

# B&R

第37回日本バイオロロジー学会年会

プログラム・抄録集

会期：平成26年6月5日（木）・6日（金）

年会長：大島 まり

（東京大学大学院情報学環／生産技術研究所）

会場：さいたま市 大宮ソニックシティ



日本バイオロロジー学会

<http://www.biorheology.jp>

日本バイオロ誌（B&R, 電子版） 第28巻 第2号  
J. Jpn. Soc. Biorheol. 28(2) (2014)

# 第 37 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 26 年 6 月 5 日（木），6 日（金）

年会長：大島 まり  
東京大学 大学院情報学環／生産技術研究所

会 場：大宮ソニックシティビル 4F 市民ホール

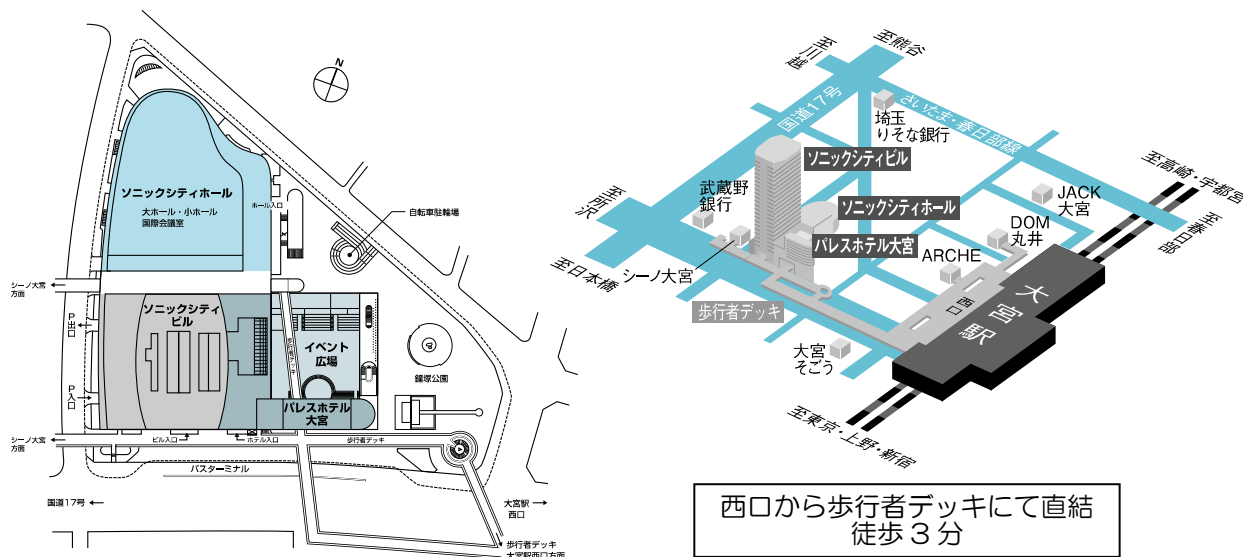
## 実行組織

年会長	大島 まり	東京大学
副年会長	庄島 正明	東京大学
実行委員長	渡邊 宣夫	芝浦工業大学
実行委員	古川 克子	東京大学
	山本 希美子	東京大学
	工藤 奨	九州大学
	須藤 亮	慶應義塾大学
	大石 正道	東京大学
事務局	長野 美登里	東京大学

## 日本バイオレオロジー学会年会のあゆみ

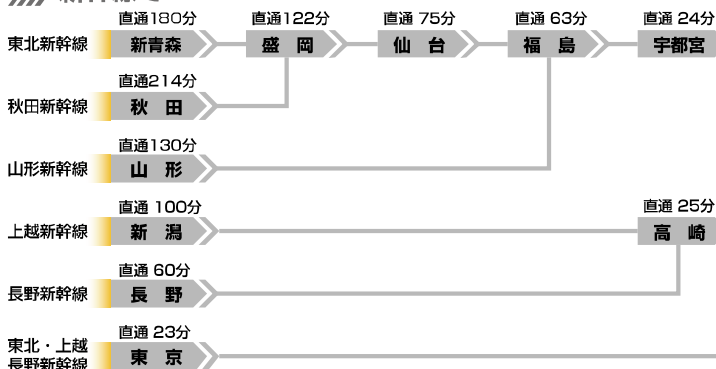
回	年会長	所 属	会 場	会 期
1	深田 栄一	理化学研究所	東京慈恵会医科大学 高木会館講堂	1978/6/19
2	岡 小天	国立循環器病センター	国立循環器病センター 講堂	1979/6/30~7/1
3	東 健彦	信州大学	信州大学 医学部第一講義堂	1980/6/28~29
4	谷口 興一	東京医科歯科大学	東京医科歯科大学 5号館	1981/6/20~21
5	梶谷 文彦	川崎医科大学	川崎医科大学 現代医学教育博物館	1982/6/26~27
6	稲垣 義明	千葉大学	千葉県文化会館 小ホール	1983/6/18~19
7	神谷 瞭	北海道大学	北海道自治会館 自治ホール	1984/6/16~17
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	東京女子医大 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	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 徹	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
35	佐藤 恵美子	新潟県立大学	朱鷺メッセ 新潟コンベンションセンター	2012/5/31~6/2
36	工藤 奨	九州大学	九州大学 西新プラザ	2013/6/6~8
37	大島 まり	東京大学	大宮ソニックシティビル 市民ホール	2014/6/5~6

## 年会，総会，理事会，リサーチ・フォーラム会場へのアクセス



西口から歩行者デッキにて直結  
徒歩 3分

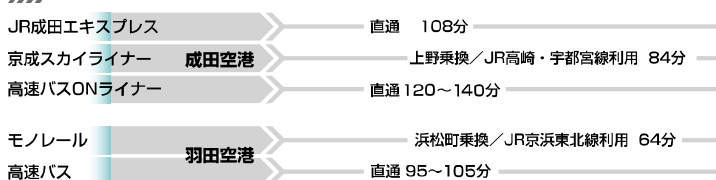
### 新幹線で



### 在来線で



### 空港から



● お車でお越しの場合 首都高速道路埼玉大宮線[新都心西IC]より1km

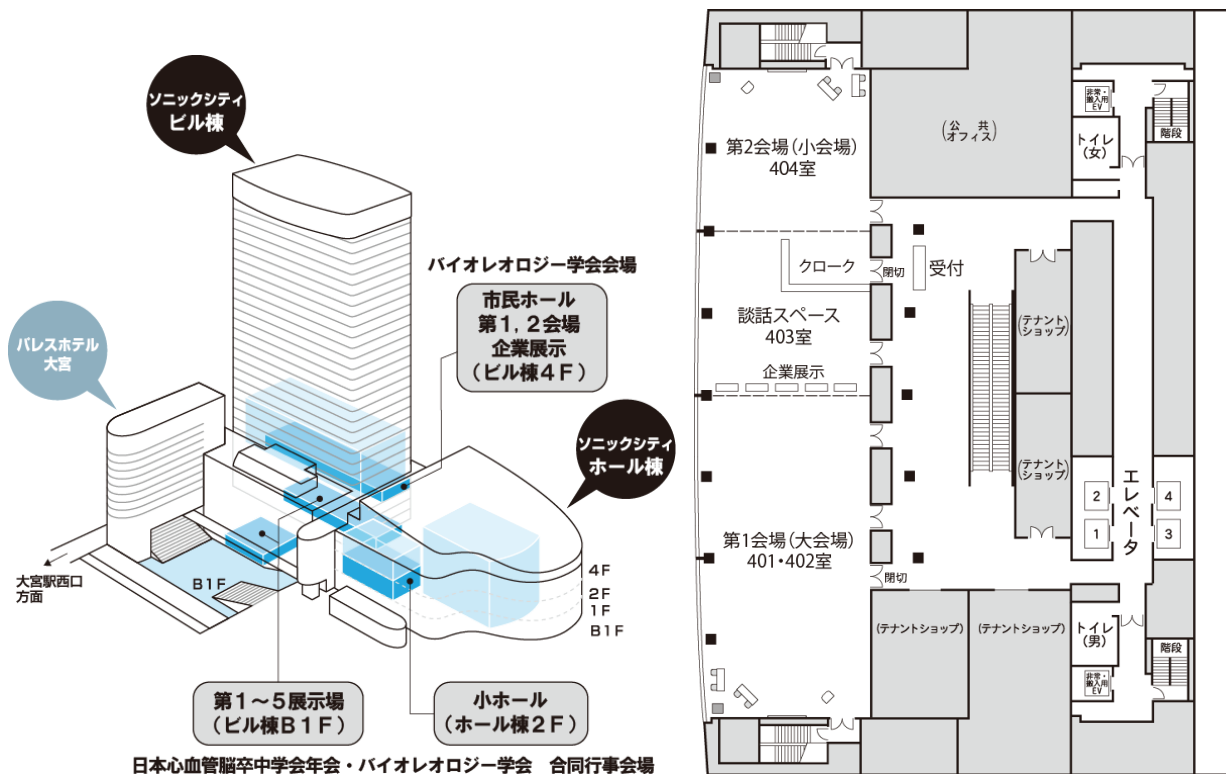
● 駐車場 ソニックシティ地下駐車場……30分/200円 利用時間/7:00~23:00

**SONIC CITY**

歩行者デッキにて直結・徒歩3分

年会，フォーラム，理事会，各編集委員会会場：大宮ソニックシティ 4F 市民ホール  
〒330-8669 埼玉県さいたま市大宮区桜木町 1-7-5 TEL 048-647-4111 FAX 048-647-4159  
JR 線・東武野田線「大宮駅」 西口より歩行者デッキにて直通 徒歩 3分

年会, 総会, 理事会, リサーチ・フォーラム, 各委員会会場



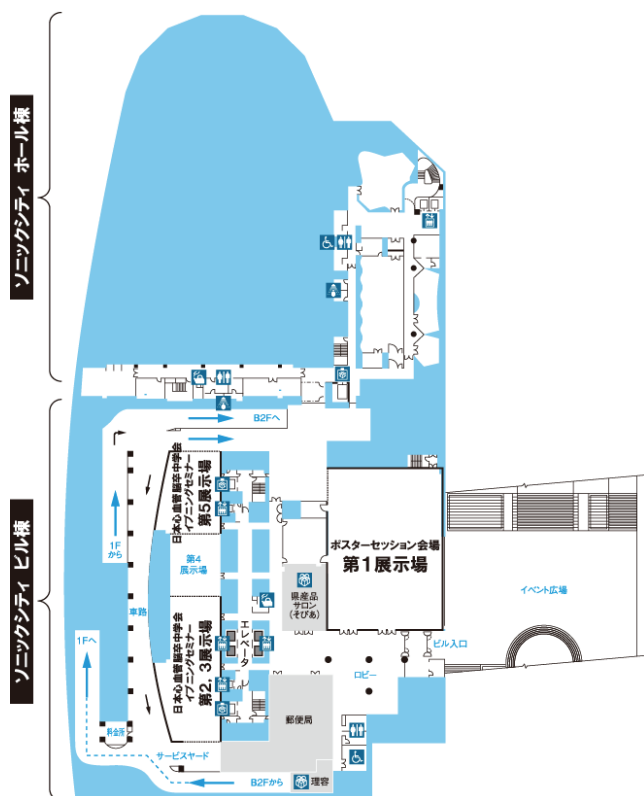
日本心血管脳卒中学会年会・バイオレオロジー学会 合同行事会場

ソニックシティ各会場案内

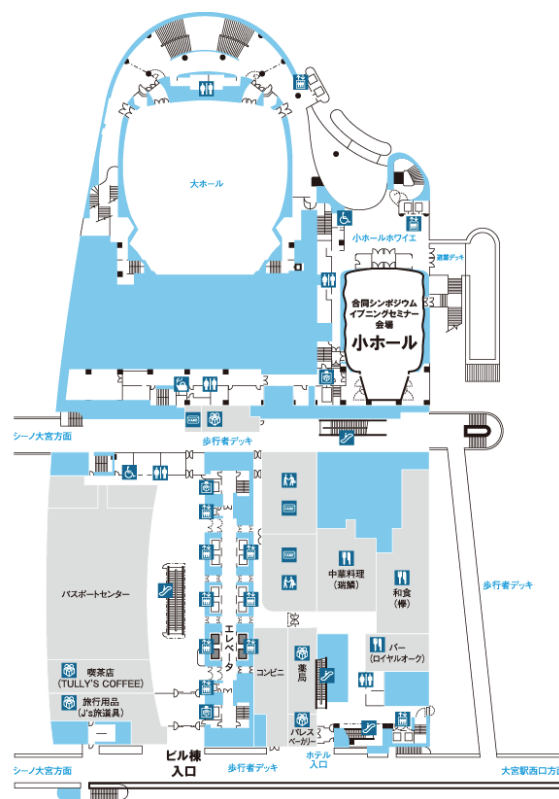
ビル棟 4F 市民ホール 見取図

口頭発表セッション会場	第1会場 (大会場) : ビル棟 4F 401・402 室
	第2会場 (小会場) : ビル棟 4F 404 室
企業展示・談話スペース&クローク	: ビル棟 4F 403 室
学術奨励賞応募講演	第1会場 (大会場) : ビル棟 4F 401・402 室
リサーチ・フォーラム会場	第1会場 (大会場) : ビル棟 4F 401・402 室
総会	第1会場 (大会場) : ビル棟 4F 401・402 室
学会賞受賞講演	第1会場 (大会場) : ビル棟 4F 401・402 室
ポスターセッション会場	: ビル棟 B1F 第1展示場
理事会評議員会合同会議	第2会場 (小会場) : ビル棟 4F 404 室
リサーチ・フォーラム運営会議	第2会場 (小会場) : ビル棟 4F 404 室
JBR 打ち合わせ	第2会場 (小会場) : ビル棟 4F 404 室
電子版 B&R 打ち合わせ	第2会場 (小会場) : ビル棟 4F 404 室

日本心血管脳卒中学会との合同開催行事 会場



B1F 展示場 (ビル棟) 見取図



2F 小ホール (ホール棟) 見取図

合同シンポジウム : ホール棟 2F 小ホール  
 ポスターセッション : ビル棟 B1F 第1展示場

(日本心血管脳卒中学会主催 イブニングセミナー)

第1会場 : ホール棟 2F 小ホール  
 第2会場 : ビル棟 B1F 第2,3展示場  
 第3会場 : ビル棟 B1F 第5展示場

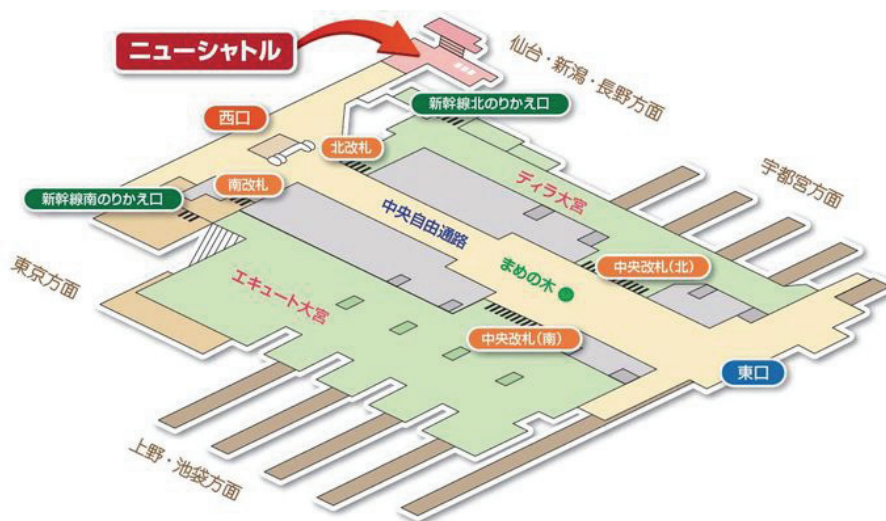
## 懇親会会場へのアクセス

懇親会会場： 鉄道博物館

〒330-0852 埼玉県さいたま市大宮区大成町 3-47 TEL: 048-651-0088



- ・JR 大宮駅よりニューシャトル  
「鉄道博物館駅」(1 駅、乗車時間 2 分) 下車、徒歩 1 分



ニューシャトル乗り場 (ソニックシティ側の西口にありますが)

- ・ソニックシティから徒歩  
約 2.3km 30 分程度かかります。
- ・駐車場 (一般車) : 500 円 / 日

## ご 案 内

### ● ご参加の皆様へ

受 付 時 間 : 6月5日(木) 8:40~17:00  
 : 6月6日(金) 8:40~15:00  
 場 所 : 大宮ソニックシティ ビル棟 4F 市民ホール前受付  
 参加費 : 5,000 円 (正会員) (参加費には, 講演抄録集 1 冊の代金が含まれます.)  
 : 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) (参加費には, 講演抄録集 1 冊の代金が含まれます.)

※上記参加費には一部同時開催の第 1 回日本心血管脳卒中学会学術集会 (6月6日(金)・7日(土))  
 の初日分 (6日) が含まれておりますが, 2 日目 (7日) も聴講される場合には, 7日に先方の  
 学会受付にて別途差額 4,000 円をお支払いください。

講 演 抄 録 集 : 1,000 円

懇 親 会 日 時 : 6月6日(金) 19:00~21:00  
 場 所 : 鉄道博物館 (さいたま市) ※P.6 の会場アクセスをご覧ください。  
 参加費 : 正会員, 非会員 3,000 円  
 学生 1,000 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6日(金) 11:30~12:00  
 場 所 : 第 1 会場 (大会場)

### ● 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5日(木) 11:30~12:30  
 場 所 : 第 2 会場 (小会場)

### ● 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

#### リサーチ・フォーラム運営会議

開 催 日 時 : 6月5日(木) 12:30~13:00  
 場 所 : 第 2 会場 (小会場)

### ● 各誌編集委員の皆様へ

#### JBR 打ち合わせ

開 催 日 時 : 6月6日(金) 12:00~12:40  
 場 所 : 第 2 会場 (小会場)

#### 電子版 B&R 打ち合わせ

開 催 日 時 : 6月6日(金) 12:40~13:00  
 場 所 : 第 2 会場 (小会場)

**● 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、学術奨励賞応募講演 発表者の皆様へ**

- (1) オーガナイズドセッションの発表時間は 8 分，討論は 4 分です。
- (2) 学術奨励賞応募講演の発表時間は 7 分，討論は 3 分です。
- (3) 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。
- (4) 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。
- (5) 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. 各演者はご自身のコンピュータを接続して下さい。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

※今回は「日本心血管脳卒中学会学術集会との合同ポスターセッション」となります。

- (1) ポスターの掲示は、6月6日（金）9:00～11:00に、指定場所（ビル棟 B1F 第1展示場）のパネル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6日（金）16:00～17:00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4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6日（金）の17:15以降に撤去してください。なお6月6日（金）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

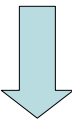
1. パネル上のポスターを貼り付けられる部分の面積は、ヨコ 90cm×タテ 160cmです。この面積に収まるよう、ポスターを作成してください。演題番号は年会でパネル左上端に貼っておきます。
2. 文字や図表のサイズ、レイアウトを工夫し、離れたところからでもわかりやすいポスターを作成することを心がけてください。
3. 「目的」・「方法」・「結果」・「結論」などを明確にし、目的は左上部に、結論は右下部になるように配置してください。
4. タイトル・発表者氏名・所属に続いて代表者の連絡先メールアドレスを記入してください。

**第37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)—**

○中嶋和弘\*\*、隅井干城\*\*\*、荒井雅隆\*\*\*、工藤 奨\*  
\*九州大学 大学院 工学研究院 機械工学部門  
\*\*九州大学 バイオメカニクス研究センター  
\*\*\*九州大学 大学院 工学府 機械工学専攻  
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、結語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

**ポスター発表スケジュール**

8～9件ずつA, B, Cの3グループに分け, 下記の順にコアタイム発表を行っていただきます.

コアタイム 開始時刻	グループA 座長：中村 匡徳 (埼玉大)	グループB 座長：西田 正浩 (産総研)	グループC 座長：佐藤 恵美子 (新潟県立大), 金田 勇 (酪農学園大)
16:00	P1	P9	P18
16:06	P2	P10	P19
16:12	P3	P11	P20
16:18	P4	P12	P21
16:24	P5	P13	P22
16:30	P6	P14	P23
16:36	P7	P15	P24
16:42	P8	P16	P25
16:48		P17	P26

**学術奨励賞応募講演のご案内**

p.29~36

6月5日（木）10:10~11:30 第1会場（大会場）

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。

**バイオレオロジー・リサーチ・フォーラムのご案内**

6月5日（木）15:40~17:40 第1会場（大会場）

司 会：神谷 暲（東京学際科学研究所）

テーマ：病理学的視点から広がる新たなバイオレオロジー

講 演：

1. 「あなたが長生きするためにできること  
ー診療の疑問を病理に 病理の発見を治療にー」  
東 浩介（順天堂大学 大学院医学研究科 代謝内分泌内科学）
2. 「心臓と血管形態変化の背景にある時間と拍子」  
増田 弘毅（雄勝中央病院 検査科）

**岡小天賞・論文賞受賞講演のご案内**

p.71~72

6月6日（金）13:30~14:30 第1会場（大会場）

司 会：関 真佐子（関西大学 システム理工学部）

佐々木 直樹（北海道大学 先端生命科学研究院）

講 演：

1. 岡小天賞受賞講演  
「赤血球のレオロジーと微小循環系の機能」  
前田 信治（愛媛大学 医学部生理学）
2. 論文賞受賞講演  
「透析によって調製される異方性コラーゲンゲルの形成機構と構造の研究」  
古澤 和也（北海道大学 先端生命科学研究院）

## 日本心血管脳卒中学会学術集会との合同開催行事のご案内

### ● 合同シンポジウム

p.83~87

6月6日（金）14:40～15:50      ホール棟 2F 小ホール

座 長：後藤 信哉（東海大学医学部内科学系 循環器内科学）  
大島 まり（東京大学大学院情報学環/生産技術研究所）  
氏家 弘（東京労災病院 脳神経外科）

講 演：

1. 「脳底動脈先端部瘤に対する Y ステンント留置後の血管リモデリング  
—CFD を用いた流体力学的検討—」  
入江 恵子（藤田保健衛生大学医学部 脳神経外科）
2. 「コイル塞栓術後の脳動脈瘤再発に関する数値流体力学（CFD）による予測」  
見崎 孝一（金沢大学 脳神経外科）
3. 「血液のレオロジーと脳血管病変」  
庄島 正明（東京大学 脳神経外科）
4. 「力学的刺激により誘起される血管形成のバイオメカニクス」  
谷下 一夫（早稲田大学 ナノ理工学研究機構）
5. 「多数の赤血球を含む流れのシミュレーションと血栓症のモデリング」  
高木 周（東京大学 大学院工学系研究科）

### ● 同時開催ポスターセッション

p.88~113

6月6日（金）16:00～17:00      ビル棟 B1F 第1展示場

## 第1回日本心血管脳卒中学会・主催行事のご案内

※6日は参加費に含まれますが、7日（土）の聴講には別途差額4,000円が必要になります。

※各講演の内容は、403室の談話スペースにて抄録集をご覧ください。

### ● イブニングセミナー

6月6日（金）17:00～17:50      ES-1 第1会場：ホール棟 2F 小ホール  
ES-2 第2会場：ビル棟 B1F 第2,3 展示場  
ES-3 第3会場：ビル棟 B1F 第5 展示場

### ● 全プログラム

6月6日（金），7日（土）      集会 HP：<http://www.c-linkage.co.jp/cvss2014/program.html>

## 年会タイムテーブル

第 1 日目 6 月 5 日 (木)

第 1 会場 (大会場)	第 2 会場 (小会場)
9:00~10:00 OS3 血液レオロジーと微小循環 (1) p.24~28	
休憩	
10:10~11:30 A 学術奨励賞応募講演 p.29~36	
11:30~13:10 昼食	11:30~12:30 理事会評議員会合同会議
	12:30~13:00 リサーチフォーラム運営会議
	13:00~13:10 休憩
13:10~14:10 OS7 生体関連ソフトマターのレオロジー (1) p.37~41	13:10~14:10 OS3 血液レオロジーと微小循環 (2) p.48~52
休憩	
14:20~15:32 OS7 生体関連ソフトマターのレオロジー (2) p.42~47	14:20~15:32 OS6 生体物質の構造形成と機能発現・制御 p.53~58
休憩	
15:40~17:40 バイオレオロジー・リサーチ・フォーラム	

第 2 日目 6 月 6 日 (金)

第 1 会場 (大会場)	第 2 会場 (小会場)
9:00~9:48 OS2 循環器系ダイナミクスと疾患 p.60~63	9:00~10:00 OS5 ティッシュエンジニアリング・人工臓器 p.73~77
休憩	
9:58~11:22 OS1 血管内治療 p.64~70	10:10~11:10 OS4 細胞・分子のメカノバイオロジー p.78~82
休憩	
11:30~12:00 総会	
12:00~13:30 昼食	12:00~12:40 JBR 打ち合わせ
	12:40~13:00 電子版 B&R 打ち合わせ
	13:00~13:30 休憩
13:30~14:30 岡小天賞・論文賞 受賞講演 p.71,72	
休憩	
14:40~15:50 日本心血管脳卒中学会との合同シンポジウム (ホール棟 2F 小ホール)	p.83~87
休憩	
16:00~17:00 P 日本心血管脳卒中学会との同時開催ポスターセッション (ビル棟 B1F 第 1 展示場)	p.88~113
17:00~17:50 (日本心血管脳卒中学会主催 イブニングセミナー) (第 1 会場: ホール棟 2F 小ホール, 第 2 会場: B1F 第 2,3 展示場, 第 3 会場: B1F 第 5 展示場)	
移動	
19:00~21:00 日本心血管脳卒中学会との合同懇親会 (鉄道博物館)	

## 第 37 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 5 日 (木)

#### 第 1 会場

**9:00~10:00 OS3 : 血液レオロジーと微小循環 (1) p.24~28**

座長：望月 精一 (川崎医療福祉大)，関 眞佐子 (関西大)

OS3-1 マイクロチャンネル法によるヒト赤血球変形能の評価 (糖尿病患者における血液検査値と形状回復時定数の関係)

○能田 卓弥 (関西大)，田地川 勉，池本 敏行 (大阪医科大)，田窪 孝行

OS3-2 往復せん断流れ発生装置を用いた赤血球の加齢度と形状変化応答性のばらつき評価検証  
都築 達也 (芝浦工業大)，○鈴木 雄亮，渡邊 宣夫

OS3-3 微小流路内赤血球サスペンション流れにおける血小板の断面内分布

○木村 友哉 (関西大)，能祖 良太，関 淳二，大友 涼子，板野 智昭，関 眞佐子

OS3-4 電気計測を用いた血栓の定量的解析

○布施 拓士 (千葉大)，Sapkota Achyut，丸山 修 (産業技術総合研究所)，小阪 亮，山根 隆志 (神戸大)，武居 昌宏 (千葉大)

OS3-5 共焦点マイクロ PIV と超解像度顕微鏡を用いた血管内皮細胞グリコカリックス層近傍の速度分布計測

漆谷 真帆 (慶應義塾大)，○杉井 康彦 (東京大)，茂木 克雄 (東京工業大)，菱田 公一 (慶應義塾大)

**10:10~11:30 A : 学術奨励賞応募講演 p.29~36**

座長：工藤 奨 (九州大)，山本 希美子 (東京大)

A-1 敗血症モデルマウスにおけるグリコカリックス層減衰と白血球粘着能亢進の生体顕微鏡観察

○片岡 華恵 (昭和大)，牛山 明 (国立保健医療科学院)，飯島 毅彦 (昭和大)

A-2 動物血液のレオロジー挙動ー (印刷用顔料分散インキの流動挙動解析手法の適用)

○篠崎 俊介 (DNP ファインケミカル)，山口 はるな，有富 充利，渡邊 宣夫 (芝浦工業大)

A-3 動的散乱法によるアミロイド様線維の構造安定性の評価

○佐伯 政俊 (山口東理大)，穂本 光弘

A-4 DEVELOPMENT OF MULTI-SCALE SIMULATION BASED ON SPECT DATA

○Hao ZHANG (東京大)，Masaharu KOBAYASHI，Shigeki YAMADA，Fuyou LIANG，Shu TAKAGI，Marie OSHIMA

A-5 低酸素環境に対する心臓血管系の適応

○濱島 早紀 (芝浦工大)，柴田 政廣

## A-6 モデル発がん性物質のゲルへの吸着のダイナミクス

○富田 奈緒子 (群馬大), 内藤 大輔, 六川 勇, 榎 靖幸, 山本 隆夫, 土橋 敏明

## A-7 肝細胞機能に及ぼす一酸化窒素の影響

○隅井 干城 (九州大), 阿部 拓磨, 中嶋 和弘, 世良 俊博, 工藤 奨

## A-8 超音波計測による全身循環シミュレーションの評価

○矢内 紫織 (東京都市大), 仁木 清美, 大島 まり (東京大), 梁 夫友 (上海交通大), 菅原 基晃 (姫路獨協大)

**13:10~14:10 OS7 生体関連ソフトマターのレオロジー (1)****p.37~41**

座長: 金田 勇 (酪農学園大), 佐藤 恵美子 (新潟県立大)

## OS7-1 トロミ調整食品が嚥下に与える影響 -障害者と健常者の飲み込み特性-

○高橋 智子 (神奈川工科大), 二藤 隆春 (東京大), 高野 真吾 (国立国際医療研究センター), 大越 ひろ (日本女子大), 田山 二郎 (国立国際医療研究センター)

## OS7-2 触覚による水認知プロセスにおける摩擦とレオロジー

○野々村 美宗 (山形大)

## OS7-3 ショ糖ステアリン酸エステルが形成する一時的ネットワーク構造のレオロジー

○金田 勇 (酪農大), 高橋 沙央里

## OS7-4 相分離したアガロースゲルのフリクション

山下 泰弘 (九州大), 柳澤 実穂, ○鵜田 昌之

## OS7-5 吸水条件の異なるパスタの水分分布と食感

小川 剛伸 (京都大), ○安達 修二

**14:20~15:32 OS7 生体関連ソフトマターのレオロジー (2)****p.42~47**

座長: 鵜田 昌之 (九州大), 四方 俊幸 (東京農工大)

## OS7-6 動的散乱を用いた粘弾性測定法

○森泉 龍太 (東京農工大), 四方 俊幸

## OS7-7 モデル舌を用いた摂食様式の評価

○磯野 舞 (三栄源エフ・エフ・アイ), 石原 清香, 中尾 理美, 中馬 誠, 船見 孝博, 堀 一浩 (新潟大), 小野 高裕 (大阪大), 神山 かおる (農業・食品産業技術総合研究機構), 西成 勝好 (湖北工業大)

## OS7-8 じゃがいもでん粉糊液のレオロジー特性に及ぼす調味料添加の影響

○佐藤 恵美子 (新潟県立大), 板垣 夏美, 榎 靖幸 (群馬大), 土橋 敏明

## OS7-9 皮膚表面における塗布剤のレオロジーと触感

○秋山 庸子 (大阪大), 森 達也, 西嶋 茂宏

## OS7-10 鶏肉の死後変化に伴う筋原線維の形態と局所的物性変化

○岩崎 智仁 (酪農学園大), 山本克博, 中村邦男

## OS7-11 ゼラチン・寒天混合ゲルのレオロジーにおける pH 依存性

鳥羽 一史 (群馬大), ○榎 靖幸, 外山 吉治, 土橋 敏明

**15:40~17:40 バイオレオロジー・リサーチ・フォーラム**

司会：神谷 暁 (東京学際科学研究所)

テーマ 「病理学的視点から広がる新たなバイオレオロジー」

1. 「あなたが長生きするためにできること - 診療の疑問を病理に 病理の発見を治療に -」

○東 浩介 (順天堂大学 大学院医学研究科 代謝内分泌内科学)

2. 「心臓と血管形態変化の背景にある時間と拍子」

○増田 弘毅 (雄勝中央病院 検査科)

**第 2 会場****13:10~14:10 OS3 : 血液レオロジーと微小循環 (2)****p.48~52**

座長：田地川 勉 (関西大), 渡邊 宣夫 (芝浦工大)

OS3-6 マイクロ粒子流動系の流体力学的輸送係数

○斉藤 弘樹 (北海道大), 原田 周作

OS3-7 有限厚さを有する繊維層中の流体透過特性

○大友 涼子 (関西大), 関 眞佐子

OS3-8 血管内皮細胞に対する血小板粘着のモデル化を目的とした *in vitro* 実験

相田 洋佑 (東京都市大), 竹内 聡志, 望月 大輔, 筒井 千尋, 平田 孝道, ○島野 健仁郎

OS3-9 PEG 電着チタンの動的な血液適合性の評価

○古川 克子 (東京大), 畑 裕己 (東京電機大), 浅田 洋行, 水原 和之, 堤 祐介 (東京医科歯科大), 埴 隆夫, 牛田 多加志 (東京大)

OS3-10 レオメータを使用した粘弾性学的血液適合性評価と *in vitro* 抗血栓性試験への応用

○丸山 修 (産業技術総合研究所), 可児 裕基 (東京理科大), 小阪 亮 (産業技術総合研究所), 西田 正浩, 山根 隆志 (神戸大), 巽 英介 (国立循環器病研究センター), 妙中 義之

**14:20~15:32 OS6 : 生体物質の構造形成と機能発現・制御****p.53~58**

座長：東藤 正浩 (北海道大), 安達 泰治 (京都大)

OS6-1 骨梁・オステオン形態リモデリングの力学-生化学連成モデル

○安達 泰治 (京都大), 竹中 健太郎, 今井 桂, 井上 康博

OS6-2 ゼラチン・寒天混合系のゲル化のレオロジー

○鳥羽 一史 (群馬大), 榎 靖幸, 外山 吉治, 土橋 敏明, 松尾 光一 (広島大)

OS6-3 異方性 DNA ゲルの形成動力学と構造制御

○古澤 和也 (北海道大), 福井 彰雅, 佐々木 直樹

OS6-4  $\beta$ -lactoglobulin アミロイド・ナノ粒子とゲル化

○佐々木 直樹 (北海道大), 山下 聡一, 古澤 和也

OS6-5 細胞選択性マイクロカプセル足場の作製と細胞培養

○富田 翔 (群馬大), 高木 宣祥, 小池 迪瑠, 小林 健太郎, 山本 隆夫, 土橋 敏明, 田中 進  
(高崎健康福祉大)

OS6-6 ラマン分光法による骨組織構成成分の力学応答解析

○東藤 正浩 (北海道大), 但野 茂

**第 2 日目 6 月 6 日 (金)****第 1 会場****9:00~9:48 OS2 : 循環器系ダイナミクスと疾患 p.60~63**

座長 : 後藤 信哉 (東海大), 山田 宏 (九工大)

OS2-1 ヒト頸動脈の内腔側領域における伸展性と組成との関係

○山田 宏 (九州工業大), 坂田 則行 (福岡大), 森田 康之 (名古屋大), 中島 豊 (福岡赤十字病院)

OS2-2 先天性心疾患単心室症における右心バイパス手術の血流動態評価 (数値流体計算のための呼吸・心拍の変動を加味した境界条件の作成)

○後藤 真治 (埼玉大), 中村 匡徳, 板谷 慶一 (北里大), 宮崎 翔平, 岡 徳彦, 本田 崇, 北村 律, 宝来 哲也, 石井 正浩, 宮地 鑑

OS2-3 大動脈血流に基づく血行力学解析 MRI 4D FLOW と数値流体解析モデルの比較検証

○宮崎 翔平 (北里大), 板谷 慶一, 荒記 春奈, 小山 紗千, 鳥井 晋三, 北村 律, 岡 徳彦, 宝来 哲也, 杉山 将隆 (浜松医科大), 竹原 康雄, 安河内 聡 (長野県立こども病院), 宮地 鑑 (北里大)

OS2-4 ラット下肢静脈の動脈化による血流分布と静脈弁

○小山 富康 (元北海道大)

**9:58~11:22 OS1 : 血管内治療 p.64~70**

座長 : 島野 健仁郎 (東京都市大), 深作 和明 (理化学研究所)

OS1-1 脳動脈瘤塞栓治療用多孔薄膜カバードステントの開発 : 外弯側動脈瘤モデルにおける塞栓能評価

○日高 涼 (関西大), 森脇 健司 (国立循環器病研究センター), 田地川 勉 (関西大), 中山 泰秀 (国立循環器病研究センター)

OS1-2 ステント留置による血管分岐部における脳動脈瘤内の血流特性変化に関する研究

○松田 龍哉 (名古屋大), 益永 康平, 入江 恵子 (藤田保健衛生大), 酒井 康彦 (名古屋大), 長田 孝二, 伊藤 靖仁

OS1-3 側副血行を考慮した頸動脈ステント前後の血流変化

○深作 和明 (理化学研究所), 根来 真, 梁 夫友, 野田 茂穂, 姫野 龍太郎, 小西 善史, 永山 和樹, 奈良 一成, 塩川 芳昭

OS1-4 脳動脈瘤内の血流の衝突と瘤壁の壁細胞密度の関連

○杉浦 拓磨 (早稲田大), 戸部 泰貴, 川村 公一 (秋田大), 八木 高伸 (早稲田大), 林 祥史 (北原国際病院), 梅津 光生 (早稲田大)

OS1-5 弾性壁動脈瘤モデルの壁せん断応力の変動

徐 利健 (千葉大), ○山口 隆平, 氏家 弘 (東京労災病院), 劉 浩 (千葉大)

OS1-6 磁気共鳴流体力学に形体画像として用いる磁気共鳴血管撮像データの位置ずれ改善とその効果

○磯田 治夫 (名古屋大), 吉永 昭夫, 市川 和茂, 福山 篤司, 小杉 隆司 (株式会社アールテック)

OS1-7 脳血管を対象とした磁気共鳴流体力学の精度検証

○磯田 治夫 (名古屋大), 市川 和茂, 福山 篤司, 小森 芳秋 (シーメンス・ジャパン株式会社), 小杉 隆司 (株式会社アールテック), 大西 有希 (東京工業大), 竹原 康雄 (浜松医科大), 長縄 慎二 (名古屋大)

### **13:30~14:30 岡小天賞・論文賞 受賞講演**

**p.71,72**

司会: 関 眞佐子 (関西大), 佐々木 直樹 (北海道大)

岡小天賞受賞講演 「赤血球のレオロジーと微小循環系の機能」

○前田 信治 (愛媛大学 医学部生理学)

論文賞受賞講演 「透析によって調製される異方性コラーゲンの形成機構と構造の研究」

○古澤 和也 (北海道大学 先端生命科学研究院)

## **第 2 会場**

### **9:00~10:00 OS5 : ティッシュエンジニアリング・人工臓器**

**p.73~77**

座長: 岩崎 清隆 (早稲田大学)

OS5-1 マルチチャネルコラーゲンをを用いた上皮管腔組織の構築

○古澤 和也 (北海道大), 町野 ひろみ, 福井 彰雅, 佐々木 直樹

OS5-2 連続流血液ポンプ内血栓の光イメージング

○迫田 大輔 (産業技術総合研究所), 村重 智崇 (東京理科大), 小阪 亮 (産業技術総合研究所), 西田 正浩, 丸山 修

OS5-3 ヒト IPS 細胞由来心筋細胞シートへの灌流血管網導入技術の開発

○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)

OS5-4 肺動脈弁用ステントバイオバルブの IN VITRO 機能評価

○住倉 博仁 (国立循環器病研究センター), 中山 泰秀, 大沼 健太郎, 武輪 能明, 巽 英介

OS5-5 新技術 Scaffold free 3D細胞プリンターを用いた臓器再生—ヒト間葉系幹細胞から作成した尿道臓器再生と免疫不全ラットへの尿道移植—

○山本 徳則 (名古屋大), 舟橋 康人, 松川 宣久, 魚返 拓利, 口石 幸治, 中山 功一, 後藤 百万

### **10:10~11:10 OS4 : 細胞・分子のメカノバイオロジー**

**p.78~82**

座長: 大橋 俊朗 (北海道大), 須藤 亮 (慶應義塾大)

- OS4-1 血管内皮細胞糖鎖層の流れに伴う変形の推定  
高橋 結宗 (名古屋工業大), 長山 和亮, ○松本 健郎
- OS4-2 Microvascularization in fibrin gel induced by microgroove-patterned device  
Shaoyi Chen (北海道大), Akihito Morita, Irza Sukumana (Universiti Teknologi Malaysia)  
Ejiro Maeda (北海道大), Toshiro Ohashi
- OS4-3 ストレスファイバーの単離過程における成分分析  
○松井 翼 (名古屋工業大), 佐藤 正明 (東北大), 出口 真次 (名古屋工業大)
- OS4-4 軟骨前駆細胞における静水圧力による膜流動性の発現の減少  
○モンターニュ ケヴィン (東京大), 内山 博樹, 古川 克子, 牛田 多加志
- OS4-5 マイクロ流体デバイスを用いたグリオーマ幹細胞の浸潤形態および遊走能力の定量的評価  
○多木 壮太郎 (慶應義塾大), 藤岡 真悟, 須藤 亮

### 合同シンポジウム会場

**14:40~15:50 日本心血管脳卒中学会学術集会との合同シンポジウム p.83~87**

座長：後藤 信哉 (東海大学医学部内科学系 循環器内科学)  
大島 まり (東京大学大学院情報学環/生産技術研究所)  
氏家 弘 (東京労災病院 脳神経外科)

1. 「脳底動脈先端部瘤に対する Y ステンント留置後の血管リモデリング  
ーCFD を用いた流体力学的検討ー」  
○入江 恵子 (藤田保健衛生大学医学部 脳神経外科)
2. 「コイル塞栓術後の脳動脈瘤再発に関する数値流体力学 (CFD) による予測」  
○見崎 孝一 (金沢大学 脳神経外科)
3. 「血液のレオロジーと脳血管病変」  
○庄島 正明 (東京大学 脳神経外科)
4. 「力学的刺激により誘起される血管形成のバイオメカニクス」  
○谷下 一夫 (早稲田大学 ナノ理工学研究機構)
5. 「多数の赤血球を含む流れのシミュレーションと血栓症のモデリング」  
○高木 周 (東京大学 大学院工学系研究科)

### ポスター発表会場

**16:00~17:00 P : 同時開催ポスターセッション p.88~113**  
(グループ A)

座長：中村 匡徳 (埼玉大)

- P1 早期内皮化促進および抗血栓性を有する bFGF 溶出性ステントシステムの開発  
○尾藤 健太 (慶應義塾大), 長谷部 光泉 (東海大), 堀田 篤 (慶應義塾大)

- P2 脳動脈瘤塞栓治療用多孔薄膜カバードステントの開発：ワイドネック動脈瘤モデルでの塞栓可能性の検討  
○森脇 健司 (国立循環器病研究センター), 日高 涼 (関西大), 田地川 勉, 中山 泰秀 (国立循環器病研究センター)
- P3 ヒト頸動脈の内腔側領域における伸展性と組成との関係  
○山田 宏 (九州工業大), 坂田 則行, 森田 康之, 中島 豊
- P4 全身循環シミュレーションを用いた血管スティッフネス計測：超音波計測との比較  
○矢内 紫織 (東京都市大), 仁木 清美, 大島 まり (東京大), 梁 夫友 (上海交通大), 菅原 基晃 (姫路獨協大)
- P5 フィブリン重合におけるフィブリノゲン  $\alpha$ C ドメインの役割  
○中村 俊介 (群馬大), 窪田 健二, 行木 信一, 林 史夫, 外山 吉治
- P6 フィブリン重合におけるフィブリノゲン B $\beta$ N 鎖末端領域の役割  
○木川 浩平 (群馬大), 飯塚 よし野, 窪田 健二, 行木 信一, 落合 正則 (北海道大), 外山 吉治 (群馬大)
- P7 フィブリノゲンクライオゲル形成に与えるイオン強度と結合糖鎖の影響  
○清水 政宏 (群馬大), 窪田 健二, 落合 正則 (北海道大), 外山 吉治 (群馬大)
- P8 赤血球とフィブリノゲンとの相互作用に与える pH およびイオン強度の影響  
○高橋 海 (群馬大), 須田 巧, 窪田 健二, 外山 吉治

### (グループ B)

座長：西田 正浩 (産総研)

- P9 酸化ストレスに対するデヒドロエピアンドロステロンの血液レオロジーにおよぼす影響  
○鈴木 洋司 (愛媛大), 和泉 遼, 村上 慶匡, 大久保 信孝, 青戸 守, 満田 憲昭
- P10 隣接細胞つき刺激による血管内皮細胞内 PKC $\alpha$  分布変化  
高良 智尋 (九州大), 荒井 雅貴, 中嶋 和弘, 世良 俊博, ○工藤 奨
- P11 局所力学刺激における血管内皮細胞内 PKC $\alpha$  と細胞骨格の関係  
西村 和馬 (九州大), 荒井 雅貴, 中嶋 和弘, 世良 俊博, ○工藤 奨
- P12 ティラピア鱗由来アテロコラーゲンから調製したゼラチン水溶液のゲル化に伴う動的粘弾性挙動  
○志田 奈津実 (群馬大), 榎 靖幸, 土橋 敏明, 小柳 佳子 (北海道大), 岸村 栄毅, 都木 靖彰, 元村 まみ (長崎大), 市川 寿
- P13 DNA ゲルビーズのアクリジンオレンジ吸着過程におけるスケーリング  
○須江 栞 (群馬大), 若松 正子, 富田 奈緒子, 山本 隆夫, 土橋 敏明
- P14 細胞培養可能なゼラチンゲルシートの作製  
○高木 宣祥 (群馬大), 富田 翔, 山本 隆夫, 土橋 敏明, 田中 進 (高崎健康福祉大)
- P15 N-イソプロピルアクリルアミドゲル微粒子水溶液の電気泳動光散乱  
○菅原 健太郎 (群馬大), 榎 靖幸

P16 寒天ゲル表面上の DNA 液滴のゲル化過程における形状変化のレオロジー

○石坂 和也 (群馬大), 榎 靖幸, 土橋 敏明

P17 ダチョウ卵殻の気孔の形成について

○小山 富康 (元北海道大)

### (グループ C)

座長: 佐藤 恵美子 (新潟県立大), 金田 勇 (酪農学園大)

P18 豚肉の物性・嗜好性・咀嚼性に及ぼす加熱・酵素添加の影響

○上野山 あつこ (兵庫県立大), 堀 夏海, 畦西 克己, 吉村 美紀

P19 豚硝子体の粘弾性的性質

○安中雅彦 (九州大)

P20 クッキーの物性に及ぼす各種糖質の影響

○米山 陽子 (愛国学園短期大), 江木 伸子, 三星 沙織, 平尾 和子

P21 分離大豆タンパク質を用いたエマルションの流動特性

○江木伸子 (共立女子大), 平尾和子 (愛国学園短期大), 村上昌弘 (共立女子大), 斎尾恭子 (愛国学園短期大)

P22 皮膚をイメージした被着体ゲルの剥離に関する研究

○杉崎 良樹 (横浜国立大), 椎名 孝明, 田中 良巳, 鈴木 淳史

P23 鹿肉の真空調理法による物性とカルニチン量の変化

○吉村 美紀 (兵庫県立大), 山下 麻美, 加藤 陽二

P24 ポリフェノール含有飲料による亜硝酸イオン由来 NO 産生速度と抗酸化力指標との関係

小川 武人 (川崎医療福祉大), ○望月 精一

P25 咳による肺胞の変形と周りの毛細血管への影響

○多羅尾 範郎 (聖隷クリストファー大)

P26 動物血液のレオロジー挙動-印刷用顔料分散インキの流動挙動解析手法の適用-

○篠崎 俊介 (DNP ファインケミカル), 山口 はるな, 有富 充利, 渡邊 宣夫 (芝浦工業大)

## 第 1 回日本心血管脳卒中学会学術集会・主催行事 会場

※6 日は参加費に含まれますが, 7 日 (土) の聴講には別途差額 4,000 円が必要になります。

※各講演の内容は, 403 室の談話スペースにて抄録集をご覧ください。

### 17:00~17:50 イブニングセミナー

ES-1 第 1 会場: ホール棟 2F 小ホール

ES-2 第 2 会場: ビル棟 B1F 第 2,3 展示場

ES-3 第 3 会場: ビル棟 B1F 第 5 展示場

### 全プログラム (6 月 6 日 (金), 7 日 (土))

詳しくは先方のホームページをご覧ください: <http://www.c-linkage.co.jp/cvss2014/program.html>

第 1 日目  
6 月 5 日(木)

## マイクロチャンネル法によるヒト赤血球変形能の評価 (糖尿病患者における血液検査値と形状回復時定数の関係)

能田 卓弥<sup>\*</sup>、田地川 勉<sup>\*\*</sup>、池本 敏行<sup>\*\*\*</sup>、田窪 孝行<sup>\*\*\*\*</sup>

<sup>\*</sup>関西大学大学院, 大阪府吹田市山手町 3-3-35

<sup>\*\*</sup>関西大学システム理工学部, 大阪府吹田市山手町 3-3-35

<sup>\*\*\*</sup>大阪医科大学付属病院 中央検査部, 大阪府高槻市大学町 2-7

<sup>\*\*\*\*</sup>大阪医科大学 臨床検査医学, 大阪府高槻市大学町 2-7

### 1. 緒言

糖尿病が長期にわたることで、赤血球変形能が低下すると報告されている。しかしそのメカニズムには不明な点が多く、またこれを評価する方法の確立が望まれている。そこで本研究では、HbA1c の異なる症例について赤血球の形状回復時定数を測定し、各血液検査値との関係を調べた。

### 2. 実験方法

実験方法の詳細については、既報と同じため説明を割愛する<sup>1)</sup>。血球サンプルとしては、健常者 (HbA1c の基準範囲は、4.6%~6.2%) 12 例、HbA1c が高値の 85 例から採血した赤血球を PBS で Hct=1% に希釈して用いた。なお、本研究は関西大学先端技術機構の研究倫理委員会および大阪医科大学の倫理委員会の承認を得て実施した。

マイクロチャンネル (MC) をガラスに接着させ、漏れのない流路を形成した。血球サンプルを MC に通過させ、通過後の形状回復過程を撮影し、赤血球幅  $d_y$  を測定した<sup>1)</sup>。

MC 通過後の赤血球の形状回復過程を粘弾性力学モデルである Kelvin モデル<sup>2)</sup> でモデル化した。赤血球の圧縮ひずみは式(1)に示すように指数関数的に減少する。ここで  $\tau_\sigma$  は赤血球の形状回復に関する時定数である。

$$\varepsilon_y = \alpha \exp\left(\frac{-t}{\tau_\sigma}\right) \quad (1)$$

### 3. 実験結果

片対数グラフ上のひずみ緩和曲線に対して描いた近似直線の傾きから時定数  $\tau_\sigma$  を算出した<sup>1)</sup>。

測定した時定数の分布を対数正規分布とみなし、時定数の平均値として幾何平均値、ばらつき指標として式(2)で定義した変動係数を用いた。

なお  $\sigma_m$  は自然対数をとった時定数の標準偏差、 $\tau_{\sigma m}$  は自然対数をとった時定数の算術平均値である。

$$C.V. = \frac{\sigma_{\ln}}{\tau_{\sigma \ln}} \quad (2)$$

表 1 に、幾何平均値、変動係数と血液検査値について Spearman の相関検定を適用した結果を示す。ここで  $r$  は相関係数である。幾何平均値と Glu, HbA1c, A/G ratio, PLT, 変動係数と GA, HbA1, PDW の間に相関が認められた。

Table 1 Correlation among blood test, geometric mean and coefficient of variation.

	$\tau_\sigma$	$r$	C.V.	$r$	$n$
Glu [mg/dL]		-0.26**	0.15		97
HbA1c [%]		-0.30**	0.17		93
A/G ratio [-]		0.24*	0.12		87
CK [IU/L]		0.23*	0.08		80
PLT [ $10^3/\mu\text{L}$ ]		0.22*	0.02		89
GA [%]		-0.13	0.38**		45
HbA1 [%]		-0.17	0.27*		73
PDW [%]		0.05	0.29*		74

\*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ .

GA の増加に伴い、変動係数が増加する傾向がみられた。これは、血中には様々な加齢日数の赤血球が存在し、高血糖中の方が赤血球糖化により時定数が短縮された血球の割合が高い可能性がある。これにより時定数の分布が短い方にシフトし、変動係数が増加したと考えられる。

### 4. まとめ

血液検査値と赤血球変形能の関係を調べるため、MC を用いて赤血球の形状回復時定数を測定した結果、幾何平均値と A/G ratio, CK, PLT との間に正の相関が、Glu, HbA1c との間に負の相関が認められた。また、変動係数と PDW との間に正の相関が、GA, HbA1 との間に負の相関が認められた。

### 5. 参考文献

- (1) Tajikawa T, et. al.: J Biorheology. DOI: 10.1007/s12573-012-0052-9, Aug 4, 2012.
- (2) Fung YC : Biomechanics –Mechanical Properties of Living Tissue–, 2nd ed. Springer-Verlag, pp. 41-47, 1993.

