

B&R

第39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 : 2016年6月18日(土)・19日(日)

年会長 : 後藤 信哉

(東海大学医学部内科学系循環器内科学)

会 場 : 東海大学校友会館



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

日本バイオレオ誌 (B&R, 電子版) 第30巻 第2号
J. Jpn. Soc. Biorheol. 30 (2) (2016)

第39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：2016年6月18日（土）・19日（日）

年会長：後藤 信哉

東海大学医学部内科学系循環器内科学

会 場：東海大学校友会館

実行委員

役職	氏名	所属
年会長	後藤 信哉	東海大学医学部医学科内科学系循環器内科学
名誉会長	池田 康夫	一般社団法人日本専門医機構
名誉会長	半田 俊之介	東海大学客員教授
副会長	高木 周	東京大学大学院工学系研究科機械工学専攻
副会長	浅田 祐士郎	宮崎大学医学部病理学講座構造機能病態学分野
副会長	長谷部 光泉	東海大学医学部医学科専門診療学系画像診断学領域
副会長	高倉 葉子	東海大学工学部動力機械工学科
副会長	喜多 理王	東海大学理学部物理学科
監事	加川 建弘	東海大学医学部医学科内科学系消化器内科学
監事	浦野 哲哉	東海大学医学部医学科内科学系呼吸器内科学
幹事	野川 茂	東海大学医学部付属八王子病院神経内科学
幹事	青木 琢也	東海大学内科学系呼吸器内科学
幹事	横山 健次	東海大学医学部付属八王子病院血液腫瘍内科
幹事	河村 洋太	東海大学医学部付属八王子病院循環器内科
幹事	松本 知博	東海大学医学部医学科専門診療学系画像診断学領域
幹事	嶺 貴彦	東海大学医学部付属八王子病院画像診断科
幹事	小田 真里	東海大学医学部付属八王子病院脳神経外科
幹事	岡村 陽介	東海大学工学部応用化学科
幹事	塩崎 聖治	東海大学医学部医学科内科学系循環器内科学
幹事	田村 典子	東海大学医学部医学科内科学系循環器内科学
事務局	菅原 美幸	東海大学医学部医学科内科学系循環器内科学

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	筑波大学大会館国際会議室	1989/7/5~7
13	峰下 雄	帝塚山短期大学	奈良県新公会堂	1990/6/21~23
14	品川 嘉也	日本医科大学	日本医科大学 大講堂	1991/6/20~22
15	平川 千里	岐阜大学	岐阜市文化センター	1992/6/25~27
16	菅原 基晃	東京女子医科大学	東京女子医科大学 弥生記念講堂	1993/6/16~17
17	松信 八十男	清和大学	エーザイホール	1994/6/17~18
18	貝原 学	帝京大学	TEPCO 地球館	1995/6/15~16
19	辻 隆之	国立循環器病センター	千里ライフサイエンスセンター	1996/6/6~7
20	増田 善昭	千葉大学	千葉大学けやき会館	1997/6/5~6
21	前田 信治	愛媛大学	エスポワール愛媛文教會館	1998/6/11~13
22	貝原 真	理化学研究所	理化学研究所 鈴木梅太郎記念ホール	1999/6/10~11
23	辻岡 克彦	川崎医科大学	倉敷公民館	2000/6/8~9
24	谷下 一夫	慶應義塾大学	慶應義塾大学 創想館マルチメディアルーム	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
38	吉田 雅幸	東京医科歯科大学	学術総合センター	2015/6/6~7
39	後藤 信哉	東海大学	東海大学校友会館	2016/6/18~19

会場案内

東海大学校友会館

〒100-6035 東京都千代田区霞が関 3-2-5 霞が関ビル 35階

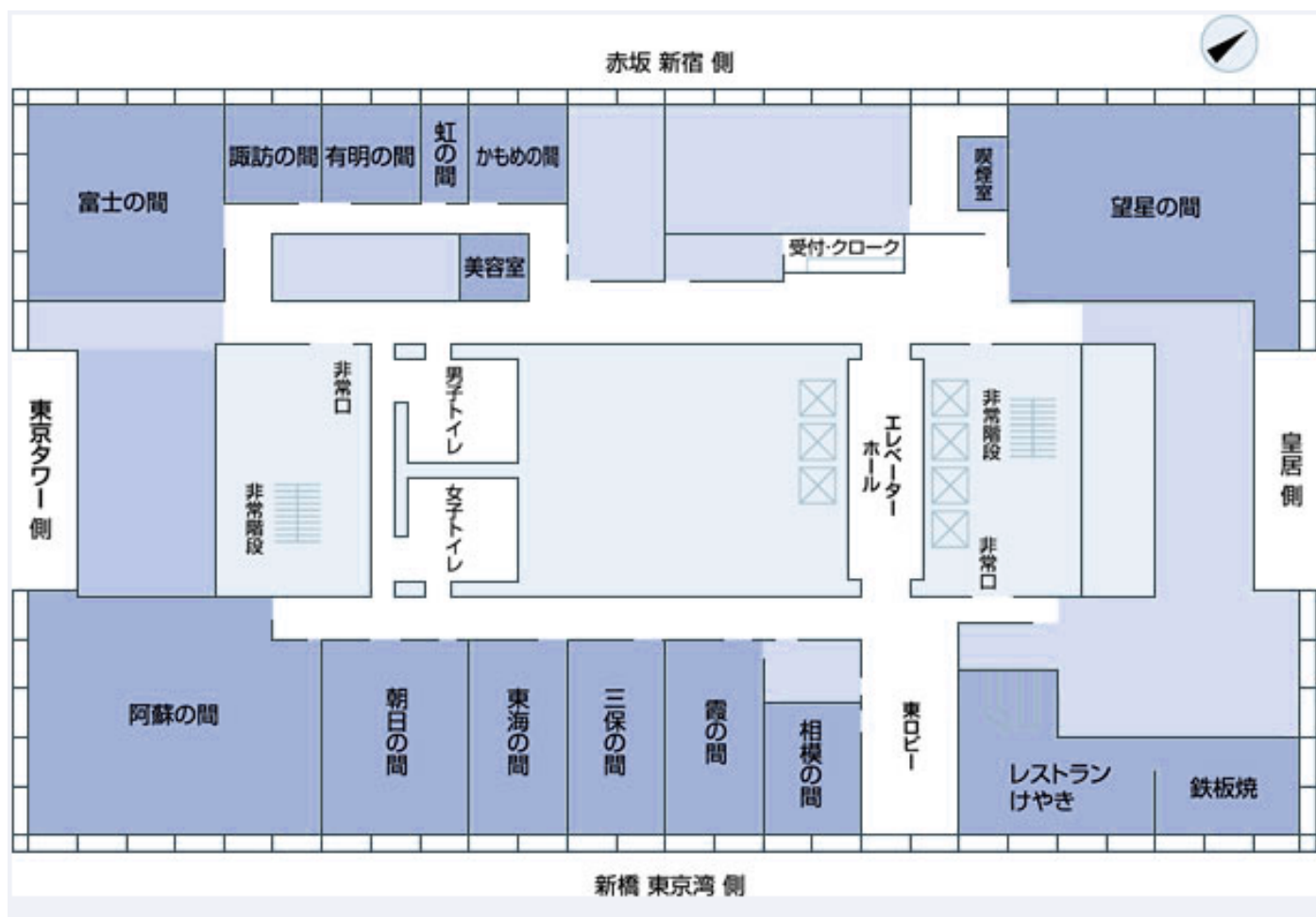
TEL 03-3581-0121(代表)

FAX 03-3581-6200



地下鉄銀座線	虎ノ門駅	11番出口より徒歩3分
地下鉄銀座線	虎ノ門駅	5番出口より徒歩3分
地下鉄千代田線	霞ヶ関駅	A13出口より徒歩3分
地下鉄日比谷線	霞ヶ関駅	A13出口より徒歩5分
地下鉄丸の内線	霞ヶ関駅	A4出口より徒歩8分
地下鉄南北線	溜池山王駅	8番出口より徒歩5分
地下鉄有楽町線	桜田門駅	2番出口より徒歩6分

年会，総会，理事会，リサーチ・フォーラム，各委員会会場



口頭発表セッション会場

第1会場：三保の間

第2会場：東海の間

学術奨励賞応募講演

第2会場：東海の間

リサーチ・フォーラム会場

第1会場：三保の間

ポスターセッション会場

第2会場：東海の間

企業展示

：相模の間

総会

第1会場：三保の間

理事会評議員会合同会議， リサーチ・フォーラム運営委員会：かもめの間

JBR 打ち合わせ， 電子版 B&R 編集委員会， ：かもめの間

参加者の皆さまへ

参加受付

参加受付は下記の日時・場所にて開設いたします。

受付日時：2016年6月18日（土）10:00~19:30

2016年6月19日（日）9:00~16:00

場 所：霞が関ビル 35階

参加費

会員 5,000円

非会員 15,000円

学生 3,000円

- ・ バイオリサーチフォーラムにおける演者と企業展示の当日対応者の方の参加費は免除となります。
- ・ 非会員の先生には、日本バイオレオロジー学会の会員資格が次回年会前まで付与されます。
- ・ 学生は参加受付にて学生証をご提示ください。学生証のご提示がない場合には、会員ないし非会員の参加費となりますのでご注意ください。後日証明書を提出されても参加費の返金はいたしませんのでご了承ください。
- ・ 参加費は、年会当日、参加受付にて申し受けます。
- ・ 非会員の参加費は15,000円ですが、事前もしくは当日に会員登録（年会費8,000円）して頂くと5,000円となります。
- ・ なるべくお釣りのないようお願いいたします。

