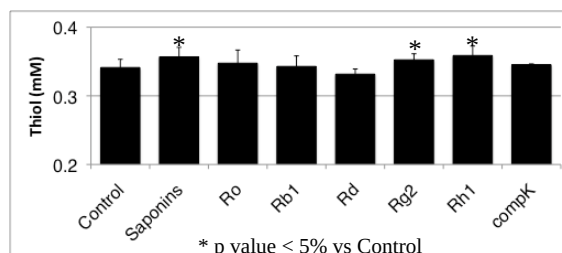


Fig. 1 Thiol contents of erythrocyte membrane proteins for 1 week stored CPD blood with ginsenosides.

4. 考察

保存による赤血球のレオロジー機能障害は赤血球膜脂質の酸化の影響よりも膜タンパク質の酸化傷害が赤血球膜粘弾性を増加させ赤血球変形能を低下させていることが示唆された。紅蓼由来のサポニン成分は膜タンパク質の酸化傷害を抑えることでレオロジー機能障害を抑制する事が明らかになった。コレステロール骨格を有した種々のサポニン分画中でアルコール基を 3 つ持つ Rg2 および Rh1 が特にその抑制効果が認められたことは酸化傷害に対する保護機構の解明する上で大きな手がかりとなると考えられる。

5. 結言

血液保存に伴う赤血球の機能障害に対し保護作用のある紅蓼由来サポニンの有効成分を同定した。保護機構解明はアンチエイジング薬を研究する上でも大きな一歩であると考えられる。

謝 辞

本研究は科学研究費補助金（課題番号 20590701）の助成を受けたものである。

マイクロチャンネルを用いたヒト赤血球の形状回復に関する時定数の測定 —脂質二重膜の硬さと内部液体の粘度が及ぼす影響—

○村西史哉*, 久保田麻紀*, 田地川勉**, 大場謙吉**

*関西大学大学院 理工学研究科 システムデザイン専攻 [〒564-8680 吹田市山手町 3-3-35]

**関西大学 システム理工学部 機械工学科

1. 緒言

赤血球の変形能を評価するため、本研究では、マイクロチャンネル(以下MC)を通過した後の赤血球が形状を回復していく様子に着目して、赤血球のひずみから形状回復に関する時定数を測定した。血液サンプルとして、基準赤血球、膜の硬化度合の異なる硬化赤血球、内部液体の粘度が異なる赤血球ゴーストの時定数の測定を行った。また、解析には、一般的な粘弾性力学モデルである Kelvin モデルを用いた。

2. 実験方法

・マイクロチャンネル(MC)…本研究で用いたPDMS製のMCの流路部分は、断面が $5\mu\text{m} \times 5\mu\text{m}$ の正方形で、長さが $100\mu\text{m}$ あり、1枚のチップに200本の流路を持つ。このチップをガラス基板に接着することにより、漏れの無い流路を形成した。

・基準赤血球…採血直後に遠心分離し、赤血球のみを取り出し、PBSで3回洗浄を行った後に、 $\text{Hct} = 1\%$ にした。これを基本血液サンプルとする。

・硬化赤血球…基本血液サンプル2mlに、0.08%, 0.16%, 0.31%, 0.50%のGA水溶液をそれぞれ $2\mu\text{l}$ ずつ加える。これらをそれぞれ硬化赤血球A~Dとする。

・実験方法…採血後に血液サンプルを作製し、MCに流して形状回復していく様子をハイスピードビデオカメラ(250fps, $1024 \times 1024\text{pixel}$, $8\text{pixel}/\mu\text{m}$)で撮影した。

・測定箇所…図1に測定箇所を示す。流路から赤血球が出た直後を $t = 0\text{msec}$ とし、4msec 間隔で、 $t = 300\text{msec}$ までの d_y を測定した。また流路内での赤血球の移動速度を u 、流路幅を w とした。

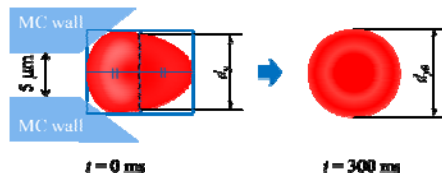


Fig. 1 Recovering process on the shape of an erythrocyte flowing out from the micro-channel.

3. 赤血球形状回復過程のモデル化

赤血球の形状回復過程を、一般的な粘弾性力学モデルである Kelvin モデル¹⁾を用いてモデル化した。流路内では、赤血球は一定の圧縮外力を受け、流路から出た直後、その外力から瞬時に解放されて形状が回復し

ていく。外力をステップ関数で表して Kelvin モデルを解くと、赤血球の圧縮ひずみは(1)式ようになる。(2)式の τ_σ は赤血球の形状回復に関する時定数である。

個々の赤血球についてこの時定数を算出し、基準赤血球、硬化赤血球をそれぞれ比較した。

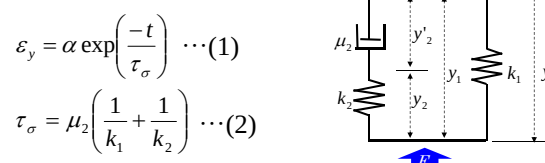


Fig. 2 Schematic diagram of Kelvin model.

4. 実験結果

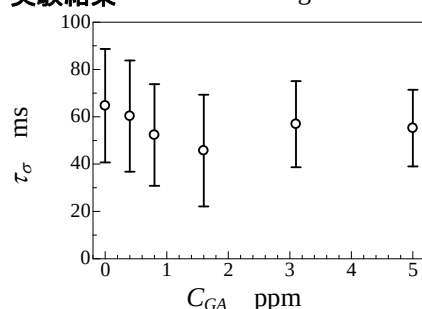


Fig. 3 Comparing healthy erythrocyte with hardened erythrocyte.

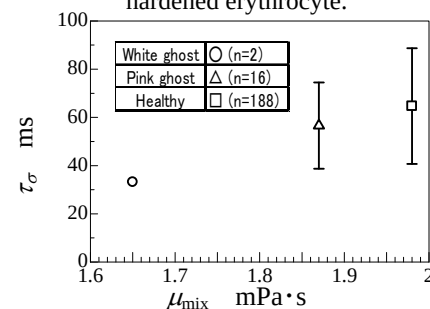


Fig. 4 Comparing healthy erythrocyte with white and pink ghosts.

5. まとめ

基準赤血球、硬化赤血球、赤血球ゴーストの時定数を比較した結果、以下のことがわかった。

- ・全ての赤血球は、Kelvin モデルで表わされるような一次遅れ系の挙動を示した。
- ・硬化赤血球、赤血球ゴーストは基準赤血球よりも時定数が短くなった。

文 献

- 1) Fung, Y. C. Biomechanics –Mechanical Properties of Living Tissues 2nd Ed.,(1993),Springer-Verlag.

単軸引張から解放されたヒト赤血球の形状回復に関する時定数の測定 —変形様式が時定数に及ぼす影響—

○新池谷崇*, 郡慎平**, 田地川勉***, 大場謙吉***

* 関西大学大学院 理工学研究科 システムデザイン専攻 [〒564-8680 大阪府吹田市山手町 3-3-35]

** 藍野大学 臨床工学科, *** 関西大学 システム理工学部 機械工学科

1. 緒言

赤血球は酸素運搬能と優れた変形能を有しており、自己の直径より細い毛細血管内を通過できる。この変形能が低下すると毛細血管を閉塞させ、血流を妨げる原因となるため、変形能の評価は重要である。本研究では、単軸引張から解放されたヒト赤血球の形状回復過程を測定し、変形能評価のため時定数を計測した。

2. 実験方法

本研究でマイクロマンipュレーターシステムを用いて、赤血球観察用の倒立顕微鏡の両肩に、コントロールロッドによる3次元操作が可能なマンipュレーターが取り付けられており、各マンipュレーターのアーム部先端には、赤血球を保持するためのマイクロピペットを取り付けた。実験では、一方のピペットで赤血球を吸引保持し、これをもう一方のピペットで吸引し、引張ることによって変形させ、引張りから解放した際の赤血球の回復の様子を33ms間隔でCCDカメラで記録した。赤血球は粘弾性体であるので、測定結果の解析に代表的な粘弾性力学モデルであるKelvinモデルを用いた。モデルにおける入力関数はステップ関数とした。

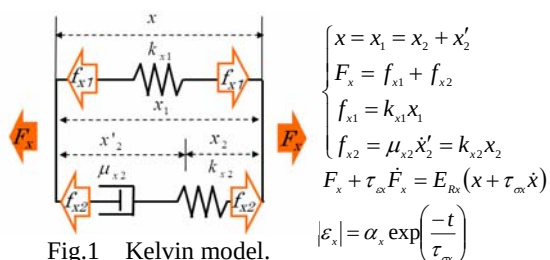


Fig.1 Kelvin model.

図2に測定項目を示す。dxはマイクロピペットによる単軸引張方向の赤血球の長さ、dyはdxの中点を通る単軸引張作用方向に対して垂直方向の長さである。

マイクロピペットによる引張を受けた際に赤血球は、①引張に対して赤血球全体が変形する場合、②全体はあまり変化せず、一部だけが変形した場合、の2種類の特徴的な変形を示した。

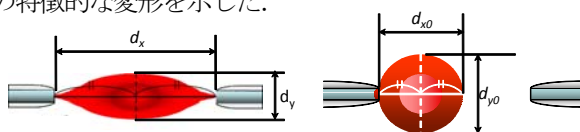


Fig.2 The shape recovering process of an erythrocyte.

本研究ではそれぞれの変形を、全体変形型、部分変形型と定義した。図3に全体変形型の赤血球の変形に関して、(a)引張軸に対して垂直方向のひずみ $\epsilon_{y,w}$ と(b)単軸引張の作用方向のひずみ $\epsilon_{x,w}$ の時間変化を片対数グラフに示す。ひずみが小さい領域の測定データは、位相差顕微鏡の空間分解能の限界により信頼性が低いのでデータから除外し、指数関数最小二乗法で近似した直線の傾きの逆数から時定数を算出した。

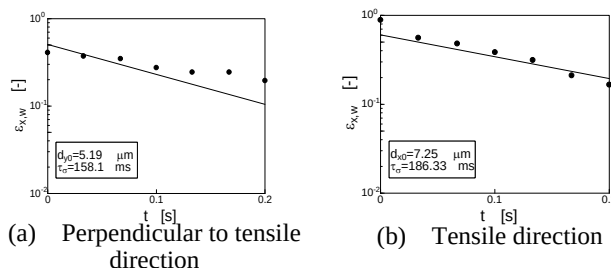


Fig.3 An example of relaxation function of an erythrocyte.

Table 1 Time constant of shape recovery.

	Tensile		Perpendicular to tensile	
	Whole $\epsilon_{x,w}$	Local $\epsilon_{x,L}$	Whole $\epsilon_{y,w}$	Local $\epsilon_{y,L}$
τ_α [ms]	182±122	181±103	161±111	134±69
n[-]	55	34	55	34

3. 実験結果

表1にサンプル数nと時定数 τ_α をまとめた。

4. 考察

引張軸方向に関しての時定数は、変形様式によらず同じであったのに対し、垂直方向は17%ほどの差があったことから、垂直な方向に関しては測定と実験の方法に問題があると考えため、今後改良していく。

5. 結言

静止流体中においてマイクロピペットによる単軸引張ひずみをヒト赤血球に与え、引張から解放されたヒト赤血球の形状回復の測定を行ったところ2種類の変形様式が確認できた。また変形様式が時定数に及ぼす影響を調べた結果、以下のことがわかった。

- ・引張軸方向に対する時定数が変形様式によらず同一で全体変形型 182 ms 部分変形型 181 ms となった。
- ・垂直方向に対す時定数は全体変形型 161ms, 部分変形型 134 ms と一致しなかった。

Y字型マイクロチャネルの合流流れにおける混合過程

安田弘誓*, ○糸田和博**, 羽山大貴*, 板野智昭*, 関眞佐子*

*関西大学 システム理工学部 物理・応用物理学科 [〒564-8680 大阪府吹田市山手町 3-3-35]

**関西大学大学院 理工学研究科 システムデザイン専攻

1. 緒言

マイクロリアクターやマイクロ分析器では、マイクロチャネル内における流体混合が重要な役割を果たす場合が多い。その最も基本的なものは、T字型あるいはY字型のマイクロチャネルを用いた流体混合である。これらのマイクロチャネルを用いて、混合におけるスケリング則の研究や、物質の拡散係数の評価や化学反応の促進に関する研究など、種々の視点から数多くの研究がなされている。本研究では、Y字型のマイクロチャネルの娘管の片方に蛍光物質を流し、もう片方には純水を流して、共焦点蛍光顕微鏡を用いて合流後の蛍光強度を計測することで、混合の様子を調べた。

2. 実験方法

使用したPDMS製Y字型マイクロチャネルは、高さ50 μm の矩形断面をもち、下流の流路は幅100 μm で、上流の2本の流路は幅79.4 μm で、37.5°の等角度に分岐している（図1参照）。流路幅の比と分岐角は、血管分岐に対して知られているMurray則に従うように決めた。

上流の2本の流路には、蛍光を発するフルオセインナトリウム（ウラニン、分子量376）の水溶液と純水とをそれぞれ流した。シリジポンプにより、ウラニン水溶液の流量 Q_1 と純水の流量 Q_2 を制御した。レーザー光源—共焦点顕微鏡—高感度カメラシステムを用いて、合流後の画像を蛍光撮影した。図2(a)に示すように、合流点Oから下流方向にA, A1, A2, B, C, Dの6つの断面に対して、得られた画像から輝度分布を求め、ウラニン水溶液と純水の混合の様子を調べた。断面Aから断面Dまでの距離は約7mmである。

3. 実験結果と考察

結果の一例として、流量比が $Q_2/Q_1=1$ の場合に、A-A'断面で得られた輝度分布を図2(b)に示した。図2(b)は深さ方向には流路中央面において得られたもので、横軸の原点が図2(a)のAに、横軸の100 μm の位置が図2(a)のA'に対応する。ウラニン水溶液が流れる左側は高輝度となり、純水が流れる右側は低輝度となっている。黒い実線は、境界において引いた近似直線を表す。

一般に、ある位置で不連続に変化するステップ関数形の濃度分布を初期条件として1次元の拡散方程式を解くと、不連続面の位置での濃度分布の傾きは時刻 t において、 $t^{-0.5}$ に比例することを示すことができる。いま、上流の2本の流路から流れてきた流体が、時刻 $t=0$ に図2(a)の原点Oで合流し、一定の速度 U で下流に流れていくとすると、合流後の時間 t における y 座標は $y=Ut$ と表すことができる。従って、1次元問題の解が今考えている合流問題に適用でき、更に輝度が濃度に比例するとすれば、境界における輝度分布の傾き dI/dx と計測位置の y 座標との間に $|dI/dx| \propto y^{-0.5}$ の関係が成り立つことになる。

本研究では、図2(a)に示す各断面での輝度分布から境界における輝度分布の傾き $|dI/dx|$ を求め、 $|dI/dx|$ の値と各断面の y 座標を両対数グラフにプロットした結果、ほぼ直線となった。従って、 $|dI/dx| \propto y^{-\alpha}$ の形に表されることが分かったので、冪指数 α の値を、さまざまな流量比 Q_2/Q_1 に対して評価した。その結果、 $Q_2/Q_1=1$ のとき α の値は0.5に近く、 Q_2/Q_1 が小さいほど α は減少し、逆に Q_2/Q_1 が大きいほど α は増大する結果となった。この結果は、ウラニン水溶液に対する純水の流量を増やすとウラニン水溶液と純水は速く混じっていくことを示す。

4. 結言

Y字型マイクロチャネルを用いて混合過程を調べた結果、流量比に依存した移流の影響が示唆された。

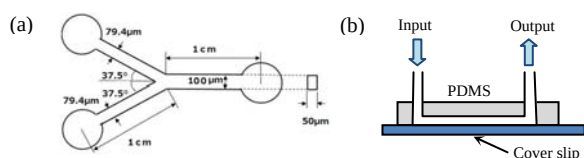


Fig. 1 Y-shaped microchannel (a) top view, (b) side view.

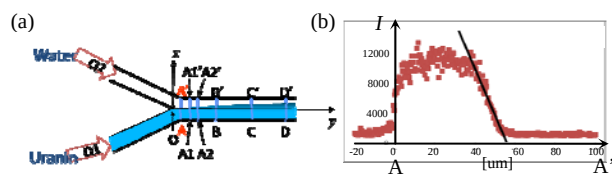


Fig. 2 (a) Locations of measurements and (b) an example of the light intensity profile along line A-A'.

マイクロチャネル内赤血球サスペンション流れにおける 血小板模擬粒子の分散係数

○保井一仁*, 板野智昭**, 関眞佐子**

*関西大学大学院 理工学研究科 システムデザイン専攻 [〒564-8680 大阪府吹田市山手町 3-3-35]

**関西大学 システム理工学部 物理・応用物理学科

1. 緒言

Einstein は、1905 年のブラウン運動に関する論文において、半径 a の粒子の拡散係数 D と媒質の粘性係数 μ との間に、今日の揺動散逸定理の原型となる Stokes-Einstein の式: $D = kT / 6\pi a\mu$ が成り立つことを示した。ここで、 k は Boltzmann 定数、 T は絶対温度である。Einstein はさらに、粒子の位置 x の揺らぎの 2 乗平均は、計測時間 t を用いて $\langle(\Delta x)^2\rangle = 2Dt$ と表され、この値が大きさ $1\mu\text{m}$ 程度の粒子に対して顕微鏡で観察できることを指摘した。

血小板は直径が $3\mu\text{m}$ 程度の粒子であるので、Einstein の理論に従って媒質中でブラウン運動する。さらに媒質中に赤血球が含まれる場合には、赤血球の影響により血小板の位置の揺らぎ Δx は変化する。このとき、Goldsmith ら¹⁾に従って拡散係数に相当する分散係数を $D^* = \langle(\Delta x)^2\rangle / 2t$ と定義すると、 D^* は血小板の不規則運動に与える赤血球の影響を表す。

本研究では、赤血球サスペンション中に血小板と同程度の大きさの蛍光粒子を血小板模擬粒子として混ぜてマイクロチャネル内に流したとき、共焦点蛍光顕微鏡を用いて蛍光粒子の軌跡を計測することにより、分散係数を評価する。分散係数の値が赤血球体積分率（ヘマトクリット Hct）や、粒子径によってどのように変化するかを調べた。

2. 実験方法

本研究では蛍光粒子（ポリスチレン製、直径 $3.1\mu\text{m}$ ）を血小板模擬粒子とし、リン酸緩衝生理食塩水（pH=7.0）に少量混ぜたものに、Hct=8%, 15%となるように赤血球を混ぜ合わせる。使用するマイクロチャネルは PDMS 製で、幅 $150\mu\text{m}$ 、深さ $50\mu\text{m}$ の矩形断面をもち、下面にスライドガラスを密着させ使用する。

倒立顕微鏡のステージ上にマイクロチャネルをのせ、シリンジポンプによって指定した流量の流体を流し込む。この流れ中における粒子運動を、レーザー共焦点蛍光顕微鏡システムにより観察する。顕微鏡の対物レンズの倍率は20倍で、画像解像度は $0.67\mu\text{m}/\text{pixel}$ である。

分散係数は、図 1 に示すように、粒子の軌跡から微小時間 Δt 毎に流れに対して垂直方向の変位 Δx を計測して、 $D^* = \langle(\Delta x)^2\rangle / 2\Delta t$ により求める。 $\langle\rangle$ はそれぞれの粒子に対する平均を表す。

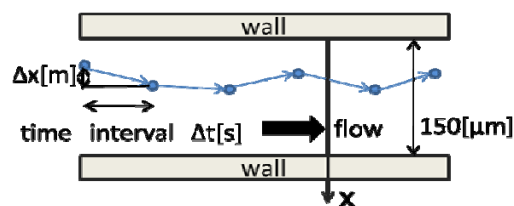


Fig. 1. Method of estimates of dispersion coefficients for microspheres flowing in a rectangular micro-channel.

3. 実験結果と考察

作動流体に赤血球を含まない場合（Hct = 0）と赤血球体積分率 Hct = 8% および 15% に対して、血小板模擬粒子の分散係数の計測を行った。直径 $3.1\mu\text{m}$ の粒子に対して得られた分散係数の平均値を Hct の関数として図 2 に示した。参考のため Stokes-Einstein の式から求まる拡散係数 D の値（ただし $T = 293\text{K}$, $\mu = 1.002 \times 10^{-3}\text{Pa}\cdot\text{s}$ とした）を□で示した。

分散係数 D^* の値は Hct = 0 のとき拡散係数 D の値とほぼ一致し、Hct = 8% で D と比較して 1 桁大きくなることが分かった。

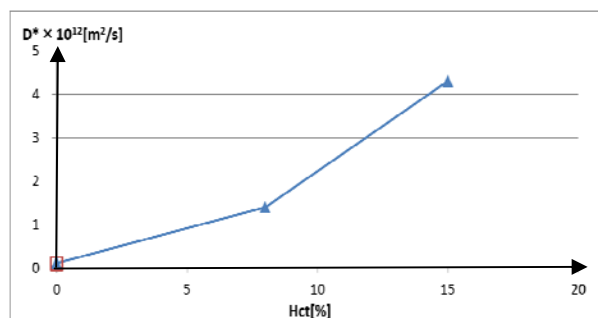


Fig. 2 Relation between Hct and dispersion coefficients of $3.1\mu\text{m}$ microspheres.

文 献

- 1) Goldsmith, H.L. and Marlow, J.C.: J. Colloid Interface Science **71**, 383-407, 1979.

マイクロチャネル内の障害物近傍に形成される血漿層の計測Ⅱ

○西本雅達*, 板野智昭**, 関眞佐子**

*関西大学大学院 理工学研究科 システムデザイン専攻 [〒564-8680 大阪府吹田市山手町 3-3-35]

**関西大学 システム理工学部 物理・応用物理学科

1. 緒言

血管内の血液流れにおいて、血管壁近傍に赤血球がほとんど含まれず血漿のみが流れる血漿層が見られる。血漿層の存在は、赤血球から血管壁への酸素輸送や血液流れが血管壁に及ぼす応力に関係しているため生理的に重要である。血漿層に関する研究は、これまで微小血管やマイクロチャネル内流れに対して数多くなされてきたが、本研究ではマイクロチャネルの流路壁に血球程度の大きさの障害物がある場合に対して、その周りに形成される血漿層を詳しく調べた。

2. 実験方法

矩形断面（幅 $30\mu\text{m}$ ×高さ $40\mu\text{m}$ ）を持つマイクロチャネル(PDMS 製)内に、障害物として直径 $8\mu\text{m}$ の円柱を $1.2\mu\text{m}$ だけ壁に埋め込んだ流路を用いる。倒立型顕微鏡のステージ上に設置したマイクロチャネルへ、赤血球サスペンションをマイクロシリンジポンプにより送る。レーザー共焦点顕微鏡システムを用いて、マイクロチャネルの下方から $20\mu\text{m}$ の対称面（水平断面）において明視野観察をする(図 1)。取得された画像を画像処理ソフト Image J により解析をし、血漿層の領域を測定する。

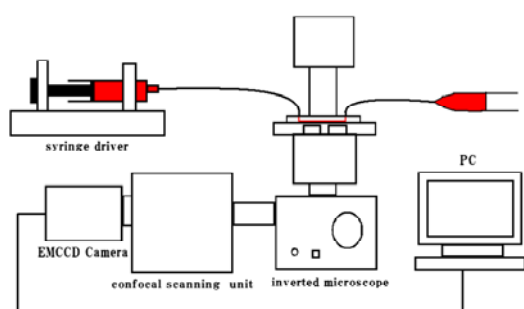


Fig. 1 Experimental setup.

赤血球サスペンションは、抗凝固剤であるクエン酸ナトリウムを混ぜた血液を、遠心分離機にかけて血漿成分および血小板を抜き出し、リン酸緩衝生理食塩水(PBS)と置き換え、適当な赤血球体積分率に調整することにより作成した。

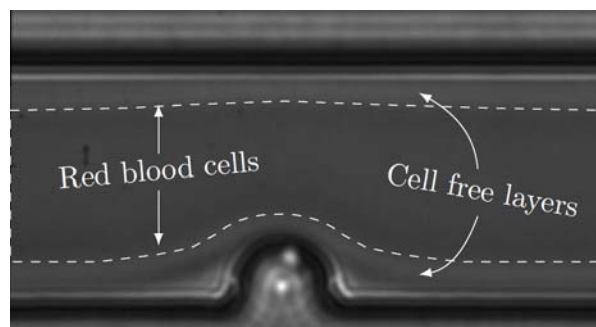


Fig. 2 Cell free layers formed near an obstacle in a rectangular microchannel ($30\mu\text{m}$ width $\times$ $40\mu\text{m}$ depth).

3. 実験結果と考察

赤血球サスペンションをマイクロチャネルに流すと、流量が低い場合には血漿層は見られなかったが、ある一定流量以上の場合に流路壁の傍に血漿層が観察された。図 2 に、一例として $\text{Hct} = 15\%$ の赤血球サスペンションを $0.3\mu\text{l/s}$ の流量で流した場合の明視野画像を示した。障害物のない上側の流路壁では、血漿層がほぼ一定の厚さで出来ていることが分かる。一方、障害物のある下側の流路壁では、障害物の無い所に比べて、障害物の中央で血漿層は薄くなるが、障害物の両端では、血漿層は厚くなった。そして、障害物から離れるにつれて血漿層は薄くなり、流路幅程度離れたところで障害物の影響を受けなくなった。

各断面における輝度分布を観察すると、流路中央に比べて血漿層と血球層の境界付近で輝度値が低くなる特徴が見られた。これは中央より境界付近で赤血球濃度が高くなっていることを示していると推測している。今回の実験では、明視野の特性上流路壁に厚さを持つてしまうため、流路壁付近の情報を正確に取得することが課題となった。

4. 結言

障害物近傍に形成される血漿層の観察と測定を行った結果、障害物中央では血漿層の厚さは薄くなるが、障害物直前後で血漿層の厚さは厚くなった。しかし、流路幅程度離れてしまうと、障害物の影響は失われることが分かった。また、血漿層と血球層の境界付近では赤血球濃度が高くなると推定した。

第 2 日 目

6 月 4 日（土）

ヒト血液性状を保持した超急性免疫反応評価実験システムの開発と無細胞組織の補体活性の評価

岩崎清隆^{*, **}, 東宮裕人^{**}, 利根川明宏^{**}, 宮川充^{**}, 永井美玲^{***},
藤本哲男^{**}, 尾崎重之^{****}, 梅津光生^{**}

^{*}早稲田大学 高等研究所 [〒162-8480 東京都新宿区若松町 2-2 TWIns]

^{**}早稲田大学 先端生命医科学センター, ^{***}東京女子医科大学 麻酔科

^{****}東邦大学 医療センター大橋病院 心臓血管外科

1. 緒言

我々は、水分子の共振周波数を利用したマイクロ波照射と生体内環境を模倣した拍動流量・拍動圧力で界面活性剤溶液（デオキシコール酸）を循環させてブタ大動脈弁、ウシ心膜、ウシ腱といった動物由来組織を無細胞処理して組織本来の微細構造を残したまま低抗原化し、移植後に細胞が浸潤して自己組織化が期待できる再生促進型移植組織を開発している。ウシやブタからヒトへの異種組織移植の場合には、数分から数時間で超急性拒絶反応が起こることが知られている。したがって、動物由来無細胞組織の臨床応用を目指した開発研究の中で、安全性の評価方法の確立も重要になってくる。本研究では、体外でヒト血液性状を保持して非臨床で超急性免疫評価を行う実験システムを開発し、無細胞組織の補体活性評価を行った。

2. 実験方法

本研究は、早稲田大学のヒトを対象とする研究に関する倫理委員会の承認を得て行った。健康成人ボランティアから血液を提供いただき、5 時間の実験に必要なヘパリンとグルコースを加えた血液を使用した。血液性状を保持するため、空気非接触となるように血液チャンバーを設計し、実験中にサンプリングポートから採血・検査できるようにした。シリコン膜を介して血中へ酸素を供給でき、かつ、血中に代謝産物の乳酸が蓄積されるため二酸化炭素を排出して血中 pH を調整できるようにした。血液チャンバーを 37°C の恒温器中に設置し、毎分 40rpm で回転撹拌させ血球成分と血漿成分の分離を防いだ。恒温器内に酸素濃度 20% と二酸化炭素濃度をパラメータとした混合ガスを連続注入し、超急性免疫反応が起こる時間を考慮して 5 時間の実験を通じて pH を 7.31~7.45 と正常範囲内に保持可能な二酸化炭素濃度を検討した。血液サンプリングを実験開始時、1 時間後、3 時間後、5 時間後（実験終了時）の計 4 回行い、pH、グルコース濃度、CO₂ 濃度、O₂ 濃度、乳酸を計測した。本実験システムを用いて、無細胞処理して凍結乾燥及びガンマ線滅菌したウシ心膜、未処理ウシ心膜、グルタルアルデヒド処理した

臨床製品のウマ心膜についてヒト血液と共培養して超急性免疫反応評価実験を行い、免疫グロブリン M や補体活性の代表的タンパクである終末補体複合体 C5b-9 の沈着の程度を蛍光免疫染色で調べた。

3. 実験結果

血中の乳酸は 5 時間の実験を通じて単調増加するものの、血液チャンバーの外側の二酸化炭素濃度を 2% にすることで、pH を正常範囲内に保持することに成功した。グルコースも実験期間を通じて単調消費されるものの、実験開始時の濃度を調整することで 5 時間後も正常範囲に維持できた。また、シリコン膜を介して二酸化炭素排出と酸素供給が行われていることが確認された。ヒト血液との超急性免疫反応を蛍光免疫染色で調べた結果、未処理ウシ心膜表面には免疫グロブリン M 及び終末補体複合体 C5b-9 が激しく沈着している様子が確認された。一方、無細胞処理して凍結乾燥後にガンマ線滅菌したウシ心膜には、免疫グロブリン M と終末補体複合体 C5b-9 のいずれも沈着が顕著に抑制され、グルタルアルデヒド処理で抗原を不活性化した臨床製品のウマ心膜と同程度であり、安全であることが判明した。