## 往復せん断流れ発生装置を用いた 赤血球の加齢度と形状変化応答性のばらつき評価検証

都築達也\*, 鈴木雄亮\*\*, 渡邊宣夫\*, \*\*

\* 芝浦工業大学大学院理工学研究システム理工学専攻 [〒337-8570 埼玉県さいたま市見沼区深作 307]

\*\* 芝浦工業大学 システム理工学部 生命科学科

### 1. 緒言

赤血球の加齢度と密度の相関性は過去に報告がある<sup>1)</sup>。従って、赤血球の加齢度とその変形能と関係性も予想されるが、どの程度の変形能のばらつきが混在するかは詳細には明らかでない。そこで、我々は正弦曲線的な往復せん断流れ環境下における単一赤血球細胞のモニタリングする手法を開発した。本研究は、この手法を用いて個々の赤血球の変形応答挙動にどの程度の能力のばらつきが混在するかを検証したので報告させて頂く。

### 2. 実験方法

我々が開発したのは、流れを挟んだ 2 枚の平行平板がその隙間 30 $\mu\text{m}$  を保ちつつも互いに逆運動を正弦曲線的に繰り返す機構を用いた、単一赤血球細胞モニタリング実験システムである<sup>2)</sup>。この装置は、先行研究<sup>3)</sup>にヒントを得て、改良したものである。この装置の利点は、カウンターモーションの採用により、隙間中央に位置する赤血球は対物レンズから見て理論上は常に観察可能となっている。その結果として、比較的lowシャッター速度の撮影に対しても、流れ場隙間中央部における単一赤血球の変形応答挙動の一部始終が撮影可能となった<sup>2)</sup>。本研究では、この装置を用いて加齢度の異なる赤血球の変形能を評価した。血液は、食肉市場より購入した豚血液を用い、それを遠心分離し、赤血球層を 10 層に分けた。遠心分離した血液の 1 層目 (最上方向) を Age1 とし、10 層目 (最下方向) を Age10 とした。番号が大きいほど加齢度が進んでいることが想定される。使用する赤血球サスペンション溶液は粘度を通常の 200 倍にした溶液と豚血液とを用いた。変形能評価実験の撮影は、モーター回転数を 120rpm (2Hz) に設定し、40 倍の対物レンズを通してハイスピードカメラ (MEMRECAM GX-1, nac) にて行った。撮影条件は、フレームレート 500fps, 露光時間 100 $\mu\text{s}/\text{frame}$  にて 139.2 $\mu\text{m}$ ×302.4 $\mu\text{m}$  の流れ方向へ縦長の撮影領域に対し、464 pixels×1008pixels の画素数条件で実施した。なお、可視化実験後に画像解析を行い、1 周期の赤血球の形状変化応答をその楕円形状のなす長軸(L), 短軸(W), 加えて、変形度の指標として長短軸比 (L/W) を解析した。

### 3. 実験結果

流れの振動一周期における変形度 (L/W) の変化を加齢度レベル毎に Fig.1 に示した。変形度と同様な増減傾向があったのが長軸 L であり、長軸の変化と逆の傾向が短軸 W で見られた。

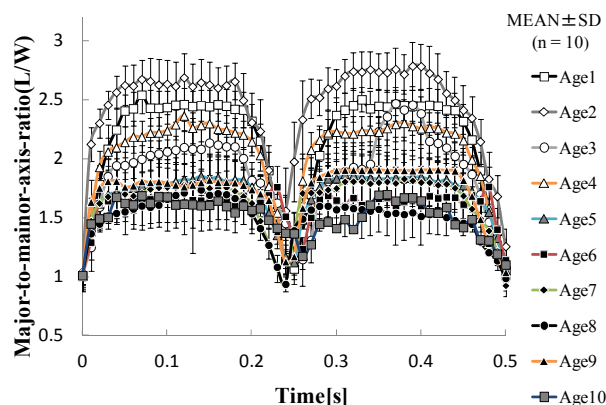


Fig. 1 各赤血球加齢度による長短軸比(L/W)

また、振動一周期の長短軸比の最大値とその変化量について定量化した所、驚くべきことには加齢度の進行に伴い、変形度でみた変形能力は一様な減衰するわけではなく、中レベル以降で緩やかな減衰を示した。

### 4. 考察

周期的なせん断流れの中で 10 種類の加齢度レベルの赤血球変形挙動を比較した結果、Fig.1 でも見られるように加齢度が増加すると変形度が低下する傾向が示された。また、長短軸比の最大値で見れば、最も若い加齢度 (Age1), 中間加齢度 (Age5), 最も老いた加齢度 (Age10) はそれぞれ 2.54, 1.87, 1.70 と加齢度が進むにつれて、値が減少する傾向が示された。また、加齢度 1~4 までは長軸、長短軸比の値最大値もその変化量も共にかかなり大きい、加齢度 5 以降はそれぞれ変化量が小さい傾向が示された。このことから、赤血球はある加齢度まで進むと変形度は著しく低下し、その後は加齢度が進んでも変形能低下の進行が比較的小さい範囲で収まると考える。

### 5. 結言

カウンターオシレーション機構を採用した往復せん断流れ発生装置を用いて加齢度の異なる赤血球の形状変化応答を定量的に解析した。その結果、加齢度の進行に伴う赤血球変形能の低下現象は一様な低下現象というよりは加齢度中レベル以降の変化は低い可能性がある。

謝辞

装置製作に本学大宮校舎ワークショップ宮城氏ならびに鳴嶋氏より精力的なご協力を頂いた。

文献

- 1) Conrad Pfaffero et al, 1985, *Biophys J* :695-704
- 2) Watanabe et al *Journal of Biorheol.* (投稿中)
- 3) N. Watanabe et,al, 2006, *Biophys J*, 91 (5) :1984-98

## 微小流路内赤血球サスペンション流れにおける血小板の断面内分布

○木村友哉, 能祖良太, 関淳二, 大友涼子, 板野智昭, 関眞佐子  
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]

### 1. 緒言

生体の微小血管内血液流れにおいて、血小板は血管壁付近に多く分布する (Near-Wall Excess; NWE) ことが知られている<sup>1)</sup>。この NWE と呼ばれる現象は、損傷を受けた血管壁の修復という血小板の働きに極めて重要である。本研究では、蛍光標識した血小板あるいは血小板模擬粒子としてポリスチレン蛍光粒子を赤血球サスペンションに浮遊させ、マイクロ流路に流して粒子の断面内分布を測定し、流路内における血小板の振舞いを調べた。

### 2. 実験方法

作動流体として用いる模擬血液は、リン酸緩衝生理食塩水に赤血球を様々な体積分率 (Hct) で浮遊させ、これに蛍光標識した血小板または血小板模擬粒子を分散させたものである。蛍光標識した血小板は蛍光粒子と比べ輝度が低いため、Hct が高い場合には、赤血球に代わり赤血球ゴーストを用いた。模擬血液を流す人工流路として高さ、幅ともに  $50\mu\text{m}$  の矩形断面をもつ PDMS 製マイクロチャネルを使用した。シリンジポンプを用いて、模擬血液を  $1.0\mu\text{L}/\text{min}$  の流量で流し (レイノルズ数=0.15, 壁ざり速度= $1070\text{sec}^{-1}$ )、共焦点レーザー走査顕微鏡システム (図 1) で蛍光観察し、撮影を行った。得られた画像を画像処理ソフト ImageJ を用いて解析を行った。流路幅方向に  $2\mu\text{m}$  間隔に分割し、各区間に含まれる粒子を積算することで血小板の個数分布を得た。

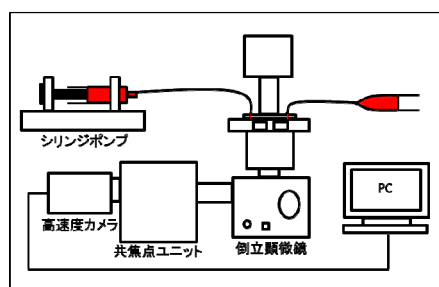


図 1 共焦点レーザー走査顕微鏡による微小流路内流れ観察システム

### 3. 実験結果と考察

図 2 に、赤血球ゴーストの Hct が 20% の場合の、流路入口から  $20\text{mm}$  の断面における血小板分布を示す。図 2(a), (b) は流路底面から  $8\mu\text{m}$  と  $24\mu\text{m}$  の高さにおける血小板分布を示す。ここで縦軸は各区間に含まれる粒子数を全ての粒子数で規格化した存在確率を表している。

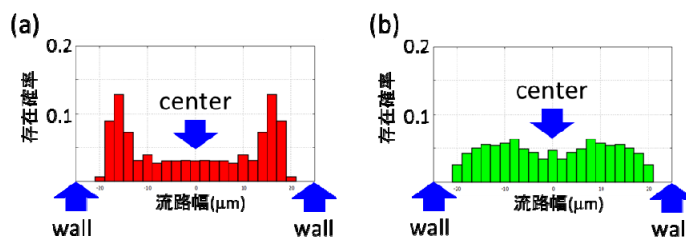


図 2 血小板の分布 (ゴースト赤血球, Hct = 20%)  
(a) 流路底面から  $8\mu\text{m}$ , (b) 流路底面から  $24\mu\text{m}$

流路入口付近では、どの高さにおいても血小板分布はほぼ一様であったが、下流に行くにつれて図 2(a) に示すように、流路底面から  $8\mu\text{m}$  の断面で血小板が壁面近傍に寄る NWE の傾向が確認できた。しかし底面から  $24\mu\text{m}$  の位置 (ほぼ中央の高さ) では血小板の分布に顕著な偏りは見られなかった (図 2(b))。また、赤血球ゴーストの Hct が 10% の場合の血小板分布は、流路底面から  $8\mu\text{m}$  の位置では NWE の傾向が見られ、底面から  $24\mu\text{m}$  の位置では血小板が流路中央に集まる傾向 (軸集中) が見られた。

血小板模擬粒子として蛍光粒子を用いた実験では Hct=20% で粒子径が  $3.1\mu\text{m}$  の場合に、底面近くで顕著な NWE が、中央断面ではわずかな NWE と軸集中が見られた。さらに Hct=10% では、底面付近と中央付近で軸集中が見られた。また同じ Hct で粒子径が増大した場合、あるいは同じ粒子径で Hct が増大した場合に、NWE はより顕著になる傾向が見られた。これらの結果から、流路内の血小板分布はその程度は異なるが直径  $2\sim 3\mu\text{m}$  の蛍光粒子と似た振る舞いをし、矩形流路内の NWE 現象は特に断面の四隅で分布が高くなると考えられる。

### 4. 結言

血小板が壁面近傍による NWE の傾向は、Hct が増大するにつれて顕著な傾向が見られた。このことから血小板分布の傾向は、赤血球間の距離に依存すると考えられる。また矩形流路における NWE 現象は直径  $2\sim 3\mu\text{m}$  の血小板模擬粒子と同様に流路の四隅に偏る傾向を示した。

### 謝 辞

本研究の一部は科研費 (23330143, 25630057)、関西大学先端機構グループ研究費により支援を受けた。

### 文 献

- 1) G.J.Tangelder, H.C.Teirlinck, D.W.Slaaf, and R.S.Reneman : Distribution of blood platelets flowing in arterioles, *Am. J. Physiol.*, **248**, 318-323, 1985.

## 電気計測を用いた血栓の定量的解析

布施拓士\*, Sapkota Achyut\*, 丸山修\*\*, 小阪亮\*\*, 山根隆志\*\*\*, 武居昌宏\*

\* 千葉大学大学院 工学研究科 [〒263-8522 千葉県千葉市稲毛区弥生町 1-33]

\*\*産業技術総合研究所

\*\*\*神戸大学大学院 工学研究科

### 1. 緒言

現在, 体内植込み型補助人工心臓が実用化され, 患者は, 人工心臓を装着して退院することが可能となった. しかしながら, 補助人工心臓を装着した患者の約 10% が血栓症を発症している<sup>1)</sup>. そこで, 血栓を早期に検出する必要があるが, 血栓を早期に検出するシステムは存在していない. そこで, プロセス・トモグラフィ法を用い, 血液中を沈降する血栓を検出する実験を行い, ミリオオーダーの血栓の検出に成功した<sup>2)</sup>. しかしながら, 実用化するためには, より高精度な血栓の検出が必要である. そこで, 本研究の目的は, 電気計測を用いた血栓の定量的な解析を行うことで, 血栓をより高精度に検出することである.

### 2. 実験装置・方法

図1は, 実験装置であり, 電極ホルダ, インピーダンスアナライザ, および, 制御用 PC から構成されている. 電極ホルダは, 1 辺  $a=20$  mm の立方体であり, 材質はポリメタクリル酸メチル樹脂 (PMMA) で, 電極の材質は SUS304, 電極の面積は  $S=20 \times 20$  mm である. 電極は, 電極ホルダに対面となるよう配置されている. 実験では, まず, 電極ホルダにヘマトクリット  $H_L=40\%$  に調整したウシ血液を 4.0 mL 充填した. このとき, ウシ血液 4.0 mL に対して, クエン酸ナトリウム水溶液 (3.24 体積%) を 0.4 mL 添加し, 自然に凝固しないようにしている. 次に, 予め, 大きさとヘマトクリットを調整して作成した血栓を加え, 計測を行った. 血栓のヘマトクリット  $H_S$  は異なるヘマトクリットの血液にトロンピンを加えることで作成した. インピーダンスアナライザの測定条件としては, 印加交流電流  $i$  は 4 mA, 交流周波数  $f$  は 250 kHz であり, レジスタンス, および, キャパシタンスの計測を行った.

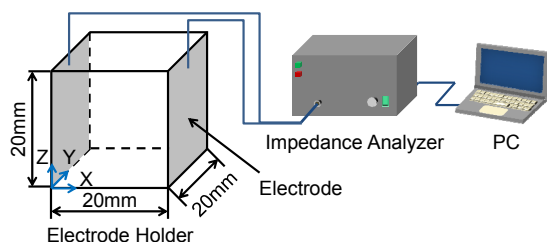


Fig. 1 Experimental setup

### 3. 実験結果・考察

図 2 は, 血栓の直径をパラメータとした時のキャパシタンス  $C_p$  の変化を示している. 血栓の直径  $D=0$  mm の点はウシ血液のみの  $C_p$  を表し,  $C_p=1.424$  pF である.  $D=1$  mm の時,  $C_p=1.428$  pF であり,  $D=3$  mm の時,  $C_p=1.432$  pF,  $D=5$  mm の時,  $C_p=1.440$  pF である. 血栓の直径  $D$  が増加すると,  $C_p$  が増加していることが分かる. これは, 血栓の直径  $D$  が増加することで, 赤血球量が増加したためであると推測される.

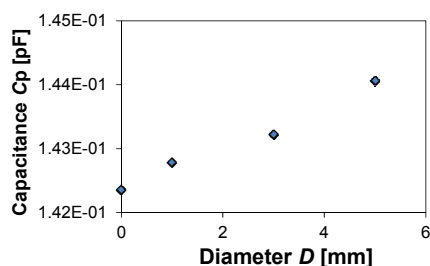


Fig.2 Capacitance change for thrombotic diameter

### 4. 結言

ウシ血液に異なる直径の血栓を加え, 測定周波数  $f=250$  kHz でキャパシタンスを計測することにより, 血栓の直径が増加すると, キャパシタンスが増加することが分かった.

### 謝 辞

本研究の一部は, 千葉大学 COE スタートアッププログラム, および, ベンチャービジネスラボラトリー研究費によってなされました. ここに厚く御礼申し上げます.

### 文 献

- 1) 朝倉悠太, サプコタアチュタ, 丸山修, 小阪亮, 山根隆志, 武居昌宏: プロセス・トモグラフィ法による静止血液中の沈降血栓の時間空間計測, 可視化情報学会論文集, Vol.33, No.10, pp.17-24, 2013
- 2) S.Saito, G.Matsumiya, T.Sakaguchi, S.Miyagawa, Y.Yoshikawa, T.Yamauchi, T.Kuratani, Y.Sawa: Risk factor analysis of long-term support with left ventricular assist device. *Circulation Journal*, Vol.74, No.4, 715-722, 2010.

## 共焦点マイクロ PIV と超解像度顕微鏡を用いた 血管内皮細胞グリコカリックス層近傍の速度分布計測

漆谷真帆\*, 杉井康彦\*\*, 茂木克雄\*\*\*, 菱田公一\*

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

\*\* 東京大学大学院 工学系研究科

\*\*\* 東京工業大学 大学院理工学研究科

### 1. 緒言

血流の刺激によって血管内皮細胞の配向・伸展や NO 産生などの応答が示されているが, 刺激を検知し伝達するメカニズムは未だ不明な点が多い. 内皮細胞表面を覆っている糖鎖であるグリコカリックスが力学的刺激のセンサーを担っていることが示唆されている<sup>1)</sup>. グリコカリックスが繊維状であり, 細胞近傍の流れに影響すると考えられる. 本研究では, グリコカリックスに加わる流体力を評価するため, 超解像度顕微鏡を用いたグリコカリックスの位置と厚さおよび共焦点マイクロ PIV システムを用いたグリコカリックス近傍の速度分布の計測法を開発する.

### 2. 実験方法

PDMS (polydimethylsioxane) 製の高さ 100  $\mu\text{m}$ , 幅 400  $\mu\text{m}$  の矩形断面のマイクロ流路内に, ヒト臍帯静脈内皮細胞を播種し, 24 時間培養後に計測を行った. グリコカリックスの位置と厚さ計測には, 面内の空間分解能が 80nm である超解像度顕微鏡 (Leica, TCS STED CW) を用いた. 蛍光染料 WGA-Alexa Fluor 488 を用いてグリコカリックスを染色し,  $40 \times 40 \times 300\text{nm}$  の解像度で蛍光画像を取得した. 速度計測の空間分解能と計測精度を向上させるため, 光学系の最適化するとともに, 細胞への粒子の付着を避けるため PEG 修飾した粒子径 100 nm の蛍光有機シリカ粒子を用いた.

### 3. 実験結果と考察

Fig. 1 に超解像度顕微鏡により得られたグリコカリックスの蛍光画像を示す. 図中の点 A では, グリコカリックスの厚さは  $1.27\mu\text{m}$ , グリコカリックスを含めた細胞の高さは  $4.67\mu\text{m}$  であった. Fig. 1 中の点 A の近傍の時間平均の速度分布を Fig. 2 に示す. 細胞が無い場所の速度分布から, 流路底面の位置を推定し, グリコカリックスを重ねて示している. 得られた速度分布は, 層流の理論解と比較的一致している. しかしながら, グリコカリックスと計測断面との相対位置の精度が不十分なため, グリコカリックス内の速度分布を推

定することが困難であった. 今後, 速度分布計測における位置精度の改善を行っていく.

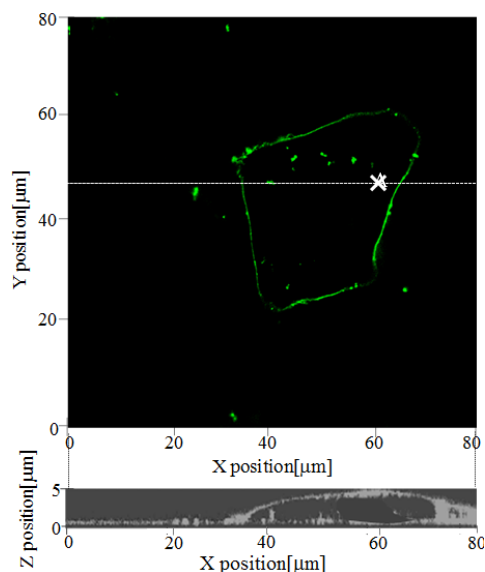


Fig. 1 Fluorescent image of glycolyx obtained by super-resolution microscopy.

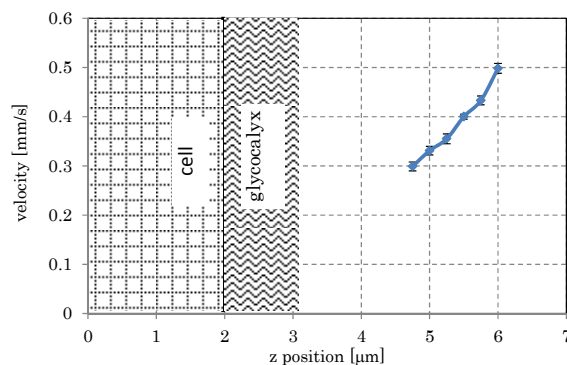


Fig. 2 Axial velocity profiles.

### 4. 結言

グリコカリックスの位置と厚さおよびその近傍の速度分布の計測法を開発した. これによりグリコカリックスによる流れへの影響を評価することが可能となる.

### 文 献

- 1) Mochizuki, S., et. al.: Role of hyaluronic acid glycosaminoglycans in shear-induced endothelium-derived nitric oxide release. *Am. J. physiol.*, **285**, 722-726, 2003.

## 敗血症モデルマウスにおけるグリコカリックス層減衰と白血球粘着能亢進の生体顕微鏡観察

片岡華恵\*、牛山明\*\*、飯島毅彦\*

\*昭和大学歯学部全身管理歯科学講座歯科麻酔科学 [〒145-8515 東京都大田区北千束 2-1-1]

\*\*国立保健医療科学院

### 1. 緒言

血管内皮表層には糖タンパク質からなる厚さ 200~500 nm の極めて薄いグリコカリックス層 (glycocalyx layer) が存在しており、その循環生理学的機能について注目されている。例えば、全身性炎症反応症候群の一つである敗血症患者では健常者あるいは非敗血症患者と比較してグリコカリックス層が減衰しているという報告がある<sup>1)</sup>。したがって敗血症動物モデルを用いて病態におけるグリコカリックス層の挙動を明らかにし、グリコカリックスが寄与する生理学的機能を解明することは重要である。そこで本研究では、背側皮膚透明窓を装着したマウスにエンドトキシンである LPS を投与した敗血症モデルを用い、グリコカリックス層の減衰を生体蛍光顕微鏡下で観察すると共に、白血球粘着能への影響について検討した。

### 2. 実験方法

実験には背側皮膚透明窓 (dorsal skinfold chamber: DSC) を装着した BALB/c マウス (8~10 週齢、雄性) を用いた。DSC によって皮膚微小循環動態を可視化することが可能である<sup>2)</sup>。実験開始時に LPS (*E. coli* O26:B6 由来) を 2mg/kg body weight で腹腔内投与したのち、18 時間後に同量を追加投与し敗血症モデル群とした。病態の評価は体重、血圧測定、血液・生化学検査により行った。実験開始前および開始後 24 時間時点で、グリコカリックス層に結合するとされている蛍光標識小麦由来レクチン (FITC-WGA) を静脈内投与し、DSC 内微小血管床における FITC-WGA による血管内皮の染色を生体蛍光顕微鏡で観察した<sup>3)</sup>。一方、白血球粘着能については、実験開始後 24 時間時点でローダミン 6G の静脈内投与により染色された白血球の挙動を一定時間動画撮影し、解析に供した。本研究では、LPS 非投与の対照群を用意し比較した。

本研究は、国立保健医療科学院動物実験委員会の承認を得て行った。

### 3. 実験結果

対照群の血管内皮表層では FITC-WGA による染色を明瞭に認めた。敗血症モデル群で FITC-WGA に

よる血管内皮表層の染色は対照群と比較して、層の厚み、蛍光の明るさ共に明らかに減弱していた。また、敗血症モデル群では、細動脈、細静脈のいずれにおいても血管内を流れる白血球の粘着性の亢進が観察され、対照群に比べ有意な増加が認められた。

### 4. 考察

結果より、対照群の血管内皮表層には、WGA が認識するグリコカリックス層が一定の厚みで存在する一方、LPS 投与群では層の厚み、蛍光の明るさが減弱しており、敗血症病態において血管内皮のグリコカリックス層が崩壊していることが示唆された。また、敗血症病態下における粘着白血球数増加の原因の一つとして、グリコカリックス層の崩壊が寄与していると考えられた。

### 5. 結語

本研究では DSC 法を用いて血管内皮グリコカリックス層の病態時における挙動のリアルタイム観察を可能とした。敗血症モデルでは、グリコカリックス層の崩壊と白血球粘着能上昇との関連性が認められ、グリコカリックス層が循環生理学的に果たす役割の一部が明らかとなった。

### 謝 辞

本研究を進めるにあたり、貴重なご助言を頂きました宮尾秀樹先生 (埼玉医科大学)、鶴澤康二先生 (杏林大学)、実験補助をして頂いた菅裕亮氏、宮坂幸菜氏 (明治薬科大学) の皆様に感謝いたします。

### 文 献

- 1) Donati A, Damiani E, Domizi R, et al: Alteration of the sublingual microvascular glycocalyx in critically ill patients. *Microvasc Res* 90:86-9, 2013
- 2) Ushiyama A, Yamada S, Ohkubo C: Microcirculatory parameters measured in subcutaneous tissue of the mouse using a novel dorsal skinfold chamber. *Microvasc Res* 68:147-52, 2004
- 3) Salmon AH, Ferguson JK, Burford JL, et al: Loss of the endothelial glycocalyx links albuminuria and vascular dysfunction. *J Am Soc Nephrol* 23:1339-50, 2012

## 動物血液のレオロジー挙動 (印刷用顔料分散インキの流動挙動解析手法の適用)

篠崎俊介\*, 山口はるな\*, 有富充利\*, 渡邊宣夫\*\*

\* 株式会社 DNP ファインケミカル [〒226-0022 神奈川県横浜市緑区青砥町 450]

\*\* 芝浦工業大学 システム理工学部 生命科学科

### 1. 緒言

印刷や塗工に用いられるインキは、固体成分である顔料や合成ポリマー及び液体成分である溶剤から成り、これらの材料設計および分散技術に基づいて凝集や沈降を防止し、流動性を制御したインキの設計がなされている。その流動性評価としてレオロジー解析を行い、多種多様なインキの特性や印刷時の挙動に対し、以下の式 (1) の流動特性式を用いた流動挙動解析手法を提案した<sup>1)</sup>。

$$F \propto S^m \times \eta^n \times G^p \quad (1)$$

$\left( \begin{array}{l} F : \text{インキ特性値} \\ S : \text{降伏項}, \eta : \text{粘性項}, G : \text{弾性項} \\ m + n + p = 1 \end{array} \right)$

一方血液は血球成分と血小板、血漿成分に大別される不均一な流体である。過去に血液の流動特性と体の機能・疾患の相関関係を明らかにする試みがなされて来てはいるが<sup>2)</sup>、我々の流動挙動解析手法を適用することにより、異なった視点から血液の流動特性と機能との相関解析を試みた。

### 2. 実験方法

抗凝固剤 (クエン酸ナトリウム水溶液) 入りの豚血液 (東京芝浦臓器社) を用いた。凝固剤として 0.25M 塩化カルシウム水溶液を用いた。凝固剤添加量の異なる豚血液を作製し、活性化全血凝固時間 (ACT, HEMOCHRON 401 : ITC社) を測定した。レオロジー測定にはレオメータ (AR-G2 : TA Instruments社) を用い、定常流測定、動的歪み依存測定、動的時間依存測定を行った。ACT と凝固剤添加量の関係を図 1 に示す。

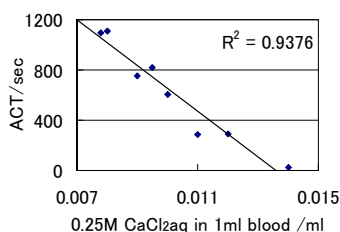


Fig. 1 Relationship between the ACT and the quantities addition of 0.25M CaCl<sub>2</sub>aq to the 1ml blood.

### 3. 結果と考察

ACT とレオロジーパラメータの相関を調査した中で、降伏項・粘性項・弾性項の代表的な結果を図 2 に示す。c) の弾性項 ( $G'$ ) との相関が

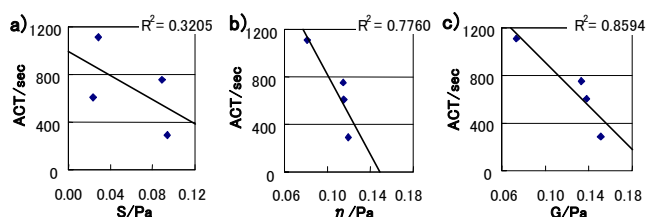


Fig.2 Relationship between the ACT and the rheological parameters. a) Yield term. b) Viscous term. c) Elastic term.

高い。次に各項それぞれの寄与率 ( $m$ ,  $n$ ,  $p$ ) の最適値を求めた結果、以下に示す式 (2) が導き出された。降伏項と粘性項の寄与はほとんど無く、弾性項が支配的であることが判明した。

$$F \propto S^{0.0} \times \eta^{0.0} \times G^{1.0} \quad (2)$$

一般的に血液の凝固に関しては成分間相互作用が関係していることがよく知られているが、本解析手法の結果からも成分間相互作用の因子と考えられる弾性項が支配的であることが導き出された。さらには成分間相互作用の強い系の方が凝固時間が短いことが判明した。

### 4. 結言

血液の凝固能とレオロジーパラメータに相関が見られたことから、流動挙動解析手法が血液の新たな評価手法として適用できる可能性が示唆された。

### 謝辞

本研究の中で、ACT測定にご協力頂いた東京医科歯科大学・大内克洋准教授に深く感謝申し上げます。

### 文献

- 山口はるな, 篠崎俊介, 鈴木猛, 有富充利 : 第 58 回レオロジー討論会講演要旨集, p102-103, 2010.
- 前田信治 : 血液のレオロジーと生理機能, 日誌, 66, p234-244, 287-297, 327-336, 2004.

## 動的光散乱法によるアミロイド様線維の構造安定性の評価

佐伯政俊, 穂本光弘

山口東京理科大学 工学部 [〒756-0884 山口県山陽小野田市大学通 1-1-1]

### 1. 緒言

タンパク質のフィブリル状集合体であるアミロイド線維はアルツハイマー病やプリオン病のようなタンパク質のコンフォメーション異常によって引き起こされる疾病関わっているとされており、その構造形成メカニズムと性質の解明が精力的に行われている<sup>1)2)</sup>。アミロイド線維は $\beta$ シートの集合体であり、タンパク質やペプチドの種類が異なっても幅は約 10 nm で報告されていたが、我々は、アミロイドの形成性が知られているバルナーゼの M1 モジュール:

AQVINTFDGVADYLQTYHKLPDNY (BM24) の 21 残基からなる短縮型ペプチド (BM21) では、幅 20 nm を有することを発見した<sup>3)</sup>。このわずかに 3 残基の違いで線維の形態だけでなく、構造安定性にも影響があるとすれば近接領域の役割によって強固な線維の立体構造制御が可能である。そこで、本研究ではそこで、幅の違いが線維の形成メカニズムおよび線維の特徴に与える影響の解明を目的として、BM24 および BM21 を合成し、凝集体の評価方法として動的光散乱法を用いてアミロイド線維の構造形成および変性剤添加による構造強度の違いを測定した。

### 2. 実験方法

BM24 および BM21 のペプチドは、Fmoc 固相合成法により合成後、MALDI-TOFMS を用いて同定し、高速液体クロマトグラフィーにより精製した。精製ペプチドは 200  $\mu$ M、pH 7.5 の条件で、1 週間静置した。アミロイド線維を形成したペプチドの光散乱を測定し、さらに変性剤の 9 M urea を添加後の光散乱の経時変化を測定した。また、アミロイドの形成の有無を確認するため、アミロイドに特異的に結合する蛍光試薬のチオフラビン T 色素を用いて変性剤添加前後の蛍光測定を行った。さらに二次構造の評価を行うために変性剤添加後、経時的に円二色性スペクトル測定を行った。

### 3. 実験結果

両者とも溶解直後の光散乱測定では、粒径分布に差は見られなかったが、経時的な凝集に伴い、観測粒径に増大が見られた。さらに、BM21 よりも

線維幅の小さい BM24 の方が見かけの粒径は大きくなっていくという結果が得られた。各線維に urea を添加後の光散乱測定では、BM24 の粒子径分布が全体的に大きくなる方向に変化した。また、円二色性スペクトル測定では、変性剤添加 20 時間後において、BM24 の $\beta$ シート構造の割合がほとんどないことを示した。さらに、チオフラビン T を用いた蛍光測定の結果では、変性剤添加後、BM24 の蛍光強度が減少していた。

### 4. 考察

BM21 の線維幅の方が大きい、粒径分布では BM24 よりも小さい結果が得られたのは、動的散乱光の観測による線維の集合状態に起因するものであり、BM24 の方がより多くの線維同士で凝集体を形成していると考えられる。これら動的散乱の結果と、円二色性スペクトル測定および蛍光測定の結果から、BM24 は線維のさらなる集合に起因するものではなく、線維構造が破壊したために大きな粒径を示したと考えられる。したがって、BM24 と比較して BM21 の方が変性剤の影響を受けにくく、構造安定性は高いと考えられる。

### 5. 結言

幅の広い線維を有する BM21 は、アミロイドの形成核であるクロス $\beta$ 構造が多く集合しているため、BM24 より強固な線維であることを示唆している。

### 文 献

- 1) Saiki, M., Konakahara, T., and Morii H.: Interaction-based evaluation of the propensity for amyloid formation with cross- $\beta$  structure. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **343**, 1262-1271, 2006.
- 2) Saiki, M., Hidaka, Y., Nara, M., and Morii H.: Stem-Forming Regions That Are Essential for the Amyloidogenesis of Prion Proteins. *Biochemistry*, **51**, 1566-1576, 2012.
- 3) Saiki, M., Honda, S., Kawasaki, K., Zhou, D., Kaito, A., Konakahara, T., and Morii H.: Higher-order Molecular Packing in Amyloid-like Fibrils Constructed with Linear Arrangements of Hydrophobic and Hydrogen-bonding Side-chains. *J. Mol. Biol.*, **348**, 983-998, 2005.

## DEVELOPMENT OF MULTI-SCALE SIMULATION BASED ON SPECT DATA

Hao ZHANG\*, Masaharu KOBAYASHI\*, Shigeki YAMADA\*\*, Fuyou LIANG<sup>ξ</sup>, Shu TAKAGI<sup>ξ, ξ</sup>, Marie OSHIMA\*

\*Institute of Industrial Science, The University of Tokyo [〒113-8654 7-3-1 Honggo, Bunkyo, Tokyo]

\*\*Department of Neurosurgery, Hamamatsu Rosai Hospital

<sup>ξ</sup> Department of Naval Architecture and Ocean Engineering, Shanghai Jiao Tong University

<sup>ξ, ξ</sup> Department of Mechanical Engineering, The university of Tokyo

### 1. Introduction

Although many anatomical information, for example vessel length, vessel radius, aneurysm size and stenosis ratio can be obtained from the noninvasive imaging techniques, it is still difficult to obtain the hemodynamic parameters directly.<sup>1)</sup> The computational fluid dynamics (CFD) is considered to be a powerful tool to offer us these important information in details.

The aim of this research is to develop a patient-specific multi-scale model to provide useful information for neurosurgeons and patients. In this paper, SPECT data are incorporated with the patient-specific multi-scale simulation to estimate appropriate peripheral resistance for individual patients. The inflow distribution of simulation results is compared to that of PC-MRI measurement.

### 2. Method and materials

In our research, the entire cardiovascular system mainly consists of 87 large arteries, capillaries, veins and heart. The present cardiovascular system is simulated with the extended patient-specific 1D model of the cerebrovascular network in addition to the model by Liang<sup>2)</sup>. The 1D simulation is conducted on 87 large arteries. The remaining portions of the circulatory system, for example peripheral arteries, capillaries, veins and heart are represented by the 0D model. Thus the entire circulatory system is simulated by the 1D and 0D model.

The essential geometrical information such as, vessel length, or radius on 55 main arteries are obtained from the statistic data<sup>2)</sup> while that on 32 cerebrovascular from MRI data.

Adjustment of patient-specific peripheral resistances between SPECT and simulation is performed at the six arteries: the anterior cerebral artery (ACA), the middle cerebral artery (MCA) and the posterior cerebral artery (PCA).

The research objects are two patients who are a 70 years old male (case 1) with 73% stenosis at left ICA and an 83 years old male (case 2) with 60% stenosis at right ICA. The patient of case 1 has the carotid artery stenting (CAS) while that of case 2 has the carotid endarterectomy (CEA).

### 3. Results

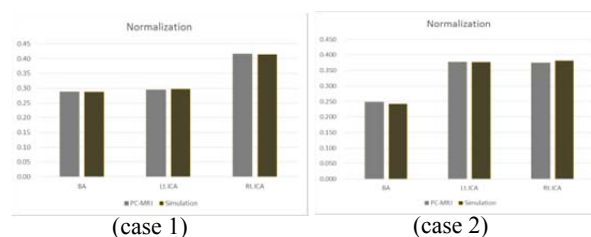


Fig. 1. Comparison of flow distribution between PC-MRI measurement and simulation results

Because the total inflow of PC-MRI in the cerebrovascular system is different from that of the simulation, PC-MRI measurement cannot be compared to the simulation results directly. The flow rate are normalized by the total inflow in the cerebrovascular system as described in Fig. 1.

### 4. Discussion

Both two cases show that the flow distribution of the simulation are quite similar to those of PC-MRI measurement. Buijjs<sup>3)</sup> reported that the blood for brain is supplied by ICAs and BA with an averaged ratio of 2:2:1 after analyzing 250 adults. However, from the two cases in our research, we can see the blood distribution of ICAs and BA can be quite different due to the individual difference.

### 5. Conclusions

In this research, we combined SPECT measurement data as well as MRI data with 1D-0D multi-scale cardiovascular simulation. The reliability of our model has been proved by comparing the inflow distribution of the simulation results with PC-MRI data.

### Reference

- 1) Sherwin, S. J., Alastruey, J., Lumped Parameter Outflow Models for 1-D Blood Flow Simulations: Effect on Pulse Waves and Parameter Estimation, 1–20
- 2) Liang, F., Takagi, S., & Liu, H. (2009). Multi-scale modeling of the human cardiovascular system with applications to aortic valvular and arterial stenoses. *Medical & Biological Engineering & Computing*, 47(7), 743–55.
- 3) Buijjs, C. (n.d.). *Neuroradiology Effect of Age on Cerebral Blood Flow: Measurement with Ungated Angiography*, 667–674.

## 低酸素環境に対する心臓血管系の適応

濱島早紀\*, 柴田政廣\*

\* 芝浦工業大学大学院 理工学研究科 [〒337-8570 埼玉県さいたま市見沼区深作 307]

### 1. はじめに

低地で生活する生物のヘマトクリット値 (Ht) は、ほぼ一定 (40%) に保たれている。Ht が高いと酸素運搬には有利であるが、血流維持の為に多くのエネルギーが必要となる。この Ht は周囲の酸素環境により変化する。低酸素環境下では、Ht が上昇し、その結果肺高血圧症や高山病の発症要因となる可能性がある。しかし現実には人類の中には標高 4200m の高地に居住する人達があり、彼らの血圧や心疾患罹患率は高くない。さらには高地トレーニングという低酸素負荷トレーニング法も存在する。本研究では低酸素環境に対する順応として、Ht 上昇に対する代償として血流抵抗 (ずり応力) が増加するが、このずり応力増加を血管内皮細胞が感知し、血管を拡張させ血流抵抗を元に戻す適応機構が存在するのではないかと考えた。

(図 1) 本研究ではこの仮説の妥当性を血液レオロジーの面から実験的および理論的に検討した。

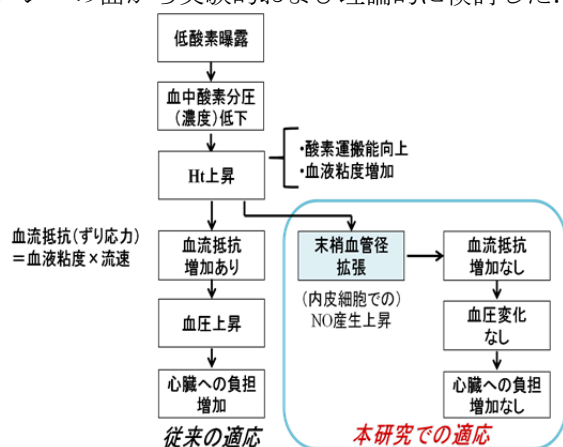


図1 低酸素に対する順応反応

### 2. 実験方法

**2・1 Ht と血圧の経時変化** 全ての実験は本学動物実験倫理規定に基づき行った。Wistar 系 rat (♂, 5wks-, 120g-) を 1 週間通常酸素環境下で飼育し、その後 2 週間低酸素環境下で飼育する。その間 2 日おきにエーテル吸入鎮静下で Ht と血圧の計測を行った。低酸素環境は、酸素濃度 10% (標高 5,500m, PO<sub>2</sub>: 78mmHg) に設定し、測定時以外は常にこの環境を保った。血圧は尾動脈容積振動法を用い平均血圧として (Softron 製), また Ht は尾から Ht 毛細管で微量採血により求めた。

**2・2 総末梢血管抵抗の実測** 総末梢血管抵抗  $R$  は、血流量  $Q$  と動脈血圧  $P$  を直接法により計測し Darcy の法則  $R = P/Q$  より求めた。実験には 2 週間低酸素下で飼育した Wistar 系 rat と通常酸素環境下で飼育した同種 rat を用い、ウレタン腹腔内注入麻酔下で行った。血流計測は頸動脈に極細血管用血流計プローブを装着し、超音波トランジットタイム血流計 (Transonic Systems 製) により行った。血圧計測は、上記血流計測後、同一血管にカテーテルを挿入し直接測定し平均血圧で示した。

### 3. 結果と考察

低酸素飼育群の Ht は低酸素曝露直後から急激に増加した (45%→59%)。一方血圧については低酸素飼育群、通常酸素飼育群ともに大きな上昇はなく、また両群間に有意差は見られなかった。これらの結果は、本研究が提唱する低酸素に対する適応、即ち Ht の上昇にも関わらず末梢血管の拡張により血管抵抗の上昇は生じないことを示唆するものである。また総末梢血管抵抗の実測に関しては、頸動脈血流量に低酸素飼育群と通常酸素飼育群で有意差は見られなかった (低酸素:  $5.7 \pm 2.3$ , 通常酸素:  $6.8 \pm 1.9$  mL/min)。一方血圧に関しては統計的には有意差があったが (低酸素:  $103 \pm 18$ , 通常酸素:  $89 \pm 14$  mmHg), 両群とも平均血圧の最大値は 120mmHg と正常血圧の範囲内であった。これらの値から求めた総末梢血管抵抗の値は両群間に有意差は見られず (低酸素:  $21 \pm 10$ , 通常酸素:  $15 \pm 5$ ), 本研究が提唱する仮説の妥当性が実験的にも示された。これらの結果を基に、血管に対する Poiseuille の法則  $R = 8\mu L/(\pi r^4)$  ( $\mu$ : 血液粘度,  $r$ : 血管径,  $L$ : 血管長 (一定)) を用い考察すると、血液粘度の増加にもかかわらず、血管抵抗  $R$  が上昇しなかった結果は、血管径  $r$  の増大を意味する。血液粘度の増加は血管壁でのずり応力の上昇を伴うが、従来から数多く報告されている「血流によるずり応力が血管内皮細胞での NO 産生を亢進させ、細動脈を拡張させる」という事実とも整合性を持ち、本研究が提唱する低酸素に対する適応反応の妥当性が示された。

## モデル発がん性物質のゲルへの吸着のダイナミクス

富田奈緒子\*, 内藤大輔, 六川勇, 槇靖幸, 山本隆夫, 土橋敏明  
\* 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

DNA はその二重らせん構造のために、平面的な構造の化合物を選択的に吸着できる。<sup>1)</sup> 本稿では DNA 異方性ゲルを用いた発がん性モデル物質の吸着挙動を実験的、理論的に考察した。

サンドウィッチ法を用いて作製した多価カチオンで架橋された DNA 異方性ゲルによる吸着過程のダイナミクスの検討を行った。透析によるゲルの形成ダイナミクス理論で用いられている非平衡熱力学に基づく考え方で吸着挙動が記述できることが分かった。

### 2. 実験方法

#### (A) 試料

DNA は sodium-type DNA (サケ白子由来、10kbp) を用いた。DNA を 20 mM 四ホウ酸ナトリウム水溶液に溶解し、1 wt%DNA 水溶液 (pH9.15) を調製した。DNA 水溶液 200  $\mu$ L を二枚の円形カバーガラスの間に挟み、100 mL の 100 mM 塩化コバルト水溶液中に浸漬して、フィルム状ゲルを作製した。架橋時間 (浸漬時間) を 7 時間とした。

#### (B) 測定

(i) アクリジンオレンジ (AO) 吸着層の成長のダイナミクス (カバーガラスサイズ依存性)

作製したフィルム状 DNA ゲル (カバーガラス半径  $R=5\text{mm}$ , 7.5 mm, 9 mm, 11 mm) を AO 水溶液 10  $\mu\text{g/mL}$ , 50 mL の中に浸漬し、一定時間ごとにデジタルカメラで撮影し AO の吸着層幅の経時変化を測定した。

(ii) AO 吸着層幅と吸着量のダイナミクス (AO 濃度依存性)

作製したフィルム状 DNA ゲルを AO 水溶液 (5  $\mu\text{g/mL}$ , 10  $\mu\text{g/mL}$ , 20  $\mu\text{g/mL}$ ) 10 mL の中に浸漬させ、一定時間ごとに吸着層幅及び、吸着量は分光光度計にて媒質中の AO 濃度を求めた。

### 3. 結果と考察

Figure 1 は吸着過程のモデル図である。AO 分子は DNA ゲルへ吸着するときに、図のように界面を持ちながら中央へ向かって吸着層を形成すると考える。DNA ゲルへの AO の吸着過程は、この "Moving Boundary Picture"<sup>2)</sup> を基にした吸着理論式で吸着の前期過程をよく fitting することが出来た。後期過程に関しては、DNA ゲル中央にあるゾルコアを想定することによってよく表すことが出来た。初期濃度で規格化された AO 水溶液中の

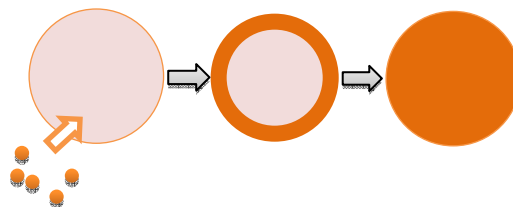


Fig.1 The schematic illustration of the adsorption process of AO molecules. The AO-adsorbed layer develops toward to the center.

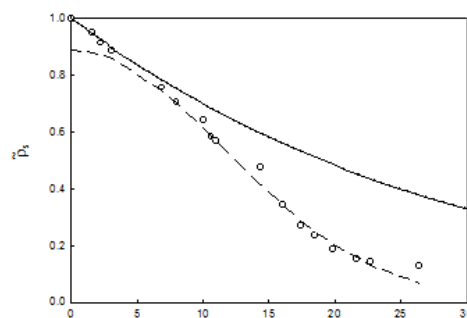


Fig.2 The theoretical curves for the initial process (solid curve) and the late process (dashed curve) of time course of AO concentration in medium. The experimental data are also shown by open circles.

AO 濃度  $\tilde{\rho}_s$  と  $\tilde{t}^{1/2}$  ( $\tilde{t} = t/R^2$ ,  $t$  は経過時間) の関係を Fig.2 に示す。この時、 $\rho_s^0 = 5 \mu\text{g/mL}$ ,  $R = 5\text{mm}$  である。シンボルは実験点で、吸着過程の前期過程の理論曲線実線で示し、後期過程を破線で示しており、実験過程全体がよく理論式によって fitting されている様子が分かる。

理論構築で用いた Moving Boundary Picture は、物質の散逸が界面を持ちながら進行する系に適応することが可能であり、イオンや吸着物の流出入による移動に限らず、一般的に応用される可能性が示唆される。

### 文 献

- 1)Furusawa, K.; Wakamatsu, M.; Dobashi, T.; Yamamoto, T. *Langmuir*, **23**, 10081, 2007.
- 2)Nobe, M.; Dobashi, T.; Yamamoto, T.; *Langmuir*, **21**, 8155, 2005

## 肝細胞機能に及ぼす一酸化窒素の影響

隅井干城\*, 阿部拓磨\*, 中嶋和弘\*\*, 世良俊博\*\*, 工藤奨\*\*

\* 九州大学大学院 工学府 機械工学専攻 [〒819-0395 福岡県福岡市西区元岡 744]

\*\*九州大学大学院 工学研究院 機械工学部門

### 1. 緒言

肝細胞は肝臓の機能を司る細胞である。しかし生体内から取り出した肝細胞を生体外で培養した場合、アルブミン分泌やアンモニア分解などの機能が生体内に比べて 200 分の 1 程度まで低下してしまう。したがって生体外で肝細胞の機能を高める方法が重要である。従来研究により生体外で肝細胞機能を向上させる要因の 1 つが一酸化窒素 (NO) であることが明らかとなった<sup>1)</sup>。しかしこれまでの研究では、細胞の NO 産生を阻害する方法によって肝機能の変化を測定していた。更に細胞に NO を負荷する研究はいくつか行われているが<sup>2)</sup>、長期間負荷した研究は存在しない。そこで本研究では NO を細胞に長期間直接負荷できるデバイスを開発し、NO 濃度を変化させ肝細胞機能の変化を測定することを目的とした。

### 2. 実験方法

気体が透過しやすいジメチルポリシロキサン (PDMS) を用いて培養デバイスを構築した (図 1)。下層部の流路に NO ガスを流し、薄膜を通過した NO ガスが薄膜上の細胞に直接負荷される構造となっている。作製したデバイスに肝細胞を播種し、コンフルエントになった後、平行平板型流れ負荷装置を取り付けた。流れをかける培養液に混合ガス (5% CO<sub>2</sub>, 95% Air) をバブリングさせ、流れの大きさは 0.6 Pa のせん断応力とした。負荷する NO ガスは 0.5 ppm, 5 ppm の 2 種類の濃度を 500 Pa で負荷した。流れと NO を 24 時間負荷した後、アンモニアの分解量を測定し機能評価を行った。実験データは Scheffe 法を用いて検定を行った。

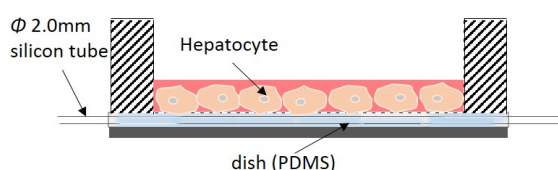


Fig. 1 two-flow culture device

### 3. 実験結果

負荷する NO 濃度を変化させた時のアンモニア分解量を図 2 に示す。NO を負荷していないモデルと比較して、0.5 ppm の NO ガスを負荷したモデルは 2.1 倍、5 ppm の NO ガスを負荷したモデルは 1.7 倍の肝細胞機能向上が見られた。

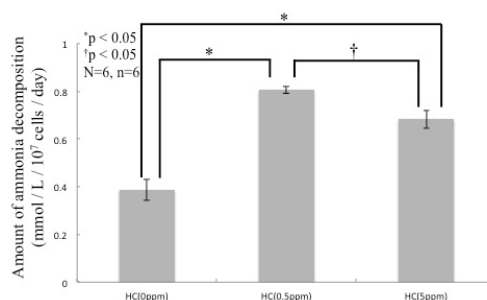


Fig. 2 Ammonia decomposition in different nitric oxide concentrations

### 4. 考察

図 2 より NO 直接負荷が肝細胞機能を向上させることが明らかとなった。この結果から本研究で作製したデバイスが NO 長期間負荷実験に使用できることが分かった。また 0.5 ppm の NO ガス負荷が 5 ppm の NO ガス負荷より機能向上の効果が大きかったことから、生体外で肝細胞機能を向上させる最適な NO 濃度が存在することが明らかとなった。

### 5. 結言

本研究により NO ガスを直接負荷することで肝細胞機能が向上することが示唆された。

### 文 献

- 1) Adawi, D., Molin, G. and Jeppsson, B.: Inhibition of nitric oxide modulates the effect of oral arginine supplementation in acute liver injury. *Scand J Gastroenterol.*, **32**, 835-847, 1997.
- 2) Stephane, D., Dan, Ohtan, W., Chiwon, K., Mio, K., Yong, C., Susumu, K., Ken-ichiro, K. and Shuhei, FRYosuke, F.: Localized cell stimulation by nitric oxide using a photoactive porous coordination polymer platform. *Nature communications.*, **25**, 1-8, 2013.

## 超音波計測による全身循環シミュレーションの評価

矢内紫織\*, 仁木清美\*, 大島まり\*\*, 梁夫友\*\*\*, 菅原基昇\*\*\*\*

\*東京都市大学大学院 工学研究科 生体医工学専攻[〒158-8557 東京都世田谷区玉堤 1-28-1]

\*\*東京大学大学院 情報学環・学際情報学府

\*\*\*上海交通大学船舶海洋与建筑工程学院船舶与海洋工程系

\*\*\*\*姫路獨協大学 医療保健学部 臨床工学科

### 1. 緒言

近年では、超音波計測による血流評価によって循環器系診断が行われているが、同手法では計測深度、計測方向に制限があり、限られた部位の血流評価しか行えない。血流は血管の硬さと末梢からの反射の影響を強く受けるため、全身循環を考慮した血流解析が望まれている。そこで、全身循環シミュレーション(東京大学大島研究室)を用いた血流解析方法が提案されているが、体循環における実測値との比較はまだ行われていない。

本研究では超音波装置により非侵襲的に得られた血圧・血流速度波形とシミュレーションを用いて得られた同波形とを比較検討し、シミュレーションの評価を行った。

### 2. 実験方法

超音波診断装置(日立アロカメディカル社製:SSD6500)に内蔵されている Wave Intensity (WI) 計測システムを用いて血圧・血流速度波形を非侵襲的に計測した。対象は健康者男性 3 名(平均 23 歳)で、計測は総頸動脈, 上腕動脈, 膝窩動脈で行った。シミュレーション波形は全身循環シミュレーションに年齢と心周期を入力し総頸動脈と上腕動脈, 膝窩動脈の血圧, 血流速度波形を得た。波形の比較を行うとともに、同部の血管ステイフネスを計算した。

### 3. 実験結果

シミュレーションより得られた総頸動脈の血圧波形は実測値と類似した波形の形状を示したが、血流速度は拡張期に非常に小さく、実測値とは異なる結果を示した。上腕動脈においては血圧波形および血流速度波形はほぼ一致した結果を示した(Fig. 1)。膝窩動脈において、シミュレーションの血流速度は駆出中期において実測値よりも非常に大きく、駆出末期に見られる逆流は非常に小さいものとなった(Fig. 2)。血圧, 血管径変化より計測した血管ステイフネスはいずれもシミュレーションの方が低値であった。

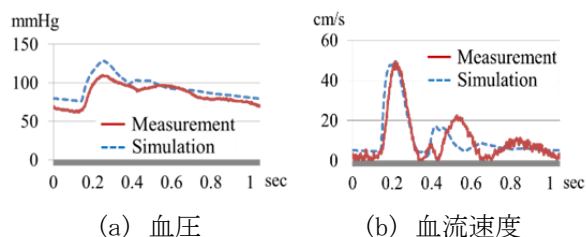


Fig. 1 上腕動脈の実測値とシミュレーション結果

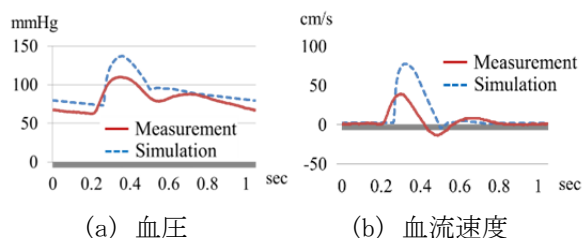


Fig. 2 膝窩動脈の実測値とシミュレーション結果

### 4. 考察

今回の検討では上腕動脈の血圧, 血流のシミュレーション波形は実測値と同様の結果を得たが、総頸動脈と膝窩動脈は実測値と異なる点が認められた。また、血管ステイフネスも実測値の方が高値であった。総頸動脈は脳循環からの影響が大きく、脳循環の血管抵抗の検討が必要と考えられた。また、膝窩動脈等は個人差が大きく、血圧の影響も受けるため、さらに症例を増やして検討することが必要であると考えられた。ステイフネスに関してはシミュレーションのパラメータの検討が必要と考えられた。

### 5. 結言

本研究では、超音波によって得た実測値を用いて全身循環シミュレーションの評価を行った。波動を含めた血流解析は心機能評価にとっても重要である。全身循環シミュレーションを用いることで波動解析を含めた血流評価が実測困難な部位においても可能となることが期待されており、実測値との比較検討により臨床応用が期待できる。

### 文 献

1) 菅原基昇, 仁木清美, 大手信之. イメージで理解する心エコー・ドプラ・循環力学. 文光堂. pp199-215. 2011

## トロミ調整食品が嚥下に与える影響 —障害者と健常者の飲み込み特性—

高橋智子\*, 二藤隆春\*\*, 高野真吾\*\*\*, 大越ひろ\*\*\*\*, 田山二朗\*\*\*

\*神奈川工科大学応用バイオ科学部 [〒243-0292 厚木市下荻野 1030], \*\*東京大学医学部,

\*\*\*国立国際医療センター, \*\*\*\*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し、2種類の力学的特性に調製した粘稠液状食品について、嚥下障害患者と健常者を被験者とした飲み込み特性を、嚥下造影検査と官能評価で同時に検討した。

### 2. 実験方法

造影剤は非イオン性ヨード造影剤、市販トロミ調整食品はキサントガムを主原料とするものを用いた (トロミパーフェクト\*: 日清オイリオグループ (株))。試料の力学的特性の指標をテクスチャー特性の硬さ (試料を一定条件で圧縮測定する際に、プランジャーの圧縮面に加わる力を応力としてあらわした) とし、市販トロミ調整食品の造影剤に対する添加濃度を変えて  $2 \times 10^2 \text{N/m}^2$ 、 $4 \times 10^2 \text{N/m}^2$  の硬さの試料に調製した。試料の力学的特性として硬さ以外のテクスチャー特性 (付着性、凝集性)、流動特性の測定を行った。

被験者は嚥下障害患者 67 例 (31~94 歳・平均 68 歳) と 65 歳未満健常者 29 例 (24~65 歳・平均 34 歳) である。嚥下障害患者群の基礎疾患は、頭頸部癌加療後 (中咽頭癌に対する放射線化学療法後等)、神経筋疾患、喉頭麻痺、咽頭異常感などである。嚥下造影検査の被験者をパネルとして、嚥下造影検査終了直後、検査時における口中感覚の評価結果を聞き取った。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通りにくさ、喉から先の通りにくさの3項目とし、刺激の大きい方の試料を選択してもらった (識別不能も許可)。口腔内の造影剤残留の影響を避けるため軟らかい  $2 \times 10^2 \text{N/m}^2$  の硬さの試料から先に検査を行った。嚥下造影検査の結果から、誤嚥、あるいは喉頭流入を認めた群 (26 例)、いずれも認めなかった群 (41 例) で嚥下障害患者群を分類して官能評価結果まとめた。65 歳未満健常者 29 例についても、嚥下造影検査を行わなかったが、同様に官能評価を行った。本研究は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. 実験結果および考察

テクスチャー特性の測定結果、 $2 \times 10^2 \text{N/m}^2$  試料は  $4 \times 10^2 \text{N/m}^2$  試料に比べ、付着性は小さく、凝集性は大きくなった。Wood は液状食品について、標準的な嚥下はざり速度は  $50 \text{s}^{-1}$  の流動特性に影響をうけると報告している<sup>1)</sup>。 $50 \text{s}^{-1}$  における粘性率は  $2 \times 10^2 \text{N/m}^2$  試料で  $100 \text{mPa}\cdot\text{s}$ 、 $4 \times 10^2 \text{N/m}^2$  試料で  $300 \text{mPa}\cdot\text{s}$  であった。官能評価結果より、 $2 \times 10^2 \text{N/m}^2$ 、 $4 \times 10^2 \text{N/m}^2$  の差が識別不可能なパネルを除いて2点識別法で解析したところ、べたつき感ではいずれの被験者群においても  $4 \times 10^2 \text{N/m}^2$  が  $2 \times 10^2 \text{N/m}^2$  に比べ、有意にべたつくと評価された。食塊の口から喉への通りにくさ、喉から先の通りにくさでは、65 歳未満健常者で  $4 \times 10^2 \text{N/m}^2$  が  $2 \times 10^2 \text{N/m}^2$  に比べ有意にとおりにくいと評価したが、嚥下障害患者群では有意差は認められなかった。識別不可能と評価したパネルを含め集計したところ、識別不可能と評価したパネルの割合はいずれの評価項目においても、誤嚥あるいは喉頭流入を認めた群が最も大きくなった。一方、いずれの評価項目においても  $4 \times 10^2 \text{N/m}^2$  試料を選択したパネルの割合が大きいのは 65 歳未満健常者であった。

### 4. 結言

嚥下障害患者群の誤嚥あるいは喉頭流入を認めた被験者で、口から喉への通りにくさ、および喉から先の通りにくさの評価項目で、 $4 \times 10^2 \text{N/m}^2$  試料と  $2 \times 10^2 \text{N/m}^2$  試料の差がわからないと評価したパネルの割合が最も多かった。

文献) 1) Wood, F. W.: S. C. I. Monograph, No.27, 40 (1968)

## 触覚による水認知プロセスにおける摩擦とレオロジー

野々村美宗

山形大学大学院 [〒992-0055 山形県米沢市城南 4-3-16]

### 1. 緒言

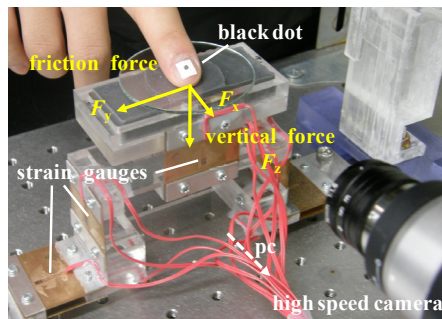
ヒトはどのようにして水を認知するのだろうか? われわれは、ヒトは固体基板上に存在する液体を指で撫でるだけで、容易に水とその他の液体を識別することができることを示してきた<sup>1-4)</sup>。水を塗布する時の手触りの特徴はキュキュッと感で、この感覚は濡れた皮膚と固体基板間で起こるスティックスリップ現象によって喚起されるのだ。しかし今回、これまでの検討に反して、指を動かさなくても、固体基板上の液体に触れるだけで水を認知することができるを見出した。本研究では、ヒトが時計皿上の液体に指を静置して触る時に喚起される触感と摩擦特性をミリ秒のタイムスケールで評価し、皮膚表面の摩擦と液体のレオロジー、ヒトが無意識で行う行動が触感に及ぼす影響を明らかにする。

### 2. 実験方法

21~25 歳の男女各 10 名がイオン交換水と 0.01~5.00wt% の増粘剤水溶液 0.5 mL を滴下した時計皿に利き手の人差し指で触れ、15 秒間指を静置させた。被験者は始めに標準サンプルとして水を触り、次に評価サンプルを 1 つ触った。その後、評価サンプルを触った時の手触りが標準サンプルと似ているかについて「非常に似ている」から「全く似ていない」の間でその程度を連続的な線分の上に付けた。被験者の指に加わった摩擦力と垂直力は摩擦評価装置で測定した(Fig.1)。この装置には 2 枚の板ばねより成る平行移動機構にひずみゲージが装着されている。指の爪に黒点シールを貼り、指の動きを 500 fps で高速カメラを用いて観察した。これらの実験の内容は山形大学工学部倫理委員会によって審査され、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配慮していることが確認されている。

### 3. 結果と考察

官能評価により、ヒトは時計皿上の液体に触れただけで水と増粘剤水溶液を識別できることが確認された。液体の手触りの類似性のスコアは増粘剤の濃度が多いほど低下したが、0.5wt% 以上増粘剤を含み、粘度が約 7 倍以上の時に統計的な有意



**Fig. 1** A friction evaluation system that simultaneously evaluated tactile sensation, friction properties and moving behavior of a fingertip.