参加証

参加費と引き換えに参加証（ネームカード）をお渡しします。各自で所属・氏名をご記入ください。会期中、会場では必ずご着用ください（ご着用がない場合、講演会場にはご入場いただけません）。

懇親会

下記の日時・場所にて、懇親会を開催いたします。皆様のご参加をお待ちしております。

日時 2016年6月18日（土）19:00~20:30

場所 東海大学校友会館 東海の間

参加費 会会員・非会員 3,000円

学生 1,000円

※ 参加費は、年会当日、参加受付にて申し受けます。

参加者へのお願い

- 会場内はすべて禁煙です。
- 講演会場内での撮影および録音は禁止させていただきます。
- 講演会場内での携帯電話のご使用は禁止させていただきます。また、会場内では電源を OFF にするかマナーモードに設定してください。
- 講演会場内での呼び出しはいたしません。

発表に関する注意

講演時間

オーガナイズドセッションの演者一人あたりの発表時間は 12 分（移動および質疑応答込み）にてお願いします。

座長の方へ

- **ご担当セッション開始 10 分前までに会場内（右前方）の次座長席にお着きください。**
- 会場進行係はおりますが、セッションの進行は座長にお任せいたします。演者お一人の講演時間を厳守してください。発表順はプログラム記載の通りですが、進行ならびに追加発言・討論等に関しましては座長にご一任いたします。

演者の方へ

- **ご発表セッション開始 30 分前までに受付にお越しいただき、受付をお済ませください。ご発表セッションの 10 分前までに会場内（右前方）の次演者席にお着きください。**
- すべて PC での発表になります。スライド・OHP の使用は出来ません。
- 会場には PC のご用意はございません。必ずご自身の PC をご持参ください。
- 音声の会場スピーカーへの直接出力はいたしません。ご発表データ内で音声をご使用の場合には、演者用マイクを PC のスピーカーに近づける等でご対応ください。
- ご発表中の PC の操作は、ご発表者ご自身ないし共同演者で行ってください。
- プロジェクターとの接続は、ミニ D-sub15 ピンのみとさせていただきます（下図参照）。



- ご持参いただく PC に保存されているご発表データの損失に備え、USB フラッシュメモリー・CD-R 等でご発表データのバックアップをご持参ください。

ポスター発表の方へ

- ポスターセッションは 18 日の午前 11 時から 13 時、19 日の 10 時から 12 時です。18 日は午前 11 時以降に掲示して下さい。19 日は 12 時までに各自確実にポスターを撤去してください。

プログラム

6月18日（土）

第1会場	第2会場
10:40~10:50 開会式	
10:55~11:55 OS1-1 血管内治療 座長：深作和明（理化学研究所）	11:00~13:00 ポスターセッション
1 末梢静脈の動脈化による酸素供給の再検討 小山富康，笹嶋唯博（元北大，元旭川医科大学）	
2 拍動流条件下における脳動脈瘤モデルの変形が血流評価に与える影響 ○川上拓海，神谷薫，市川千尋（東京理科大学），高尾洋之（東京慈恵医科大学，東京理科大学），村山雄一（東京慈恵医科大学），元祐昌廣（東京理科大学）	
3 動脈狭窄モデル内に生成した血栓におけるガイドワイヤの回転追従性 ○小林俊一，荒木翔太（信州大学）	
4 MRを用いた患者固有計算流体力学解析による内頸動脈サイフォン部動脈瘤発生部位の血流動態解析 ○磯田治夫，渡辺智哉（名古屋大学），竹原康雄（浜松医科大学），寺田理希（磐田市立総合病院），内藤文裕（春日井市民病院），田ノ井千春（磐田市立総合病院），小杉崇文（株式会社アールテック），大西有希（東京工業大学），福山篤司（名古屋大学），Marcus Alley（スタンフォード大学）	
12:20~13:20 ランチョンセミナー 「静脈血栓塞栓症（VTE）のUp-to-date—最新の治療戦略」 座長：野川茂（東海大学） 演者：重松邦広（国際医療福祉大学） 共催：バイエル薬品株式会社	
13:25-14:13 OS2-1 循環器系ダイナミクスと疾患 座長：野川茂（東海大学） 大島まり（東京大学）	
1 ヒト未破裂脳動脈瘤の病理工学研究：微細構造と血流解析による菲薄メカニズムに関する検討 ○戸部泰貴，須藤健太，八木高伸，川村公一，梅津光生（早稲田大学），吉田浩貴，林祥史，西谷和敏，岡田義文，北原茂実（北原国際病院）	
2 ヒト未破裂脳動脈瘤の病理工学研究：泡沫細胞分布と血流解析による壁脆弱化メカニズムに関する検討 ○須藤健太，八木高伸，戸部泰貴，川村公一，梅津光生（早稲田大学），吉田浩貴，林祥史，西谷和敏，岡田義文，北原茂実（北原国際病院）	
3 トルーソー症候群における血中高分子ムチン測定の意義 野川茂，○陳佑佳，阿部哲郎，飯嶋一侑樹，安田高志，徳岡健太郎，北川泰久（東海大学）	
4 APICO-AORTIC BYPASS 手術後における大動脈内血栓形成機序 小宮賢士，中村匡徳（埼玉大学），木村直行，佐藤弘隆，川人宏次（自	

治医科大学)			
14:17~15:05 OS3-1 血液レオロジーと微小循環 座長: 田地川勉 (関西大学) 望月精一 (川崎医療福祉大学)		14:00~14:55 OS1-2 血管内治療 座長: 長谷部光泉 (東海大学)	
1	微小管内流れ中の赤血球軸集中に及ぼす変形能の影響 ○佐々木崇洋, 関淳二, 板野智昭, 関眞佐子 (関西大学)	1	空間分解能が磁気共鳴流体力学解析に与える影響 ○水野崇, 礪田治夫, 瀧口和也 (名古屋大学), 小杉崇文 (株式会社アールテック), 福山篤司 (名古屋大学), 小森芳秋 (シーメンスヘルスケア株式会社)
2	マイクロチャンネル法による赤血球変形能の評価(膠原病患者に対する形状回復時定数の測定) ○田地川勉 (関西大学), 山下雄士 (関西大学大学院), 池本敏行 (大阪医科大学付属病院), 武内徹 (大阪医科大学)	2	三次元シネ位相コントラスト磁気共鳴法の時間分解能が磁気共鳴流体力学解析と計算流体力学解析に与える影響 ○水野崇, 礪田治夫 (名古屋大学), 小杉崇文 (株式会社アールテック), 福山篤司 (名古屋大学), 小森芳秋 (シーメンスヘルスケア株式会社)
3	血流条件下、血小板のVWF 接着におよぼす赤血球の役割 ○田村典子, 後藤信哉 (東海大学)	3	MR を用いた脳血管の患者固有計算流体力学解析にセグメンテーションによる血管径の大きさと流量の変化が与える影響 ○石黒健太, 礪田治夫, 渡辺智哉 (名古屋大学), 竹原康雄 (浜松医科大学), 寺田理希 (磐田市立総合病院), 小杉崇文 (株式会社アールテック), 大西有希 (東京工業大学), 小森芳秋 (シーメンスヘルスケア株式会社)
4	誘電緩和周波数による体外循環回路における血栓形成の計測 ○Dung NGUYENHUU, 菊地大輔 (千葉大学), 丸山修 (産業技術総合研究所), Achyut Sapkota (木更津工業高等専門学校), 武居昌宏 (千葉大学)	4	三次元シネ位相コントラスト磁気共鳴法を用いた脳動脈瘤の血流動態解析 (計算流体力学との比較) ○石黒健太, 礪田治夫 (名古屋大学), 竹原康雄 (浜松医科大学), 寺田理希 (磐田市立総合病院), 内藤文裕 (株式会社アールテック), 田ノ井千春 (磐田市立総合病院), 小杉崇文 (株式会社アールテック), 大西有希 (東京工業大学), 福山篤司 (名古屋大学), Marcus Alley (スタンフォード大学)
15:08~15:55 OS6 生体物質の構造形成と機能発現・制御 座長: 土橋敏明 (群馬大学) 喜多理王 (東海大学)		15:00~15:50 OS5 ティッシュエンジニアリング・人工臓器 座長: 西田正浩 (産業技術総合研究所)	
1	静脈血栓の研究に有望な新しい流路システム ○井上京 (京都大学), 杉田尚子 (京都大学), 平方秀男 (京都市立病院), 巽和也 (京都大学), 新岡宏彦 (大阪大学), 伊井仁志 (大阪大学), 和田成生 (大阪大学), 小池薫 (京都大学), 村井俊哉 (京都大学)	1	せん断応力が血液凝固因子の反応速度に及ぼす影響 ○丸山修 (産業技術総合研究所), 川上滉貴 (東京理科大学), 迫田大輔, 小阪亮, 西田正浩, (産業技術総合研究所) 山根隆志 (神戸大学)
2	三次元再生組織の形態変化の動力学に与えるコラーゲンゲルの構造の影響 ○古澤和也, 土田雅之 (北海道大学)	2	コネクタ形状の違いが血栓形成に与える影響の検討 ○松橋祐輝, 山本祥宜, 鮫島啓, 高橋東, 梅津光生, 岩崎清隆 (早稲田大学)
3	ゼラチンゲルのエイジングと温度変化の効果 片貝茉莉花, ○榎 靖幸, 土橋敏明 (群馬大学)	3	3Dプリンタ成形技術を用いて作製した遠心血液ポンプの性能評価 ○西田正浩 (産業技術総合研究所), 根岸匠 (横浜国立大学), 迫田大輔, 小阪亮, 丸山修 (産業技術総合研究所), 百武徹 (横浜国立大学), 山本好弘, 桑名克之 (泉工医科工業株式会社), 山根隆志 (神戸大学)
4	ラメラ相のメソ構造破壊と配向転移 ○藤井修治, 山本祐樹 (長岡技術科学大学)	4	臨床応用を目的とした立体心筋組織構築に向けた脱細胞化血管床の開発 ○戸部友輔, 坂口勝久 (早稲田大学・東京女子医科大学), 佐野和紀, 関根秀一, 清水達也 (東京女子医科大学), 小林英司 (慶應義塾大学), 梅津光生 (早稲田大学), 岡野光夫 (東京女子医科大学)
15:58~16:46 OS4 細胞・分子のメカノバイオロジー 座長: 青木友浩 (京都大学大学院)		15:55~16:45 学術奨励賞応募講演	