4. 結言

新規治療デバイスの開発研究では、デバイスそのものの開発はもちろんのこと、その有効性・安全性を評価する実験方法の開発も重要である。本研究では、ヒト血液性状を保持して超急性免疫反応評価を行える実験システムを開発し、我々が開発中の無細胞組織は補体活性を抑制できることを明らかにした。

文 献

本研究は独立行政法人医薬基盤研究所の保険医療分野における基礎研究推進事業(NIBIO)の支援を得て行った。ここに関係諸氏に厚く御礼申し上げる。

積層細胞シート内の流動

○紀ノ岡正博

大阪大学大学院 工学研究科 生命先端工学専攻 [〒565-0871 大阪府吹田市山田丘 2-1]

1. 緒言

重症心疾患の治療法として、患者の骨格筋筋芽細胞から形成した細胞シートの移植が注目されている。積層筋芽細胞シートは、移植後、血管新生を促進するサイトカイン群が移植材から生成され、パラクライン効果により、健全部（移植床側）から患部や移植材への血管新生がなされ心機能が回復すると考えられている。いわゆる細胞をシート状に加工し組織構造を構築するシート工学技術を利用した再生医療は現在様々な疾患に対する適用を試みている。しかし、本機能改善について評価手法が構築されておらず、移植材の薬効についての定量的議論が十分なされていない。

細胞シートは秩序を持つ板状細胞集塊であると考えられ、厚み方向と平面方向に分けた 1+2 次元での解析が可能である。そこで、本研究では積層シート内における筋芽細胞の動きに着目し、共焦点レーザー走査型顕微鏡を用いて筋芽細胞の流動性の経時変化を評価した。

2. 実験方法

積層細胞シートとしては、図 1 に示すような手順で行った。細胞シートには、ヒト骨格筋由来筋芽細胞を温度応答性培養皿（24 ウェル）に播種し、単層状の細胞シートをスタンプにて積層化することで 5 層の積層筋芽細胞シートを作成した。その際、最下層のシートは、予め Cell Tracker Green にて、他の層は、Cell Tracker Orange にて蛍光染色を施した。染色された積層細胞シートは、ディッシュに移し、細胞の挙動を観察した。培養は、37°C、5% CO₂ 条件下で行い、培地は、10% 血清を含む DMEM を使用した。観察には、共焦点レーザー顕微鏡にて、立体的観察を行い、画像処理により Cell Tracker Green で染色された細胞の最下層からの上層への細胞遊走を、蛍光色素の分子拡散のアナロジーとし、拡散係数(D)にて評価した。

3. 実験結果と考察

培養開始から共焦点レーザー走査型顕微鏡で経時的に観察したところ、培養開始時に 1 層目に存在していた細胞が上方に遊走していく様子がみられ、積層シート内で細胞流動が生じていることが確認された。そこで、1 層目の細胞の動きを鉛直方向の拡散現象とみなし、拡散方程式で表現することで、拡散係数を算出

した。その結果、48 h の培養において拡散係数は $0.74 \mu\text{m}^2/\text{h}$ の間で維持され、流動性が保たれることがわかった。骨格筋由来の繊維芽細胞を混在した積層細胞シートにおいても、筋芽細胞と同様にシート上方へ遊走する様子が確認された。その際、筋芽細胞と繊維芽細胞の混在比率の変化は、シート内の流動を変化させることが分かった。その流動の変化は、筋芽細胞と繊維芽細胞の遊走能力の違いと、細胞間接着の違いによるものと考えられた。

4. 結言

細胞シートは流動性を有し、その流動は、細胞の種類や混合比率により変化することが分かった。シートの流動は、細胞シート内での異種細胞の棲み分けを導くものと考えられ、今後、組織再構築の手掛かりとなると考えられる。

謝 辞

本研究は、最先端研究開発支援プログラム（中心研究者：岡野光夫、東京女子医科大学）の支援を受け実施したものである。

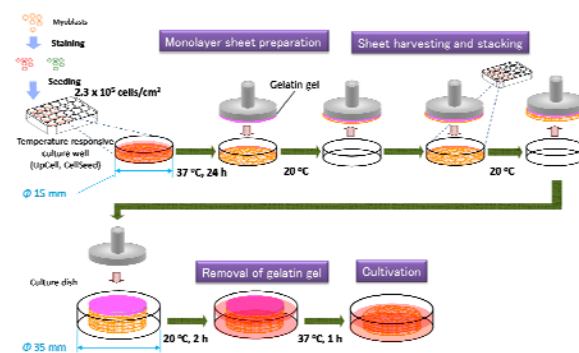


Fig. 1 Procedure of multilayered sheet preparation.

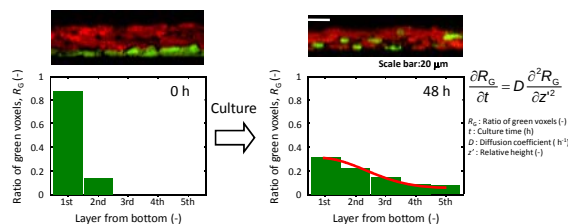


Fig. 2 Fluidity in multilayered sheet of myoblasts.

灌流培養における3次元心筋組織の構築

○坂口勝久*, 清水達也**, 岩崎清隆*, 大和雅之**, 梅津光生*, 岡野光夫**

*早稲田大学 先端生命医科学センター [〒162-8480 東京都新宿区若松町 2-2]

**東京女子医科大学 先端生命医科学研究所

1. 緒言

近年、多くの研究者が不全臓器の治療や生体外モデル確立のために組織工学の技術を用いて3次元組織の作製に挑戦し続けている。そこで、我々は温度応答性培養皿を用いて作製した細胞シートを積層することによって、細胞間が密な三次元心筋組織を作製しよう試みた。しかし、単に細胞シートを積層するだけでは酸素・栄養分の供給・老廃物を除去するための血管ネットワークが存在しない為に細胞は壊死してしまった。この細胞死を解決するため、ラット皮下を培養床として移植することで積層細胞シートに血管を新生させ、約1 mmの3次元心筋組織の構築に成功した¹⁾。本実験ではそのラット生体皮下を模倣した微小流路付きコラーゲンゲル培養床を作製し、生体外において灌流可能な血管ネットワーク付心筋細胞組織の作製ができないかを検討した。

2. 実験方法

本実験は生後0日のSD系ラットの心臓から単離培養した心筋細胞を使用した。単離した心筋細胞を温度応答性培養皿に播種し、4日後心筋細胞が培養皿表面でコンフルエント状態になったところで20℃に温度を降下させることでシート状の心筋細胞群を回収した。剥離した心筋細胞シート3層をマイクロ流路（血管模倣）が付いているコラーゲン上（皮下組織模倣）で培養を行った。流量は0.3～1.0 mL/minに設定することでマイクロ流路に生じるずり応力を生体内と同様になるように設定した。コラーゲン上培養により、内皮細胞含有心筋細胞シートから血管ネットワークが発生し、マイクロ流路に流れている培養液が細胞シート内血管網に流れて細胞状態を維持させる方法を考案し検討を行った。

3. 実験結果

灌流培養の結果、流量0.5 mL/min時（Fig. 1）細胞シートは培養皿上で静置培養した時の結果と違い壊死することは無かった。さらに、細胞が心筋細胞シートから浸潤し血管の様な管腔を形成している場所を確認した。図1の矢印は管腔形成している場所を示している。さらに、形成された管腔がマイクロ流路との繋がりを持つか確認するため、ラット血液をマイクロ流路に灌

流を行った。この結果、コラーゲンゲルに作製した流路と細胞シートから新生した管腔に血球を確認した（図1）。これは細胞シート内へ新生な培養液が流れ込んだことが示された。

4. 考察

*In vitro*での心筋組織培養において灌流培養システムを用いることで心筋細胞シートから血管を新生させ5日間にもよる長期の維持培養を作り出すことが出来た。これは灌流培養システムにより生体内に近い環境を作り出すことで、組織内への酸素・栄養の透過性ならびに老廃物の除去を向上させることができたことに起因するものと推察される。本研究成果は、生体内を模倣したバイオリアクターを使用することで、より生体に近似した3次元組織をつくりだしうることを示唆しており、今後心筋の組織工学においてバイオリアクターの開発が重要であることが示された。

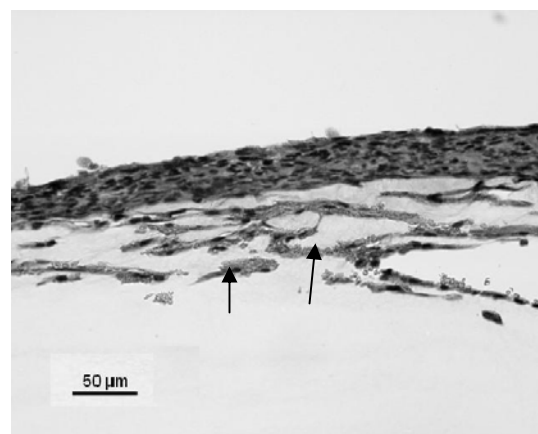


Fig. 1 Cardiac cell sheet on the collagen gel after cultivation.

文 献

- 1) Shimizu T, Yamato M, Akutsu T, Setomaru T, Abe K, Kikuchi A, Umezu M, Okano T. Fabrication of pulsatile cardiac tissue grafts using a novel 3-dimensional cell sheet manipulation technique and temperature-responsive cell culture surfaces. *Circ Res.* 90:e40-e48, 2002.

Dorsal skinfold chamber を用いた 生体内肝臓組織形成の可視化に関する検討

○若杉美樹*, 須藤亮**, 牛山明***, 谷下一夫**

*慶応義塾大学大学院 理工学研究科 [〒223-0061 神奈川県横浜市港北区日吉 3-14-1]

慶応義塾大学 理工学部 システムデザイン工学科, *国立保健医療科学院 生活環境研究部

1. 緒言

従来研究では肝臓組織工学的な手法を用いて、生体外において肝細胞組織を血管化することが、現在まで成功していない。生体外では細胞の培養環境で生体内を完全に模擬できないからである。一方、生体内は創傷治癒や肝臓部分摘出からの再生など、状況に応じて血管新生の環境が整えられる。生体外での組織の血管化が困難であるため、理想環境である生体内を可視化し、どのように移植細胞が組織化するのか、血管が作られるのかを明らかにする必要がある。

本研究は生体内動態の観察手法として Dorsal skinfold chamber に着目し、生体外で組織化した EGFP 遺伝子導入移植肝細胞と血管新生を可視化した。組織構築や血管構築を観察し、生体外と比較することによって手法の有用性を考察した。

2. 実験方法

EGFP ラットの肝細胞を、足場となる PLGA 薄膜上に播種し生体外にて 5 - 6 日間培養した後、Dorsal skinfold chamber を適用したヌードマウスに移植した。

EGFP により肝細胞を標識し、DiI-RBC により血管造影を行った。生体内を可視化し 2-3 日毎に同一箇所を共焦点レーザー顕微鏡で観察した。

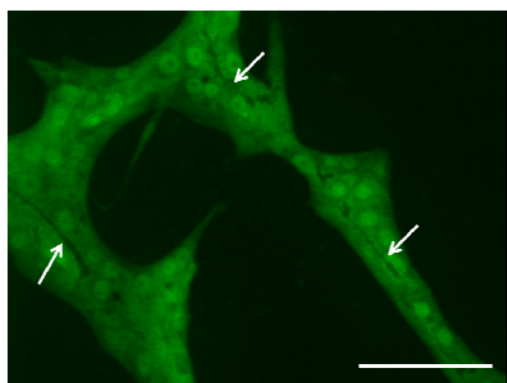


Fig. 1 Bile canaliculi-like structures (arrows) 7 days after implantation. (green, implanted cells expressing EGFP; scale bar, 100 μ m)

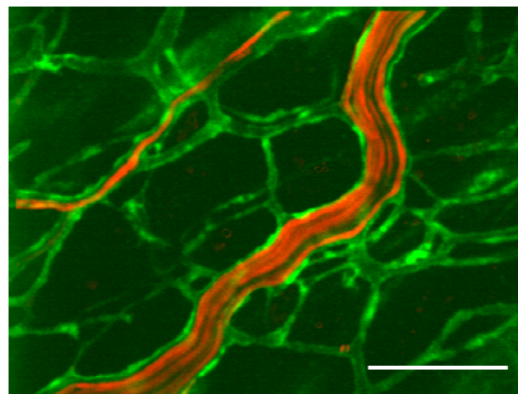


Fig. 2 Newly formed blood vessels surrounded by implanted cells 16 days after implantation. (green, implanted cells expressing EGFP; red, functional blood vessels contrast-enhanced with DiI-RBC; scale bar, 100 μ m)

3. 実験結果

可視化を行った結果、肝細胞組織に特異的な毛細胆管様の構造(図 1)や、移植細胞が管状の構造を作り、血流が通る様子(図 2)が観察された。移植細胞による管状構造のうち血流を有するもの(機能血管)の割合は日を経つにつれて増加していた。毛細胆管様構造は移植面近くにあり、新生血管面はより宿主組織から離れて位置するという 3 次元的な構造も分かった。

4. 考察

本手法の適用により、従来の生体内移植研究で使用されていた組織学的手法ではできなかった組織形成と血管構築の可視化が行えるようになった。また、生体外肝臓組織工学研究ではできなかった組織への血管新生が起こった。

5. 結言

Dorsal skinfold chamber の適用により、移植細胞の組織形成の可視化に成功し、生体外ではできなかった組織への血管新生が起こった。

流れ負荷時における共培養モデルでの肝細胞機能の評価

○藤田陵佑*, 隅井干城**, 谷下一夫***, 工藤奨****

*芝浦工業大学大学院 機械工学専攻 [〒135-8548 東京都江東区豊洲 3-7-5]

**慶應義塾大学大学院 理工学研究科 総合デザイン工学専攻,

慶應義塾大学 理工学部 システムデザイン工学科, *芝浦工業大学 工学部 機械工学科

1. 緒言

生体外で培養した肝細胞の機能は生体内の200分の1程度にまで低下する。そのため、生体外での肝臓再生において肝機能の向上が重要な課題となっている。生体外で肝機能を向上させるには共培養と流れ負荷の2つの方法が挙げられるが、これらを同時に扱った研究は少ない。従来の研究から、生体内において一酸化窒素(Nitric Oxide: NO)が肝機能の向上に関わっていることが報告されているが¹⁾、生体外では確認されていない。また生体外の実験では、内皮細胞に流れを負荷するとNO産生が増加することが知られている²⁾。そこで本研究では、肝細胞、星細胞、及び内皮細胞を用いて共培養モデルを作製し、流れを負荷することで肝細胞の機能を測定した。さらに肝機能向上におけるNOの関与について調査した。

2. 実験方法

肝細胞(Hepatic Cell: HC), 星細胞(Hepatic Stellate Cell: HSC), 内皮細胞(Endothelial Cell: EC)の3種類の細胞を組み合わせて、共培養モデルを作製した。フローチャンバーでせん断応力0.6 Paの流れを24時間負荷した。肝機能は灌流液中のアンモニアの分解量により評価し、灌流液に含まれるNO濃度を測定した。実験データは多重比較検定のScheffe法を用いて検定を行った。

3. 実験結果

各共培養モデルにおけるアンモニア分解量の測定結果を図1Aに示す。静置培養において、HC+HSC+ECモデルはHC単独培養と比べて40%機能が向上した。さらに流れを負荷すると、HC+HSC+ECモデルは静置培養したHC単独培養と比べて340%機能が向上した。

各共培養モデルにおける灌流液中のNO濃度を図1Bに示す。流れ負荷時において、内皮細胞と共培養した2つのモデルは高いNO濃度を示し、特にHC+HSC+ECモデルは最も高いNO濃度を示した。

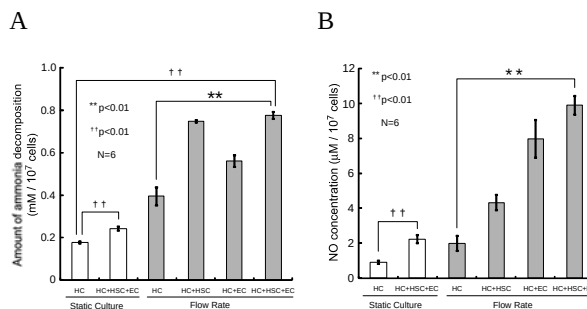


Fig. 1 A Amount of ammonia decomposition.
B NO concentration in co-culture model.

4. 考察

図1Aより、静置培養では肝細胞、星細胞と内皮細胞の3種類の細胞を共培養することで肝機能が向上した。さらに流れを負荷すると3種類の細胞を共培養したモデルが最も高い肝機能を示したことから、共培養と流れ負荷が肝機能向上に大きく関わっていると考えられる。また図1A, 1Bより、内皮細胞が存在する共培養モデルではNO濃度の上昇に伴い肝機能も向上する傾向が見られた。従って内皮細胞の産生するNOが肝機能の向上に関与していると考えられる。

5. 結言

本研究から、肝細胞の機能向上には共培養と流れ負荷が重要であると考えられる。また内皮細胞の産生するNOも肝機能の向上に関与していると推測される。

文 献

- 1) Nanji, A. A., Jokelainen, K., Lau, G. K., Rahemtulla, A., Tipoe, G. L., Polavarapu, R., Lalani, E. N.: Arginine reverses ethanol-induced inflammatory and fibrotic changes in liver despite continued ethanol administration. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **299**, 832-839, 2001.
- 2) Andrews, A. M., Joron, D., Buerk, D. G., Kirby, P. L., Barbee, K. A.: Direct, real-time measurement of shear stress-induced nitric oxide produced from endothelial cells in vitro., **23**, 335-342, 2010.

血流解析による偽腔閉塞型大動脈解離から起因する Ulcer-Like Projection(ULP)の経時変化に関する研究

○森太志*, 大竹裕志**, 眞田順一郎**, 木村圭一**, 松井修**, 渡邊剛**, 松澤照男***

*北陸先端科学技術大学院大学大学院 情報科学研究科 [〒923-1211 石川県能美市旭台 1-1]

金沢大学, *北陸先端科学技術大学院大学大学院 情報科学センター

1. はじめに

大動脈解離の偽腔部分に着目した臨床分類において、偽腔開存型大動脈解離(以下 開存型)と偽腔閉塞型(以下 閉塞型)に分類することができる。それぞれの死亡率は、開存型は13.7%、閉塞型は22.6%であった¹⁾。死亡の原因は、瘤破裂や心タンポナーデなどであった。閉塞型は、偽腔部分は血栓などによって閉塞しているが何らかの原因で血流が流れ込むことによって瘤を形成する場合があることが報告されている²⁾。この瘤への形成過程において、閉塞型だけにみられるUlcer-Like Projection(以下 ULP)がある。ULPの頻度は、12-86%と高い傾向にあり、診断においてULPの経時変化を観察することは重要である。

ULPの拡大には様々な要因が想定されるが、血液の流れや血流による力学的ストレスなどの血行力学的要因が関与していると考えられることができるため、我々は時系列な医療画像データから形状を再構築し、ULPの経時変化の予測因子について明らかにする。

2. 解析手法

閉塞型でULPがみられた男性患者3名の時系列なデータを用いて血管形状の再構築をおこなった。画像データは、ULPのある状態とさらに進展し診断上破裂寸前である2パターン(Case1-A,B)である。このとき、進展期間は約1ヶ月である。そして、破裂寸前と診断された後、2週間以内に治療をおこない現在は回復している。血液を想定した非圧縮粘性流体を考え、本シミュレーションには、有限体積ソルバーであるANSYS社製Fluent6.3.26を用いた。

3. 解析結果

ULPを持つ閉塞型に対して解析をおこなった。図1に下行部にULPを持つ形状における主流に対して水平方向の2次流れを示す。このとき、ULP上部の流れに垂直方向の2次流れから流れに水平方向の2次流れにおける断面方向を決定した。本研究で対象としているすべてのケースにおいて、水平方向の2次流れの様相における渦中心の移動は、垂直方向の2次流れから決定した方向に一致し、渦中心の軌跡の方向に必ず低い壁すり応力分布がある傾向がみられた。

4. 考察

我々の結果は、渦が発生し、壁すり応力が低いような領域において進展する³⁾ことと一致する。また、すべてのケースにおいて、2次流れの渦中心の移動が断面方向と一致することより予測因子になる可能性がある。

5. 結言

偽腔閉塞型大動脈解離から起因するULPの経時変化について解析をおこなった。さらに解析例を増やし検証を進める。

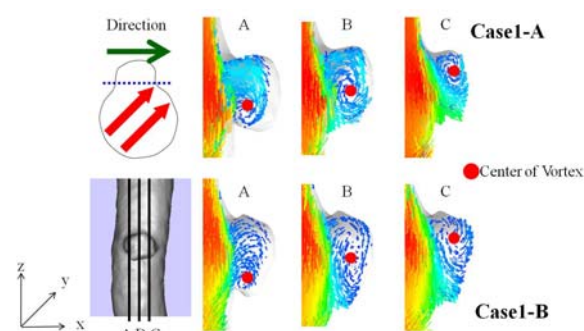


Fig.1 Secondary Flow of horizontal Section in Case1-A, B.

文 献

- 1) Tsai, T.T et al.: Partial thrombosis of the false lumen in patients with acute type B aortic dissection, New England Journal of Medicine 357, 349-359, 2007.
- 2) Hayashi, H et al.: Penetrating atherosclerotic ulcer of the aorta: imaging features and disease concept, RadioGraphics, 20,995-1005,2000.
- 3) Wada, S et al.: Computer simulation of the adaptive changes in vascular geometry caused by the development of atherosclerotic lesions. The Japan Society of Mechanical Engineers A, 69,62-69, 2003.

Flow Diverting Stent の流れに及ぼす影響

○深作和明*, ****, 根来真***, 小西善史****, 野田茂穂**, 奈良一成****, 高木周*

*理化学研究所 次世代生命体統合シミュレーション研究推進グループ 臓器全身スケールチーム

[〒351-0198 埼玉県和光市広沢 2-1]

理化学研究所 情報基盤センター, *藤田保健衛生大学 脳神経外科,

****杏林大学 脳神経外科, *****碑文谷病院 脳神経外科

1. 緒言

Flow diverting stent は、柔軟なメッシュ状の金属の筒で、それを母血管内に留置することで流れを誘導し、動脈瘤へのながれを抑制、動脈瘤を治癒に導くためのものである。高い有用性と非常に扱い適応が期待され、臨床的な成績もすばらしい¹⁾。しかし、留置後に稀に治癒に向かわず、動脈瘤が破裂する場合があることも知られてきた^{2,3)}。我々はこれまで、嚢状動脈瘤に対する検討から low share stress が動脈瘤壁の変成、瘤の破裂の原因となっている可能性を示してきた⁴⁾が、flow diverting stent の流れに対する影響はまさに瘤内流れの低下、share stress の低下を引き起こしているものと考えられる。そこで、flow diverting stent を留置した時の流れを計算機流体解析を用いて検討したので、報告する。

2. 実験方法

臨床的に得られた脳動脈瘤を伴った脳血管に、flow diverting stent を模したメッシュ状の構造を挿入し、血管壁になるべく密着するように Rapid Form を用いて変形させ、検討のためのモデルとした。解析には理化学研究所にて開発したボクセルベースの解析システム^{5,6)}を用い、RICC にて計算を行った。計算結果は理研VCAD で開発した Visio を用いて可視化した。

3. 実験結果

図1に flow diverting stent のない状態の、図2にそれを設置した場合の計算結果を示す。Flow diverterにより、流れは母血管内に誘導され、本 stent が目指した通りの効果が上がっているものと思われた。

4. 考察

動脈瘤内の流れを停滞させたときに何が起こるかはきちんと判明していないのではないと思われる。塞栓用のコイルがある場合はその隙間で血栓が形成され、治癒に向かうことが期待される。しかし、本 stent のみで治療した場合、動脈瘤内は low flow, low share となり、壁が変性、出血を来す可能性が考えられる。或は、流速の低下により血栓が形成され、その線溶に伴って血

管壁が破壊され、破裂するものかもしれない。Flow diverting stent には高い有用性と安全性が期待されているので、この破裂の問題を何とか解決していきたい。

5. 結言

Flow diverting stent の効果を計算機流体解析で示した。併せて臨床的に生じている問題点につき報告した。

謝 辞

Stent 並びに血管の形状は VISC 09 に際し、東北大学流体研の太田信先生よりご提供頂いた。

文 献

- 1) Szikora I, Berentei Z, Kulcsar Z, et al. Treatment of intracranial aneurysms by functional reconstruction of the parent artery: the Budapest experience with the Pipeline embolization device. *AJNR Am J Neuroradiol* 2010; 31:1139-47.
- 2) Szikora I, Moret J, personal communication.
- 3) J.R. Cebal, F. Mut, M. Raschi, E. Scrivano, R. Ceratto, P. Lylyk and C.M. Putman, Aneurysm Rupture Following Treatment with Flow-Diverting Stents: Computational Hemodynamics Analysis of Treatment, *American Journal of Neuroradiology* 32:27-33, January 2011.
- 4) 深作和明、野田茂穂、脳動脈瘤血管内治療のすべて 基本から最新治療まで 根来真 監修 数値流体解析(CFD)の可能性 と近未来、メジカルビュー 2010.8.10 pp 308 - 315.
- 5) Noda, S., Fukasaku, K. and Himeno, R., *World Congress on Medical Physics and Biomedical Engineering*, (2006), pp.36-40.
- 6) 医療画像データを用いた血流の三次元シミュレーション, 計算工学 Vol.14, No.4 2009 2171 - 2172.

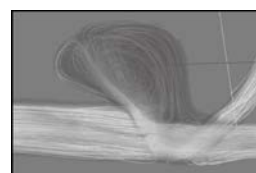


Fig. 1



Fig. 2

頸動脈脂質コア部の血圧負荷下での応力状態に関する検討

○山田宏*, 坂田則行**

*九州工業大学大学院 生命体工学研究科 生体機能専攻 [〒808-0196 北九州市若松区ひびきの 2-4]

**福岡大学 医学部病理学教室

1. 緒言

頸動脈は動脈硬化の好発部位である。アテローム性動脈硬化症では粥腫の発達に伴って線維性被膜が菲薄化して破綻すると、血栓が脳血管を詰まらせて重篤な疾患を引き起こす。線維性被膜の破綻は血圧によって生じる血管壁張力に被膜が抗しきれずに破断する力学現象と見なせる。また、脂質コア部でコアが発達する過程でも力学的な環境がそれを促進している可能性がある¹⁾。

本研究では、特に脂質コア部とその周辺の力学的状態に着目し、頸動脈切断時における液状脂質の脂質コア部からの流出の事実に基づき、液状の脂質が脂質コアを満たす有限要素モデルを用いて、力学的環境が動脈硬化に及ぼす影響を検討する²⁾。

2. 方法

著者らはこれまで脂質コアを有する環状の総頸動脈試料に対して、汎用ソフトウェア Abaqus (SIMULIA) を用いて有限要素解析を行ってきた¹⁾。今回のモデルは前回のモデル²⁾を修正し、固体の有限要素の面と面対称条件の平面を用いて液体で満たされた脂質コア部を囲って、脂質コア部の流体圧力と体積を適切に評価できるようにした（図 1 参照）。脂質コア部を囲む固体の有限要素の面には静水圧流体要素を張り付け、静止流体の力学特性として水の体積弾性係数を与えた。

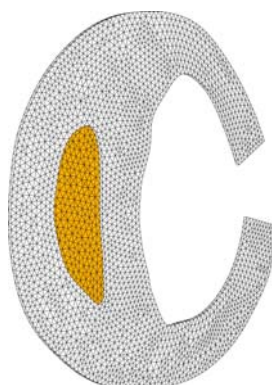


Fig. 1 Finite element model.

図の着色した固体領域には neo-Hooke 体モデルを用い、この領域の影響を無視できるほど十分柔らかな弾性特性を与えた。他の領域には多項式形式の超弾性体

モデルを用い、血管壁の非圧縮等方非線形の弾性特性を与え、材料定数は著者らの内圧負荷試験に基づいて決定した値を用いた¹⁾。また、境界条件として管軸方向伸び 1.07 の下で内腔面上に血圧 0 kPa から 20 kPa を与えた。

3. 結果と考察

脂質コア部（液体領域）の流体圧は血圧に対して初め非線形的に増えた。血圧 10 kPa と 20 kPa の間では流体圧は 1.5 kPa から 2.2 kPa へと概ね直線的に変化し、血圧に比べてずっと低い値をとった。

伸び比 1.07, 血圧 13 kPa のときの圧力分布を Fig. 2 に示す。血管壁には負圧が生じている。固体領域の圧力は 3 つの主応力の和の 1/3 に-1 を乗じた値であり、壁張力が支配的なことを示唆している。

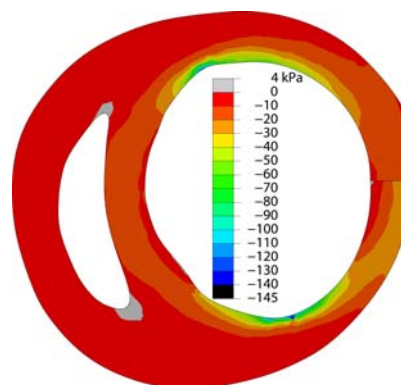


Fig. 2 Distribution of pressure in a loading condition. Solid elements in the lipid core region are not shown.