差が認められた。この時の被験者のコメントから、ヒトは指に触れた液体がひんやりしていてぬるぬるしていないと水と似ていないと感じることが示された。

次に、水の触感の物理的起源を示すために摩擦プロファイルを解析した。増粘剤の濃度に関わらず、垂直力は 0~0.5 秒の第一段階で増加し、ほぼ一定の 0.3 N の値に到達した。摩擦係数は、水に触れた時 0.3 で一定であったが、5.00wt% の増粘剤水溶液に触れた時は、接触時に 0.3 だった摩擦係数が 1~10 秒後には約 0.07 に減少した。このような摩擦係数の増減の程度は、増粘剤の濃度の増加とともに大きくなった。興味深いことに、高速カメラの映像には指の動きは観察されなかったことから、指は無意識のうちにごく小さな運動を繰り返しており、この時に皮膚表面で発生するマイクロスリップの大きさに基づいて粘度の変化をぬるぬる感として検知、触感の水との類似性の判断基準としていることが示唆された。

### 文 献

- 1) Nonomura, Y. *et al.*, *Colloids Surf. B*, **69**, 264-267, 2009.
- 2) Nonomura, Y. *et al.*, *Colloids Surf. B*, **73**, 80-83, 2009.
- 3) Nonomura, Y. *et al.*, *J. R. Soc. Interface*, **9**, 1216-1223, 2012.
- 4) 齊藤ら, 計測自動制御学会論文集, **50**, 2-8, 2014.

## シヨ糖ステアリン酸エステルが形成する一時的ネットワーク構造のレオロジー

金田 勇\*, 高橋沙央里

酪農大院食品栄養 [〒069-8501 北海道江別市文京台緑町 582]

\* kaneda-i@rakuno.ac.jp

### 1. 緒言

シヨ糖脂肪酸エステルは親水部のシヨ糖の水酸基に脂肪酸をエステル結合させた化合物であり安全性および環境親和性が高く, 食品用乳化剤としてのみならず様々な分野で応用されている。我々はステアリン酸を脂肪酸とした HLB 値が高い親水性のシヨ糖ステアリン酸エステルの水溶液が, ある温度領域で急激に増粘する現象を見出したのでこの乳化剤の水溶液物性を詳細に検討した。

### 2. 実験方法

シヨ糖ステアリン酸エステルとして RYOTO シュガーエステル S-1670 (三菱化学フーズ) を精製せずにそのまま用いた。サンプル水溶液は S-1670 を蒸留水に分散させ, 70°C 程度に加熱し完全に溶解させた後に実験に供した。レオロジー測定は ARES (TA インストルメント) にクエットタイプの治具を装着して行った。小角光散乱測定は自作の装置で行った。

### 3. 実験結果

3-1 S-1670 水溶液の相図: S-1670 1~8wt% の水溶液の外観を 20~70°C の範囲で観察した。いずれの濃度のサンプルも 48°C 付近を境に急激に外観が変化した。すなわち低温側では半透明あるいは白濁状態のものが急激に透明に変化した。この際に粘度も急激に上昇した。

3-2 小角光散乱: 4wt% の S-1670 水溶液の散乱

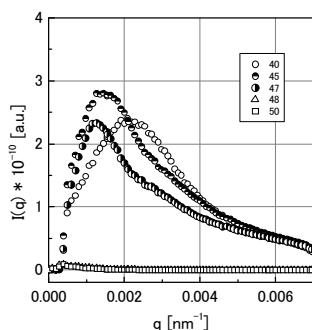


Fig.1 Scattering profiles of S-1670 aq. sol.

急激に散乱強度が低下した。

3-3 動的弾性率: 4wt% の S-1670 水溶液の動的弾性率の周波数依存性を 40~50°C の範囲で測定し

た。48°C (fig. 2-c) および 50°C (fig. 2-d) では bimodal の Maxwell model で解析可能であった。

線形粘弾性パラメータと濃度の関係を調べるために濃度範囲 3~8wt% のサンプルの動的弾性率の周波数依存性を 48°C で測定し, その結果

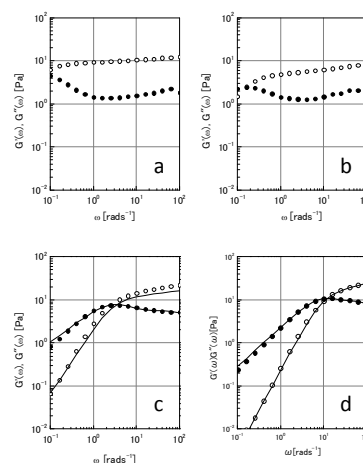


Fig.2 Dynamic modulus of 4wt% S-1670 aq. sol. a: 40°C, b: 45°C, c: 48°C and d: 50°C

を Maxwell model で解析して平衡弾性率( $G_0$ )および最長緩和時間( $\tau$ )を求めた。 $G_0$ は濃度の 1.8 乗にスケールすることが分かった。一方 $\tau$ の濃度依存性は見られなかった。

### 4. 考察

相図および小角光散乱測定の結果から S-1670 が水中で形成する分子会合体の形態は 48°C 付近で急激に変化することが明らかになった。また動的弾性率の周波数分散が Maxwell タイプの緩和を示したことから, S-1670 の分子会合体は比較的サイズの大きい離散的な分子会合体から転移温度でひも状の分子会合体に変化したと考えられる。48°C で測定された  $G_0$  の濃度依存性の結果からも, この系で観察された弾性はひも状会合体の絡み合いであることを示唆している。

### 5. 結言

温度という物理的刺激によりその分子会合体の形態を急激に変化させるこの系は様々な応用の可能性を秘めている。例えばレトルト食品を考えてみれば, 製造時に室温付近では低粘度なので充填作業が容易であるが, 使用時に加熱することで増粘させるということが可能になるであろう。また食品以外では水系のパイプラインの抵抗減衰剤としての応用が考えられる。

## 相分離したアガロースゲルのフリクション

山下泰弘, 柳澤実穂, ○嶋田昌之

九州大学大学院理学研究院 物理学部門 [〒812-8581 福岡市東区箱崎 6- 10- 1]

### 1. 緒言

ゲルの力学物性を記述するマスター方程式としては THB 理論が有名である 1). この理論において, ゲルは粘性流体中で協動的な熱運動をしている高分子網目とみなされる. このようなゲルの粘弾性挙動は以下の関係式で記述される.

$$D_c = E_L f$$

ここで,  $D_c$ ,  $E_L$ ,  $f$  はそれぞれ, ゲルの協同拡散定数, 高分子網目のみの縦弾性率, 高分子網目と溶媒の間の摩擦係数 (以後, ゲルの摩擦と略する) を表す. 従来, ゲルの弾性的性質は数多くの研究がなされているのに対して, ゲルの摩擦に関する定量的な研究はほとんどなされていない状況にある. ここでは, アガロースゲルの摩擦と相分離との関係について研究を行ったので報告する.

### 2. 実験方法

試料には精製度の高いアガロースを用いた (Agarose, Type IV: Special High EEO, Sigma-Aldrich, Bach#: 043K1302). 試料はそのまま実験に用いた. 液体クロマトグラフィー法により決定された分子量は 29 万である.

本研究では, 90°C のアガロース水溶液をゲル化温度以下の様々な温度にクエンチして得られるゲルの摩擦を従来報告されている方法に従って測定した 2). これと並行して, 同様の条件下で調製したゲルの小角光散乱パターンを解析し, ゲルの高分子網目に凍結されたスピノダル分解の密度揺らぎの相関長を決定した 3).

### 3. 実験結果

第 1 図には得られたゲルの摩擦係数の濃度依存性を示した. 摩擦係数の大きさは, これまでに知られている均一なアクリルアミドゲルのものより二桁ほど小さいことがわかった. また摩擦係数はゲルの濃度の増加とともに増加することもわかる.

### 4. 考察

アガロース水溶液においては相分離とゲル化が競合することが明らかにされている 3). 特に, アガロースの純度が高い場合には, ゲル化ラインと相分離ラインが極めて接近しており, ゲル化と相分離, 両者の速度の兼ね合いによってゲルの相関

長は大きな影響を受ける. ゲルの摩擦はゲルの相関長と

$$f = C\eta/\xi^2$$

なる関係があると考えられる. ここで  $\eta$  と  $\xi$  はそれぞれ溶媒の粘性率とゲルの相関長を表し,  $C$  は定数である. ここで得られたゲルの摩擦を上式によって解析した結果について報告する.

### 文 献

- 1) Tanaka, T., Hocker, L.O., Benedek, G.B., Spectrum of light scattered from a viscoelastic gel. *J. Chem. Phys.*, **59**, 5151-5159, 1973.
- 2) Tokita, M., Structure and frictional properties of colloid gel. *Polymers*, **6**, 651-666, 2014.
- 3) Morita, T., Narita, T., Mukai, S., Yanagisawa, M., and Tokita, M., Phase behaviors of agarose gel. *AIP Advances*, **3**, 042128-1-042128-13, 2013.

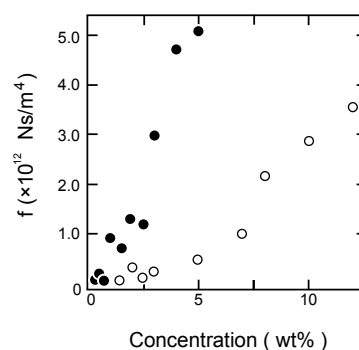


図 1: アガロースゲルの摩擦係数の濃度依存性. クエンチ温度は, ○; 38°C, ●; 30°C.

## 吸水条件の異なるパスタの水分分布と食感

小川剛伸, ○安達修二

京都大学大学院農学研究科 [〒606-8502 京都市左京区北白川追分町]

### 1. 緒言

食感は、味とともに、食品にとって大切な要素である。乾燥パスタは、アルデンテと呼ばれる中心に髪の毛 1 本分の芯が残る状態に茹でた（吸水させた）ときの食感が最高とされる。吸水時の温度や塩濃度等の条件により食感が大きく異なることは経験的に知られているが、これらの吸水条件の違いにより食感が異なる理由については不明である。演者らは、食品内部の水分分布を、従来測定できなかった低含水率まで高精度に測定できる新たな方法を開発した<sup>1)</sup>。本研究では、新たに開発した測定法を用いて、種々の条件で吸水したパスタの水分分布を測定するとともに、食感を破断応力および破断歪率で定量化し、水分分布と食感の関係を明らかにする。

### 2. 実験方法

乾燥パスタの吸水時の温度（60～100℃）と塩（NaCl）濃度（0～2.0 mol/L）を変えて、平均含水率が 1.70 kg-H<sub>2</sub>O/kg-d.m.（100℃で茹でたときアルデンテになる含水率）になるように吸水させたのち、水分分布<sup>1)</sup>および破断応力と破断歪率をそれぞれデジタルカメラとクリープメータ（RE-33005S, 山電, 東京）を用いて測定した。

### 3. 結果および考察

高温で吸水させると、デンプンの糊化および崩壊度合に応じて水の移動に対する駆動力が増大するため、水分分布の中心部に低含水率領域ができることが示された。一方、NaCl 濃度は水分分布に影響を及ぼさなかった（図 1）。また、高温で吸

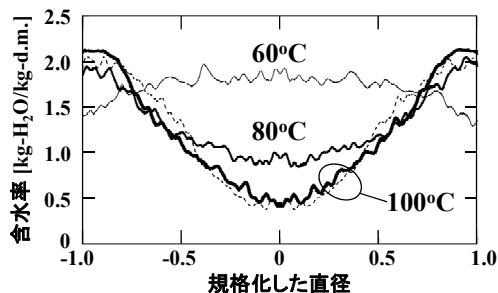


図 1 乾燥パスタをアルデンテに茹でたときの水分分布。破線は 2.0 mol/L NaCl 水溶液で、他はイオン交換水で吸水。図中の数字は、吸水時の温度を示す。

水させると破断応力のみが増大し、NaCl 濃度が高くなると破断歪率のみが低下した（図 2）。NaCl 濃度が濃くなると、グルテンの粘着性が低下することが知られており、脆い構造となる。以上より、破断応力および破断歪率には、水分分布の中心部のできる低含水率領域およびグルテンの骨格構造の脆弱化がそれぞれ独立に影響を及ぼすことを明らかにした。

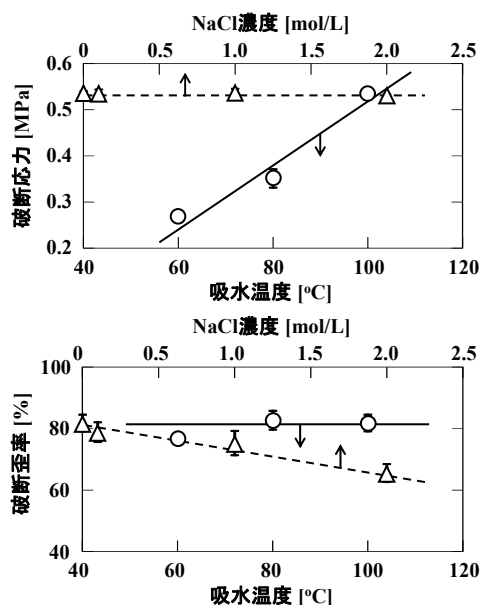


図 2 吸水温度および NaCl 濃度が（上図）破断応力と（下図）破断歪率に及ぼす影響。

### 4. 結言

吸水させたパスタの圧縮時の応力は水分分布に影響され、歪率は材料特性に支配されて、喫食時のパスタの食感を制御していることを明らかにした。これらの知見より、これまで経験的に知られていた吸水条件が食感に及ぼす影響を合理的に説明できた。

### 謝 辞

本研究は、「京都大学・日清製粉グループ 穀物科学コンソーシアム」の一部として実施した。

### 文 献

- Ogawa, T. and Adachi, S.: Measurement of moisture profiles in pasta during rehydration based on image processing. Food Bioprocess Technol., 7, 1465-1471 (2014).

## 動的光散乱を用いた粘弾性測定法

森泉龍太, 四方俊幸

東京農工大学 大学院農学研究院 [〒183-8509 東京都府中市幸町 3-5-8]

**1. 緒言** 高分子溶液などの非ニュートン性流体は, エネルギー損失に関わる粘性だけでなく, エネルギー貯蔵に関わる弾性も併せ持つ粘弾性体である. 粘弾性体の力学的性質は, 試料に応力を印加することで生じるひずみを測定するか, 逆にひずみを印加して応力を測定する力学的手法で評価するのが通常である. しかし, 低濃度の試料溶液では通常の力学的手法では正確な粘弾性測定が困難なほどに粘弾性が低いケースにしばしば遭遇する. その様な低い粘弾性を有する試料における正確な粘弾性測定法の確立は, 液状物質の物理化学を精密化する上で重要である. 本研究では, 力学的手法では測定ができない程低い粘弾性をもつ希薄な液状物質の粘弾性挙動を, 散乱光の強度揺らぎを観測する動的光散乱法(DLS)を用いて広い周波数域で観測する手法を確立することを目指した.

**2. 解析手法** 時間  $t$  の関数として得られる懸濁液からの散乱光強度の自己相関関数  $g_2(t)$  は, 懸濁粒子の Brown 運動で生じる散乱光電場  $E(t)$  の自己相関関数  $g_1(t)$  と(1)式によって関係付けられる.

$$g_2(t) = 1 + \beta |g_1(t)|^2 \quad (1)$$

ここで,  $\beta$  は測定装置に依存する定数である. 一方,  $E(t)$  の自己相関関数  $g_1(t)$  は, 散乱角  $\theta$  と入射光の波長  $\lambda$  で決まる散乱ベクトル  $q$  と懸濁粒子の拡散係数  $D$  を用いると(2)式の様に表示される. Stokes-Einstein の法則によると, 粒子の拡散係数  $D$  は(3)式のように Boltzmann 定数  $k_B$  と絶対温度  $T$  を介して, 粒子径  $d$  と媒体の粘性率  $\eta$  に関係付けられる.

$$g_1(t) = \exp(-q^2 Dt) \quad (2) \quad D = k_B T (6\pi d \eta)^{-1} \quad (3)$$

この研究では, 粒径  $d$  が既知, 粘性率  $\eta$  は不明として, 試料懸濁液の  $g_2(t)$  が有する  $t$  依存性を媒体粘性率の時間依存性  $\eta(t)$  に変換した. 得られた  $\eta(t)$  をフーリエ変換して, 周波数  $\omega$  の関数である複素粘性率  $\eta^*(\omega) (= \eta' - i\eta'')$  を求めた. さらに, 複素弾性率  $G^*(\omega) (= G' + iG'' = i\omega \eta^*(\omega))$  も算出した.

**3. 実験** 分子量  $1.2 \times 10^7$  のポリアクリルアミドの水溶液(PA/W)に, 粒径  $d$  が 0.1 と 1.1  $\mu\text{m}$  の球形ポリスチレン微粒子(PL0.1 と PL1.1)をプローブ粒子として分散させた懸濁液試料を調整した. 懸濁液試料にレーザー光を照射し, 散乱光の自己相関関数  $g_2(t)$  を 25  $^\circ\text{C}$  で測定し, 得られた  $g_2(t)$  から  $\eta^*(\omega)$  と  $G^*(\omega)$  を算出した.

**4. 結果と考察** Fig.1 は, PA/W(0.01 wt%) の  $G'$  と  $G''$  を周波数  $\omega$  に対して両対数プロットしたものである. 異なる粒径  $d$  をもつ粒子を用いた実験結果が良く一致する. 純粘性体には存在しない貯蔵弾性率  $G'$  が観測されたので, この PA/W は粘弾性体であると結論付けられる. Fig.1 の点線は純水の 25  $^\circ\text{C}$  における粘性率  $\eta_w$  (0.9 mPas) から見積もられた損失弾性率  $G'' (= \omega \eta_w)$  を示す. 水と変わらない低粘性で, 粘弾性をもたないように見える PA/W(0.01 wt%) でも, DLS に基づく粘弾性測定法を用いれば, 高い周波数域まで粘弾性挙動を測定できることが分かる.

DLS を用いて 10 倍濃厚な PA/W(0.1 wt%) から得られた  $|\eta^*(\omega)|$  の  $\omega$  依存性と, 通常のリオメータを用いて測定された定常粘性率  $\eta(\dot{\gamma})$  の  $\dot{\gamma}$  依存性を重ねて Fig.2 に示す. 測定された  $\omega$  と  $\dot{\gamma}$  が重なる領域では,  $|\eta^*(\omega)|$  と  $\eta(\dot{\gamma})$  が良い一致を示している. 高分子溶液では Cox-Mertz 則が成立することを考慮すると, DLS を用いた粘弾性測定の結果は正確であると結論付けられる.

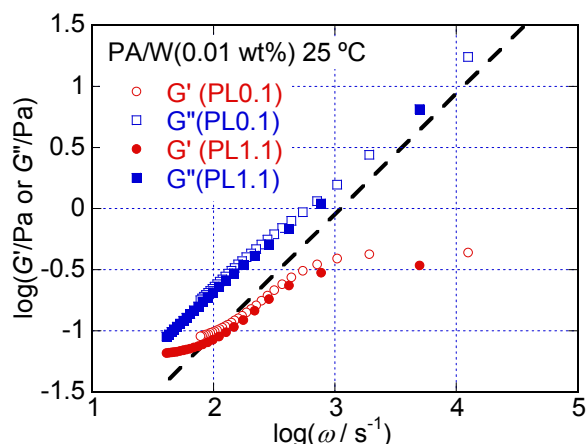


Fig.1 Dependencies of  $G'$  and  $G''$  on  $\omega$  for PA/W(0.01 wt%) at 25  $^\circ\text{C}$  obtained by using DLS techniques.

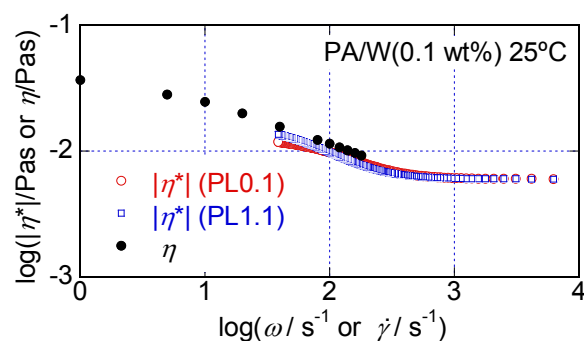


Fig.2 Dependencies of  $|\eta^*(\omega)|$  and  $\eta(\dot{\gamma})$  on  $\omega$  and  $\dot{\gamma}$  for PA/W(0.1 wt%) at 25  $^\circ\text{C}$ .

## モデル舌を用いた摂食様式の評価

磯野舞<sup>1</sup>, 石原清香<sup>1</sup>, 中尾理美<sup>1</sup>, 中馬誠<sup>1</sup>, 船見孝博<sup>1</sup>, 堀一浩<sup>2</sup>, 小野高裕<sup>3</sup>, 神山かおる<sup>4</sup>, 西成勝好<sup>5</sup>

<sup>1</sup>三栄源エフ・エフ・アイ(株) [〒561-8588 大阪府豊中市三和町 1-1-11]

<sup>2</sup>新潟大学大学院 医歯学総合研究科

<sup>3</sup>大阪大学大学院 歯学研究科

<sup>4</sup>独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構 食品総合研究所

<sup>5</sup>湖北工業大学 食品科学・薬学科

### 1. 緒言

近年, 高齢者の摂食能力に配慮した食品の需要が増しており, 舌と硬口蓋での押し潰しを想定した食品のテクスチャー評価系が必要とされている。我々は, シリコンゴム製モデル舌と一般的な一軸圧縮試験機を組み合わせた評価系を開発し, モデル舌上での試料の破断挙動からヒトの摂食様式(舌と硬口蓋での押し潰しまたは歯による咀嚼)を推定できることを明らかにした。<sup>1)</sup> 本研究では, 破断荷重および破断歪みが段階的に異なる食品多糖類ゲルを用い, 広範囲のテクスチャーにおいて本評価系の適用性を検討した。また, テクスチャーによるヒトの摂食様式の変化について考察した。

### 2. 実験方法

直径 20 mm もしくは 58 mm, 高さ 10 mm のシリコンゴム製円柱をモデル舌とした。モデル舌のみかけ弾性率(歪み 20 %における応力/歪みから算出)は 18.3 kPa, 54.9 kPa, 113.0 kPa であった。モデル舌上に, 直径 20 mm, 高さ 10 mm の円柱状の測定試料(食品ゲル)を重ね, 直径 50 mm のアルミニウム製プローブによって, これらを一体的に鉛直方向に 10 mm 圧縮したときの変形, 破断挙動を観察した。測定試料として高アシル含量型および脱アシル型ゼランガムの混合により, 破断荷重および破断歪みを段階的に調節したゲルを用いた。官能評価の被験者は, 歯列や口腔に疾患のない 25~41 歳(平均 31.7 歳)の健常成人 10 名とした。被験者に上記の測定試料を自由摂食させた後, 最初にゲルを破壊するとき舌と硬口蓋で押し潰したか歯で噛んだかを聞き取り, 舌と硬口蓋で押し潰した被験者の割合を求めた。なお, この官能評価は倫理規定に準拠して行われた。

### 3. 実験結果

官能評価から, 破断歪みが約 45 %で破断荷重 25 N 以下, あるいは破断歪みが 55~65 %で破断荷重

20 N 以下の測定試料は, 60 %以上の被験者が舌と硬口蓋で押し潰すと回答した。舌と硬口蓋で押し潰した被験者の割合は, みかけ弾性率が 54.9 kPa のモデル舌(直径 20 mm)上で測定試料を速度 10 mm/s で圧縮した際の破断確率とほぼ一致した。一方, 破断歪みが 70 %以上の試料の場合, ①大サイズ(直径 58 mm)のモデル舌を用いる, ②みかけ弾性率が大きい(113.0 kPa)モデル舌を用いる, ③圧縮速度を 5 mm/s にする, のいずれかの条件下で圧縮した場合の破断確率が官能評価において舌と硬口蓋の押し潰しを選択した被験者の割合とほぼ一致した。

### 4. 考察

ヒトの摂食様式はモデル舌上でのゲルの破断挙動と対応することを確認した。破断歪みが 70 %以上の測定試料では, それ以下の破断歪みを有する測定試料に比べて, モデル舌のサイズを大きくする, モデル舌のみかけ弾性率を大きくする, あるいは圧縮速度を遅くすることで両者の対応が改善する。このことから, ヒトは変形性の大きいゲル状食品を舌と硬口蓋で押し潰す際, ゲル状食品と舌との接触面積を大きくする, 舌を硬くする, もしくは比較的遅い速度で押し潰すことが示唆された。

### 5. 結言

本評価系は条件を最適化することにより広範囲のテクスチャーを有する食品の摂食様式を推定できることが示唆された。

### 文 献

- 1) Ishihara, S., Nakao, S., Nakauma, M., Funami, T., Hori, K., Ono, T., Kohyama, K. and Nishinari, K.: Compression test of food gels on artificial tongue and its comparison with human test. *J. Texture Stud.*, **44**, 104-114, 2013.

## じゃがいもでん粉糊液のレオロジー特性に及ぼす調味料添加の影響

○佐藤恵美子\*, 板垣夏美\*, 楨靖幸\*\*, 土橋敏明\*\*

\*新潟県立大学健康栄養学科「〒950-8680 新潟市東区海老ヶ瀬 471」

\*\*群馬大学理工学研究院

### 1. 緒言

じゃがいもでん粉は、透明度と粘度が高く安価であり、様々な調理・加工に利用される。でん粉は液体にとろみをつけてなめらかな口当たりを付与し、熱の対流を妨げ保温性を高める。本研究では、1~3% でん粉糊液に及ぼすみかけの粘度の影響、温度依存性、時間依存性、及び 1% でん粉糊液に及ぼす調味料添加の影響について温度および時間依存性の点から検討し、さらに官能検査を行った。

### 2. 実験方法

じゃがいもでん粉はホクレン農業協同組合連合会製を用いた。①1~3% でん粉濃度と糊液の粘度②1% でん粉糊液に対する各種調味料の添加(食塩、醤油、シヨ糖の濃度は全体量の 1%) の影響について検討した。①②共に水とでん粉を電熱器 600W 上で攪拌機(250rpm)を用いて、15 分間加熱攪拌した。調製後 500ml ビーカーに移し、恒温槽中で 25℃または 50℃ に調整後、TVB-15 型回転粘度計(東機産業)及びレオメーター(Rheologia, エルクエスト社製)にて、みかけの粘性率及び動的粘弾性測定を行った。試料は恒温器にて 8℃、15 時間保存し、25℃にて調整後の粘度の経時変化を測定した。官能検査(順位法)では、調味料無添加と調味料添加糊液の粘度に及ぼす温度(25℃、50℃)と時間依存性(調製直後と翌日の 2 日間)の影響、粘ちょう性、口当たり、嗜好性について検討した。

### 3. 実験結果

①1% でん粉糊液は擬塑性流動を示し、2%、3% 糊液は降伏応力をもつ塑性流動を示した。すべての試料のみかけの粘性率は 25℃の試料が 50℃よりも高かった。時間依存性については 25℃の時、1%、2%

でん粉糊液の粘性率は日数の経過に伴い低下したが、3% 糊液においては増加し、レオペクシーを示した。3% でん粉糊液の粘性率は 50℃の方が 25℃よりも増加した。②食塩または醤油添加でん粉糊液は、調味料無添加のものより粘性率が低下したが、シヨ糖添加のものでは増加した。すべての試料が、食塩または醤油添加により、日数の経過に伴って粘性率は低下した。糊液の動的粘弾性測定においても線形粘弾性  $G'$ 、 $G''$  は、周波数の増加に伴い高い値を示したが、温度の増加に伴って  $G'$ 、 $G''$  共に低下した。シヨ糖添加では回転粘度計の測定では変化がみられなかったが、定常流粘度においてはわずかに減少し醤油添加では著しく減少した。官能検査結果から、50℃の でん粉糊液が 25℃よりもなめらかで嗜好性が高く評価された。

### 4. 考察

でん粉の濃度や糊液の温度が高いと老化しにくいと考えられ、老化抑制効果が示唆された。すべての試料の  $G'$ 、 $G''$  は共に周波数の増加に伴って高くなり、温度が増加するにしたがって減少した。でん粉糊液に対する食塩、醤油添加は、糊液のみかけの粘性率を低下させるが、シヨ糖添加の大きな差がみられなかった。醤油添加では  $PH$  が酸性であることより、でん粉の分解により低下したと考えられる。

### 5. 結言

サイコロロジーの視点から、人の知覚は粘性率の差の識別が弾性率のそれよりも鈍いことが認められており、本実験においても、機器測定のみかけの粘性率と官能評価の粘ちょう性との相関性は低い傾向が認められ、唾液アミラーゼによるでん粉の分解への影響が示唆された。

## 皮膚表面における塗布製剤のレオロジーと触感

秋山庸子\*, 森達也\*, 西嶋茂宏\*

\* 大阪大学大学院工学研究科 [〒565-0871 大阪府吹田市山田丘 2-1]

### 1. 緒言

化粧品や外用薬などの塗布製剤の触感は、その効果とともに重要な因子である。触感を解析する主な手法の一つとして、官能評価項目とレオロジー特性などの物理特性を対象とした統計学的な解析が挙げられるが、統計学的手法のみでは説明できない事象も存在する。例えば、「しっとり感」と「べたつき」は、著者らのこれまででの研究により、統計学的には類似した性質を持つことが分かっているが、前者は快、後者は不快をそれぞれ示すという点で大きく異なる。そこで、本研究では塗布製剤の触感設計を最終的な目標とし、統計学的には類似した性質を持つ上記 2 つの触感の物理現象の違いを明らかにすることを目的とした。

### 2. 実験方法

市販の 6 種の化粧水サンプルの塗布時の「さっぱり感」、「しっとり感」について、SD (Semantic Differential 法) を用いて 5 段階で官能評価を行った。評価は 20 代から 30 代の男女被験者 5 名により行った。なお本実験は大阪大学倫理委員会の承認を得て行った。

一方、化粧水の物理特性としては、接触角測定と付着性測定を行った。まず接触角測定は、接触角が皮膚と同等の値を示したテフロン板に対して上記化粧水サンプルを滴下し、そのときの接触角を測定した。また化粧水の付着性測定については、卓上万能試験機を用い、直径 40 mm の圧子および基板に人工皮革を貼付し、基板上に 200  $\mu$ L のサンプルを滴下して化粧水塗布時の触圧の実測値と同等の圧力 (約 0.5 N/cm<sup>2</sup>) 下で、1 mm/sec の速度で円盤を引き上げたときの反力を測定し、距離に対する付着力の積分値を求めた。

### 3. 結果と考察

塗布時の被験者の手の動きの特徴から、「しっとり感」は、指を塗布対象に対して平行に動かしたときの皮膚に対するぬれ性であると考えた。皮膚に対する化粧水のぬれ性は、化粧水サンプルの皮膚上での接触角と関わっていると考えられる。そこで接触角の測定を行った。

接触角としっとり感の官能値の関係を図 1 に示す。接触角がおよそ 57° までは接触角の増加とともにしっとり感は減少したが、それ以上では増加する傾向を示した。接触角 57° までは、接触角が小さいほど基板のサンプルによるぬれ性が大きく、比較的小さいせん断力でサンプルが広がるためにしっとり感を引き起こすと考えられる。一方で接触角 57° 以上では、表面間で液体が基板をぬらすことなく上滑りを生じるために、疑似的にぬれ性が高いと感じるのではないかと考えられる。

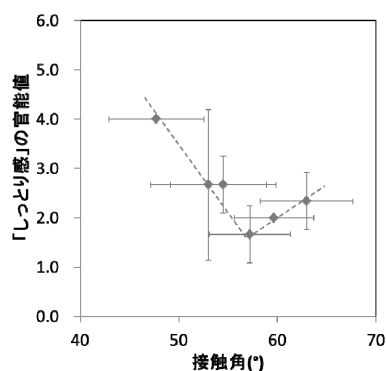


図 1 接触角と「しっとり感」の官能値の関係

一方「べたつき」は、指を塗布対象に対して垂直に押し付け、離すときの付着力であると考え、人工皮革に化粧水を塗布した場合の付着力を測定した。その結果、付着力の距離による積分値と「べたつき」の官能値は正の高い相関を示した。

### 4. 結言

類似した触感にもかかわらず快と不快を示す、「しっとり感」と「べたつき」のそれぞれの物理的な現象を検討した結果、前者は基板に対するぬれ性の指標である接触角により系統的に変化し、後者は付着力と比較的高い相関を示したことにより、統計学的には類似した性質を持つ異なる物理現象である可能性が示された。今後は、快と不快を示す触感について、さらに汎用的な解釈や材料設計を行うための検討を行っていく予定である。

### 謝 辞

本研究の一部は科学研究費補助金 (課題番号 24700207) の助成を受けたものです。

## 鶏肉の死後変化に伴う筋原線維の形態と局所的物性変化

岩崎智仁, 山本克博, 中村邦男

酪農学園大学 食と健康学類 [〒069-8501 江別市文京台緑町 582]

### 1. 緒言

我々が普段食している肉は, 家畜をと殺してから時間が経過した骨格筋であり, 適度なテクスチャーを持つ. 筋肉を構成する筋原線維と結合組織の固さの和が食肉としてのテクスチャーとなるが, 死後の結合組織の経時変化は極めて少ない. 一方, 骨格筋を構成するタンパク質の中で筋原線維タンパク質は 60%と最も高いために, 筋原線維の物性が筋肉の固さに影響すると考えられるが明確ではない. そこで, 本研究では, と殺後からの時間経過に伴う筋原線維の固さの変化を調べ, 筋肉組織とそれを構成する筋原線維の物性的な関係についての知見を得ることを目的とした.

### 2. 実験方法

と殺後 0-96 時間目の鶏浅胸筋から, 定法を用いて筋原線維を得た. 原子間力顕微鏡による形態観察は, SPA300HV (SII Nanotechnology Inc.) を使用して行った. すなわち, 筋原線維をシラン処理したスライドガラス上に滴下して, 2.5%グルタルアルデヒドで固定して PBS 中で観察した. 次に, 未固定の筋原線維試料の観察終了後に目的部位におけるフォースカーブ測定を行い, 次式を用いて弾性率を算出した. この時,  $Z-Z_0$  はカンチレバーの押し込み量 (m),  $F$  は荷重 (N),  $k$  はカンチレバーのバネ定数 (0.08 N/m, 0.38 N/m),  $E$  はサンプルの弾性率 (Pa),  $\theta$  はカンチレバー先端の開き角の 2 分の 1 の  $45^\circ$ . そして, ポアソン比  $\nu$  は 0.5 とした.

$$Z - Z_0 = \frac{F}{k} + \sqrt{\frac{F}{\frac{2}{\pi} \frac{E}{(1-\nu^2)} \tan \theta}}$$

一方, 死後一定時間経過した鶏浅胸筋を筋線維の方向に沿って,  $1 \times 1 \times 4$  cm に切り出し,  $70^\circ\text{C}$  で 20 分間加熱後,  $4^\circ\text{C}$  で冷却した. 試料温度を室温に戻してから, レオメーター (山電製, RE-33055) を用いブレード進入速度を 1mm/sec とし, 筋線維に対して垂直方向での剪断力の測定を行った.

### 3. 実験結果

死後 6 時間目の筋原線維は, サルコメア長が約  $1.68 \mu\text{m}$  と短くなり, 死後硬直を引き起こした収縮状態にあった. 死後 12 時間目ではサルコメア長が約  $1.79 \mu\text{m}$  であり, 解硬期にあると判断された. 死後 24, 48 および 96 時間目のサルコメア長はそれぞれ  $1.83 \mu\text{m}$ ,  $1.90 \mu\text{m}$  および  $1.96 \mu\text{m}$  であった.

次に筋原線維自体の固さの変化を確認するために, その局所的な部位の弾性率を測定した. と殺直後では Z 線が  $101.6 \pm 35.6$  kPa, I 帯が  $61.3 \pm 21.5$  kPa, A 帯が  $66.5 \pm 18.5$  kPa を示し, Z 線が最も高い弾性率を示した. 死後 6 時間目では Z 線が  $166.8 \pm 59$  kPa, I 帯が  $207.3 \pm 92.8$  kPa, A 帯が  $148.0 \pm 67.2$  kPa といずれも高い値を示した. 死後 12 時間以降では, いずれの部位も時間の経過に伴って弾性率が低下した. 肉自体の固さの指標である剪断力も同様の挙動であった.

内在性のプロテアーゼの活性化に関わる  $\text{Ca}^{2+}$  自体が筋原線維構成タンパク質の様々な生化学的变化を引き起こし筋原組織の脆弱化に影響しているとの報告がある. そこで, 筋原線維を非酵素的に  $0.1 \text{ mM CaCl}_2$  で 0-96 時間処理した場合の弾性率の変化を測定した. と殺 96 時間目までに A, I 帯の弾性率に著しい差異は観察されなかった. しかし, Z 線部位の弾性率は処理時間の経過に伴い低下し, 96 時間処理した場合には, と殺直後の  $1/2$  程度の値を示した.

### 4. 考察

死後の筋肉中では, カルパインやカテプシン等の様々なプロテアーゼが筋構成タンパク質を基質として作用することが報告されている. したがって, これらプロテアーゼが筋原線維に作用することで, 筋原線維の形態変化とともに, 筋原線維の局所的な弾性率が変化すると考えられた. しかしながら, 筋原線維は酵素的な影響だけで物性が変化するのではなく, 筋原線維構造自体の変化と  $\text{Ca}^{2+}$  による Z 線の脆弱化によって, 弾性率が低下している可能性が考えられた.

### 5. 結言

本研究では, 筋肉という複雑な構造体の固さが, その主要構成物である筋原線維の局所的な物性変化に依存していることが明示された.

## ゼラチン・寒天混合ゲルのレオロジーにおける pH 依存性

鳥羽一史, ◯榎 靖幸, 外山吉治, 土橋敏明

群馬大学 大学院理工学府 [〒376-8515 群馬県桐生市天神町 1-5-1]

## 1. 緒言

ゼラチンと寒天はそれぞれ食品のゲル化剤として用いられており, それぞれ異なった特徴のゲルを生成する. また, ゼラチンと寒天を混合することにより, 両者の長所を生かし, 短所を補ったゲルが得られる<sup>1)</sup>. ゼラチン・寒天混合ゲルのレオロジーに関しては既に多くの研究があるが<sup>2)4)</sup>, pH 依存性については詳しく調べられていない. 本研究では, ゼラチン・寒天混合ゲルのレオロジーにおける pH 依存性を調べた.

## 2. 実験方法

試料として, コハク化された牛骨由来アルカリ処理ゼラチン (G-0623K, 新田ゼラチン), 寒天 (Bacto Agar, BD) を用いた. ゼラチン試料の等電点は 4.2 である. 溶媒として, pH の異なる 3 種類の Good 緩衝液 (MES, HEPES, CHES) を用いた. 各緩衝液の pH はそれぞれ 3.5, 7.1, 10.1 である.

混合ゲルの調製は以下のように行った. 寒天とゼラチンの終濃度がそれぞれ 1.5 %, 8.0 % となるように, ゼラチン, 寒天, 溶媒を秤量し, 1 時間室温 (25°C) で膨潤させた後, 沸騰した水浴中で 10 分間攪拌し, 完全に溶解させた. このゼラチン・寒天混合溶液を急冷し, 冷蔵庫 (4°C) で 2 時間静置することで混合ゲルとしたものを, 測定用サンプルとして用いた.

ゲルの弾性率測定は, 押し込み法により行った. 測定には, 直径 0.98 mm の円柱状のステンレス製プローブを取り付けたロードセル (LC4001-G120, A&D) を組み込んだ自作の装置を用いた. ゲルの弾性率  $E$  は Hertz モデルによる次式

$$E = (1-\nu^2)f/(2a\delta) \quad (1)$$

により求めた. ここで,  $\nu, f, a, \delta$  はそれぞれ, ポアソン比, ロードセルにかかる力, プローブ半径, ゲル表面からの押し込み量である. 本研究では  $\nu = 0.5$  と仮定した. ゲルをプローブで 0.3 mm 素早く押し込んだ後, プローブにかかる力の経時変化を測定し, 式(1)を用いて緩和弾性率  $E(t)$  を求めた. 緩和弾性率を次式

$$E(t) = E_\infty + (E_0 - E_\infty) \exp[-(t/\tau)] \quad (2)$$

でフィッティングすることにより, ゲルの平衡弾性率  $E_\infty$  を求めた. 波長 500 nm におけるゲルの濁

度 (OD) は, 紫外可視分光光度計 (UVmini-1240, SHIMADZU) を用いて測定された. ゲルの物性測定はすべて室温 (25°C) で行った.

## 3. 結果と考察

ゼラチン・寒天混合ゲルの平衡弾性率  $E_\infty$  と濁度 (OD) の pH 依存性を Fig. 1 に示す. 混合ゲルの  $E_\infty$  は pH に依存し, pH 3.5 では高く, pH 7.1, 10.1 では低かった. これに対し, 比較のために測定した 1.5 % の寒天ゲルと 8.0 % のゼラチンゲルでは,  $E_\infty$  は pH にはほとんど依存せず,  $E_\infty$  の値は寒天ゲルでは約 25 kPa ゼラチンゲルでは約 12 kPa であった. 過去の研究では, ゼラチン・寒天混合ゲルでは, 混合により弾性率が減少することが報告されている<sup>2)4)</sup>. 本研究では, pH 7.1, 10.1 では同様の現象が観察されたが, pH 3.5 では混合により弾性率が増加する現象が見出された. 混合ゲルの OD は pH に依存し, pH 3.5 では高く, pH 7.1, 10.1 では低かった. これに対し, 1.5 % の寒天ゲルと 8.0 % のゼラチンゲルでは, OD は pH にはほとんど依存しなかった. 以上の結果は, 混合ゲルの  $E_\infty$  と OD の pH 依存性には相関があることを示している.

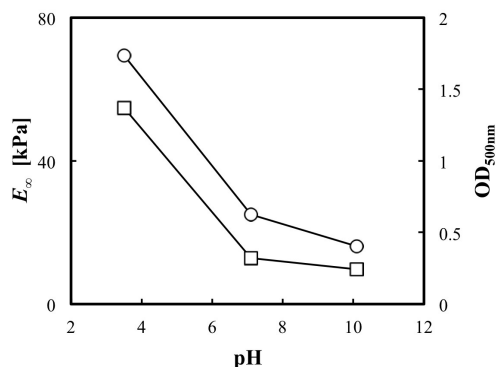


Fig. 1 Plots of equilibrium elastic modulus  $E_\infty$  (circles) and turbidity  $OD_{500nm}$  (squares) against pH for the mixed gel of gelatin and agar.

## 文 献

- 1) Fujii, K., Kajita, R. and Kurosawa, M.: J. Texture Stud., **31**, 273-286, 2000.
- 2) Watase, M. and Nishinari, K.: Rheol. Acta, **19**, 220-225, 1980.
- 3) Clark, A. H., Richardson, R. K., Ross-Murphy, S. B. and Stubbs, J. M.: Macromolecules, **16**, 1367-1374, 1983.
- 4) Shiinoki, Y. and Yano, T.: Food Hydrocolloids, **1**, 153-161, 1986.

## マイクロ粒子流動系の流体力学的輸送係数

斉藤弘樹\*, 原田周作\*\*

\* 北海道大学大学院 工学院 環境循環システム専攻 [〒060-8628 北海道札幌市北区北 13 条西 8 丁目]

\*\*北海道大学大学院 工学研究院 環境循環システム部門

### 1. 緒言

血液体外循環や人工臓器における流動プロセスでは流体力学的輸送係数が重要であり、体積率などの固相性状や懸濁物質間の相互作用の影響を明らかにすることが不可欠である。本研究では、懸濁物質を剛体粒子と見なし、流体中に剛体粒子が懸濁した分散系において多粒子間の相互作用に基づいた理論から流体力学的輸送係数を求め、体積率が及ぼす影響を調べた。

### 2. 理論解析手法

#### 2.1 流体力学的相互作用に基づく理論解析

粘性流に剛体粒子が懸濁した分散系において、 $N$  個の粒子を含む単位セルを用いた周期境界条件を適用すると、粒子  $i$  の表面における流体速度のモーメント  $V_i^{p+1}$  と粒子  $i$  が流体に与える力のモーメント  $F_i^{p+1}$  との関係は以下のように表される<sup>1)</sup>。

$$V_i^{p+1} = \sum_{j=1}^N \sum_{p'=0}^{\infty} G_{ij}^{p+1,p'+1} \circ F_j^{p'+1} \quad (1)$$

ここで、 $\circ$  はテンソル同士の完全縮約を表す。 $p$  や  $p'$  はモーメントの次数を表し、高次のモーメントまで考慮することで高精度な計算が実現する。本研究では粒子がランダムに配置された系を対象とし、等方的である。したがって式(1)の係数テンソル  $G_{ij}^{p+1,p'+1}$  から流体力学的輸送係数を算出することが可能となる。ここでは流体力学的輸送係数の1つである粘度を対象とし、多分散性を考慮して導いた。

**2.2 粘度の導出** 一様せん断流が作用している時、多分散性を考慮した粘度  $\eta$  は以下のように与えられる。

$$\frac{\eta}{\eta_0} = 1 + \frac{3}{4\pi\eta_0} \phi \sum_{i=1}^N a_i^3 \sum_{j=1}^N a_j \zeta_{ij}^{2s,2s} \quad (2)$$

ここで  $\phi$  は体積率、 $\eta_0$  は流体粘度、 $a_i$  は粒子  $i$  の半径である。 $\zeta_{ij}^{2s,2s}$  は式(1)の係数テンソル  $G_{ij}^{p+1,p'+1}$  の逆行列の一部である部分対称行列 (dipole-dipole friction tensor) の一成分である。

### 3. 結果および考察

式(2)で導かれた多分散系の粘度の理論式の妥当性を確認するために、 $N=54$ 、 $p=p'=1$  の条件における単分散系の粘度を体積率  $\phi=0.01 \sim 0.2$  の範囲で求めた。各体積率では粒子配置による誤差を減らすために 100 パターンの粒子配置における粘度の平均値を求めた。流体粘度  $\eta_0$  に対する単分散系の粘度  $\eta$  と体積率との関係を Fig.1 に示す。Fig.1

には van der Werff *et al.* による実験結果<sup>2)</sup> と以下の式で与えられる Einstein の粘度式<sup>3)</sup> も併せて示す。

$$\frac{\eta}{\eta_0} = 1 + \frac{5}{2} \phi \quad (3)$$

本手法で得られた粘度は  $\phi < 0.1$  で実験結果と良い一致を示すが、 $\phi > 0.1$  で実験結果と Einstein の粘度式の間中に位置することが確認できる。式(3)は粒子間相互作用を考慮せずに導かれたため、相互作用の影響が強くなる濃度の大きい系において実験値との相違が現れる。本手法では粒子間相互作用を考慮しているが、現状では  $p=p'=1$  までの低次のモーメントを考慮しているため、Fig.1 に示される結果が得られたと考えられる。したがって高次のモーメントまで考慮することで相互作用の影響を厳密に加えることができるため、濃度の大きい系においても実験値に一致すると考えられる。

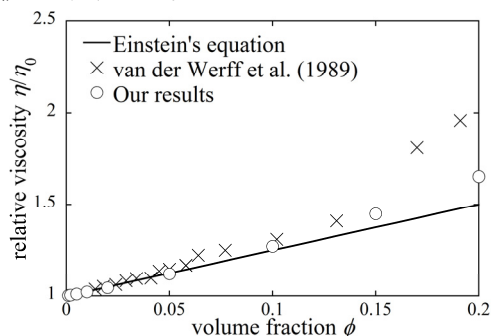


Fig.1 粒子体積率と単分散系の粘度との関係

### 4. 結言

粒子間相互作用に基づいた理論を用いて多分散性を考慮した分散系の粘度の理論式を導いた。本理論の妥当性を検証した結果、固相性状が血液体外循環などの流動プロセスに及ぼす影響を評価する上で有効な手法であることが明らかになった。

### 文 献

- 1) A. J. C. Ladd: Hydrodynamic transport coefficients of random dispersions of hard spheres, *J. Chem. Phys.*, **93**, 3484-3494, 1990
- 2) J. C. van der Werff and C. G. de Kruif: Hardsphere Colloidal Dispersions: The Scaling of Rheological Properties with Particle Size, Volume, and Shear Rate, *J. Rheol.*, **33**, 421-454, 1989
- 3) A. Einstein: Investigations on the Theory of the Brownian Movement, R. Furth, ed., Dover, New York, 1956

## 有限厚さを有する繊維層中の流体透過特性

大友 涼子\*, 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]

## 1. 緒言

繊維層中の透過流動は生体内の移動現象を理解する上で非常に重要となる。例えば、血管内皮の管腔表面を覆うグリコカリックス内の流れは、血液と周辺細胞間の物質移動に大きな影響を及ぼす。グリコカリックスは横方向だけでなく厚さ方向にも一定間隔の規則的な構造をしていることが明らかにされている<sup>1)</sup>が、その流動特性を調べる既往の研究では無限長の円柱が正方形や六角形の頂点の位置に規則的に配列した円柱の集合体として近似的にモデル化され、厚さ方向の影響が考慮されてこなかった。本研究では円柱の代わりに、有限個の球形粒子が厚さ方向にも規則的に並ぶ粒子層のモデルを用いた。流体の透過性(permeability)を理論計算によって求め、厚さ方向の構造および繊維層の有限厚さが透過特性に与える影響を調べた。

## 2. 繊維層のモデルと理論計算方法

Fig. 1 で示す通り、有限個の粒子を  $z$  方向に間隔  $lz$  で列状に並べ、それらを  $lx=ly$  となる正方形の頂点の位置に配置することで有限厚さ  $L$  を有する繊維層をモデル化した。Stokes 近似が成り立つ流れ場を仮定し、以下で示す Otomo and Harada<sup>2)</sup>と同様の手法により粒子層中の permeability の算出した。

多粒子の存在による流体力学的効果を考慮することが可能な Stokesian dynamics 法<sup>3)</sup>に基づき流動場の解析を行った。多重局展開の結果得られた流体速度  $\mathbf{u}$  と粒子-流体の相互作用力  $\mathbf{F}$  との関係は係数行列  $\mathbf{M}$  を用いて次のように表される。

$$\mathbf{u} = \mathbf{M} \cdot \mathbf{F} \quad (1)$$

ここで  $z$  方向の層厚を有限とするために、 $\mathbf{M}$  に対して Ewald の格子和をとり、2 方向( $x, y$  方向)のみに周期境界を適用した<sup>2,4)</sup>。permeability  $k$  は、Darcy の法則  $\mathbf{u}=(k\Delta P/\mu L)\mathbf{e}$  (ただし  $\mu$  は粘度、 $\Delta P/L$  は圧力勾配、 $\mathbf{e}$  は流れ方向の単位ベクトル)と、(1)式で表される  $\mathbf{u}$  と  $\mathbf{F}$  との関係から算出した。

## 3. 結果および考察

Fig. 2 に粒子層の厚さ  $L$  と permeability  $k$  との関係を示す。ただし permeability は、端部の存在しない無限系での計算結果  $k_{\text{inf}}$  に対する比で表した。本稿では粒子間隔( $lx=ly$ , および  $lz$ )が異なる 3 通りの結果を示す。Fig. 2 から、層が厚くなるにつれて  $k/k_{\text{inf}}$  は 1 に漸近しており、層が十分に厚い場合には透過性が無限系と等しくなることがわかった。一方、層が薄い場合には  $k/k_{\text{inf}}$  が 1 から大きく逸れ

ており、端部の存在によって透過性が変化すること(end effect)が示唆された(Fig. 2 では無限系よりも透過性が小さくなる傾向がみられた)。このことから、薄い層では end effect により層厚に依存して透過性が変化するが、層が厚くなるにつれてその影響は相対的に小さくなることが明らかとなった。

粒子間隔が異なる場合の結果を比較すると、(a)と(b)から、 $lz$ (厚さ方向かつ流体透過方向の間隔)が小さいほど end effect が顕著となる。これは、 $z$  方向に粒子が密であるほど端部で粒子配列の異方性が増すためと考えられる。これに対し(a)と(c)からは、 $lx, ly$  が小さい場合に end effect も小さいことが示され、端部の異方性によって生じた end effect が  $x, y$  方向に存在する他の粒子が作り出す流れ場の影響で相対的に小さくなったと推察された。

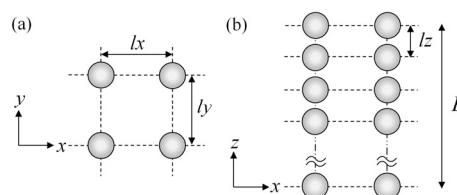


Fig. 1 計算に用いた粒子層の(a)  $x$ - $y$  平面および(b)  $x$ - $z$  平面。流体は  $z$  方向(有限厚さ方向)に透過する。

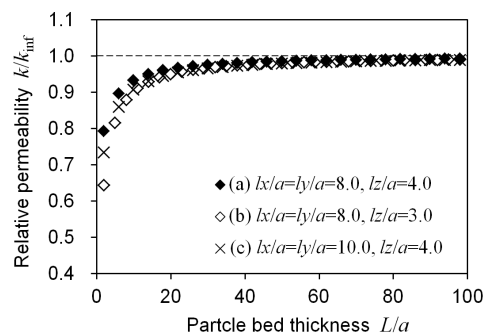


Fig. 2 さまざまな粒子間隔における粒子層の厚さ  $L/a$  と permeability  $k/k_{\text{inf}}$  との関係( $a$  は粒子半径)

## 4. 結言

有限厚さを有する粒子層中の permeability の理論計算を行った。結果から、厚さ方向かつ透過方向とそれ以外の方向では、層の構造が end effect に対して異なる寄与をすることが示唆された。

## 文献

- 1) Arkill, K. P. et al.; *Biophys. J.*, **101**, pp.1046-1056, 2011.
- 2) Otomo, R. and Harada, S.; *Particul.Sci.Technol.*, **29**, pp.2-13, 2011.
- 3) Brady, J. F. et al.; *J. Fluid Mech.*, **195**, pp.257-280, 1988.
- 4) Harada, S. and Otomo R.; *Phys. Rev. E*, **80**, 066311, 2009.