1	流動応力下再生植物プロトプラストの β グルカン生成 関屋大輔, ○飯野正昭 (千葉工業大学)	1	PFG-NMR 法による食品ゲル中での水の拡散挙動解析 ○川口翼, 齊藤宏伸, 青山剛志, 里村ペロニカ, 喜多理王, 新屋敷直木, 八木原晋, 福崎稔 (東海大学)
2	伸展刺激時の肺胞上皮細胞内の小胞輸送 ○世良俊博, 阿部拓磨, 西山大貴, 中嶋和弘, 工藤奨 (九州大学)	2	脳動脈瘤治療用多孔薄膜カバードステントの開発: フローダイバーターとの瘤内血流抑制能の生体外回路での比較 ○森脇健司, 中山泰秀 (国立循環器病研究センター), 日高涼, 田地川勉 (関西大学)
3	力学刺激による細胞間情報伝達と隣接細胞内 PKC α 局在の関係 ○荒井雅貴, 中嶋和弘, 世良俊博, 工藤奨 (九州大学)	3	系統的変異体合成と動的光散乱法によるアミロイド集合体形成機構の解明 ○座安 瑞希, 穂本 光弘, 佐伯 政俊 (山口東京理科大学)
4	血管内皮細胞における形質膜を介したメカノセンシング機構 ○山本希美子 (東京大学), 安藤謙二 (獨協医科大学)	4	血管壁損傷部位の血栓形成における血流, 凝固系, 線溶系の量的寄与のシミュレーションによる解析 ○後藤信一 (慶應義塾大学, 東海大学), 田村典子, 綾部健吾, 加藤恵理, 河村洋太, 後藤信哉 (東海大学)
16:50-18:50 バイオレオロジー・リサーチ・フォーラム 「細胞膜のメカノバイオロジー」 座長: 山本 希美子 (東京大学) 演者 1: 花崎 逸雄 (東京農工大学・分子論と連続体がつながる脂質二分子膜の構造不安定現象に現れる固体と流体の二重性) 演者 2: 吉村 建二郎 (芝浦工業大学・単細胞生物の機械反応と機械受容)			

6月19日(日)

第1会場		第2会場	
10:10~11:00 OS7-1 食品およびソフトマターのレオロジー 座長: 佐藤恵美子 (新潟県立大学)		10:00~12:00 ポスターセッション	
1	増粘多糖類分散液のレオロジーと生体挙動の相関 ○池上聡, 松山信悟, 石原清香, 中馬誠, 船見孝博 (三栄源エフ・エフ・アイ株式会社), 堀一浩, 小野高裕 (新潟大学)		
2	超音波照射を併用した魚鱗由来高強度ゼラチン抽出法 ○山口紘平 (長崎大学), Alice Mutie (Kenya Marine and Fisheries Research Institute), 市川寿 (長崎大学)		
3	化学修飾セルロース水溶液の粘弾性挙動 ○四方俊幸, 佐川直也, 新井健悟 (東京農工大学)		
4	グリセロール添加によるアガロースゲルからの溶媒輸送挙動変化 ○金田勇, 桜井由衣 (酪農学園大学)		
11:05~11:40 特別シンポジウム「細胞と流体の連成理解」			
1	血管細胞・分子の力学・病態生理学的解析手法 ○片岡則之 (日本大学), 橋本謙 (川崎医科大学)		
2	血流と血球細胞の流体力学と細胞接着の連成シミュレーション 高木周, 清水和弥 (東京大学), 伊井仁志 (大阪大学), 塩崎聖治, 後藤信哉 (東海大学), 杉山和靖 (大阪大学)		
3	細胞シミュレーションプラットフォーム (RICS) を用いた血小板細胞活性化シミュレーション		

須永泰弘 (理化学研究所), 七澤洋平 (伊藤忠テクノソリューションズ株式会社), 野田茂穂 (理化学研究所), 田村典子, 岡秀樹, 後藤信哉 (東海大学), 横田秀夫 (理化学研究所)		
12:00~13:00 ランチョンセミナー 「心房細動ではなぜ脳梗塞を起こすのか? ~流れと血栓を臨床から眺める~」 座長: 福田恵一 (慶應義塾大学) 演者: 赤石誠先生 (東海大学) 共催: ノバルティスファーマ株式会社		
13:05~13:35 総会		
13:40-14:30 OS2-2 循環器系ダイナミクスと疾患 座長: 丸山徹 (九州大学) 山田宏 (九州工業大学)		13:40-14:30 OS7-2 食品およびソフトマターのレオロジー 座長: 吉村美紀 (兵庫県立大学)
1	動脈硬化巣における びらん性傷害に関与する血行力学的因子の検討 ○鮫島直樹, 山下篤, 浅田祐士郎 (宮崎大学)	1 新潟県産米粉パンのテクスチャーに及ぼすガス抜き時間の影響 ○佐藤恵美子, 古沢佳奈, 三井瑠奈 (新潟県立大学)
2	血管内治療を要する下肢閉塞性動脈硬化症における血清多価不飽和脂肪酸プロファイルの重要性 ○丸山徹, 小田代敬太, 有田武史, 横山拓, 深田光敬, 野田裕剛, 児玉浩幸, 安田潮人 (九州大学), 藤原昌彦 (岸和田徳洲会病院)	2 ペースト状介護食の静粘度温度依存性と嚥下時筋活動の関係 ○高橋智子 (神奈川工科大学)
3	電気回路による頭頸部の動脈系三要素モデル解析 一頸部後屈の影響一 ○岡村法直 (愛媛県立医療技術大学)	3 魚肉練り製品食塊の性状と嚥下音にみられる特徴 幕田充志, 河野康成, 小井土隆, ○市川寿 (長崎大学)
4	頸動脈プラークの破裂一症例に見られる特徴的形状に対する力学的検討 ○山田宏, Hamed Esmaeili Monir (九州工業大学), 千住緒美, 緒方利安, 井上亨, 坂田則行 (福岡大学)	4 ヒト胃消化シミュレーターを利用したゲル状食品の消化挙動の観察・評価 ○市川創作, 神津博幸, 王在天, 中田友輝, Marcos A. Neves (筑波大学) 植村邦彦 (農業・食品産業技術総合研究機構), 中嶋光敏 (筑波大学), 小林功 (農業・食品産業技術総合研究機構)
14:35~16:20 AVEC CFD 2016 「レオロジーの観点から複数の動脈瘤の中から破裂した動脈瘤を識別する」 座長: 島野健仁郎 (東京都市大学) 庄島正明 (東京大学) 「オープニング」 「解析課題の説明」 「参加チームからの解析結果発表 (前半)」 1. 山田健嗣 (秀和総合病院) 2. 下権谷裕児 (東北大学) 3. 安西眸 (東北大学) 4. 徐利建 (千葉大学) 「休憩 (5分)」 「参加チームからの解析結果発表 (後半)」 5. 辻正範 (三重中央医療センター) 6. 河野健一 (昭和大学藤が丘病院) 7. 藤村宗一郎 (東京理科大学) 8. 深作和明先生 (理化学研究所) 「参加チームの結果のまとめ」 「ディスカッション」 共催: 脳神経血管内治療に関する医工学連携研究会		14:30~15:30 OS7-3 食品およびソフトマターのレオロジー 座長: 金田勇 (酪農学園大学)
		1 微粒子会合体構造を有するゲルの流体力学的摩擦 嶋田昌之 (九州大学)
		2 チョコレート中の油脂移行観察 ○本同宏成, 幾竹美晴, 下田康平, 青木大, 上野聡 (広島大学)
		3 STUDY ON GELATION MECHANISM OF MIXTURE SOLUTION OF KAPPA AND IOTA CARRAGEENANS BY MULTIPLE PARTICLE TRACKING METHOD L. Geonzon, F. Descallar (Tokyo University), R. Bacabac (University of San Carlos), O.S. Matsukawa (Tokyo University)
		4 GELATION OF MIXED KAPPA AND IOTA CARRAGEENAN SOLUTION Lei Du, Bingjie Hu, ○Shingo Matsukawa (Tokyo University of Marine Science and Technology)
		5 酵素的脱アミド化処理が乳タンパク質に及ぼす影響 ○三輪典子, 岡本武 (味の素食品研究所)
		15:35~16:25 OS3-2 血液レオロジーと微小循環