4. 結言

脂質コア部の液体の圧力は血圧に比べて著しく低く、力学的にみると脂質等の流入しやすい状態と言える。

文 献

- 1) Yamada, H., Yuri, K. and Sakata, N.: Correlation between stress/strain and the retention of lipoproteins and rupture in atheromatous plaque of the human carotid artery: A finite element study, J. Biomech. Sci. Eng., 5, 291-302, 2010.
- 2) 山田宏, 坂田則行: プラークを静水圧要素でモデル化した総頸動脈の応力・ひずみ有限要素解析, 日本機械学会第 23 回バイオエンジニアリング講演会講演論文集, 269-270, 2011.

血圧・血流による弁の変形が大動脈弁硬化症発症に及ぼす影響 —大変形した弁モデルの3次元形状とひずみ分布測定—

○権愛美里*, 藤元彰*, 田地川勉**, 大場謙吉**, 星賀正明***, 發知淳子***

*関西大学大学院 理工学研究科 [〒564-8680 大阪府吹田市山手町 3-3-35]

関西大学 システム理工学部 機械工学科, *大阪医科大学 第一内科学教室

1. 緒言

大動脈弁硬化症は動脈硬化と発症メカニズムが非常に類似しており、弁の内皮が損傷することで起きる炎症変化の一つと考えられているが、損傷に至るメカニズムは未解明である。本研究では、内皮損傷の力学的ストレス要因として、弁硬化症のリスクファクターである加齢と高血圧症に注目し、実形状大動脈基部モデルを用いた生体外模擬実験を行うことで、心拡張期(弁閉鎖位相)における弁尖モデルの変形を測定した。

2. 実験方法

心拡張期に弁尖モデルに生じるひずみの評価を行うため、心拡張期における大動脈圧と左心室圧の差圧に相当する圧力を水頭差により模擬した。0~120mmHgの範囲を約15mmHg間隔で弁尖モデルに負荷し、その際の弁尖モデルの3次元形状をDLT(Direct Linear Transformation)法により測定した。また、モデル内腔での光学的歪みの影響を除去するため、作動流体にはアクリル製血管壁モデルに屈折率を合わせた64wt%ヨウ化ナトリウム水溶液を用いた。弁尖モデルの撮影は3台のカメラの光軸が水槽壁面と垂直になるように設置し、64wt%ヨウ化ナトリウム水溶液で水槽を満たし、そこにモデルを浸すことで屈折の影響をなくした。

3. 実験結果

無負荷初期状態および圧力負荷時の3次元形状測定結果を基に、各測定点から局所的な平面を定義し、平面内2軸方向の垂直ひずみ、せん断ひずみを式(1)から求め、平面問題における最大主ひずみを式(2)より求めた。図2に $\Delta p=120\text{mmHg}$ 負荷時の最大主ひずみ分布を、図3に各圧力負荷時の最大主ひずみ分布の最大値 $\hat{\epsilon}_{\max}$ と平均値 $\bar{\epsilon}_{\max}$ を示す。図2より、120mmHg負荷時には他の弁尖と接触する部位付近では他の領域に比べひずみは小さくなり、弁尖中央部では測定領域内平均の約3倍の高ひずみが生じた。図3より、設定した全ての圧力負荷範囲において、弁尖モデルは10%以上のひずみが生じる大変形を起こし、平均値および最大値は圧力負荷の上昇に伴い増加した。

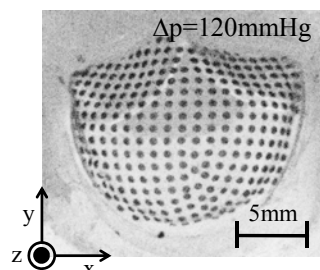


Fig. 1 Center camera image($\Delta p=120\text{mmHg}$).

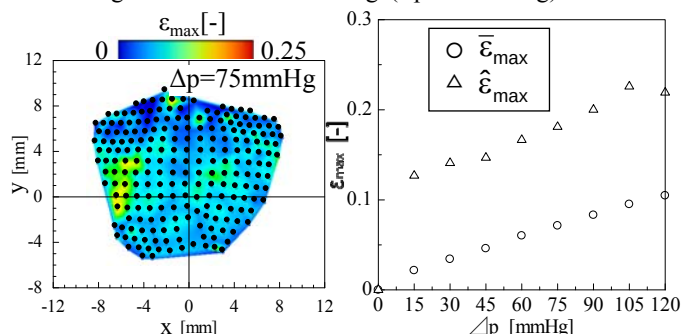


Fig. 2 Strain distribution.

$$\epsilon_x = \frac{dx}{x_0}, \epsilon_y = \frac{dy}{y_0}, \gamma_{xy} = \frac{dx}{y_0} + \frac{dy}{x_0} \quad (1)$$

$$\epsilon_{\max} = \frac{\epsilon_x + \epsilon_y}{2} + \sqrt{\left(\frac{\epsilon_x - \epsilon_y}{2}\right)^2 + \left(\frac{1}{2}\gamma_{xy}\right)^2} \quad (2)$$

Fig. 3 Δp vs $\epsilon_{\max}$.

4. まとめ

心臓の拍動に伴う弁の変形が大動脈弁硬化症発症に及ぼす影響を調べるため、心拡張期に弁尖モデルに生じるひずみ分布を測定した結果、3枚の弁尖が接触し支持されている部分(CA)では他領域に比べひずみは小さく、弁尖モデルの中央部(B)ではひずみが大きくなった。また、弁尖モデルはひずみが10%を超える大変形を起こし、圧力負荷の増加に伴い最大主ひずみの平均値および最大値は増加することがわかった。

以上の結果と、図4に示す動物実験により大動脈弁硬化症を発症したウサギの大動脈弁と比較すると、石灰化発症部位と高ひずみ領域がほぼ一致したことより、生体内で繰り返し生じる弁の伸展が内皮損傷の一要因であると示唆された。

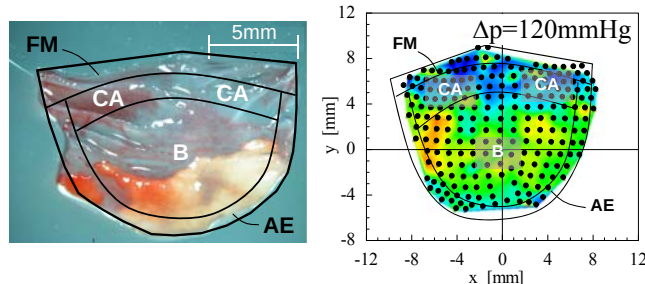


Fig. 4 Lipid deposition observed by animal experiment.

膜を通る物質輸送における電荷の影響

○秋永剛

関西大学 システム理工学部 物理・応用物理学科 [〒564-8680 大阪府吹田市山手町 3-3-35]

1. はじめに

濃度の異なる溶液が多孔質膜により隔てられている場合を考える。溶質が孔を通過できない場合には、溶質の濃度差 ΔC に比例する浸透圧 $\Delta \Pi (= \Delta CRT, R: \text{気体定数}, T: \text{溶液の絶対温度})$ によって溶媒の流れ（浸透流）が生じ、その流束 J は濾過率と呼ばれる係数 L_p を用いて、 $J = L_p \Delta \Pi$ と表される。溶質の大きさが孔より小さく膜を通過できる場合でも浸透流が生じ、このときの流束は反射率 σ を用いて $J = L_p \sigma \Delta \Pi$ と表される。溶質が孔より大きい完全半透膜の場合は $\sigma = 1$ となり、溶質が孔に比べて小さくなるにつれて値は減少し、サイズ比が0の極限で $\sigma = 0$ となる。

高分子などの溶質を含む溶液が血管壁を通る場合、電荷を持つ溶質と血管壁との相互作用が溶液の流れに影響を及ぼすことが、生体内の実験により示されている。本研究では、従来の細孔モデルを帯電の影響を含むように拡張して膜の反射率 σ の解析を行い、浸透流に対する電荷の影響について調べた。

2. 定式化

濃度の異なる希薄な2溶液が膜により隔てられている。膜は、円筒（半径 r_c ）状の細長い孔を多数もち、その表面は帯電（電荷密度 q_c ）している（図1参照）。溶質は半径 a の球で、細孔表面と同符号の電荷（電荷密度 q_s ）をもつ。すなわち、細孔と溶質が反発しあう場合を取り扱う。溶媒は、正と負のイオンを含む電解質溶液で、非圧縮性Newton流体であるとする。

細孔内に形成される静電場は、イオン分布が熱平衡状態にあると仮定した、Poisson-Boltzmann方程式に従うものとし、その電場から、細孔内の溶質のポテンシャルを位置の関数として求めた。その結果も用い

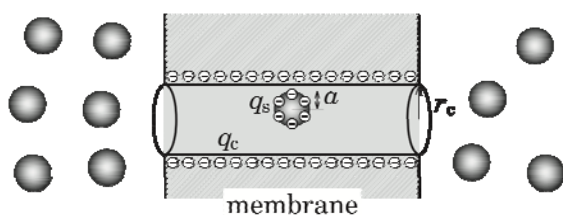


Fig. 1 The osmotic flow through circular cylindrical pores

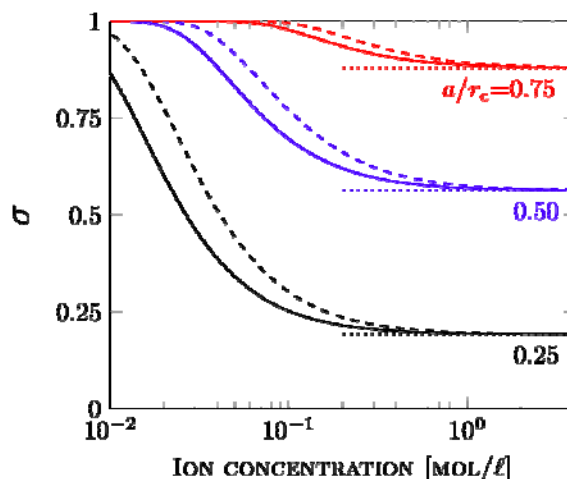


Fig.2 The reflection coefficient σ . Parameter values in the calculation are: $r_c = 10 \text{ nm}$, $q_c = -0.005 \text{ C/m}^2$, $q_s = -0.005$ (solid curve) and -0.01 C/m^2 (dashed curve).

て、細孔理論に基づき反射率 σ を溶質と孔のサイズ比(a/r_c)、表面電荷密度(q_s, q_c)、イオン濃度の関数として評価した¹⁾。

3. 結果と考察

解析結果の一例として、溶質と孔のサイズ比 $a/r_c = 0.25, 0.5, 0.75$ に対する反射率 σ の値をイオン濃度の関数として図2に示す。ただし、細孔の半径 $r_c = 10 \text{ nm}$ 、表面電荷密度 $q_c = -0.005 \text{ C/m}^2$ 、溶質の表面電荷密度 $q_s = -0.005 [-0.01] \text{ C/m}^2$ （実線[破線]）、溶液温度 $T = 310 \text{ K}$ （ 37°C ）、溶媒に含まれるイオンは一価の正負イオンのみとした。また、帯電の影響のない場合の σ の値も、それぞれのサイズ比に対して、点線により示している。

図2より、帯電の符号が同じ場合、溶質と孔のサイズ比が大きくなり、イオン濃度が薄く、また電荷密度が大きいほど、 σ は大きくなり、浸透流が促進されることが分かる。これは、イオン濃度が薄く、電荷量が大きいほど、細孔と溶質との間に反発力が強く働くので、実質的なサイズ比(a/r_c)が大きくなった場合に相当するためと考えられる。

文 献

- 1) Akinaga, T., Sugihara-Seki, M., Itano, T.: Electrical charge effect on osmotic flow through pores. J. Phys. Soc. Jpn, 77, 053401-1-05401-4, 2008.

バイオレオロジーと私

○峰下雄

帝塚山大学 [〒631-8501 奈良市帝塚山 7-1-1]

この度は私ごときものにこのような栄誉ある賞を与えて頂き誠に光栄に存じます。諸先生方の温かいご厚情に対し厚く御礼申し上げます。

さて、私にこの賞を受ける資格があるかどうか、はなはだ疑問に思っております。立派な仕事もしていませんし、学会に対する寄与の度合いも、たいしたこととはしていないと思っております。

ただ、思い起こせば、日本バイオレオロジー学会発足以来、当初から現在まで一貫して関わって参ったことぐらいが取得であるのかもしれません。

1966 年の国際高分子学会はわが国で開催された最初の国際学会と申し上げてよいと思います。東京と京都で 1 週間にわたって行われたこの会議は実に盛大でした。日本の高分子分野の著しい進歩は目を見張るものでした。特にレオロジーの分野は進んでおりましてすでに独立した分野を確立しておりました。バイオレオロジーもこの中に含まれておりました。私は当時手がけておりました PVP のレオロジー特性の話をさせて戴きました。最前列におられた MC.Gill 大学の S.G.Mason 教授が真っ先に手を上げて質問されたのをいまだにはっきりと覚えています。ちなみに私の講演の座長は東京都立大の山本三三三先生でした。その後、東京都立大学を訪れ、岡先生から血液流動のお話を伺いすることができました。血液を取り扱うには充分注意をしなければいけないこと、特に血清肝炎には注意するようにといわれたことを憶えています。

その後間もなく、岡先生、深田先生はレオロジー学会から独立してバイオレオロジー学会を設立されるご意向と伺いました。その時期、食品分野でもレオロジー研究の必要性が唱えられるようになり、大阪府立大学の松本幸男先生を中心に設立委員会がもたれ、「食品物性シンポジウム」が設立されました。第 1 回シンポジウムが実現したのは 1975 年でした。

その第 1 回シンポジウムに「生物レオロジーと食品レオロジー」と題して深田先生からご講演を戴きました。深田・貝原両先生の研究業績を伺って血液のレオロジー研究がすでにはるか手の届かないところへ進んでいることを知らされ、当時手がけていた血液レオロジーの研究は諦めました。

そして、牛乳のレオロジーを本格的に始めました。わが国では食品の味に関する研究は殆どが化学的味の分野であり、物理的な味についての研究は殆どなされ

ておりませんでした。牛乳のレオロジーの研究を続けているうちに Copley 氏からのお手紙を戴き、1977 年にニューヨークで行われたアメリカ化学会で、レオロジー分野での講演をすることになりました。A.L.Copley 教授が座長を務められて話をさせていただきました。その論文が 1978 年のアメリカ化学会誌に掲載されました。

当時、私は千里山に居を構えておりまして、岡先生は私の家のすぐ傍の公舎と東京を行き来なさっておられました。国立循環器センターの設立委員会に出席されるためにいらっしゃるとのことでした。岡先生に直接お目にかかる機会が増えました。やがて、国立循環器病センター研究所ができると研究所所長になられ、日本バイオレオロジー学会が設立されました。第 1 回年会は深田先生を年会長に東京慈恵会医科大学で 1978 年 6 月に開催されました。それ以来、本学会は殆どの場合、6 月に開催されております。設立当時、慶応大学の松信先生や川口先生などが学会のお世話をされておられました。関西では国立循環器病センターが中心で、新見先生、長谷川先生、坂西先生、南山先生などそうそうたる先生がたが活躍でした。当初、バイオレオロジー研究は血液レオロジー一色でした。

これまでに日本で国際バイオレオロジー学会が 2 度開かれております。最初は深田先生が会長を勤められ東京慈恵会医科大学で開催され、2 度目は横浜で開催されました。磯貝先生が会長を勤められました。

国際学会にはできるだけ出席しました。国際学会は世界各国いたるところで開催されました。

バンクーバー、アトランタ、バーデンバーデン、ブタペスト、トルコなど各地での日本バイオレオロジー研究者の先生方の活動には目を見張るばかりで、深く感動いたしました。特に、岡先生、深田先生がポアズイユ賞を受賞されるのを目の当たりに拝見して感激したのを覚えています。

今、こうして日本バイオレオロジーの歴史を辿ってみますと、設立当時から如何に多くの先生方がこの分野の研究と発展に努力されてこられたかが伺えます。

将来にわたって日本バイオレオロジー学会が益々発展することを心から祈っております。

私のつたない研究は諸先生方のご指導とご好意によるところが極めて大きくお蔭様で 37 年間無事努めることができました。本当に有難う御座いました。

弾性動脈瘤モデル内の壁せん断応力の測定

○前川信二*, 氏家弘**, 山口隆平***

*芝浦工業大学 大学院 [〒135-8548 東京都江東区豊洲 3-7-5]

東京労災病院 脳神経外科, *芝浦工業大学 機械工学科

1. 緒言

脳前交通動脈(ACOA)と前大脳動脈(ACA)の分岐部に発生した動脈瘤に着目し、弾性壁からなる球形動脈瘤モデルを用いて実験を行う。本研究では、拍動流・定常流で、瘤壁に生じる壁せん断応力(WSS)を比較し、弾性膜が及ぼす影響を検討する。

2. 実験方法

実験に使用するモデルを図1に示す。瘤部は直径 $D=12\text{ mm}$ 、ネック径 $N=6\text{ mm}$ とし、アスペクト比 $AR(=D/N)$ は2.0である。撮影はPIVを用い、トレーサ粒子は粒径 $15\mu\text{m}$ 、密度 1.1 g/cm^3 の蛍光粒子を使用する。定常流は3点($Re_m=435$, $Re_{max}=730$, $Re_{min}=140$)、拍動流は、無次元振動数 $\alpha=4.0$ 、周期0.9秒、無次元流量振幅 $A=0.68$, $Re=Re_m(1+A\sin\omega t)$ で定義される正弦波状の拍動流とし、代表的な $\omega t=0, \pi/2, \pi, 3\pi/2$ を測定時刻とする。なお、瘤内のWSSはネック部の両端をe点、o点とし 15° 間隔で測定し、主管上流のWSSで除し無次元化する。

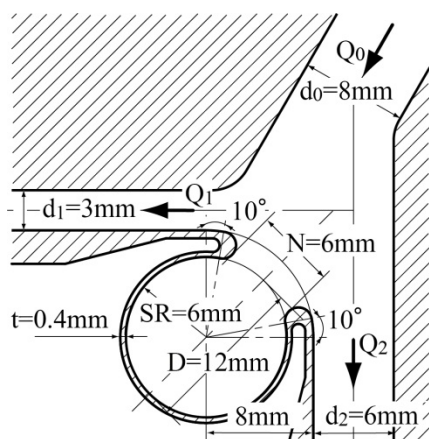


Fig.1 Sketch of experimental model($AR=2.0$).

3. 実験結果

拍動流中の速度ベクトルを図2、測定した拍動流・定常流のWSSの結果を図3、4に示す。拍動流では、時刻 $\omega t=\pi/2$ でWSSが最大となり、瘤内の流れの流入部と流出部でWSSが高い傾向が確認できる。定常流は Re 数が増加するに伴ってWSSも増加することが見られる。

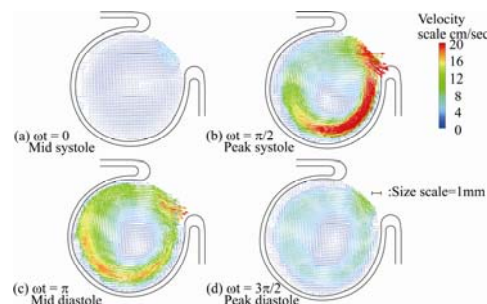


Fig.2 Velocity vector within aneurysm in pulsating flow ($Re_m=435, A=0.68, \alpha=4.0$)

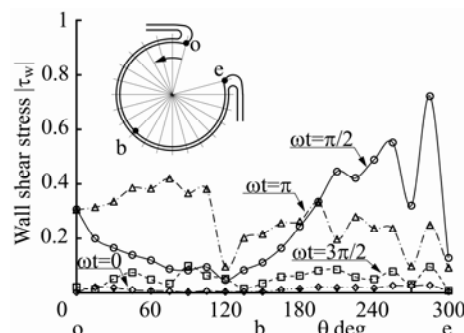


Fig.3 Distribution of wall share stress along aneurysmal wall in pulsating flow ($Re_m=435, Q_1/Q_0, \alpha=4.0, A=0.68$)

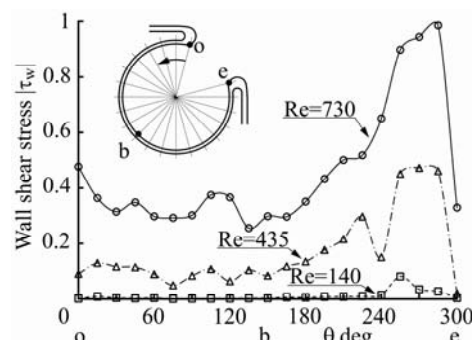


Fig.4 Distribution of wall share stress along aneurysmal wall in steady flow.

4. 考察

定常流の $Re=730$ と、この最大流量に相当する拍動流の $\omega t=\pi/2$ のWSS比較すると、定常流 $Re=730$ では WSS_{max} は0.99、拍動流 $\omega t=\pi/2$ では WSS_{max} が0.72となっており、27%減少している。このことから瘤壁弾性はWSSを緩和すると予想される。

5. 結言

定常流と拍動流では拍動流におけるWSSが減少しており、瘤壁弾性にはWSSを緩和する反応があると考えられる。

筋性動脈と弾性動脈の加齢性変化 —三要素モデルによる検討—

○岡村法宜, 南山求

広島国際大学 臨床工学科 [〒739-2695 広島県東広島市黒瀬学園台 555-36]

1. 目的

現在、動脈の弾性を表す指標として、心臓足首血管指数 (cardio ankle vascular index, CAVI) や Stiffness parameter β など利用されている。これらの指標は、心臓から測定部位までの血管の弾性を総合的に判断できるが、局所の動脈や測定部位より末梢の動脈の弾性や抵抗に関する情報は得られない。そこで今回、測定部位を起始部とした動脈系を変形 Windkessel モデル (三要素モデル) と仮定し、パルスドプラ法で測定された血流速度波形と模擬血圧波形から、筋性動脈である上腕動脈と弾性動脈である総頸動脈のコンプライアンス、血管抵抗および総末梢抵抗を算出した。これらのパラメータから、両タイプの動脈の加齢性変化について、検討したので報告する。

2. 方法

対象は、実験内容について説明を受け、実験参加に承諾した 21~23 歳の男女大学生 6 名と 40~61 歳の男 4 名、計 10 名とした。なお本研究は、愛媛県立医療技術大学研究倫理委員会の承認を得て実施した。血流速度は超音波診断装置 (アロカ, SSD-1400) で 7.5MHz リニアプローブを用いて、パルスドプラ法によりサンプルボリュームを 1mm として、動脈中心部の血流を測定し、同時に血管内径も測定した。擬似血圧波形は、総頸動脈については頸動脈波に、上腕動脈の血圧を聴診法で測定した最高血圧、最低血圧を当てはめ、上腕動脈については、聴診法で測定した最高血圧、最低血圧を以下の 5 条件に当てはめた曲線とした。

- 1) 最高血圧と最低血圧が測定結果と一致する。
- 2) 一心周期と駆出時間が測定結果と一致する。
- 3) 最高血圧時から切痕の区間は二次曲線とする。
- 4) 切痕より最低血圧まで指数関数的に低下する。
- 5) 平均血圧が、最低血圧+脈圧/3 となる。

血流波形と血圧波形を図 1a) の三要素モデルに適用し、 $Rp1$, $Rp2$, Cp を求め、各パラメータを血管の集中定数的物理的性質を表すモデル図 1b) に代入し、動脈の粘性抵抗 ($Rv1$)、総末梢抵抗 ($Rv2$)、動脈壁のコンプライアンス (Cv) を求めた。

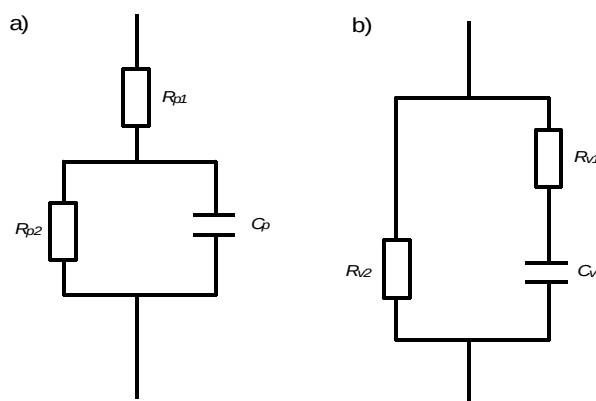


Fig.1 Three components model.

- a) The model shows the relation between the blood pressure and the blood flow.
- b) The model shows the physical nature of the arterial wall.

3. 結果

総頸動脈は若年群の方が中高年群より動脈壁のコンプライアンスは高値であった (表 1) が、上腕動脈は、中高年群の方が若年群より動脈壁のコンプライアンスは高値であった (表 2)。

Table 1 Three parameters of common carotid arterial system.

Common carotid artery	Cv [$\times 10^{-8} m^3/mmHg$]	$Rv1$ [$mmHg \cdot s/m^3$]	$Rv2$ [$mmHg \cdot s/m^3$]
Young group	98.81 ± 19.62	0.077 ± 0.032	1.14 ± 0.05
Old group	72.08 ± 32.45	0.110 ± 0.074	1.20 ± 0.08

Table 2 Three parameters of brachial arterial system.

Brachial artery	Cv [$\times 10^{-8} m^3/mmHg$]	$Rv1$ [$mmHg \cdot s/m^3$]	$Rv2$ [$mmHg \cdot s/m^3$]
Young group	7.80 ± 6.02	0.147 ± 0.054	1.13 ± 0.04
Old group	16.39 ± 10.65	0.184 ± 0.082	1.15 ± 0.06

4. 結論

弾性動脈である総頸動脈は、加齢による動脈硬化を反映してコンプライアンスは低下するが、弾性線維が乏しい筋性動脈である上腕動脈は、加齢による血圧上昇で動脈壁が受動的に拡張することによって、コンプライアンスは上昇したと考えられる。

バイパス手術における血管吻合角度の血流への影響

○姫野雅子*, 野田茂穂*, 深作和明**, 姫野龍太郎*

*理化学研究所 情報基盤センター [〒351-0198 埼玉県和光市広沢 2-1]

**理化学研究所 次世代生命体統合シミュレーション 臓器全身スケールチーム

1. はじめに

バイパス手術では、血管の吻合の位置や角度などにより吻合部位の血流の様子は大きく異なる。血管は血流に合わせて局所的にリモデリングを行うため、術後に血栓ができることもあり¹⁾、良い吻合条件を見つめることが課題となっている。

血管の内皮細胞はせん断応力(WSS)を感知する仕組みを持ち²⁾、その刺激を受けて血管径の調節を行っていることが知られている³⁾。内腔にかかるWSSはその変動分や平均値などの成分に分けられる。このうち我々は「時間平均WSS」が重要で、健康な頸動脈と腹部大動脈の形状が「局所的な時間平均WSSが高すぎる箇所がないように規定されている」ことを血流解析計算(CFD)から見出した⁴⁾。WSSが高いところでは血管径の拡大が懸念されるので、術後のリモデリングの弊害を考へて、時間平均WSSが最小となる吻合角度を求めることを目的とした。

2. 計算方法

内頸動脈部位の動脈瘤治療のため、内頸動脈を結紮し動脈瘤への血流を遮断すると同時に、総頸動脈から遠位の動脈へバイパス用の血管を繋ぐ場合がある。これをモデルケースとして取り上げた(図1)。

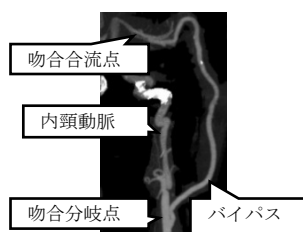


Fig.1 model case

分岐と合流の吻合点のうち、今回は分岐点のみを対象とし、吻合角度の違いによる血流の様子を調べた。図2-Aは三次元CT血管撮影から作成した吻合分岐部の形状である。図2-Bのように吻合角度をさまざま変えて作成した形状が図2-Cである。CFDには理化学研究所V-CADプログラムで開発した「VOF法とQUICK法を組み合わせた非定常流体解析システム」を用いた⁵⁾。

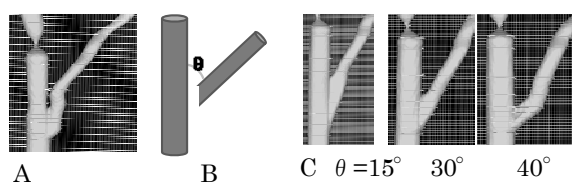


Fig.2 Examples of inosculation

3. 計算結果

図3は本検討でのCFDから得られた時間平均WSSの分布である。矢印が最も高い時間平均WSS(maxWSS)を示した地点であり、吻合部上部に現れた。図4がさまざまな吻合角度でのmaxWSSを示したものである。吻合角度の浅いケース(15°)と吻合角度40°のケースでmaxWSSが小さかった。



Fig.3 WSS distribution of model case

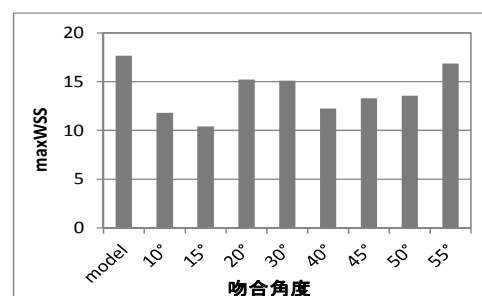


Fig.4 Result of WSS

4. 考察

WSSは血管のリモデリングの要因となっており、値が高いと径は拡張する。分岐部近辺の径が広がると逆流や渦流などが発生し、狭窄が起きやすくなる。今回の取り上げたモデルでは吻合角度を15°と40°のケースで時間平均WSSは小さかった。術後のリモデリングが少ない条件と考えられる。

5. 結論

リモデリングの要因である時間平均WSSに注目して血流解析計算を行った。その結果、WSSが小さく、そのため術後のリモデリングが少ないと考えられる吻合角度を求めることができた。

文 献

- 1) Loth, F., Fischer, P.F. and Bassiouny, H.S., Annual Review of Fluid Mechanics, (2008), Vol.40, pp367-393.
- 2) Tohda, K., Masuda, H., Kawamura, K. and Shozawa, T., Arteriosclerosis and Thrombosis, 12 (1992), pp.519-528.
- 3) Chiu, J. J., Chen, L. J., Chen, C. N., Lee, P. L. and Lee, C. I., J. Biomechanics, (2004), Vol.37, pp531-539.
- 4) Himeno, M., Noda, S., Fukasaku, K. and Himeno, R., IOP Conference Series: Materials Science Engineering, Vol.10,(2010).
- 5) Noda, S., Fukasaku, K. and Himeno, R., World Congress on Medical Physics and Biomedical Engineering, (2006), pp.36-40.