## 血管内皮細胞に対する血小板粘着のモデル化を 目的とした in vitro 実験

相田洋佑\*, 竹内聡志\*\*, 望月大輔\*\*, 筒井千尋\*\*, 平田孝道\*\*, 島野健仁郎\*\*

\* 東京都市大学大学院 工学研究科 [〒158-8557 東京都世田谷区玉堤 1-28-1]

\*\*東京都市大学 工学部

### 1. 緒言

脳動脈瘤の破裂と低ずり応力の関連を示唆する報告が数多くなされており, 筆者らは低ずり応力下で起こる代表的な現象である血栓形成を数値シミュレーションで再現することを試みている. これまでに低ずり応力下での凝固を模擬するモデルを提案してきたが, 活性化血小板膜上に形成される凝固因子の複合体が凝固反応の進行速度を大きく左右することがわかっており, 活性化血小板に関する定量的情報を凝固モデルに取り込むことが不可欠である. しかし, 低ずり応力下で血管内皮細胞に粘着する血小板について定量的な情報が十分に得られているとは言い難い. そこで本研究では ADP により活性化した血小板の内皮細胞への粘着量を調査するために in vitro 実験を行った.

### 2. 実験方法

幅 5mm, 高さ 0.8mm, 長さ 48.2mm の矩形流路 ( $\mu$ -slide) にブタ大動脈内皮細胞を 208 個/ $\text{mm}^2$  で播種し, これを血小板粘着の観察部とした. 血液には ACD 液を添加したブタ全血を用いた. これを ADP 濃度 0, 0.5, 1.0, 2.0  $\mu\text{M}$  となるように調整して灌流部に血液を停滞させた状態, すなわち内皮細胞に作用するずり応力が 0Pa の状態を 30 分間持続させた. また, ADP 濃度 1.0  $\mu\text{M}$  においては内皮細胞に作用するずり応力が 1Pa となるように流量を調整して 30 分間灌流した. 各条件の実験の後,  $\mu$ -slide を生理食塩水で洗浄し, メタノールにより細胞および血小板を固定させた. 粘着した血小板量を評価するために, メイギムザ染色を施した内皮細胞を撮影し, 画像内に占める血小板の総面積を内皮細胞の面積で除した値を求めた. この比を以下では被覆率と呼ぶ. なお, 本実験は東京都市大学動物実験規程に準拠して実施された.

### 3. 結果および考察

Fig. 1 は ADP 濃度 1.0  $\mu\text{M}$ , ずり応力 0Pa のときの内皮細胞の画像である. 内皮細胞に血小板が粘着していることが認められる. また, Table 1 に得られた被覆率を条件毎に示す. ADP が存在しない Case 1 で被覆率は 0 とならないが, これは洗浄後も内皮細胞上に未活性の血小板が残留したため

と推察される. ADP 濃度が 0 ではない Case 2~4 の被覆率にも残留した未活性の血小板がカウントされていると考えられるので, 各 Case の被覆率より Case 1 の被覆率を差し引いた値を正味の被覆率とみなすことができる. よって, 正味の被覆率は Case 2 で 0.43%, Case 3 で 0.31%, Case 4 で 0.55% と各々見積もられる. Case 2~4 では ADP 濃度が変わっても正味の被覆率に大きな変化は見られない.

一方, Case 5 ではずり応力により血小板が引きはがされて粘着する血小板が少なくなる. 1Pa のずり応力下では未活性の血小板は残留しないと考えられるので, 被覆率 0.22% を Case 5 の正味の被覆率とみなすのが妥当であり, これはずり応力なしの Case 2~4 と比べて 1/2 から 2/3 程度である.

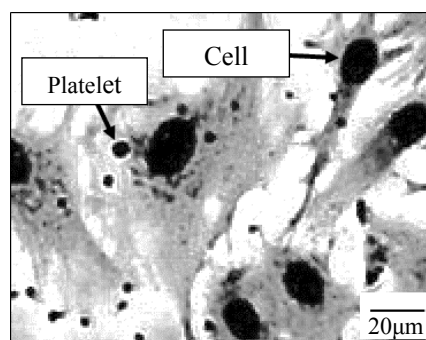


Fig. 1 Endothelial cells and adhered platelets

Table 1 Conditions and coverage rates

	ADP conc. [ $\mu\text{M}$ ]	Shear stress [Pa]	Coverage rate [%]
Case 1	0	0	0.30
Case 2	0.5	0	0.73
Case 3	1.0	0	0.61
Case 4	2.0	0	0.85
Case 5	1.0	1	0.22

### 4. 結論

本実験では内皮細胞に粘着する血小板の被覆率を求めた. ずり応力なしの条件では ADP 濃度に対する被覆率の変化は緩やかであった. また, ずり応力 1Pa を作用させると被覆率はおおよそ 1/2 から 2/3 に減少した.

## PEG電着チタンの動的な血液適合性の評価

古川克子\*, 畑裕己\*\*, 浅田洋行\*\*,

水原和之\*\*, 堤祐介\*\*\*\*, 埴隆夫\*\*\*\*, 牛田多加志\*\*\*

\* 東京大学大学院 工学系研究科 バイオエンジンニアリング専攻・機械工学専攻

\* [〒113-3656 東京都文京区本郷7-3-1]

\* \* 東京電機大学大学院工学系研究科機械工学科

\* \* \* 東京大学大学院 医学系研究科 附属疾患生命工学センター

\* \* \* \* 東京医科歯科大学 生体材料工学研究所

### 1. 緒言

材料と血液の接触が血栓形成を惹起することが広く知られている。新規に開発された材料は流れがない静的な実験系でその血液適合性が評価されることが多い。しかしながら、実際には心臓が拍動することによって生じる流れ拍動流の存在下に血栓が形成する。そこで本研究では、生体内の環境に近い血流環境(層流, 乱流, 拍動流)を簡便に再現できるデバイスを開発して、材料の評価を行った。特に、力学的な性質に優れたチタン(Ti)に血液適合性に優れた polyethylene glycol(PEG)を電着した PEG-Ti の血液適合性をリアルタイムで定量的に評価したので報告する。

### 2. 実験方法

本グループが今までに開発してきた少量の血液で生体内に存在する流れ環境を簡便に再現できるコーンプレート型せん断応力負荷装置を用いた。ヒト血液で  $1, 50\text{s}^{-1}$  のせん断速度下で被験材料 (ePTFE(expanded polytetrafluoroethylene), AC, PVC, Agarose, Ti, PEG-Ti, HUVEC on glass) への血小板粘着数を 5, 10, 15 分ごとに計測した。輸血用血液の移植適用外血液はインフォームドコンセントを得て採取されたものを実験に供した。血小板を CFSE および Qtracker800 で染色した。

### 3. 実験結果

本装置を用いることにより、試験したすべての材料表面に粘着している血小板をせん断流れの存在下でリアルタイムに可視化できることが確認された。準静的なせん断速度である  $1\text{s}^{-1}$  と、生理的なせん断速度である  $50\text{s}^{-1}$  の条件下で、PEG-Ti への血小板粘着数が試験した材料のなかで最も少ないことがわかった。 $1\text{s}^{-1}$  では Agarose  $\geq$  ePTFE  $>$  AC  $\geq$  PVC  $>$  Ti  $\geq$  PEG-Ti  $>$  HUVEC,  $50\text{s}^{-1}$  の条件下では ePTFE  $>$  PVC  $\geq$  AC  $>$  Ti  $\geq$  Agarose  $>$  PEG-Ti  $>$  HUVEC の順番で血小板の粘着数に違いがみられることがわかった。さらに、正常な血液性状に近い Ht40 の条件で同様の試験を行ったところ、 $1\text{s}^{-1}$  では ePTFE  $>$  Agarose  $>$  PVC  $\geq$  AC  $>$

Ti  $\geq$  PEG-Ti  $>$  HUVEC の順番で血小板が材料表面に多く粘着することがわかった。Ht40,  $50\text{s}^{-1}$  の条件下では ePTFE  $>$  PVC  $\geq$  AC  $>$  Agarose  $>$  Ti  $>$  PEG-Ti  $>$  HUVEC の順番で多くの血小板が材料表面に粘着することがわかった。

### 4. 考察

本研究ではせん断応力の存在下に血小板の粘着挙動をリアルタイムに可視化することができた。特に、Ht40 という生理的な条件に近い環境で血小板の材料粘着の程度を定量的に評価できることがわかった。これらの解析から、血小板の材料表面への粘着数は、せん断応力の影響を受ける、すなわち、せん断応力が異なると血小板粘着性が低い材料の種類が変わることがわかった。さらに、赤血球の存在が血小板の材料表面への粘着傾向に影響を及ぼすことがわかった。以上の結果より、血小板の粘着能が低い抗血栓性に優れた材料を開発するためには、動的な実験系で血栓形成の初期反応である血小板の粘着数を計測するの必要があり、本研究グループが開発した実験系が有用な実験ツールであることが示された。電着 PEG は本研究で試験した材料のなかで最も疑似血管材料である HUVEC 播種材料に近い抗血栓性を示した。したがって、機械的な特性に優れた人工臓器の設計に電着 PEG の手法を取り入れたコンセプトが有効であることが示唆された。

### 5. 結言

PEG-Ti は生体内に存在するせん断流れの存在下において、低い血小板粘着特性を示すことが明らかとなった。

### 謝 辞

本研究は内閣府の最先端次世代研究開発プログラムによって支援された。さらに、日本赤十字社の規格外血液を実験に供した。ここに感謝する。

## レオメータを使用した粘弾性学的血液適合性評価と in vitro 抗血栓性試験への応用

○丸山 修\*, 可児裕基\*\*, 小阪 亮\*, 西田正浩\*, 山根隆志\*\*\*, 巽 英介\*\*\*\*, 妙中義之\*\*\*\*

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

\*\*東京理科大学大学院理工学研究科[〒278-8510 千葉県野田市山崎 2641],

\*\*\*神戸大学大学院工学研究科[〒657-8501 神戸市灘区六甲台町 1-1],

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

### 1. 緒言

人工心臓や体外循環ポンプなどの循環器系人工臓器に使用する血液ポンプを開発するにあたって、抗血栓性を付与するように、流体力学的観点から設計することは重要である。血液ポンプの抗血栓性を評価するには、ウシやヤギを使用した動物実験が有効であるが、大がかりな施設や高度な技術が必要であり、限られた機関でのみ実験が可能である。動物実験を効率的に実施するためには、その事前評価として、閉回路を利用した in vitro 抗血栓性試験法が有効である。しかしながら、in vitro 抗血栓性試験結果を正確に評価するためには、血液ポンプ中で生じるせん断速度と試験血液の凝固能に対して、どの程度の血栓量が、試験血液から形成するのかを定量的に理解することが必要である。そこで、本研究では、任意の活性化凝固時間 (ACT) に設定した血液に対して、二重円筒式のレオメータを使用してせん断負荷を与え、ACT およびせん断速度に対する血栓形成量を定量的に求め、また試験後の血液の凝固能検査から、せん断速度が血液凝固過程に与える影響について調べることを目的とした。

### 2. 実験方法

本実験で使用したレオメータ (株エルクエスト製レオロジ A300) は、ステンレス製の内筒およびガラス製の外筒からなる二重円筒式で、外筒が回転するしくみである。クエン酸ナトリウムで抗凝固したウシ血液に塩化カルシウムで中和することで、ACT200~1,000s の試験血液を調製した。これらの試験血液に、100~2,880s<sup>-1</sup> のせん断速度を負荷し、血栓形成量を測定した。また、せん断負荷後の試験血液のプロトロンビン時間 (PT) および活性化部分プロトロンボプラスチン時間 (APTT) を測定し、せん断負荷が血栓形成に関与する凝固過程を調べた。

### 3. 実験結果および考察

ACT400 および 1,000 秒の試験血液においては、せん断速度を 50 から 2,880s<sup>-1</sup> まで変化させても血栓は形成せず、ACT200, 250 および 300 秒では、せん断速度の増加にともなって血栓形成度が抑制された。また、試験血液にせん断負荷をかけると、PT には影響が見られなかったが、全血凝固時間と APTT が延長し、したがってせん断速度に基づくせん断応力が、内因系凝固に関与し、血液凝固を抑制することがわかった (図 1)。

\* ACT300s の血液 (PT, APTT は、全血を 200s 間せん断負荷かけた後、血漿分離)

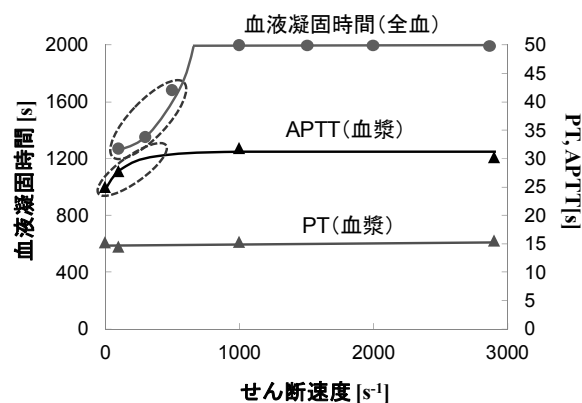


図 1 せん断速度に対する全血凝固時間, PT および APTT の変化

### 5. 結言

せん断速度 50~2,880s<sup>-1</sup> に対する試験血液の血栓形成量、および凝固過程における影響を粘弾性学的手法により定量的に得た。

### 謝 辞

本研究は、NEDO 再委託「小柄患者用補助人工心臓の有効性および安全性の評価」により行われたものであり、謝意を表す。

## 骨梁・オステオン形態リモデリングの力学-生化学連成モデル

安達 泰治\*, 竹中 健太郎\*\*, 今井 桂\*\*, 井上 康博\*

\* 京都大学 再生医科学研究所 [〒606-8507 京都市左京区聖護院川原町 53]

\*\* 京都大学大学院 工学研究科 マイクロエンジニアリング専攻

### 1. 緒言

骨の構造は、網目状の海綿骨と緻密な皮質骨に大きく分類されるが、微視的な細胞レベルにおいては、破骨細胞と骨芽細胞による骨吸収・骨形成が同様な過程により行われている<sup>1)</sup>。本研究では、骨細胞による力学刺激感知機構と骨系細胞間のシグナル伝達機構を組み合わせた数理モデルを構築し、海綿骨の骨梁および皮質骨のオステオンの形態変化をリモデリングシミュレーションにより考察する。

### 2. 数理モデルとシミュレーション手法

骨リモデリングは、皮質骨ではオステオンの中央に位置するハバース管内表面において、一方、海綿骨では、骨梁の外表面において生じる。いずれの場合においても、骨基質内にネットワークを形成して存在する骨細胞が力学刺激を感知し、産生されたシグナル分子が、細胞間ネットワークを介してリモデリング表面に伝達されると仮定する。本研究では、骨吸収開始に関係する代表的なシグナル伝達機構として、Fig. 1 に示す RANKL/RANK/OPG シグナリング<sup>2, 3)</sup>をモデル化した。

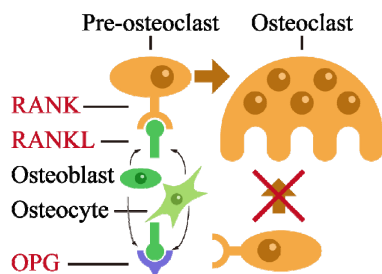


Fig. 1: RANKL/RANK/OPG signaling

皮質骨リモデリングの数理モデルの例を示す。本モデルでは、ハバース管表面における RANKL 濃度  $\phi_{RANKL}(x)$ 、および、ハバース管表面の力学的刺激量  $S_{sf}(x)$  により、皮質骨リモデリングを担う破骨細胞、骨芽細胞と上層細胞の交替が制御されるものとした。まず、骨に力が作用した際の応力  $\sigma_{eq}(x)$  から、基質内部の骨細胞が刺激量  $S_{oc}(x)$  を感知するものと仮定した。刺激量  $S_{oc}(x)$  は骨細管ネットワークを通じて、ハバース管表面に伝達するものとし、ハバース管表面の刺激量  $S_{sf}(x)$  を算出した。ハバース管表面の刺激量  $S_{sf}(x)$ 、および、 $S_{sf}(x)$  から導出した RANKL 濃度  $\phi_{RANKL}(x)$  とそれらの閾値  $S_{ocd}$ 、 $S_{obi}$ 、 $C_{dif}$  との大小関係により、表面に存在する細胞の種類が交替するものとした。

### 3. 結果と考察: RANKL の最大発現量による変化

まず、リモデリングの基本となるベースモデルを作成した。この時のオステオン形態と表面細胞分布の経日変化を Fig. 2 に示す。この図より、オステオンでは、時間経過とともに表面刺激量が小さい部分で骨吸収が生じ、皮質骨リモデリングが進展する様子が確認できた。また、リモデリングが完了した時点での断面形状から、RANKL の最大発現量が、オステオンの形態に大きく影響を与えることが示された。

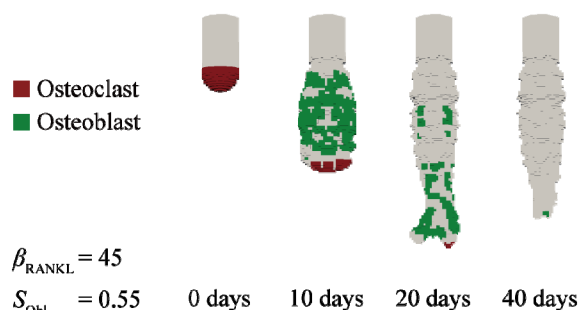


Fig. 2: Distribution of surface cells for base model

一方、同じ数理モデルを用いて、骨梁リモデリングシミュレーションを行った。その結果、骨梁表面において、破骨細胞と骨芽細胞の活動が交互に現れ、皮質骨のオステオンのリモデリングが一方的に進行するのに対して、骨梁表面では、同じ位置において骨リモデリングの回転が生じ、骨梁に作用する力の方向に対して配向する適応的な骨梁形態変化が生じた。

### 4. 結言

本研究では、シグナル伝達機構を考慮した骨リモデリングシミュレーションを行い、シグナル伝達機構が皮質骨のオステオン形状に与える影響について検討した。その結果、オステオンの長さには、RANKL の最大発現量が大きく影響を与えており、ハバース管の長さや太さには、骨芽細胞の存在しやすさが影響することが示された。今後、複数のシグナル分子の連成的な影響を検討することで、骨形態変化の新たなメカニズム解明に貢献できると期待される。

### 文献

- (1) Parfitt, A.M., J Cell Biochem, **55**: 273-286, 1994.
- (2) Suda, T. *et al.*, Endocr Rev, **20**: 345-357, 1999.
- (3) Yasuda, H. *et al.*, PNAS, **95**: 3597-3602, 1998.

## ゼラチン・寒天混合系のゲル化のレオロジー

鳥羽一史\*, 榎靖幸\*, 外山吉治\*, 土橋敏明\*, 松尾光一\*\*

\*群馬大学大学院 理工学府 [〒376-8515 群馬県桐生市天神町 1-5-1]

\*\*広島大学放射光科学研究センター [〒739-0046 広島県東広島市鏡山 2-313]

## 1. 緒言

ゼラチンは、コラーゲンを加熱などにより変性させることで生成されるタンパク質である。高温ではゼラチン水溶液はゾル状態で、ゼラチン分子はランダムコイル構造であるが、冷却するとゼラチン分子が部分的にコラーゲンの三重らせんを形成し、これが格子点となって三次元の網目が形成され、室温付近でゲル化する<sup>1),2)</sup>。

寒天は多糖類であり、その主成分はアガロースである。寒天も温度によりゾル-ゲル転移を示す。水溶液中において寒天分子は、高温ではランダムコイル構造であるが、冷却すると二重らせんを形成し、それらが凝集することにより三次元網目が形成される<sup>1),3)</sup>。寒天のゲル化温度は 33 ~ 45°C 付近である<sup>1)</sup>。

食品分野において、ゼラチンと寒天の混合ゲルが、それぞれの単独ゲルの短所を補ったり、テクスチャーを改善したりするために用いられている<sup>4)</sup>。ゼラチンと寒天を高温で溶解後、冷却することにより混合ゲルが得られる。この時、寒天とゼラチンのゲル化温度の違いにより、先に寒天の構造形成が起こり、その後ゼラチンのゲル化が起こると考えられる。

放射光を光源とする真空紫外円二色性 (VUVCD) は、ゼラチンの分子構造の違いに敏感であり、その分子構造変化に基づいてゼラチンのゲル化のレオロジーを調べることが可能である<sup>5)</sup>。

本研究では、ゼラチン・アガロース混合系のゲル化過程において、ゼラチンの構造変化へのアガロースの影響を VUVCD により調べた。

## 2. 実験方法

溶媒として Milli-Q 水を用い、ゼラチン・アガロース混合ゲルを調製した。ゼラチンの濃度は 3.0%、アガロースの濃度は 0.1% - 0.5% である。VUVCD 測定は、

広島大学放射光科学研究センター (BL-15) において行った。混合ゲルを 95°C で溶解したものを CaF<sub>2</sub> の窓材に挟み厚さ 2 μm 程度の液膜サンプルを作製した。VUVCD 分散計内で、サンプルを 60°C から 10°C へ急冷し、波長 198 nm における楕円率  $\theta$  の時間変化を測定した。

## 3. 実験結果と考察

波長 198 nm における楕円率  $\theta$  は、ゼラチン分子の三重らせん形成を反映する<sup>6)</sup>。Fig.1 は規格化された楕円率  $\alpha = (\theta_t - \theta_0) / \theta_0$  の時間変化である。ここで  $\theta_0$  は 60°C における  $\theta$  である。図中の矢印は、温度を 60°C から 10°C へ急冷した時間を示す。アガロース濃度 0.1% に比べ、アガロース濃度 0.5% では  $\alpha$  の時間変化が遅いことが分かった。

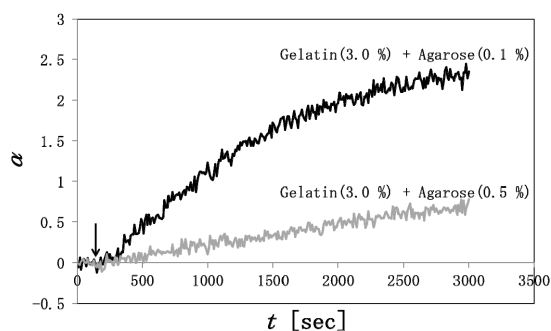


Fig 1. Time course of reduced ellipticity  $\alpha$  of the mixed gels of gelatin (3.0 %) and agarose (0.1 %) (black line) and of gelatin (3.0 %) and agarose (0.5 %) (gray line).

## 文 献

- 1) 西成勝好監修, 食品ハイドロコロイドの開発と応用, シーエムシー出版, 2007.
- 2) Djabourov, M., Leblond, J. and Papon, P., J. Phys. France **49**, 319-332, 1988.
- 3) 西成勝好, 矢野俊正, 食品ハイドロコロイドの科学, 朝倉書店, 1990.
- 4) 井上悠季, 佐川敦子, 森高初恵, 日本官能評価学会誌 **15**, 107-119, 2011.
- 5) Maki, Y., Watabe, S., Dobashi, T. and Matuso, K., J. Biorheol., in press.
- 6) Kristiansen, J. and Hvidt, Aa., Acta Chem. Scand., **44**, 144-146, 1990.

## 異方性 DNA ゲルの形成動力学と構造制御

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 北海道札幌市北区北 10 条西 8 丁目]

### 1. はじめに

DNA の濃厚水溶液を多価金属カチオン水溶液中に透析すると、異方的な構造を持つゲルを調製することができる。このようにして調製された異方性 DNA ゲルは、発がん物質の吸着剤や DNA と特異的に結合する薬剤などの輸送担体としての応用が期待されている<sup>1</sup>。一方で、DNA の異方性ゲル化のメカニズムについても、実験と理論の両面から研究が進められてきた<sup>2</sup>。これまでの研究により、透析過程の間の DNA 水溶液の pH やイオン強度の変化が、ゲルの形成動力学と最終的な構造を決定付ける重要な因子であることが示されてきた。透析過程で起こる DNA 水溶液の pH やイオン強度の変化は、DNA 水溶液と多価金属カチオン水溶液との間で引き起こされるイオンの交換に起因する。そして、このイオンの交換は、それぞれのイオンの濃度勾配を駆動力とする物質拡散に起因する。物質拡散の速度は、温度によって変化する。このことから、透析温度を制御することで、積極的にゲルの構造を制御することが可能であると考えられる。そこで、本研究では、透析温度が異方性 DNA ゲルの形成動力学と構造に与える影響について明らかにする。このことにより、透析温度の制御によって様々な階層構造を持つ異方性ゲルを得る方法を確立する。

### 2. 実験方法

実験には日本化学飼料より提供されたサケ白子由来 DNA (10 kbp) を用いた。異なる pH の 20 mM の四ホウ酸ナトリウム水溶液 (pH 7.1–pH 9.2) に DNA を溶解し、1 wt% の DNA 水溶液を得た。DNA 異方性ゲルの形成過程は次の方法で追跡した。200  $\mu$ L の DNA 水溶液を二枚の円形カバーガラス (直径 15 mm) の間に挟み、これを 20 mL の 0.1 M 塩化アルミニウム水溶液中に浸漬した。浸漬直後より、DNA 水溶液と塩化アルミニウム水溶液の間の界面がゲル化し、この時にできたゲルの膜を基点として中心までゲルの層が成長した。実験は 10  $^{\circ}$ C – 40  $^{\circ}$ C の異なる温度で行った。実験により得られたゲルの層の厚さとゲル化時間の関係を、異方性ゲル成長動力学の理論 (moving boundary picture) により解析した<sup>2-3</sup>。

### 3. 結果と考察

実験により得られた結果を、透析による異方性ゲル化のダイナミクスの理論 (moving boundary picture) により解析することで、ゲル層の成長過程を表す普遍的関数  $\tilde{y}_g$  を得る事ができる<sup>2</sup>。Figure 1 に、 $\tilde{y}_g$  の時間変化を示した。pH 7.1 の DNA 水溶液を用いた場合、10  $^{\circ}$ C ではゲル層の成長過程は一つの過程で構成されていたが、40  $^{\circ}$ C ではゲル層の成長過程は成長速度が遅い初期過程と成長速度が速い後期過程の二つの過程で構成されていた。一方で、pH 9.2 の DNA 水溶液を用いた場合、温度によらずにゲル層の成長過程は初期過程と後期過程の二つの過程で構成されていた。これらの結果は、用いる DNA 水溶液の pH によって、DNA の異方性ゲル化のダイナミクスに与える温度の影響が異なることを示唆している。

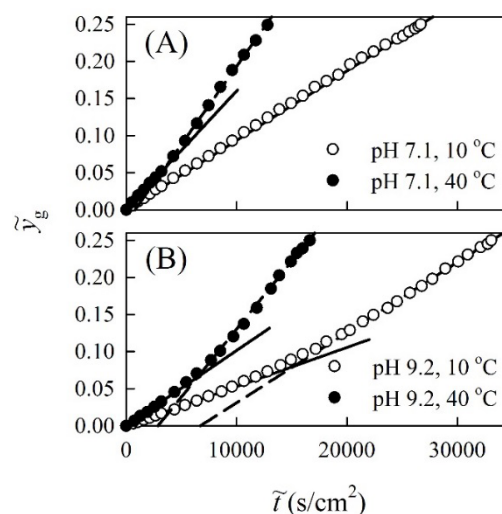


Figure 1. Time courses of universal function for expressing dynamics of anisotropic gelation of DNA

### 文 献

- 1) Dobashi, T., Furusawa, K., Kita E., Minamisawa, Y., Yamamoto, T.: DNA liquid-crystalline gel as adsorbent of carcinogenic agent. *Langmuir*, **23**, 1303-1306, 2007.
- 2) Furusawa, K., Narazaki, Y., Tomita, N., Dobashi, T., Sasaki, N., Yamamoto, T.: Effect of pH on anisotropic gelation of DNA induced by aluminum cations. *J. Phys. Chem. B*, **114**, 13923-13932, 2010.

## $\beta$ -lactoglobulin アミロイド・ナノ粒子とゲル化

佐々木直樹、山下聡一\*, 古澤和也

北海道大学大学院 先端生命科学研究院, \*北海道大学大学院 生命科学院

[〒060-0810 北海道札幌市北区 北 10 条西 8 丁目]

### 1. 緒言

球状タンパクを適当な条件下で処理すると、アミロイドと呼ばれる線維状開合体が形成される<sup>1</sup>。更にアミロイド溶液をインキュベートすると、アミロイドがゲル化することが知られている。しかし、ゲルの構造、ゲルの力学特性、ゲル化過程については、殆ど知られていない<sup>2</sup>。本研究では、アミロイドのゲル化過程およびゲルの力学特性について調べることを目的とした。特にアミロイド線維がどのような形でゲルを形成しているか?ゲルの架橋点となるものは何か?について議論した。

### 2. 実験方法

アミロイドを形成するタンパク質としては、牛乳清由来の $\beta$ -lactoglobulin (BLG)を用いた。変性・開合剤として、methanol (MeOH), ethanol (EtOH), 1-propanol (1-ProOH)を用いた。アミロイド形成の有無は、広角X線回折パターンに基づいて確認した。ゲル化測定は、試料溶液の動的弾性率測定に依った。形成されたアミロイドゲルのモルフォロジーは、原子間力顕微鏡(AFM)および小角X線散乱法(SAXS)により調べた。

### 3. 結果と考察

一定周波数で複素弾性率の実数部  $G'$  と虚数部  $G''$  の時間変化を測定すると、ゾル状態で  $G' < G''$  だったものが、ゲル状態で  $G' > G''$  になる。このとき、 $G' \approx G''$  となる時間をゲル化時間とした。ゲル化時間は、 $\text{MeOH} < \text{EtOH} < \text{1-ProOH}$  の順になり、 $\text{MeOH}$  でゲル化反応が最も早いことが分かる。ゲルの力学測定として、一定周波数下  $G'$ ,  $G''$  の stress 依存性を調べた。図 1 は 1-ProOH 溶液で 7 日間インキュベートしたゲルについての測定結果である。約 500 Pa の応力でゲルからゾルに戻るのが観測された。図 2 はこの試料について、応力を 50 Pa と 1000 Pa の間で 30 秒ごとに、繰り返し変化させた時の  $G'$ ,  $G''$  の時間変化である。1000 Pa 加える度にゲルがゾル化し、50 Pa に戻すとまたゲルになっているのが分かる。同様の振る舞いは、 $\text{MeOH}$  溶液、 $\text{EtOH}$  溶液から調整したアミロイド溶液でも観測

された。図 3 は図 1 の定常弾性率  $G'$  に対してゲル・ゾル転移時の応力値  $\sigma_t$  をプロットしたものである。アルコールの種類に関係なく、同一の比例関係を示すことが分かった。これらより、アルコールが異なっても、作られるアミロイドは、同じ機構でゾル $\leftrightarrow$ ゲル変化を起こしていることが予想される。

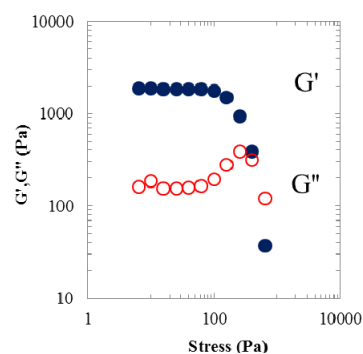


Fig. 1. Gel-sol transition of amyloid by stress.

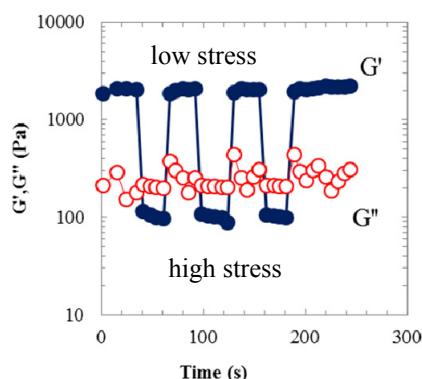


Fig. 2. Sol-gel switching by stress change.

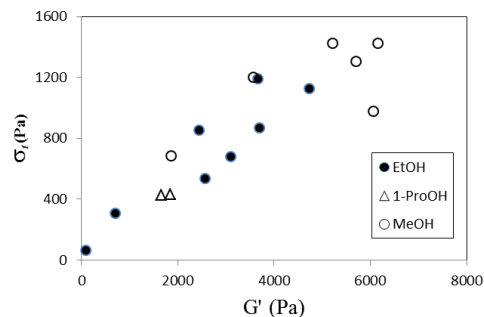


Fig. 3. Stress at the transition plotted against plateau  $G'$  in Fig. 1 for specimens incubated in the three alcohols.

### References

1. Walraj, S. G. *et al. Langmuir*, **18**, 7174-7181 (2002).
2. Sophia, J. *et al. Biomacromol.* **12**, 187-193 (2011)

## 細胞選択性マイクロカプセル足場の作製と細胞培養

富田翔\*、高木宣祥\*、小池迪瑠\*、小林健太郎\*、山本隆夫\*、土橋敏明\*、田中進\*\*

\*群馬大学理工学研究院[〒376-8515 群馬県桐生市天神町 1-5-1]

\*\*高崎健康福祉大学健康福祉学部[〒370-0033 群馬県高崎市中大類町 37-1]

## 1. 緒言

細胞の大量培養のためには足場材料の表面積を大きくする必要があるが、その一つの方法として微粒子上で細胞を培養する懸濁培養法が知られている。この方法で細胞培養を行う適切な条件として、微粒子の大きさが  $100\sim 500\ \mu\text{m}$  程度である、細胞接着性が良い、細胞毒性がない、培養温度 ( $37^\circ\text{C}$ ) で融解しない、滅菌処理が可能であることなどが必要である。コラーゲンやゼラチンを素材としたゲルはこれらの条件のうち多くを満たすが、培養温度で融解しないためには化学的架橋を含む何らかの改質が必要である。紫外線による架橋は有害な化学架橋剤を用いることなくしかも定量的で一様な反応によって融解温度を変えることができることから有力な方法である。一方、足場表面の改質は細胞接着性を変えるため、細胞によって足場接着性への影響が異なると考えられる。本研究では、ゼラチンゲル懸濁液に紫外線を照射することにより、正常繊維芽細胞とがん化した細胞で接着性および増殖性の異なる足場を作製できたので報告する。

## 2. 実験方法

ゼラチン (ブタ由来、タイプ APH-250 ; 新田ゼラチン株式会社製) を、10wt% の濃度で MilliQ 水に  $40^\circ\text{C}$  で溶かし、ゼラチン水溶液とした。また、イソオクタンに界面活性剤であるテトラグリセリン脂肪酸エステル (SY グリスター-CR-310 ; 坂本薬品工業) を 5wt% の濃度で加えて分散媒とした。次にこの分散媒 30 mL にゼラチン水溶液を 0.5 mL 添加し、この添加液を  $40^\circ\text{C}$  に加温しながら攪拌 (500 rpm) して乳化させ、混合液中にゼラチン液滴を作製した。作製したゼラチン液滴を含む混合液を  $15^\circ\text{C}$  に保ちながら 10 分攪拌し、混合液にヘキサンを添加してゼラチン液滴を 3 回洗浄した。続いてヘキサンを含む混合液を直径 3.5 cm のビーカーに入れ、紫外線ランプ (CSL-100C ; コスモバイオ) を使い、波長 254 nm、出力 100 W、強度  $3400\ \mu\text{W}/\text{cm}^2$ 、照射距離 5.5 cm 温度  $15^\circ\text{C}$  の条件で紫外線を照射し、ゼラチンマイクロカプセルを作製した。2-プロパノール、次にエタノールでそれぞれ 3 回洗浄し、70v/v% エタノール中で一昼夜滅菌し、水またはリン酸緩衝液 (PBS : pH = 7.0) に分散させた。作製したマイクロカプセルの粒径分布と昇温による形態変化を調べた。また、ヒトの繊維芽細胞の正常細胞 (WI-38) と癌化し

た細胞 (WI-38-VA-13) を用いて細胞培養実験を行った。

## 3. 結果と考察

作製したマイクロカプセルの平均粒径は、 $355\ \mu\text{m}$  であった。マイクロカプセルは温度上昇とともに融解して溶媒にとける。紫外線照射時間の異なるマイクロカプセルに対する、温度  $T$  とその温度における残存率  $N/N_0$  の関係を Fig.1 に示す。カプセルの個数が半分になった温度、すなわち  $N/N_0 = 0.5$  との交点を融点とした。融点の紫外線照射時間依存性は、リンデマン則に基づく理論から得られる  $3/2$  乗則にあっていた<sup>1)</sup>。また、紫外線照射時間 3~8 時間のものでは、細胞培養環境での形態安定性が確認できた。ヒトの繊維芽細胞の正常細胞と癌化した細胞を紫外線 3 時間照射の条件で作製したゼラチンマイクロカプセル上で 5 日間培養した後の様子を Fig.2 に示す。正常細胞が接着・増殖とも良好なのに対して癌化した細胞は接着せず増殖も見られなかった。また、形態安定性が確認できた紫外線照射時間 3~8 時間の範囲では、このような細胞選択性は照射時間にほとんど依存しないことがわかった。

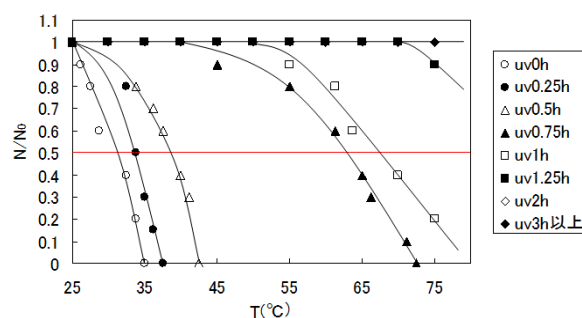


Fig.1 規格化された残存マイクロカプセル数の変化

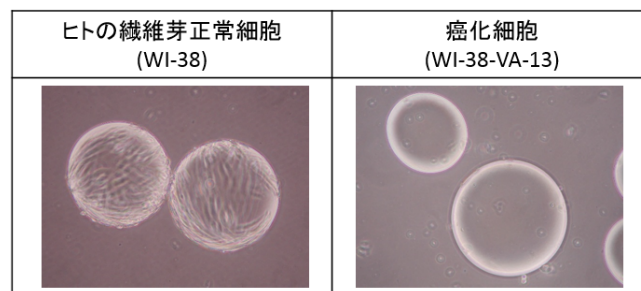


Fig.2 WI-38 と WI-38-VA-13 の培養 5 日後の様子

## 参考文献

1) T. Yamamoto et al., Langmuir 23, 8531-8537 (2007).

## ラマン分光法による骨組織構成成分の力学応答解析

東藤正浩\*, 但野 茂\*

\*北海道大学大学院工学研究院人間機械システムデザイン部門 [〒060-8628 札幌市北区北 13 条西 8 丁目]

### 1. 緒言

骨組織は、アパタイトからなる無機基質と I 型コラーゲンを主成分とする有機基質から構成される複合材料である<sup>1)</sup>。そのため、この微視構造特性が骨組織の巨視的な力学特性を決定し、その変性が加齢や骨疾患による骨強度低下の要因と考えられている。近年、骨強度に関連する因子として骨量の他に、その骨質が影響していると指摘されている。そのため、より精度の高い骨強度評価のためには骨量と骨質の両者を考慮した診断手法が望まれるが、そのような骨診断方法は未だ実現されていない。本研究では、顕微ラマン分光装置に小型負荷治具を組み合わせ、ラマン分光法により負荷状態の骨組織のラマンスペクトルを測定し、その力学負荷に対する応答を調査した。

### 2. 実験方法

試験片として 23 ヶ月齢および 9 歳齢のウシ大腿骨骨幹皮質骨を用いた。骨試験片 (寸法: 10×1×0.5 mm) は骨軸方向 (n=7) および骨軸垂直方向 (n=7) を長軸とした。作製した試験片の両端を 2 枚の金属板に接着剤で固定し、ゲージ長さは 3 mm とした。

ラマン分光測定には、北海道大学創成科学研究棟オープンファシリティの顕微ラマンマイクロシステム (inVia Reflex, Renishaw) を使用した。励起レーザーとして、波長 785 nm ダイオードレーザー (HPNIR785, Renishaw) を用いた。また装置内ステージ上に引張負荷治具を設置し、異なる負荷条件でのラマンスペクトル測定を行った。

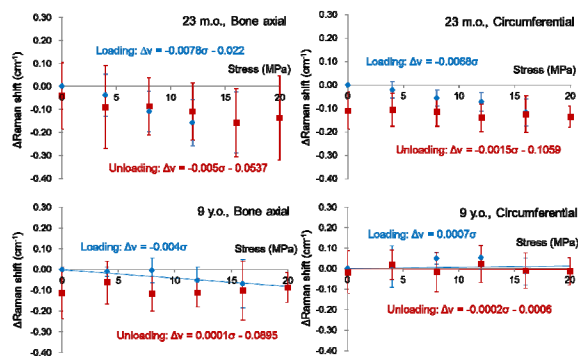


Fig. 1 Changes in Raman shift of apatite under tensile stress.

### 3. 実験結果

Fig. 1 にウシ大腿骨皮質骨の引張負荷・除荷時の  $\text{PO}_4\text{v}_1$  ラマンピークのラマンシフト変化を示す。引張りひずみが増加するにつれ、骨のアパタイト由来のピーク  $\text{v}_1$  のラマンシフトが低周波側へ移動した。また除荷にともないラマンシフトは元の位置へと移動し、ラマンシフトがひずみ状態に起因することが確認できた。

### 4. 考察

Fig. 2 に、骨組織の異方性を考慮した異なる負荷方向および異なる年齢での  $\text{PO}_4\text{v}_1$  および Amide I ラマンシフトの力学負荷応答を示す。高齢の骨組織では負荷に対するラマンシフト変化がアパタイト、コラーゲン両者において顕著に低下しており、加齢による骨組織内の微視構造変化を示しているものと考えられる。

### 5. 結言

本研究より、ラマン分光法によりアパタイトおよびコラーゲンのラマンピークシフトを観察することにより、力学負荷状態を測定することが可能な他、負荷に対するラマンシフト応答を得ることで、骨組織の力学的特性評価の可能性を有すると推察される。

### 文 献

- 1) Rho, J. Y. et al.: Mechanical properties and the hierarchical structure of bone. *Med. Eng. & Phys.*, 20, 92-102, 1988.

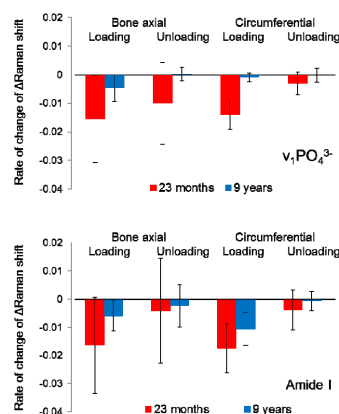


Fig. 2 Changes of Raman shift of mineral and collagen of different aged and loading.

第 2 日目  
6 月 6 日(金)

## ヒト頸動脈の内腔側領域における伸展性と組成との関係

山田 宏<sup>\*1</sup>, 坂田 則行<sup>\*2</sup>, 森田 康之<sup>\*3</sup>, 中島 豊<sup>\*4</sup><sup>\*1</sup>九州工業大学大学院生命体工学研究科 [〒808-0196 福岡県北九州市若松区ひびきの 2-4]<sup>\*2</sup>福岡大学医学部, <sup>\*3</sup>名古屋大学大学院工学研究科, <sup>\*4</sup>福岡赤十字病院

## 1. 緒言

頸動脈は粥状動脈硬化の好発部位であり, 胸部大動脈でも同様に発生する<sup>1),2)</sup>. 血液中の脂質が内膜に侵入・沈着してプラークが形成され発達する. 線維性被膜が破断してプラークが破裂すると, 血栓ができ, 脳梗塞等の重篤な疾患の原因となる. そのため, 発生機序の解明や診断・予防の支援のため, 流体力学や材料力学の観点から多くの研究が行われてきた<sup>3),4)</sup>.

材料力学の観点からは Holzapfel らなどの伸展試験や Tang らなどの有限要素解析が行われており, 著者らも実験と有限要素解析を並行して実施してきた<sup>1)~4)</sup>. 対象となる部位は加齢変化が顕著であり, また, 動脈硬化の発症部位では形状が非一様で, 場所により材質が異なる傾向にある. そのため, 対象領域の組織学的特徴と関連付けて領域ごとに定量的評価を行うことが大切である.

本研究では, 高齢者剖検例の頸動脈内膜側の領域を対象として単軸伸展試験を行い, 動脈硬化による変性の影響を伸展性の指標によって評価した.

## 2. 実験方法

福岡大学医に関する倫理委員会の承認を得て, 57 歳から 84 歳 (平均 70.4 歳の男女) の剖検例を用いて頸動脈の単軸伸展試験を行った. 内訳は白色プラークの線維性被膜 (63 歳から 88 歳, 3 試験片), 黄色プラークの線維性被膜 (72 歳と 88 歳, 2 試験片), 発達した脂肪斑 (63 歳から 88 歳, 3 試験片), 正常領域 (57 歳から 84 歳, 9 試験片) の 4 種類である. 長手方向を管軸方向に選び, 試験片の寸法は, つかみ具間距離 4 mm, 幅 1.5 mm で, 厚さ方向を血管の半径方向にとり, 厚さは試験片によって異なるが概ね 1 mm 弱である. 試験片はひずみ範囲 10% のプリコンディショニングの後, ひずみ速度 1%/s で伸展した.

## 3. 実験結果と考察

Fig. 1 に白色プラークの線維性被膜, 黄色プラークの線維性被膜, 正常領域の典型的な応力-ひずみ関係を示す. 線維性被膜は正常な内膜側の血管壁に比べて伸展性が減少している. また, 黄色プラークは白色プラークに比べて, 線維性被膜の伸

展性が若干大きい. 応力 50 kPa と 0 kPa の間のひずみ増加量を伸展性の指標とし, それぞれの応力-ひずみ関係から求めた結果, 白色プラークの線維性被膜, 黄色プラークの線維性被膜, 発達した脂肪斑, 正常領域の順に平均値は 0.064, 0.093, 0.081, 0.236 であった.

著者らの頸動脈と大動脈の組織観察 (文献 2) では, 線維性被膜はコラーゲンが多く, エラスチンが少なかった. 正常領域はその逆であった. 領域による伸展性の違いはそれを反映している.

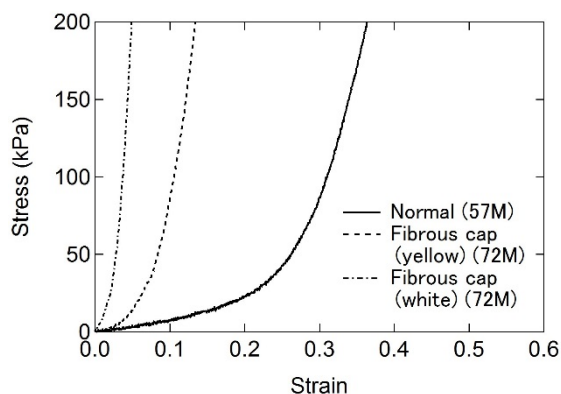


Fig. 1 Examples of the relationships between nominal stress and nominal strain in the longitudinal direction for strip-like specimens of human carotid arteries.

## 4. 結言

本研究では高齢者の剖検例で得た頸動脈内腔領域の粥状動脈硬化領域と正常領域について伸展試験を行い, 領域ごとの伸展性を評価した. その結果, 線維性被膜領域では伸展性が顕著に減少しており, 組成の変化との関連性が見られた.

## 謝辞

本研究の一部は日本学術振興会科学研究費補助金基盤研究(C)(23560091)の助成による. ここに謝辞を表す.

## 文献

1) Yamada, H. and Sakata, N.: J. Biorheology, **27**, 9-17, 2013. 2) 山田宏, 坂田則行, 森田康之, 中島豊: 日本機械学会九州支部第 67 期総会・講演会, 2 pages, March 13-14, 2014. 3) Holzapfel, G.A., Sommer, G., and Regitnig, P.: J. Biomech. Eng., **126**, 657-665, 2004. 4) Tang, D., et al.: Stroke, **40**, 3258-6263, 2009.

## 先天性心疾患単心室症における右心バイパス手術の血流動態評価 (数値流体計算のための呼吸・心拍の変動を加味した境界条件の作成)

後藤真治\*, 中村匡徳\*, 板谷慶一\*\*, 宮崎翔平\*\*, 岡徳彦\*\*\*, 本田崇\*\*\*\*, 北村律\*\*\*,  
宝来哲也\*\*\*, 石井正浩\*\*\*\*, 宮地鑑\*\*\*

\*埼玉大学工学部機械工学科 [〒338-0825 埼玉県さいたま市桜区下大久保2 5 5]

\*\*北里大学医学部血流解析学講座[〒252-0329 神奈川県相模原市南区北里1-15-1]

\*\*\*北里大学医学部心臓血管外科

\*\*\*\*北里大学医学部小児科

### 1. 緒言

単心室症に対して Fontan 手術と呼ばれる右心バイパスが行われる. 数値流体計算により術式の有効性を評価するために, 生理学的な境界条件が必要となる. 循環動態に関するデータの取得には, カテーテルが用いられるが, 2 箇所以上での同時計測, および, 呼吸同期を取ることは現実的に不可能である. そこで, 周波数解析を使用して, 生理学的な境界条件を作成することが検討されている<sup>1)</sup>. 本研究では, 呼吸と心拍による変動を分離する周波数が血流動態に与える影響を検討し適切な分離周波数について議論した.

### 2. 方法

Fontan 手術が行われた患者の CT 画像から 3 次元血管形状を構築した. 作成した 3 次元血管形状を図 1 に示す. 図 1 の①は上大静脈, ②は下大静脈, ③は右肺動脈, ④は左肺動脈である.

上・下大静脈, 左・右肺動脈第一分枝の 4 点で計測した圧力および流速データに周波数解析を適用し, 検出した 2 つのピークを呼吸変動及び心拍変動のピーク周波数と判断した. これらの間で分離周波数  $f_d$  を設定し, ローパス及びハイパスフィルタにより呼吸性的変動成分と心拍性的変動成分とに分離し, 逆フーリエ変換により 4 点における同期した境界条件を作成した.

1 呼吸周期の流速データを血管断面積で流量波形に変換した. その後, 体格に応じた心臓が拍出する血流量で補正し, 上下大静脈に流量境界条件として与えた. 一方, 左右の肺動脈に対しては, 圧力境界条件を与えた.

### 3. 結果・考察

様々な分離周波数  $f_d$  に対して計測データを処理し, 呼吸性変動および心拍性変動の周期性について, 変動の分散により評価した. 結果より, 心拍性のピーク周波数の直前で分離した場合において, 最も変動の周期性が高くなることがわかった.

次に, 呼吸性変動のピーク直後である 0.50 Hz, 心拍性変動ピーク直前である 1.20 Hz, その中間

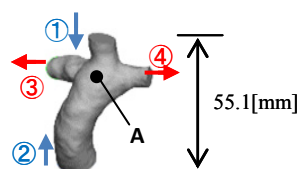


Fig. 1 Geometry of a blood vessel after the Fontan procedure used for hemodynamics simulations.

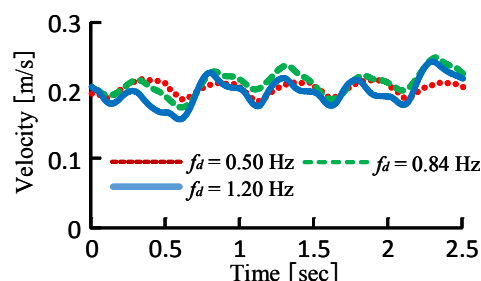


Fig. 2 Time variations of velocity at point A

の 0.84 Hz で境界条件を作成し, 図 1 の形状に対して流体計算を行った. A 点での流速の時間波形を図 2 に示す. 図 2 より流速の時間変動は  $f_d$  によって異なることがわかる. 1 呼吸周期での平均エネルギー損失を評価したところ,  $f_d=0.50$  Hz で 0.570 mW,  $f_d=0.84$  Hz で 0.622 mW,  $f_d=1.20$  Hz で 0.628 mW であった.

Fontan 手術の場合, エネルギー損失は, 上下の大静脈から流入する血液の衝突によって多くが生じていると考えられる. したがって  $f_d$  によって血流動態が異なるため, 衝突部でのせん断および渦度生成に影響をあたえ, それが平均エネルギー損失の違いに反映されたと考えられる.

### 4. 結言

分離周波数  $f_d$  はエネルギー損失に影響するため, 血流解析においては適切に設定する必要があると示唆された. また, データの周期性の観点から, 心拍性変動の直前の周波数で分離すると良いことが示された.

### 文献

1) Itatani, K. et al.: Proc IEEE EMBC, in CD, 2013.

## 大動脈血流に基づく血行力学解析 MRI 4D FLOW と数値流体解析モデルの比較検証

宮崎翔平\*, 板谷慶一\*\*\*, 荒記春奈\*\*, 小山紗千\*\*, 鳥井晋三\*\*, 北村律\*\*, 岡徳彦\*\*,  
宝来哲也\*\*, 杉山将隆\*\*\*, 竹原康雄\*\*\*, 安河内聡\*\*\*\*, 宮地鑑\*\*

\*北里大学血流解析学講座, [〒252-0373 神奈川県相模原市南区北里 1-15-1]

\*\*北里大学心臓血管外科, \*\*\*浜松医科大学放射線科, \*\*\*\*長野県立こども病院循環器科

### 1. 緒言

3D cine PC MRI (4D flow)は生体内の血流を3次元で実測, 可視化する唯一のモダリティとして近年注目を集めており, これまで Computational Fluid Dynamics (CFD)により求められていた Wall shear stress (WSS)や, Energy loss (EL)といった血行力学指標を4D flowで計測する試みが行われている<sup>1)</sup>. しかしこれらの指標の算出に4D flowの低い空間分解能や信号ノイズが指標算出に与える影響は明らかにされていない. また, 乱流では計測が不安定になることが知られる. 一方, CFDは結果が計算条件に依存する問題がある. 本研究では4D flow, CFD双方で生体内において最も大きな乱流が発生すると想定される大動脈内血流を解析し4D flowの精度検証とCFDの手法検証を行った.