		座長：関真佐子（関西大学） 渡邊宣夫（芝浦工業大学）
	1	流れに対するコラーゲン繊維の傾斜角度と血小板の粘着容易さの関係性評価方法の検討 大石麻代，花房昭彦，町村幸夫，吉田脩右，柴田政廣，○渡邊宣夫（芝浦工業大学）
	2	低レイノルズ数領域における血液環流フローチャンバーシステムの開発 ○安西眸，白石泰之，山家智之，太田信（東北大学）
	3	冠循環微小循環系における末消抵抗に関する 3 次元数値シミュレーション ○程田将平，湯博洋，清水和弥（東京大学），野田茂穂（理化学研究所），伊井仁志，杉山和靖（大阪大学），高木周（東京大学）
	4	ビールホップの含有成分イソフムロンによるヒト大動脈内皮細胞の保護作用の検討 ○富田純子（笠岡市立市民病院），望月精一（川崎医療福祉大学），藤本荘八，柏原直樹（川崎医科大学），谷本光音（岡山大学）
16:20-16:45		
9	多発脳動脈瘤における CFD 解析-同一症例における増大瘤と非増大瘤の比較-	
	○堀恵美子，梅村公子，岡本宗司，久保道也，柴田孝，堀江幸男（済生会富山病院），黒田敏（富山大学）	
10	脳幹型 PRES を合併した慢性腎不全の 3 例の検討	
	○徳岡健太郎，高地真以子，阿部哲朗，飯嶋一侑樹，安田高志，北川泰久，野川茂（東海大学）	
16:50-17:00 閉会式		

ポスターセッション

1	大豆タンパク質と米粉混合系の経時変化における影響 ○吉村美紀，桑原亜衣，上野山あつこ（兵庫県立大学）
2	新潟産米粉（こしのめんじまん）を利用した生パスタ生地の力学特性と食感について 佐藤恵美子，○永井紘太，山田碧（新潟県立大学），吉井洋一（新潟県農業総合研究所食品研究センター）
3	気管・気管支内の気流運動と痰塊の運動 ○多羅尾範郎（元 聖隷クリストファー大学）
4	フィブリン重合過程へのカルシウム添加効果 ○小島瑠美，土橋敏明，外山吉治（群馬大学）
5	赤血球酵素処理が赤血球集合能に与える影響 ○岩上祐樹，須田巧，中村真彦，楨靖幸，土橋敏明，外山吉治（群馬大学）
6	枯渇相互作用による凝集現象の MONTE CARLO SIMULATION ○工藤雄貴，山本隆夫（群馬大学）
7	平行平板間の高分子溶液のモンテカルロシミュレーション

	○宮下嶺, 山本 隆夫 (群馬大学)
8	異なるゲル化剤を用いたゼリーの嗜好性と物性の比較
	○桑原亜衣, 吉村美紀 (兵庫県立大学), 中村浩行 (シナノケンシ株式会社)
9	分離大豆タンパク質添加エマルションの流動特性
	○江木伸子 (共立女子大学・愛国学園短期大学), 平尾和子 (愛国学園短期大学), 前田康智 (愛国学園短期大学), 村上昌弘 (共立女子大学), 斎尾恭子 (愛国学園短期大学)
10	カルボン酸型シゾフィランの水溶液中での構造変化
	○大隅隆光, 吉場一真 (群馬大学), 佐藤尚弘 (大阪大学)
11	シゾフィランの水溶液中での秩序-無秩序転移におけるカルボキシ基導入の効果
	○岡本理花, 吉場一真, 土橋敏明 (群馬大学)
12	血漿と塩化カルシウム水溶液との接触界面からの凝固のダイナミクス
	○倉沢隆太, 志田奈津美, 外山吉治, 榎靖幸, 山本隆夫, 土橋敏明 (群馬大学)
13	DNA/コンニャクグルコマンナン不織布によるアクリジンオレンジの吸着
	○山口岳, 佐藤良佑, 榎靖幸, 永井大介, 山本隆夫, 土橋敏明 (群馬大学)
14	紫外線照射ゼラチンゲル足場における分化度の異なる胃がん細胞の接着・増殖性
	○吉田啓恭, 高木宣祥, 榎靖幸, 土橋敏明 (群馬大学), 田中進 (高崎健康福祉大学)
15	コンニャクグルコマンナン不織布の力学的性質とタンニン吸着挙動
	○佐藤良祐, 山口岳, 志田奈津美, 榎靖幸, 永井大介 (群馬大学), 中村邦男 (酪農学園大学), 土橋敏明 (群馬大学)
16	血小板様ディスク状粒子の調製と2次元相互作用を活用した接着挙動
	○岡村陽介, 曾我部大輝, 中川篤, 長瀬裕 (東海大学)
17	分子動力学法による高分子溶液中の水素結合ネットワークの解析
	○高村優, 宮本陽介, 喜多理王, 新屋敷直木, 八木原晋 (東海大学)
18	生分解性ディスク状粒子の調製法の確立とユニークな薬剤放出挙動
	○中川篤, 岡村陽介 (東海大学)
19	力学刺激による細胞間情報伝達と隣接細胞内 PKC α 局在の関係
	○荒井雅貴, 中嶋和弘, 世良俊博, 工藤奨 (九州大学)
20.	Solution Properties of Acetylated Dextran Studied by Light Scattering and Optical Beam Deflection Method
	○Isala Dueramae (Tokai University), Masaru Yoneyama (Gunma University), Naoki Shinyashiki (Tokai University), Shin Yagihara (Tokai University), Rio Kita (Tokai University)

プログラム担当 副会長 長谷部 光泉

第 1 日目
6 月 18 日(土)
第 1 会場

末梢静脈の動脈化による酸素供給の検討

講演分野 OS1 血管内治療
講演者氏名、所属 (○小山富康、笹嶋唯博
元北大、元旭川医科大学)

緒言

足部の動脈の閉塞性障害の治療に向けて、末梢小静脈の動脈化を検討してきた。糖尿病を伴わない患者であればすくなくならぬ症例で良好な成績が得られてきた。しかし他方で、静脈へ灌流させた動脈血が筋肉組織へ本当に酸素を供給できるのかと云う疑義を耳にしてきた。この疑問にたいして、酸素分子は、その分子の多い部位から、濃度勾配に従って低い部位へ移動すると推定して検討してきた。人の毛細血管、細静脈血管密度についての、成績は見付からないが、ラットについては報告されている。その報告に基づいて組織内に二次元拡散を仮定して計算すると、安静時、緩歩時なら逆行性灌流は十分な効果があると推測結論された。しかし、速歩により酸素消費量が増加すると、不足状態に陥ることも予想された。こうして我々は、

より細かな推定を行うために、二次元の拡散と絶え間ない血液流入を想定した組織円筒について、酸素分布の解析を試みている。ようやく緒に就いたところであるが、現況を報告してご教示を戴きたいと願っている。

移流拡散・円柱座標系モデル

$$\frac{\partial \phi(r,t)}{\partial t} = D \nabla^2 \phi(r,t) \quad (1),$$

$$\frac{\partial \phi}{\partial t} + \nabla \cdot i = 0 \quad (2),$$

拡散物質 $i = -D \nabla \phi$ (3) が得られる。

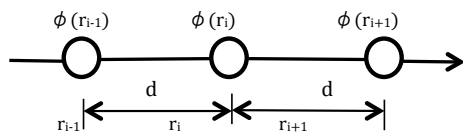
損失係数 λ (増減) がある場合には

$$\frac{\partial \phi}{\partial t} = -\nabla \cdot i - \lambda \phi \quad (4),$$

$$\nabla^2 \phi - \frac{\lambda}{D} \phi = 0 \quad (5)$$

$$\frac{\partial^2 \phi}{\partial r^2} + \frac{1}{r} \frac{\partial \phi}{\partial r} - \frac{\lambda}{D} \phi = 0 \quad (6) \text{ が得られる。}$$

これらの二階微分方程式は離散化して差分方程式として数値計算できる。



$$\frac{d^2 \phi}{dr^2} = \frac{\phi(r_{i+1}) - 2\phi(r_i) + \phi(r_{i-1}))}{d^2} \quad (7)$$

$$\frac{d\phi}{dr} = \frac{\phi(r_{i+1}) - \phi(r_{i-1}))}{2d} \quad (8)$$

Dは離散化間隔である。

また、肉厚円筒の辺縁での差分式は

$$\frac{\phi(r_{i+1}) - 2\phi(r_i) + \phi(r_{i-1}))}{d^2} + \frac{\phi(r_{i+1}) - \phi(r_{i-1}))}{2dr} - \lambda/D \cdot \phi(r_i) = 0 \quad (9)$$

$$\frac{d\phi}{dr} = \frac{\phi(r_i) - \phi(r_{i-1}))}{d} \dots\dots\dots(10)$$

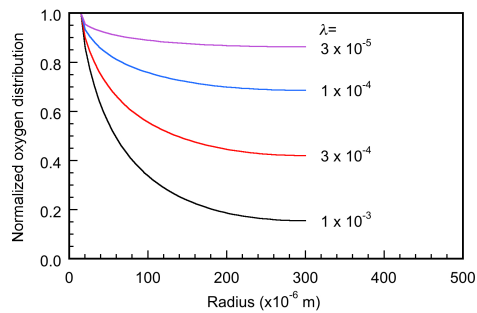
但し、Dと ϕ は酸素の拡散係数と酸素濃度

結果

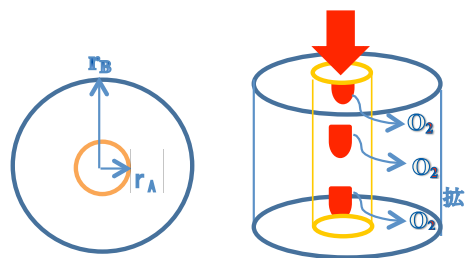
正規化酸素濃度と λ 値の影響、肉厚円筒壁

内の分布計算例

血流量と酸素消費量の一例



$r_B = 300 \mu m$ の場



第 39 回日本バイオロロジ学会年会 プログラム・抄録集

拍動瘤条件下における脳動脈瘤モデルの変形が 血流評価に与える影響

川上拓海*, 神谷薫*, 市川千尋*, 高尾洋之**, ***, 村山雄一**, 元祐昌廣***

* 東京理科大学大学院 工学研究科 機械工学専攻 [〒125-8585 東京都葛飾区新宿 6-3-1]