加齢による血液の凝固亢進と赤血球の凝固活性に関する検討

○貝原真*, 氏家弘**, 鈴木嘉昭*

*理化学研究所 生体反応制御材料研究チーム [〒351-0198 埼玉県和光市広沢 2-1]

**東京労災病院 脳神経外科 [〒143-0013 東京都大田区大森南 4-13-21]

1. 緒言

我々は、血流が停滞した時に起こる血液凝固（静脈血栓）のトリガーの一つとして、赤血球膜に存在する酵素（エリスロエラスターゼ-IX）によって第IX因子が活性化することで惹起する血液凝固機構のあることを報告してきた^{1,2)}。本報告では、血液凝固開始時間のレオロジー的測定と赤血球の凝固活性、特に若い（網状など）赤血球と古い（正常）赤血球の凝固活性の測定から、加齢による血液の凝固亢進について検討した。

2. 実験方法

血液は、抗凝固剤としてクエン酸ナトリウム水溶液を用いて成人の肘静脈から採血した。血液凝固の測定に際しては、塩化カルシウム水溶液を血液に添加して凝固を開始させた。血液凝固開始時間は、測定試料容器に血液凝固に対して不活性な表面を有するポリプロピレンチューブを用い、減衰振動型レオメータで測定される対数減衰率（logarithmic damping factor, LDF）の変化から求めた。

赤血球からの若い赤血球と古い（正常）赤血球の分離は、密度勾配法により行った。赤血球の凝固活性は、エリスロエラスターゼ-IX が白血球エラスターゼに類似していることから、エラスターゼに特異的な蛍光合成基質[Suc(OMe)-Ala-Ala-Pro-Val-MCA]を用いて、蛍光分光光度計により赤血球膜表面の蛍光強度を測定し評価した。

3. 実験結果

高齢者の血液の凝固開始時間は、若年者に比べて短縮する傾向にあった。高齢者から得られた赤血球の蛍光強度は、若年者の赤血球の蛍光強度に比べて高い傾向にあり、高齢者の赤血球の凝固活性が亢進している可能性が示唆された。

一個体の赤血球を若い赤血球と古い（正常）赤血球に分離し、それぞれの赤血球の蛍光強度を測定した結果を図1に示す。試験管の上部(1)に存在する若い（主に網状赤血球）赤血球の蛍光強度は、下部(3)の赤血球（正常）の蛍光強度に比べて極端に高かった。

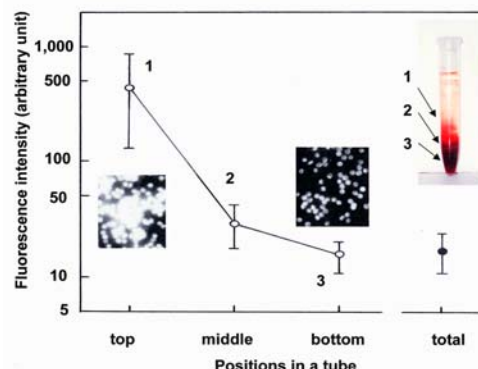


Fig. 1 Fluorescence intensity of erythrocytes separated by a density gradient method. 1, young (reticulocyte); 3, old (normal).

図中の写真は、蛍光顕微鏡で観察した赤血球膜の蛍光強度である。全赤血球の蛍光強度は、上部(1)の蛍光強度が高いと高い値を示す傾向があった。全赤血球の蛍光強度が高い場合には、PFP 中赤血球サスペンションおよび全血の凝固が早く起こることが多かった。

4. 考察

血液の凝固は、高齢で亢進する傾向にあることは良く知られており、加齢に伴い血液凝固を促進する各種凝固関連因子の濃度が増加することが報告されている。高齢者のヘマトクリット値は若年者に比べて低い傾向にあり、高齢者の赤血球の寿命が若年者に比べて若干短いことが考えられる。高齢者では血液中に若い凝固活性の高い赤血球が多く存在することが、血液凝固を亢進する原因の一つである可能性が示唆された。

今後、高齢者の赤血球の凝固活性について詳細に解析する必要がある。

文 献

- 1) Iwata, H., Kaibara, M. et al., : Purification, identification, and characterization of elastase on erythrocyte membrane as factor-IX-activating enzyme. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **316**, 65-70, 2004.
- 2) Kaibara, M. : Rheological study on coagulation of blood with special reference to the triggering mechanism of venous thrombus formation. *J. Biorheol.*, **22**, 2-10, 2009.

レオロジー特性の異なる溶液嚥下時のレントゲンビデオによる誤嚥判定

○西成勝好*, 武政誠*, Lei Su*, 道脇幸博**, 水沼博***, 大越ひろ****

*大阪市立大学大学院 生活科学研究科 [〒558-8585 大阪市住吉区杉本 3-3-138]

武蔵野赤十字病院 特殊歯科・口腔外科, *首都大学大学院 理工学研究科,

****日本女子大学 家政学部

1. 緒言

高齢社会の到来に伴い、咀嚼・嚥下困難者が増加し、高齢者の死因として誤嚥性肺炎の重要性が認識されている。誤嚥の機構は解明されておらず、誤嚥性肺炎の防止法としてとろみ剤(増粘剤)添加による方法が広く用いられている。筋電図、ビデオフルオログラフ(VF)などで、有効性が確認されている場合もあるが、適切でない粘度の液状食品は逆に誤嚥を誘発することが報告されており、各症状に合った処方が求められている。粘度調整剤と硫酸バリウムの混合による VF 用試験溶液が提案されている¹⁾。嚥下に対する食塊の体積の影響についても明確な結論が得られていない^{2,3)}。

誤嚥症状は、食品のレオロジー特性にも大きく影響されるため、個別の食品に対する症状の診断はさらに容易ではないため、適切な対策が講じられず、防止できないケースが多発していると言われている。

粘度を変えて調べた研究は多いが、ほとんどの液状食品が非 Newton 流体にもかかわらず、定性的な粘度制御により異なる粘度の液体を用いている。口腔内ずり速度は10~50/s^{4,5)}と言われているので、本研究⁶⁾では、50/sにおいて同じ粘度であるが、ずり速度依存性の異なる多糖類溶液を作成し、嚥下時の VF 観察を行った。

2. 実験方法

食品で広く用いられている増粘多糖類であるキサンタンガム及びグアーガムを熱処理し、50/sにおいて同じ粘度(2Pas)であるがずり速度依存性の異なる3種類の多糖類溶液(X, G1, G2)を作成し、VFに供した。低ずり速度での粘度は $\eta(X) > \eta(G1) > \eta(G2)$ で、Xがもっとも著しいずり流動化を示し、G2は低ずり速度領域でNewton流動に近い挙動を示した。32人の患者について座位でVF観察を行った。ヘルシンキ宣言に準拠し被験者の人権やプライバシーに十分配慮して行った。国立武蔵野赤十字病院の倫理委員会の承認を得ている。

3. 実験結果

32人の患者(平均年齢78, 男15, 女17)のうち25人は3種の溶液全てを誤嚥せずに嚥下した。誤嚥された被験者数はXで4, G1は5, G2は7であることから、低ずり速度における粘度の高い液体の方が誤嚥されにくいと考えられる。また、全ての液体を誤嚥した被験者に

おいても低ずり速度における粘度の高い液体の方が誤嚥の量が少ないように見える結果も得られた。しかし、別の被験者では必ずしもそのような順序になっておらず、むしろ高ずり速度領域の粘度の大きい試料の方が誤嚥された量が少なく見える場合もあった。

4. 考察

5mLの液量を一息で飲み込むように指示したが、被験者によってはその通りに飲めない場合もあると思われる。嚥下される以前に口腔内での滞留時間が異なるために、判定用溶液の粘度特性が変わってしまう可能性も考えられる。

5. 結言

粘度の絶対値がもっと小さい液体群、10/sにおける粘度が同じで、異なるずり流動化を示す液体群を用いた検討も必要である。

謝 辞

科研費基盤A19200051 誤嚥症状判定用溶液の作成による嚥下困難者の食のQOL向上(平成19-21年度)による財政的支援を受けたことに感謝する。

文 献

- 1) Li, M., Brasseur, J. G., Kern, M. K., & Dodds, W. J. Viscosity measurements of barium sulfate mixtures for use in motility studies of the pharynx and esophagus, *Dysphagia*, 7, 17-30, 1992.
- 2) Miller, J. L. & Watkin, K. L. The influence of bolus volume and viscosity on anterior lingual force during the oral stage of swallowing, *Dysphagia*, 11, 117-124, 1996.
- 3) Tachimura, T., Okuno, K., Ojima, M., & Nohara, K. Change in levator veli palatini muscle activity in relation to swallowing volume during the transition from the oral phase to pharyngeal phase. *Dysphagia*, 21, 7-13, 2006.
- 4) Cutler, A. N., Morris, E. R. & Taylor, L. J. Oral perception of viscosity in fluid foods and model systems. *J. of Texture Studies*, 14, 377-395, 1983.
- 5) Hasegawa, A., Otoguro, A., Kumagai, H. & Nakazawa, F. Velocity of swallowed gel food in the pharynx by ultrasonic method. *J. of Japanese Soc. for Food Sci. and Tech.*, 52, 441-447, 2005.
- 6) Nishinari, K., Takemasa, M., Su, L., Michiwaki, Y., Mizunuma, H. & Ogoshi, H. Effect of shear thinning on aspiration ~toward making solutions for judging the risk of aspiration~, *Food Hydrocolloids*, in press.

液状食塊の嚥下のシミュレーション

○水沼博*, 園村光弘*, 道脇幸博**, 西成勝好***

*首都大学大学院 理工学研究科 [〒192-0397 八王子市南大沢 1-1]

武蔵野赤十字病院 特殊歯科・口腔外科, *大阪市立大学大学院 生活科学研究科

1. 緒言

増粘剤の添加された食品が嚥下障害を軽減するために利用されている。それらの有効性は液状食塊が嚥下されるとききの流動挙動に依存している。その流動挙動は障害の病態、食塊の容積、食塊のレオロジー特性などに依存するため、それら依存性を明らかにすることにより、どのような食品を、どのような障害者に、どのように提供するかを明らかにしていくことが可能になると期待できる。本研究では、これらの点を明らかにすることを目的に、嚥下時の流動挙動をシミュレートする数値シミュレーションモデルを開発した。また、このモデルを用い、典型的な例について検討した。

2. 数値モデル

数値モデルの詳細は Sonomura¹⁾に報告されている。口腔から咽喉と食道を有限要素シェルモデルでモデル化し、嚥下動作はそれら要素節点の強制運動により再現した。食塊の流れは器官と別に設定されたオイラー座標を用いて計算された。食塊のレオロジーモデルは純粘性指数則モデルとし、それらのモデル定数は西成ら²⁾により用いられた嚥下判定食品の流動曲線から決定された。人体と食塊の計算領域は重複して設定され、両者の接触が検出されると、反発力が食塊に作用し、食塊が人体に入り込むことを防ぐ。このように食塊と人体の運動を連成して解析した。食塊の容積は 2、5、及び 10cc とした。シミュレーションの検証に用いたビデオ嚥下造影撮影は武蔵野赤十字病院の倫理委員会の承認を得て実施された。

3. 数値解析結果と考察

正常嚥下の場合、水の食塊の嚥下速度は増粘剤の添加された食塊に比べ明らかに速い。しかし、増粘剤を添加した食塊は、用いたモデル定数の範囲では速度差は小さい。更に、その速度差は食塊容積が小さくなるほど減少した。

障害者の例として、(1)喉頭の挙上と喉頭蓋の倒れ込みを欠く障害、(2)喉頭の挙上と喉頭蓋の倒れ込みが早期に終わってしまう障害、の2例を対象としてシミュレーションを行った。(1)の場合、水の食塊は喉頭蓋の周囲で飛沫に分裂し、一部が気道に進入する誤嚥が生じた。増粘剤が添加された食塊の場合、10cc では梨状

窩から喉頭内部に誤嚥される。2cc の食塊の場合、喉頭蓋谷に残留した後に、誤嚥が生じた。5cc の食塊の場合、梨状窩に沿って引き延ばされるようにして嚥下され、他の場合と異なり、誤嚥は生じなかった。(2)の嚥下動作が食塊の流れに対して早期に終了してしまう場合、喉頭蓋が倒れ込んで喉頭を覆った後、元の位置に戻るとき、喉頭蓋の周囲に残留している食塊の一部を喉頭内へ誤嚥させてしまう。

4. 結言

液状食塊の嚥下流動をシミュレーションするための数値モデルを作成した。シミュレーション結果は、単に食塊のレオロジー特性だけでなく、食塊の容積、障害の病態により誤嚥の過程が異なる結果を示した。また、条件によって、障害があっても誤嚥せずに食塊を嚥下できる例も得られた。今後、より多くの症例と比較検討を進めることにより、嚥下障害者にも安心して口から食事できる条件を確立していきたい。

謝 辞

数値モデル作成にあたり、ランスモア（株）に協力いただいた。また、科研費基盤 A19200051 誤嚥症状判定用溶液の作成による嚥下困難者の食の QOL 向上（平成 19-21 年度）の支援を受けた。これらの支援に感謝致します。

文 献

- 1) Sonomura, M., H. Mizunuma, T. Numamori, H. Michiwaki and K. Nishinari, Numerical simulation of the swallowing of liquid bolus, *J. Texture Studies*, in press
- 2) Nishinari, K., Takemasa, M., Su, L., Michiwaki, Y., Mizunuma, H. & Ogoshi, H. Effect of shear thinning on aspiration ~ toward making solutions for judging the risk of aspiration~, *Food Hydrocolloids*, in press

シミュレーターによる誤嚥機構解明と ビデオフルオログラフィーによる誤嚥症例の検討

○道脇幸博*, 西成勝好**, 水沼博***, 大越ひろ****

*武蔵野赤十字病院 特殊歯科・口腔外科 [〒180-8610 東京都武蔵野市境南町 1-26-1]

大阪市立大学, *首都大学東京, ****日本女子大学

1. 緒言

嚥下障害者であっても食品の物性を変えることで、安全に嚥下できることはよく知られている。しかし、食品のどのような性質が寄与しているのかは明らかでない。今回は、定常ずり速度の相違による誤嚥の重症度の増減を提示し、ロボットやシミュレーションによる誤嚥機構解明に関する研究と関連づけて嚥下障害に関連する食品側の要因を検討する。

2. 実験方法

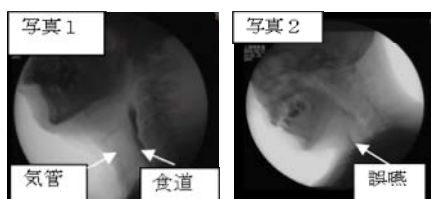
本研究は武蔵野赤十字病院倫理委員会の承認の元におこなった。

対象は嚥下造影検査を行った 32 例（男性 15 例、女性 17 例）である。検査食は粘度が 50/s では同一でずり速度依存性の異なる多糖類溶液に X 線造影剤（イオパミドール）を加えた検査食 3 種とした。検査結果の評価は日本摂食・嚥下リハビリテーション学会の VF 評価基準に従って、口腔～咽頭部の残留、誤嚥のリスク等を評価した。

3. 実験結果

(1) 嚥下造影検査の結果

32 例中、全ての検査食で誤嚥しなかった症例は 25 例、検査食 1, 2, 3 のいずれかで誤嚥した症例は 7 例であった。7 例中、検査食 1 を誤嚥した症例は 5 例、検査食 2 を誤嚥した症例は 7 例、検査食 3 を誤嚥した症例は 4 例であり、全ての検査食を誤嚥した症例は 2 例であった。全ての検査食を誤嚥することなく嚥下できた症例では、検査食は口腔や咽頭に残留することなく、全量が食道に送り込まれた（写真 1）。一方、誤嚥した症例では、検査食の一部は食道に一部は気管内に侵入していた（写真 2）。



また全てを誤嚥した症例であっても検査食の種類によって、誤嚥量は異なっていた。

(2) 嚥下ロボットと CG による食品の流れの画像化

医療画像のデータを元に、嚥下運動を再現したロボットと CG を製作して誤嚥のバイオメカニクス解明する研究を行っている。今回の嚥下造影検査の結果をもとに、主に CG 上で食品の流れを画像化して、粘度のずり速度依存性の相違が誤嚥のリスクの増減に与える要因を検討した。

まず、口腔から咽・喉頭、食道の空間を立体画像化して、静止の状態で液状食品を流した。その結果、食品は咽頭から喉頭を経て気管に直接流れた（誤嚥）。次いで嚥下運動を起こした場合は、食品の移動に伴って喉頭は閉鎖され、食品は食道に誘導された。

4. 考察

本研究の結果から、食品の粘度のずり速度依存性が嚥下障害のリスクの増減に関連することが明らかとなった。しかし、特定の検査食で誤嚥の頻度が高かった訳ではなかったため、単一の要因ではなく、食品側の他の因子、また患者側の障害の型などが関連していると考えられた。このことを開発中の嚥下ロボットや CG によって画像化した。

本研究によって、粘度のずり速度依存性が嚥下障害のリスクに関連することは明らかとなったが、どの型の嚥下障害に対して粘度のどの程度のずり速度依存性の液体が最適かについては、嚥下障害の病態と関連づけながら、今後さらに研究していく必要がある。

5. 結言

粘度のずり速度依存性の相違による誤嚥のリスクの増減を臨床的に評価した。その結果、粘度のずり速度依存性の相違によって誤嚥のリスクは異なっており、患者状態に応じて食品の粘度のずり速度依存性を変えることで嚥下障害者の QOL を向上させることができると考えられた。

とろみ調整食品のレオロジー特性と食の QOL 向上に寄与する指標

○大越ひろ*, 岩崎裕子*, 高橋智子**, 道脇幸博***, 西成勝好****

*日本女子大学 家政学部 [〒112-8681 東京都文京区目白台 2-8-1]

神奈川工科大学 応用バイオ科学部, *武蔵野赤十字病院 特殊歯科・口腔外科,

****大阪市立大学大学院 生活科学研究科

1. 緒言

嚥下が困難な患者に必要な不可欠なとろみ調整食品（とろみ剤）は、多くの企業が開発を行い、販売している。とろみ調整食品の利用に際しては、液状食品（飲料）に添加して適切な粘性率になるように調整する必要がある。しかし、その目安（評価）となるトロミ表現（多くは粘稠な液状食品）は販売企業により異なる。適切なとろみの状態の検討については、実際に飲み込む（嚥下）ことで評価（経口評価）している。しかし医療現場では、介助者などが攪拌などにより評価（非経口）している場合が多く、とろみ調整食品を添加する量についても、個人の経験に依存するところが多い。そこで、患者の食の QOL の向上に寄与することを目的とし、非経口による感覚評価を行い、的確な指標（モデル食品）の検討を試みた。すなわち、とろみ調整食品を調整するには必ず攪拌動作を行うという点に着目し、非経口による感覚評価を行い、レオロジー特性との関連性を検討した。

2. 実験方法

モデル粘稠食品の特徴を捉えるため、市販されている 16 種の粘稠食品を試料とした。とろみ調整食品は市販されている中から 16 種を選定した。また、基準として、企業が提案するモデル粘稠食品の中から「はちみつ」及び「プレーンヨーグルト」を取り上げ、比較評価する対照として、表示してある範囲の添加濃度（2-6%）でとろみ調整食品添加試料を調整した。モデル粘稠食品およびとろみ調整食品添加試料について、レオロジー特性として、テクスチャー特性の硬さ、付着性、凝集性、回転粘度計を用いて、ずり速度 1/s および 50/s における粘性率の測定を行い、検討した。また、「はちみつ」及び「プレーンヨーグルト」試料と、とろみ調整食品添加試料との間で非経口による感覚評価¹⁾を行った。すなわち、①容器を傾けた時の流れやすさ、②攪拌した時の抵抗、③液切れの状態、の 3 項目について行った。これらの評価は、ヘルシンキ宣言に準拠して被験者の人権やプライバシーに十分配慮して行った。また、日本女子大学の倫理委員会の承認を得ている。

3. 実験結果

レオロジー特性において、とろみ調整食品添加試料とモデル粘稠食品は、硬さと付着性、硬さと凝集性の二次元グラフの関係において同様の傾向を示した。しかし、ずり速度 1/s における粘性率とずり速度 50/s における粘性率の二次元グラフの関係においては、とろみ調整食品添加試料とモデル粘稠食品では異なる傾向が示され、モデル粘稠食品ではニュートン流動を示すものが 5 試料観察された。また、非経口による感覚評価では、「はちみつ」はトロミ調整食品添加試料とは全く異なる評価を示した。

4. 考察

硬さと付着性、硬さと凝集性の二次元グラフでは、トロミ調整食品添加試料及び「はちみつ」、「プレーンヨーグルト」のいずれもほぼ同範囲に分布しており、ニュートン流体である「はちみつ」と、非ニュートン流体である「プレーンヨーグルト」及び、とろみ調整食品添加試料を区別することは困難であった。しかし、ずり速度の異なる 2 点間以上の粘性率を測定することで、ニュートン流体を区別することが可能となった。

5. 結語

嚥下困難な人に必要な不可欠なとろみ調整食品を添加した飲料は調整時に攪拌動作が伴うことから、レオロジー特性として、テクスチャー特性のみではなく回転粘度計による測定を加えて指標となるモデル食品を選定することの重要性が示唆された。

謝 辞

科研費基盤 A19200051 誤嚥症状判定用溶液の作成による嚥下困難者の食の QOL 向上（平成 19-21 年度）による財政的支援を受けたことに感謝する。

文 献

- 1) F. Shama, P. Sherman : Identification of Stimuli Controlling the Sensory Evaluation of Viscosity. II. Oral Methods, Journal of Texture Studies, 4, 111-118, 1973.

高齢者におけるトロミ調整食品が嚥下に与える影響

○高橋智子*, 二藤隆春**, 田山二郎***, 大越ひろ****

*神奈川工科大学 栄養生命科学科 [〒243-0292 神奈川県厚木市下荻野 1030]

東京大学 医学部, *国立国際医療センター 耳鼻咽喉科, ****日本女子大学 家政学部

1. 緒言

嚥下造影剤に市販トロミ調整食品を添加することにより、テクスチャー特性、流動特性の異なる3種類の粘稠ゾル試料を調製した。健康な高齢者により、3種類の粘稠ゾル試料に対して、嚥下造影検査と同時に飲み込みやすさの官能評価を行い、飲み込み特性と嚥下動態の関係を検討した。

2. 実験方法

造影剤として非イオン性ヨード造影剤、市販トロミ調整食品としてキサンタンガムを主原料とするトロミ調整食品を用いた。粘稠ゾル試料は $2 \times 10^2 \text{ N/m}^2$ (嚥下造影剤単体)、 $4 \times 10^2 \text{ N/m}^2$ (攪拌したプレーンヨーグルト状)、 $1.6 \times 10^3 \text{ N/m}^2$ (マヨネーズ状) の3段階の硬さに調製した (圧縮率 66.7%、圧縮速度 10mm/sec)。物理学的特性として、テクスチャー特性、流動特性、動的粘弾性の測定を行った。被験者は健康高齢者 (男性7名、女性8名、65~85歳) とし、嚥下造影検査終了直後に飲み込み特性の官能評価を行った。評価項目は口中におけるべたつき感、食塊の口から喉への入りやすさ、喉から先の通りやすさの3項目であり、評価方法は順位法を用いた。なお、東京大学医学部倫理委員会に申請し、実施許可を得た。また、個人および医療機関の情報についてはその秘密を厳守した。

3. 実験結果

粘稠ゾル試料は硬くなるに従い、付着性は大きくなった。 $2 \times 10^2 \text{ N/m}^2$ 試料、 $4 \times 10^2 \text{ N/m}^2$ 試料で凝集性は $0.97 \sim 0.99$ は示したが、最も硬い $1.6 \times 10^3 \text{ N/m}^2$ 試料で凝集性は 0.82 ± 0.03 となり、他の試料よりも有意に小さいものとなった。

3種類の試料のずり速度と粘性率の関係 (図1) より、硬さが大である粘稠ゾル試料であるほど粘性率も大きく、流動しにくいことが示された。 $2 \times 10^2 \text{ N/m}^2$ 試料の粘性率は、ずり速度に関わらず一定であった。このことより、造影剤単体試料はニュートン流体であることがわかる。また、動的粘弾性の結果より、粘稠ゾル試料は硬くなるに従い、貯蔵弾性率は大きくなった。

健康高齢者による官能評価結果は、 $1.6 \times 10^3 \text{ N/m}^2$ 試料は、 $2 \times 10^2 \text{ N/m}^2$ および $4 \times 10^2 \text{ N/m}^2$ 試料に比べ、有意に口中においてべたつき、口からのどへ通りにくく、ま

た、のどから先も通りにくいと評価された。一方、いずれの評価項目においても、 $2 \times 10^2 \text{ N/m}^2$ 試料と $4 \times 10^2 \text{ N/m}^2$ 試料の間には有意差は認められなかった。

嚥下造影検査では、最も軟らかく、ニュートン流動を示す $2 \times 10^2 \text{ N/m}^2$ 試料は、トロミ調整食品を添加した他の試料に比べ、嚥下反射惹起タイミング、すなわち舌骨が急速前方運動 (急速相) を開始してから食塊が梨状陥凹に到達するまでの時間が有意に短縮しており、加えて、むせを伴わない誤嚥が2名の被験者に認められ (図2)。また、食塊形成して咽頭までの移動時間である口腔移送時間は、 $1.6 \times 10^3 \text{ N/m}^2$ 試料が $2 \times 10^2 \text{ N/m}^2$ 試料よりも、有意に延長した。

4. 考察

本研究の結果より、市販トロミ調整食品を添加し、液状食品にとろみを付与することで、被験者の嚥下反射惹起の遅延を補うことができることが示された。また、付着性、粘性率などが大きく、官能評価においても有意に口中でべたつきと評価された $1.6 \times 10^3 \text{ N/m}^2$ 試料の口腔移送時間は延長した。このことより、口腔期の移送時間は、粘稠ゾル試料の物理的特性、官能評価結果を反映していることが示された。

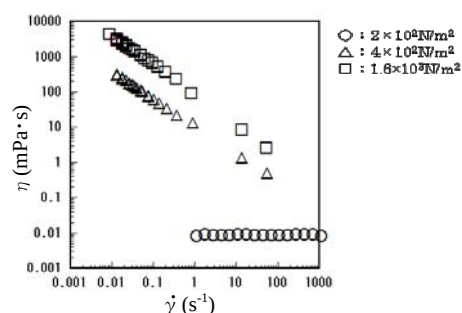


Fig.1 Apparent viscosity of samples.

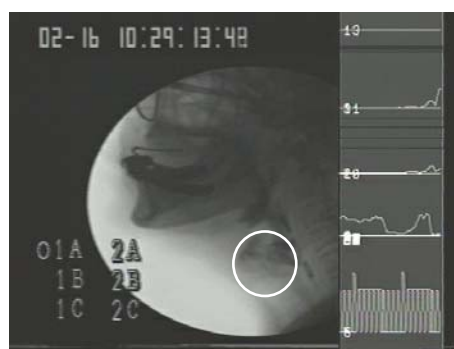


Fig.2 Example of misswallowing.

テクスチャーからみた魚肉練製品の咀嚼性の位置付け

山下瞳*, Juan Qian**, ○市川寿***

*長崎大学 水産学部, **上海海洋大学 食品学院

***長崎大学大学院 水産・環境科学総合研究科 [〒852-8521 長崎県長崎市文教町 1-14]

1. 緒言

我が国の魚肉練製品は、伝統的に、二次機能として高い弾力の付与に価値を置き発展してきた。しかし、国民の長寿命が実現した結果、高齢化社会を迎えた現在では、咀嚼し易いテクスチャーの付与も強く求められている。すでに1980年代にはソフト化が進行し、さらにここ数年で介護食として一段と柔軟なテクスチャーを有した製品が販売されるに至っている。これまで我々は、咀嚼し易いテクスチャーを付与するための魚肉ゲル形成手法の検討を行ない、油脂を用いた具体的な調製法^{1,2)}を報告したが、比較的限られた地域において従来から親しまれている広義の魚肉練製品の中には柔軟な物性を有すると思われるものが少なくないことから、それらのテクスチャーを明らかにする事も重要だと考えた。本報告では、穀物や全卵等を魚肉と混合して調製される魚肉練製品を集め、物性のプロファイリングを行なった。

2. 実験方法

市販の魚肉練製品（一般蒲鉾類 13 品及び、豆腐、全卵、畜肉等併用品 26 品）と、ユニバーサルデザインフード規格区分 2 相当の介護食 3 品について、押込破断試験と引張破断試験を行ない、物性の特徴を分析した。

3. 実験結果と考察

破断応力と破断時変形量の関係(図 1)より, 一般的な蒲鉾類は押込破断強度で 10^5N/m^2 オーダー後半の値を有し破断強度が極めて高いものの, はんぺん及び豆腐または全卵を併用した魚肉練り製品の中にはその値がワンオーダー低く, 区分 2 相当介護食と同等の破断強度であるものがみられた. これらは引張破断強度値も

介護食と類似していた.