### 2. 実験方法

小児大動脈疾患(重複大動脈弓)および成人正常大動脈において4D flowにより得られた大動脈血流速度データを元に収縮期ピークに血流速度信号を有する部位を抽出しマーチングキューブ法, ラプラシアンスムージングで3次元血管形状を構築した. 4D flowの解析は位相画像の前後, 上下, 左右方向の成分を重ねあわせた. CFDでは入口境界条件に4D flowで取得した大動脈弁通過流量を用い, 出口境界条件に末梢圧反射を模した圧条件を用いた. 大動脈内乱流の計算方法として laminar scheme, Large eddy simulation(LES), RNG k-epsilonの3モデルを試行した. 上行大動脈, 大動脈弓, 下行大動脈で特徴的な断面を設定し断面上で収縮期ピークの血流速度場をMRIにおけるpixel上の点に線形補間し, 両者の速度場を定量的に比較した. また, 4D flow MRIから算出したWSS, エネルギー損失の比較を行った.

### 3. 結果

部位別に相関係数を取ると上行大動脈では低く, 下行大動脈で高い値となった. また, モデル間ではRNG k-eモデルでMRIと相関係数が高く, 小児大動脈疾患ではそれぞれLaminar 0.466, LES 0.468,

RNG k-e 0.480, 誤差はLaminar 0.150 ±0.106 m/s LES 0.147±0.105 m/s, RNG k-e 0.145 ±0.103 m/sとなった. ELは小児でMRI 33.2 mW, CFD (RNG k-e) 46.1 mW, 成人でMRI 26.7 mW, CFD (RNG k-e) 89.0 mWとなった. WSS分布を図1のようになり局所的な分布の特徴は類似したが, 頸部分枝や下行大動脈ではMRIのWSSがCFDに比べて小さかった.

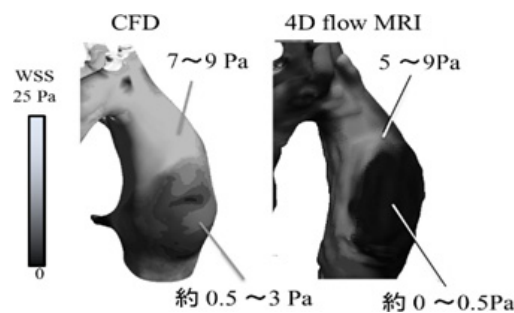


図1 小児大動脈疾患 WSS

### 4. 考察

CFDは左室のねじれに伴う旋回流を境界条件に加味していないために上行大動脈の流れ場が異なったが, 遠位では形状により流れが形成されるためCFDとMRIで類似したと考えられた. 頸部や下行大動脈ではMRIの流量が過小評価されたためにWSSも過小評価されたと考えられた. ELは成人大動脈で誤差が大きい理由は, 小児大動脈疾患では狭窄などによる加速や流れの剥離がELを生じるが, 成人正常例ではELの多くが壁面との摩擦によるもので, MRIで捉えられない狭い領域で損失が起こっていたためと考えられた.

### 5. 結言

RNG k-eモデルは比較的精度よく血流を再現できる可能性が示唆された. 4D flow MRIに基づく血行力学指標算出は, WSSは小口径血管で過小評価する可能性が示され, エネルギー損失は小児大動脈疾患では比較的CFD計算結果と近い値が算出されることが示された.

### 文 献

- 1) Markl M., Frydychowicz A., Kozerke S., Hope M. and Wieben O.: 4D flow MRI. J Magn Reson, 36, 1015-1036, 2012.

## ラット下肢静脈の動脈化による血流分布と細静脈弁

小山富康\*

\* 元北海道大学

### 1. 緒言

閉塞性動脈硬化症(AO)は足指の虚血と強い痛みを伴って発症する。組織の壊死は次第に拡大して患者の生活を阻害する。血管外科領域では静脈に動脈枝を繋いで、静脈血管網を逆行性に動脈血で灌流する。この術式についてのラットモデルを作り、下肢の血流分布についての影響を検討した。

### 2. 実験方法

ラットをイソフルラン吸入麻酔下に背位に軽く固定し、angioplasty カテーテルガイドワイヤ(径 0.26mm)を、一群では鼠蹊部から左股静脈に挿入して、弁破壊した(DVAfem)。二群では膝部の静脈湾曲を考慮しながらカテーテルを操作して、膝窩静脈を経て踝まで静脈弁を破壊した(DVAfem/pop1)。血流の DVA による再配分の確認にはヨードシアニングリン生理的食塩液頸動脈注入を、血流分布の定性的測定にはサーモカメラを用いた。青は低温、赤は温暖、白は高温の指表である。この実験は旭川医科大学動物実験倫理規定に準拠して施行した。

### 3. 実験結果

蛍光物質による血行確認の試験 DVAfem(上段左)では左膝まで豊富な血流が認められたが、膝下へ

の流入は遮断されていた。膝窩静脈弁も破壊した DVAfem/pop1 例(上段右)では大量の蛍光物質が足底まで流れることが確認された。

この状況に対応して、ラット下肢の皮膚温度は DVAfem で対照側の右肢の皮膚温度が顕著に上昇した。しかし膝下温度は低下した(下段左)。一方 DVAfem/pop1 では手術側左の下肢の温度が高く大量の血液が流れていることが判る。

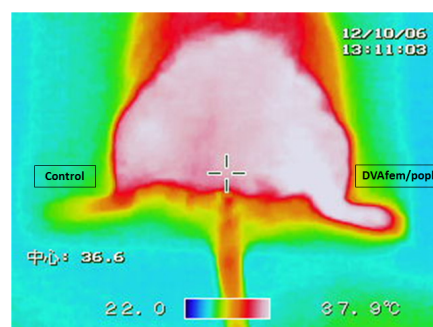
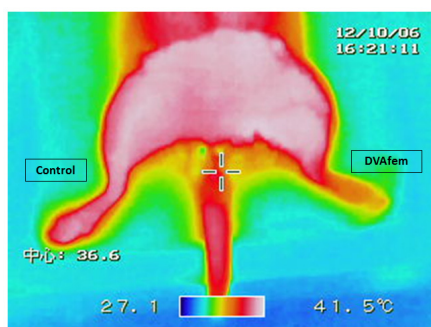
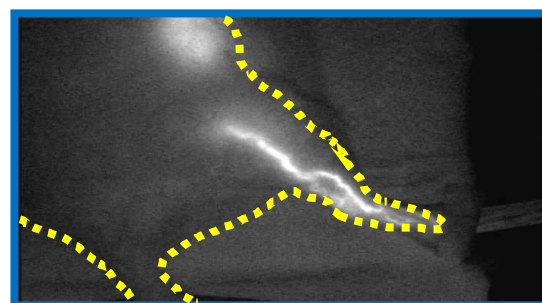
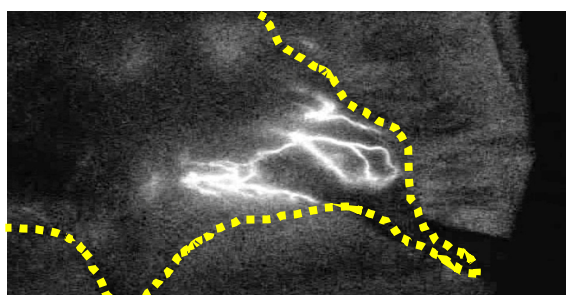
### 4. 考察

細静脈弁に動脈圧が加わると細静脈は押し広げられ弁の完全閉鎖は困難となる。このため細静脈弁まで破壊しなくても、動脈血の逆行性灌流により末梢組織の血流が維持されると推定される(Koyama, Seki et al. in press)。

### 結語

膝窩静脈の弁まで破壊すれば逆行性灌流により末梢血流は維持されと結論する。

**謝 辞** 関西学院大学関真知子教授に感謝申し上げます。本研究は旭川医科大学菊地博士、笹嶋名誉教授との共同研究である。



# 脳動脈瘤治療用多孔薄膜カバードステントの開発： 外弯側動脈瘤モデルにおける塞栓能評価

日高涼\*, 森脇健司\*\*, 田地川勉\*\*\*, 中山泰秀\*\*

\*関西大学大学院, 大阪府吹田市山手町 3-3-35

\*\*国立循環器病研究センター 生体医工学部, 大阪府吹田市藤白台 5-7-1

\*\*\*関西大学システム理工学部, 大阪府吹田市山手町 3-3-35

## 1. 緒言

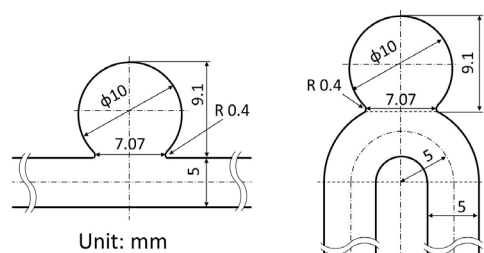
脳動脈瘤を低侵襲・簡便・確実に治療できるデバイスとして多孔薄膜カバードステントを開発している。多孔薄膜により親血管から瘤へ入る血流を抑制し、瘤内での血栓形成を促進し瘤塞栓する。我々は、多孔薄膜の開孔条件の最適化を目的として、生体外模擬実験による瘤塞栓能評価を行ってきた。これまで、真直ぐな親血管の側壁に嚢状動脈瘤を有するモデルにおいて開孔条件や動脈瘤形状が瘤塞栓性能に及ぼす影響を調べ、開口率によらず小径孔が塞栓に有効であることを明らかとした<sup>1,2)</sup>。

本研究では動脈瘤好発部位である親血管湾曲部外縁(外弯側)動脈瘤モデルにおける小径孔多孔薄膜留置による塞栓治療効果を調べ、直線血管モデルでの結果と比較検討した。

## 2. 実験方法

実験装置、条件等は既報<sup>1)</sup>と同様のため説明を割愛する。作動流体には 50 wt%グリセリン水溶液(密度 1130 kg/m<sup>3</sup>, 動粘度 4.4 mm<sup>2</sup>/s)を使用し, Reynolds 数が 170 - 960 になるよう流量を調整した。模擬実験の信頼性と再現性を向上させるため動脈瘤と親血管は 2 次元形状に簡単化した(図 1)。モデル厚は水力平均直径が対象血管径と一致するよう 5 mm とした。カバードステント模擬体として, 多孔化ステンレス薄板(孔直径 0.08 mm, 開口率 31%)を瘤ネック部に固定した。親血管モデルの曲率比(親血管半径/曲率半径)は, これまでの実験と同じ $\infty^{-1}$ の直管と, 内頸動脈サイフォン部を模擬した 1/2 の U 字曲管とした。

流れの可視化のための散乱粒子としてナイロンパウダー(密度 1020 kg/m<sup>3</sup>, 平均粒径 4  $\mu$ m)を用い, ダブ



(a) Straight vessel model (b) U-bent vessel model

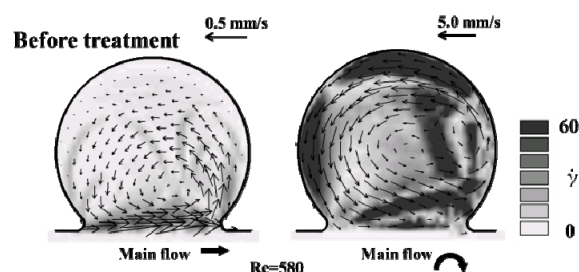
Fig. 1 Aneurysm and parent vessel models.

ルパルス Nd:YAG レーザ(波長 532 nm, 出力 50 mJ)により厚さ約 1 mm のシート光を照射することで瘤モデル内流れを高輝度化し, CCD カメラで側方から撮影した。可視化画像から PIV により瘤内の流速分布を求め, 100 時刻平均の流速ベクトル場からせん断速度分布を求め, 瘤内平均せん断速度を算出した。

## 3. 結果と考察

高せん断速度領域は, 従来の直管モデルでは瘤開口部付近に限局されていたが(図 2a), 曲管モデルでは, 瘤内全域に及んでいた(図 2b)。そのため, 瘤内平均せん断速度は, 曲管モデルは直管モデルに比べて約 6 倍高くなっていた(図 3)。しかし, 多孔薄膜を開口部に留置すると, 直管モデルの場合と同様に瘤内平均せん断速度は 6% 程度に大幅に低減させることができ, 瘤内の血流を大幅に抑制できる可能性が示唆された(図 3)。

多孔薄膜カバードステントは, 外弯側動脈瘤の塞栓治療にも有効であると期待された。



(a) Straight vessel model (b) U-bent vessel model

Fig. 2 Distributions of flow velocity and shear rate in each aneurysm models.

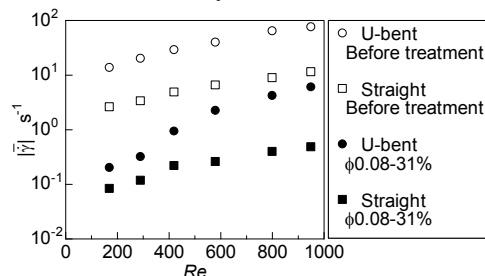


Fig. 3 Influence of area mean shear rate in an aneurysm model on difference of parent vessel shape.

## 文献

- 1) 田地川他, 機論 B, 79(801), pp.265-277,(2013).
- 2) 森脇他, 機講論, No.13-69, pp.425-426,(2014).

## ステント留置による血管分岐部における 脳動脈瘤内の血流特性変化に関する研究

松田龍哉\*, 益永康平\*, 入江恵子\*\*, 酒井康彦\*, 長田孝二\*, 伊藤靖仁\*

\*名古屋大学大学院 工学研究科 [〒464-8603 愛知県名古屋市千種区不老町]

\*\*藤田保健衛生大学 医学部 [〒470-1192 愛知県豊明市沓掛町田楽ケ窪 1-9-8]

### 1. 緒言

近年, 脳底動脈瘤に対してステント留置が血流特性に及ぼす変化を解明することが重要となっているが, 血管分岐角度が異なるケースにおいて, ステント留置が血流特性に及ぼす影響に関する研究は行われていない。

本研究では, 脳底動脈瘤のモデルにおいて, 血管分岐角度やステント留置形状による瘤内の血流特性への影響を把握するため, ステント留置を施した脳底動脈瘤のモデルに対して粒子画像流速計 (Particle Image Velocimetry: PIV) による計測, 及び CFD 解析を行った。

### 2. 実験方法

実験には脳底動脈先端部瘤を模擬した脳底動脈と後大脳動脈の角度が  $90^\circ$  と  $135^\circ$  のシリコンモデルを用いた。ステントの留置形状は, モデルの脳底動脈から左後大脳動脈に留置した Single-stent, Single-stent の状態からステントストラットの間を通して右後大脳動脈に留置した Y-stent, 及びステントを留置しない No-stent の 3 パターン (合計 6 つ) とした。作動流体には純水にグリセリンを混合したものをを用い, 流れ場は複数の患者データから得た拍動波形を元にした拍動流を対象とした。PIV 計測では, 流体に微細なトレーサ粒子を混入させ, レーザシートを照射することで粒子を可視化し, 相互相関法を用いて流速ベクトルを算出した。また CFD 解析にはオープンソースの数値流体解析コード OpenFOAM を用い, LES のサブグリッドスケールモデルには WALE モデルを用いた。

### 3. 実験結果

瘤中央断面の PIV 計測及び CFD 解析の結果を Fig.1 に示す。分岐角度が  $90^\circ$  のモデルの Single-stent と Y-stent, 及び  $135^\circ$  のモデルの Single-stent においては瘤内及び瘤頸部の作動状態には殆ど変化がみられなかった。一方,  $135^\circ$  のモデルの Y-stent では流出方向の流れが大きくなり, 瘤内及び瘤頸部の流速が大幅に減少した。以上の結果は, CFD 解析においても認められた。

### 4. 考察

近年の研究で, Gao らは, 脳底動脈瘤に Y-stent 留置を行った 15 例において, ステント留置により分岐血管が伸展され, 血管分岐角度が明らかに増大したと報告し

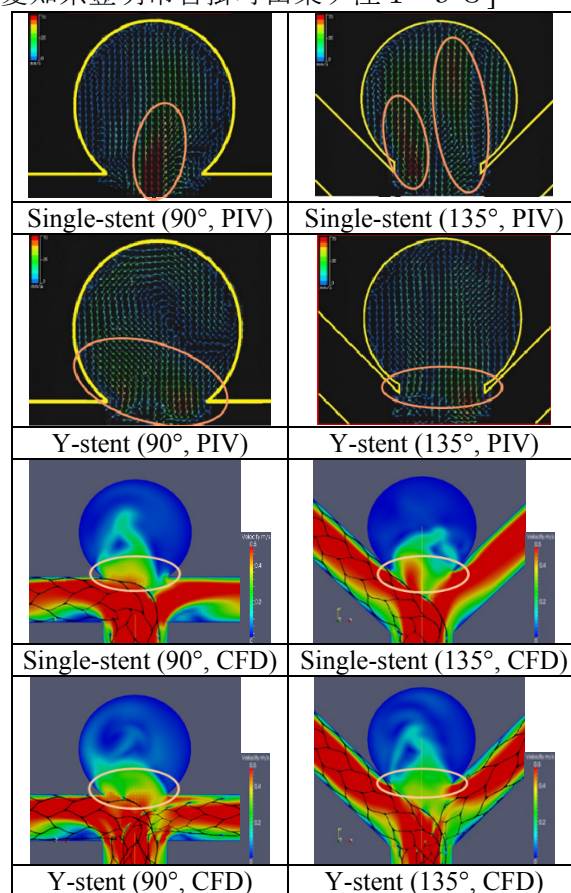


Fig. 1 Mean velocity profiles

ている<sup>1)</sup>。本研究においては, Y-stent 留置では, 血管分岐角度が増大すると瘤内及び瘤頸部における流速が減少する傾向が認められた。これより, Y-stent 留置で血管が直線化すると, 瘤内及び瘤頸部の流速の低下, 血栓化が促進され, 再開通および再増大を防ぐ可能性が示唆された。

### 5. 結言

今回の結果では,  $135^\circ$ モデルへの Y-stent 留置で瘤内及び瘤頸部の流速低下が顕著に認められた。したがって, 脳底動脈瘤において, ステント留置法として Y-stent が有効であり, 脳底動脈と後大脳動脈の角度が増大すると瘤内流速の停滞が促進されることが示唆された。

### 文 献

- 1) Gao, Bulang, et al. "Y-Stent Coiling of Basilar Bifurcation Aneurysms Induces a Dynamic Angular Vascular Remodeling With Alteration of the Apical Wall Shear Stress Pattern." *Neurosurgery* 2013, 72 (4): 617-629.

## 側副血行を考慮した頸動脈ステント前後の血流変化

深作和明<sup>1),6)</sup>、根来真<sup>2)</sup>、梁夫友<sup>3)</sup>、野田茂穂<sup>4)</sup>、姫野龍太郎<sup>4)</sup>、小西善史<sup>6)</sup>、  
永山和樹<sup>5)</sup>、奈良一成<sup>5)</sup>、塩川芳昭<sup>6)</sup>

- 1) 理化学研究所 光量子工学研究領域 エクストリームフォトンクス研究グループ  
画像情報処理研究チーム[〒351-0198 埼玉県和光市広沢 2-1]、
- 2) 一宮西病院 脳神経外科 血管内治療センター、
- 3) 上海交通大学船舶海洋与建筑工程学院、
- 4) 理化学研究所 情報基盤センター、
- 5) 碑文谷病院脳神経外科
- 6) 杏林大学脳神経外科

### 1. 緒言

頸部頸動脈の狭窄には血栓内膜剥離術 (CEA) や、血管内治療の一つであるステント留置術 (CAS) が行なわれる。これらの治療に伴い、過灌流現象を生じることある。そのシミュレーションには、血管拡張予備能と側副血行路を考慮する必要がある。

脳には血圧の変動に関わらず脳血流を一定に保つ自動調節能<sup>1)</sup>が備わっている。慢性的な灌流圧低下が生じると、この自動調節能が働き、末梢血管抵抗を下げるなどして血流を維持しようとする。そこで、頸動脈狭窄を解除すると、過灌流を生じる<sup>2)</sup>。また、脳にはウイリスの動脈輪 (CoW) が存在し、虚血時の有効な側副血行として作用しているが、破格が多く<sup>3)</sup>、輪が完成しないことがある。

CEA/CAS に伴う血流変化のシミュレーションのために局所的に Navier-Stokes の方程式を解くのではなく、全身の循環系をモデル化し、CoW のパターンを考慮したモデルを検討する<sup>4)</sup>こととした。

### 2. 実験方法

四肢、内臓の血管を含んだ全身の一次元血管系モデルを作成。各血管は長さ、血管径、流速と血管抵抗を持つが、三次元構造は持たない。本モデルで頸動脈に狭窄を与え、さらに頭蓋内血管の血管抵抗を減らして自動調整能を模した。頸部頸動脈の狭窄の有無による各大脳動脈の血流量を各種の CoW につき検討した。

### 3. 実験結果

CoW が完全に形成されていれば、過灌流の程度は低い、形成不全があると 200 % の増加がみられる場合もあった。

### 4. 考察

頸動脈狭窄の治療では、術後の過灌流が大きな問題であるが、それを予見することは容易ではな

い。シミュレーションによる検討が期待されるが、本疾患を扱う場合には、CoW 等の側副血行路や血管拡張能など種々の要因が影響を及ぼしている。

脳動脈瘤での三次元形状から Navier-Stokes 方程式を解く方法では、このような広い領域の変化を扱うのは難しい。そこで、問題を単純化して、細かな構造を持たない血管網を構築して検討した。

従来から、不完全な CoW は過灌流のリスクの一つとして指摘されてきたが、本検討では、前方循環が孤立していた場合には、流量が倍増しており、確実に過灌流を生じるという結果であった。CoW の評価の重要性を示せた。

### 5. 結言

頸動脈狭窄の治療における過灌流を全身の血管を含んだモデルでシミュレーションし CoW の形成不全が大きく影響することが示された。

### 文 献

- 1) Harper SL, et al. Arterial and microvascular contributions to cerebral cortical autoregulation in rats. *Am J Physiol.* 1984; 246(1 Pt 2):H17-24.
- 2) Adhiyaman V, Alexander S. Cerebral hyperperfusion syndrome following carotid endarterectomy. *QJM.* 2007; 100(4):239-244.
- 3) Tanaka H, et al. Relationship between variations in the circle of Willis and flow rates in internal carotid and basilar arteries determined by means of magnetic resonance imaging with semiautomated lumen segmentation: reference data from 125 healthy volunteers. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2006; 27(8):1770-5.
- 4) Liang F., Fukasaku K., Liu H., Takagi S. (2011). A computational model study of the influence of the anatomy of the circle of Willis on cerebral hyperperfusion following carotid artery surgery. *Biomed. Eng.* 10, 84. 10.1186/1475-925X-10-84

## 脳動脈瘤内の血流の衝突と瘤壁の壁細胞密度の関連

杉浦拓磨\*, 戸部泰貴\*, 川村公一\*\*, 八木高伸\*, \*\*\*, 林祥史\*\*\*\*, 梅津光生\*

\*早稲田大学 先進理工学研究科 [〒162-0072 東京都新宿区大久保 3-4-1]

\*\*秋田大学大学院医学系研究科医学部 病理解剖学講座 \*\*\*イービーエム株式会社 血流事業部

\*\*\*\*北原国際病院脳神経外科

### 1. 緒言

脳動脈瘤の進展機序解明に向けて、壁の菲薄部に着目し、血流との因果関係の解明を目指している。現在までに、数値流体解析(CFD)により、菲薄部と血流の衝突には相関関係があることが明らかとなった。そこで本研究では、脳動脈瘤内の血流の衝突の有無に応じた瘤壁性状の違いを明らかにすることを目的とした。

### 2. 実験方法

平均年齢 70 歳のヒト未破裂脳動脈瘤 3 症例を対象とした。血流と瘤壁性状を相互に比較するために、血流の特徴抽出には CFD 解析、瘤壁性状の病理分析には染色を用いた。CFD 解析は、健常者の一般的な波形を用いて、拍動解析を行った。一方、病理分析には、摘出組織に対して、ヘマトキシリン・エオジン染色を行った。さらに、細胞密度による定量評価を行った。血流の衝突・非衝突部に検査領域を設定し、領域内の細胞数、面積を計測し、細胞密度を算出した。本研究は、早稲田大学と北原国際病院の各々の倫理委員会で承認されている。

### 3. 実験結果

Fig. 1 に 1 症例の CFD 解析結果と病理分析結果を示す。壁面せん断ベクトルと圧力分布から、菲薄部(A)では衝突流れ(A1)、肥厚部(B)では非衝突流れ(回転流)が確認された(B1)。病理分析の結果、衝突部は壁細胞密度が低く(A2)、非衝突部は壁細胞密度が高い箇所と低い箇所が交互に存在していた(B2)。次に、Fig. 2 に衝突部、非衝突部における壁細胞密度の結果を示す。衝突部では 396 cells/mm<sup>2</sup>、非衝突部では 644 cells/mm<sup>2</sup>となり、衝突部は非衝突部より壁細胞密度が低いことが明らかとなった。

### 4. 考察

衝突部と非衝突部の壁細胞密度の違いに関して考察する。Carmeliet らは電氣的刺激によりラット血管壁を人工的に損傷させ、経過観察を行った<sup>1)</sup>。その結果、時間経過とともに、壁細胞密度が増加する傾向が確認され、血管壁の修復の進行と壁

細胞密度には関連があることが示唆された。以上のことを踏まえると、衝突部では非衝突部より瘤壁の修復の進行が遅延している可能性が考えられた。

### 5. 結言

脳動脈瘤内の衝突部は非衝突部よりも壁細胞密度が低いことが明らかとなった。これより、血流の衝突が壁細胞の増殖に影響を与え、菲薄化に関連している可能性が考えられた。

### 謝 辞

本研究は厚生労働科学研究費補助金(H24-医療機器一般\_006)の援助により行われた。関係者諸氏に御礼申し上げる。

### 文 献

- 1) Peter, C. and Lieve, M. et al.: Vascular Wound Healing and Neointima Formation Induced by Perivascular Electric Injury in Mice. *American Journal of pathology*, 1997, 150:761-776.

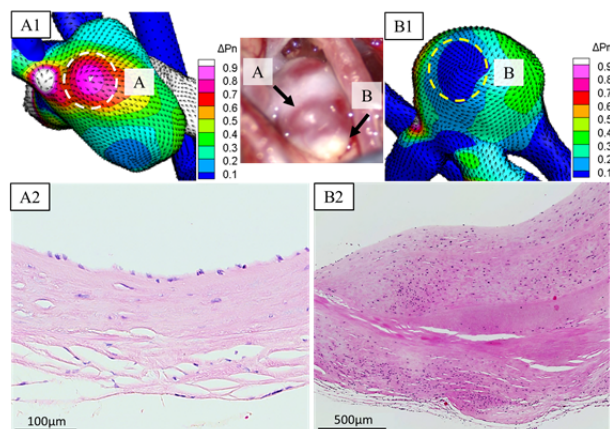


Fig.1 Example of CFD and histological analysis(HE staining) of unruptured aneurysms

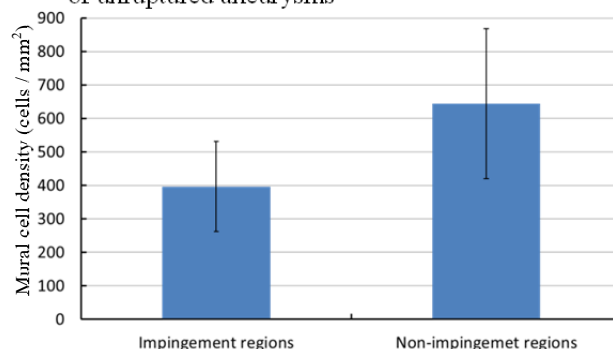


Fig.2 Comparison of mural cell density in impingement regions with non-impingement regions

## 弾性壁動脈瘤モデルの壁せん断応力の変動

徐 利建\*, ○山口隆平\*, 氏家 弘\*\*, 劉 浩\*

\* 千葉大学大学院 [〒135-8548 千葉市稲毛区弥生町 1 - 33]

\*\* 東京労災病院 脳神経外科

## 1. 緒言

前大脳動脈ACA: A1- A2から脳前交通動脈ACoAへの分岐部に発生した動脈瘤に着目し, 弾性を持つ球形動脈瘤モデルを用い, 流れパターン及びWSSの挙動を検討した. とくに, 拍動流における弾性瘤壁に生じるWSSのCFDによる結果を検討した.

## 2. 計算及び実験方法

計算に使用するモデル瘤の原型とした引用論文の実験モデルを, Fig.1に示す. 計算メッシュモデルを Fig.2に示す. ACA:A1 Diameter  $d_0=8\text{mm}$ , ACA:A2 Diameter  $d_2=6\text{mm}$ , ACoA Diameter  $d_1=3\text{mm}$ , 球形瘤部は Depth  $D=12\text{mm}$ , Neck size  $N=6\text{mm}$ , Aspect ratio  $AR (= D/N) = 2.0$ である. 解析は, ANSYS CFX14.5により行った. Min Size:  $0.55\text{mm}$ , Max Face Size:  $0.55\text{mm}$ , Max Size:  $1.1\text{mm}$ , 102926 Nodes, 527061 Elementsである. 瘤壁弾性を  $E=1.19\text{MPa}$ , Poisson ratio =  $0.4$ , 実験と同じ流体 Aqueous Glycerol, 動粘度  $\nu=7.00 \times 10^{-6}\text{m}^2/\text{s}$ , 密度  $\rho=1.15\text{g}/\text{cm}^3$ である.

平均レイノルズ数  $Re=435$ , 無次元振動数  $\alpha=4.0$ , 周期  $0.9\text{s}$ , 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, 代表的な時刻  $\omega t=0, \pi/2, \pi, 3\pi/2$ の結果を取り上げた. なお, 瘤内のWSSはネック部の両端をe点, o点とし  $15^\circ$  間隔で, 主管となるACA:A1の平均流量に相当するポアズユ流れのWSSで除し無次元化する. 壁近くの速度ベクトルの接線方向の速度

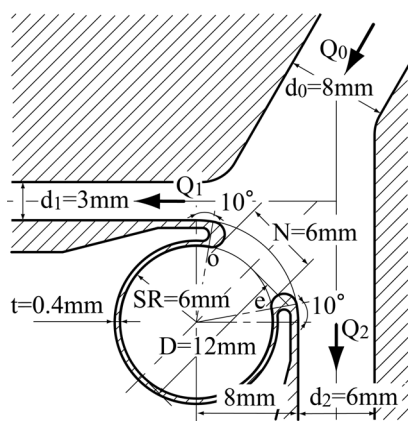


Fig.1 Schema of aneurysm model

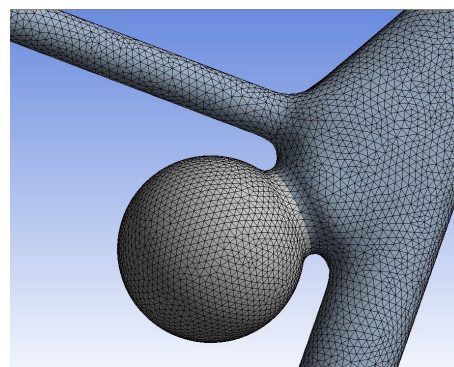


Fig.2 Mesh form of aneurysm model

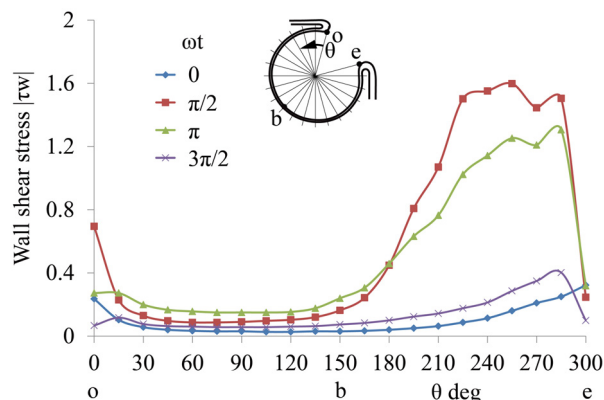


Fig.3 WSS inside elastic model in pulsatile flow

勾配からWSSを算出した.

## 3. 結果の比較および考察

瘤壁に沿うWSSの周期変化を, Fig.3に示す. 瘤ネック部の上流端e近くで最大値を取り, 瘤底部では小さな値を取る. とくに最大流量時  $\omega t=\pi/2$ に瘤壁上流端eのPeakが顕著に出る. 図示しないが剛体壁モデルと比べた場合, 瘤壁に沿う実験WSSの時間及び空間平均値は10%低減されたが, 計算においても同じく8%減少する.

したがって, 瘤壁の弾性はWSS緩和し, 動脈瘤の進展を緩和する効果がある. さらには, 血栓等の発生を抑制すること強く示唆する.

## 文献

Okada K., & Yamaguchi R., Flow Structure Pulsatile Flow in a Model of Elastic Cerebral Aneurysm, J Biorheology, 35-1(2011);1-7.

## 磁気共鳴流体力学に形体画像として用いる 磁気共鳴血管撮像データの位置ずれ改善とその効果

磯田治夫<sup>1)2)</sup>、吉永昭夫<sup>3)2)</sup>、市川和茂<sup>4)2)</sup>、福山篤司<sup>2)</sup>、小杉隆司<sup>5)</sup>

<sup>1)</sup>名古屋大学 脳とこころの研究センター [〒461-8673 名古屋市東区大幸南一丁目 1 番 20 号]

<sup>2)</sup>名古屋大学 大学院医学系研究科 医療技術学専攻, <sup>3)</sup> 京都第一日赤病院,

<sup>4)</sup>名古屋大学附属病院放射線部, <sup>5)</sup> (株) アールテック

### 1. 緒言

脳血管病変の発生に血流動態, 特に血管壁せん断応力 (wall shear stress, WSS) は重要である. WSS を正確に求めるには, 血管内血流ベクトルと血管壁の位置を正確に求める必要がある. 血管内の経時的三次元 3 軸速度を求める方法に三次元シネ位相コントラスト磁気共鳴法 (3D cine phase contrast magnetic resonance imaging, 3D cine PC MRI) があり, 血管壁の位置を求める方法に高空間分解能の三次元タイムオブフライト磁気共鳴血管撮像 (3D time of flight MR angiography, 3D TOF MRA) がある. しかし, シーケンスデザインの違いなどにより, 両者に空間的位置ずれが生じるため, WSS を正確に求めるには 3D TOF MR angiogram を 3D cine PC MR 画像にレジストレーションする必要がある, この方法に医用画像解析ソフトウェア Osirix のポイント設定による位置調整機能を使用する方法がある.

本研究の目的は磁気共鳴流体力学 (magnetic resonance fluid dynamics, MRFD) において Osirix の位置調整機能を用いて 3D TOF MR angiogram を 3D cine PC MR 画像にレジストレーションした時に, 流量や WSS が正確に求められるか否かを流体ファントムで検証すると共に, ヒトデータでも同様の処理を行い, その効果を確認することである.

### 2. 実験方法

ヒトデータの研究については, 本学生命倫理委員会の承認を得た.

ポンプで模擬血流を定常流で流したシリコン製の内径 3mm の Y 字型ファントムとシリコン製ヒト脳血管ファントムを本研究に用いた. これらを 3T MR 装置の 3D TOF MRA と 3D cine PC MRI で撮像し, 得られた 3D TOF MR angiogram を Osirix を用いて 3D cine PC MR 画像にレジストレーションした. 1 種類の形体画像と 3 軸エンコードした位相画像を使用する血流解析ソフトである Flova を用い, 3D cine PC MR 画像から得られる rephased image または, レジストレーション前後の 3D TOF MR angiogram を形体画像とし, 内径 3mm の Y 字

型ファントムでは時間平均流量・WSS, 脳血管ファントムでは各血管の時間平均流量と WSS を解析した. これらの時間平均流量・流速の解析値はコリオリ式デジタル流速計実測値と比較した. また, WSS の解析値は, Y 字型ファントムでは理論値と比較し, 脳血管ファントムでは WSS の偏りを評価した. ヒト脳血管データを用いた MRFD で同様に 3D TOF MR angiogram のレジストレーション前後で位置ずれ修正の効果を確認した.

### 3. 実験結果

内径 3mm の Y 字型ファントムの時間平均流量・WSS は 3D TOF MR angiogram のレジストレーションによる位置ずれ修正により改善した. 脳血管ファントムにおいてもレジストレーションにより時間平均流量が改善するとともに, WSS の空間的分布はレジストレーション前よりもレジストレーション後で偏りが改善された.

ヒト脳血管データを用いた MRFD で同様に 3D TOF MR angiogram のレジストレーション前後で位置ずれ修正の効果を WSS で確認したところ, WSS の空間的分布はレジストレーション前よりもレジストレーション後で偏りが改善された.

### 4. 考察

3D cine PC MR 画像と 3D TOF MR angiogram の位置ずれの原因として静磁場の磁力線の乱れ, 傾斜磁場の非線形性, 渦電流, シーケンスデザイン, 静磁場におけるポジション (磁場センターからの距離), パラメータ, 撮像対象の形状などが考えられた.

3D cine PC MR 画像にレジストレーションした 3D TOF MR angiogram を MRFD に用いれば, 各血管の流量も正確に求まり, これを用いた計算流体力学にも有用と思われた.

### 5. 結言

3D cine PC MR 画像にレジストレーションした 3D TOF MR angiogram を形体画像に用いた MRFD で, 流量や WSS が正確に求められることが確認できた.

## 脳血管を対象とした磁気共鳴流体力学の精度検証

磯田治夫<sup>1)2)</sup>, 市川和茂<sup>3)2)</sup>, 福山篤司<sup>2)</sup>, 小森芳秋<sup>4)</sup>, 小杉隆司<sup>5)</sup>, 大西有希<sup>6)</sup>,  
竹原康雄<sup>7)</sup>, 長縄慎二<sup>8)</sup>

<sup>1)</sup>名古屋大学 脳とこころの研究センター [〒461-8673 名古屋市東区大幸南一丁目 1 番 20 号]

<sup>2)</sup>名古屋大学 大学院医学系研究科 医療技術学専攻, <sup>3)</sup>名古屋大学 医学部附属病院放射線部,

<sup>4)</sup>シーメンス・ジャパン株式会社, <sup>5)</sup>株式会社アールテック, <sup>6)</sup>東京工業大学 大学院情報理工学研究科  
情報環境学専攻, <sup>7)</sup>浜松医科大学 医学部附属病院放射線部,

<sup>8)</sup>名古屋大学大学院 医学系研究科総合医学専攻 高次医用科学講座

### 1. 緒言

脳動脈瘤の発生、成長、破裂に血流動態、特に血管壁せん断応力 (wall shear stress, WSS) が重要な働きをしており、脳血流動態の評価は重要である。三次元シネ位相コントラスト磁気共鳴法 (3D cine phase contrast magnetic resonance imaging, 3D cine PC MRI) <sup>1)</sup>で得たデータを基にした磁気共鳴流体力学 (MR fluid dynamics, MRFD) <sup>2)</sup>は脳血流動態を評価する方法として有望である。また、この流量情報を境界条件とした計算流体力学 (Computational fluid dynamics, CFD)も有望である。これらのため、MRFDの精度検証として、内径 3.1 mm 直管ファントムと脳血管ファントムを用いた MRFD の脳血流動態と WSS の精度検証を行った。

### 2. 実験方法

内頸動脈 (internal carotid artery, ICA) から中大脳動脈 (middle cerebral artery, MCA) の血管径を模擬した内径 3.1 mm 直管ファントムに模擬血液を時間平均流量 2.50 ml/sec の定常流で循環させ、3T の MR 装置を用い、3D cine PC MRI を施行した。血流解析ソフト Flova を用いて得られた時間平均流量、WSS の解析値をそれぞれコリオリ流量計で得られた実測値、理論値と比較した。

ヒトデータの研究については、本学生命倫理委員会の承認を得た。左 ICA, 左前大脳動脈 (anterior cerebral artery, ACA), 左 MCA, 左内頸動脈後交通動脈分岐部動脈瘤 (internal carotid-posterior communicating artery aneurysm, IC-PC An) からなる脳血管ファントムに模擬血液を定常流で循環させ、3T の MR 装置を用い、3D time-of-flight (TOF) MR angiogram を形体画像とする MRFD を施行した。この時、ICA の時間平均流量は 7.59 ml/sec, 4.63 ml/sec, 2.84 ml/sec の定常流となるように設定した。得られた ICA, ACA, MCA の時間平均流量の解析値を流量計で得られた実測値と比較した。また、流量計の値を境界条件とし、3D TOF MR

angiogram を形状に用いた CFD も行い、ICA と IC-PC An における x 方向, y 方向, z 方向の流速及び 3 軸合成速度と WSS の解析値を CFD から得られた基準値と比較し、相関を求めた。

なお、MRFD の形状に用いた 3D TOF MRA データは 3D cine PC MR データにレジストレーションして用いた。

### 3. 実験結果

直管ファントムの時間平均流量、WSS の相対誤差はそれぞれ 4%, 6% であった。

脳血管ファントムの ICA, ACA, MCA の時間平均流量の相対誤差は 10%~30% であった。ICA における流速及び 3 軸合成速度の相関係数は 0.60~0.94, WSS の相関係数は 0.68~0.72 であった。一方、IC-PC An における流速及び 3 軸合成速度の相関係数は 0.58~0.94, WSS の相関係数は 0.34~0.63 であった。

### 4. 考察

直管ファントムと脳血管ファントムの MRFD における流量精度は良好であり、CFD の境界条件として使用できる可能性が示唆された。

### 5. 結言

直管並びにヒト脳血管ファントムを用いて MRFD の精度検証を行ったところ、時間平均流量の測定精度は比較的良好であった。また、MRFD の WSS の測定精度は IC-PC An では不良であったが、直管ファントムや脳血管ファントムの ICA では良好であった。

### 文 献

- 1) Markl M, Chan FP, Alley MT, et al. Time-resolved three-dimensional phase-contrast MRI. *J Magn Reson Imaging* 17, 499-506, 2003.
- 2) Isoda H, Ohkura Y, Kosugi T, et al. Comparison of hemodynamics of intracranial aneurysms between MR fluid dynamics using 3D cine phase-contrast MRI and MR-based computational fluid dynamics. *Neuroradiology* 52, 913-20, 2010.

## 赤血球のレオロジーと微小循環系の機能

前田 信治

愛媛大学医学部生理学

生体内の全ての臓器において細動脈-毛細血管-細静脈から構成される微小循環系の構築状態は臓器によって異なるが、この微小循環の場において血液と臓器・組織細胞との間に様々な物質の交換が行われる。この物質交換の効率が各臓器の機能に大きな影響を与え、その効率の低下によって様々な病態が発現する。特に、血液から組織への酸素の輸送は生体の機能にとっては最も重要であり、酸素輸送の効率が良ければ、他の物質の輸送を考慮しなくてもよいと言って過言ではない。

末梢の組織における微小循環領域からの酸素の輸送効率は毛細血管領域で最大となるが、細動脈や細静脈領域においても酸素の分圧差によって量的に有意な輸送が行われる。その輸送は血管内から血管外に限らず、時に細静脈領域では血管外から血管内への拡散が起こり、組織は均質に酸素化されると言われる。末梢の組織におけるこの酸素の輸送は、微小循環系の構築状態、血液、特に赤血球の循環状態、血管壁の構築状態に依存している。本講演では、これらの要因の中でも特に赤血球のレオロジー的性質、赤血球の循環状態、そして酸素輸送との関連性に注目して長年研究を続けてきた成果の一部を紹介する。

血液の循環はポアズイユの法則に示すとおり、血液の粘度に逆比例する。この血液の粘度に影響する要因がその主成分である赤血球の量（ヘマトクリット）、赤血球の変形能と集合能、血漿の粘度である。これらの要因は相互に関連し合っており、循環障害の原因を一つの要因に求めることは難しい。例えば、血漿中にフィブリノーゲンが増量すると、血漿粘度が上昇し、同時に赤血球集合が亢進して血液粘度が増す。

血液の循環と酸素の輸送との関係では、赤血球量が増すと、酸素の運搬量は増大するが、血液の

粘度が増すために組織への循環血液量が減少する。赤血球の変形能が低下すれば、赤血球の直径よりも狭い毛細血管での通過が障害されるとともに、赤血球内部の攪拌が妨げられて酸素の放出が損なわれる。また、血漿中に高分子物質が増量すると、赤血球の集合現象が起こりやすくなる。病的に赤血球集合が亢進すると、末梢組織における微小循環に渋滞が発生するとともに、赤血球集合体内部から外部へ向けての酸素の拡散距離が増大して酸素の輸送が妨げられる。このような酸素の拡散障害は物理的にも発生する。例えば、血管の走行と直角方向から強力な重力が加わるような場合、血漿よりも比重の高い赤血球は血管の中心軸から偏移して血管壁に押しやられ、集まって流れる。酸素輸送の点では、赤血球集合が亢進した場合と類似の現象が発生する。特に貧血状態では顕著となり、酸素の輸送が有意に低下する。

赤血球のレオロジー的性質、赤血球の循環状態、酸素輸送は密接に関連している。微小循環系における相互の関連性はガラス管、単離腸間膜の微小血管、酸素透過性のあるフッ化エチレン・プロピレン共重合体細管を用いて研究された。赤血球の流動挙動に関する研究結果は定性的には相互に類似しているが、とりわけ流路の弾性によって定量的に異なることを紹介する。

微小循環系における血液レオロジーの重要性は明らかであるが、個々のメカニズムに関する未解決の問題も多い。臨床的にも様々な病態との関連性を指摘する研究報告は多いが、実地臨床の場においてその成果が治療に有効に活用されているとは言い難い。多分野間の相互連携による研究の推進、バイオレオロジストと臨床医との連携による研究成果の活用が重要である。

## 透析によって調製される異方性コラーゲンの形成機構と構造の研究

古澤和也\*

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

### 1. 緒言

組織工学では、細胞と細胞足場素材の組み合わせによって人工的に再生組織を構築し失われた生体組織や臓器の機能を再生することを目的としている。近年、組織工学の技術の発展に対する社会からの注目と期待はますます高くなってきている。しかしながら、骨や腎臓などの組織や臓器を細胞培養によって丸ごと構築するためには、解決しなければならない課題がまだ多く残されている。

一つは、細胞を単純に集めて巨大な塊にした場合、塊が大きくなるほど中心部への栄養や酸素の供給が追いつかなくなり、中心部の組織が壊死してしまうことである。この課題を解決するためには、組織の中心部まで効率的かつ機能的に栄養や酸素を届ける輸送経路を構築することが必要不可欠である。また、骨の優れた力学特性や、腎臓の老廃物排出機能などは、それぞれの組織や臓器に特徴的な階層構造に基づいている。それゆえ、組織や臓器の複雑な階層構造を再現することも、機能的な再生組織や臓器を構築するために必要となる。

これらの課題を解決するための戦略として、組織や臓器の階層構造の骨組みとなる細胞外基質を構築することが挙げられる。この研究では、透析による異方性ゲル調製技術を細胞外基質の主成分であるコラーゲンに応用することで、生体模倣的な階層構造を持つ細胞足場素材を構築する方法を提供する。この方法で調製されたコラーゲンはコラーゲン線維の配向構造だけでなく巨視的な多管構造も持っている<sup>1</sup>。このことから、この異方性コラーゲンのことをマルチチャンネルコラーゲンゲル (MCCG) と名づけた。MCCG の構造的特徴は、生体組織の階層構造を良く模倣している。従って、MCCG は、複雑な階層構造を持つ再生組織を構築するための細胞足場として利用することが可能である。

講演では、MCCG の構造や形成機構について簡単に説明するとともに、いろいろな形態の MCCG のつくり方や、MCCG を用いた組織構築例などについて報告する。

### 2. 実験方法

ウシ真皮由来のアテロコラーゲン水溶液を (5 mg/mL, pH 3.0, KOKEN Co. Ltd.) を実験に用いた。MCCG を次の方法で調製した。5 mm×5 mm の矩形の孔が開いた厚さ 1 mm のシリコンゴムシートを 35 mm プラスチックディッシュに置き、この孔にコラーゲン水溶液を充填した。次にこの上に透析膜を置き、さらにその上にガラスリングを置いた。最後に、20 mM の Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> と 13 mM の KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> を含むリン酸緩衝液 (pH 7.1) をガラスリング内に注ぐことで MCCG を調製した。MCCG の構造を共焦点走査型レーザー顕微鏡 (CSLM) で観察した。MCCG の多管構造の形成過程を時間分解位相差顕微鏡法により調査した。

### 3. 実験結果と考察

MCCG の CSLM による構造解析により、同一焦点面のチャンネルの径がほぼ同じ直径であること、ゲル表面から離れるに従ってチャンネルの径が増加しつつチャンネルの数が減少することが明らかとなった。高倍率の CSLM 像の撮影により、コラーゲン線維がチャンネルの壁に沿って配向していることが明らかとなった。

時間分解位相差顕微鏡観察により、チャンネルの径の時間変化を測定した。その結果、チャンネル径が時間の 1/3 乗に比例して増加する挙動が観察された。このことは、MCCG のマルチチャンネル構造の形成機構にコラーゲン水溶液のスピンノーダル分解が関与していることを示唆している。

### 文 献

- 1) Furusawa, K., Sato, S., Masumoto, J., Hanazaki, Y., Maki, Y., Dobashi, T., Yamamoto, T., Fukui, A., Sasaki, N.: Studies on the formation mechanism and the structure of the anisotropic collagen gel prepared by dialysis-induced anisotropic gelation. *Biomacromolecules*, **13**, 29-39, 2012.

## マルチチャンネルコラーゲンゲルを用いた上皮管腔組織の構築

古澤和也\*, 町野ひろみ\*\*, 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 北海道札幌市北区北 10 条西 8 丁目]

\*\* 北海道大学 理学部生物科学科 (高分子機能学) [〒060-0810 北海道札幌市北区北 10 条西 8 丁目]

### 1. はじめに

生体内には血管や尿細管などの様々な上皮管腔組織がある。これらの管腔組織は体液の各組織への輸送経路や老廃物の排出経路など生体内の循環機能を担う重要な役割を持っている。一方で、上皮管腔組織を再生組織内に構築する技術は、より巨大かつ機能的な再生組織を構築するために極めて重要である。また、生体内の上皮管腔組織の多くは、分岐と合流によってつくられる複雑な網目状の構造を持っており、効率的な酸素・栄養の運搬などの上皮管腔組織の機能と密接に結びついている。従って、機能的な上皮管腔組織を構築するためには、生体内の上皮管腔組織の構造を再現する必要がある。この課題を解決するためには、上皮管腔組織の構造を模倣した細胞足場を鋳型として利用することが一つの戦略として挙げられる。

コラーゲン水溶液をリン酸緩衝液中に透析するとコラーゲン線維の配向構造と多管構造を持つコラーゲンゲル (マルチチャンネルコラーゲンゲル:MCCG) を調製することができる<sup>1</sup>。Figure 1 に円盤状の MCCG の写真を示した。各チャンネルの直径はゲルの縁から中心に近づくにつれて径が大きくなり、一方で、チャンネルの数はゲルの縁から中心に近づくにつれて減少する。この構造的特徴は、生体内の血管網などの上皮管腔組織の特徴を模倣している。このことは、MCCG が生体模倣的な上皮管腔組織を構築するための鋳型として利用可能であることを示唆している。そこで本研究では、MCCG を用いて血管や尿細管などの上皮管腔組織を構築する方法を確立する。

### 2. 実験方法

実験にはウシ真皮由来のアテロコラーゲンゲル (5 mg/mL, pH 3.0, KOKEN Co. Ltd.) を用いた。本研究では、次の方法で円柱状の MCCG を調製した。直径 8 mm の孔が開いた厚さ 1 mm のシリコンゴムシートを 6 穴プレートに置き、この孔にコラーゲン水溶液を充填した。次にこの上に透析膜を置いた。最後に、27 mM の  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  と 6.5 mM の  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  を含むリン酸緩衝液 (pH 7.4) を注ぐことで MCCG を調製した。調製されたままの MCCG の表面には

薄い均一なゲルの膜があり、この膜は MCCG 内部への細胞の浸潤を妨げる。そこで、この膜をコラーゲナーゼ処理により消化除去した。次に、コラーゲナーゼの活性を停止するための EDTA と MCCG の力学的強度を向上させるための天然由来の化学架橋剤ゲニピンを含む水溶液で MCCG を処理し、PBS (-) で十分に洗浄したものを細胞足場として利用した。本研究では、ウシ頸動脈由来血管内皮細胞 (HH) とイヌ腎臓尿細管由来上皮細胞 (MDCK) を、MCCG に播種した。一定期間の培養後、共焦点走査型レーザー顕微鏡法 (CSLM 法) により、MCCG 内部に構築された上皮管腔構造を観察した。

### 3. 実験結果と考察

Figure 1 に MCCG を用いて MDCK を培養することで構築した上皮管腔組織の CSLM 像を示した。少なくともゲル表面から 80  $\mu\text{m}$  の深さまでは、MDCK からなる管腔構造が形成されていることが示された。HH を用いた場合にも、MCCG 内部に管腔構造を構築することに成功した。これらの結果は、MCCG が血管や尿細管などの上皮管腔組織の鋳型として利用可能であることを示している。

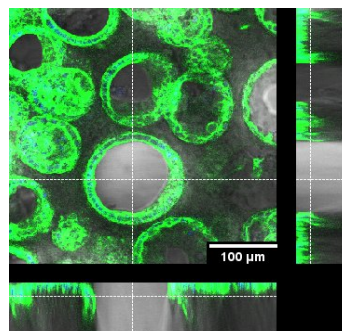


Figure 1. CSLM image for epithelial lumen structures consisted of MDCK cells formed in MCCG. Green: Actin, Blue: Nucleus.

### 文 献

- 1) Furusawa, K., Sato, S., Masumoto, J., Hanazaki, Y., Maki, Y., Dobashi, T., Yamamoto, T., Fukui, A., Sasaki, N.: Studies on the formation mechanism and the structure of the anisotropic collagen gel prepared by dialysis-induced anisotropic gelation. *Biomacromolecules*, **13**, 29-39, 2012.