東京慈恵会医科大学 脳神経外科, *東京理科大学 工学部 機械工学科

1. 緒言

くも膜下出血の原因となる脳動脈瘤の発生と成長のメカニズムは未解明である。そのため、瘤を模擬した中空透明なモデルを用いた血流評価が行われている¹⁾。しかし、実血管形状の計測は行われているが、膨張と収縮の影響まで考慮した血流評価の例は少ない。そこで本研究では、瘤モデルの膜厚が拍動流条件下での膨張・収縮へ及ぼす影響と、変形時の血流状態を調査した。

2. 瘤モデルの製作および計測方法

瘤モデルの製作にはシリコンと低融点合金を用いた。図 1 (a)に示す血管形状の 3D データを基に 3D プリンタで製作したマスターモデルから、シリコンでメス型を得た。メス型に低融点合金を流し込み、オス型を製作する。オス型に透明なシリコンを重ね塗りした後、低融点合金を融解することで図 1 (b)に示すシリコン製の中空透明 Y 字瘤モデルを製作した。

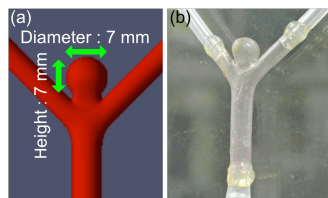


Fig. 1 Aneurysm model. (a) 3D data and (b) silicone model.

3. 瘤モデルの膨張による血流評価への影響

直管形状の低融点合金モデルにシリコンの塗布回数を変化させて、得られる膜厚を調査した。図 2 (a)の結果より、一回の塗布につき約 0.1 mm の膜厚が得られることが確認された。

また、図 1 (b)に示す瘤モデルに一般成人の心拍条件²⁾を模擬した拍動流を流した。膜厚と瘤の変形率の関係を図 2 (b)に示す。3~5%の実血管における変形³⁾を模擬するには、モデルの膜厚を 0.5~0.7 mm に調整すれば良いことがわかった。

さらに、図 3 (a)の瘤モデルを膜厚 0.3, 0.7 mm で製作し、各モデルについて SSPIV で血流評価を

行った。速度場と WSS の計測結果を図 3 (b), (c) に示す。結果から、瘤内の旋回流の大きさ、瘤内の平均速度、WSS の分布に差異が確認された。これらは、膜の厚い瘤モデルよりも薄い瘤モデルの方が拍動流により大きく膨らんだことに起因すると考えられる。

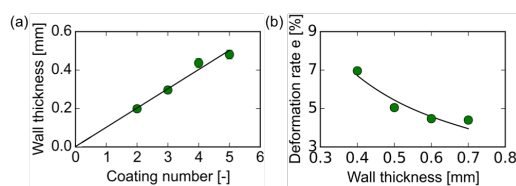


Fig. 2 Relationship between (a) coating number of silicone and wall thickness, (b) wall thickness of vessel model and deformation rate.

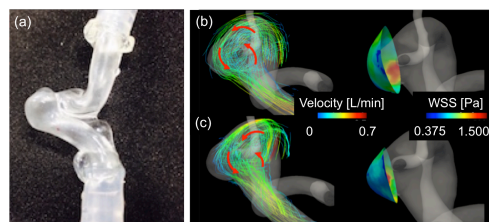


Fig. 3 Streamline (left) and WSS distribution (right) of the model with (a) 0.3 mm and (b) 0.7 mm wall thicknesses.

4. 結言

血流評価への適応が可能な瘤モデルの製作手法を確立した。拍動流条件下のモデルの膨張・収縮は血流評価に影響を与えることがわかった。

文 献

- 1) 坂東佳憲, 大島まり, 大石正道, 佐賀徹雄, 小林敏雄: 実血管形状脳動脈瘤モデル内のステレオ PIV 計測, 日本機械学会論文集 (B 編), **72**, 56-63, 2006.
- 2) Mathew, D. F., Noam, A., Sung, H. L., David, W. H., and David, A. S.: Characterization of volume flow rate waveforms in the normal internal carotid and vertebral arteries., Institute of Physics Publishing, **26**, 477-488, 2005.
- 3) Kozaburo, H: Experimental Approaches on Measuring the Mechanical Properties and Constitutive Laws of Arterial Walls, J Biomech. Eng., **115**, 481-488, 1993.

動脈狭窄モデル内に生成した血栓におけるガイドワイヤの回転追従性

小林俊一*, 荒木翔太**

* 信州大学繊維学部機械・ロボット学科 [〒386-8567 長野県上田市常田 3-15-1]

**信州大学大学院理工学系研究科機械・ロボット学専攻

1. 緒言

医療用ガイドワイヤはカテーテルを治療箇所へ誘導させる重要な役割を担っている。著者らは、ガイドワイヤのトルカビリティを把握するため、PVA Hydrogel (PVA-H) を用いた模擬血管におけるガイドワイヤのトルク伝達性及び回転追従性について検討を行ってきた¹⁾。本報告では急性冠症候群を想定し、模擬血管の狭窄部（狭窄モデル）に血栓を生成・閉塞させ、そこにガイドワイヤを通過した際の回転追従性について検討した。

2. 実験方法

図1に動脈狭窄モデルを示す。同モデルは透明化させたPVAハイドロゲルで調製し、今回は内径 $D=4.0\text{mm}$, $D_s=0.8\text{mm}$, 狭窄長さ $L_s=2D$, $e=0\text{mm}$ のものを用いた。なお、狭窄部内腔にはコラーゲンコーティングを施した²⁾。狭窄モデルにブタの全血（ヘパリン 3.5Units/ml を混合）を灌流し、血栓の生成・閉塞によって血流が停止した後に狭窄モデルを取り出し、血栓部にガイドワイヤを貫通させた。ガイドワイヤは、先端コイル長 30mm , 先端直径 0.36mm , 先端荷重 0.55g のものを使用した。回転追従性の計測装置を図2に示す。モータでガイドワイヤ近位端に回転を与えた。狭窄モデルはサポートに設置され、アームをガイドワイヤに取り付け、アームの回転をビデオカメラで撮影、アームの回転角（近位端側回転角 ϕ_p と遠位端回転角 ϕ_d ）を求めた。

3. 実験結果

狭窄モデルの血液灌流時の写真を図3に示す。血栓は狭窄部頂点部付近の上流側に生成して閉塞した。その血栓における回転追従性の結果として、図4に近位端を1回転させた際の回転損失（ $\phi_p - \phi_d$ ）を示す。ばらつきはあるものの回転損失は僅かにあり、回転速度と共に増加している。

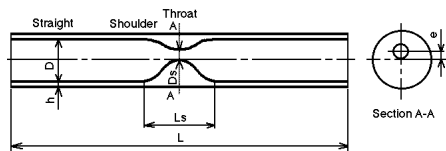


Fig. 1 Stenosis model.

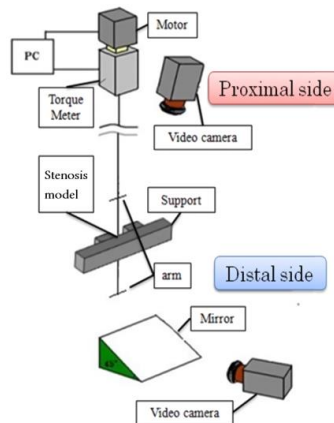


Fig. 2 Schematic diagram of experimental device.

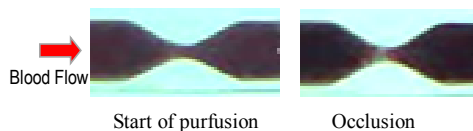


Fig. 3 Photographs of stenosis model.

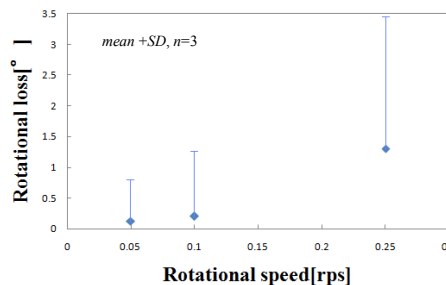


Fig. 4 Rotational loss

5. 結言

血栓におけるガイドワイヤの回転追従性について検討した。回転損失は僅かであるので、今後は押し込み（プッシュビリティ）について検討したい。

謝辞

ブタ血液採取には長野県上田食肉衛生検査所のご指導とご支援を受けた。ここに深く感謝申し上げます。

文献

- 1) 関根, 小林, 日本機械学会 2012 年度年次大会講演論文集, 121-122, 2012.
- 2) 奥山, 小林, Ku, 日本機械学会第 26 回バイオエンジニアリング講演会講演論文集, 451-452, 2014.