さらにこれらの低破断強度の製品は、図 2 に示したように、押込破断エネルギーが 250J/m^2 以下、見掛けのヤング率も $5 \times 10^5 \text{N/m}^2$ と小さく、咀嚼し易い事が示唆された。

これらの結果から、魚肉を原料とした市販練製品は、穀物や全卵等を併用したものを含めるとそれらの破断特性は著しく多様であることが示唆された。高齢者向け食品としては、蒲鉾は一般に弾力が高く、咀嚼後微小片となってまとまりにくいいため、誤嚥に繋がる事もあり食事から外される事例をみる。しかし、穀物や全卵等を併用した広義の水産練製品には、介護食として設計された食品と同等の破断強度の製品がある事については十分周知されるべきである。一方で、高弾力の蒲鉾は、子供の咀嚼力育成に役立てられる例もあり、摂取によって、咀嚼力等高齢者の摂食機能低下を予防できる可能性もある³⁾。このように広範囲に渡っている多様な魚肉練製品の物性特性を区分し表示する制度を確立させ、製品の多様性を保ったまま、消費者が咀嚼嚥下能にあわせて選択を容易に成し得るよう、施策が必要だと考えられる。

文献

- 1) 森尾真美, Panggat E., 田口理加, 山口敦子, 市川寿, 進藤穰: テリーヌ様食品としての魚肉の原料適性, 平成 13 年度日本水産学会九州支部大会要旨集, p.10, 2002.
- 2) 香月俊裕, 小谷寿子, 市川寿, Panggat E., 進藤穰: 咀嚼・嚥下しやすい魚肉ソフトゲルの調製, 平成 14 年度日本水産学会九州支部大会要旨集, p.18, 2003.
- 3) 窪田金次郎: 噛む効用, 日本咀嚼学会編, 日本教文社, 1997.

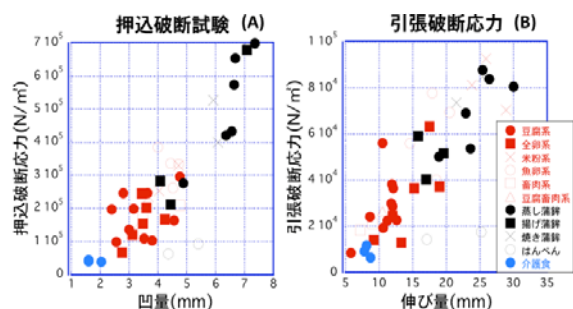


Fig.1 Breaking force and the follow of fish pastes on the market.

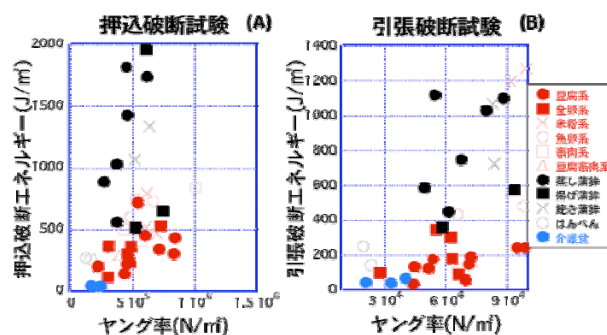


Fig.2 Breaking energy and Young's modulus of fish pastes on the market.

キャッサバデンプン配合麺の高齢者による咀嚼性

○江口智美, 吉村美紀

兵庫県立大学大学院 環境人間学研究科 [〒670-0092 兵庫県姫路市新在家 1-1-12]

1. 緒言

近年, 食感改良の目的で, 麺に様々なデンプンを配合する工夫が見られる. 先行研究¹⁾において, 小麦粉麺を対照に, ゆで時間を短縮しむらし調理を導入した調理方法のもと, キャッサバデンプン配合麺の, 貫入試験及び若年者を対象とした官能評価等を行い, 調理方法と調理時間の違いによる嗜好性への影響を検討した. その結果, キャッサバデンプン配合麺は, 加熱調理時間の調整により軟らかさの調整がしやすく, 麺の中心部は弾力に富んで軟らかいが, 表面部は滑らかで粘着性が少ない食感を示す傾向が確認された.

現在, 少子高齢化の急激な進行に伴い, 咀嚼嚥下能力が低下した高齢者用食品への要求が高まっている²⁾. これらのことをふまえ, 本研究では, キャッサバデンプン配合麺の, 高齢者用食品への適性を検討する目的で, 中年及び高齢者における咀嚼性及び嗜好性の検討を行った.

2. 実験方法

試料は, 小麦粉麺(東亜食品工業(株)製)を 10 分間ゆでた MG10, キャッサバデンプン配合麺(東亜食品工業(株)製)を 10 分間ゆでた CA10, キャッサバデンプン配合麺を 13 分間ゆでた CA13 の, 3 種類のゆで麺を用いた. 測定は, 貫入試験, 中年及び高齢者 6 名(65.8±9.3 歳, 男性 1 名・女性 5 名)における筋電位測定及び官能評価の 3 項目を行った.

3. 実験結果

(1)貫入試験

貫入歪 0.6 及び 0.8 では, CA10 は, MG10 よりも大きな貫入力を示した. CA13 は, MG10 及び CA10 よりも小さな貫入力を示した.

(2)筋電位測定

咀嚼開始から嚥下までの咀嚼回数及び咀嚼時間は, CA10 が CA13 よりも有意に高い値を示した. その間の総筋活動時間は, MG10 及び CA10 で, CA13 よりも有意に長かった. 総筋活動量は, いずれの試料間にも有意な差が見られなかった.

(3)官能評価

中芯感の識別項目でのみ, CA10 が CA13 よりも有意に高い値を示した. 総合的なおいしさの項目について

は, 有意な差は得られなかったが, CA10, CA13, MG10 の順に好まれる傾向が示された.

4. 考察

貫入試験における MG10 と CA10 の貫入力の違いは, キャッサバデンプン配合麺が示す高い粘弾性によるものと推察された. CA10 と CA13 の貫入力の違いは, ゆで時間の増加によりキャッサバデンプン配合麺が軟らかくなったことを示した.

筋電位測定の咀嚼回数及び咀嚼時間より, CA13 は CA10 よりも食べやすいと推察されたが, 官能評価による食べやすさの項目では, 有意な差は得られなかった. このことから, 筋電位測定における咀嚼回数及び咀嚼時間は, 食べやすさが現れる指標として多くの場合利用されているが, 麺においては, 中芯感による噛みごたえの影響も受けたものと推察された. そして, CA10 は CA13 と食べやすさは変わらないままで, 咀嚼回数と咀嚼時間が増えるため, 口中で食感を味わう時間が増え, 官能評価における総合的なおいしさの評価が, CA10 で高い傾向を示したものと推察された. 同時に, CA10 は, 咀嚼機能低下の防止にも役立てられる可能性が示唆された.

また, 総筋活動時間が CA13 において短かったことは, 官能評価における中芯感の識別値が有意に低かったことと関係があると推察された.

5. 結言

キャッサバデンプン配合麺の中年及び高齢者における咀嚼性及び嗜好性の検討により, CA10 が食べやすくかつ嗜好性も高い傾向にあると推察された. キャッサバデンプン配合麺の, 高齢者用食品への適性の可能性が示唆された.

文 献

- 1) 江口智美, 山崎理加, 吉村美紀: キャッサバデンプン配合麺のむらし調理による食感と消費電力量に及ぼす影響, 日本調理科学会誌, 投稿中.
- 2) 神山かおる: 高齢化に対応した食品の咀嚼・テクスチャー研究, 農林水産技術研究ジャーナル, 32-5, 39-43, 2009.

本葛澱粉ゲルの力学特性に及ぼすショ糖とゴマ油添加の影響

○佐藤恵美子*, 若井友梨恵**

*新潟県立大学 健康栄養学科 [〒950-8680 新潟市東区海老ヶ瀬 471]

**県立新潟女子短大 専攻科 食物栄養専攻

1. 緒言

ゴマ豆腐は油と葛澱粉を用いるのが特色であり、麻腐（まふ）と呼ばれる。ゴマ豆腐及び葛澱粉ゲルの力学特性に及ぼす油脂添加の影響については、澱粉の老化を遅延させることをすでに報告した¹⁾。一方、地方によってゴマ豆腐は甘みが強くお菓子のような要素もあるので、ゴマ豆腐の力学特性に及ぼすショ糖添加の影響についても検討した。本実験においては、本葛澱粉ゲルの力学特性におけるショ糖添加の影響と油脂添加の影響について検討するために、ショ糖の添加量を変えて試料を調製し、静的粘弾性測定、破断測定、および5日間のコンプライアンス値の変化により短期老化挙動の変化、さらに官能検査を行った。

2. 実験方法

本葛澱粉（古希、純度 99.9%、amylose (AM) 20%、amylopectin (AP) 80%）は（株）井上天極堂より入手して用いた。ショ糖は、（株）パールエース製グラニュー糖である。ショ糖添加の影響では、ショ糖無添加(S0)、ショ糖 10g(S10) (2.2%) 添加、ショ糖 20g(S20) (4.4%) 添加、及びショ糖 30g (S30) (6.4%) 添加した。油脂（かどや製油製）添加の影響では、ゴマ油無添加(O0)、ゴマ油 5g (O5) (1.1%)、10g (O10) (2.2%)、15g (O15) (3.3%) 添加した。本葛澱粉 40g に 400g の水と共にショ糖、および油脂を添加し、電熱器により 250rpm、25 分間 93℃ で攪拌加熱した。熱い懸濁液をテフロン製円柱成型器（直径 20×高さ 20mm）に入れ、10℃で 15 時間放置後ゲル化させた試料をクリープ、破断測(RE-3305、山電、円柱型プランジャー（φ40mm）および官能検査に供した。

3. 実験結果および考察

ショ糖無添加葛澱粉ゲルにゴマ油の添加量を増加させた試料について 10℃で 5 日間保存した場合のクリープコンプライアンスの経時変化については、ゴマ油添加量の増加に伴ってコンプライアンス値は大きくなり、ゲルは軟らかくなり、5 日間の貯蔵(10℃)に伴って、コンプライアンス値は低下し、硬くなった。ゴマ油添加量 15g(O15)の葛澱粉ゲルが最も老化しにくい。図 1 に調製後 1 日目のショ糖 20g 添加本葛澱粉ゲルに対する

ゴマ油の添加量を増加した場合の破断歪率の 5 日間の変化を示した。調製後 1 日目では、破断歪率は 61%~63%の間でゴマ油の添加量が多くなる程小さいが、5 日目では大きくなり、ゴマ油 15g 添加 (O15) 葛澱粉ゲルが最も大きく (57%)、破断応力も小さく、ゴマ油は老化抑制効果があると考えられる。

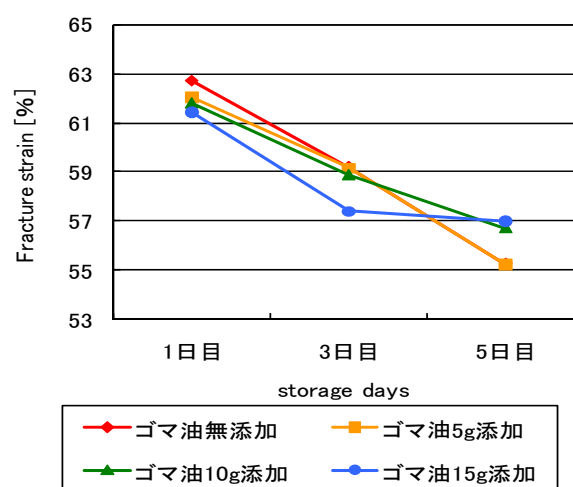


Fig. 1 Effect of mechanical properties of kudzu starch gel on added oil.

5. 結言

ショ糖の添加は、ゲルを安定化させ、壊れにくいゲルになり、ゴマ油の添加は、軟らかく、壊れやすいゲルになる²⁾と考えられた。ショ糖添加よりも、ゴマ油添加の方が澱粉の老化に及ぼす影響は大きいと考えられる。官能検査の結果から、ショ糖 20g (S20) 添加試料は、なめらかで最もおいしいと評価されたことより、適度なゴマ油の添加とショ糖の添加の相互作用が本葛澱粉ゲルのテクスチャーに影響し、好ましいテクスチャーに影響するものと考えられた。

文 献

- 1) 佐藤恵美子, 山保智美: 日本レオロジー討論会発表: ゴマ豆腐の力学特性に及ぼすショ糖添加の影響, (2009).
- 2) E.SATO,Y,SHINBO,M.MASAHIDE,K. NISHINARI : The Effect of Sesame Oil Contents on the Mechanical Properties of Gomatofu ; *J of the society of Rheology, Japan* 33,101-108(2005).

溶融チョコレートの流動特性に対するショ糖脂肪酸エステルの影響

○金田勇, 伊藤桃, 水戸歩美

酪農学園大学 食品科学科 [〒069-8501 北海道江別市文京台緑町 582]

1. 緒言

チョコレート加工食品の製造において溶融チョコレートのレオロジーコントロールは重要な課題である。これまで経験的に溶融チョコレートに乳化剤を添加することでその流動特性が変化することが経験的に知られていたが、乳化剤の作用機構については明らかになっていない。溶融チョコレートは固体分散系と考えることができるが、現実のチョコレートはカカオマスや砂糖など複雑な形状の分散体が含まれており、その流動特性を定量的に評価することは困難である。そこでカカオバターに球状シリカを分散させたモデルチョコレート系を構築し、この系を用いて粘度挙動を定量的に解析することを試みた。

2. 実験材料および方法

カカオバターは日新化工(株)製のガーナカカオバターを球状シリカ粒子は EXCELICA(トクヤマ)を、乳化剤としてリョートーシュガーエステル ER-290(三菱化学フーズ)をそれぞれ精製せずそのまま用いた。EXCELICA はほぼ真球状でそのサイズの分布も小さいことを SEM 観察より確認した。

モデルチョコレート系：シリカ微粒子の体積分率(ϕ)が 0.35～0.55 になるようにカカオバターおよび EXCELICA を秤量し、混合融解してモデルチョコレート系とした。シリカ微粒子の体積分率は(1)式に従って決定した。

$$\phi = \frac{w_2(1/\rho_2)}{w_1(1/\rho_1) + w_2(1/\rho_2)} \cdots \cdots (1)$$

ここで w および ρ はそれぞれカカオバターおよびシリカ微粒子の秤量値および密度である。カカオバターとシリカ粒子の密度はピクノメーターを用いて決定し

た。ER-290は連続相であるカカオバターに対して0.5～1.5wt%で添加した。

レオロジー測定：回転式レオメータ ARES (TA インストルメント) にパラレルプレート (25mm ギャップ 0.5mm) を装着してずり速度 $0.05 \sim 150 \text{ s}^{-1}$ の範囲で定常流粘度を測定した。測定温度はカカオバターが十分溶融する 50°C で行った。

3. 実験結果および考察

モデルチョコレート系は固体分散系に見られる典型的な流動パターンである低ずり速度域および高ずり速度域でニュートン流動様の平坦部が観察された。ここでは高ずり速度域の平坦部の粘度を η_∞ として、この測定値を用い、Krieger-Dougherty 式(2)を用いて分散質であるシリカ微粒子の $[\eta]$ を評価した。

$$\frac{\eta_\infty}{\eta_s} = \left(1 - \frac{\phi}{\phi_m}\right)^{-[\eta]\phi_m} \cdots \cdots (2)$$

ここで最密体積分率を Random close packing の限界値である 0.634 に固定して $[\eta]$ を未知パラメータとして非線形最小二乗法で決定した。図1に ER-290 の添加量による $[\eta]$ の変化を示す。球体の $[\eta]$ は理論的には 2.5 であるが、そのアスペクト比により値は変化する。すなわち分散体のアスペクト比が大きければ 2.5 を上回る値を示す。今回の結果より、乳化剤未添加では 3.9 程度であった $[\eta]$ が ER-290 を添加することでその値が低下したことからアスペクト比が低下した、すなわち球体に近づいたということが読み取れる。すなわち乳化剤未添加では分散性が悪く、floculation が起こって分散体としてのアスペクト比が大きくなっていると考えられる。そこに ER-290 を添加することで分散性が向上し、floculation が解膠して $[\eta]$ が低下したと考えられた。

4. 結言

ショ糖脂肪酸エステル添加による溶融チョコレートの見かけ粘度の低下は分散体の分散性の向上に起因するものであることが予想される。

謝 辞

三菱化学フーズ株式会社および株式会社トクヤマから実験材料を提供いただいた。ここに感謝の意を表します。

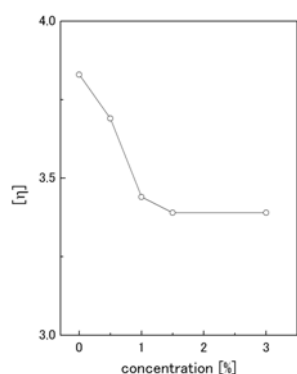


Fig.1 Relationship between doped ER-290 concentration and viscosity.

アミロイド線維溶液の流動複屈折と線維の弾性率

須磨俊輔*, 斉藤有奈*, 古澤和也**, 福井彰雅*, ○佐々木直樹*

*北海道大学大学院 生命科学院 [〒060-0810 札幌市北区北 10 条西 8 丁目]

**北海道大学大学院 先端生命科学研究院

1. 緒言

アミロイド線維とは変性タンパク質が巻戻りにより到達する非天然型線維構造である。多くのタンパク質やペプチドがアミロイド線維を形成することから、アミロイド線維はタンパク質の種類によらない、普遍的な構造形態であると考えられる。その構造は線維軸に垂直に β シートが規則正しく並ぶクロス β 構造を持つ。この構造から、アミロイド線維溶液は、強い流動複屈折を発生することが予測される。我々は、 β -lactoglobulin (β L)を前駆体とするアミロイド線維溶液の伸長流動場に対する応答を調べ、強い流動複屈折を観測した。その複屈折強度は歪速度が 0 近傍から増加し始め、パターンは流動場全体で一様な複屈折がみられた。この伸長流動複屈折挙動は、アミロイド線維粒子が剛体・棒状であることを示唆する。アミロイド線維の弾性率は、個々の線維ごとの測定が難しく、シミュレーションで予想されるものとは必ずしも一致しない。本研究では、回折 X 線の温度因子を決定することで、アミロイド線維の弾性率の決定を試みた。

2. 実験

β L を酸変性させ 80°C でインキュベートした。この操作によるアミロイド様線維形成は原子間力顕微鏡により確かめた。キャスト法により、アミロイド線維膜を作成し X 線測定試料とした。ある結晶面からの回折強度は温度因子 β を用いて

$$I(T) = I(T_0)\beta$$

と表せる。 β は格子面のバネ定数 a を用いて、

$$\beta = \exp\left[-\frac{4\pi^2 k}{ad^2}T\right]$$

と書ける。格子面の回折強度の温度依存性を調べることでバネ定数 a を求めることが可能である。アミロイド線維について知られている構造情報を利用することで線維 1 本当たりの平均の弾性率を決定できる。

3. 結果と考察

上の方法で決定されたアミロイド線維の弾性率は、47.7±6.7 MPa であった。これまでの文献値のうち、ナノ・インデンテーション法などの実測値は 5MPa–1.2GPa^{1,2)}と広範に亘っている。本測定結果は、これらの範囲に収まってはいるが、強い流動複屈折から予想される程の値にはなっていない。X 線測定用試料中での線維の配向度なども考慮する必要があるかも知れない。

文 献

- 1) S. L. Guo et al. Biomacromolecules 7(5), 1630 (2006).
- 2) M. D. Dong et al. Nanotechnology 19(38), 384013 (2008).

細菌べん毛繊維の多型変換機構 —巨大タンパク質集合体の形態変化を導く局所的相互作用—

○林史夫, 都丸英敏, 指田優花, 池田佳奈美, 古川英嗣, 大澤研二
群馬大学大学院 工学研究科応用化学・生物化学専攻 [〒376-8515 桐生市天神町 1-5-1]

1. 緒言

細菌べん毛は細菌の自由な遊泳を可能にする運動器官であり, 繊維状のしっぽを「べん毛繊維」と呼ぶ. サルモネラ菌べん毛繊維は直径 20nm, 長さは 10 数 μm にも達する細長いらせん形状で, 約 3 万分子のべん毛タンパク質“フラジェリン (494 アミノ酸残基)”が規則正しく円筒状に配置され, それらが非共有結合で会合した巨大タンパク質集合体である. べん毛繊維の根元には細胞膜に固定された回転モーターがあり, 左巻きらせんのべん毛繊維をスクリューのように回転させて直進する. モーターが急反転すると, べん毛繊維に掛かるねじれの力によりべん毛繊維は右巻きらせんに切り替わり, 菌体は推力を失い一瞬立ち止まる. モーターの回転方向が元に戻るとべん毛繊維は再び左巻きらせんになり, 菌体は新たな方向へと進み出す. このように菌体の方向転換時に見られるべん毛繊維の形態変化をべん毛繊維多型変換と呼ぶ (図 1). 多型変換は菌体から単離したべん毛繊維でも, pH, 塩濃度等の変化で再現できる. また, フラジェリンのアミノ酸変異によっても, 様々ならせん形態が再現される. これらのことから, フラジェリン分子内, 分子間に存在する原子間相互作用ネットワークの切り替えがべん毛繊維多型変換メカニズムの本質であると考えられる. しか

し, 細菌べん毛繊維のような, らせん形状の巨大タンパク質集合体の形態変化を原子レベルで解明することは現在の技術では極めて難しく, シミュレーションによる予測が知見を得る唯一の方法であった. 我々は新しい試みとして復帰突然変異体を用いたフラジェリン内抑制遺伝子解析を適用し¹⁾, 多型変換における 7 つの鍵アミノ酸残基を見いだした. 今回は鍵残基中の R431 に着目し, 多型変換における R431 の重要性を検討した.

2. 実験方法

復帰突然変異体(R431S 復帰体)の遊泳能力, 遊泳時及び単離されたべん毛繊維形態を調べた. また, 単離べん毛繊維をさまざまな pH, 塩濃度の溶液に適応させ, 多型変換能を調べた.

3. 実験結果と考察

遊泳能力計測から R431S 復帰体はタンブル能力が劣ることがわかった. つまり, 多型変換が正しく機能しないことを意味した. その復帰体の単離べん毛繊維の形態はこれまでに観察されたことがない形態で, シミュレーションで予測された中間体形態と類似した. その繊維の試験管内多型変換実験により, 塩橋が強ければ中間体を, 弱ければノーマル型をとることがわかった. このことは多型変換を生む「ねじれの力」は塩橋が増大する構造変化を導くことを示唆した. また, 試験管内多型変換実験では, 中間体型とノーマル型以外の形態, 例えばカーリー型は観察できなかった. この野生株べん毛繊維とは異なる多型変換能が低いタンブル能力の原因と考えた.

4. 結言

R431 は多型変換の鍵残基として重要である.

文 献

- 1) 林史夫, 都丸英敏, 大澤研二: サルモネラ菌復帰体のべん毛繊維のらせん構造と機能, 高分子論文集, **67**, 666-678, 2010.

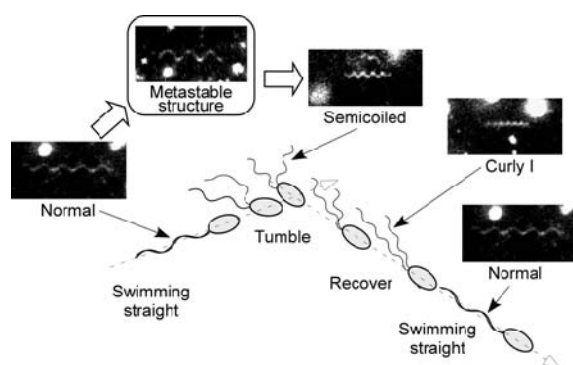


Fig. 1 A schematic drawing of the change in flagellar shapes during swim-tumble-swim. The filament changes in its shape sequentially normal, semicoiled, and curly I at smooth swimming, tumble, and recover period after tumble, respectively. The five pictures are dark-field microscopy images of isolated filaments from wild-type *Salmonella* cell (for Normal) and mutant cells (for Semicoiled and Curly). The metastable structure in the transformation from normal to semicoiled types has been expected, but not isolated, so far.

植物培養細胞表面における生合成マイクロフィブリルの 磁場による構造形成制御とその異方的機械特性

堺田英孝*, 藤村祐**, ○飯野正昭*

*千葉工業大学 生命環境科学科 [〒275-0016 千葉県習志野市津田沼 2-17-1]

** (株) オンチップ・バイオテクノロジーズ

1. 緒言

植物細胞の細胞壁(〜GPa)を構成するマイクロフィブリルは不溶性であり、アルカリ処理などにより可溶化して、紙などの材料を始め、誘電材料などに応用されている。可溶化したマイクロフィブリルの水溶液は磁場と垂直に配向するため一軸配向はしないが、磁場中で薄膜を形成させると一軸配向¹⁾するため、異方性誘電材料などの高機能材料として期待されるが、可溶化したために材料としての性質が劣化する問題がある。

一方、我々は、磁場中で培養した植物細胞の弾性率(細胞内は〜kPa のため、細胞壁弾性が支配)は増加し、異方性があることを報告した^{2,3)}。すなわち、10T までの磁場中で細胞培養した成熟細胞には機械特性に異方性は見られなかったが、一度細胞壁を取り去ってプロトプラストとし、これを磁場中で再生させると、再生細胞壁の弾性が増加し、さらに異方性が観測された^{2,3)}。

本研究では、磁場中で再生させた *In vivo* のマイクロフィブリルが細胞表面で磁場と垂直に一軸配向することを電子顕微鏡観察と画像解析により明らかとし、機械特性とその異方性を説明することができたので、報告する。

2. 実験方法

培養細胞として、ニチニチソウを用いた。培養液は、ムラシゲ・スクーグ培地を用いた。細胞壁の分解には、ヤクルト社のセルラーゼオノズカとマセロザイムを用いた。細胞はポリリジンによりガラスのシャーレに貼り付け、磁石 (JASTEC 社 JMTD-10T100MK-VI) 内で 3 時間再生させた。

再生した細胞を磁石から注意深く取り出し、細胞壁特異蛍光色素により染色し、再生量を調べた。また、固定後、T ブチルアルコールの凍結乾燥をして試料を作成し、SEM 観察を行った。SEM 像は、2 次元パワースペクトル解析を行った。

さらに、再生した細胞表面の面積弾性率を文献 4) の方法により精密に測定した。

3. 実験結果⁵⁾

得られた SEM 像から、再生したマイクロフィブリルは、直径が 20nm 程度であり、ランダムに細胞表面を

覆っていた。その厚さ(分子密度)は成熟細胞の 2% 程度であった。

磁場の強度が 2T 程度以上に増加すると、磁場の方向を細胞の極方向としたとき、赤道に近い部分は明らかな緯線に沿って配向したが、極に近い部分はランダムであった。SEM 像の 2 次元パワースペクトル強度から、形態学的オーダーパラメータを算出し、これが 3×10^{-27} の異方性反磁性磁化率を持つ物体の 2 次元の磁氣的オーダーパラメータとよく一致した。

面積弾性率は、2T 程度以上では磁場とともに増加し、極の部分より赤道付近において、増加が著しい結果であった。 3×10^{-27} の異方性反磁性磁化率を持つ 2 本の棒が接触する平均面積に面積弾性率が比例すると仮定したモデルによる計算結果と面積弾性率がよく一致した。

4. 考察⁵⁾

磁場中で再生されたマイクロフィブリルは、細胞表面で緯線に沿って磁場配向し、これらの向きが揃うに従い、水素結合を形成する結合面積が増加し、面積弾性率が増加したものと考えられた。

5. 結言

In vivo の系において、初めてマイクロフィブリルの配向、異方性構造と異方性レオロジー性の構築に成功した。

文 献

- 1) Sugiyama, J., Chanzy, H., and Maret, G.: Orientation of cellulose microfibrils by strong magnetic fields. *Macromolecules* **25**, 4232-4234, 1992.
- 2) 飯野正昭: 磁場に暴露した植物細胞のレオロジー特性, 第 29 回日本バイオレオロジー学会予稿集 35, 2006.
- 3) Haneda, T., Fujimura, Y., and Iino, M.: Magnetic Field Exposure Stiffens Regenerating Plant Protoplast Cell Walls. *Bioelectromagnetics* **27**, 98-104, 2006.
- 4) Fujimura, Y., Iino, M., and Watanabe, U.: Area expansivity moduli of regenerating plant protoplast cell walls exposed to shear flows. *Jpn. J. Appl. Phys.* **44** (5A), 3325-3329, 2005.
- 5) Fujimura, Y., Sakaida, H., and Iino, M.: Magnetic alignment of plant cell microfibrils and their anisotropic elasticity. *J. Appl. Phys.* **107**, 114704-1-5, 2010.