## 連続流血液ポンプ内血栓の光イメージング

迫田大輔\*, 村重智崇\*\*, 小阪亮\*, 西田正浩\*, 丸山修\*

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

\*\*東京理科大学大学院

### 1. 緒言

人工心臓、人工肺等の心血管系デバイス内の血栓形成メカニズムの解明、定量的な抗血栓性評価法の確立、臨床における抗凝固管理の最適化への貢献を目指した、血栓の非侵襲近赤外光イメージング法の開発を行った。

### 2. 実験方法

in vitro において連続流血液ポンプの抗血栓性試験を行った。血液は採血後 24 時間以内のクエン酸抗凝固ウシ全血を使用した。血液ポンプ、ヘパリンコーティング塩化ビニルチューブ及びリザーバーパックから成る模擬循環路を構成した。血液ポンプには産総研で開発中の動圧浮上遠心血液ポンプを使用した。実験開始時に、2%塩化カルシウムを回路に注入し、血液の活性化凝固 (Activated Clotting Time: ACT) を  $197 \pm 48$  sec (N=5) とした。2780rpm、1L/min で循環した。光源としてハロゲンランプを使用し、ランプからの光を光ファイバーで導き、血液ポンプ上面及び仮面から照射して、その透過光及び反射光をハイパースペクトラルカメラ (HSi-300, Gooch & Housego Inc., UK) にて撮影した。血栓形成によりポンプ流量が 0.8 L/min を下回ったとき、ヘパリンを 3000 単位回路に注入して実験を終了した。

### 3. 実験結果

Fig. 1 に実験後のポンプ内血栓の写真を示す。血栓はインペラ内流路の中心付近に形成されていた。Fig. 2 に血液ポンプ透過光ハイパースペクトラルイメージングによって得られた、血液ポンプ透過光のスペクトルを示す。血栓形成領域において波長 670nm 以上で透過光の増加が認められた。

### 4. 考察

Fig. 2 により、波長 670nm 以上の近赤外光を利用することで、血栓イメージングの可能性が考えられた。そこで、スペクトル変化を表す指標  $\tau$  (750nm と輝度値が等しくなる波長) を提案した。血液  $\tau_{\text{Blood}}=644\text{nm}$  程度であり、血栓になることで、 $\tau_{\text{Thrombus}} > \tau_{\text{Blood}}$  が成り立つことが考えられた。 $\tau > 644\text{nm}$  領域を抽出した結果を Fig. 3 に示す。Fig. 1

と Fig. 3 の比較により、血液ポンプ内血栓領域との対応を得ることができた。

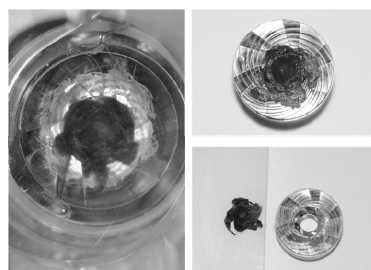


Fig.1 Thrombus formation in a rotary blood pump

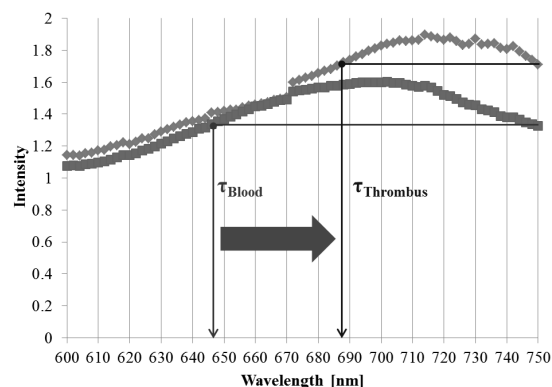


Fig.2 Transmitted light spectrum of blood and thrombus in a rotary blood pump

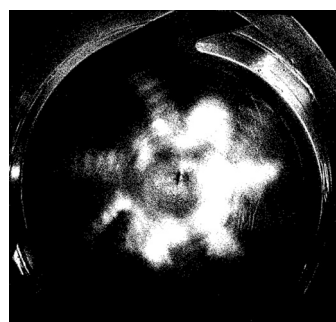


Fig.3 Optical imaging of thrombus formation in a rotary blood pump

### 5. 結言

ハイパースペクトラルイメージングにより、血液と血栓の近赤外波長帯のスペクトル変化を明らかにし、血栓の非侵襲イメージングの可能性が示唆された。

## ヒト IPS 細胞由来心筋細胞シートへの灌流血管網導入技術の開発

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 理工学術院 [〒162-8480 東京都新宿区若松町 2-2 TWIns]

\*\*東京女子医科大学 先端生命医科学研究所

### 1. 緒言

循環器疾患は我が国における三大死因の一つであり, この根治療法として組織工学を基盤とした組織再生医療が期待されている. 本研究室では低温度に応答して細胞が剥離する培養皿を用いて細胞をシート状に形成し, 積層することで心臓組織の構築を目指している<sup>1)</sup>. しかしながら単に細胞シートを重ねるだけでは高密度の細胞群であるために酸素・栄養素の供給や老廃物の除去が困難である. そこで, 微小な流路を有するコラーゲンゲル上に血管網付きのラット由来心筋細胞シートの培養を行った. 結果, 細胞シート内の血管網ネットワークがコラーゲンゲルの微小流路と結合し, 新鮮な培養液を流すことに成功しラット心筋シートを多層構築することに成功した<sup>2)</sup>. 本報告では同様のコラーゲン灌流培養装置を用いることで, iPS細胞由来のヒト心筋細胞用いて灌流可能な血管網導入の技術の検討をおこなった.

### 2. 実験方法

細動脈を模擬したトンネルを有したコラーゲンゲルに培養液を灌流させることで, コラーゲンゲル内に内皮細胞が血管ネットワークを構築するかを検討した. コラーゲン内に播種する HUVEC は  $2.0 \times 10^6$ ,  $4.0 \times 10^6$  cells/mL の 2 条件, 灌流量を静置, 0.1 mL/min, 0.5 mL/min の 3 条件で 7 日間灌流培養を行った. 内皮細胞を染色した後にコラーゲンゲル内の血管網の状態を観察した. 次に HUVEC 及び NHDF, また iPS 細胞から分化させたヒト心筋細胞を温度応答性培養皿上で共培養し 4 日後に細胞シートとして回収した後, 血管網付きコラーゲンゲル上で灌流量 0.1 mL/min, 7 日間培養をおこなった. 得られた培養組織を染色し, 血管網を観察し, 切片からコラーゲンゲルへの細胞浸潤, 血管網形成の観点から組織学的評価をおこなった.

### 3. 実験結果

コラーゲンゲル内に内皮細胞を播種して血管網の発達を観察した結果, 播種濃度  $4.0 \times 10^6$  cells/mL においては, 灌流量 0.1 mL/min においては内皮細胞の伸長が確認できた. このことから, 細胞播種濃度  $4.0 \times 10^6$  cells/mL, 灌流量 0.1 mL/min において, 灌流可能な血管網付きコラーゲンゲル作製できた.

次に, 心筋細胞 : HUVEC : NHDF = 2 : 1 : 2 の割合で作製した細胞シートを血管網コラーゲンゲルに載せて灌流培養した結果, 細胞シート内に管腔化した内皮細胞ネットワークを確認した. (Fig. 1) さらに灌流培養期間の 7 日間, 細胞シートの自律拍動も確認された. ヒト心筋細胞シートにおいても血管網付き組織の構築が可能になった.

### 4. 結言

本研究ではヒト心筋細胞シートにおいても血管網付き組織の構築が可能になり, 今後細胞シートを積層化していくことで, 厚い 3 次元組織の構築が期待できる.

### 文 献

- 1) Shimizu T, et al.: Polysurgery of cell sheet grafts overcomes diffusion limits to produce thick, vascularized myocardial tissues. *FASEB J.* 20, 392–394
- 2) Sakaguchi K, et al.: In vitro engineering of vascularized tissue surrogate. *Sci. Rep.* 3, 1316, 2013

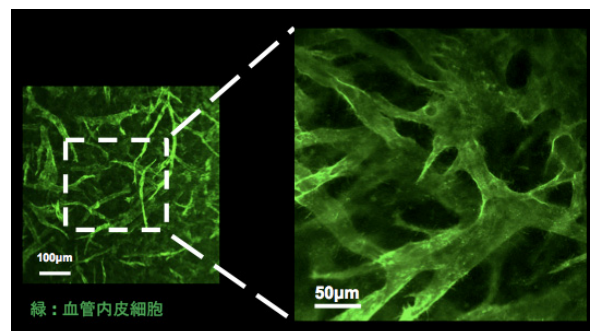


Figure 1 Vascularized human cardiac cell sheet from iPS cells on the collagen bed

## 肺動脈弁用ステントバイオバルブの *IN VITRO* 機能評価

○住倉博仁\*, 中山泰秀\*\*, 大沼健太郎\*, 武輪能明\*, 巽 英介\*

\*国立循環器病研究センター研究所 人工臓器部 [〒565-5865 大阪府吹田市藤白台 5-7-1]

\*\*国立循環器病研究センター研究所 生体医工学部

### 1. 緒言

我々は、皮下などの体内を組織構築の場(バイオリクター)にして自己組織からなる移植片を作成する新しい生体内組織形成術(In body tissue architecture technology)を応用し、現在までに大動脈弁置換用バイオバルブ、およびステントバイオバルブの開発を行ってきた<sup>1),2)</sup>。今回、生体内組織形成術と新たなステントバルブ作製法とを組み合わせることによって、肺動脈弁用ステントバイオバルブの開発を行った。本研究では、作製したステントバイオバルブの弁機能に関し、拍動流回路を用いた *in vitro* 機能評価を行った。

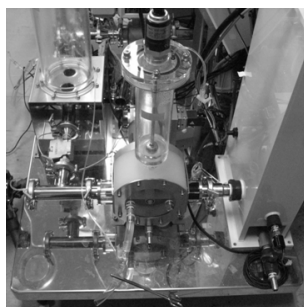
### 2. 実験方法

特別に設計したステントと円柱型アクリル基材を組み合わせた鋳型をヤギの皮下に埋込した。約一カ月後に摘出し、アクリル基材を除去することでステントに結合組織が含浸したチューブ構造物を得た。チューブ構造物の軸方向半分を内側に完全に折り返し重ね、交連部を縫着し三葉弁を形成することでステントバイオバルブ(内径 25 mm)を得た(Fig.1 (a))。

作製したステントバイオバルブについて、拍動流回路を用いた *in vitro* 機能評価試験を行った(Fig.1 (b))<sup>3)</sup>。ステントバイオバルブは拍動流回路の肺動脈弁位置に接続した。回路の作動流体は 37°C の生理食塩水を用いた。実験は、肺循環系の圧力負荷に対するステントバイオバルブの弁機能に関し検討を行った。



(a) Stent-biovalve



(b) Pulsatile circulation

Fig. 1 Photograph of stent-biovalve and pulsatile

circulation

### 3. 実験結果, および考察

拍動数 70-120 bpm, 平均肺動脈圧約 18 mm Hg における拍出量は 6.2-7.6 L/min であった。その時のステントバイオバルブの平均逆流率は約 11% であった(図2)。ステントバイオバルブの主な逆流は、弁葉を閉じる際の逆流(closing volume)であり、拡張期における漏れ(leakage volume)はほとんど確認されなかった。このことから、弁葉の閉鎖特性を改善することで肺動脈弁用として適用可能な性能を有していることが確認された。

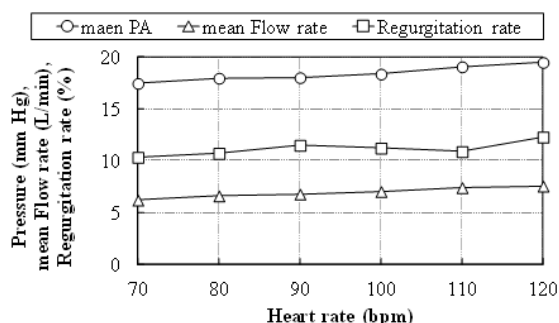


Fig. 2 Valvular function of stent-biovalve

### 4. 結言

本研究では、肺動脈用ステントバイオバルブを作製し、拍動流回路を用いた生体外機能評価を行った。その結果、ステントバイオバルブは肺動脈弁用として適用可能な性能を有していることが確認された。

### 文 献

- 1) Takewa Y, Yamanami M, Kishimoto Y, Arakawa M, Kanda K, Matsui Y, Oie T, Ishibashi-Ueda H, Tajikawa T, Ohba K, Yaku H, Taenaka Y, Tatsumi E, Nakayama Y., In vivo evaluation of an in-body, tissue-engineered, completely autologous valved conduit (biovalve type VI) as an aortic valve in a goat model., J Artif Organs. 2013 Jun;16(2):176-84.
- 2) Mizuno T, Takewa Y, Sumikura H, Ohnuma K, Moriwaki T, Yamanami M, Oie T, Tatsumi E, Uechi M, Nakayama Y., Preparation of an autologous heart valve with a stent (stent-biovalve) using the stent eversion method., J Biomed Mater Res B Appl Biomater. 2013 Dec 9. [Epub ahead of print]
- 3) Sumikura H, Homma A, Ohnuma K, Taenaka Y, Takewa Y, Mukabayashi H, Katano K, Tatsumi E., Development and evaluation of endurance test system for ventricular assist devices, J Artif Organs 2013 Jun;16(2):138-48

# 新技術 Scaffold free 3 D細胞プリンターを用いた臓器再生- ヒト間葉系幹細胞から作成した尿道臓器再生と免疫不全ラットへの尿道移植-

山本徳則\*, 舟橋康人, 松川宣久, 魚返拓利\*\*, 口石幸治\*\*  
中山功一\*, 後藤百万\*\*

\*名古屋大学医学系研究科 泌尿器科 [〒466-8550 名古屋市昭和区鶴舞町 65]  
佐賀大学 工学部\*, 株式会社 サイフューズ\*\*

## 1. 緒言

尿道は尿路の最も出口位置し尿のレオロジーを制御している重要な臓器の一つである。その再生は口腔粘膜用いた再建術が行われているが尿道臓器までの臓器再生までは至っていない<sup>3)</sup>。また、本教室は、臨床治において間葉系幹細胞(末梢血幹細胞)を用いて、進行精巣腫瘍に対する大量化学療法の副作用予防に用いている。さらに間葉系幹細胞(脂肪組織幹細胞)を難治性腹圧性尿失禁臨床研究を行っている<sup>1)2)</sup>。そこで、今回ヒト間葉系幹細胞(ロンザ社)を集塊培養を行い、中山功一先生が新規開発した Scaffold free 3 D細胞プリンターシステムを用いてヒト尿道構造物を作成し、免疫不全ラットへの尿道移植を試みた。

## 2. 実験方法

1) 細胞塊、3 Dデータおよび剣山準備

a) 細胞塊: 細胞塊目的とする組織、臓器の機能に応じて細胞を選択し、必要な量の細胞を用意します。低接着性のマイクロプレートで細胞を数万個ずつ培養することにより自然に凝集させ、ヒト間葉系幹細胞を直径500ミクロン(0.5ミリメートル)細胞塊を作成する。

b) 3 Dデータ: 専用ソフトウェアで細胞塊の3次元配置を指定して3 Dデータを作成する。

c) 剣山準備: 直径100-200ミクロン程度のステンレス針を300-400ミクロンのピッチで並べた細胞塊積層用の足場を作成する。

2) 細胞塊、3 Dprinting

BRP systemとは培養細胞を集合して作成した凝集体(スフェロイド)を積み上げて、隣接するスフェロイド同士を融合させることで、厚みのある組織を短期間で構築することができるシステムである。細胞3 Dプリンター(Regenova®)システム(BRP: Biolapping)が、培養容器内に固定された剣山の針に、3 Dデータに従って細胞塊を次々と

差し込むことによって、尿道の組織の3次元形状を造形する。

3) 熟成

剣山に積層された細胞塊は数日間で互いに融合して一体の組織となり、剣山を外しても立体形状を維持することができます。更に、バイオ・リアクターで培養液を循環させながら一定期間培養を継続することにより、細胞の再配列・自己組織化が促進され、組織の強度と機能が向上する。

## 3. 実験結果

ヒト間葉系幹細胞を集塊培養し、3 Dプリンターで配置を行い、尿道様構造物を作成し、免疫不全ラットに移植に成功した。構造体の厚さは1mm以上にも関わらず内部壊死は殆ど見られなかった。BRP systemにより、細胞のみを材料として、移植可能な構造物を作成することができた。構造体は弾性に富み、尿道縫合に耐えうる強度を持っていた。

## 4. 考察

この技術は広く臨床応用しやすく、ヒトの細胞又は幹細胞を集塊培養して簡単な臓器再生が可能である。文献

- 1) Gotoh M, Yamamoto T, Kato M, Majima T, Toriyama T, Kamei Y, Hirakawa, A, Mastukawa Y, Funahashi Y  
Regenerative treatment of male stress urinary incontinence by periurethral injection of autologous adipose-derived regenerative cells: 1-year outcomes in 11 patients Int J Urol. 2013 Mar;21(3):294-300.
- 2) Yamamoto T, Gotoh M, Kato M, Majima T, Toriyama T, Kamei Y, Iwaguro H, Mastukawa Y, Funahashi Y Periurethral injection of autologous adipose-derived regenerative cells for the treatment of male stress urinary incontinence: report of 3 initial cases Int J Urol. 2012 Jul;19(7):652-9.
- 3) Yamamoto T, Gotoh M Editioal comment to regenerative therapy, tissue engineering, urology, lower urinary tract , stem cells Int J Urol. 2013 Jul;20(7):675.

## 血管内皮細胞糖鎖層の流れに伴う変形の推定

高橋 結宗\*, 長山 和亮\*\*\*\*#, ○松本 健郎\*\*\*\*\*

\*名古屋工業大学 機能工学専攻, \*\*同 機械工学科, \*\*\*同 産業戦略工学専攻,  
\*\*\*\*同 共同ナノメディシン科学専攻 [〒466-8555 名古屋市昭和区御器所町]

#現: 茨城大学 知能システム工学科

### 1. 緒言

血管内皮細胞は、血流に応じて様々な化学物質を生産・分泌し、流れ方向に自らが伸長・配向することが知られている。また、これらの応答は細胞表面を覆う糖鎖層を除去すると正常に起こらないことが知られている<sup>1, 2)</sup>。このことから、細胞膜にかかる流体剪断応力によって、糖鎖が変形し、これが細胞の応答を引き起こしている可能性が指摘されている<sup>3)</sup>。そこで本研究では、蛍光染色した糖鎖層の一部をフォトブリーチで退色させ、退色領域と非退色領域の境界の形状変化から流れ負荷時の糖鎖層の剪断変形を推定した。

### 2. 推定原理

退色・非退色領域境界の輝度値変化を Fig.1 のような曲線で近似する。流れ荷前 (青点線) に対し、流れ負荷で糖鎖層が傾くことにより、曲線は赤実線で示すように流れの上下流両方の境界において緩やかになることが期待される。従って、この境界領域の輝度値勾配の変化から糖鎖層の剪断変形を見積もることができる可能性がある。

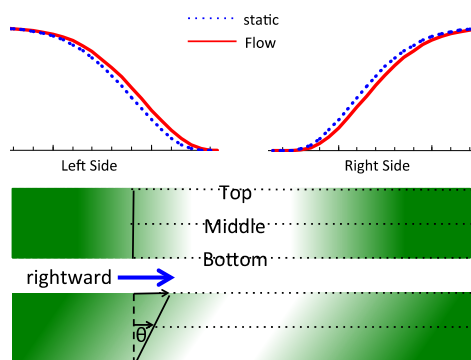


Fig.1 Schema of change in fluorescent intensity distribution (upper) and deformation of glyocalyx layer of photobleached area (middle and lower) caused by rightward shear stress.

### 3. 実験方法

実験試料にはマウス血管内皮腫様細胞 (F-2) を用いた。細胞膜を CellMask Plasma Membrane Stains (Invitrogen) で、糖鎖層を DyLight 488 Lycopersicon Esculentum (Tomato) Lectin (Vector) で染色した後、細胞核上部の糖鎖層  $5 \mu\text{m} \times 20 \mu\text{m}$  程度の領域をフォトブリーチした。この領域の流れ方向の縦断面

を共焦点倒立顕微鏡 IX-81+FV-1200 (Olympus) 上で 100 倍油浸対物レンズを用いて撮影した。平行平板型フローチャンバに細胞を設置し、6 Pa の剪断応力負荷と静置を 10 秒毎に繰返し、撮影は流れの切替から夫々 5 秒後に行った。得られた断層画像から境界領域の輝度値勾配を求めた。なお、退色領域から非退色領域に向かう流れを順方向流れ、非退色領域から退色領域に向かう流れを逆方向流れと呼ぶことにした。

### 4. 結果と考察

退色・非退色領域境界の輝度値勾配は、順方向流れと逆方向流で応答が異なった。順方向流れの作用する境界では、流れによって勾配が有意に低下し、Fig.1 で予想したとおりの変化が得られたが、逆方向流れの作用する境界ではこのような変化は有意ではなかった。この原因のひとつとして、フォトブリーチを行った際に生じる境界面が Fig.1 に示すように細胞表面に垂直なのではなく、表面から離れるにつれてブリーチ領域が広がるように傾いていた可能性が考えられる。このような傾きがあると、順方向流れ領域では流れによる剪断変形に対し、輝度値勾配が緩やかになるのに対し、逆方向領域では、剪断変形の大きさにより、勾配は急にも緩やかにもなる。このため、流れ負荷による勾配変化が有意でなかった可能性がある。

### 5. 結言

蛍光染色した糖鎖層を局所退色させ、境界領域の輝度変化から糖鎖層の剪断変形を推定する方法を検討した。今後は様々な条件で実験を繰り返し、本法の妥当性を確かめるとともに、勾配の変化から糖鎖層の剪断変形量を推定する方法の確立を進めていきたい。

### 謝辞

本研究の一部は科研費 (22127008, 22240055, 24650295) のもとに行われた。記して謝意を表する

### 文献

- 1) Koo et al, AJP Cell Physiol, **304**, 137-46, 2013.
- 2) Giansos et al, Cell Mol Bioeng, **6**,160-174, 2013.
- 3) Thi et al, PNAS USA, **101**, 16473-8, 2004.

## Microvascularization in fibrin gel induced by microgroove-patterned device

Shaoyi Chen \*, Akihito Morita \*, Irza Sukmana \*\*, Ejiro Maeda \*, Toshiro Ohashi \*

\*Graduate School of Engineering, Hokkaido University, [〒060-8628, N13 W8, Kita-ku, Sapporo, Hokkaido]

\*\*Department of Biomechanics and Biomedical Materials, Universiti Teknologi Malaysia, Johor Bahru, Malaysia

### 1. Introduction

Angiogenesis plays an important role in many biological and pathological processes<sup>(1)</sup>. There are also reports about the promotional effect of substrate's topography on angiogenesis<sup>(2)</sup>. Sukmana *et al.* cultured endothelial cells *in vitro* with paralleled fibers made from polyethylene terephthalate (PET) for stimulating angiogenesis<sup>(3)</sup>. It was demonstrated that the PET fibers served as a geometrical guidance for cell behaviors towards the formation of tube-like structure. However, as the diameter of those fibers was the same, it was difficult to evaluate the effect of the difference in fiber diameters on the efficacy of the formation of tube-like structures. Based on that result, this study patterned microstructure by MEMS technique and investigated the effect of topographic features on microvascularization as a geometrical guidance.

### 2. Materials and method

#### 2.1 Experimental device

First, a silicon mold was made with a patterned photomask by photolithography. This was followed by a softlithography process to obtain a PDMS microgroove structure (Fig. 1). Then, it was attached to the bottom of a 35mm glass-bottom dish.

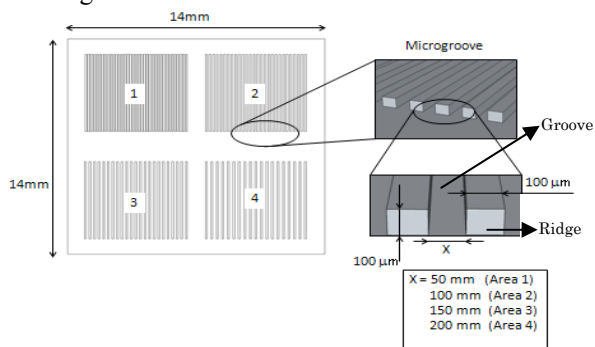


Fig. 1 Design of the microgroove device.

#### 2.2 Experiment method

Bovine aortic endothelial cells (BAECs) were cultured in DMEM with 10% FBS in 5% CO<sub>2</sub> at 37°C. Microgrooves were coated with pronectin after a plasma treatment. BAECs under passage 10 were trypsinized into a cell suspension with a density of 8×10<sup>5</sup> cells/ml. Mixture of 0.5 ml of cell suspension, 1 ml of fibrinogen and 1 ml of thrombin were added into the device. The device was incubated for 45 min and the formation of fibrin gel was confirmed. The device was incubated for 4 days. At the end of the incubation, the cells were fluorescently labeled for actin filament and cell nucleus.

### 3. Results and discussion

As shown in Fig. 2, after 4 days of culture, BAECs formed cord-like structures in the microgrooves with widths of 50 μm and 100 μm. In addition, there were cells in those microgrooves showing branched structures. These structures were not obviously observed in microgrooves with a width of 200 μm. Because both morphological features can be seen as characteristics of angiogenesis<sup>(4)</sup>, the result indicated that microgrooves with a smaller width had a better promotional effect on new blood vessel formation than wider ones.

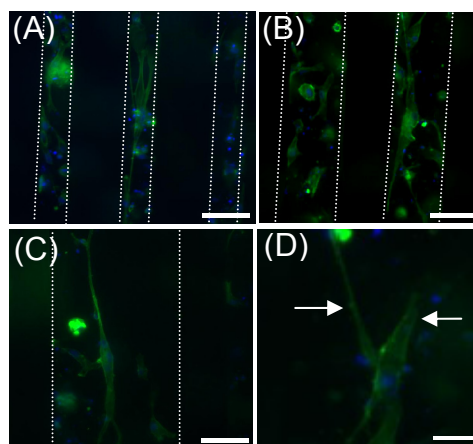


Fig. 2 Fluorescence images of BAECs in microgrooves with the width of (A) 50 μm, (B) 100 μm and (C) 200 μm. Branches were found in microgrooves with width of 100 μm (D). Branching parts are indicated by arrows. Scale bar: 100 μm in (A), (B) and (C), 50 μm in (D).

### 4. Conclusion

In this study, it was found that cord-like structure was more formed in microgrooves with smaller width. It is concluded that a microgroove-patterned topography can induce the formation of vascular-like structure.

### References:

- 1) Arnold, F. and West, D.: Angiogenesis in wound healing. *Pharmacol Ther*, 52, 407-422, 1991.
- 2) Khang, G. *et al.*: Interaction of fibroblast cells onto fibers with different diameter. *Korean Plym J*, 7, 102-107, 1999.
- 3) Sukmana, I. *et al.*: Polymer fibers as contact guidance to orient microvascularization in a 3D environment. *J Biomed Mater Res*, 92, 1587-1597, 2010.
- 4) Annette, M. *et al.*: Neuropilin-1 participates in wound angiogenesis. *The American Journal of pathology*, V160, 1, 289-296, 2002.

## ストレスファイバーの単離過程における成分分析

松井翼\*, 佐藤正明\*\*, 出口真次\*

\*名古屋工業大学 共同ナノメディシン科学専攻 [〒466-8555 名古屋市昭和区御器所町]

\*\*東北大学 学際科学フロンティア研究所

### 1. 背景

細胞は自身が発生する力、周囲環境の力学特性や外力により運動、分化、生存などの機能調節を行っている。細胞自身が発生する力は主としてアクチンとミオシンからなるストレスファイバーの等尺性収縮により発生されており、細胞はストレスファイバーの動態を時空間的に制御することで機能調節を行っていると考えられている。また、収縮力はアクトミオシン系滑り運動の源であるミオシンの ATP 加水分解速度によって調節されているとされているが、ATP 加水分解速度はミオシン調節軽鎖のリン酸化状態やミオシン頭部に付加される外力によっても調節されていることが知られている。これらのことから、ストレスファイバーの動態調節の分子基盤、レオロジー特性を含めた力学特性ならびにこれらの機能と構造との関係を知ることは重要である。

私たちはこれまでに細胞からストレスファイバーを単離し、その主たる機能である収縮性を詳細に理解するべく物理的・化学的に摂動を与えることができる *in vitro* 計測系を構築してきた<sup>1)-3)</sup>。そこで本発表では、機能と構造の関係を明らかにするべく生化学的手法により単離過程におけるストレスファイバー構成タンパク質の成分分析を行ったので報告する。

### 2. 実験方法

試料としてウシ大動脈由来培養平滑筋細胞を用いた。細胞からのストレスファイバーの単離およびタンパク質の回収方法は表 1 に示す通りである。ポリスチレン培養ディッシュに細胞を播種し、コンフルエントになるまで培養した。まず、低浸透圧ショックにより、細胞上面膜、細胞質および細胞核を抽出し、緩衝液とともに回収した。一方、ディッシュ底面に残存した細胞底部構造を可溶化し回収した。また、低浸透圧ショック後も残存している細胞底部構造に対して、低濃度の界面活性剤を含む緩衝液でインキュベートし、その後界面活性剤により溶出した分子を含む緩衝液を回収するとともに、ディッシュ底面に残存したストレスファイバーもまた可溶化し回収した。すべての画分には多量の緩衝液を含み低濃度のため、カット

表 1 単離過程における含有画分

処理	溶出画分	不溶出画分
低浸透圧 溶液	細胞上面膜	細胞底面膜
	細胞核	ストレス
	細胞質	ファイバー
界面活性剤	細胞底面膜	ストレス ファイバー

オフ分子量 10 kDa の限外ろ過膜により濃縮した。細胞全体可溶化サンプルをコントロールとして、単離過程で回収した各画分について電気泳動ならびにウェスタンブロットングにて成分分析を行った。

### 3. 実験結果と考察

界面活性剤処理後の不溶出画分において、アクチン、非筋 II 型ミオシン、 $\alpha$ アクチニン、カルデスモン、トロポミオシンなどの主要な収縮関連構造タンパク質が検出された。ミオシン調節軽鎖のリン酸化酵素について、MLCK は維持されていたものの、ROCK はストレスファイバーから溶出されていた。また、正の収縮性指標とされるミオシン調節軽鎖のリン酸化状態は維持されていることが確認された。私たちの *in vitro* 計測系において ATP 投与によりストレスファイバーが速やかに収縮することからも、ミオシン調節軽鎖のリン酸化を維持しながら単離できることが重要であると考えられる。

### 4. まとめ

本研究の結果から、私たちの *in vitro* 計測系で用いている単離ストレスファイバーについて、収縮関連タンパク質が維持されていることが示された。

### 謝 辞

本研究遂行にあたり小野寺瞳氏 (東北大学) にご協力いただいた。ここに記して謝意を表する。

### 文 献

- 1) Deguchi et al., *J Biomech*, 39:2603-2610, 2006
- 2) Matsui et al., *Biorheology*, 46:401-415, 2009.
- 3) Matsui et al., *BBRC*, 464:444-448, 2013.

## 軟骨前駆細胞における静水圧力による膜流動性の発現の減少

モンターニュ ケヴィン\*, 内山 博樹\*\*, 古川 克子\*\*, 牛田 多加志\*

\*東京大学疾患生命工学センター [〒113-0033 東京都文京区本郷 7-3-1]

\*\*東京大学大学院工学系研究科機械工学専攻

## 1. 緒言

細胞膜にはシグナル伝達に重大な役割をもつコレステロールや受容体が存在する。細胞にとって細胞膜の流動性は重要な力学特性であり、保持する必要がある。

深海に住んでいる微生物においては、静水圧力が細胞膜の流動性を制御する適応機構を起すということが知られている。動物細胞では流動性が二種類のデスチユラーゼという酵素により制御されている。 $\Delta 9$ -デスチユラーゼは飽和脂肪酸の  $\Delta 9$  位にて二重結合を導入し、マウスでは *Scd1* と *Scd2* という  $\Delta 9$  デスチユラーゼが一番多く発現している。また、 $\Delta 5$ -と  $\Delta 6$ -デスチユラーゼは多価不飽和脂肪酸の生成に重要であり、マウスでは *Fads1* と *Fads2* という  $\Delta 5$ -と  $\Delta 6$ -デスチユラーゼが知られている。

これまでの研究より、静水圧力が微生物の膜流動性を低下することが知られているが、動物細胞の膜の力学特性に対する静水圧力の効果はよく分かっていない。本研究では軟骨前駆細胞を用い、静水圧力による膜流動性とデサチユラーゼの発現を検討した。

## 2. 実験方法

細胞: 軟骨前駆細胞である ATDC5 株を用いた。

イメージング: 静水圧力を負荷しながら細胞を観察できるように、細胞をサファイアガラスの上に培養し、金属の圧力チェンバーに固定した。その上でチェンバーを蛍光顕微鏡上に固定し、圧力をかけながらガラスを通して細胞の観察を行った。膜流動性を評価するために、Laurdan という膜の蛍光色素を用いた。Laurdan を 340nm で励起し、膜の流動性を反映する Generalized Polarization (GP) を求めた<sup>1)</sup>。

遺伝子発現の測定: デサチユラーゼの発現を RT-PCR で測定した。

## 3. 実験結果

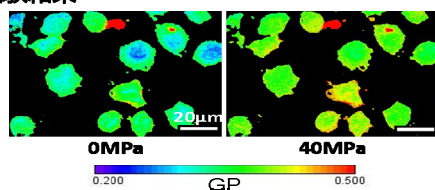


Fig. 1: Laurdan imaging of ATDC5 cells under 0 or 40 MPa

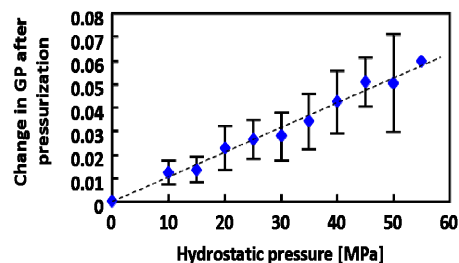


Fig. 2: Change in lauridan GP in ATDC5 cells under pressure

静水圧力の増加により、Laurdan の GP が上がった (Fig. 1, 2)。すなわち圧力のより細胞の膜流動性が低下した。

膜流動性を制御するデサチユラーゼの遺伝子の発現を調べた結果、静水圧力により *Scd1*, *Scd2*, *Fads1* と *Fads2* の発現も低下した (Fig. 3)。

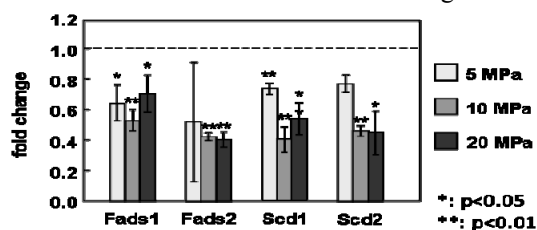


Fig. 3: Modulation of desaturase gene expression in ATDC5 cells pressurized for 24h.

## 4. 考察

静水圧力により流動性が低下したため、流動性を保つためにデサチユラーゼ遺伝子の発現が上がると想定していた。ところが、その発現が低下したため、その現象の生理的な意味を調べる必要がある。

## 5. 結言

以上の結果から、静水圧力により ATDC5 の膜の流動性が低下することが分かった。また、20MPa の圧力下で、膜流動性とともデサチユラーゼの発現も低下した。

## 文献

- 1) Parasassi, T., De Stasio, G., d'Ubaldo, A. and Gratton, E.: Phase fluctuation in phospholipid membranes revealed by Laurdan fluorescence., *Biophys. J.*, **57** (1990), 1179-1186, 1990.

## マイクロ流体デバイスを用いたグリオーマ幹細胞の浸潤形態 および遊走能力の定量的評価

多木 壮太郎\*, 藤岡 真悟\* 須藤 亮\*

\* 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]

### 1. 緒言

脳腫瘍において神経膠腫(グリオーマ), 特に膠芽腫(グリオブラストーマ)は極めて悪性度の高い腫瘍であると言われており, 外科的摘出や, 放射線治療, 化学療法などの目覚ましい進歩にも関わらず, いまだその生存期間は極めて低いものとなっている. 脳腫瘍は診断時には既にその原発巣から広範囲の正常組織に遊走して発見されることが多く, その進行過程がいまだ不明確である. したがって, 腫瘍形成メカニズムや浸潤プロセスを理解するためには, 脳腫瘍細胞の浸潤や増殖の特徴を明らかにすることが重要である.

また, 近年ではがん幹細胞という概念が注目されている. がん幹細胞は自己複製能力と多分化能力を持つ未分化ながん細胞であり, 高い治療抵抗性を持つことから, 腫瘍の再発や転移において重要な役割を担っていると言われており. しかし, 腫瘍の発生や浸潤におけるがん幹細胞の役割はいまだ不明確である.

そこで, 本研究ではがん幹細胞の性質を持つ人工グリオーマ幹細胞を異なる分化状態で培養し, 分化状態の違いが浸潤および遊走能力に与える影響を定量的に評価することを目的とした.

### 2. 実験方法

本研究はマイクロ流体デバイスを用いて培養を行った. デバイスは中央のコラーゲン-マトリゲル混合ゲルを注入する幅 1300  $\mu\text{m}$  の流路と, 培養液を注入する上下 2 本の流路の 3 本からなっており, 培養液を注入するための流路から細胞を播種して混合ゲルの壁面に細胞を接着させた.

使用する細胞は遺伝子導入によって人工的に樹立されたグリオーマ幹細胞を用いた<sup>1)</sup>. また, 培養には幹細胞の状態を維持する「幹細胞培養液」と血清を加えることで幹細胞の分化を誘導する「分化誘導培養液」の 2 種類の培養液を用いた. 位相差顕微鏡によって撮影した 1 日おきの画像データと, Time-lapse システムを用いて撮影した 20 分おき 6 時間分の画像データを用いてがん細胞の幹細胞性と浸潤・遊走能力の関係を評価した.

### 3. 実験結果

位相差顕微鏡によって取得した 1 日おきの画像および Time-lapse 画像のそれぞれの画像データから, 未分化がん幹細胞は細胞 1 つ 1 つが個別に動いて混合ゲルの中を浸潤していく様子が確認された (single cell migration). 一方, 分化誘導がん幹細胞では多数の細胞が集合し, 固まりとなって浸潤する様子が確認された (collective cell migration).

位相差顕微鏡によって取得したデータを定量的に評価したところ, 細胞の最大到達距離は未分化がん幹細胞が分化誘導がん幹細胞に比べて 1.7 倍増加した. また, Time-lapse システムによって取得したデータを元に, 細胞の運動速度を算出したところ, 未分化がん幹細胞が分化誘導がん幹細胞に比べて高い遊走能力を示した.

### 4. 考察

がん幹細胞は自己複製能力や多分化能力を持っており, これらの特徴によって腫瘍再発の原因となっている. その一方で, 本研究よりがん幹細胞は single cell migration という浸潤形態と高い運動性によって, 腫瘍の浸潤を先導し, 後から続く浸潤細胞の “よって, 腫瘍の浸潤を先導としての役割を果たしていると考えられる. このような幹細胞の腫瘍再発と浸潤の先導役という 2 つの特徴は腫瘍の悪性度の原因であると考えられ, 今後の治療標的としてより一層研究を進める必要がある.

### 5. 結言

マイクロ流体デバイスを用いた人工グリオーマ幹細胞の単独培養を行い, 未分化がん幹細胞は各細胞が個別に遊走しながら混合ゲルに浸潤し, 分化誘導がん幹細胞では細胞が集合的に浸潤することがわかった. また, 分化誘導がん幹細胞と比較すると, 未分化がん幹細胞がより高い遊走能力を有することがわかった.

### 文 献

- 1) Oltea et al., “Invasion precedes tumor mass formation in a malignant brain tumor model of genetically modified neural stem cells.” *Neoplasia*, 13(9), 784-791, 2011

## 脳底動脈先端部瘤に対する Y ステント留置後の血管リモデリング

—CFD を用いた流体力学的検討—

入江 恵子 1)、益永 康平 2)、松田 達也 2)、酒井 康彦 2,3)、根来 眞 3)、廣瀬 雄一 1)

1) 藤田保健衛生大学医学部脳神経外科 2) 名古屋大学工学研究科機械理工工学

3) 一宮西病院脳神経外科血管内治療センター

[目的] 脳底動脈先端部瘤(BTA) に対して Y ステント留置後に留置血管のリモデリング(直線化)が報告されている。血管のリモデリングにより術直後のネックの残存が、経過中に完全閉塞へ移行する可能性がある。しかし、本現象に関する流体力学的解析は少ない。そこで、任意の BTA を作製し脳底動脈(BA) と分岐血管(PCA) の角度を変化して各々にステントを留置(half-Y および Y configuration) することにより流体変化をコンピューター数値力学的解析(CFD)で検討した。[方法] BTA および周囲の分岐血管形状の作成は CAD(Computer-Aided-Design) ソフトを用いた。Enterprise VRD をマイクロ CT で撮像し血管形状データと共に STL 化した。コンピューター上でステントを片側 PCA(half-Y)、両側 PCA(Y) に留置した。BA と PCA の角度が  $90^\circ$  (Type A) さらに  $135^\circ$  (Type B) の 2タイプに分けてステント留置による各々の流体変化を比較した。[結果] half-Y ステント留置では、Type A、B とも瘤頸部と瘤内の流速の低下が認められた。ステント留置側の瘤内で流速低下が明らかであり、留置側の PCA は著明な整流効果(flow diversion effect) を認めた。Type B はステントストラット周辺に一部ジェット流を認めた。Y ステント留置では、Type A、B とも half-Y に比較してさらに瘤内の流速の低下を認め、特に Type B では Type A に比較して瘤頸部に著明な流速の低下(stasis) を認めた。WSS は、Type B において Y ステント留置において瘤頸部に減少傾向が認められた。圧変化はいずれも明らかな所見は認めなかった。[結論] Y ステント留置後に血管が直線化することにより、BA 先端部や瘤頸部の流速が著しく低下して血流が停滞する。さらに WSS も減少することにより瘤の血栓化を促進すると思われる。

コイル塞栓術後の脳動脈瘤再発に関する数値流体力学（CFD）による予測

見崎 孝一

金沢大学脳神経外科

【目的】内頸動脈-後交通動脈(PCoA)分岐部瘤のうち PCoA がドームから出ている瘤はコイル塞栓後に再発しやすいが、そのメカニズムは不明である。術前の画像から術後の再発を数値流体力学（CFD）で予測できるか検討した。【方法】最大径 10mm 以下でコイル塞栓術によって体積塞栓率 20% 以上を得た内頸動脈-PCoA 瘤のうち、PCoA がドームから出ている 10 例 (Dome type) とネックから分岐している 10 例 (Neck type) を検討した。治療 1 年後に両 type の 5 例で再開通を認めた。これらの症例で術前 3D-DSA データより ANSYS ICEM CFD で解析用メッシュを作成して ANSYS CFX により非定常解析を行い、ネックと PCoA の圧力（静圧/総圧の比）及び流速、瘤壁の平均せん断応力（WSS）、単位体積当たりの損失エネルギー（EL）を求めた。【結果】Dome type の再発群の圧力が非再発群よりも低くネックで有意差があり（mean ± SD: 0.940 ± 0.023 vs 0.970 ± 0.005, p=0.028）、流速は高い傾向にあったが有意差はなかった。一方 Neck type の再発群では圧力が高い傾向であったが有意差はなく、流速は低く PCoA で有意差を認めた（0.382 ± 0.053 vs 0.613 ± 0.105 m/s, p=0.008）。EL は Dome type の再発群で有意に高かった（2.68 ± 2.47 vs 1.03 ± 0.35 × 10<sup>-6</sup>mW/m<sup>3</sup>, p=0.047）が、Neck type の再発群では低い傾向であった。WSS は両群間で明らかな差は認めなかった。【結論】コイル塞栓後に再発した動脈瘤の術前 CFD パラメーターは Neck type と Dome type で異なる傾向を示した。CFD 解析によって術前からコイル塞栓術後の再発を予測できる可能性がある。

Key word : CFD、損失エネルギー、動脈瘤再発

## 血液のレオロジーと脳血管病変

## Blood Rheology and Development of Cerebrovascular disease

庄島 正明

東京大学脳神経外科

レオロジーとは流動に関する科学である。血液が循環していることを明らかにしたのはウィリアム・ハーベイであり、1616 年までさかのぼるが、血液のレオロジーが血管病変に大きな影響を及ぼしていることが明らかにされたのは、それから 300 年以上を経た 1950 年頃のことである。頸動脈狭窄の発生部位と血流に関する研究が行われ、血流が停滞する部位で頸動脈狭窄が発生することが明らかにされてきた。以後、心臓・脳・大動脈などの血管病変の発生と進行に血液のレオロジーがどの様に関与しているかに関する研究が進められてきた。

脳血管病変では特に脳動脈瘤の発生と進行に血液のレオロジーが関与している。脳動脈瘤の発生に関しては、血液のずり応力値とずり応力勾配の両者が高い領域に起こりやすいことが流体力学的・分子生物学的な研究から明らかにされている。脳動脈瘤の増大や破裂に関してもレオロジーの関与が示唆されており、脳動脈瘤を増大・破裂に導くようなレオロジー的特徴も明らかにされつつある。さらには、脳動脈瘤の流れを変えることで、脳動脈瘤のレオロジー的環境を操作することで、脳動脈瘤を安定化させる治療も実際に行われつつある。

血液のレオロジーは種々の血管病変の発生・進行に関与していると思われるが、脳血管におけるレオロジー的環境および脳動脈瘤へのレオロジー的因子の影響に関して現状を総括する。

力学的刺激により誘起される血管形成のバイオメカニクス

谷下 一夫 1)、須藤 亮 2)

1) 早稲田大学ナノ理工学研究機構 2) 慶應義塾大学

毛細血管は組織に酸素や栄養を供給する重要な役割を果たしており、その形成プロセスを理解し、コントロールすることは再生医療や創傷治癒、がん治療など、様々な分野において重要な課題である。毛細血管を形成する血管内皮細胞は生体内において様々な生化学的および力学的環境に曝されている。血管の内腔を覆う血管内皮細胞には常に血流に起因する力学的因子（せん断応力刺激）が作用しており、せん断応力刺激は、様々な力学的刺激受容機構によって、細胞の形体や機能に影響を与えていることが知られている。我々は、マイクロ流路による生体外 3 次元血管新生モデルを用いて様々な実験を行い、せん断応力刺激による血管形成のプロセスや増殖因子によるメカニズムなどに関して検討を行った。さらに内皮細胞の微小環境となるゲルの力学的な性質も血管形成に顕著な影響を与えることが分かった。さらに血管内皮細胞の表面への流れのせん断応力の刺激のみならず、血管壁を透過する間質流が血管形成を促進させることが分かってきた。最近の研究では微細加工技術を応用した新しい細胞培養デバイス（マイクロ流体システム）が開発され、血管形成プロセスにおける微小環境因子をより精密に制御することが可能になり、従来の培養ディッシュでは実現出来なかった血管形成が可能になり、再構築された組織への血管網形成（血管化、Vascularization）への応用の可能性が明らかになった。

## 多数の赤血球を含む流れのシミュレーションと血栓症のモデリング

高木 周 1)、杉山 和靖 2)、清水 和弥 1)、伊井 仁志 2)、塩崎 聖治 3)、島本 憲夫 1)

1) 東京大学大学院工学系研究科 2) 大阪大学 3) 東海大学

本講演では、著者らがスーパーコンピュータ「京」向けに開発を進めきたソフトウェアを用いて、赤血球を大量に含む血流のシミュレーションを行った結果について説明する。血液のレオロジー的特性にとって赤血球の変形流動が支配的役割を果たすのは良く知られており、細い血管では血流はしばしば非ニュートン流体として近似される。さらに、毛細血管のように、血管径と赤血球のサイズが同程度となると、非ニュートン流体として均質な流体として扱う考え方そのものが破綻し、赤血球の一つ一つの変形流動を正確に捉えることにより、微小循環系における血流の挙動を精度良く把握することが可能となる。また、血管径が  $100 \mu\text{m}$  から  $1\text{mm}$  程度の赤血球のサイズと比較すると太い血管においても、血小板や白血球の壁面吸着現象に対する赤血球の影響などを調べる際には、個々の赤血球の運動を解析する必要がある、バルクとしての血液を非ニュートン流体とみなして近似するような解析は適切でない。これらを考慮して、本講演では、微小循環系における多数の赤血球を含む流れの流動特性の解析、および、血栓症の初期課程である血小板の壁面粘着過程に対する赤血球の影響に関して行った数値シミュレーションの結果について説明する。特に、血小板粘着に関しては、流れ場中における血小板自身の変形流動特性よりも、周囲に多数存在する赤血球の流動特性が重要であること、すなわち赤血球が流れていくことによりもたらされる液相（血漿）の速度変動が重要となることが示される。

## 早期内皮化促進および抗血栓性を有する bFGF 溶出性 ステントシステムの開発

尾藤健太\*, 長谷部光泉\*\*, 堀田篤\*

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

\*\*東海大学医学部 専門診療学系 画像診断学/東海大学医学部附属八王子病院 放射線科

### 1. 緒言

ステントを用いた血管内治療において, 再狭窄が問題となっている. 再狭窄の原因は, デバイスに対する血液成分の付着, 炎症反応であり, 炎症反応は, 血管内腔表面が血管内皮細胞で完全に被覆 (内皮化) されるまで続く. したがって, ステント材料表面に求められる特性は, 血液成分付着を防ぐ「抗血栓性」および早期に内皮細胞を被覆する「内皮化促進性」である. 「内皮化促進性」に関しては, 本研究グループの先行研究により, 塩基性線維芽細胞増殖因子 (bFGF) が有能であることが報告されている<sup>1)</sup>.

そこで本研究では, 優れた抗血栓性を有するリン脂質ポリマー (MPC) を担体とした bFGF 溶出システムを提案し, bFGF 徐放量と抗血栓性の関係を明らかにすることを研究目的とした.

### 2. 実験方法

**2・1 bFGF 含有 MPC フィルムの作製** bFGF 水溶液 (100 µg/mL) と MPC/エタノール (5 wt%) 溶液を混合した bFGF/MPC 溶液を SUS 基板上に 50 µL 滴下し, 水とエタノールを揮発させ, bFGF 含有 MPC (以下 bFGF/MPC とする) フィルムを作製した. bFGF 濃度は, 0 µg/mL, 0.1 µg/mL, 1 µg/mL, 10 µg/mL の 4 種類とした (以下 MPC, bFGF0.1, bFGF1, bFGF10 とする).

**2・2 bFGF 徐放量の定量化試験 (ELISA 法)** bFGF0.1, bFGF1, bFGF10 をリン酸緩衝生理食塩水 (PBS) に浸漬し, 24 時間静置したのち, PBS を回収した. この PBS に ELISA 法を用いて吸光度測定することにより, bFGF 含有 MPC フィルムからの bFGF 徐放累積量を定量化した. 浸漬日数は 14 日間とした.

**2・3 抗血栓性評価試験** MPC, bFGF0.1, bFGF1, bFGF10, さらにポリカーボネート (PC) の 5 種類を  $3.0 \times 10^5$  cells/µL の濃厚血小板溶液に浸漬した (37°C, CO<sub>2</sub> 5%, 60 min). その後, 付着した血小板を顕微鏡観察し, 血小板付着数を算出することで, 抗血栓性を評価した.

### 3. 実験結果・考察

**3・1 bFGF 徐放量定量化試験** 図 1 より, それぞれ仕込み量の約 0.4%の徐放量が検出され

た. また, bFGF10 では, 約 4 ng/mL の徐放が可能であり, この結果は, 先行研究<sup>1)</sup>で使用された bFGF と同程度の濃度であるため, 内皮化促進に十分寄与すると考えられる.

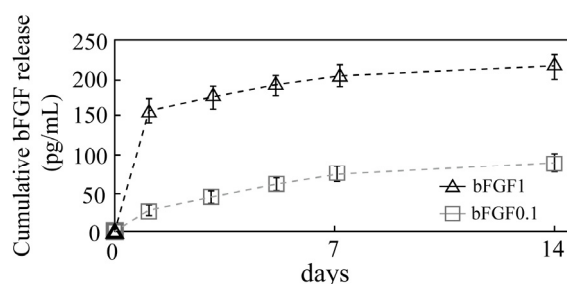


Fig.1 Quantification of the amount of bFGF

**3・2 抗血栓性評価試験** 図 2 に示したように, bFGF/MPC フィルムの血小板付着数は, PC 基板より大幅に少ない傾向が得られた. また, bFGF 含有量増加にともない, 血小板付着数がわずかに増加した.

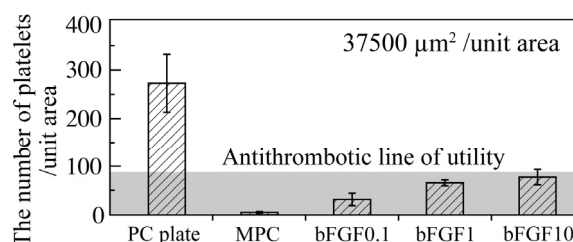


Fig.2 The number of platelets on sample surface

### 4. 結言

本研究では bFGF/MPC フィルムを作製し, bFGF 濃度により徐放量制御が可能であること, bFGF 徐放量に関わらず, 高い抗血栓性を有することを示した. したがって, MPC をもちいた bFGF 溶出性ステントシステムが, 有望であることを明らかにした.

### 謝 辞

慶應義塾大学鈴木哲也教授には, 多大なご協力を頂きましたことを深く感謝いたします.

### 文 献

- 1) Kitamura, N. et al.: Basic Fibroblast Growth Factor as a Potential Stent Coating Material Inducing Endothelial Cell Proliferation. *J. Atheroscler. Thromb.*, **20**, 2013.

## 脳動脈瘤塞栓治療用多孔薄膜カバードステントの開発： ワイドネック動脈瘤モデルでの塞栓可能性の検討

森脇健司\*, 日高涼\*\*, 田地川勉\*\*\*, 中山泰秀\*

\* 国立循環器病研究センター 生体医工学部 [〒565-8565 大阪府吹田市藤白台 5-7-1]

\*\* 関西大学大学院理工学研究科 システム理工学専攻 機械工学分野

\*\*\* 関西大学システム理工学部 機械工学科

### 1. 緒言

脳動脈瘤は、破裂に至ると致死率が高く早期治療が望まれる。未破裂脳動脈瘤の低侵襲な治療法として、コイルと呼ばれるワイヤで瘤内を詰めて瘤塞栓を促す血管内治療が行われている。しかし、動脈瘤のネック部が広い場合、コイルが瘤から脱落する恐れがあるので適応できない。一方、我々は瘤ネック部の血管に留置することで簡便かつ確実に脳動脈瘤を塞栓治療できるデバイスを目指して、多孔薄膜カバードステントを開発している。多孔薄膜で動脈瘤内へ入る血流を抑制することで瘤内での血栓形成によって塞栓される。血流をいかに抑制するかが瘤塞栓能に大きく影響するため、生体外模擬実験により多孔薄膜の血流抑制能の定量評価を行っている。これまで、ネック幅が最大瘤直径より小さい嚢状動脈瘤モデルにおいて、0.1 mm 以下の小径孔とすることで開口率 60%以下で瘤塞栓に有効であることを明らかとした<sup>1)</sup>。

本研究では、ネック幅が最大瘤直径より大きい動脈瘤においてもカバードステント留置によって瘤塞栓が可能かを知る目的で、ワイドネック動脈瘤モデルを作製し、定常流回路実験を行った。

### 2. 実験方法

実験装置、条件等は既報<sup>1)</sup>と同様のため説明を割愛する。模擬血液 (50 wt%グリセリン水溶液、密度 1100 kg/m<sup>3</sup>、動粘度 4.4 mm<sup>2</sup>/s) を遠心ポンプで圧送し、Reynolds 数 170–960 の範囲の定常流で親血管 - 動脈瘤モデルに流入した。モデルは信頼性・再現性向上のため 2 次元形状に簡単化しており、ネック部に適当なファイレットを付けネック幅 (NW) を変更した (図 1)。カバードステント模擬体として、多孔化ステンレス薄板 (孔直径: 0.08 mm, 開口率: 31%) を瘤

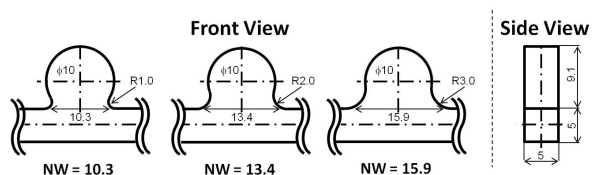


Fig. 1 Schematic diagram of aneurysm models.

モデルネック部に固定した。流れ可視化の散乱粒子としてナイロンパウダーを用い、ダブルパルス Nd:YAG レーザで厚さ 1 mm のシート光を照射することでモデルを高輝度化し、CCD カメラで撮影した。PIV により 100 時刻平均の流速ベクトル場を求めせん断速度分布を算出した。

### 3. 結果と考察

ネック幅が広がると、開口部から柱状に瘤内へのびていた高せん断速度領域は瘤内部へ移動し、約半分が高せん断領域となり平均せん断速度は高くなった。しかし、いずれのネック径においても多孔薄板を留置すると瘤内平均せん断速度は留置前の 1/10 以下に低減した (図 3)。Kaibara<sup>2)</sup>は、せん断速度が約 1 s<sup>-1</sup>以下で血栓形成が促進されると報告しており、ワイドネック動脈瘤でも多孔薄板を留置することで瘤塞栓が期待できると考えられた。

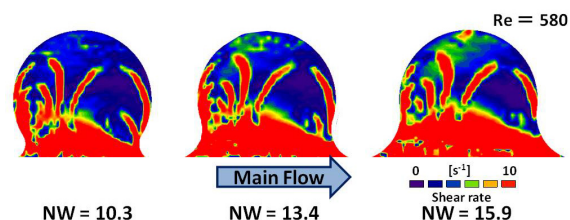


Fig. 2 Shear rate distribution in the aneurysm models.