第 39 回日本バイオレオロジー学会年会 プログラム・抄録集

MR を用いた患者固有計算流体力学解析による内頸動脈サイフォン部動脈瘤発生部位の血流動態解析

磯田 治夫*, 渡辺 智哉**, 竹原 康夫***, 寺田 理希****, 内藤 丈裕*****,
田ノ井 千春*****, 小杉 崇文*****, 大西 有希*****, 福山 篤司**,
Marcus Alley*****

* 名古屋大学 脳とこころの研究センター [〒461-8673 愛知県名古屋市東区大幸南 1 丁目 1 番 20 号]
** 名古屋大学大学院 医学系研究科 医療技術学専攻、*** 浜松医科大学 医学部附属病院 放射線部、*
*** 磐田市立総合病院 第 1 放射線診断科、**** 春日井市民病院 脳神経外科、
***** 磐田市立総合病院 脳神経外科、***** 株式会社アールテック、
***** 東京工業大学大学院 情報理工学研究科 情報環境学専攻、
***** スタンフォード大学医学部 放射線科

1. 緒言

脳動脈瘤破裂は非外傷性クモ膜下出血の約 80% を占める非常に重篤な脳血管疾患である。脳動脈瘤の発生・成長・破裂には血流動態が関与しており、血流動態の評価は重要である。本研究では患者固有条件の計算流体力学 (computational fluid dynamics, CFD) を用いて内頸動脈サイフォン部動脈瘤発生部位の血流動態の特徴を定性的・定量的に評価することである。

2. 実験方法

本研究は名古屋大学生命倫理委員会の承認を得て行った (承認番号: 14-305)。共同研究施設である磐田市立総合病院、浜松医科大学医学部附属病院で過去に取得された脳動脈瘤所持患者の 3D time of flight (TOF) magnetic resonance angiography (MRA) と 3D cine phase contrast (PC) MR imaging データを二次利用した。患者群を内頸動脈サイフォン部に動脈瘤を所持する群の患側群 (A 群)、および健側群 (B 群)、内頸動脈サイフォン部に動脈瘤を所持しない群 (C 群) の 3 群に分けた。

解析ソフトを用いて 3D TOF MRA から血管形状を、3D cine PC MRI から各血管流量を取得した。3D TOF MRA から取得した血管形状から動脈瘤を削除し、動脈瘤発生前の血管形状を再現し、CFD 解析の血管形状とした。CFD 解析より wall shear stress (WSS), spatial WSS gradient (SWSSG), oscillatory shear index (OSI), gradient oscillatory number (GON), aneurysm formation indicator (AFI), streamline を可視化し、動脈瘤発生部位における分布の特徴を定量的に評価した。また、内頸動脈 C2 セグメント部で正規化した normalized (N-)WSS, N-SWSSG を各群間で定量的に比較し、統計的有意差検定を行った。また、A 群と C 群の間で receiver operating characteristics (ROC) 解

析を行い、Youden index が最高値を示す N-WSS, N-SWSSG をカットオフ値とし、将来動脈瘤が発生するか定量的に区別可能か検討した。

3. 実験結果

定性評価の結果、各群全てにおいて内頸動脈 C2, C3 セグメント境界外側部および C3 セグメント内側部において WSS, SWSSG が高い部位が多く見られた。定量評価の結果、N-WSS は A 群と C 群の間で、N-SWSSG は A 群と B 群、A 群と C 群の間でそれぞれ統計的有意差が見られた。ROC 解析の結果、N-WSS は感度 0.92、特異度 0.47、正診度 1.38 で、N-SWSSG は感度 0.83、特異度 0.80、正診度 1.63 で将来動脈瘤が発生するか否かを区別できると考えられた。

4. 考察

定性評価では動脈瘤が発生する部位では WSS, SWSSG が高かった。WSS, SWSSG が高い部位では MMPs が産生され、壁細胞のアポトーシスを起こすため、壁の菲薄化が起こり、壁の局所的な突出が起こったと考えられた。しかし、動脈瘤が発生しない群でも同様の傾向が見られた。

定量評価の結果、動脈瘤が発生する群としない群に統計的有意差が見られた。壁細胞のアポトーシスによる壁のリモデリングが現状維持的に働くか、外側方向へ働くかに起因すると考えられた。

5. 結言

定性的には WSS, SWSSG が高い部位で動脈瘤が発生しやすいと考えられたが、動脈瘤がない群でも同部位で同傾向が見られた。

本研究で提案した定量評価方法を用いることで、将来動脈瘤が発生する群としない群を区別できると考えられた。

第 39 回日本バイオロロジ学会年会 プログラム・抄録集

ヒト未破裂脳動脈瘤の病理工学研究：微細構造と血流解析による菲薄メカニズムに関する検討

戸部泰貴*, 須藤健太*, 八木高伸*, 川村公一*, 梅津光生*,
吉田浩貴**, 林祥史**, 西谷和敏**, 岡田義文**, 北原茂実**

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

**北原国際病院

1. 緒言

現在までに早稲田大学と北原国際病院の共同研究成果として、脳動脈瘤の菲薄部位において内皮細胞が欠落し、血流が衝突していることを確認している¹。このことから、脳動脈瘤の組織性状は血流の刺激によって遷移しているという仮説を立案した。本研究では、脳動脈瘤の病態遷移メカニズム解明に向け、菲薄部から肥厚部にかけて組織性状の変化に着目した瘤壁の微細構造観察と血行動態の関係性を明らかにすることを目的とした。

2. 実験方法

北原国際病院にて開頭クリッピング術を施した、平均年齢約 55 歳 6 症例の瘤に対して術者の判断のもと摘出を行った。摘出後 10 分以内にグルタルアルデヒドを用いて固定し、エポキシ樹脂包埋を行い、透過型電子顕微鏡 (TEM) を用いて観察を行った。CFD は血流解析専用ソフトウェアである hemoscope® (イービーエム株式会社) を用いた。なお、本研究は早稲田大学、北原国際病院における倫理委員会にて承認されている。

3. 実験結果

Fig.1 に代表症例の術中画像、CFD 解析結果、TEM 観察像を示す。代表症例では壁が 80 μm 以下の菲薄部 (領域 1) と 100 μm 以上の肥厚部 (領域 2) を確認した。CFD 解析では、菲薄部において血流の衝突 (赤点線) を確認した。TEM 観察では菲薄部において平滑筋細胞の細胞死を確認し (矢印)、肥厚部では平滑筋細胞の萎縮を確認した。Table 1 に 6 例の実験のまとめを示す。本実験で観察された平滑筋細胞を細胞死しているものを Grade IV、萎縮したものを Grade III、一部損傷したものを Grade II、損傷なしを Grade I とし、各組織性状での平均点を示した。その結果、菲薄部位は瘤内において最も平滑筋細胞の状態が不良であることを確認した。また、血流解析の結果から菲薄部位には衝突流れを最も多く確認し、移行、肥厚部では平行流れを確認した。

4. 考察

以前により、脳動脈瘤の内皮細胞は菲薄部位で欠落していることを確認している¹。本実験の結果

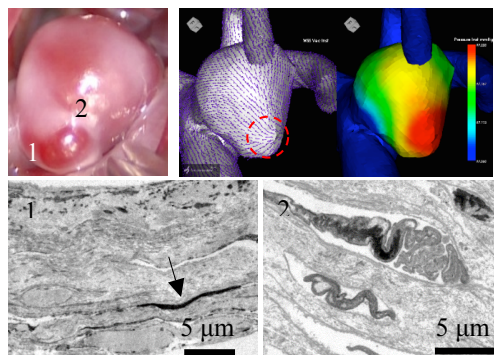


Fig.1 Comparison of TEM observed smooth muscle cells and hemodynamic analysis results

Table 1 Summary of analysis results

	症例数	平滑筋細胞性状	血行動態
菲薄	4	3.25	衝突 (3/4)
移行	3	2.83	平行 (3/3)
肥厚	6	2.87	平行 (6/6)

では、菲薄部位において血流が衝突し、平滑筋細胞の細胞死を確認した。In Vitro 実験から内皮細胞は平滑筋細胞の遊走に関与していることが報告されている²。このことから衝突流れは壁を損傷するだけでなく、壁の再生も阻害し肥厚化を遅延させている可能性が示唆された。

5. 結言

血流パターンの違いが内皮細胞や平滑筋細胞に影響し、組織の多様性を生じていると考えられた。

謝 辞

平成 27 年度ふくしま医療福祉機器開発援助金の委託事業 (代表：イービーエム株式会社)

文 献

- Tobe, Y., Yagi, T., Iwabuchi, Y., et al.: Relationship between pathology and hemodynamics of human unruptured cerebral aneurysms. The 12th International Conference on Biomedical Engineering (ICBME 2013) **43**, 44-47, 2014
- Grosskreutz, C.L., Anand-Apte, B., Dupláa, C. et al.: Vascular Endothelial Growth Factor-Induced Migration of Vascular Smooth Muscle Cells in Vitro. Elsevier, **58**, 128-136, 1999.