複合二分子膜ラメラ相のずり誘起アニオン形成

○藤井修治, 光増大輔, 五十野善信

長岡技術科学大学 物質・材料系 [〒940-2188 新潟県長岡市上富岡町 1603-1]

1. 緒言

界面活性剤ラメラ相がずり流動下において発現する”ずり誘起ラメラ-アニオン転移”の構造転移機構には、ラメラが内包する欠陥構造や二分子膜の弾性特性が関与すると考えられる。界面活性剤二分子膜上に高分子をグラフトした複合二分子膜ラメラ相の場合、高分子鎖の配位エントロピーにより膜の弾性特性が変化するとともに¹⁾、欠陥密度も変化する²⁾。膜の弾性特性はアニオン形成の閾値に、欠陥密度は弾性率に反映されると考えられるため、グラフト鎖による膜の弾性特性や欠陥密度の変化を系統的に整理することにより、ずりにより誘起されるアニオン形成機構解明の手がかりが得られると期待される。

本研究では、複合二分子膜ラメラ相のずり誘起ラメラ-アニオン転移におけるブロック共重合体の濃度・鎖長効果を調べることで、アニオン相形成メカニズムを議論する。

2. 実験結果と考察

非イオン性界面活性剤 $C_{10}E_3$ にゲスト成分として異なる重合度を持つ PEO-PPO-PEO 型の三元ブロック共重合体(Pluronic)を混合した各試料について、粘度のずり速度依存性を測定しラメラ/アニオン転移の臨界ずり速度と、臨界ずり応力を調べた。臨界ずり速度、臨界ずり応力ともに高分子濃度 X_p 、重合度 N_{EO} に依存し変化した。膜の弾性特性のうち、曲げ弾性率はブロック共重合体により増加し、その増加量 $\Delta\kappa$ は以下の式により表される¹⁾。

$$\Delta\kappa = \kappa_{eff} - \kappa \sim k_B T \sigma_p R_g^2$$

ここで σ_p は膜面上のけるブロック共重合体の数密度、 R_g は親水鎖の慣性半径である。それぞれブロック共重合体濃度 X_p 、親水鎖の重合度 N_{EO} に置き換えることができ、 $\Delta\kappa$ は $\Delta\kappa \sim X_p N_{EO}^n$ と表される。水は EO 鎖にとって良溶媒であることを考慮し $n=1.2$ とすると、異なる試料について得た臨界ずり応力はほぼ同じ曲線上に重なる(図 1)。これはブロック共重合体による曲げ弾性率増加のためにアニオン形成が力学的に阻害され、ラメラ/アニオン転移においては主に二分子膜の曲げ弾性率が支配的であることを示唆する。

ずり誘起ラメラ/アニオン転移前には、流動により欠陥(オイリーストリーク)密度が増加する。オイリースト

リークを構成するフォーカルコニックドメインは負のガウス曲率を持つのにに対し、アニオンは正の曲率を持つ。従ってずり誘起ラメラ/アニオン転移は二分子膜の立体配座がずり応力によって変化する力学的な構造転移であると示唆される。

3. 結言

界面活性剤と 3 元ブロック共重合体から成る複合二分子膜ラメラ相のずり誘起アニオン相形成挙動を、ブロック共重合体濃度、鎖長依存性に着目して調べた。アニオン相形成直前まで欠陥密度が増大すること、欠陥からアニオンへの構造変化時には膜の曲げ弾性特性が重要であることが明らかになった。

謝 辞

本研究は科研費”非平衡ソフトマター物理学の創成”の助成を受けて遂行された。

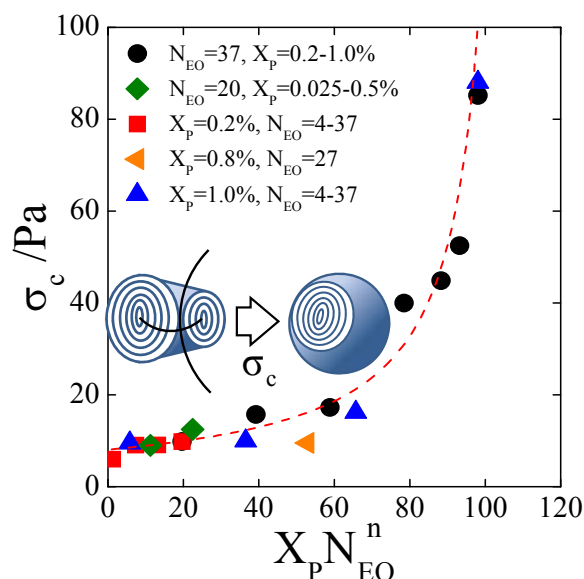


Fig. 1 Critical shear stress vs. the effective increment of the membrane bending rigidity.

文 献

- 1) T. Masui *et al.*: Effects of grafted polymer chains on lamellar membranes. *J. Chem. Phys.*, **124**, 074904-01-12, 2006.
- 2) H. E. Warriner *et al.*: The Influence of Polymer Molecular Weight in Lamellar Gels Based on PEG-Lipids. *Biophys. J.*, **75**, 272-293, 1998.

リポソーム内外の pH 及びイオン強度差が与えるリポソームの変形

黒田修未, 瀬戸洋繁, ○成田貴行, 大石祐司

佐賀大学大学院 工学系研究科 循環物質化学講座 [〒840-8502 佐賀県佐賀市本庄町 1]

1. 緒言

リポソームは2分子膜内外の浸透圧差によって変形することが知られている。膜内外に浸透圧差を与える為には、イオン強度又は糖濃度をリポソーム内外で変える方法が一般的に用いられる。この操作は、膜内外の浸透圧差だけでなく、厳密には2分子膜を構成しているリン脂質の分子特性及び分子間相互作用に変化を与える。この分子の状態変化は膜内外の膜構成分子の集合状態や膜弾性の違いを与え、リポソームの変形にも何らかの影響を与えていると推察できる。本研究では、溶媒環境が膜物性に与える効果がリポソームの変形に与える影響について検討することを目的としている。リン脂質膜の弾性及び凝集状態は、脂質分子が接している溶媒のイオン強度及び pH によって大きく変わる。そこで、リポソーム内外に pH 及びイオン強度の差を与えた際のリポソームの形状変化と、リポソーム内及び外溶媒と同条件で調製した水溶液上での単分子膜の膜物性の違いを比較することで、リポソームの変形に与えるリポソーム内側面及び外側面の脂質単分子膜の状態差の影響を検討した。

2. 実験方法

リポソームは膜成分 DOPC を1成分として単純水合法によって調製した。この際、膜内外の pH とイオン強度が任意濃度になるよう MEMS 緩衝溶液で調製した。同様に任意濃度で調製した緩衝溶液にこのリポソームを浸し、その形状変化を顕微及び蛍光顕微鏡下で CCD カメラにより撮影した。リン脂質単分子膜の物性評価は、単分子膜作製トラフを用い、任意条件に調節した緩衝液相上に DOPC 単分子膜を作製し等温 π -A 曲線を測定することで得た。

3. 実験結果

DOPC 成分からなるリポソームは外溶媒のイオン強度 (MEMS 水溶液濃度) 及び pH を変えることで形状の変形及びリポソーム同士の凝集が観察された。蒸留水を膜内外に含むリポソームの外溶媒を pH5、イオン強度 0.6M の MES 水溶液に浸すとリポソームの外壁に小さな突起が生じ、非球形へと変形した。この外部溶媒と同条件の水相上に作成した DOPC 単分子膜は、水相を蒸留水とした際の DOPC 単分子膜に比べて約10%程度膨張する結果が π -A 曲線から得られた。リポソ-

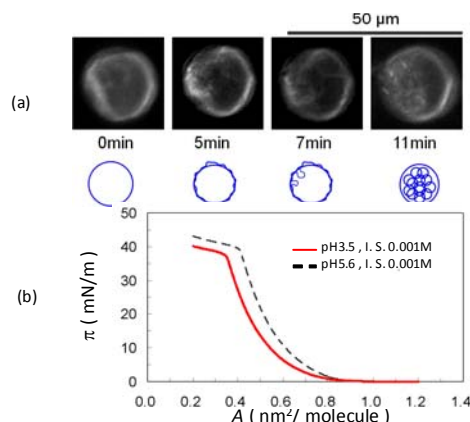


Fig. 1(a) Fluorescence microscope images of DOPC liposomes after exposure to a MES buffer with pH 3.5 and ionic strength 0.001, accompanied by illustrations of the corresponding liposome deformations for each time. (b) π -A isotherms for DOPC monolayers on MES buffers with pH 3.5 and ionic strength 0.001 (solid curve) or with pH 5.6 and ionic strength 0.001 (dashed curve).

ムを pH3.5、イオン強度 0.001M の溶媒 (MES 水溶液) に浸した場合、リポソーム内部に小さな小胞が生じた (図 1(a))。この水相条件上で調製した単分子膜は、水相を蒸留水とした際の DOPC 単分子膜に比べて約 10%収縮した (図 1(b))。リポソームを pH3.5、0.6M の MEMS 溶液に浸した場合、リポソームの外壁膜に大きな突起が生じた。この外部溶媒と同条件の水相上に作成した DOPC 単分子膜は、水相を蒸留水とした際の DOPC 単分子膜に比べて約 10%膨張した。

4. 考察

リポソーム内外の浸透圧差が無い (内外のイオン強度が同じ) 状況であっても、リポソーム内外に pH 差がある際には、リポソームが変形すること示された。この際には、リポソームの外側単分子膜が収縮していることが π -A 測定結果から予想できる。これらの結果から、リポソームの内側膜と外側膜の凝集性の違いが、この pH 差から生じ、凝集性の違いから生まれるリポソーム内側と外側膜の面積差が図 1 に示すリポソーム内部の新たな小胞生成を駆動したと推察できる。また、リポソームの突起の大小は、単分子膜の側方弾性率の変化に影響を受けることが示唆された。

5. 結言

リポソーム内側膜と外側膜の凝集状態および弾性特性がリポソームの形状変形に強い影響を与えていることが明らかとなった。

小型 Falling Needle Rheometer を用いた 血液流動特性自動解析装置の開発

○山本秀樹*, 鈴木貴雅*, 川村公人**, Dominik Bernitzky***, Roberto Plasenzotti***

*関西大学大学院 環境都市工学部 [〒564-8680 大阪府吹田市山手町 3-3-35]

アサヒビール株式会社, *Core Unit for Biomedical Research, Medical University of Vienna

1. 緒言

血液の粘性率は血液流動解析において重要な基礎物性値の一つであるが、採血量や凝固特性等から測定は困難であり、実測例も少ないのが現状である。本研究室ではこれまで血液の流動特性を高精度で測定可能な小型落針式レオメーター (Falling Needle Rheometer, FNR)の開発を行ってきた。本研究では高精度測定かつ操作性を高めるために、測定の自動化および解析システムを組み込んだ新しい装置を開発した。ヒト血液およびウサギ血液の流動解析を行ったので報告する。

2. 実験装置

実験装置の概略図と写真を図1に示す。装置は鉛直方向に設置された透明な二重円筒管構造となっており、内径8mm、高さ90mmの亚克力製のセル内に封入した流体中に金属(Fe,W)を封入した8本のニードル($\phi 2 \times 20\text{mm}$)を自由落下させ流体の流動解析を行う。測定セルに導入される流体の体積は約 4cm^3 となっている。セル上部には機械制御によってニードルを自動落下させるための、ランチャー部と突き出し棒が一体となっている。セル下部にはニードルの落下速度を測定するためのセンサーが設置されている。FNRは、終末速度で自由落下するニードル周辺の流体モデルを解析して、ニードル周辺の力のつりあい、ニードル周囲の微小円柱殻状の流体要素に働く力のつりあい、ニードル落下に伴い動く連続層側の流体量のつりあいをニードル表面速度とチューブ内壁速度を境界条件として、被測定流体の構成方程式と連立させ解き、剪断応力(τ)と剪断速度($\dot{\gamma}$)の関係を得た。¹⁾

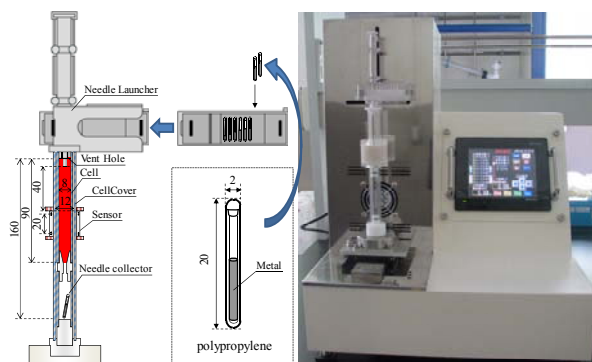


Fig. 1 Schematic diagram and photograph of experimental apparatus.

3. 実験方法

ヒト血液を被験者から採血したのち測定セル内に満たし、流動解析を行った。今回はヒト以外の動物の血液としてウサギ血液の粘性測定を行った。なお、血液の密度はポータブル密度比重計(京都電子工業(株) DA-130)を用いて測定した。

4. 実験結果

測定したヒト血液の流動曲線を図2に示す。流動曲線より、剪断速度 200s^{-1} 以上の速度域においてNewton流体の挙動が確認された。剪断速度 200s^{-1} 以下の速度域において、流動曲線はNewton流体挙動から外れNon-Newtonian流体の挙動を示した。ヒト血液のNewton領域における平均粘度は $6.05\text{mPa}\cdot\text{s}$ であった。測定したウサギ血液の流動曲線を図3に示す。ウサギ血液もヒト血液と同様に剪断速度に応じて、流体挙動の遷移する傾向が確認された。ウサギ血液のNewton領域における平均粘度は $3.65\text{mPa}\cdot\text{s}$ であった。

5. 結言

ヒト血液およびウサギ血液における流動解析において、低剪断速度($<200\text{s}^{-1}$)範囲でNon-Newtonian流体の挙動を示し、高剪断速度範囲ではNewton流体の挙動が確認された。装置は、血液の粘度を正確に測定でき、操作性もかなり改善されたことから、様々な血液流動特性解析に利用できると考えられる。

文 献

- 1) H.Yamamoto, K.Kawamura et. al., Int. J. Thermophysics, Vol.131, pp.2361-2379, (2010).

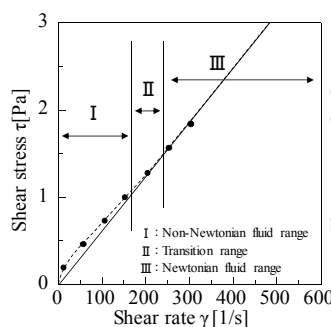


Fig. 2 Flow curve of human blood.

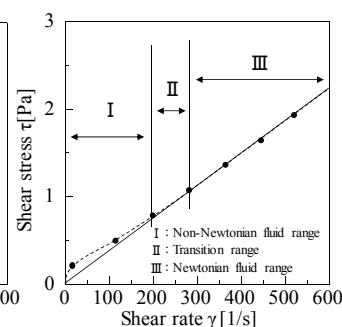


Fig. 3 Flow curve of rabbit blood.

QCM を用いたコンカナバリン A 及びフィブリノゲンとトリプシン処理を施した赤血球表面との相互作用の測定

○外山吉治, 中村真彦, 窪田健二

群馬大学大学院 工学研究科 [〒376-8515 群馬県桐生市天神町 1-5-1]

1. 緒言

赤血球はフィブリノゲン (Fbg), コンカナバリン A (ConA) やデキストランの溶存下で集合体を形成する。赤血球集合能は溶存高分子の種類は勿論, 赤血球の種類によっても異なり, 豚より馬赤血球の方が大きく, 牛赤血球はインタクトな状態では集合しないが, トリプシン処理することで集合体を形成することが知られている¹⁾。赤血球集合のメカニズムについては架橋集合と枯渇集合の二つの説が提唱されており, 未解決の問題が多く残されている。本研究では水晶振動子マイクロバランス (QCM) を用いて Fbg 及び Con A と赤血球表面との相互作用を測定した。さらに, 赤血球のトリプシン処理やアルブミンの添加が相互作用に与える影響について調べた。

2. 実験

試料は馬, 豚, 牛赤血球を目的の媒質 (Con A では等張 HEPES 緩衝食塩水, Fbg では PBS) に Ht:1% に懸濁させた。ウシ赤血球のトリプシン処理は 37°C で 1 時間行った。アルブミンの添加効果は赤血球懸濁液に 1mg/ml 添加した。QCM 測定は基本周波数 9MHz の AT カット水晶振動子の QCM (セイコー EG&G 社製, QCA922) 装置を使用し, 測定温度は 25±0.2°C に制御した。Fbg 及び Con A と振動子表面に固定化させた赤血球表面との相互作用によって生じる共振周波数 (Δf) と共振抵抗 (ΔR) の経時変化を測定するとともに顕微鏡観察を行った。 Δf と ΔR はそれぞれ振動子表面における質量変化と粘性変化を示すものである。

3. 結果

顕微鏡観察より, トリプシン処理したウシ赤血球が連銭を形成することが確かめた。図 1 にフィブリノゲンを固定化した QCM 素子に牛インタクト赤血球 (a) とトリプシン処理した赤血球 (b) を添加した時の Δf と ΔR の経時変化を示す。赤血球の添加により Δf と ΔR は共に増加した。 Δf の増加はインタクト赤血球で 48 Hz, トリプシン処理した赤血球で 81 Hz とトリプシン処理によって増大した。この結果はトリプシン処理により, フィブリノゲンと赤血球表面との相互作用が増

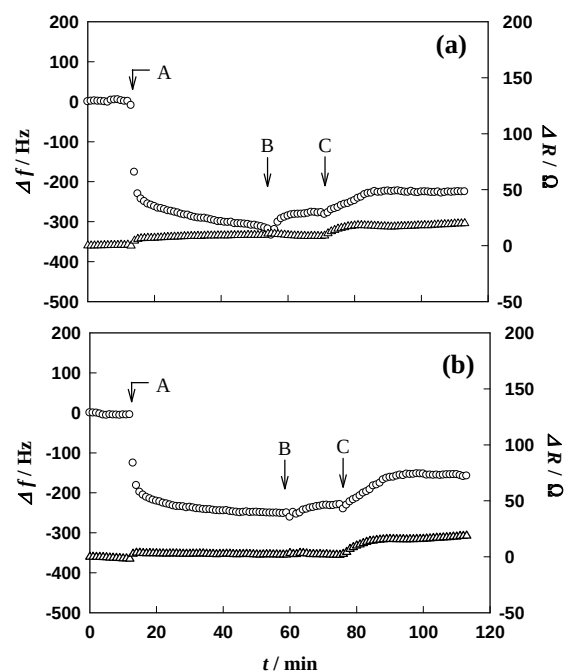


Fig. 1 Typical time course of the variation of frequency (Δf) and impedance (ΔR) of fibrinogen-deposited QCM crystal in response to the addition of intact erythrocytes (a) and trypsin-treated erythrocytes (b). Fibrinogen was deposited at the arrow A. QCM crystal was washed by the buffer solution to remove non-specifically adsorbed fibrinogen at the arrow B. Intact and trypsin-treated erythrocytes were added at the arrow C.

大することを示唆している。一方, アルブミンの添加による Δf への有意な影響は観察されなかった。

文 献

- 1) M. Kaibara: Rheological behaviors of bovine blood forming artificial rouleaux, *Biorheology*, 20, 583-592, 1983.

高血圧ラットおよび糖尿病ラットにおける赤血球変形能の低下

○丸山徹*, 古川陽介**, 深田光敬**, 小田代敬太**, 藤野武彦***

*九州大学 健康科学センター [〒816-8580 福岡県春日市春日公園 6-1]

**九州大学 病態修復内科学

*** (株) レオロジー機能食品研究所

1. 緒言

赤血球の変形能は生体微小循環を規定する最大の要因であり本態性高血圧症や糖尿病での低下が予想される。しかし両疾患は背景因子の違いや治療介入の影響で臨床的な検討は複雑である。そこで疾患モデルで赤血球変形能をニッケルメッシュろ過法にて検討した。

2. 実験方法

高血圧モデルは自然発症高血圧ラット(SHR)を用いた。採血は7、13、18週齢のものをエーテルおよびペントバルビタール麻酔下に開腹後大動脈穿刺で採血し、同週齢のWKYラットを対照とした。糖尿病モデル動物は、生後11週齢のWKYラットに尾静脈からストレプトゾトシン(STZ, 65mg/kg)を投与して作成し、無処置で同週齢のWKYラットを対照とした。動物の取り扱いとは日本生理学会の実験動物取り扱い指針に従った。

3. 実験結果

3・1 高血圧ラット SHRは成長とともに高血圧が生じた。生食水のろ過実験での圧流量曲線は原点を通る直線関係を示した。赤血球浮遊液は下凸の曲線を示し、同一週齢のラットではSHRの赤血球浮遊液がWKYラットのそれに比して同じ過圧下では常に流量が低下していた。またSHRは幼若ラットほど同じ過圧下での流量が低下していた(図1)。両群の赤血球変形能の差は幼若期ほど顕著だった(7週齢: $37.0 \pm 17.5\%$ vs. $62.1 \pm 7.2\%$; $p < 0.005$; 18週齢: $51.6 \pm 13.3\%$ vs. $71.1 \pm 3.9\%$; $p < 0.005$)。

3・2 糖尿病ラット STZ誘発糖尿病ラットの赤血球浮遊液はろ過実験でコントロールのWKYラットのそれより一定圧下で常に流量が小さく、変形能の低下が示唆された(図2)。両群で比較するとSTZ糖尿病ラットで $69.4 \pm 10.1\%$ 、WKYラットは $83.1 \pm 4.2\%$ で、糖尿病ラットの赤血球変形能が有意に($p < 0.001$)低下していた。

4. 考察

今回高血圧症と糖尿病のモデルラットを用いて、赤血球の変形能を評価した。いずれも対照より変形能は

低下していた。変形能の規定因子がそのサイズ(MCVを指標とする)、内部粘度(MCHCを指標とする)、膜の性状(流動性や粘弾性)とすると、いずれのモデルでも変形能の低下はMCVやMCHCで説明出来ず、赤血球膜の性状変化に起因すると考えられた。すなわちSHRでは昇圧過程での抵抗血管(細小動脈)の過剰収縮が赤血球膜に機械的な障害を与え、STZ誘発糖尿病ラットでは高血糖による酸化ストレスが膜脂質の過酸化や機能性膜タンパクの変性を通して膜障害を引き起こし、変形能が低下したものと考えられた。

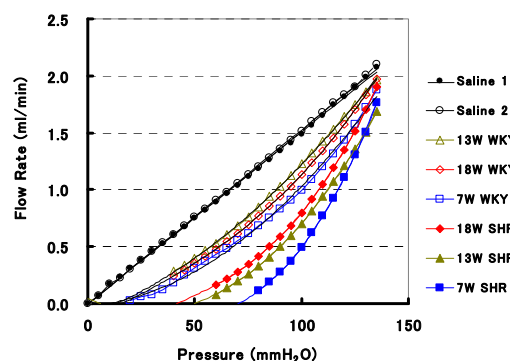


Fig. 1 Pressure-flow rate relationships in SHR and WKY rats.

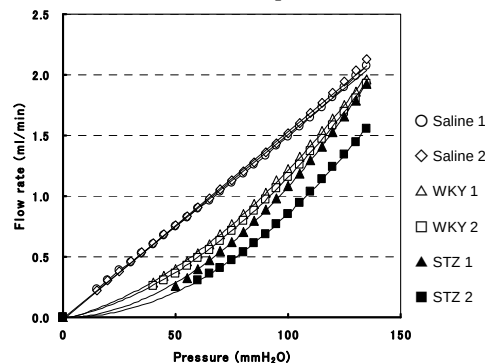


Fig. 2 Pressure-flow rate relationships in STZ diabetic rats.

5. 結言

高血圧および糖尿病のモデルラットにおいて、ともに赤血球変形能が対照ラットに比して明らかに低下していることがニッケルメッシュろ過法により明らかとなった。

謝 辞

本研究の一部は文部科学省科学研究費補助金(基盤研究C)の補助によった(研究課題番号: 18500328)。

マイクロ流路アレイ中の液体の通過時間からの粘度の推定

○榎靖幸*, 遠藤夢乃**, 福島美野子**, 西山真由美**,
土橋敏明*, 角野博之**, 村上正巳**

*群馬大学大学院 工学研究科 [〒376-8515 群馬県桐生市天神町 1-5-1]

**群馬大学大学院 医学系研究科

1. 緒言

血液のレオロジー的性質の異常は、血管内の血液の流れに異常を生じる原因となることから、循環器疾患と関連している。最近、マイクロ流路アレイを用いた血液流動性検査装置 (MC-FAN) を用いて、血液の流れと、疾患または臨床的特徴との関係を調べた研究が数多く報告されている。

マイクロ流路アレイには、幅数 μm 、長さ数 $10\mu\text{m}$ の流路が数千本集積されている。MC-FAN による血液流動性実験では、このマイクロ流路アレイ中に血液試料を流し、血流の顕微鏡観察と $100\mu\text{L}$ の血液の通過時間の測定が行われる。血液の通過時間は、血液のレオロジー的性質の指標となる可能性があるが、その相関はまだ詳細には調べられていない。直感的には、通過時間はある圧力差の下での液体流量から決まり、液体の粘度と相関があると考えられる。

本研究では、MC-FAN で測定された液体の通過時間から液体粘度を推定するために、かなり複雑な構造を持つ MC-FAN を単純化したモデルを提案した。異なる粘度を持つニュートン流体と血液試料について通過時間と粘度の関係を調べた。

2. 実験方法

血液流動性検査装置 (Micro-Channel Flow Analyzer (MC-FAN); Hitachi Hamaichi Electronics) を用いて、液体の通過時間を測定した。マイクロ流路アレイとして、幅 $7\mu\text{m}$ 、長さ $30\mu\text{m}$ 、深さ $4.5\mu\text{m}$ 流路を 8736 本持つシリコンチップ (Bloody6-7; Hitachi Hamaichi Electronics) を用いた。

MC-FAN の複雑な構造を単純にモデル化することにより、次式を得た。

$$\ln[1-V_0/A(h_0+h_2)] = -(\rho g \langle \xi \rangle / A) t_p \quad (1)$$

ここで、 t_p は液体の通過時間で、 V_0 は測定に用いる液体の体積、 A , h_0 , h_2 は装置の幾何学的なパラメータ、 ρ は液体の密度、 g は重力加速度、 $\langle \xi \rangle$ はある種の易動度である。液体の粘度 η は易動度 $\langle \xi \rangle$ から次式で近似的に見積もられる。

$$\eta = (\pi/8 \langle \xi \rangle) [(L/R^4) + (l/m^4)]^{-1} \quad (2)$$

ここで、 L , R , n , l , L は装置の幾何学的なパラメータである。本研究では、通過時間 t_p から式(1)(2)を用いて見積

もられる粘度 η_{mc} と、回転粘度計 (LVDV-II+Pro CP; Brookfield) により測定される液体粘度 η との関係を調べた。

Newton 流体として、生理食塩水および、異なる濃度のグリセロール水溶液 (20%-50%) とショ糖水溶液 (10%-40%) が用いられた。血液試料として、健常者 12 名 (男性 8 名、女性 4 名、23~33 歳 (平均年齢 25.33 ± 2.96)) より採血し、抗凝固のため 5% のヘパリン Na を加えたものを全血試料として用いた。本研究は群馬大学医学部付属病院の臨床試験審査委員会の承認を得て実施された。

3. 結果と考察

図 1 に、異なる濃度のグリセロール水溶液とショ糖水溶液の η_{mc} を η に対してプロットしたものを示す。測定データは原点を通る傾き 1 の直線 (点線) で表現された。このことから、MC-FAN で測定される通過時間 t_p から、式(1)(2)を用いることにより、Newton 流体の粘度が推定可能であることが示された。血液試料については、 η_{mc} と η の間に相関があることが示された。また、 η_{mc} は η よりも小さい値を示す傾向があり、その原因として血液の非 Newton 性、または Fåhræus-Lindqvist 効果との関連が示唆された。

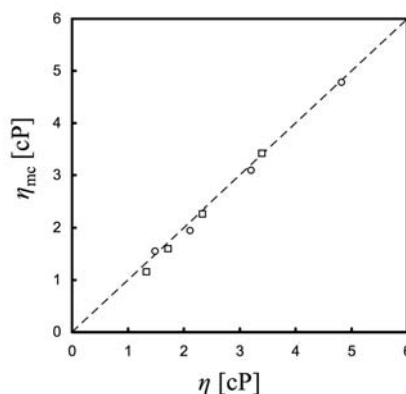


Fig. 1 Viscosity η_{mc} estimated from t_p for aqueous solutions of glycerol (circles) and sucrose (squares) plotted against viscosity η measured by the rotatory viscometer.

多孔質膜の溶質輸送特性に及ぼす電荷の影響

○大谷英之*, 秋永剛**, 関眞佐子**

*関西大学大学院 理工学研究科 システムデザイン専攻 [〒564-8680 大阪府吹田市山手町 3-3-35]

**関西大学システム理工学部 物理・応用物理学科

1. 緒言

微小血管壁透過性を調べた動物実験において、ほぼ同じ大きさで、電荷の符号が異なる2種類の球状蛋白質では、正電荷を持つ方が大きな透過率を示すなど、電荷が微小血管壁を介する物質輸送に大きな影響を与えることが古くから知られている。本研究では、微小血管壁を円筒状の細孔が多数存在する膜とみなす細孔理論を用いて溶質の輸送を解析し、電荷の影響を調べた。

2. 解析方法

細孔理論に基づけば、図1に示す円筒状の細孔(半径 R 、長さ L 、ただし $R \ll L$)を、球形の溶質粒子(半径 a)を含む希薄溶液(粘性率 μ のNewton流体)が流れるとき、細孔を通過する溶質の流束 J は、溶液の平均流速を V 、膜の上流と下流側の溶質濃度を c_0, c_L として、

$$J = WVc_0 \frac{1 - (c_L/c_0)e^{-Pe}}{1 - e^{-Pe}}, \quad Pe = \frac{WVL}{HD_\infty}, \quad (1a, b)$$

ただし、

$$H = 2 \int_0^{1-\lambda} \frac{1}{F_t(\beta)} e^{-E(\beta)/kT} \beta d\beta, \quad (2)$$

$$W = 2 \int_0^{1-\lambda} \frac{F_0(\beta)}{F_t(\beta)} e^{-E(\beta)/kT} \beta d\beta, \quad (3)$$

と表すことができる。ここで、 D_∞ は溶質の拡散係数、 k はBoltzmann定数、 T は絶対温度、 $\lambda = a/R$ 、 β は溶質中心の円筒内の動径位置(無次元)を表す。 F_t は細孔内静止流体中を溶質が円筒の軸と平行に並進運動するときの抗力係数(溶質の並進速度を U 、溶質が受ける流体力を F としたとき、 $F_t = F/6\pi\mu aU$)を表し、 F_0 は細孔内で静止している溶質にPoiseuille流れがあたるときの抗力係数(定義は F_t と同様)である。また、 E は細孔と溶質の相互作用エネルギーを表し、電荷がない場合には、 $\beta < 1-\lambda$ に対して $E(\beta) = 0$ となるが、電荷がある場合には静電相互作用のポテンシャルを表す。

(1a)式から、(1b)式で定義されるペクレ数 Pe が小さい場合には流束 J は H に比例し、逆に Pe が大きい場合には J は W に比例することを示すことができる。前者は溶質が拡散により運ばれる場合、後者は移流により運ばれる場合に対応している。したがって、 H は拡散、 W は移流による溶質の流束を示す指標となる。

本解析では、細孔表面および溶質表面の電荷密度をそれぞれ q_0, q_s とし、媒質は溶質に比べて小さな正負イオン(簡単のため1価イオンとし、膜の両側の濃度を C とする)を含む電解質溶液とする。このとき、(1)–(3)式から溶質の流束 J を評価するためには、(a) F_0 と F_t を求める流体力学的解析と、(b) 相互作用エネルギー E を求める静電場の解析を行う必要がある。本研究では、細孔内にある1個の溶質に対し、(a)の流れ場はStokes方程式、(b)の電場はDebye-Huckel方程式を数値的に解いて求めた。

3. 実験結果と考察

図2は、電荷密度 $q_s = -1.7 \times 10^{-2} \text{ C/m}^2$ 、 $q_c = -4.5 \times 10^{-2} \text{ C/m}^2$ の場合に、イオン濃度 $C = 0.01, 0.04, 0.15 \text{ M}$ に対して、 H をサイズ比 λ の関数として表している。比較のため細孔、溶質ともに電荷がない場合を点線で描いた。電荷密度 $q_s = -1.7 \times 10^{-2} \text{ C/m}^2$ は血漿アルブミンに相当する。溶質と細孔が同符号の電荷をもつ場合には、その斥力に起因して実質的に溶質サイズが大きくなった場合に相当して、 H の値は減少することが分かる。また、イオン濃度 C が小さくなると、表面電荷の影響が及ぶ範囲(Debye 長)が増加するので、この場合も実質的な溶質サイズが大きくなり、 H の値は減少する。

移流を表す W も H と同様の傾向が得られた。

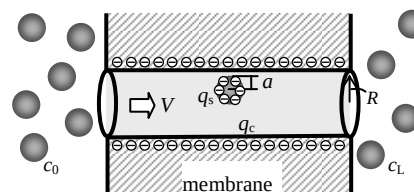


Fig. 1 Pore model for permeability analysis with charges.