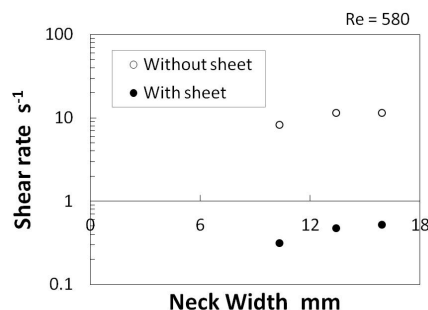


Fig. 3 Average shear rate in aneurysm models.

### 文献

- 1) 田地川他, 機論 B, **79**(801), 265–277 (2013).
- 2) Kaibara M. J Biorheol. **23**(1), 2–10 (2009).

## ヒト頸動脈の内腔側領域における伸展性と組成との関係

山田 宏<sup>\*1</sup>, 坂田 則行<sup>\*2</sup>, 森田 康之<sup>\*3</sup>, 中島 豊<sup>\*4</sup>

<sup>\*1</sup>九州工業大学大学院生命体工学研究科 [〒808-0196 福岡県北九州市若松区ひびきの 2-4]

<sup>\*2</sup>福岡大学医学部, <sup>\*3</sup>名古屋大学大学院工学研究科, <sup>\*4</sup>福岡赤十字病院

### 1. 緒言

頸動脈は粥状動脈硬化の好発部位であり, 胸部大動脈でも同様に発生する<sup>1), 2)</sup>. 血液中の脂質が内膜に侵入・沈着してプラークが形成され発達する. 線維性被膜が破断してプラークが破裂すると, 血栓ができ, 脳梗塞等の重篤な疾患の原因となる. そのため, 発生機序の解明や診断・予防の支援のため, 流体力学や材料力学の観点から多くの研究が行われてきた<sup>3), 4)</sup>.

材料力学の観点からは Holzapfel らなどの伸展試験や Tang らなどの有限要素解析が行われており, 著者らも実験と有限要素解析を並行して実施してきた<sup>1)~4)</sup>. 対象となる部位は加齢変化が顕著であり, また, 動脈硬化の発症部位では形状が非一様で, 場所により材質が異なる傾向にある. そのため, 対象領域の組織学的特徴と関連付けて領域ごとに定量的評価を行うことが大切である.

本研究では, 高齢者剖検例の頸動脈内膜側の領域を対象として単軸伸展試験を行い, 動脈硬化による変性の影響を伸展性の指標によって評価した.

### 2. 実験方法

福岡大学医に関する倫理委員会の承認を得て, 57 歳から 84 歳 (平均 70.4 歳の男女) の剖検例を用いて頸動脈の単軸伸展試験を行った. 内訳は白色プラークの線維性被膜 (63 歳から 88 歳, 3 試験片), 黄色プラークの線維性被膜 (72 歳と 88 歳, 2 試験片), 発達した脂肪斑 (63 歳から 88 歳, 3 試験片), 正常領域 (57 歳から 84 歳, 9 試験片) の 4 種類である. 長手方向を管軸方向に選び, 試験片の寸法は, つかみ具間距離 4 mm, 幅 1.5 mm で, 厚さ方向を血管の半径方向にとり, 厚さは試験片によって異なるが概ね 1 mm 弱である. 試験片はひずみ範囲 10% のプリコンディショニングの後, ひずみ速度 1%/s で伸展した.

### 3. 実験結果と考察

Fig. 1 に白色プラークの線維性被膜, 黄色プラークの線維性被膜, 正常領域の典型的な応力-ひずみ関係を示す. 線維性被膜は正常な内膜側の血管壁に比べて伸展性が減少している. また, 黄色プラークは白色プラークに比べて, 線維性被膜の伸

展性が若干大きい. 応力 50 kPa と 0 kPa の間のひずみ増加量を伸展性の指標とし, それぞれの応力-ひずみ関係から求めた結果, 白色プラークの線維性被膜, 黄色プラークの線維性被膜, 発達した脂肪斑, 正常領域の順に平均値は 0.064, 0.093, 0.081, 0.236 であった.

著者らの頸動脈と大動脈の組織観察 (文献 2) では, 線維性被膜はコラーゲンが多く, エラスチンが少なかった. 正常領域はその逆であった. 領域による伸展性の違いはそれを反映している.

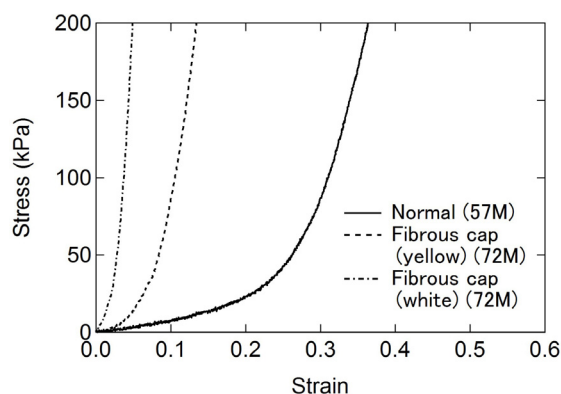


Fig. 1 Examples of the relationships between nominal stress and nominal strain in the longitudinal direction for strip-like specimens of human carotid arteries.

### 4. 結言

本研究では高齢者の剖検例で得た頸動脈内腔領域の粥状動脈硬化領域と正常領域について伸展試験を行い, 領域ごとの伸展性を評価した. その結果, 線維性被膜領域では伸展性が顕著に減少しており, 組成の変化との関連性が見られた.

### 謝辞

本研究の一部は日本学術振興会科学研究費補助金基盤研究(C)(23560091)の助成による. ここに謝辞を表す.

### 文献

1) Yamada, H. and Sakata, N.: *J. Biorheology*, **27**, 9-17, 2013. 2) 山田宏, 坂田則行, 森田康之, 中島豊: 日本機械学会九州支部第 67 期総会・講演会, 2 pages, March 13-14, 2014. 3) Holzapfel, G.A., Sommer, G., and Regitnig, P.: *J. Biomech. Eng.*, **126**, 657-665, 2004. 4) Tang, D., et al.: *Stroke*, **40**, 3258-6263, 2009.

# 全身循環シミュレーションを用いた血管スティッフネス計測：超音波計測との比較

矢内紫織\*, 仁木清美\*, 大島まり\*\*, 梁夫友\*\*\*, 菅原基晃\*\*\*\*

\*東京都市大学大学院 工学研究科 生体医工学専攻 [〒158-8557 東京都世田谷区玉堤 1-28-1]

\*\*東京大学大学院 情報学環・学際情報学府

\*\*\*上海交通大学船舶海洋与建筑工程学院船舶与海洋工程系

\*\*\*\*姫路獨協大学 医療保健学部 臨床工学科

## 1. 緒言

近年では、超音波計測による血流評価が行われているが、同手法では計測可能部位に制限があるため、限られた部位の評価しか行うことができない。生体内の血流は血管の硬さと末梢からの反射の影響を強く受けるため、全身循環を考慮した血流解析が望まれている。全身循環シミュレーション(東京大学大島研究室)は、波動を含めた血流解析を行うために開発されたものであるが、各血管における血管の弾性に関しては明らかではない<sup>1)</sup>。そこで、本研究では全身循環シミュレーションにおける血管の硬さを計算し、実測値と比較、検討を行った。

## 2. 実験方法

超音波診断装置(日立アロカメディカル社製:SSD6500)とリニアプローブ(同社製), WI 計測システム(同社製)を用いた。健康者成人男性 25 歳 1 名における、総頸動脈と上腕動脈、膝窩動脈よりスティッフネスパラメータ  $\beta$  (以下  $\beta$ ) をそれぞれ得た。 $\beta$  は血圧に依存しない血管弾性率を定義する指標であり、以下の式となる。

$$\beta = \ln(P_{\max}/P_{\min}) / [(D_{\max} - D_{\min})/D_{\min}]$$

ここで、 $P_{\max}$ :最高血圧[mmHg],  $P_{\min}$ :最低血圧[mmHg],  $D_{\max}$ :最大血管径[mm],  $D_{\min}$ :最小血管径[mm]である。

シミュレーションで計算した部位は同様に総頸動脈と上腕動脈、膝窩動脈であり、実測より得られた被験者の心拍数から 1 心周期長さを入力し、得られた血圧波形、血管断面積波形より  $\beta$  を算出し、実測値と比較を行った。

## 3. 実験結果

シミュレーションより得られた  $\beta$  は、総頸動脈、上腕動脈、膝窩動脈の血管において実測値よりも小さい値を示した(Table. 1)。また、上腕動脈や膝

窩動脈における  $\beta$  は総頸動脈の  $\beta$  の 3 倍程度であるという結果を示した。

Table. 1 頸動脈における血管硬さ比較結果

	スティッフネスパラメータ $\beta$	
	実測値	シミュレーション
総頸動脈	8.28	5.55
上腕動脈	25.1	7.97
膝窩動脈	23.4	10.1

## 4. 考察

今回の検討で、シミュレーションより計算した血管スティッフネスは実測値よりも低値であった。現在のシミュレーションデータは年齢で規定されている。シミュレーション上の血管弾性は Stergiopoulos<sup>2)</sup> が導いた脈波速度をもとに計算したヤング率を用いており、さらなる検討が必要と考えられた。また、血管スティッフネスは年齢と強い相関があるが、個人差があるため、入力パラメータを年齢より血管スティッフネスにした方がより個人に近いシミュレーションが可能となると考えられた。

## 5. 結言

本研究では、超音波によって得た実測値を用いて、全身循環シミュレーションにおける血管硬さについて比較、検討を行い、全身循環シミュレーションの改善点を示した。

## 文 献

- 1) 菅原基晃, 仁木清美, 大手信之. イメージで理解する心エコー・ドプラ・循環力学. 文光堂. pp199-215. 2011.
- 2) Stergiopoulos N, Young D.F, and Rogge T.R. Computer simulation of arterial flow with applications to arterial and aortic stenoses. J. Biomech, Vol. 25, No.12, pp.1477-1488, 1992.

## フィブリン重合におけるフィブリノゲン $\alpha$ Cドメインの役割

中村俊介\*, 窪田健二\*, 行木信一\*, 林史夫\*, 外山吉治\*

\* 群馬大学院 理工学府 理工学専攻[〒376-8515 群馬県桐生市天神町 1-5-1]

### 1. 緒言

血液凝固因子の一つであるフィブリノゲンはA $\alpha$ 鎖, B $\beta$ 鎖,  $\gamma$ 鎖の三本のポリペプチド鎖からなる糖タンパク質である。フィブリノゲンは酵素トロンビンの作用により, まずプロトフィブリルが形成され, 続くプロトフィブリルのラテラル集合を経てフィブリンゲルを形成することが知られている。ラテラル集合のメカニズムはこれまでトロンビンによるFPBの切断によって生じるB-b相互作用が支配的であるとされてきたが, 最近 $\alpha$ Cドメイン同士の相互作用やDドメイン同士の相互作用, さらにB $\beta$ 鎖N末端領域の関与などが示唆されており未だ解明されていない。特に, $\alpha$ Cドメインはラテラル集合への関与が示唆されている一方で, $\alpha$ Cドメインを切除したフィブリノゲンでもゲルを形成することが報告されており, その役割は明らかになっていない。本研究はフィブリンゲル形成における $\alpha$ Cドメインの役割を解明するため, 大腸菌を用いてリコンビナント $\alpha$ Cドメインを作製し, 相互作用の有無を確認するため, $\alpha$ Cドメインの集合体の形成をチオフラビンT (ThT) アッセイにより調べた。

### 2. 実験

フィブリノゲンはプラスミンによって特異的に分解されるが, $\alpha$ Cドメインはその初期段階において分離されるため, 反応阻害剤を添加しても, その効果が発揮される前に分解されてしまい, 単体を得ることが困難である。本研究では, 大腸菌を用いて $\alpha$ Cドメインの作製を行った。目的の遺伝子配列をもつプラスミドを作製し, 大腸菌の形質転換を行った。得られた大腸菌を培養し, タンパク質の精製を行う。ベクターにpGEX6P-1を用いることで, 作製した $\alpha$ Cドメインにタグペプチドとして親水性の高いGSTを付加することで, 作製した $\alpha$ Cドメインは親水性となる。また, GSTはグルタチオンと特異的に作用するためGSTrapカラムを用いることで高純度の $\alpha$ C-GSTを得ることが出来る。その後PreScission Protease反応によって $\alpha$ CドメインとGSTを分離し, 再度GSTrapカラムにかけることで $\alpha$ Cドメインの単体を得た。得られた $\alpha$ Cドメ

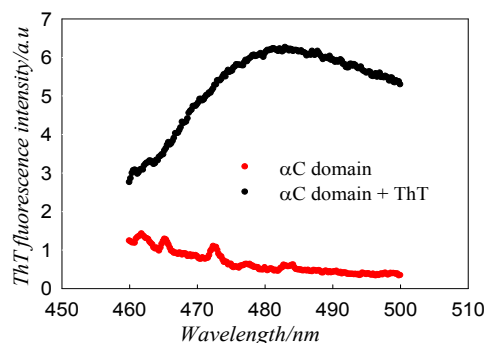
ンの単体をTBSで濃度1mMに調製し, ThTを最終濃度40 $\mu$ Mで添加後, 蛍光強度測定を行った。

### 3. 結果

図は作製した $\alpha$ Cドメイン水溶液にThTを添加した時の蛍光スペクトルである。 $\alpha$ Cドメインを含む溶液にThTを添加した場合, ThT無添加のものと比較して480nm付近に蛍光強度の極大が観測された。

$\alpha$ Cドメインは二組の $\beta$ シート構造をもち, それが交互にスタッキングすることによってダイマーやオリゴマーを形成することが示唆されており, その構造はアミロイド線維と類似の構造をとっている。蛍光色素であるThTはアミロイド線維と結合することで励起光を受けて480nm付近で蛍光を発する。

測定結果より $\alpha$ CドメインにThTを添加したもののでは480nm付近に蛍光強度の極大が観測されたため, $\alpha$ C- $\alpha$ C相互作用によりアミロイド線維に類似した構造をもつ集合体を形成することが確認された。従って, フィブリンゲル形成において $\alpha$ C- $\alpha$ C相互作用が寄与していることが改めて示唆された。今後は $\alpha$ C- $\alpha$ C相互作用へのNaClや尿素の添加効果などを調べる予定である。



Fluorescence spectra of ThT in  $\alpha$ C solution

本研究はJSPS 科研費 23550237の助成によりおこなわれた。

## フィブリン重合における フィブリノゲン B $\beta$ 鎖 N 末端領域の役割

木川浩平\*, 飯塚よし野\*, 窪田健二\*, 行木信一\*, 落合正則\*\*, 外山吉治\*

\*群馬大学大学院 理工学府 理工学専攻 [〒376-8515 群馬県桐生市天神町 1-5-1]

\*\*北海道大学低温科学研究所

### 1. 緒言

血液凝固因子の1つであるフィブリノゲンはA $\alpha$ 鎖, B $\beta$ 鎖,  $\gamma$ 鎖の3本のポリペプチド鎖が2量体を形成している分子量340 kDaの糖タンパク質である. 中央に位置するE領域とその両端に位置するD領域が存在し, 3つの領域は3重らせんのコイルドコイルで繋がっている. フィブリノゲンは酵素トロンビンの作用によりフィブリンゲルを形成する. しかし, その形成過程, とりわけプロトフィブリルのラテラル凝集についてはB $\beta$ 鎖N末端相互作用が関与していることが示唆されているが, 詳しいメカニズムは解明されていない. 本研究ではラテラル凝集におけるB $\beta$ 鎖N末端領域の相互作用部位を特定するため, リコンビナントB $\beta$ 鎖N末端 (B $\beta$ N)およびフィブリノゲン分解産物 (FDP)を作製し, 表面プラズモン共鳴 (SPR)を用いてB $\beta$ NとFDPの相互作用測定を行った.

### 2. 実験

#### 試料調製

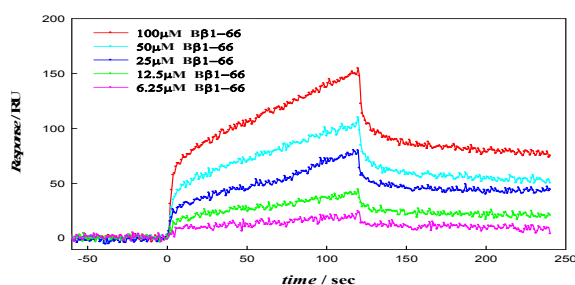
作製した試料を Table に示す. フラグメント D (Frag-D)はD領域を含んでおり, ウシ由来のフィブリノゲンを酵素プラスミンで処理し, ゲル濾過クロマトグラフィー (GPC)によって精製した. フラグメント N-terminal disulfide knot (Frag-NDSK)はB $\beta$ 鎖N末端領域が存在するE領域を含んでおり, ウシ由来のフィブリノゲンを臭化シアンで処理し, GPCによって精製した. B $\beta$ N<sub>1-66 aa</sub>およびB $\beta$ N<sub>1-30 aa</sub>はヒト由来フィブリノゲンのB $\beta$ 鎖1-66残基 (または1-30残基)の遺伝子配列をPCRにより増幅した. ベクターpGEX-6P-1を用いて制限酵素 *Bam*H Iで処理し, 目的の遺伝子配列を組み込むことでB $\beta$ Nを発現させるためのプラスミドを作製し, これを用いて BL21 (DE3)株を形質転換させてB $\beta$ Nを大量発現させ, 精製はGSTカラムにて行った.

#### SPRによる相互作用測定

SPR装置は (ProteOn XPR36, バイオ・ラッド)を用いた. ランニングバッファーにはHBS (20 mM HEPES, 150 mM NaCl, pH7.4)と1 mM CaCl<sub>2</sub>水溶液の混合溶液を使用し, センサーチップへのリガンドの固定化にはアミンカップリング法を採用した. 本実験ではリガンドとしてFrag-Dを固定化し, アナライトとしてFrag-NDSK, B $\beta$ N<sub>1-66 aa</sub>, B $\beta$ N<sub>1-30 aa</sub>をそれぞれインジェクトした.

### 3. 結果

図に典型的な一例として, Frag-DとB $\beta$ N<sub>1-66 aa</sub>の測定結果を示す. Frag-Dを固定化したセンサーチップにB $\beta$ N<sub>1-66 aa</sub>をインジェクトすると濃度依存的にシグナルが増加し, 両者の間に相互作用が確認された. さらにFrag-DとFrag-NDSKの測定でも同様の結果を示し, 相互作用が確認された. Frag-DとB $\beta$ N<sub>1-30 aa</sub>の測定では小さなシグナルの増加は見られたが, 濃度依存性は確認されなかった. 以上の結果から, Frag-DとB $\beta$ Nとの相互作用にはB $\beta$ 鎖の31残基から66残基が深く関与していることが示唆された.



SPR resonance curves between Frag-D and B $\beta$ N<sub>1-66 aa</sub>.

### 謝辞

本研究は(株)バイオ・ラッド ラボラトリーズの協力と JSPS 科研費 23550237 の助成により行われた.

# フィブリノゲンクライオゲル形成に与える イオン強度と結合糖鎖の影響

○清水政宏\*, 窪田健二\*, 落合正則\*\*, 外山吉治\*

\*群馬大学大学院 理工学府 理工学専攻 [〒376-8515 群馬県桐生市天神町 1-5-1]

\*\*北海道大学低温科学研究所

## 1. 緒言

フィブリノゲンは A $\alpha$  鎖, B $\beta$  鎖,  $\gamma$  鎖の 3 本ポリペプチド鎖から構成される二量体であり, B $\beta$  鎖と  $\gamma$  鎖にそれぞれ 2 つの糖鎖が存在する. フィブリノゲルは酵素トロンビンの作用によって, フィブリノゲン分子のフィブリノペプチド A(FPA)およびフィブリノペプチド B(FPB)が切断されることにより形成される. 一方, フィブリノゲンクライオゲルはトロンビンの作用は必要とせず, フィブリノゲン水溶液を 4°C以下の低温にさらすことによってゲル化が起こる. このことからクライオゲル形成では, FPA と FPB の切断により生じる A-a および B-b に代わる相互作用が存在するものと考えられる. また, これまでの研究から結合糖鎖がフィブリノゲル形成に影響を与えることが示され, さらにイオン強度に大きく影響するという結果が得られた. 本研究では, クライオゲルの形成に及ぼす結合糖鎖とイオン強度の影響を水晶振動子マイクロバランス(QCM)を用いて検討した.

## 2. 実験

濃度 1mg/ml のフィブリノゲン(Fib)水溶液にグリコシダーゼとして PNGaseF を 5U と 10U 添加したものを, 37°Cで 24 時間インキュベートすることにより糖鎖を切除した. その後, GPC による精製を行い, 濃度 0.2mg/ml になるように調製し, 糖鎖切除割合が異なる二つの試料を最終試料とした. 測定はコントロールとして 0.2mg/ml のインタクト Fib 水溶液と糖鎖を切除した二つの試料を用いて, 生理塩濃度である NaCl 136mM において, 25°Cから 2°Cへ冷却し, QCM 測定を行った.

## 3. 結果

図 1 は GPC による精製後に, 各試料を SDS page にかけた結果である. 赤い線で囲ってある部位が B $\beta$  鎖のバンドであり, コントロールのレーン①に対して糖鎖を切除した②および③では B $\beta$  鎖に対応するバンドが二つに分裂していることから, B $\beta$  鎖に結合した糖鎖が切除されたことが確認できた. 図 2 に QCM 測定の結果を示す. 温度を 2°Cに

下げると, いずれの試料もフィブリノゲンの集合にともない周波数が減少した. 特に, 糖鎖切除割合の大きい試料ではコントロールに比べて周波数の減少が大きい. このことから, B $\beta$  鎖の糖鎖切除はクライオゲル形成を促進する効果があることが分かった. 現在, 糖鎖切除による促進効果がイオン強度の変化により, どのような影響を受けるのか検討している.

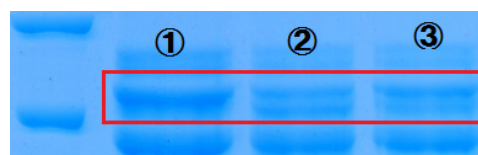


Fig.1 SDS Page of intact fibrinogen ①, 5U PNGaseF treated ②, 10U PNGaseF treated ③.

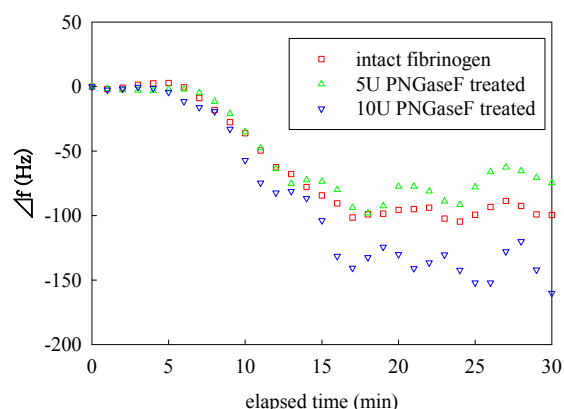


Fig.2 Time course of the frequency change of QCM after quenching from 25°C to 2°C.

本研究は JSPS 科研費 23550237 の助成により行われた.

## 赤血球とフィブリノゲンとの相互作用に与える pH およびイオン強度の影響

高橋海\*, 須田巧\*, 窪田健二\*, 外山吉治\*

\*群馬大学大学院 理工学府 理工学専攻 [〒376-8515 群馬県桐生市天神町 1-5-1]

### 1. 緒言

ヒトやウマ赤血球は血漿蛋白質の一つであるフィブリノゲン存在下において連鎖と呼ばれる可逆的な集合体を形成する。集合体形成のメカニズムについては、赤血球間をフィブリノゲンが架橋することによって形成されるものと考えられてきた。しかし、これとは別にフィブリノゲンが隣接する赤血球の間隙から排除されることによる浸透圧勾配によって形成されるもう一つのメカニズムが提案され未だ解決には至っていない。この二つのメカニズムの決定的な違いは、赤血球表面とフィブリノゲンとの相互作用の有無にある。架橋集合はフィブリノゲンが赤血球表面に吸着することを前提としており、枯渇集合はフィブリノゲンの吸着は必要としない。本研究では赤血球集合のメカニズム解明を目指し、赤血球とフィブリノゲンとの相互作用を水晶振動子マイクロバランス (QCM) 法を用いて直接測定することを試みた。さらに、相互作用に及ぼす pH とイオン強度の影響について調べた。

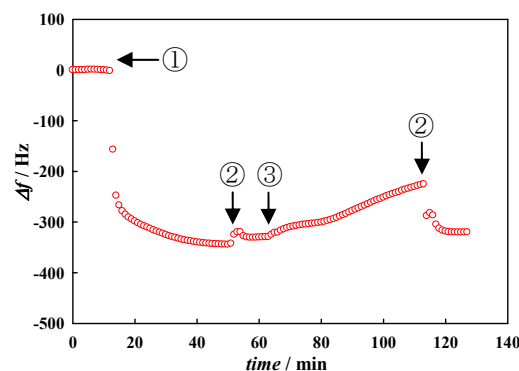
### 2. 実験方法

ウマ血液を遠心し、血漿とバフィーコートを除き、PBS で赤血球の洗浄を 3 回行った。洗浄後の赤血球を MES (pH5.5), PBS (pH7.4), Bicine (pH8.5) の pH の異なる 3 種類の緩衝液にて洗浄および希釈を行い、目的の Ht の赤血球懸濁液を調製した。測定には共振周波数 9 MHz の QCM 装置 (QCA922, セイコー EG&G) を用いた。QCM はナノグラムでの分子認識やその後の反応追跡を質量変化としてとらえることができる装置である。QCM 振動子へのフィブリノゲンの固定化には、アミド末端と結合する活性部位を持つ Dithiobis Succinimidyl Hexanoate (同仁化学) の単分子膜を金表面に形成させた後、フィブリノゲンを添加して行った。周波数の安定を確認後、各赤血球懸濁液を添加し、赤血球と固定化したフィブリノゲンとの間の相互作用を測定した。また、イオン強度変化による影響を調べる実験においては、塩化ナトリウムまたはクエン酸三ナトリウムを用いることで、浸透圧を 290mOs に維持したままイオン強度の異なる PBS を調製した。それぞれの溶液に赤血

球を懸濁させ、同様に QCM を用いて赤血球とフィブリノゲンの相互作用を測定した。

### 3. 結果および考察

図は馬赤血球を添加した場合の典型的な周波数変化を示したものである。いずれの pH およびイオン強度においても周波数の増加が認められた。



Typical frequency changes of fibrinogen coated QCM after the addition of erythrocytes. The arrows of ①, ②, and ③ indicate the immobilization of fibrinogen on sensor chip, the washout by the buffer solution, and the addition of erythrocytes, respectively.

pH の異なる 3 種類の緩衝液を用いた実験では、馬赤血球とフィブリノゲンとの相互作用は、いずれの pH においても増加が認められ、固定化したフィブリノゲン当たりの赤血球添加後の周波数増加割合は pH8.5 が最も大きくなった。フィブリノゲンの等電点が 5~6 であることを考慮すると、pH8.5 では負電荷を多く有することになる。また、イオン強度の変化に対しては、イオン強度の増加とともに周波数増加割合も大きくなった。このことから、赤血球とフィブリノゲンとの間に静電的な相互作用が働いている可能性は低いものと考えられる。今後、再現実験を含め実際の集合能との関係を調べる必要がある。

本研究はJSPS 科研費 23550237 の助成により行われた。

## 酸化ストレスに対するデヒドロエピアンドロステロンの血液レオロジーにおよぼす影響

鈴木洋司, 和泉 遼, 村上慶匡, 大久保信孝, 青戸 守, 満田憲昭

\* 愛媛大学医学部循環生理学

\* [〒791-0295 愛媛県東温市志津川 454]

### 1. 緒言

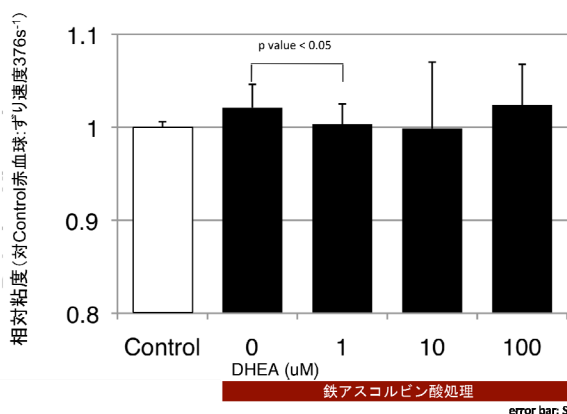
男性ホルモンであるデヒドロエピアンドロステロン (DHEA) は神経保護効果や皮膚の老化抑制効果が知られている。しかしながら、その詳細な保護のメカニズムは分かっていない。また、酸化ストレスは老化のみでなく糖尿病や動脈硬化など種々の疾患において促進因子である。核のない赤血球において DHEA が抗酸化効果を持つなら DHEA の様々な保護効果の機構の解明につながると考え、赤血球に酸化ストレスを加えて赤血球浮遊液の粘度を測定することで DHEA の効果を評価した。

### 2. 実験方法

健康成人から採取した赤血球は洗浄後、酸化ストレスを加えるため 0-1mM FeSO<sub>4</sub>/0-5mM Ascorbic acid 存在下で、DHEA 最終濃度が 0-100 μM になるよう加えて、37°C 1時間処理した。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。赤血球膜タンパク質のチオール基の残量はイールマン氏薬 (5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoic acid; DTNB) により測定した。また、2-methyl-6-p-methoxyphenyl-ethynyl-imidazopyrazinone (MPEC) に過酸化水素を加えた時の化学発光を利用し DHEA の抗酸化能を評価した。なお、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

酸化ストレスによる赤血球浮遊液の粘度の増加とDHEAの影響



鉄アスコルビン酸法処理で酸化ストレスを加えた赤血球浮遊液の粘度は増加した。鉄アスコルビン酸法処理時に低濃度 (1 μM) の DHEA を加えた場合、粘度の増加が抑制された。しかしながら 100 μM と DHEA が高濃度の場合には粘度増加の抑制は見られなかった。また、赤血球膜タンパク質のチオール基は酸化ストレスを加えることで 1 割近く減少した。低濃度 DHEA 添加でチオール基の減少が抑制された。しかしながら高濃度 DHEA 添加では抑制されなかった。

一方、酸化ストレスを加えない条件で DHEA の赤血球浮遊液粘度の影響を見ると、低濃度 DHEA を加えた場合の粘度への影響は認められなかった。

### 4. 考察

鉄アスコルビン酸法による酸化ストレスは活性酸素の発生が生体内で生じる状況をシミュレートしている。赤血球膜タンパク質の酸化傷害により赤血球変形能が低下し粘度増加が起きているのは赤血球のエイジングによる機能障害と相似である。低濃度 DHEA が明らかに酸化ストレスに対し防御的に作用している機構について検討する。DHEA には抗酸化剤の様な直接的活性酸素消去能はなかった。一方で DHEA は赤血球の酸化還元系において重要なペントースリン酸経路の律速酵素グルコース 6 リン酸脱水素酵素 (G6PD) を抑制することで知られている。酸化ストレスに対し防御的作用としては矛盾するが確かに高濃度の DHEA は G6PD 活性を 9 割程抑制する。しかしながら低濃度 DHEA では数%程度しか抑制しなかったことから G6PD 活性抑制効果以上のなんらかの酸化還元系代謝を促す可能性がある。

### 5. 結言

DHEA は高濃度では酸化ストレスによる赤血球浮遊液の粘度増加を抑制しないが、低濃度では酸化傷害を防止し粘度増加を抑制することが明らかになった。

## 隣接細胞つつき刺激による血管内皮細胞内 PKC $\alpha$ 分布変化

高良智尋\*, 荒井雅貴\*, 中嶋和弘\*\*, 世良俊博\*\*, 工藤奨\*\*

\* 九州大学 大学院工学府 機械工学専攻 [〒819-0395 福岡県福岡市西区元岡 744]

\*\*九州大学 大学院工学研究院 機械工学部門

### 1. 緒言

血管の最も内側に存在する血管内皮細胞は剥離領域が生じた際、剥離箇所へ集団移動する。この移動には細胞内に存在するタンパク質である Protein Kinase C  $\alpha$  (以下 PKC $\alpha$ )が関与していると考えられている<sup>(1)</sup>。また細胞が移動する際には細胞骨格が深く関わっていることが知られているが、細胞遊走時における PKC $\alpha$  と細胞骨格の関係については不明な点が多い。そこで、本研究では GFP と PKC $\alpha$  の融合タンパク質である pPKC $\alpha$ -AcGFP を用いて、つつき刺激による細胞に損傷を与えた後の細胞内 PKC $\alpha$  分布を調べた。さらに、細胞骨格の阻害剤を用いて PKC $\alpha$  分布変化と細胞骨格の関連を調査した。

### 2. 実験方法

ウシ大動脈由来細胞 (Bovine aortic endothelial cells: BAECs, 東洋紡) を使用し、PKC $\alpha$  の観察には GFP との融合タンパク質である pPKC $\alpha$ -AcGFP を作製し顕微鏡下で観察した。φ27 のガラスベースディッシュ (IWAKI) 上に培養した内皮細胞層内の単一細胞にガラス電極で傷を与え、細胞内 PKC $\alpha$  の変化を観察した。粗動ハンドル (05068, NARISHIGE) と油圧駆動の微動ハンドル (05014, NARISHIGE) を組み合わせたマイクロマニピュレータを用いて先端径 4  $\mu$ m のガラス電極を近づけ、任意の細胞をつつくことで傷を与えた。また、一定の速度でつづくことができるように、マイクロマニピュレータの微動ハンドルに Planetary Gear box Set (72001, TAMIYA) とモーターを取り付け、z 軸方向に一定の速度で動く機構を作製し、マニピュレータの微小な上下運動を制御した。

### 3. 実験結果および考察

PKC $\alpha$  は活性化すると細胞膜に移動することが知られているため、PKC $\alpha$  活性化試薬である PMA (Phorbol 12-myristate 13-acetate) を細胞に添加し、活性化した PKC $\alpha$  が細胞膜へ移動するかを観察した。また、比較対象として GFP のみの性質を持った遺伝子である pcDNA-AcGFP を導入した細胞にも PMA を添加し観察を行った。PKC $\alpha$ -AcGFP および AcGFP を導入した細胞に PMA を添加し、添加前と添加後 30 分の比較検討をおこなった。GFP のみを導入した細胞に関しては、PMA を添加しても細胞内において輝度および分布の

変化が認められなかったのに対し、PKC $\alpha$ -AcGFP を導入した細胞では PMA 負荷 30 分後には細胞膜において輝度の上昇と細胞質内における輝度の減少が確認され、PKC $\alpha$ -AcGFP が PKC $\alpha$  の性質を保持していることが確認された。単一の細胞につつき刺激を与えたところ、刺激を与えた細胞に隣接する細胞内において PKC $\alpha$  が刺激細胞との境界に集合する現象が確認された。さらに、この現象には二つの 2 つのパターンが存在し、本研究では応答 A、応答 B と定義した。

応答 A は刺激後、刺激を受けた細胞およびその隣接細胞内において全体の輝度が上昇する。その後、刺激細胞の収縮に伴い隣接細胞との結合が切れる際に結合が切れた部分に PKC $\alpha$  が集まる。その後時間経過と共に輝度は減少し、数分後には刺激前の状態に戻った。

応答 B は刺激後、応答 A と同様に刺激を受けた細胞およびその隣接細胞内全体の輝度が上昇する。その後、応答 A とは異なり、隣接細胞の核周辺に PKC $\alpha$  が集合した後に、刺激細胞との境界に近い細胞膜周辺へと分布を変化させた。応答 B も応答 A と同様に時間経過と共に輝度は減少し、刺激前の状態に戻った。アクチンフィラメント、微小管の阻害剤を用いて同様の実験を行ったところ、両阻害剤の影響下においても両方の応答が観察された。

### 4. 結言

単一の細胞に直接つつき刺激を与えると、周辺の細胞は刺激の与え方によって、細胞間接合領域に PKC $\alpha$  が集中する現象と、核周辺で PKC $\alpha$  が集合して刺激部位付近の細胞膜へと局在を移動させていく現象の 2 つの応答パターンが観察された。また、本実験の範囲では PKC $\alpha$  と細胞骨格の関連は見られなかった。

## 文 献

- 1) Sirosh M, et al.: Regulation of Skin Microvasculature Angiogenesis, Cell Migration, and Permeability by a Specific Inhibitor of PKC $\alpha$ . *Journal of Investigative Dermatology*, **126**, 460-467, 2006.

## 局所力学刺激における血管内皮細胞内 PKC $\alpha$ と細胞骨格の関係

西村和馬\*, 荒井雅貴\*, 中嶋和弘\*\*, 世良俊博\*\*, 工藤 奨\*\*

\* 九州大学 大学院工学府 機械工学専攻 [〒819-0395 福岡県福岡市西区元岡 744]

\*\*九州大学 大学院工学研究院 機械工学部門

### 1. 緒言

血管内皮は血管内皮細胞で構成されており, 血流によるせん断応力などの力学環境に常にさらされている。血管内皮細胞は血管が創傷した際, 創傷箇所を修復するため細胞が移動することが知られており, 細胞移動には細胞内のタンパク質である PKC $\alpha$  (Protein kinase C  $\alpha$ ) が関与していると考えられている。PKC $\alpha$  は ATP (Adenosine triphosphate) などにより活性化され, 活性化した PKC $\alpha$  は細胞質から細胞膜側に分布を変化させることが観察されている<sup>(1)</sup>。薬剤刺激による PKC $\alpha$  の分布変化は報告されているが, 力学刺激による PKC $\alpha$  の応答は報告されていない。本研究では培養内皮細胞に局所的な力学刺激を与えた際の PKC $\alpha$  の応答を観察し, さらに PKC $\alpha$  と細胞変形に關与する細胞骨格との関係を調査した。

### 2. 実験方法

細胞には, ウシ大動脈由来細胞 (Bovine aortic endothelial cells: BAECs, 東洋紡) を使用した。PKC $\alpha$  の観察には GFP との融合タンパク質である pPKC $\alpha$ -AcGFP を作製し細胞内に発現させることで細胞内での PKC $\alpha$  の変化を解析した。細胞に引張刺激を与えるため, 光ピンセット (LMS-40611, SIGMA KOKI CO.LTD) を使用した。細胞にビーズを接着させ光ピンセットで補足後, 約 1~2  $\mu$ m 移動させることにより単一細胞に局所的な引張刺激を与えた。光ピンセットのレーザー波長は 1064 nm, 出力は 3.5 W とした。ビーズは直径 2  $\mu$ m のラテックスビーズ (polybead carboxylate 2.0  $\mu$  microsphere, polysciences, Inc.) を使用し, Fibronectin (F1141-1MG, SIGMA) でコーティングした。ビーズは細胞に滴下後, 2 時間インキュベータ内でインキュベートすることで細胞に接着した。その後, HBS1ml で 2 回洗浄し, 2 ml の HBS を添加した。接着したビーズを光ピンセットで捕捉し移動させ, 1 分間保持することで細胞に引張刺激を与えた。引張刺激を与えた後, 10 分間 PKC $\alpha$  の局在を観察した。

アクチンフィラメント阻害剤として Cytochalasin D, 微小管の阻害剤として Nocodazole (Sigma Aldrich) を使用した。Cytochalasin D は 0.1 $\mu$ M に調製し 1ml 添加した後 5 分間インキュベートした。Nocodazole は 10  $\mu$ M に調製し 1 ml 添加し 30 分間インキュベートした。そ

れぞれ HBS で洗浄した後, 同様の手順で細胞に引張刺激を与えた。

### 3. 実験結果

PKC $\alpha$ -AcGFP を導入した細胞に接着したビーズを光ピンセットで補足, 移動させることで細胞に局所的な引張刺激を与え, 細胞内での PKC $\alpha$  の局在の変化を観察した。引張刺激後, ビーズ周辺に蛍光が集中する様子が観察された。観察画像から, 引張刺激前の蛍光輝度を基準として刺激後の蛍光輝度を 1 分毎に比較した。また, 引張刺激の方向による影響を調べるために引っ張り刺激を核に向かう方向 (front) と核から離れる方向 (back) に分けて比較した。引っ張り刺激後, ビーズ周辺の蛍光輝度の上昇は観察されたが, 方向による違いは観察されなかった。さらに, 引っ張り刺激時の PKC $\alpha$  と細胞骨格との関連を調べた。引張刺激後, アクチンフィラメント阻害剤の影響下においては蛍光輝度の上昇が観察されたが, 微小管阻害剤の影響下においては蛍光輝度上昇の割合が減少した。

### 4. 結言

細胞に局所的な力学刺激を与えると, 刺激部位周辺に PKC $\alpha$ -AcGFP の蛍光が集中した。これにより PKC $\alpha$  は局所力学刺激に対し, 局所的な活性化を示すことが示唆された。また微小管阻害剤を添加した場合, PKC $\alpha$ -AcGFP の蛍光輝度上昇率が減少したことから, 外部刺激と PKC $\alpha$  の活性に微小管が關連している可能性が示唆された。

### 文 献

- 1) Consuelo M-V et al.: The ATP-dependent Membrane Localization of Protein Kinase C  $\alpha$  Is Regulated by  $Ca^{2+}$  Influx and Phosphatidylinositol 4, 5- Bisphosphate in Differentiated PC12 Cells. *Molecular Biology of the Cell*, **16**, 2848-2861, 2005.

# ティラピア鱗由来アテロコラーゲンから調製したゼラチン水溶液のゲル化に伴う動的粘弾性挙動

志田奈津実<sup>1</sup>, 榎靖幸<sup>1</sup>, 土橋敏明<sup>1</sup>, 小柳佳子<sup>2</sup>, 岸村栄毅<sup>2</sup>, 都木靖彰<sup>2</sup>,  
元村まみ<sup>3</sup>, 市川寿<sup>3</sup>

1) 群馬大学大学院理工学府 [〒376-8515 桐生市天神町 1-5-1]

2) 北海道大学大学院水産科学研究院 [〒041-8611]

3) 長崎大学大学院水産・環境科学総合研究科 [〒852-8521 長崎市文教町 1-14]

## 1. 緒言

BSE 問題をきっかけに、魚由来ゼラチンは食品あるいは医薬分野における代替原料としての需要が高まり注目を集めている。一方で魚由来ゼラチン水溶液の冷却によって得られるゲルは哺乳動物由来のものよりも融点が低く強度が弱い、限られた用途でのみ利用されている。亜熱帯に棲息するティラピアはコラーゲンの変性温度が高く、その水溶液から得られるゼラチンゲルの融点が高くなることが予想され、広い用途に用いられるゼラチンの調製ができることが示唆される。本研究では、一般的な加熱酸・アルカリ処理ではなく、酵素による抽出によりゲル強度の低下を抑えアレルゲンも取り除いたティラピア鱗由来アテロコラーゲンの力学的測定を行い、その試料の有用性について検討した。

## 2. 実験方法

ティラピア鱗を 1% NaCl、0.2 M NaOH、0.2 M HCl、蒸留水に順次浸漬させ、灰分・夾雑蛋白質を除去した。鱗を包丁とディスペンサーで細かくした後、10 倍量 0.1 M HCl 中に懸濁し、1wt% ブタペプシンを加え 20°C で 72 h ペプシン分解抽出を行った。残渣と抽出液を分離し、抽出液を 1 M NaCl で塩析、遠心後、透析脱塩し、ティラピア鱗由来アテロコラーゲンの凍結乾燥物を得た。この試料を 45°C の恒温槽にて 30 分間攪拌して調製したゼラチン水溶液を以下の測定に用いた。動的粘弾性測定は、周波数 0.1-2.0 Hz、ひずみ 0.02、温度範囲 5°C-45°C、昇温速度 0.12 °C/min で行った。また、5°C で 24 h 冷却して得られたゲルについて、押し

込み速度 6 cm/min で、押し込みにより破断強度測定を行った。

## 3. 結果・考察

貯蔵弾性率  $G'$  と損失弾性率  $G''$  は昇温過程において、Fig.1 のような挙動を示した。測定温度 24.9°C において、 $G'$  と  $G''$  の値が逆転し、周波数依存性はべき乗則  $G' \sim G'' \sim \omega^n$  で表されたため (Fig.2)、この点をウィンター・シャンボンの定義によるゲルの融点とした。上記の実験条件における破断強度は 3.0 N/cm<sup>2</sup> (タンパク質濃度: 20 mg/mL) であった。これより、ティラピア鱗由来ゼラチンは、同じ実験条件における測定によりゲルの融点が 25.1~25.5°C、破断強度が 1.50~2.04 N/cm<sup>2</sup> との報告がある哺乳動物由来ゼラチン<sup>2)</sup>と同程度の力学的性質を示すことがわかった。

以上の結果よりティラピア鱗由来アテロコラーゲンから調製したゼラチンは、アレルゲンがなく、しかも哺乳動物由来ゼラチンと同程度の汎用性を持つ素材として活用できることが示唆される。

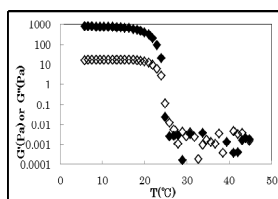


Fig.1 Storage modulus  $G'$  (◆) and loss modulus  $G''$  (◇) of atelocollagen aqueous solution at 20 mg/mL and measured at 0.1 Hz during heating process.

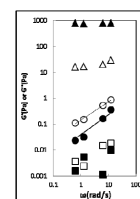


Fig.2 Storage modulus  $G'$  and loss modulus  $G''$  of atelocollagen aqueous solution at 20 mg/mL as a function of angular frequency measured at 5.8°C (gel state,  $G'$ : ▲,  $G''$ : △), 24.9°C (critical state,  $G'$ : ●,  $G''$ : ○) and 43.0°C (sol state,  $G'$ : ■,  $G''$ : □).

## 文献

- 1) Winter, H. H. and Chambon, F.: J. Rheol, 30, 367, 1986.
- 2) 元村まみ, 市川寿: 日本バイオレオロジー学会誌, 第 27 卷, 第 3 号, 2013.

# DNA ゲルビーズのアクリジンオレンジ吸着過程におけるスケーリング

○須江栞\*、若松正子\*、富田奈緒子、山本隆夫\*、土橋敏明\*

\* 群馬大院・理工学府 [〒376-8515 群馬県桐生市天神町 一丁目 5 番 1 号]

## 1. 緒言

疎水的な平面構造を持つベンツピレンなどの化合物は DNA の二重らせん構造における二つの塩基対間に選択的にインターカレートし、DNA の遺伝子複製に障害を及ぼすことが知られている。一方、この性質を利用して、DNA を選択的な有害物質吸着材として利用する研究もなされている。最適な吸着剤の設計に当たっては、吸着のメカニズムを明らかにすることが必要であるが、そのためには、吸着剤の流動と吸着による凝集構造の変化といったマイクロスケールにおけるレオロジーの視点が不可欠である。有害物質のモデルであるアクリジンオレンジ(AO)溶液において、DNA ゲルビーズが AO を吸着する過程を記述する理論として、吸着のダイナミクスを AO の DNA ゲル表面からの拡散により駆動される吸着層と未吸着層の界面の運動で記述する方法が提案されている<sup>1)</sup>。界面の運動による記述は吸着の著しい不可逆性を反映させたものである。理論の描像を確定させるためには、理論の結論の一つであるゲルサイズによらない挙動を確かめる必要がある。本研究では、このことを明らかにするために、大きさの異なるゲルビーズを調製し、それらの吸着挙動を調べ、理論の妥当性を確かめることを試みた。

## 2. 実験方法

1 wt%DNA 四ホウ酸ナトリウム水溶液( DNA 水溶液)を、100 mM 塩化アルミニウム水溶液に滴下し( 24 時間、25°C )ゲル化させて得た、サイズの異なる DNA ゲルビーズ(平均直径  $2R_0 = 0.21$  cm,  $0.35$  cm,  $0.5$  cm)を吸着実験用の試料とした。次に得られた DNA ゲルビーズ  $0.5$ g を  $20\mu\text{g/mL}$  の AO 溶液  $10\text{mL}$  に浸漬して吸着させた。AO 溶液の濃度変化は分光光度計を用いて測定した。

## 3. 理論から得られる吸着挙動

- (1) 時間( $t$ )は半径( $R_0$ )の 2 乗でスケールされる。したがって、吸着に関わる時定数( $\tau_0$ )も半径( $R_0$ )の 2 乗でスケールされる。
- (2)  $\tilde{n}_0$ (DNA ゲルビーズの AO の吸着できるサイトの数を溶液中の AO の全分子数で割ったもの)は本実験条件では DNA ゲルビーズのサイズによらず一定となる。

## 4. 結果と考察

Fig.1 は浸漬液中の AO 濃度を初濃度で割って規格化したもの( $\gamma_{AO}$ )をスケールされた時間 ( $t/R_0^2$ )に対してプロットしたものである。吸着曲線はビーズのサイズによらず同じになった。

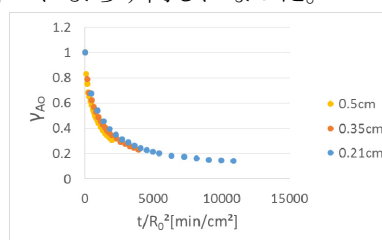


Fig1 Time course of normalized concentration of AO in immersion solution

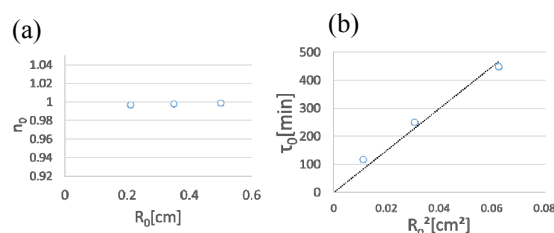


Fig2 Size dependence of  $\tilde{n}_0$  (a) and  $\tau_0$  (b)

Fig.2 に理論から得られる吸着曲線の関数形に実験点を当てはめて得られたパラメータ  $\tilde{n}_0$  と  $\tau_0$  の DNA ゲルビーズサイズ依存性を示す。 $\tilde{n}_0$  は DNA ゲルビーズのサイズによらずほぼ一定であり、 $\tau_0$  は、 $R_0^2$ (半径)に比例する。これらの実験結果は、理論の描像が実験を反映したものであることを示している。

## 5. 結言

アルミニウム架橋 DNA ゲルビーズの AO 吸着過程は、AO 拡散律速であり、吸着層と未吸着層の界面の移動により表現できる。

## 文 献

- 1) Furusawa, K., Wakamatu, M., Dobashi, and Yamamoto, T.: DNA Liquid-Crystalline Gel as Adsorbent of Carcinogenic Agent. *Langmuir*, 23, 10081-10087, 2007

## 細胞培養可能なゼラチンゲルシートの作製

高木 宣祥\*, 富田 翔\*, 山本隆夫\*, 土橋 敏明\*, 田中 進\*\*

\*群馬大学大学院理工学府[〒376-8515 桐生市天神町 1-5-1]

\*\*高崎健康福祉大学健康福祉学部[〒370-0033 高崎市中大類町 37-1]

### 1. 緒言

コラーゲンやゼラチンは細胞接着性が良いことが知られており、様々な生化学的用途に用いられている。ゼラチンゲルを細胞足場として利用する場合、ゼラチンの融解温度はそのままでは生理的温度より低いため、様々な方法で融解温度を上げる必要がある。最近、有機溶媒中のゼラチン水溶液液滴に紫外線を照射して化学架橋する事によって得られるマイクロカプセルを足場として線維芽細胞を培養させると、正常細胞(WI-38)は増殖するが、がん化した細胞(WI-38-VA-13)は増殖しないことがわかった<sup>1)</sup>。このような細胞選択性をもつ足場は医療材料としての応用も期待される。本研究では、さらに広い用途を持つと考えられるシート状の足場を作製するための実験条件を見出すことを目的とした。

### 2. 実験

氷上のテフロンシート上に置いたアクリル製のパイプ(24φ×10)を鋳型として 0.5 mL の 3 wt%ゼラチン水溶液をゲル化させた。次に、得られたゼラチンゲルシートを温度 5 °C、湿度 10%に保った冷蔵庫にて 2 日間濃縮した。鋳型からゼラチンゲルシートを切り出し、両面に紫外線を照射した。紫外線照射時間を変えて作製したシートも作製した。その後、冷蔵庫にて Milli-Q 水で 24h 再水和させた。得られたシートの融点測定とこれを足場とした細胞培養実験を行った。

### 3. 結果と考察

ゲル中の重合体同士の水素結合は重合体の表面部位で行われるとするモデルにリンデマン則を適用すると、紫外線照射したゲルの融解温度  $T_m$  と未照射のゲルの融解温度  $T_{m,0}$  の比の 3/2 乗が紫外線照射時間  $t_{UV}$  の一次関数である事が示される<sup>2)</sup>。ゼラチンシートの融解温度の比の 3/2 乗と紫外線照射時間の関係を Fig.1 に示す。ここで、縦軸 1.5 付近の横線は生理的温度(37 °C)を表す。グラフから、 $t_{UV}$  が 9 min を超えると生理的温度よりも融解温度が高くなる事が分かる。この融解温度が 37 °C を超える時間を  $t_c$  とする。また、 $t_{UV}$  がさらに長い場合には、融解温度はリンデマン則による

結果より急速に上昇する。細胞培養実験では、 $t_c$  より十分長い紫外線照射時間で作製したシートを用いた。

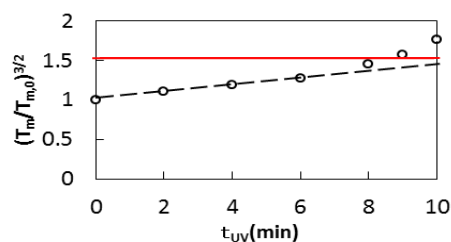


Fig.1 UV-irradiation-time dependence of melting point

ヒトの線維芽細胞 (WI-38) と癌化した細胞 (WI-38-VA-13) を異なる紫外線照射時間で作製したゼラチンゲルシート上で 7 日間培養した後の様子を Fig.2 に示す。正常細胞においては、紫外線照射時間に関係なくどのシート上でも良く接着、増殖していることが確認できる。がん化した細胞については 40 min のものでは細胞同士が接着し凝集体ができていて細胞が増殖していないが、照射時間が長くなるにつれて次第に増殖していくことが分かる。これは、細胞接着選択性は紫外線照射時間の最適値があることを示唆している。紫外線が及ぼす足場表面の物理化学的性質と細胞接着選択性との関連については検討中である。

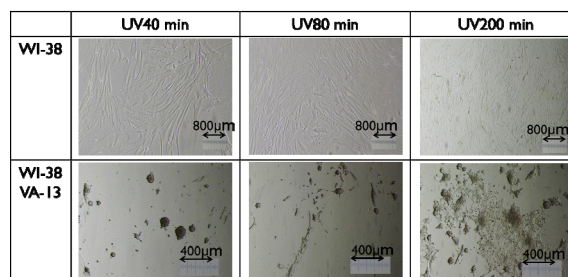


Fig.2 Microscopic image of cells, WI-38 and WI-38-VA-13, cultured for 7 days

- 1) Dobashi, T. Koike, M. Kobayashi, K., Maki, Y., Yamamoto, T. and Tanaka, S.: Progr Colloid Polym. Sci., **136**, 149-154, 2009
- 2) Yamamoto, T. Koike, M. and Dobashi, T.: Langmuir, **23**, 8531-8537, 2007

# N-イソプロピルアクリルアミドゲル微粒子水溶液の電気泳動光散乱

菅原健太郎, 槇靖幸

群馬大学大学院 理工学府 [〒376-8515 桐生市天神町 1-5-1]

## 1. 緒言

N-イソプロピルアクリルア

ミド(NIPA)ポリマーは温度応答性を持ち、水溶液は 32 °C 付近に下限臨界共溶温度(LCST)を持つ。また、NIPA の水ゲルは温度に応答して LCST 付近で体積相転移することが知られている。

近年、直径約数百 nm~1 μm 程度の球状ゲル微粒子は、内包物の徐放制御可能なドラッグデリバリーシステムキャリアとして注目されている<sup>1)</sup>。NIPA のゲル微粒子はマクロゲル同様温度に応答して体積変化することが報告されている。

NIPA ゲル微粒子は中性高分子である。しかし、イオン性の重合開始剤を使用したラジカル重合によって合成されたゲル微粒子は、重合開始剤に由来するイオン基のために電荷を持ち<sup>2)</sup>、電場に応答して電気泳動が観察される。電気泳動易動度  $\mu$  はゲル微粒子の流体力学的な性質と電荷の分布の両方に依存するため、ゲル微粒子の微細構造の変化を反映すると予想される。

本研究では、このわずかに電荷を持つゲル微粒子について、電気泳動光散乱を用いて電気泳動易動度の温度依存性における体積変化の効果を検討した。

## 2. 実験方法

架橋剤にメチレンビスアクリルアミド、重合開始剤に過硫酸アンモニウムを使用し、64 °C でラジカル重合させることで NIPA ゲル微粒子を得た。25 °C におけるゲル微粒子のキャラクタリゼーションを動的散乱、静的散乱を用いて行った。さらに動的散乱から得られる流体力学的半径  $R_h$  と電気泳動光散乱から得られる  $\mu$  の温度依存性を測定し比較した。

## 3. 実験結果

Fig. 1 は静的散乱の散乱光強度を散乱ベクトル  $q$  に対してプロットしたものである。散乱プロフィールは、以下の球状粒子の散乱関数

$$I(q) = I_0 \left[ \frac{3(\sin(qR) - qR \cos(qR))}{(qR)^3} \right]^2 \quad (1)$$

で表現された。Fig. 1 の曲線は、ガウス分布に従う粒子径分布を考慮した式(1)による計算結果である。

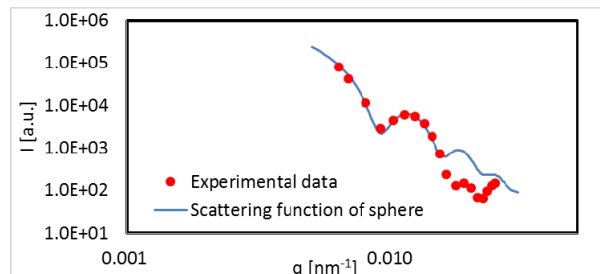


Fig. 1 Log-log plot of the scattered light intensity versus scattering vector

Fig. 1 より、粒子半径  $R$  は  $R = (5.0_0 \pm 0.3_0) \times 10^2$  nm と見積もられた。動的散乱から得られた流体力学的半径は  $R_h = (4.9_0 \pm 0.2_0) \times 10^2$  nm であった。以上の結果から、半径 500 nm 程度の単分散球状粒子が得られたことが確認できた。

$R_h$  及び  $\mu$  の温度依存性を Fig.2 に示す。 $R_h$  は 25 °C~32 °C の範囲で緩やかに減少し、32 °C~35 °C の範囲で大きく減少し、35.5 °C~39 °C の範囲で再び緩やかに減少した。このことから体積変化が始まる温度  $T_c$  は 32 °C で、NIPA ポリマーの LCST にほぼ一致した。 $\mu$  は 25 °C~35 °C の範囲で緩やかに変化し、35 °C~37 °C の範囲で大きく変化し、37 °C~39 °C の範囲で再び緩やかに変化した。電気泳動易動度の大きな変化は流体力学的半径の変化よりも高い温度で生じることがわかった。

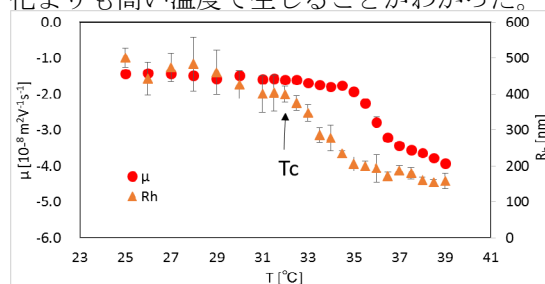


Fig. 2 Temperature dependence of the hydrodynamic radius  $R_h$  and the electrophoretic mobility  $\mu$

## 文 献

- 1) 佐々木善浩, 秋吉一成 人工臓器 39, 197-201 (2010)
- 2) 国府田悦男 繊維と工業 60, 386-390 (2004)

## 寒天ゲル表面上の DNA 液滴のゲル化過程における形状変化のレオロジー

石坂和也, 槇靖幸, 土橋敏明  
群馬大学大学院理工学府 [〒376-8515 桐生市天神町 1-5-1]

### 1. 緒言

ゲルは高分子鎖が架橋されることで 3 次元的な網目構造を形成し内部に大量の溶媒を膨潤しているものである<sup>[1]</sup>。このため「形状を保った水溶液」とみなすことができ、水溶液中で行う様々な反応をゲル中に行うことが可能であると考えられる。

高分子の架橋反応の手法の 1 つに不溶化反応法というのがあり、高分子ゲルのビーズやカプセルを調製するのに利用されている<sup>[2]</sup>。不溶化反応法では、高分子溶液を硬化浴(非溶媒)に滴下することで接触面から徐々に架橋が起こり、内部に向かってゲル化が進行する。

本実験は塩化アルミニウム水溶液で膨潤させた寒天ゲルを固体の「硬化浴」とし、寒天ゲル表面上での不溶化反応による DNA 液滴のゲル化過程を調べた。

### 2. 実験方法

サケ白子由来 DNA(ca. 10 kbp)を四ホウ酸ナトリウム水溶液(20 mM)に溶解し、0.05 ~ 1.0 wt% DNA 水溶液を調製した。寒天を超純水中で加熱し 1wt%水溶液としたものを冷却し板状の寒天ゲルを得た。寒天ゲルを 1 ~ 100 mM 塩化アルミニウム水溶液に含浸させた後、寒天ゲル表面に DNA 水溶液を 100  $\mu$ l 滴下しゲル化過程を観察した。

### 3. 実験結果・考察

DNA 及び塩化アルミニウム濃度に依存して DNA 液滴はゲル化過程において異なる形態変化を示すことを見出した。1 wt% DNA、100 mM 塩化アルミニウムの場合のゲル化過程を Figure 1 に示す。寒天ゲルに滴下した直後には半球状であったが、接触界面からのゲル化の進行とともに、液滴はくびれた形になり、キノコのような形状を示した。0.5 wt% DNA、100 mM 塩化アルミニウムの場合のゲル化過程を Figure 2 に示す。寒天ゲルに滴下後、液滴はくびれのないベル状の形状を示した。0.1 wt% DNA、10 mM 塩化アルミニウムの場合のゲル化過程を Figure 3 に示す。寒天ゲルに滴

下後、液滴の高さは徐々に減少していき薄膜状の形状を示した。

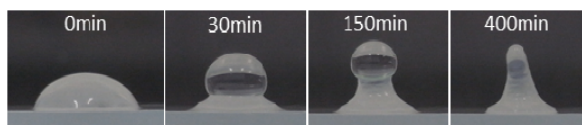


Figure 1. Shape change of a droplet of DNA solution (1wt%) on agar gel containing 100 mM  $\text{AlCl}_3$ .