第39回日本バイオロロジ学会年会 プログラム・抄録集

ヒト未破裂脳動脈瘤の病理工学研究： 泡沫細胞分布と血流解析による壁脆弱化メカニズム に関する検討

須藤健太*, 八木高伸*, 戸部泰貴*, 川村公一*, 梅津光生*,
吉田浩貴**, 林祥史**, 西谷和敏**, 岡田義文**, 北原茂実**

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

**北原国際病院

1. 緒言

脳動脈瘤の発生・成長・破裂までの詳細な進展機序は未解明であり、瘤内の血流が瘤壁の病理性状へ影響を及ぼすと考えられている。現在までに、北原国際病院と早稲田大学の共同研究としてヒト未破裂脳動脈瘤における病理分析の結果、瘤内に泡沫細胞を確認した。泡沫細胞は主に、動脈硬化を誘発し、不安定プラークといった血管壁の脆弱化・炎症を引き起こす細胞として知られている。このことから、脳動脈瘤内において泡沫細胞の集積は瘤壁の脆弱化・炎症を誘発し、最終的には瘤の破裂と関係があるのではないかとという新たな仮説を立案した。そこで、泡沫細胞の集積メカニズムを明らかにする必要があると考え、本研究では、ヒト未破裂脳動脈瘤における泡沫細胞分布と血流との関係性を明らかにすることを目的とした。

2. 実験方法

北原国際病院で行われた開頭術で医師が組織摘出可能と判断した平均年齢約65歳の未破裂脳動脈瘤9症例11組織を対象とした。摘出組織に対して4%パラホルムアルデヒドを用いて固定し、厚さ3μmの亜連続切片を作製した。また、瘤壁内の泡沫細胞を2種類の染色方法(HE染色, CD68)から定義した。数値流体解析は血流解析専用ソフトウェアであるhemoscope®(イービーエム株式会社)を用いた。なお、本研究は早稲田大学、北原国際病院における倫理委員会にて承認されている。

3. 実験結果

泡沫細胞は9症例11組織中3症例4組織の一部の組織に確認された。Fig.1 (a), (b)に泡沫細胞が確認された1症例の病理・流体解析の比較結果を示す。黄色でペイントされた箇所は、泡沫細胞が確認された領域を示す。泡沫細胞は偏在して分布しており、それらは瘤内の低WSS域であった。次に、9症例11組織における泡沫細胞の有無とWSS分布の比較した結果をFig.2に示す。泡沫細胞領域は他領域に比べ、低いWSS傾向であった。

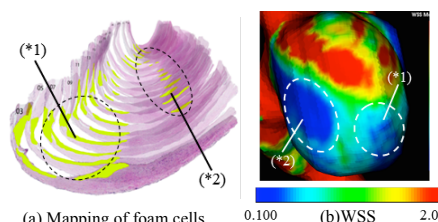


Fig.1 (a-b) Comparison of histological analysis and CFD analysis

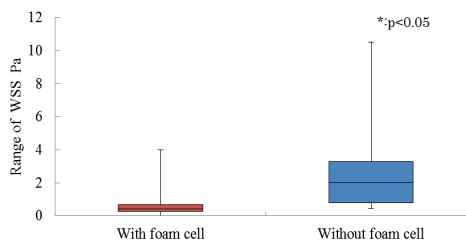


Fig.2 Comparison of WSS between with foam cells and without foam cells

4. 考察

先行研究において瘤の破裂には低WSSが関与していると報告されている¹⁾。しかし、これらの実験結果は、破裂と流体の相関であり、病理学観点は議論されていない。そこで、本実験結果から低WSSによる破裂説について病理学的観点を加えると、低WSSでは泡沫細胞の集積を促し、泡沫細胞由来の炎症・マクロファージのMMP放出によって瘤壁の脆弱化が引き起こされる。その結果、瘤の破裂に起因するのではないかと推察された。

5. 結言

泡沫細胞は脳動脈瘤内の低WSS領域に分布し、瘤壁の脆弱化に関与すると考えられた。

謝辞

平成27年度ふくしま医療福祉機器開発補助金の委託事業 (代表: イービーエム株式会社)

文献

- 1) Yoichi, M and Fujimaro, I: Low wall shear Stress is independently associated with the rupture status of middle cerebral artery aneurysms, stroke, 2013

トルソー症候群における血中高分子ムチン測定の意義

野川 茂, 陳 佑佳, 阿部哲郎, 飯嶋一侑樹, 安田高志, 徳岡健太郎, 北川泰久
東海大学医学部附属八王子病院 神経内科 [〒192-0032 東京都八王子市石川町 1838]

1. 緒言

1865 年 Trousseau A. は「胃癌に合併した遊走性血栓性静脈炎」を報告したが, 担癌患者では凝固能亢進により非細菌性血栓性心内膜炎 (NBTE) を合併することも多く, 心原性脳塞栓症の発症を機に初めて悪性腫瘍が発見されることが多い. このためトルソー症候群は「悪性腫瘍による凝固能亢進状態に伴う脳梗塞」として理解されつつある.

本疾患の発症機序は不明な点が多いが, 原因となる悪性腫瘍は圧倒的に腺癌が多いことから, 血中に放出されたムチンが関与している可能性がある.

そこで本研究では, 1) トルソー症候群患者の臨床特徴を明らかにし, 2) 腺癌より放出され血中で高分子ムチンとして存在する腫瘍マーカー CA19-9 および CA125 と血栓形成における役割を明らかにすることを目的とした.

2. 対象および方法

2014 年 9 月から 2016 年 3 月までに当院に入院し, 凝固能亢進状態 (pre-DIC) および脳梗塞を合併した担癌患者 14 例を対象とし, 以下を後ろ向きに検討した: 1) 年齢, 性別, 悪性腫瘍の種類, 2) 頭部 CT あるいは MRI における梗塞巣の部位および特徴, 経胸壁心エコー (TTE) における NBTE および下肢静脈エコーにおける静脈性血栓塞栓症 (VTE) の有無, 3) FDP, D-dimer などの血栓凝固マーカー, CEA, CA19-9, CA125 などの各種腫瘍マーカー.

インフォームド・コンセントを取得し, 数値および画像データは匿名化して厳重に保管し解析を行った.

3. 結果

1) 年齢は 70.5 ± 4.8 歳と高齢者が多く, 男性 10 例, 女性 4 例と男性に多くみられた. 悪性腫瘍の種類は, 胃癌 4 例, 肺腺癌 4 例, 前立腺癌 3 例, 直腸癌 2 例, 子宮癌 1 例, 肝癌 1 例, 胆管癌 1 例, 十二指腸癌 1 例, 原発不明癌 1 例であった (うち 2 例は重複癌). また, 肺扁平上皮癌 1 例を認めしたが, 胃癌との合併であった.

2) 頭部 CT および MRI では, 脳主幹動脈から末梢血管まで, いずれの支配領域にも大小不同, 比較的境界明瞭な梗塞巣を認めた. また, 4 例が多発性, 6 例が後方循環に梗塞巣を認めた. VTE は下肢

静脈エコーが施行された 7 例中 4 例に, NBTE は 14 例中 1 例に認められた.

3) 血液凝固マーカーでは, FDP 31.3 ± 27.4 (μ g/mL), D-dimer 10.7 ± 8.1 (μ g/mL) と高値を示し, DIC または pre-DIC を呈していた. 腫瘍マーカーでは, CEA (n=14) 14.7 ± 12.9 (U/mL), CA19-9 (n=12) 986.0 ± 1601.8 (U/mL), CA125 (n=10) 138.2 ± 90.2 (U/mL) といずれも高値を示した.

CEA および CA19-9 は血液凝固マーカーと相関を示した. CA125 は卵巣癌以外でも高値を示したが (10 例中 8 例), ばらつきがあるため, 凝固マーカーとは必ずしも相関しなかった (表).

表. 各種腫瘍マーカーの FDP, D-dimer に対するピアソン相関係数

	CEA	CA19-9	CA125
FDP	0.5960*	0.3230	-0.2636
D-dimer	0.6620*	0.6998*	0.1410

4. 考察

1) 本疾患の患者は, 原発不明の 1 例を除き, すべて腺癌を合併していた. 逆に, DIC, 脳梗塞を合併する患者では, 積極的に腫瘍マーカーを含めた悪性疾患の検索を進める必要がある.

2) 頭部 CT および MRI では, 心原性脳塞栓によくみられる脳梗塞の分布を呈した. しかし, TTE で NBTE が認められたのは 1 例に過ぎず, 検索には経食道心エコーを施行する必要がある.

3) 消化器癌のマーカーである CA19-9 は D-dimer と相関し, それ自体が血小板や内皮細胞の p-セレクチンと結合し, 血栓形成に関与する可能性がある. 本検討では, 卵巣癌のマーカーである CA125 と凝固マーカーとの相関は示せなかったが, 担癌患者の脳梗塞のリスク因子であることが報告されており¹⁾, 症例数を増やして検討する必要がある.

5. 結言

CA19-9 および CA125 は腺癌マーカーであるばかりでなく, それ自体が血中で高分子ムチンとなり血栓形成に関与する可能性がある.

文 献

- 1) Chen Y, et al. Int J Clin Exp Med 2015; 8: 4455-4463.