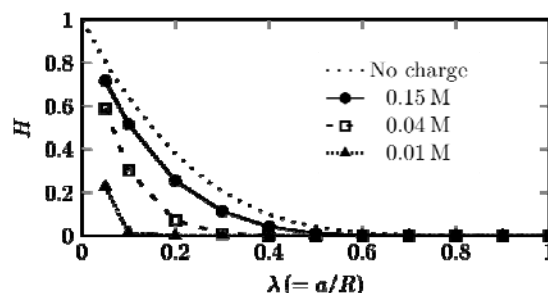


Fig. 2 Values of H for $R=10 \text{ nm}$, $q_s=-1.7 \times 10^{-2} \text{ C/m}^2$, and $q_c=-4.5 \times 10^{-2} \text{ C/m}^2$.

流体シミュレーションを用いた微小血管内の人工赤血球動態に関する研究

○百武徹*, 足立文也*, 赤木裕貴**, 柳瀬眞一郎**

*横浜国立大学大学院 工学研究院 [〒240-8501 神奈川県横浜市保土ヶ谷区常盤台 79-5]

**岡山大学大学院 自然科学研究科

1. 緒言

近年、人工酸素運搬体の一つとして、カプセル型人工赤血球の開発が急速に進んでいる。このカプセル型人工赤血球はヘモグロビンをリポソームに封入した構造をしており、その直径は約 200 ナノメートルとヒトの赤血球の 1/30 程度である。したがって、赤血球が到達しにくい非常に微小な血管内にも酸素を運搬できると考えられ、脳梗塞などの様々な循環器疾患への治療薬として利用が期待されている。このように、循環器疾患への利用を念頭に置いた場合、血管内における人工赤血球の流体力学的挙動の理解が非常に重要となってくる。また、微小循環系における酸素運搬過程は、人工赤血球と赤血球とのインタラクションの影響下にあるため、人工赤血球による微小循環血流への作用は複雑となる。そこで今回、我々は赤血球と人工赤血球を含んだ微小血管内の流動解析を行った¹⁾。

2. 実験方法

本研究では、流体の解析には格子ボルツマン法 (LBM) を適用した (図 1)。赤血球に関しては、図 1 左下のように赤血球膜を節点で表現し、Immersed boundary 法²⁾を用いて赤血球膜と流体との連成解析を行った。また、赤血球膜モデルに関しては neo-Hookean モデルを考えた。赤血球および人工赤血球間のインタラクションに関しては、図 2 右下のようにカットオフ距離内において赤血球の節点 i, j 間に Morse ポテンシャルから導かれる力が働くと考えた³⁾。人工赤血球に関しては、直径は 300 nm の粒子として取り扱い、赤血球の存在していない領域に均一に分布させ、血漿の流れに追従して運動させた。本研究では、赤血球のヘマトクリット Ht^R と血液中に人工赤血球の占める割合 Ht^I をとし、 $Ht^R + Ht^I = 30\%$ となるように、赤血球と人工赤血球の割合を変化させて解析を行った。

3. 実験結果および考察

解析の結果、赤血球は流体との干渉、さらには血球間のインタラクションにより変形しながら管内を流れた。特に、壁面付近では流れのせん断応力が大きいため、赤血球はより変形をしながら管中心へと移動し、いわゆる軸集中が生じた。結果として、本シミュレー

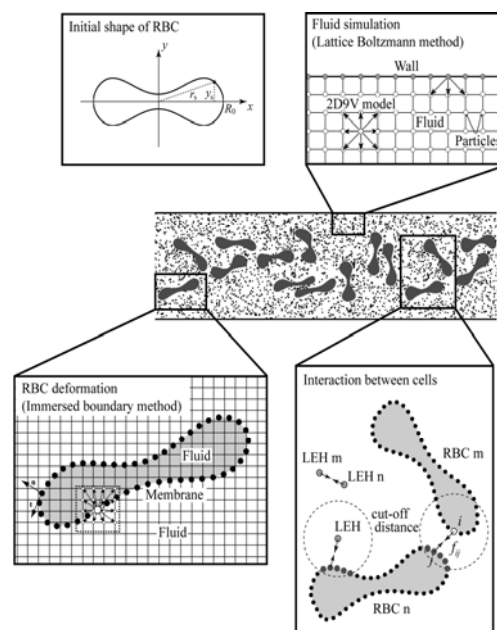


Fig. 1 Two-dimensional microvascular model.

ション手法により、管内の壁面付近で赤血球の存在しない血しょう層の形成が再現できた。赤血球のヘマトクリットの半分を人工赤血球に置換した場合、ヘマトクリットの減少により赤血球の軸集中は促進され、血しょう層が厚くなった。また、サイズの小さい人工赤血球はこの血しょう層へと移動し、結果として、赤血球とは異なり人工赤血球は血しょう層付近に多く分布するようになった。次に、人工赤血球の血管内における軌跡を調べた。人工赤血球のみの場合は、半径方向へはほとんど移動しなかったが、赤血球が存在することにより、赤血球と人工赤血球とのインタラクションが起こることで人工赤血球は半径方向へ大きく移動した。結果として、人工赤血球が血しょう層へと移動すると考えられる。

文 献

- 1) Hyakutake, T., et al., J. Biomech. Eng-T, ASME, 130, 1, 011014, 2008.
- 2) Peskin, C. S., J. Comput. Phys. 25, 220-233, 1977.
- 3) Zhang, J., et al., Microvasc. Res., 77, 265-272, 2009.

脳動脈瘤発生に関する血行力学的因子

○柿崎龍一*, 村田祐樹*, 立嶋智**, Fernando Vinuela**, 田之上哲也*, 須藤亮*, 谷下一夫*

*慶應義塾大学大学院 理工学研究科 総合デザイン工学専攻 [〒223-8522 横浜市港北区日吉 3-14-1]

**Department of Radiological Sciences, University of California, Los Angeles, David Geffen School of Medicine

1. 緒言

多くの脳動脈瘤発生段階の研究では、脳動脈瘤発生後の画像から瘤を取り除くことで発生前の形状を再現する試みがなされている。しかし、血管形状は脳動脈瘤が発生したことにより変化するため、実際の発生前の血管形状と異なることが考えられる。本研究では、脳底動脈瘤の発生前後の患者 CT 画像より 3D モデルを構築した。発生前の脳底動脈内 3D モデルを用い、脳動脈瘤発生部位の血行力学的因子を CFD 解析により検討した。

2. 方法

UCLA Medical Center 脳動脈瘤患者の CT 連続断面画像から、3D-DOCTOR (Able Software Corp.) を用いて脳動脈瘤発生前後の STL (Standard Triangulated Language) を作成した。次に Gambit (Fluent Inc.) を用いて流体解析用メッシュを作成し、Fluent (Fluent Inc.) を用いて流体解析を行った。流入流速には Alvaro Valencia らが用いた脳底動脈部位の拍動流を用いた。血液を動粘度 $\nu=4 \times 10^{-6} [\text{m}^2/\text{s}]$, ニュートン性流体と仮定、血管壁を剛体、壁面にてすべりなし条件を適用した。

解析結果から脳動脈瘤発生部位付近の流れ場、WSS (Wall Shear Stress), WSSG (Wall Shear Stress Gradient) を計測した。

3. 結果

脳底動脈分岐部の流れ場は、後大脳動脈への分岐中心近傍を渦中心とし、後大脳動脈へ流れ出す渦構造となっていた。脳動脈瘤発生部位以外の壁面付近では、流れは渦流れ方向と同じであった。一方で脳動脈瘤発生部位では、壁面付近において渦流れ方向に対して鉛直な微小流れが見られた。

WSS 分布を図 1 に示す。灰色の線で囲った部分は脳動脈瘤発生部位にあたる。脳動脈瘤発生部位において 40Pa 程度の低い WSS が見られ、その近傍において 100Pa 程度の比較的高い WSS が見られた。

WSSG の計算において、脳動脈瘤発生部位にて低 WSS, その近傍において高 WSS が見られたことから、脳動脈瘤発生部位近傍にて高い WSSG が算出された。

4. 考察

本研究では流れ構造の脳動脈瘤発生への影響を考慮した。結果において、脳動脈瘤発生部位の壁面付近における渦流れ方向に鉛直な血流が見られた。この流れ構造は脳動脈瘤発生部位以外には見られないものであり、従って脳動脈瘤の発生に何らかの影響を与えた可能性が考えられる。

本研究の結果において、脳動脈瘤の発生部位内部で低 WSS が、その近傍では高 WSS が見られた。これにより、脳動脈瘤発生部位近傍において高い WSSG が発生した。これは、瘤内部の低 WSS と瘤周辺の高 WSSG が瘤発生に関わるという Tanoue ら¹⁾の仮説と整合する結果である。

5. 結言

瘤発生前後実形状を用いた流体解析より、瘤発生部位にて渦構造に鉛直な流れ、低 WSS, 高 WSSG を得た。これらの血行動態による力が何らかの形で脳動脈瘤の発生に関与した可能性がある。

文 献

- 1) T. Tanoue, S. Tateshima, D. Wakui, F. Vinuela, R. Sudo, and K. Tanishita, Wall Shear Stress Distribution Inside Induced Cerebral Aneurysm on Rabbit, IFMBE Proceedings, 1063–1066, 2010.

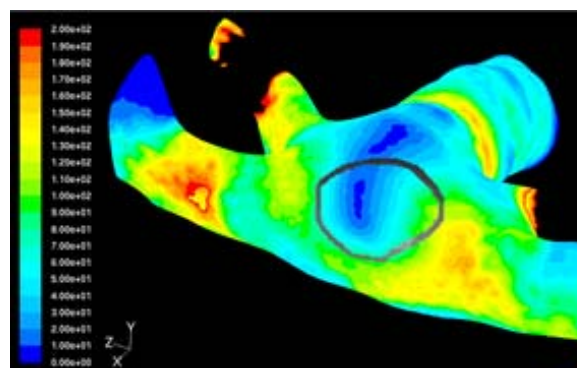


Fig.1 WSS field. The gray circle on model is the region of cerebral aneurysm.

静脈の動脈血灌流によるリンパ系への影響

○小山富康*, 笹嶋唯博**

*元・北海道大学

**旭川医科大学 血管外科

1. 緒言

壊疽患者のQOL向上にむけて、笹嶋らは、下肢静脈の動脈化という新しい術式を開発した¹⁾。この手術によって、動脈血が毛細血管網を流れることはない管であるが、皮膚温は上昇し、壊疽の拡大は防止される。骨格筋には細静脈叢が発達しているので、ここを動脈血が流れる間に周囲の静止筋層に十分な酸素を供給できると推察した。

しかし関連していくつもの問題が予想される。その一つは、動脈圧が細静脈叢に直接加わることで大量の水が組織中へ押し出される可能性である。細静脈網の総表面積から考察して支障無いと推定するに至った。

2. 方法

リンパ流出量は血管表面積と、管内外の圧力差に依存する。単位量の骨格筋内の細静脈数と管径についての計測値（Engelson ら²⁾）を用いて、組織円筒に囲まれた一本の細静脈円筒を仮定する。報告されている細静脈の濾過率 filterability (Yuan ら³⁾)を用いるとリンパ流出量が推定できる。比較しやすいように、cm, mmHg, min の単位に換算した。組織内圧を直接加えられる動脈圧に対して零、簡単のため組織、血液とも比重1と仮定する。

3. 結果

Yuan ら³⁾の冠細静脈での測定では、透過率=265.2 $\times 10^{-7} \text{ cm}^3 \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mmHg}^{-1}$ 。

前報同様に仮想細静脈管の直径 30 μm とすれば、細静脈管の周囲長 $9.4 \cdot 10^{-3} \text{ cm}$, 単位容積内の総延長 $4.43 \times 10^2 \text{ cm} \cdot \text{cm}^{-3}$, 総表面積 $4.16 \text{ cm}^2 \cdot \text{cm}^{-3}$ が計算される。これらの数値を、リンパ流量 = 透過率・総表面積・血圧 に代入すれば、リンパ流量 = $0.011 \text{ ml} \cdot 100 \text{ g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mmHg}^{-1}$ が得られる。細静脈圧が大動脈圧 100 mmHg とすれば、リンパ流量は $1.1 \text{ ml} \cdot 100 \text{ g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ である。

4. 考察

神谷ら⁴⁾は重量法により下肢リンパ流出量を $0.03 \text{ ml} \cdot 100 \text{ g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mmHg}^{-1}$ と報告している。細静脈圧を広く想定されている 15 mmHg とすれば、流出量は $0.45 \text{ ml} \cdot 100 \text{ g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ である。この値は今回の動脈化・細静脈叢モデルで得られた値、上記 1.1 の 2.4 倍に過ぎない。広大な表面積を持つ毛細血管叢の濾過量がないとすれば、この程度の増加に留まることが合理的な数値と見られる。更にリンパ系の予備容量は大きく、胸腺の流量は食事により 5-10 倍に及ぶといわれている。

5. 結言

下肢細静脈の動脈化手術により、下肢リンパ量は増加する。しかしその増加は大きくないので、この手術は生理学的に有意義と見られる。

文 献

- 1) Azuma N, Sasajima T et al.: Jpn J Vasc Surg.14:151-158, 2005.
- 2) Engelson EL, Schmid-Schoenbein GW, Zweifach GW: Int. J. Microcirc: Clin.Exp. 4:229-248, 2004.
- 3) Yuan Y, Chilian WM, Granger HJ, Zawieja DC: Permeability to albumin in isolated coronary venules. Am J Physiol 265(2 Pt 2):H543-52, 1993.
- 4) Kamiya A, Rippe B, Folkow B: Volume of capillary exchange vessels measured with a gravimetric method in rat hindquarters. Microvasc Res. 17(2):142-57, 1979.

冠微小循環の可視化 —急性心筋梗塞時の冠微小循環変化—

○矢田豊隆, 小笠原康夫

川崎医科大学 医用工学 [〒701-0192 岡山県倉敷市松島 577]

1. 緒言

これまで、我々は、内皮由来過分極因子としての内因性過酸化水素が心筋虚血時に冠血流調節因子として重要な役割を示す事を明らかにした。¹⁾今回、エリスロポエチン (EPO) 投与後、心筋虚血時冠微小側副血行路において、内因性過酸化水素を介した血管拡張作用を示すか否かについて実験を行った。

2. 実験方法

動物実験は、川崎医科大学動物実験委員会の承認を受け、飼育、実験の際には、委員会のガイドランスに従い、ケアを行った。イヌ心外膜側冠側副小動脈 ($\geq 100 \mu\text{m}$) と細動脈 ($< 100 \mu\text{m}$) は、サイクロオキシゲナーゼブロック (イブプロフェン) 下で、急性冠動脈閉塞 (90 分) 前後でCCD生体顕微鏡を用いて微小血管を観察した。左冠動脈前下行枝と回旋枝の間の側副血行路を確認の上、観察した。実験は、以下の8つのグループを比較した (各5匹)。(i) control, (ii) EPO (1000 IU/kg), (iii) EPO+catalase (a decomposer of H_2O_2), (iv) EPO+NO synthase inhibitor (L-NMMA), (v) EPO+L-NMMA+catalase, (vi) EPO+L-NMMA+iberiotoxin (K_{Ca} channel blocker), (vii) EPO+L-NMMA+Apamin (K_{Ca} channel blocker) +charybdotoxin (K_{Ca} channel blocker) and (viii) EPO+wortmannin (PI3-kinase inhibitor).

3. 実験結果

冠動脈閉塞後80分時、冠側副細動脈は、拡張したが、小動脈は有意な拡張を認めなかった。EPO投与後の血管拡張は、control群と比較して、細、小動脈共に有意な拡張を認めた。EPO投与後の血管拡張反応は、catalaseを投与する事によって、細動脈の血管拡張反応は、半減した。さらに、NOとEDHFを阻害する混合投与群においては、さらに細動脈の血管拡張反応の低下を認めた。その反応は、PI3-kinase阻害群と同等の結果であった。western blot法による心筋内Aktリン酸化の程度は、EPO群に比べ、EPO+L-NMMA+catalaseとEPO+wortmanninの両群ともに有意な低下を認めた。心筋虚血後の酸化ストレス (冠静脈洞血中8-OHdG) および心筋梗塞の指標 (冠静脈洞血中troponin-T) は、control群に比べ、EPO群で、有意な減少を認め、その

反応は、NOとEDHFを阻害する混合投与群において、有意に増悪した。²⁾

4. 考察

これまで、心筋虚血後冠自動調節作動時の血管拡張反応において細動脈にEDHF/ H_2O_2 が、小動脈にNOが作用する事が知られており、¹⁾今回の結果では、心筋虚血時に同等の作用が認められ、EPO投与後の血管拡張反応がさらに有意な増加を示し、その反応は、NOとEDHF/ H_2O_2 の阻害薬により低下していることから、EPOの作用の中にNOとEDHF/ H_2O_2 が関与している事が窺われた。冠動脈の虚血再灌流後、心筋障害の指標である冠静脈洞血中Troponin-Tと酸化ストレスの指標である冠静脈洞血中8-OHdGが、Control群と比較して、EPO群で明らかに低下し、その反応は、NOとEDHF/ H_2O_2 の阻害薬投与群で有意な増加を示したことから、EPOには、抗酸化ストレス作用と心筋障害改善作用を持つ事が窺われた。また、western blot法による心筋内Aktリン酸化の程度は、EPO群に比べ、EPO+L-NMMA+catalaseとEPO+wortmanninの両群ともに同等の有意な低下を認めたことから、EPOの作用の一部に、PI3-kinaseとEDHF/ H_2O_2 を介した作用を持つ事が窺われた。

5. 結言

EPO投与後、急性冠動脈閉塞時に生体内冠微小循環側副血行路の拡張、抗酸化ストレス作用と心筋障害改善作用を認め、その作用に内因性過酸化水素が関与する事が窺われた。

文 献

- 1) Yada, T. Shimokawa, H. Hiramatsu, O. Kajita, T. Shigeto, F. Goto, M. Ogasawara, Y. Kajiya, F. Hydrogen peroxide, an endogenous endothelium-derived hyperpolarizing factor, plays an important role in coronary autoregulation in vivo. *Circulation*, **107**, 1040-1045, 2003.
- 2) Yada, T. Shimokawa, H. Hiramatsu, O. Satoh, M. Kashiwara, N. Takaki, A. Goto, M. Ogasawara, Y. Kajiya, F. Erythropoietin enhances hydrogen peroxide-mediated dilatation of canine coronary collateral arterioles during myocardial ischemia in dogs in vivo. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, **299**, 1928-1935, 2010.

顕微分光分析法による肺微小循環パラメータのリアルタイム計測

○精山明敏*

*京都大学大学院 医学研究科人間健康科学系専攻 検査技術科学コース
情報理工医療学講座 医療診断機器分野 [〒606-8507 京都市左京区聖護院川原町 53]

1. 緒言

微小血管内の赤血球速度や酸素化率などのパラメータは、臓器機能を判定する上で重要なパラメータとなる。しかしながら、肺や心臓のような動きのある臓器の微小循環パラメータの測定では、臓器の動きを一時的に静止させて測定したり、高速ビデオシステムを用いて極めて短時間に測定するなど、測定できるパラメータが限られていたり、測定場所や測定値にばらつきが大きいなどの問題があった。

本研究では、(1)定常呼吸下のラット肺における経時的な微小循環パラメータの測定法を確立し、(2)生理的条件下ならびに LPS 投与による病態モデルでの肺微小循環パラメータの変化を測定した結果を報告する。

2. 実験方法

【処置】実験動物には、Wistar 系雄性ラット (280-300g) を用いた (n=12)。麻酔には、ペントバルビタール (0.15mg/kg/h) + ミオブロック (2 mg/kg/h) を用いた。開胸後、任意の葉の観測部位 (10 mm 直径) の周囲数箇所を cyanoacrylate glue にてスライドグラスに接着し、測定ウインドウを設けた。コントロールラット (n=4) には生理食塩水のみを、LPS 投与群 (n=4) には LPS 100 μ g/kg を、処置群 (n=4) には好中球エラスターゼ阻害剤 (シベレスタット) 10 mg/kg と LPS 100 μ g/kg を、静脈内投与した。

【計測】1 回換気量 10 ml/kg (50% O₂ + 50% N₂)、呼吸回数 40 cycles/min の人工換気条件下、独自に開発した顕微分光計測システムを用いて、(1)組織の血流・血球速度・血球量の変化、(2)毛細血管内の赤血球速度とヘモグロビンの酸素化状態、(3)白血球の血管床への接着状態、(4)血管床の透過性の変化、について測定した。

3. 結果

表 1 には、コントロール条件下のラット肺微小循環パラメータを示した¹⁾。LPS は肺微小循環において白血球の接着を誘発し、その結果、組織のヘモグロビンのヘモグロビンの酸素化率が低下し、肺胞・間質浮腫を招いた。選択的好中球エラスターゼ阻害剤 (シベレ

Table 1. Baseline values for hemodynamic variables in the pulmonary microcirculation

Microspectroscopy	
RBC velocity, mm/sec ^a	0.68 $\pm$ 0.05
Hb oxygenation, fraction ^b	0.94 $\pm$ 0.01
Capillary diameter, μ m ^c	5.1 $\pm$ 1.2
Thickness of interalveolar septa, μ m ^d	14.31 $\pm$ 0.81
Laser-Doppler flowmetry ^b	
Blood flow, mL/min/100 g tissue	30.7 $\pm$ 7.0
RBC velocity, mm/sec	0.74 $\pm$ 0.20
RBC number, $\times 10^6$ /mm ³	9.9 $\pm$ 1.7

RBC, red blood cell; Hb, hemoglobin.

^aMeasurements were performed on five capillaries per rat; ^bmeasurements were performed on five different areas of the lung surface of each rat; ^cmeasurements were performed on 25 capillaries of five rats; ^dmeasurements were made of five interalveolar septa (distance between alveolus to neighboring alveolus) in each of five rats. Values are mean $\pm$ SD of five rats.

スタット) の投与により、これらの肺微小循環の急性変化が軽減した。

4. 結論

本研究で開発した顕微分光分析システムにより定常呼吸下のラット肺における経時的な微小循環パラメータの測定法が可能となり、種々の状態 (生理的条件下や病態条件下および処置過程) での定量的評価が可能となった。

文 献

- 1) Inoue, Y., et al. : Protective effects of neutrophil elastase inhibitor (sivelestat) on lipopolysaccharide-induced acute dysfunction of the pulmonary microcirculation. Crit. Care Med. 33, 1814-22, 2005.

ドップラ OCT 法によるラット脳微小循環の可視化

○関淳二*, 鈴木崇士*, 大井康浩**

*国立循環器病研究センター研究所 生体医工学部 [〒565-8565 大阪府吹田市藤白台 5-7-1]

**大阪大学大学院 歯学研究科

1. 緒言

大脳皮質は数 mm の厚さの中に、いずれもサブミリメートルスケールの層構造、機能的コラムと呼ばれる構造が並んでいる。神経活動時にはこれら単位構造での活動に伴い局所脳血流が変化する（神経-循環カップリング）。本研究ではドップラ OCT (Doppler optical coherence tomography)法をもちいて、このような脳微小循環系の構築と機能を明らかにすることを試みた。

2. 実験方法

国立循環器病センター動物実験実施規定に従い、ラット (Wistar ♂, 200-300g) は麻酔下に頭頂部 1 次体性感覚野を含む領域に Cranial Window を作製し計測に供した。大腿動脈圧をモニターし随時麻酔を追加した。

計測に用いた装置は、時間領域 OCT で詳細は他に記した¹⁾。概略は、光源に中心波長 1307 nm, バンド巾 112 nm の SLD を用い、深さ方向分解能 11 μm である。OCT 信号を短時間フーリエ変換しスペクトログラムを描くと、血流中の赤血球からの散乱光はドップラ効果により周波数偏移を受けるため、血管と周囲組織とを分離することができる。図 1 はその 1 例で、横軸時間、縦軸が周波数を表す。左半が下行、右半が上行スキャン時の OCT 信号で、スキャン速度に対応する約 15kHz の直線部分が静止組織、数~十数 kHz 離れた信号が脳表から深さ 250-500 μm の細静脈の信号を示す。

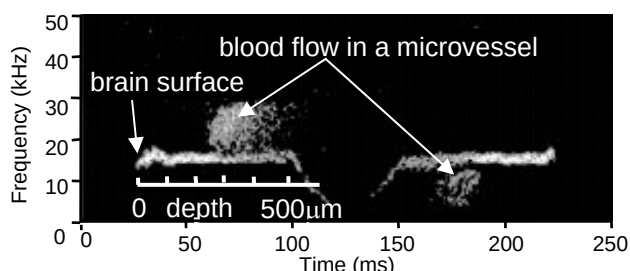


Fig.1 Example of spectrogram of OCT signal for the rat cerebral cortex.

深さ方向スキャンを異なる位置で繰り返すことによって 2 次元、3 次元断層像が得られる。また、ドップラ周波数から血流速度が求められる。

更にラット下肢を電気刺激 (3mA, 5Hz, 4s) し、これによる神経活動に伴う血流変化を計測した。

3. 実験結果

図 2 に 1 次体性感覚野下肢領域の OCT 断層像にドップラ解析から得られた穿通枝細動脈の血流速度分布を重ねて表した。この血管の血流は下向きに 9.3~16.8 mm/s の分布を示した。血流の方向、拍動特性 (拍動振幅と平均速度との比が 0.47) からこの血管が細動脈であることが分かる。

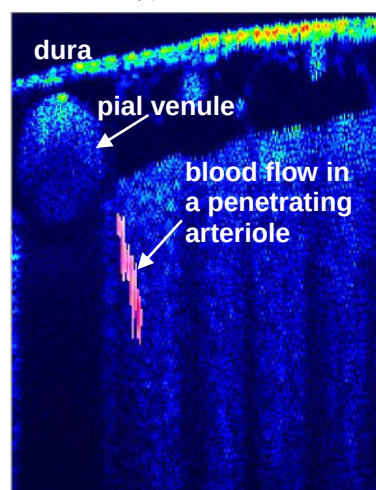


Fig.2 Penetrating arteriole detected by Doppler OCT is superposed on the OCT structural image (1x1.5 mm) of S1HP area.

下肢刺激に伴う平均血流速度は、下肢領域の穿通枝動脈、軟膜動脈、静脈においてそれぞれ、9.9, 12.6, 12.6%の有意な増大を示したのに対して、それ以外の領域の微小血管において有意な変化は見られなかった。

4. 考察

ドップラ OCT 法によって OCT 構造画像からは確認困難な皮質深部の微小血管を描出することができた。深部微小血管の血流計測は他の手法では困難であり、特に穿通枝微小血管における脳表と垂直方向の血流速度を拍動成分を含め計測可能なことが本手法の特徴である。

5. 結言

脳皮質深部微小血管の可視化、血流計測は、脳局所における 3 次元的な微小循環調節機構の解明に役立つと期待される。

文 献

- 1) Satomura Y, Seki J, et al.: In vivo imaging of the rat cerebral microvessels with optical coherence tomography, Clin. Hemorheol. Microcirc. **31**, 31-40, 2004.