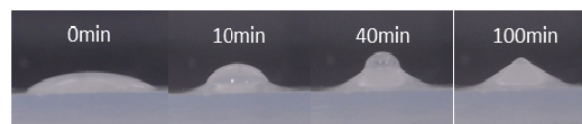


Figure 2. Shape change of a droplet of DNA solution (0.5wt%) on agar gel containing 100 mM  $\text{AlCl}_3$ .

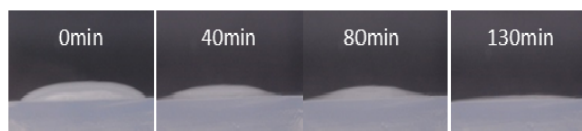


Figure 3. Shape change of a droplet of DNA solution (0.1wt%) on agar gel containing 10 mM  $\text{AlCl}_3$ .

滴下 24 時間後の DNA ゲルの形状を、高さ  $H$  と半値幅  $W$  で表現するとき、 $H$ ,  $W$  の DNA 濃度  $C_{\text{DNA}}$  依存性は Figure 4 のようになった。ゲル化過程において、液滴がキノコ状、ベル状、薄膜状の形状を示すとき、最終的なゲルの形状について、それぞれ  $H > W$ ,  $H < W$ ,  $H \approx 0$  であることがわかった。液滴の形状変化の理由を、レオロジー的な観点で考察する予定である。

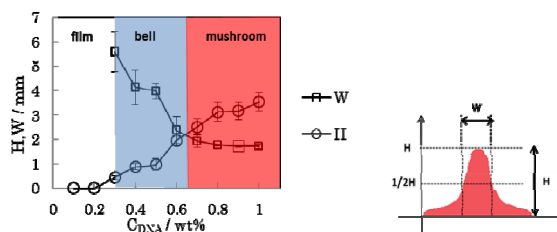


Figure 4. Plots of height ( $H$ ) and halfwidth ( $W$ ) of DNA gels obtained 24 hours after dripping on the agar gel containing 100 mM  $\text{AlCl}_3$  against DNA concentration  $C_{\text{DNA}}$ .

### 文献

- 1) 西成勝好：食品ハイドロゲルの開発と応用，シーエムシー社，2007
- 2) 近藤保：最新マイクロカプセル化技術，総合技術センター，1987

## ダチョウ卵殻の呼吸孔について

小山富康\*

\* 元北海道大学

### 1. 緒言

鳥や昆虫の卵は肺などの特別な呼吸装置をもたない。基本的に卵殻に微小なパイプ状の気孔が貫通しており、内部の組織は、分圧差にしたがって流入する酸素を取り込むことによって呼吸し、分裂増殖を反復して成熟へ向かう。卵殻の気孔を通して呼吸しているのである。この呼吸のために卵殻には無数の微小気孔が存在する。卵殻内外の分圧差に従って酸素は流入し、二酸化炭素は流出・排出される。気孔は多くの場合に基本的には円形であり、小鳥、鶏の卵まで、卵殻を貫通する円管構造が報告されている。トンボ卵殻でも円形の微小孔が存在し、水中との分圧差によってガス交換が行われているとみられる。一方大型の鳥では様子が若干異なるようである。南米のレア、絶滅種のモア、エピオルニスでは単純な小孔ではなく、卵殻に溝が作られておりその奥に小孔が開口していると報告されている。現生種のダチョウでも、1本、あるいは2 - 3本の小孔が溝に開いていること、多数の溝が卵の長軸に平行に走っていることが記載されている。ところが、この度ダチョウ卵殻を観察して、従来の記載とは異なる印象を持ったので、場違いであるが、報告させていただき、バイレオロジーの観点から卵殻構築について、ご意見ご教示を戴きたいと願っている。

### 2. 実験方法

目視並びに低倍率顕微鏡写真撮影をもとに計測した。ダチョウ卵殻はニュージーランド、ウェリントン市のデパパ国立博物館に古くから所蔵されてきた標本、野生卵か養殖種かは不明である。並びに、茨城県石岡市ダチョウ王国から購入した、養殖黒毛ダチョウ卵殻を用いた。

### 3. 実験結果

ダチョウの卵殻表面では、溝ではなく幅広の緩やかな陥凹の連続が見られる。さながら薄いブリキやプラスチック板の強度維持のために付けられる、ナマコ板構造のように見える。ダチョウ卵が捕食者の多い乾燥した大地に産卵されることを考えると、2mmに及ぶ厚いカルシウム層に、さらに強度を加える効果が重要と思われる。しかも、その陥凹部の走行は単純な卵殻長軸に並行ではなく、旋毛のように捻じれていることもうなずけるように思われる。呼吸の小孔は連続する陥凹部の

底に並んでおり、盛り上がり部分には見られない。しかしこの連続陥凹の走行はしばしば、かなり大きく乱されていることが観察された。

### 4. 考察

鶏卵殻についての形成過程は以下のように言われている。新しい卵が卵巣から輸卵管をへて更に卵殻腺へ送られると、柔らかい卵膜上の乳頭細胞が炭酸カルシウム結晶を作り始め、杭柵状に積み上げていく。この杭柵が卵上に緻密に立ち並んで面を作り、硬化したものが卵殻と云われる。杭柵同志の間に隙間が残れば気孔となる。巨大なダチョウ卵についても同様な卵殻の形成過程が想定される。さらに加えて、平滑筋層の恐らくは捻じれるような蠕動により卵は総排泄孔へ押しやられる。加えて、自然界の雷鳴、稲妻や突風、土の窪地の産卵巣の仲間同士の取り合いが蠕動の一過性の変調の原因になって卵殻上に残ると推定される。

### 5. 結言

気孔が点在する数条の連続陥凹領域が捻じれながら、ダチョウの卵殻上に走っている。ただし、その走行はしばしば乱されている。

### 謝 辞

Dr. Alan Tennyson, テパパ博物館の上級学芸員、ダチョウ王国 笹尾昌氏に感謝申し上げます。

### 文 献

- 1) Tyler C.: Some chemical, physical and structural properties of Moa egg shells. J Polynesian Soc. **66**(1) 110-130, 1957.
- 2) Tennyson A, et al. Moa's Ark: Miocene fossils reveal the great antiquity of Moa in Zealandia. J Compilation. Records of the Australian Museum (2010) **62**: 105-114. 2010.

## 豚肉の物性・嗜好性・咀嚼性に及ぼす加熱・酵素添加の影響

上野山あつこ\*, 堀夏海\*\*, 畦西克己\*, 吉村美紀\*

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

\*\*兵庫県立大学環境人間学部

### 1. 緒言

日本は2007年に高齢化率が21%を超え、超高齢社会を迎えた。加齢が進むにつれて高齢者のタンパク質・エネルギーの低栄養状態(PEM)が問題となり、PEMの予防は生活の質(QOL)を向上させる上で重要であり、高齢者の食事に対する重要性は高まっている。咀嚼・嚥下困難者用のための食品は機能性を重視したものが多く、通常と形状が異なるものも多い。本研究では、豚ヒレ肉の形状を変えることなく軟化させる方法について、加熱方法と酵素処理により、物性・嗜好性・咀嚼性の点から検討した。

### 2. 実験方法

#### 1. 試料

アメリカ産豚ヒレ肉を半解凍で幅2cm、高さ1cmの直方体に成形後、蒸留水または3%酵素溶液(スベラカーゼミート(株)フードケア)に5時間浸漬した。その後普通鍋と圧力鍋を用いて10分間加熱を行った。

#### 2. 測定方法

(1)貫入試験:圧縮試験機(レオナーRE2-3305B,山電製)を用い、直径3mmのプランジャーで圧縮した。破断点が見られなかったため歪0.2, 0.4, 0.6における初期弾性率, 貫入応力, 貫入エネルギーを求めた。

(2)テクスチャー測定:圧縮試験機(レオナーRE2-3305B,山電製)を用い、直径8mmのプランジャーを用い、付着性と凝集性を求めた。

(3)官能評価:5段階採点法で、8項目について、若年者(平均年齢21.6±2.5歳 n=20)と高齢者(平均年齢75.2歳±7.0歳 n=44)を対象とした。

(4)筋電位測定:Personal-EMG(追坂電子機器Version.11)を用い、舌骨上筋群(開口筋)と咬筋(閉口筋)の筋電位を測定した。若年者(平均年齢21.1±0.8歳 n=9)を対象とし、咀嚼開始から第一

嚥下までと第一嚥下以降についての解析を行った。本研究は、兵庫県立大学倫理委員会の承認を得た。

### 3. 実験結果および考察

#### (1)貫入試験

酵素処理試料が酵素未処理試料より、貫入エネルギーが小さく、酵素処理を行うことで有意に豚肉が軟化した( $p<0.01$ )。歪0.4, 0.6のとき、酵素未処理試料では、普通鍋加熱と比べ圧力鍋加熱の方が有意に軟らかくなった( $p<0.01$ )。

#### (2)テクスチャー測定

酵素処理試料が酵素未処理試料より付着性は有意に高かった( $p<0.01$ )。(消費者庁のえん下困難者用食品許可基準(I)の付着性は $4\times 10^2\text{J/m}^3$ 以下で、酵素処理試料でも、これを十分に下回っているため誤嚥を引き起こしやすい程ではないと考える。)

#### (3)官能評価

若年者では、酵素未処理試料は硬い、噛みにくい、飲み込みにくいと評価され、酵素処理試料は軟らかい、噛みやすい、飲み込みやすい、美味しいという評価された( $p<0.05$ )。高齢者においても同様の結果が得られた( $p<0.01$ )。

#### (4)筋電位測定

咀嚼開始から第一嚥下までにおいて、酵素処理試料は酵素未処理試料より咀嚼回数, 咀嚼時間, 総筋活動時間, 総筋活動量が少なかった( $p<0.05$ )。

### 4. 結言

酵素処理試料は、酵素未処理試料と比較して貫入エネルギーが小さく肉が軟らかく、咀嚼回数が減り、咬筋の活動時間も短く、美味しいという結果が得られた。圧力鍋では酵素未処理試料が軟らかいが、その他では大差なかった。本実験で用いた圧力鍋の圧力は140KPa程度のため、十分に軟らかくすることが出来なかったと考えられた。

## 豚硝子体の粘弾性的性質

安中雅彦

九州大学大学院 理学研究院化学部門 [〒812-8581 福岡市東区箱崎 6-10-1]

### 1. 緒言

硝子体はコラーゲンとヒアルロナンから構成される希薄なハイドロゲルであるが、その物性は殆ど解明されていないのが現状である。そこで、本研究では豚硝子体を用いて、力学測定と動的光散乱測定から、ゲルの物理的性質を特徴づける2つの bulk coefficient, すなわち弾性定数とゲル網目と水の間の摩擦係数を求め、これら実験結果と、理論的考察から硝子体ゲルの構造、物性について議論する。

### 2. 実験方法

**2・1 摩擦係数の決定** 摩擦係数の決定は、鴫田・田中による方法にしたがって行った<sup>1)</sup>。測定装置の概要を図 1a に示す。測定は 37°C で行った。

**2・2 動的光散乱** ALV 社製 DLS/SLS-5000 (光源: 22mW He-Ne laser,  $\lambda = 632.8$  nm) を用い、37°C で散乱角 30° から 150° の範囲測定を行った。

### 3. 実験結果

厚さ  $d$  の豚硝子体をセル中に固定し、静水圧  $P$  をかけた場合にゲル中を流れる水流の速度を  $V$  とすると、摩擦係数  $f$  は

$$f = \frac{P}{d \cdot V} \quad (1)$$

となる。カラム中の水の高さで  $P$  を変化させた場合のキャピラリー中を流れる水流の定常状態での速度  $V_C$  を  $P$  の関数としてプロットした結果を図 1b に示す。高い圧力域では希薄な硝子体ゲル網目構造が壊れたことが予想されるため、線形性が成り立つ圧力領域のデータから摩擦係数を求めた。摩擦係数は、図 1b の直線の傾きから、式(2)を用いて  $f = 6.4 \times 10^9$  dyn·sec/cm<sup>4</sup> となった。

$$f = \left( \frac{dV_C}{dp} \right)^{-1} \cdot \frac{1}{d} \cdot \left( \frac{R_V}{R_C} \right)^2 \quad (2)$$

ここで、図 1 の傾きから  $dV_C/dp = 3.1 \times 10^{-8}$  cm<sup>3</sup>/dyn·sec,  $d = 0.5$  cm である。 $(R_V/R_C)^2$  は、半径  $R_C = 3.4 \times 10^{-2}$  cm のキャピラリーの断面積と、半径  $R_V = 3.3 \times 10^{-1}$  cm の硝子体中の流路の断面積の比である。

DLS 測定から、全ての散乱角で速いモード( $f$ )と遅いモード( $s$ )が観測され、共に散乱ベクトル  $q^2$  依存性を示した。拡散係数は、それぞれ  $D_f = 5.9 \times 10^{-12}$  m<sup>2</sup>s<sup>-1</sup>,  $D_s = 3.0 \times 10^{-13}$  m<sup>2</sup>s<sup>-1</sup> であった。

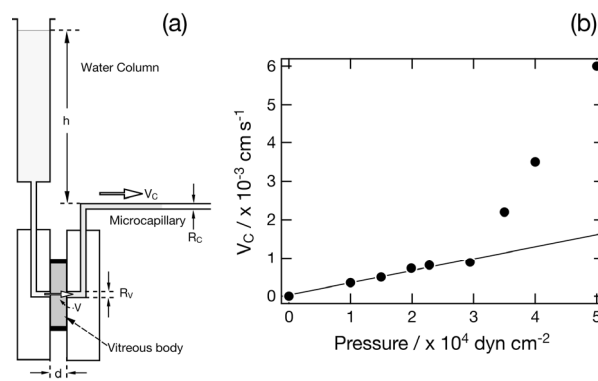


Fig.1 (a) Schematic diagram of the apparatus. (b) The velocity of water in the micropipette is plotted as a function of the water pressure. The solid line in this figure is obtained by the least square fit.

### 4. 考察

硝子体ゲルはコラーゲンおよびヒアルロナンからなる複合ゲルであるため、DLS では、それぞれのダイナミクスがカップリングしたモードを観測することになる。そこでコラーゲン繊維の形成する網目中をヒアルロナンが充填しているモデルを想定して理論を構築した<sup>2)</sup>。実験的に求められた摩擦係数、および DLS の実験結果を用いて、構築した理論から豚硝子体の協同拡散係数  $D_S$ , 体積弾性率  $M$  を求めたところ、<sup>(1)</sup>それぞれ  $D_S = 3.9 \times 10^{-12}$  m<sup>2</sup>s<sup>-1</sup>,  $M = 250$  Pa であった。また、理論から予測される硝子体中のコラーゲンの協同拡散係数は  $D_{Coll} = 3.2 \times 10^{-12}$  m<sup>2</sup>s<sup>-1</sup> となり、この値は Pecora らにより報告されている contour 長 280 nm のコラーゲンの 0.1N HCl 水溶液中での拡散係数  $D_{Coll} \sim (8-9) \times 10^{-12}$  m<sup>2</sup>s<sup>-1</sup> に非常に近い値であり、硝子体ゲルが高い膨潤状態にあることが明らかとなった。

### 5. 結言

力学測定から硝子体ゲル網目と水の間の摩擦係数を決定した。さらに DLS 測定とコラーゲン繊維<sup>(4)</sup>の形成する網目中をヒアルロナンが充填していると想定して構築した理論から、硝子体ゲル網目の協同拡散係数、および体積弾性率を算出することが出来た。

### 文 献

- 1) M. Tokita, T. Tanaka: Reversible decrease of gel-solvent friction. *Science* **253**, 1121+1124, 1991.
- 2) Annaka, M. et al.: Dynamic Light Scattering Study on Calf Vitreous Body, *Macromolecules*, **37**, 7784-7790, 2004.

## クッキーの物性に及ぼす各種糖類の影響

○米山陽子\*、江木伸子、三星沙織、平尾和子

\* 愛国学園短期大学 家政科 [〒133-8585 東京都江戸川区西小岩 5-7-1]

### 1. 緒言

豆類、野菜類に含まれる植物性たん白質、食物繊維などの不足がちな栄養素を継続的に摂取するために、分離大豆たん白質 (以下、SPI) を用いたクッキーを調製したところ、大豆由来の不快臭 (以下大豆臭) が生じた<sup>1)</sup>。既報において大豆臭の少ないクッキーの調製法、適性な焼成温度、焼成時間を求め、配合比を検討した結果、小麦粉を使用しない SPI100% のクッキーではショ糖の配合比の高いクッキーが好まれた<sup>2)</sup>。このことから大豆臭の軽減には糖類の影響が考えられた。

そこで本研究では配合を一定にした場合の各種糖類の影響ならびにショ糖の置換量について、物性測定および官能評価から検討した。

### 2. 実験方法

材料は SPI (㈱フジプロテインテクノロジー)、小麦粉 (薄力粉: 日清製粉㈱)、ショートニング (日本製粉㈱)、卵水 (卵: 蒸留水=1:1) を使用し、糖はグラニュー糖 (㈱パールエース) をコントロールとし、グルコース、フルクトース (和光純薬工業㈱)、トレハロース (以下、Trh)、マルトース (㈱林原、以下 M1t)、マルトトリオース (ピュアトース: 群栄化学工業㈱、以下 MTri) を使用した。クッキードウはスピードカッター (MK-K50: パナソニック㈱) のプッシング機能を使用して調製した。焼成はガスコンベクションオーブン (RCM-10M: リンナイ㈱) で 150~160℃、15 分間とした。焼成品は 30 分間室温放置後、密封袋 (ジップロック: 旭化成ホームプロダクツ㈱) に入れ 1 日後に測定した。配合比は既報<sup>2)</sup> より最も好まれた配合比を用いた。各種糖類の置換量はグラニュー糖の 10~100% とした。破断測定は、クリープメーター (RE2-3305B: 山電㈱) を用いて歪率 80%、測定速度 1mm/sec、くさび型プランジャー 10×1mm で測定し、破断応力、もろさを求めた。官能評価は本学教職員専門パネル 16~19 名で、7 段階評点法を用いて特性評価および嗜好について行い、二元配置分散分析後、試料間の有意差検定を行った。

### 3. 実験結果

① Trh クッキーはコントロールに比べ直径が広がり薄い形状を示した。破断応力は小さく、もろさ

の値は大となった。破断応力、もろさは、置換量による有意の差は認められなかった。

② M1t クッキーはコントロールに比べて焼き色が強く、焼成時間も短縮できた。形状は厚みのあるクッキーとなり、破断応力、もろさが大となった。置換量による有意の差は認められなかった。

③ MTri クッキーの形状はコントロールと比べ、横広がり度厚みのないきめの細かいクッキーとなった。破断応力、もろさは他の糖と比べ小さくなった。置換量の増加により、破断応力は小となる傾向を示した。

④ SPI100% 使用クッキーの官能評価では、コントロールは飲み込みやすさがあり、色、におい、味、飲み込みやすさ、総合評価で有意に好まれた。Trh クッキーは大豆のにおい、味があると評価された。M1t クッキーは酸味、苦味があり最も好まれなかった。MTri クッキーは色があり、大豆のにおい、味、かたさが有意にないと評価された。

### 4. 考察

・ Trh を使用したクッキーはサクサクとした食感が得られたが、これは糖のガラス化が影響したと考えられる。

・ M1t を使用したクッキーは焦げ色がつきやすくなり酸味苦味が残り最も好まれなかったが、10% 置換では食味が改善された。単糖のグルコースで調製したクッキーの焦げ色も強かったことから、M1t、MTri の焼色も構成糖の影響によるものと推察した。

・ MTri クッキーは置換量が 50% 以上になるときめが細かいサクサクとしたクッキーとなり物性、嗜好性が改善された。小麦粉を使用して作ったクッキーでも同様の傾向であったが、添加量が小麦粉に対して 80% を超えるとカリカリとした食感となり、MTri がガラス化したためと推察された。

### 文 献

- 1) 町田優子, 平尾和子, 梅國智子, 齋尾恭子 (2009) 粉末大豆を使用した栄養素強化食品の開発. 愛国学園短大紀要, 26, 5-16
- 2) 三星沙織, 米山陽子, 江木伸子, 前田康智, 高田昌子, 齋尾恭子, 平尾和子 (2012) : 大豆たん白クッキーの物性および官能評価に及ぼす材料配合比の影響 日本調理科学会平成 24 年度大会研究発表要旨集, 7.

## 分離大豆タンパク質を用いたエマルジョンの流動特性

江木伸子<sup>\* \*\*</sup>, 平尾和子<sup>\*\*</sup>, 村上昌弘<sup>\*</sup>, 齋尾恭子<sup>\*\*</sup>

<sup>\*</sup> 共立女子大学大学院 家政学研究科 [〒101-0003 東京都千代田区一ツ橋 2-2-1]

<sup>\*\*</sup> 愛国学園短期大学

### 1. 緒言

分離大豆タンパク質(以下 SPI とする)のエマルジョンへの利用を検討したところ、SPI の水懸濁液を油脂と乳化したのち酢を添加混合する調製方法 (EV 法) により安定性の高い、滑らかなエマルジョンを得た<sup>1)</sup>。さらに SPI、油脂、酢と水 (酢水) の材料配合比を変化させ、エマルジョンを調製することによりさまざまな特性を持つエマルジョンを得た。またこれらエマルジョンの官能評価及び平均粒子径、pH、色度、チキソトロピー特性値 Th、クリープメーターによる硬さ、付着性による物性測定を行い、特性値間の相関を検討した。その結果、エマルジョンの嗜好の総合評価には色、硬さ、滑らかさ、油味の評価が影響していることが明らかとなった<sup>2)</sup>。

上記の結果に基づき、本研究では各配合比のエマルジョンの流動特性を検討し、SPI のエマルジョンの特性をさらに検討することである。

### 2. 実験方法

SPI はプロリーナ 800 (不二製油 (株))、油脂は大豆油 (不二製油 (株))、水は蒸留水、酢は 4.3%酢酸溶液を用いた。酢水は 4.3%酢酸水溶液 5g を含有した蒸留水とした。Scheffé の単純格子計画法<sup>3)</sup>により SPI、大豆油、酢水の材料配合比 (Table 1) を求め、パーミックス M250 (ESGE 社) を用いて EV 法によるエマルジョンを調製した。

流動特性は、TV22 型回転粘度計 (東機産業 (株))、サンプル量 0.25ml、3° × 9.7R コーンローターを使用し、25°C で、回転数を 0.5~100rpm で段階的に上昇下降させて 6 回測定した。この時描写されるヒステリシスループの面積よりチキソトロピー特性値 Th (以下、Th とする) を求めた。データ解析はざり履歴測定法解析ソフト (東機産業 (株)) とマイクロソフト エクセル 2010 を使用した。また流動曲線と粘度曲線より、Casson 式にて降伏値、Herschel-Bulkley 式より粘稠性係数と流動性指数を求めた。

### 3. 実験結果

配合比①のエマルジョンは測定中にみかけの粘度が徐々に低下し、ざり速度を下降させても回復は見られなかった。①以外の②~⑩のエマルジョンはすべて、

Casson 式と Herschel-Bulkley 式に良く適合し、降伏値をもつ擬塑性を示した。SPI の水準の高い④と⑧は高い降伏値と Th を示した。油脂の水準の高い②、⑦、⑨および⑥の降伏値と Th は低い値を示し、酢水の水準の高い③、⑤、⑩はさらに低い降伏値と Th を示した。粘稠性係数は酢水の水準の高い③、⑤、⑩が低い値を示し、流動性指数は油脂の水準の高い②、⑦、⑨が比較的低い値を示した。①を除く②~⑩のエマルジョンの流動特性と官能評価の相関を調べたところ、特性評価の硬さの項目と Th、降伏値、粘稠性係数は正の相関を示し、嗜好の色と Th および降伏値は負の相関を示した。また嗜好の油味と流動性指数は負の相関を示した。

### 4. 考察

②、⑦、⑨はそれぞれ、ポイップクリーム様、マヨネーズ様、スプレッド様の形状を示し、総合評価で有意に好まれた。好まれる要因として pH が低く、色が明るく、白色で粒子が大きく、Th、機器による硬さ、付着性が低く、官能評価で滑らかさがあり、色、硬さ、滑らかさ、油味が好ましいと評価された<sup>2)</sup>。これらに加え流動特性がエマルジョンの評価に有効であると考えられる。

### 文 献

- 1) 江木伸子, 平尾和子, 前田康智, 村上昌弘: 分離大豆タンパク質を用いたエマルジョンの調製条件の検討, 日本家政学会第 65 回大会研究発表要旨, p155, 2013.
- 2) 江木伸子, 村上昌弘, 前田康智, 平尾和子: 分離大豆タンパク質を用いたエマルジョンの官能評価の及ぼす材料配合比の影響, 日本官能評価学会大会発表論文集, 58-59, 2013
- 3) H. Scheffé.: Experiments with Mixtures. Journal of Royal Statistical Society Series B, 20, 344-361, 1958.

Table1 Ten ingredient ratios for Scheffé's simple lattice design of the three components

	(X <sub>1</sub> , X <sub>2</sub> , X <sub>3</sub> )	Ingredient ratios (Total 100g)		
		SPI	Soybean oil	Vinegar and water
①	(1, 0, 0)	23	36	41
②	(0, 1, 0)	4	55	41
③	(0, 0, 1)	4	36	60
④	(1/2, 1/2, 0)	13.5	45.5	41
⑤	(0, 1/2, 1/2)	4	45.5	50.5
⑥	(1/2, 0, 1/2)	13.5	36	50.5
⑦	(1/3, 1/3, 1/3)	10.4	42.3	47.3
⑧	(2/3, 1/6, 1/6)	16.7	39.1	44.2
⑨	(1/6, 2/3, 1/6)	7.2	48.6	44.2
⑩	(1/6, 1/6, 2/3)	7.2	39.1	53.7

※Vinegar: 4.3% Acetic acid solution 5g

## 皮膚をイメージした被着体ゲルの剥離に関する研究

杉崎良樹\*, 椎名孝明\*\*, 田中良巳\*, 鈴木淳史\*

\* 横浜国立大学大学院環境情報研究院 [〒240-8501 横浜市保土ヶ谷区常盤台 79-7]

\*\* 横浜国立大学工学部 [〒240-8501 横浜市保土ヶ谷区常盤台 79-7]

### 1. 緒言

現在, 貼付薬, 絆創膏, テーピング等で皮膚に貼付する粘着剤が多く存在する. 皮膚は粘弾性体であるため変形を伴ったり, また貼付部位や剥離方法も人によって異なるため, これらの評価方法は難しい. 一般的な粘着剤の試験 (JIS Z 0237) は, 粘着剤を被着体 (基板) となるステンレス板に貼付し, 剥離角 180 度, 又は 90 度での剥離力を測定している. しかしながら, 皮膚に貼付する場合には変形を伴い, ステンレス板で試験した場合と異なると考えられる. 本研究は被着体にステンレス板でなく, 粘弾性体 (ポリジメチルシクロキサラン [PDMS] 架橋体) を用いて剥離力を測定し, 剥離角, 被着体の架橋度及び厚さ, 及び剥離速度の違いによる影響を明らかにする.

### 2. 実験方法

#### 2.1. 被着体

PDMS 架橋体 [主鎖に SILPOT184 (Dow Corning Toray), 架橋剤に CATALYST SILPOT (Dow Corning Toray)] 架橋剤量 [ $\rho$ ] は SILPOT184 に対する重量% (wt%) を示す.

#### 2.2. 剥離力測定

引張試験装置 (INSTRON5965, Instron) を用いて, また JIS 試験方法 (JIS Z 0237) に準拠した方法で粘着テープ (ナイスタック\*幅 10mm, ニチバン(株)) の剥離力を室温で測定した.

#### 2.3. 動的粘弾性測定

動的粘弾性測定装置 (MR 300V II, UBM) を使用し, 試料の貯蔵弾性率 ( $G'$ ) と損失弾性率 ( $G''$ ) を室温で測定した.

### 3. 実験結果

被着体がステンレス板の場合, 剥離角が 90 度から低角側で剥離力が大きく増加するのに対し, 架橋度の低い ( $\rho=1.5$  wt%) PDMS が被着体の場合では, 剥離角が 180 度から剥離力が徐々に増加する傾向を示した. PDMS の架橋度が高くなると, ステンレス板の被着体で測定した剥離力プロファイルと同様な形状に近づく傾向が認められた.

PDMS の動的粘弾性を測定した結果 (Fig. 2),

$\rho$  が 2.5wt%以上の範囲では  $\tan \delta$  の周波数依存性が小さくなり, 低周波数の値は一致した.

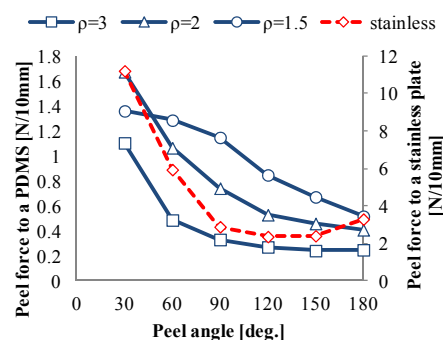


Fig.1 Peel force dependence of peel angle

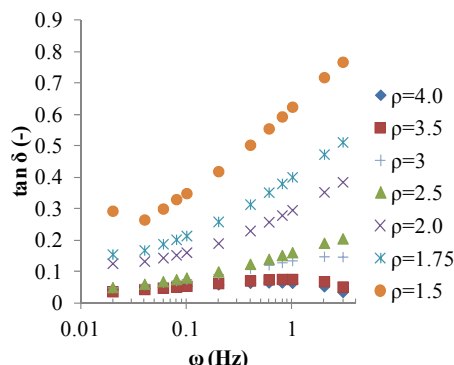


Fig.2  $\omega$ -Dependences of  $\tan \delta$  of PDMS with different  $\rho$ 's

### 4. 考察

被着体が低架橋度である  $\rho \leq 2$ wt% ( $\tan \delta > 0.1$ ) PDMS の場合では, 剥離時に比較的大きな被着体の変形が生じ, これにより変形による応力が生じることで, 広角領域 (90 度以上) で剥離力が増し, 被着体がステンレス板の場合と異なる剥離力変化を示した. また,  $\rho=1.5$ wt% PDMS の剥離角 60 度以下で剥離力が低い傾向を示すことについては現在検討中であるため, 当日に議論する.

### 5. 結言

粘弾性体を被着体とすると, 剥離力は粘弾性体の架橋度, 厚さ, 剥離速度に強く依存した. 測定した条件下では, 剥離速度の増加とともに剥離力は減少した. 低架橋度の粘弾性体の剥離力は, 低角度側で被着体の変形の影響が顕著に現れることが明らかになった.

## 鹿肉の真空調理法による物性とカルニチン量の変化

吉村美紀\*, 山下麻美\*, 加藤陽二\*

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

### 1. 緒言

近年, 全国的にニホンジカの個体数が増加しており, 兵庫県においても生物多様性の保護・保全の観点より, 年間 3 万頭以上の捕獲が実施されている。捕獲後は多くが廃棄されている現状にある。一方で, シカ肉は, 脂質含量が低く, タンパク質・鉄分を豊富に含むといった栄養的特徴を持つことから, 食肉としての活用が期待される。しかしながら, 一般的に馴染みのうすい食肉である。これまでに肉質の改善や嗜好性の向上を検討し, 機能性アミノ酸であるカルニチンに着目した。カルニチンは,  $\beta$ -酸化によりエネルギーを得るために脂肪酸を細胞質からミトコンドリア内に輸送するための重要な物質であることから, 脂質の代謝及びそれに伴うエネルギー発生に関与している。さらに, アシルカルニチンであるアセチルカルニチンは, 脳機能向上や疲労・ストレス軽減などの機能性が示唆されている。本研究では, 真空調理法を用いてスチーム加熱の加熱温度の違いによる鹿肉の物性とカルニチン量への影響を検討した。

### 2. 実験方法

#### 1. 試料

「ひょうごシカ肉活用ガイドライン」に沿って処理されたニホンジカのもも肉を流水解凍させ真空包装 (真空度 100%, 20 秒間, 東静電気株式会社製 V-280A) し, スチームコンベクションオーブン (スチーム量 100%, 株式会社 FUJIMAK 製 FSCC101) を用いて, 80°C で 30 分間スチーム加熱したもの (以下, 80°C 加熱) と 100°C で 30 分間スチーム加熱したもの (以下, 100°C 加熱) を試料とした。

#### 2. 測定方法

##### (1) 温度履歴

##### (2) 肉重量変化

(3) カルニチン測定: 高速液体クロマトグラフィ-タンデム質量分析計 (LC-MS/MS) を用いた。

遊離カルニチンである L-カルニチンおよびアシルカルニチンであるアセチルカルニチン, ヘキサノイルカルニチン, ミリストイルカルニチン, パルミトイルカルニチンの 5 種類を測定した。

(4) 物性測定: 圧縮試験機 (レオナー RE2-3305B, 山電製) を用い, 初期弾性率, 破断歪, 破断応力, 破断エネルギーを求めた。

(5) 官能評価: 5 段階採点法を用いた。パネルは, シカ肉の料理教室に参加し訓練された 10 人 (平均年齢 46.1±12.7 歳) とした。

### 3. 実験結果および考察

80°C 加熱の方が, 温度上昇が緩やかであり, 肉重量減少率が低かった。L-カルニチンとアセチルカルニチンは, 80°C 加熱の方が高い値を示し, その他のアシルカルニチン類は, 100°C 加熱の方が高い値を示した。L-カルニチンの過剰摂取がアテローム性動脈硬化を引き起こす可能性が報告されていることから, L-カルニチンの含有量は高すぎない方が良いと考えられ, 本研究においては, 100°C 加熱の方が低い値を示した。生肉と比較すれば, 80°C 加熱も損失傾向を示していると考えられる。さらに, 脳機能向上などの機能性が示唆されているアセチルカルニチンは, 80°C 加熱の方が有意に多く含まれていた。物性測定において, 100°C 加熱と比較して, 80°C 加熱の方が有意に軟らかいことが示され, 官能評価においても, 80°C 加熱の方が軟らかく好まれ, うま味があり, 総合的なおいしさが, 有意に好まれた。

### 4. 結言

機能性・嗜好性のどちらにおいても, シカ肉の機能性食品としての活用を促進する上で, 望ましいのは 80°C 加熱であると考えられる。

### 謝辞

独立行政法人科学技術振興機構 研究成果最適展開支援プログラム (A-STEP) の助成を受けた。

## ポリフェノール含有飲料による亜硝酸イオン由来 NO 産生速度と抗酸化力指標との関係

小川武人, 望月精一

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

### 1. 緒言

生体内で生成する一酸化窒素 (NO) は, 血管弛緩作用, 抗動脈硬化作用など様々な生理作用を有する. NO 合成酵素由来の NO のみならず, 最近, 亜硝酸イオン ( $\text{NO}_2^-$ ) 由来の NO が注目されている. 我々は, 酸性条件下で飲料中に含まれる抗酸化物質によって,  $\text{NO}_2^-$  が還元され, NO が産生される反応について検討してきた<sup>1)</sup>.

本研究では, 抗酸化物質を含有する飲料による  $\text{NO}_2^-$  由来 NO 産生速度と抗酸化力を測定し, 関連性を評価した.

### 2. 実験方法

抗酸化物質であるポリフェノール多く含有する飲料として, 緑茶, コーヒー, 赤ワインを使用した. これらの飲料を  $\text{NO}_2^-$  を含有したクエン酸緩衝溶液 (pH 2, 50 mL) 中に添加した. その際に産生された NO を NO センサ (amiNO-700; 米国 Innovative Instruments 社) で測定した.

抗酸化力の指標として, BAP 法 (鉄イオンの還元反応に基づき評価) と OXY 吸着法 (次亜塩素酸による酸化反応の抑制効果に基づき評価) を採用し, 測定にはフリーラジカル解析装置 (FREE Carpe Diem: ウィスマー社) を使用した.

### 3. 実験結果および考察

いずれの飲料サンプルにおいても,  $\text{NO}_2^-$  からの NO の生成が認められた.

各飲料に含有されるポリフェノール濃度の増加に伴い, NO 産生速度の増加傾向を認めた ( $r^2=0.58$ ,  $p<0.05$ ; Fig. 1). すなわち, 抗酸化力に依存して, NO 産生が影響されている可能性が示唆された.

次に各飲料の抗酸化力を BAP 法と OXY 吸着法で測定し, その結果と NO 産生速度との関係性を評価した. いずれの指標についても, その増加に伴い NO 産生速度は, 増加する傾向が見られた (BAP,  $r^2=0.64$ ,  $p<0.05$ , Fig. 2; OXY,  $r^2=0.66$ ,  $p<0.05$ ).

以上の結果から, BAP 法, OXY 吸着法ともに, 抗酸化物質を含有する飲料による  $\text{NO}_2^-$  からの NO 生成能の指標となり得る可能性が示唆された.

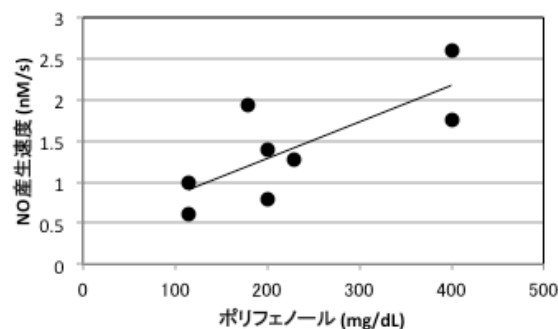


Fig. 1: Relation between polyphenols content and NO production rate.

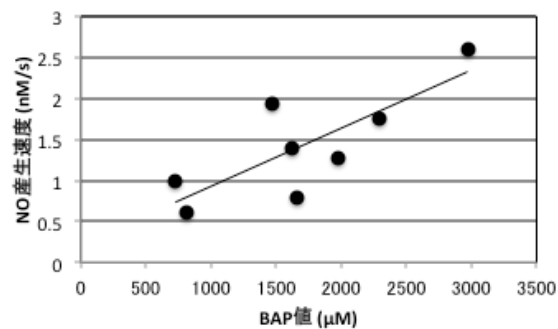


Fig. 2: Relation between BAP values and NO production rate.

### 4. 結言

酸性条件下でポリフェノールを含有する様々な飲料による  $\text{NO}_2^-$  由来の NO を直接計測し, その産生速度を評価したところ, 各飲料の抗酸化力指標 (BAP 法, OXY 吸着法) の増加に伴い, 産生速度が増加する傾向が見られた. したがって, いずれの指標も, 抗酸化物質であるポリフェノール含有飲料の  $\text{NO}_2^-$  由来 NO 産生能の指標と成り得ると考えられた.

### 謝 辞

本研究の一部は, 文科省科研費 (23500534) により遂行した.

### 文 献

1) 小川武人, 望月精一: 飲料中亜硝酸の還元による NO 産生, 日バイレオ誌, 27(2), 85, 2013.

## 咳による肺胞の変形と周りの毛細血管への影響

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 浜松市北区三方原町 3453]

### 1. 緒言

近年、新興国を中心に、かつての我が国の様に、大気汚染が問題となり、現在のわが国でも、黄砂と共に、大陸からのPM2.5等による呼吸器の異常が発症して、肺浄化の重要性が増加している。

空気と共に、気道に侵入した異物を除去するメカニズムには、繊毛運動や肺サーファクタントによる痰の流れの洗浄機構が中心ではあるが、咳による痰の飛沫化も即効性から無視はできない。

古くから、激しい咳は肺胞出血を誘発し、その出血の存在が更に咳を激化させる事が言われている。また、肺サーファクタントの表面張力緩和効果がこの様な現象を防ぐ事も、報告されている。

本研究は、未熟児の肺胞における肺サーファクタントの役割をも含めて、咳における肺サーファクタントの役割や、咳による肺胞の変形で、肺胞壁にある毛細血管内圧力がどう変化し、出血につながるかどうかを検討するものである。

### 2. 計算方法

咳の場合に気管支内径や肺胞内径がどう変化するかは、下図の様な、気管支・肺胞モデルでの各気管支端での空気の出入りから計算した。

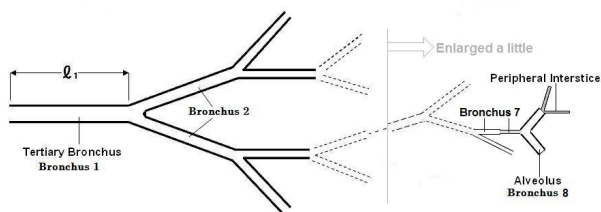


Fig.1 The Respiratory System is reduced to a dendritic successive bifurcated tree model.

人の呼吸器系では、約24回分岐し、約2億~3億の肺胞を含む肺胞囊の房に達するが、モデル計算では、各気管支の圧力や内径・管壁の厚さ、流れの情報で各時間毎に多くのメモリを要するため、簡略のため、8~12回分岐した気管支系の先端に肺胞に当たる非常に薄い壁を持った弾力に富んだ容器を接続した。

各気管支の具体的な長さや標準的な内径分布はFig.2に示してある。ここで、肺胞の大きさや壁の弾力性は、いろいろな値の時を計算し、また、

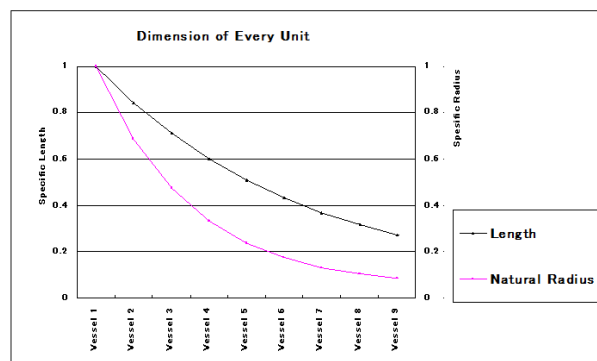


Fig.2 計算モデル気管支の標準的な大きさ (長さと同半径)

表面張力が肺胞の内径変化に与える影響を無視した肺胞の変形の上でその影響を計算した。

### 3. 計算結果

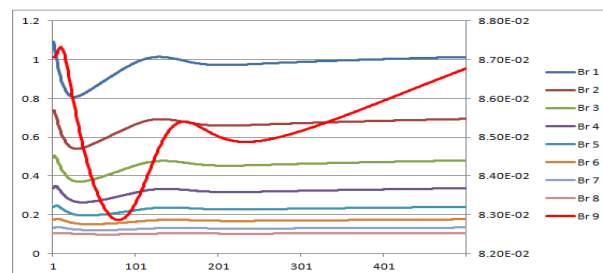


Fig.3 咳による各気管支内径の時間的変化 (厚い場合)

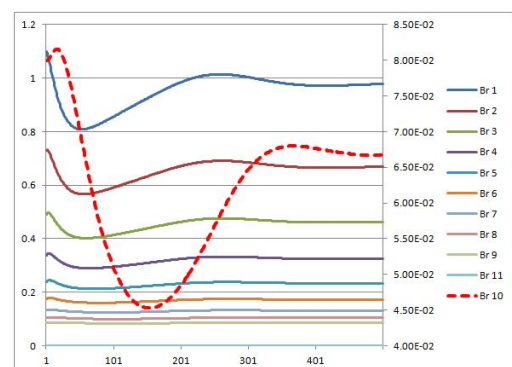


Fig.4 咳による各気管支内径の時間的変化 (薄い場合)

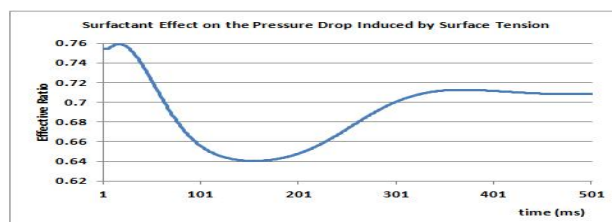


Fig.5 咳による表面張力効果の時間的変化 (薄い場合)

## 動物血液のレオロジー挙動 (印刷用顔料分散インキの流動挙動解析手法の適用)

篠崎俊介\*, 山口はるな\*, 有富充利\*, 渡邊宣夫\*\*

\* 株式会社 DNP ファインケミカル [〒226-0022 神奈川県横浜市緑区青砥町 450]

\*\* 芝浦工業大学 システム理工学部 生命科学科

### 1. 緒言

印刷や塗工に用いられるインキは、固体成分である顔料や合成ポリマー及び液体成分である溶剤から成り、これらの材料設計および分散技術に基づいて凝集や沈降を防止し、流動性を制御したインキの設計がなされている。その流動性評価としてレオロジー解析を行い、多種多様なインキの特性や印刷時の挙動に対し、以下の式 (1) の流動特性式を用いた流動挙動解析手法を提案した<sup>1)</sup>。

$$F \propto S^m \times \eta^n \times G^p \quad (1)$$

$\left( \begin{array}{l} F : \text{インキ特性値} \\ S : \text{降伏項}, \eta : \text{粘性項}, G : \text{弾性項} \\ m + n + p = 1 \end{array} \right)$

一方血液は血球成分と血小板、血漿成分に大別される不均一な流体である。過去に血液の流動特性と体の機能・疾患の相関関係を明らかにする試みがなされて来てはいるが<sup>2)</sup>、我々の流動挙動解析手法を適用することにより、異なった視点から血液の流動特性と機能との相関解析を試みた。

### 2. 実験方法

抗凝固剤 (クエン酸ナトリウム水溶液) 入りの豚血液 (東京芝浦臓器社) を用いた。凝固剤として 0.25M 塩化カルシウム水溶液を用いた。凝固剤添加量の異なる豚血液を作製し、活性化全血凝固時間 (ACT, HEMOCHRON 401 : ITC社) を測定した。レオロジー測定にはレオメータ (AR-G2 : TA Instruments社) を用い、定常流測定、動的歪み依存測定、動的時間依存測定を行った。ACT と凝固剤添加量の関係を図 1 に示す。

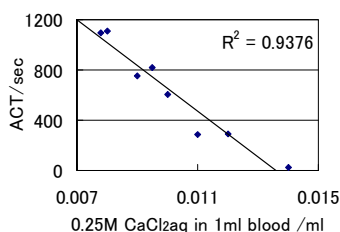


Fig. 1 Relationship between the ACT and the quantities addition of 0.25M CaCl<sub>2</sub>aq to the 1ml blood.

### 3. 結果と考察

ACT とレオロジーパラメータの相関を調査した中で、降伏項・粘性項・弾性項の代表的な結果を図 2 に示す。c) の弾性項 ( $G'$ ) との相関が

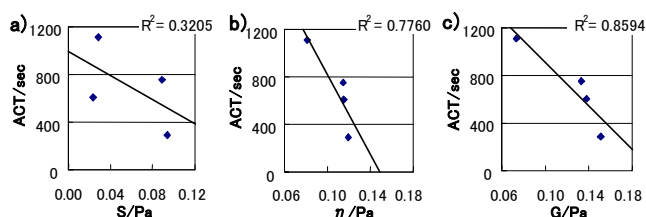


Fig.2 Relationship between the ACT and the rheological parameters. a) Yield term. b) Viscous term. c) Elastic term.

高い。次に各項それぞれの寄与率 ( $m$ ,  $n$ ,  $p$ ) の最適値を求めた結果、以下に示す式 (2) が導き出された。降伏項と粘性項の寄与はほとんど無く、弾性項が支配的であることが判明した。

$$F \propto S^{0.0} \times \eta^{0.0} \times G^{1.0} \quad (2)$$

一般的に血液の凝固に関しては成分間相互作用が関係していることがよく知られているが、本解析手法の結果からも成分間相互作用の因子と考えられる弾性項が支配的であることが導き出された。さらには成分間相互作用の強い系の方が凝固時間が短いことが判明した。

### 4. 結言

血液の凝固能とレオロジーパラメータに相関が見られたことから、流動挙動解析手法が血液の新たな評価手法として適用できる可能性が示唆された。

### 謝辞

本研究の中で、ACT測定にご協力頂いた東京医科歯科大学・大内克洋准教授に深く感謝申し上げます。

### 文献

- 1) 山口はるな, 篠崎俊介, 鈴木猛, 有富充利 : 第 58 回レオロジー討論会講演要旨集, p102-103, 2010.
- 2) 前田信治 : 血液のレオロジーと生理機能, 日誌, 66, p234-244, 287-297, 327-336, 2004.

## 編集後記

今号の発行にあたり, 第37回年会長の 大島まり先生はじめ, ご関係の皆様方に深謝申し上げます. 今号は, 第37回年会の抄録集となっております. 抄録を電子版で発行して, 今年で4回目となります. 電子版とすることで, いずれJ-STAGEにも掲載されますので, 研究成果を広く知って頂けることになります. こうした取り組みが, 皆様方の研究の活性化に繋がればと思います. 今後とも皆様方のご協力をお願い申し上げます.

(望月 精一)

---

### 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	大島 まり	大石 正道	長野 美登里				

---

### 日本バイオレオロジー学会誌 (B & R, 電子版) 第28巻 第2号

2014年 6月 5日発行

編集者 望月精一

発行者 土橋敏明

特定非営利活動法人 日本バイオレオロジー学会・事務局

〒816-8580 福岡県春日市春日公園 6-1

九州大学基幹教育院 キャンパスライフ・健康支援センター内

TEL 092-583-7863

FAX 092-592-2866

E-MAIL office@biorheology.jp

©copyrighted 2014, by Japanese Society of Biorheology

---