腎における微小循環の可視化

○仲本博, 小笠原康夫, 梶谷文彦

川崎医科大学 医用工学システム循環器 [〒701-0192 倉敷市松島 577]

1. 緒言

腎の微小循環の可視化は、そのアプローチが困難なことから摘出サンプルか水腎症なる病的な動物モデルや腎皮質表面に糸球体の存在するミュンヘンラットの様な特殊な種の動物での観察に限られていた。

われわれは生体顕微鏡を日本光電と共同で開発し、この障害を乗り越えた。光学顕微鏡の限界に近いところまで性能を引き出したこの顕微鏡では、通常コントロールラットとして用いられる Wistar ラットを用いて形態の観察だけでなく血管径や血流速度の計測が可能である。

しかし生体顕微鏡では腎の機能、例えば糸球体濾過、の観察には限界がある。そこで近年われわれは、多光子共焦点レーザー顕微鏡を導入し蛍光色素を用いることで、濾過の可視化定量化を試み成功したので報告する。

2. 実験方法

A われわれの開発した生体顕微鏡を用いて、腎糸球体における血流速度を指標として、DIC 治療に用いる薬剤の効果を評価する。Wistar ラットに LPS (lipopolysaccharide, 5 mg/kg i.v.)を投与した。前投与として、DIC 治療薬であるヘパリンと未認可の PAF (血小板活性化因子) 阻害剤である CV3988 を投与した。

B われわれの開発した生体顕微鏡を用いて、Wistar ラット腎糸球体における糸球体輸出入細動脈の径を指標として、アデノシンの効果を評価する。投与した薬剤ジラゼブは、アデノシンの細胞内への取り込みを阻害し、結果として組織でのアデノシン濃度が上昇することが知られている。前処置として A1, A2, A1 & A2 遮断薬を投与しておき、アデノシン 300 mg/kg を投与した際の変化を比較検討した。

C 新たに導入した多光子共焦点レーザー顕微鏡に蛍光色素を用いることで、濾過の可視化を行なった。Texas Red で標識したデキストラン分子の大きさを 3k, 10k, 40k, 70k Dal と変えて Wistar ラットに投与することで濾過を可視化出来た。STZ(50mg/kg, i.v.)で誘発した早期の糖尿病ラットと正常ラットで比較した。

3. 実験結果

A LPS の投与によって糸球体毛細管での血流速度は、2 時間でおおよそ 40%に低下する。ヘパリンの前投与に

よって、それはおおよそ 50%まで改善する。しかし、CV3988 の投与ではほとんど血流速度の低下を認めなかった($p<0.05$)。

B ジラゼブ単独では、糸球体輸出入細動脈の径変化は、二相性で 1 から 2 分の早期に収縮を認めた後拡張を始め、7 から 8 分で拡張のピークに達した。A1 遮断薬にて拡張のみが、早期から観察された。A2 遮断薬にて収縮のみが、早期から観察された。A1 & A2 遮断薬にて、拡張と収縮の双方の変化が消失した(いずれも $p<0.05$)。

C このシンプルな方法で濾過を可視化することが出来た。また、早期の糖尿病では過剰濾過があることが知られているが、これも定量的に違いを描出することが出来た。早期の糖尿病では、比較的大きい 40k, 70k Dal の漏出が認められた。

4. 考察と結論

A. LPS の投与によって惹起された血流障害に対するヘパリンの効果は小さく、PAF の効果が著しいことが判明した¹⁾。

B. アデノシンの糸球体輸出入細動脈への作用は、二相性である。早期に収縮が認められ、後期に拡張に転ずる。それには、A1 受容体と A2 受容体がそれぞれ関与している²⁾。

C. 早期糖尿病では腎は過剰濾過の状態であり、早期から蛋白の漏出が生じている³⁾。

謝 辞

データ収集ならびに解析に協力してくれた川崎医療短期大学の学生、中井・吉田・田邊・山本・石丸・田中・村木・尾登・松浦・武智・岩下・江藤・真鍋の諸氏に謝意を表する。

文 献

- 1) 仲本博他、腎とフリーラジカル---腎微小循環の可視化と DIC への応用、東京医学社 Vol.8 pp.41-44, 2006
- 2) Nakamoto et al. Visualisation of the effects of dilazep on rat afferent and efferent arterioles in vivo Hypertens Res. 31(2):315-24, 2008
- 3) Nakamoto et al. In-vivo Visualisation of glomerular filtration by two-photon microscopy in a rat, WC 2009, IFMBE Proceedings 25/IV, pp.109-1110, 2009.

造影超音波検査による泌尿器臓器微小循環の イメージングと臨床応用

○山本徳則*, 舟橋康人*, 佐々直人*, 青木久佳**, 土屋拓真**,

松川宣久*, 加藤真史*, 水谷一夫*, 吉野能*, 服部良平*, 後藤百万*

*名古屋大学 医学部付属病院 泌尿器科 [〒466-8550 愛知県名古屋市昭和区鶴舞町 65]

**GE 横河メディカルシステム(株)

1. はじめに

腎臓は生体臓器の Vital organ のうちに最も血管密度が高く、毛細血管レベルの微小循環は泌尿器科臓器のあらゆる疾患の原因またはその結果として深く関わっている。今回我々は、造影超音波イメージング¹⁾によって、臨床疾患の応用を試みたので報告する。

2. 対象、方法

移植腎の長軸を描出し、Perfluorobutane (Sonazoid® : 粒子径 4-6 ミクロン) 0.005ml/kg を正肘静脈よりボラス投与し、造影画像を記録した。関心領域を設定し、time-intensity curve を計算した。2008 年 4 月以降に当院にて施行した泌尿器科疾患（前立腺癌、腎細胞癌、移植腎）を対象に行った。1 バイアル添付の注射液 2ml をバイアル側に注入し、混和させ、数回吸引注入をゆっくり繰り返し、ソナゾイドのバブルを混和する。²⁾

3. 使用プローブ

4C プローブ (2.0~5.5MHz) MI:0.20~0.29 FR:11Hz
本教室は、造影超音波検査を行った全症例対象に下記手順でデジタル画像記録保存し、詳細な retrospective な解析を行っている。

- 1) 造影前の B-モードで全体的に十分な観察
- 2) 造影前のカラードプラ、パワードプラ、B-flow、パルスドプラーイメージング
- 3) 造影剤注入後～約 40 秒間
- 4) 造影剤注入後、3 分前後の画像を約 20 秒
- 5) 造影剤注入後、5 分前後の画像を約 20 秒
- 6) 造影後のカラードプラ、パワードプラ、B-flow、パルスドプラーイメージング

4. 結果

泌尿器臓器（腎、膀胱、前立腺）を対象にして造影超音波微小血管イメージを得ることが可能であった。そのイメージングデータから時間-濃度曲線により腎細胞癌、前立腺癌そして移植腎機能としての微小血管特性を得ることが可能であった。

5. まとめ

造影超音波を用いて泌尿器臓器微小循環イメージから微小循環特性を時間-濃度曲線より表示した。その曲線から良性と悪性腫瘍の鑑別^{3,4)}、移植腎機能評価²⁾の可能性が示唆された。

文 献

- 1) 山本徳則、服部良平、後藤百万：腎疾患のソナゾイド造影超音波検査—腎微小循環に対する超音波造影剤ソナゾイド、インナービジョン、24(6): 62-65, 2009.
- 2) 山本徳則、舟橋康人、服部良平：「画像診断イメージングアプローチ」Nephrology Frontier 連載 9 巻 3 号 (12 月号) 移植腎に対する造影超音波検査イメージング—葉間動脈—髓質外層血管通過時間定量の試み.
- 3) 山本徳則：「画像診断イメージングアプローチ」Nephrology Frontier 連載腎血管—腎腫瘍特性微小循環に対する造影超音波検査— Vol.9 No.3 2010 9 月号.
- 4) Aoki G, Hattori R, Yamamoto T, Funahashi Y, Mastukawa Y, Gotoh M, Yamada Y, Honda N Contrast-enhanced ultrasound using a time-intensity curve for diagnosis of renal cell carcinoma BJU International 2010 accepted.

皮膚透過性と微小血管応答

○南山求*, 山本明美**

*広島国際大学 [〒739-2695 広島県東広島市黒瀬学園台 555-36]

**帝塚山大学

1. 緒言

皮膚は、成人では表面積にして約 1.7 m², 厚さは約 1.5 mm であり, 重さは約 2 kg, 安静時心拍出量の約 4% が循環している臓器である. この皮膚を介して外来物質や薬物が透過することはよく知られており, その効果は皮膚血管床に反映することから, 皮下組織の微小血管応答を直接的に観察記録し, 解析することに意義がある. 本研究では麻酔下動物に生体顕微鏡画像解析システムを適用し, 皮膚血流促進素材である二酸化炭素飽和水溶液を皮膚に接して経皮的に投与したり¹⁾, あるいは同様の作用をもつ塩化カルプロニウムの効果^{2,3)}を皮膚透過性と微小血管応答を関連づけたりした結果を報告する.

2. 実験方法

1) 実験にはα-クロラロース・ウレタン麻酔下のラット(BN)を用い, 自発呼吸下で側臥位とした. 実体顕微鏡下で背部皮膚を円形に切開し, 皮下組織を露出して観察窓とした. 皮下の微小血管内の赤血球流を生体顕微鏡下で確認し, 解放部位を保生液で灌流し, 透明なフィルムで覆い, 二酸化炭素飽和液を皮膚に接しさせた. 生体顕微鏡に取り付けたテレビカメラで背部皮下の微小血管像を撮影し, ビデオカセットレコーダに記録した. 皮下の pH を測定するために, 観察窓とは別の皮膚に小切開を加え, 皮膚チューブを作成した. 別途, 0.2%塩化カルプロニウム 100μl を添加する実験も行った. ビデオ画像をパーソナルコンピュータでデジタル化し, 静止画上で血管口径を計測するとともに, テレビ二窓法で得られた輝度信号の相互相関関数を求める方法で赤血球速度の計測を行い, 微小血管内血流量を求めた.

2) 麻酔下のラット(BN)耳介では, 対物レンズ4倍の生体顕微鏡を用い, 皮下の細動脈, 細静脈および毛細血管をテレビカメラで観察記録した. 素材の媒体(50%エタノール水溶液 20μl)あるいは塩化カルプロニウムを耳介に塗布し, 細動脈および細静脈の口径変化を求めた.

動物実験は広島国際大学実験動物委員会が定める倫理規定に準拠した方法で行った.

3. 実験結果と考察

二酸化炭素飽和液を皮膚に接すると, 細動脈の拡張, 赤血球流が観察させる毛細血管数の増加および細静脈血流量の増加が認められた. 皮下の pH は減少したことから, 二酸化炭素による皮下組織の水素イオン濃度の変化が血管平滑筋の弛緩を促していると思われた.

皮膚の内側より毛包および毛包周囲微小血管内の赤血球流を生体顕微鏡下で観察記録し, 塩化カルプロニウムを添加すると, 微小血管口径及び赤血球速度の増加が認められ, 毛包内及び周囲の微小血管網への血流改善効果を直接的に明らかにできた.

皮膚表面から塩化カルプロニウムを投与するために用いたラット耳介では, 試薬あるいは媒体のみを耳介皮膚に塗布するとそれぞれで細動脈の拡張作用が認められた. しかし, 細静脈の口径には顕著な変化が見られなかった. 媒体のみの耳介塗布で血管径の増大とその後の収縮傾向が見られたことから, ラット(BN)耳介の皮膚が薄いために, 50%エタノールの直接的な作用などが関わると思われた.

謝 辞

本研究が第一三共ヘルスケア株式会社及び花王株式会社の委託を受けて行えたことに感謝します.

文 献

- 1) Minamiyama, M. and Yamamoto, A.: Direct evidence of the vasodilator action of carbon dioxide on subcutaneous microvasculature in rats by use of intra-vital video-microscopy. *J Biorheol*, **24**, 42-46, 2010.
- 2) Minamiyama, M., Minato, T., Yamamoto, A., Kaihatsu, T. and Tsunoda, K.: Effects of carpronium chloride on the microvascular blood flow in rat mesentery using intravital microscopy. *Clin. Hemorheol. Microcirc.* **34**, 1-5, 2006.
- 3) 南山求, 後藤陽一, 山本明美, 開発啓之, 角田健司: 毛髪周期とその微小血管網構築および血行動態の変遷, *日本バイオレオロジー学会誌*, **22 増**, 47, 2008.

呼吸運動による気管支内痰塊の変形移動

○多羅尾範郎

聖隷クリストファー大学 リハビリテーション学部 [〒433-8558 静岡県浜松市北区三方原町 3453]

1. 緒言

肺サーファクタント不足等による呼吸窮迫症候群や肺水腫における細気管支の閉鎖時間の継続は、深刻な酸欠につながるため、前世紀の終わり頃から気道の再開問題は詳しく研究されている。しかしながら、それらは全て、気管支系に組み込まれていないため、実際に胸腔内圧力変動により、どのような気道の再開があるかは、明らかではない。本研究は、排気中に、細まった細気管支内で発生した痰栓が、吸気時に流入した空気と共に肺胞側に移動し、同時に気管支の拡張によって変形し解除に至る様子をモデル計算で調べたもので、モデルは気管支の樹枝状モデルで、外圧が胸腔内圧力に似せた変化で減圧した場合、痰塊空気間に働く表面張力、痰塊の粘性抵抗、痰両側の圧力差等に応じて移動し、気管支内外の圧力差でその内径が変わる事で痰塊が変形するもので、この過程を解析的計算と数値計算を組み合わせて計算した。

2. 計算方法

図1の様な樹枝状の気道モデルを考える。実際の肺では24回分岐するが、計算の都合で、8回に分岐で簡略化し、第8気管支の壁を極端に柔らかくし、肺胞とした。その手前の第7気管支が問題の粘液で詰まった気管支とした。解析に必要な変数等は、図2の様にとり、第7気管支中で空気の占める長さの割合 X と無次元化半径 R_n と R_n' を計算した。

各気管支の半径は Young-Laplace の方程式に従い、気流や粘液の移動は連続の方程式・NS 方程式に従うとした。

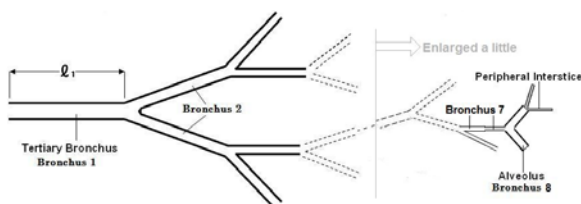


Fig.1 Respiratory system is reduced a dendritic successive bifurcated tree model.

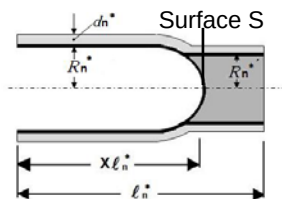


Fig.2 Geometry of closed bronchiol

3. 計算結果

数値計算結果の一部を図3および図4に示す。

4. 考察

面 S の表面張力が強い場合、粘液部分の管の内径が細くなり、同じ体積の動きが位置での大きい動きになるため、面 S は速く動く。しかしながら、内径が太く広がった時に痰栓が解除されるのであるから、表面張力が強いと痰栓の解除は難しい。

肺サーファクタントの不足は痰栓をもたらすが、できた痰栓も解除し難くなるため、肺サーファクタントの重要性が示唆される。

5. 結言

気管支系の末梢に痰栓で塞がった気管支を組み込んだ気道の開閉計算モデルの作成に成功した。これによって、表面張力の強さや気管支壁の柔軟性と痰栓解除の難易度との関係が明らかになった。

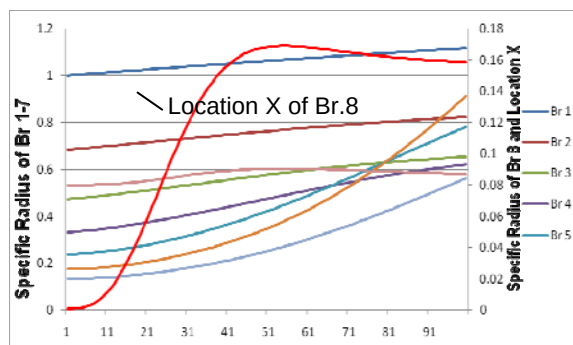


Fig.3 Time-Dependent Radius of Every Bronchus and Location of BS at the Starting of Inspiration in the case of $T=0.5$ (Strong Surface Tension).

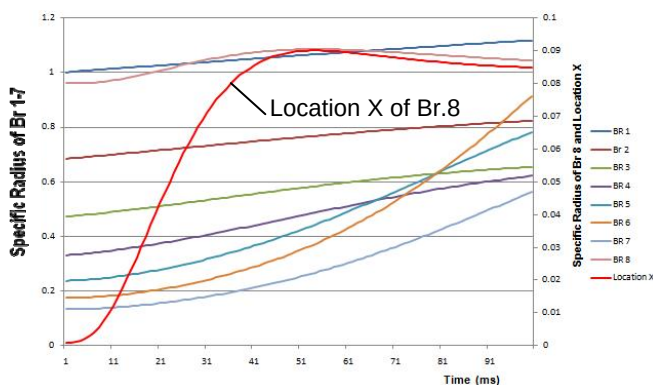


Fig.4 Time-Dependent Radius of Every Bronchus and Location of BS at the Starting of Inspiration in the case of $T=0.05$ (Weak Surface Tension).

熱対流中の不安定ロール状構造

○板野智昭*, 藤原秀誠*, S.C.ジェネラリス**, 秋永剛*, 関眞佐子*

*関西大学 システム理工学部 [〒564-8680 大阪府吹田市山手町 3-3-35]

**アストン大学 工学・応用科学学校

1. 緒言

水平な 2 枚の平行平板間の温度差により平板間に駆動される対流現象（レイリー・ベナール対流）は、理論・実験の両面からこれまで多くの研究が行われてきた。レイリー数 Ra は、この系の重要なパラメタの一つである。 Ra が臨界値を越えると、対流による熱輸送が拡散による熱伝導に優り、系は静止状態から定常な対流状態に超臨界分岐することが知られている。対流のパターンはベナールセルと呼ばれ 2 次元ロール・矩形・六角セル等がある。いずれの場合も流線は個々のセル内で閉じているため、異なるセル間で流体要素の行き来がなく、これらセルの解析が流体混合等の問題の鍵となることがある。

さて、これらのセルを誘起するモードは 6 階微分を含む固有値問題の解であり、 Ra の増加とともに解は多数存在するが、実験的に可観測な対象として $Ra_{cnvl} = 1708$ で最初に現れる対流の固有モードとこの対流の非線形分枝の不安定性が、従来の研究においては主な調査対象であった。しかしながら Ra が時間的に急激に上昇した時に初期に発達する流れの様相は、一般には系の微小攪乱の程度にもよるが、必ずしも第一不安定モードだけでは特徴づけられないであろう。今回、我々は Ra と不安定モードの個数の関係、解の構造について数式処理ソフトを用いて調査した。

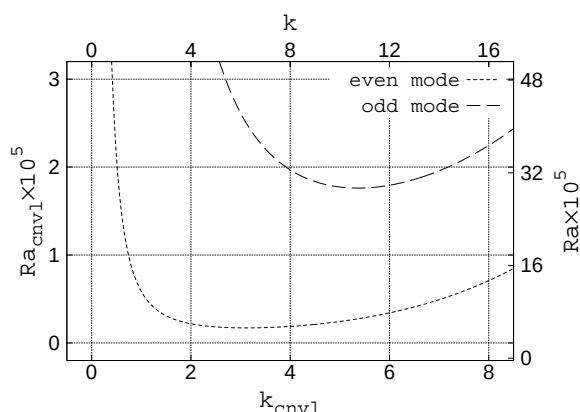


Fig. 1 The critical Rayleigh numbers Ra at which instability sets in for disturbances of different wave numbers k for the first even mode (dotted curve) and the first odd (dashed curve) mode in Rayleigh-Bénard convection.

2. 計算結果および考察

固有モードは、文献¹⁾に倣い、関数形の対称性にもとづいて偶・奇に分類することができる。これは固有モードのチャンネル中央に対する対称・反対称性に対応する。図 1 には偶・奇の各モードについて、一次不安定モードの Ra と k の関係を示した。固有モードが存在しうる最小の Ra を与える最適な波数を臨界波数と呼ぶ。図 2 には、波数 k を $Ra_{cnvl} = 1708$ で現れる最初の偶モードの臨界波数 $k_{cnvl} = 3.12 (k = 6.24)$ に固定した時の、 Ra の増加に対する固有モードの分布を、光学における輝線スペクトルを模して表した。 Ra を増加させると、一次不安定モードに引き続き、静止状態からは次々と新たな不安定モードが現れるのが分かる。

更に、これら不安定モードの流れ場の構造を調べると、 n 次の偶モードには $2n-1$ 個の渦が、 n 次の奇モードには $2n$ 個の渦が、平板間に重なって存在していることが分かった。

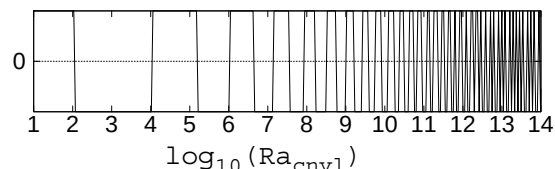


Fig. 2 The distribution of unstable even modes on the Rayleigh number at a wave number $k_{cnvl} = 3.12 (k = 6.24)$.

3. 結言

2 次元レイリー・ベナール対流において、静止状態からの 2 次分岐に係る Ra と不安定モードの個数の関係、解の構造について調べた。不安定モードはモードの次数に応じた数だけの渦が平板間に重なって存在していることが分かった。

謝 辞

本研究は科研費（23760164）の助成を受けた。

文 献

- 1) Chandrasekhar, S.: Hydrodynamic and Hydromagnetic Stability. Dover Public, Inc. New-York, 1981.

血管分岐におけるマイクロバブル移動に関する簡単な計算

○多羅尾範郎

聖隷クリストファー大学 リハビリテーション学部 [〒433-8558 静岡県浜松市北区三方原町 3453]

1. 緒言

近年、非常に小さな気泡であるマイクロバブルによる診断・治療が研究・開発され、注目を浴びている。すなわち、癌細胞に気泡を吸着させ、超音波診断等における癌マーカーの役目を果たさせるとともに、超音波による加熱で、癌細胞のみを破壊することを目的とする研究がなされている。

一方において、従来のバブルセラピーやキャビテーション崩壊時の衝撃波利用による結石・脂肪塊破壊も、より効果的な方法が開発され、患者への負担も軽減されている。これら泡利用の医療に於いては、目的の器官へ泡が到達することや、その器官で均等または選択的に分布する事が必要である。本計算は、比較的小さい血管分岐における泡の運動により、上記分布にどのような変化が生ずるかを計算により調べたものである。

2. 計算方法と前提条件

幹血管(親血管) 入口断面で一様な面密度で分布した同一半径の気泡一つ一つの軌跡を計算し、2 本に分岐した枝血管(子血管) のどちらに入るかを求めた。乱流においては攪拌で一様化が起るため、層流領域で脈波の影響が少ない流れを仮定し、泡同士の相互作用・壁への付着を無視し、血管内径に対し、十分小さい泡を仮定した。

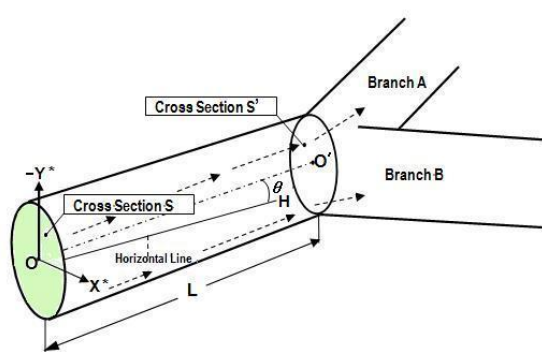


Fig.1 Geometry of Blood Vessel Model with Bifurcation. The inclined angle between the centre line of trunk tube and the horizon is denoted by. The trajectory of every bubble from Section S is calculated.

3. 計算結果

計算結果は、(1)式のパラメータ P で表される。

$$P = \frac{8\ell^2 R^2 \cos \theta}{9\Delta P} \quad \dots (1)$$

ここで、 $\ell = L/r$ は幹血管内径 r を基準とした無次元の幹血管長さ L 、 $R = R^*/r$ は同様な無次元泡半径、 $\Delta P = \Delta P^*/(\rho g r)$ は、密度 ρ 、重力加速度 g 、幹血管内径 r の積を基準とした圧力勾配で、このパラメータ P を使うと、断面 S で一様に分布していた半径 R^* の泡が Branch A に入る割合は、図2により表される。

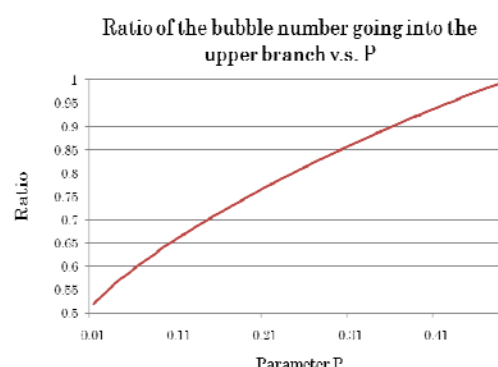


Fig.2 The ratio of bubbles moving into the Branch A. As P increases the ratio of bubbles moving upwards also increases. If P is larger than 0.4, most bubbles will move into Branch A.

2 本の枝が、垂直から傾いた場合は、上図は修正され、例えば 45° 傾いた場合、図3のようになる。

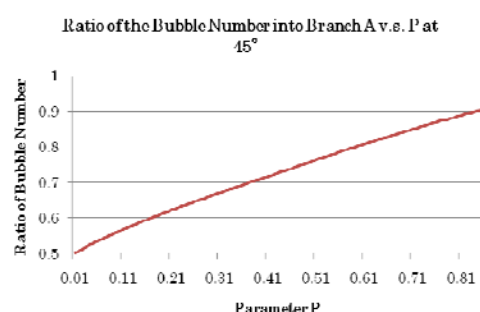


Fig.3 The ratio of bubbles moving into the Branch A at $\phi = 45^\circ$

4. 考察

壁の影響や泡同士の相互作用を考慮したい。

5. 結言

小泡が血管分岐で分流する割合を計算した。

編集後記

若輩者ながら、この歴史ある本学会の年会に実行委員長として参加させていただく機会を与えていただきましたことを大変光榮に思います。年会長の関先生、学会長の谷下先生、電子版 B&R 編集委員長の望月先生をはじめとしまして、多くの皆様からのご協力・ご支援をいただきました結果、合計 105 件ものご講演をいただく盛況な年会にすることができますことを、実行委員会を代表いたしまして、まずはお礼申し上げます。今回は、①プログラム・抄録集の電子版 B&R として発刊、②抄録原稿のフォーマットを電子版 B&R と同形式に変更、③募集演題をテーマ毎に分類してオーガナイザーを任命、OS 毎にシンポジウムの企画、各 OS への発表誘致・プログラム立案、④研究発表を原則 2 部屋のパラレルセッションで実施 等、これまでとは異なった年会となりました。試行錯誤を行いながらの運営となりましたので、ご迷惑などおかけしたこともあるかと思いますが、ご寛容いただきますようお願いいたします。本年会を通しまして、新たな研究テーマやコラボレーションの芽が出て、バイオレオロジー研究および本会の発展に少しでも寄与できれば幸いです。

(田地川 勉)

編集委員会

編集委員長 望月 精一

編集委員 市川 寿 喜多 理王 工藤 奨 坂元 尚哉

櫻井 秀彦 一杉 正仁 山田 宏 山本 徳則

特別編集委員 田地川 勉

日本バイオレオロジー学会誌 (B & R, 電子版) 第 25 巻 第 2 号

2011 年 6 月 3 日発行

編集者 望月精一

発行者 谷下一夫

特定非営利活動法人 日本バイオレオロジー学会・事務局

〒376-8515 群馬県桐生市天神町 1 丁目 5 番 1 号

群馬大学大学院 工学研究科 応用化学・生物化学専攻 高分子物理化学研究室内

TEL/FAX 0277-30-1427

E-MAIL office@biorheology.jp

©copyrighted 2011, by Japanese Society of Biorheology

年会タイムテーブル

第1日目 6月3日(金)

第1室 (ホール2)	第2室 (第1特別会議室)
9:00～10:30 OS4 p.22～27 細胞・分子のメカノバイオロジー	9:00～10:30 シンポジウムⅠ p.44～49 脳動脈瘤のCFDによる解析
休憩	
10:45～12:00 シンポジウムⅢ p.28～32 デバイス技術による細胞解析・制御の最前線	10:45～12:00 OS1 p.50～54 血管内治療
12:00～13:15 昼食	12:00～13:15 JBR編集委員会 (第3会議室)
13:15～14:45 p.33～38 学術奨励賞応募講演	
休憩	
15:00～16:00 OS5 p.39～42 ティッシュエンジニアリング・人工臓器(1)	15:00～16:00 OS6 p.55～58 生体物質の構造形成と機能発現・制御(1)
休憩	
16:10～16:55 p.43 特別講演	
休憩	
17:10～18:05 p.59～80 ポスターセッション (ロビー) 17:10～17:25 コアタイム(1) 17:30～17:45 コアタイム(2) 17:50～18:05 コアタイム(3)	
移動	
18:30～20:00 懇親会 (レストラン チルコロ)	

第2日目 6月4日(土)

第1室 (ホール2)	第2室 (第1特別会議室)
9:00～10:15 OS5 p.81～85 ティッシュエンジニアリング・人工臓器(2)	9:00～10:15 OS6 p.105～109 生体物質の構造形成と機能発現・制御(2)
休憩	
10:30～11:30 OS2 p.86～89 循環器系ダイナミクスと疾患(1)	10:30～11:30 OS3 p.110～113 血液レオロジーと微小循環(1)
休憩	
11:40～12:15 総会	
12:15～13:15 昼食	12:15～13:15 電子版B&R編集委員会 (第3会議室)
13:15～14:15 p.90～91 学会賞受賞講演	
休憩	
14:30～15:30 OS2 p.92～95 循環器系ダイナミクスと疾患(2)	14:30～15:30 OS3 p.114～117 血液レオロジーと微小循環(2)
休憩	
15:40～16:40 シンポジウムⅣ p.96～99 誤嚥症状判定用溶液の作成による 嚥下困難者の食のQOL向上	15:40～17:10 シンポジウムⅡ p.118～123 臓器微小循環の可視化と バイオレオロジー
休憩	
16:50～18:05 OS7 p.100～104 ヘルスケア食品レオロジー	17:20～18:05 OS8 p.124～126 バイオレオロジー全般