APICO-AORTIC BYPASS 手術後における大動脈内血栓形成機序

小宮賢士*, 中村匡徳*, 木村直行**, 佐藤弘隆***, 川人宏次***

*埼玉大学 工学部機械工学科 [〒330-0875 さいたま市桜区下大久保 255]

**自治医科大学さいたま医療センター 心臓血管外科

***自治医科大学 心臓血管外科

1. 緒言

apico-aortic bypass (AAb) は、心尖部に人工血管を縫着し、これを下行大動脈に吻合する術式である。これにより、左心室からの血流は、大動脈弁を通過するルートと、心尖部から人工血管を通過するルートの2つになる。AAb手術後に大動脈弓部にて血栓が生じる症例が報告されている¹⁾。血栓形成は、流れの淀み領域に生じることから、AAb手術により淀みが生じているのではないかと推察される。そこで本研究では、AAb手術後の大動脈弁側と人工血管側との流量比の観点から血栓形成の要因について検討した。

2. 方法

AAb手術を行った症例のCT画像から人工血管を含む血管形状を構築した。術後に、上行大動脈、人工血管、大動脈分枝に対して、PC-MRI計測を行い、1心周期中の流量変化データを取得した。まず、患者から取得した流量データを直接使用し、血流計算を行った。次に、患者から取得した上行大動脈と人工血管の流量計測データを各時間において合計し、それを流量比 λ により上行大動脈と人工血管に再配分して血流計算を行った。流量比 λ は、値が1のとき、全ての血流が上行大動脈から入るように定義した。患者データの流量比 λ は時間によって変化するが、およそ0.6であった。

3. 結果と考察

収縮期ピーク時における流れ場の流線を Fig. 1 に示す。ここで、(a)は患者の流量データを直接使った場合、(b)は $\lambda=0.2$ 、(c)は $\lambda=0.8$ とした場合である。流線は大動脈弁を起点とするものを赤、人工血管を起点とするものを青で示してある。図からわかるように、(a)では大動脈弓遠位部にて流線がほとんど認められない。(b)では、大動脈弁からn血液は腕頭動脈にのみながれ、(c)では人工血管からの血液は下行大動脈にのみ流れることがわかる。

得られた流れ場に対して、質量ゼロの粒子を投入し、それらを追跡した。流れ場の中で大動脈弓部に存在する粒子の粒子滞在時間 (PRT) の平均値を計算した。PRTとは、粒子が流れ場に投入されてから、ある特定の時刻までの滞在時間である。

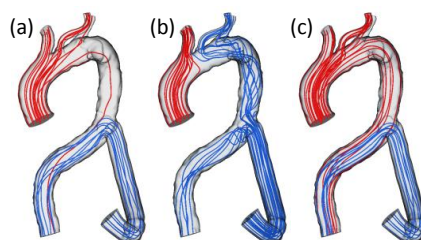


Fig. 1 Streamlines at peak systole obtained with (a) measured data, (b) $\lambda=0.2$ and (c) $\lambda=0.8$.

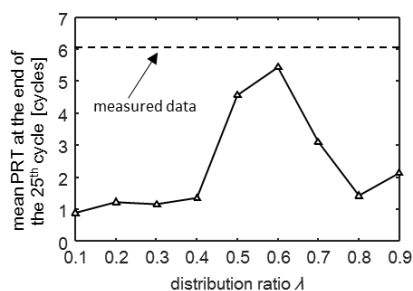


Fig. 2 Mean PRT at the end of 25th cardiac cycle

λ を変えた場合の心周期25周終了時におけるPRTの平均値を Fig. 2 に示す。図に示されるように、 λ が0.5~0.6の辺りで平均PRTが大きくなっていることがわかる。また、患者データを用いた場合には、さらに平均PRTが大きいことがわかる。

患者の流量データを含め、 λ が0.5~0.6の時、上行大動脈と人工血管からの血流量が拮抗する。その結果として、それらが衝突する大動脈弓遠位部では流れが淀み、Fig. 1に示したように大動脈弓遠位にて流線がなくなるのである。すなわち、上行大動脈と人工血管からの流量が同程度のとき、大動脈弓部において血栓が形成されやすくなると推察される。更に言えば、手術後にPC-MRI撮影を行って上行大動脈と人工血管の流量を計測できれば、血栓形成リスクを予測できると考えられる。

参考文献

- 1) Takeda K, Matsumiya G, Takano H, Koh M, Iwata K, Sawa Y, Unusual thrombus formation in the aorta after apicoaortic conduit for severe aortic stenosis, JTCS, 132,155-156, 2006

微小管内流れ中の赤血球軸集中に及ぼす変形能の影響

○佐々木崇洋, 関淳二, 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

微小血管内の血液流れにおいて、赤血球、白血球および血小板の各血球成分はそれぞれ異なった断面内分布を示すことが知られている。特に、赤血球は血管中心軸付近に多く分布し、軸集中現象と呼ばれている¹⁾。この現象は赤血球の高い変形能に起因すると推測されているが、詳細なメカニズムは未解明な点が多い²⁾。本研究では正常赤血球および変形能の低下した硬化赤血球のサスペンションを微小円管に流し、円管下流断面内における赤血球分布を計測することで、赤血球の変形能と軸集中現象との関係を調べた。

2. 実験方法

健康成人から採血した全血を、遠心分離、洗浄し正常なヒト赤血球を得た。赤血球の変形能を低下させるため、グルタルアルデヒド(GA)溶液(400, 2000, 4000ppm)に浸漬し赤血球を硬化させた。これらの赤血球をリン酸緩衝生理食塩水に浮遊させ作動流体とした。赤血球の体積分率は0.01%程度とした。内径50 μm のガラス円管に、シリンジポンプを用いて壁せん断速度が1000 s^{-1} となる条件で作動流体を定常に流した(レイノルズ数 ≈ 0.1)。円管内の赤血球分布を計測するため、図1に示すように円管を水槽内で水平に支持し、円管出口下流正面から、50倍超長作動距離対物レンズを備えた高速度カメラにより流路内流れを観察した。観察面は円管出口から50 μm 程度上流に設定し、この断面を通過する赤血球を撮影した(1800fps)。照明には高輝度LEDファイバ光源を後方から照射するバックライト法を用いた。得られた画像から画像処理ソフトImageJを用いて各赤血球の位置を求め、赤血球の円管断面内分布を得た。

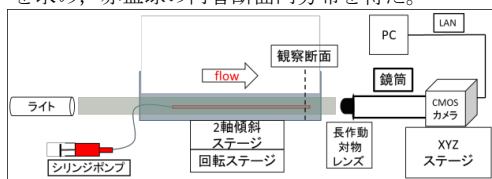


図1 バックライト法による微小流路内血球の観察システム

3. 実験結果と考察

実験結果の1例として、流路入口から100mm下流における、正常赤血球と硬化赤血球(GA濃度

4000ppm)の断面内分布を図2に示す。図の各点は赤血球の中心位置、円は流路内壁を示す。

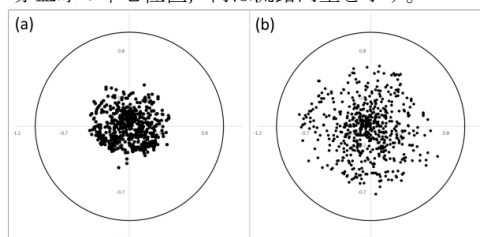


図2 赤血球の円管断面内分布(流路入口から100mm下流)、(a)正常赤血球、(b)硬化赤血球(GA 4000ppm)

図2(a)より正常赤血球は流路中心軸付近に集まっており、強い軸集中が確認された。一方、(b)からは硬化赤血球(GA 4000ppm)は顕著な軸集中を示さず、正常赤血球に比べ広い範囲に分布していることが確認された。分布中心を原点として90%の赤血球が観察される動径半径を求めると、正常赤血球では中心から管半径の0.3倍の中に集中していることが確認された。同様の評価を硬化赤血球で行うと、GA濃度400ppm、2000ppmでは管半径の約0.4倍、4000ppmでは約0.5倍の中に赤血球の90%が存在した。これらの結果から、赤血球を処理するGA溶液の濃度が高いほど軸集中の程度が弱まる傾向が示され、赤血球軸集中は変形能の高さに起因することが示唆された。

4. 結言

赤血球を硬化する際のグルタルアルデヒド溶液の濃度が高いほど、赤血球の軸集中は弱まる傾向が確認された。また、別実験によってGA濃度が高いほど赤血球サスペンションの粘度が増大することが示されており、高濃度のGA溶液で処理すると赤血球の硬化度が増すと考えられる。これらのことから赤血球の変形能が高いほど微小管内流れにおける赤血球の軸集中の程度が強まる、つまり軸集中は赤血球変形能に起因すると推測される。

文献

- 1) 前田信治: 赤血球の微小循環とレオロジー, ながれ, **21**, 129-134, 2002.
- 2) Noso R, Kimura T, Sakamoto K, Sugihara-Seki M, Seki J.: Cross-Sectional Distribution of Platelet-Sized Particles in Blood Flow through Microchannel. Nihon Reoroji Gakkaishi, **43**, 99-104, 2015.

第 39 回日本バイオロロジ学会年会 プログラム・抄録集

マイクロチャンネル法による赤血球変形能の評価 (膠原病患者に対する形状回復時定数の測定)

田地川勉*, 山下雄士**, 池本敏行***, 武内徹****

*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]

**関西大学大学院 理工学研究科 システム理工学専攻

***大阪医科大学付属病院 中央検査部

****大阪医科大学 内科学 (I) 教室

1. 緒言

赤血球の変形能が低下すると毛細血管の血流が阻害され各種疾患の原因となるため, その変形能の評価は重要である. 我々は, 個々の赤血球の変形能を定量評価するため, 毛細血管サイズのマイクロチャンネル (MC) を通過した赤血球が形状回復する過程を粘弾性モデルでモデル化し, 形状回復に関する時定数の測定を行ってきた.

末梢循環障害が起きる疾患として膠原病がある. この疾患は, 全身の複数の臓器に炎症が起き, 臓器に機能障害が起きる一連の疾患群の総称である. これまで膠原病による末梢循環障害に対して, 血球側の影響を調べられた例が少ないことから, 本研究では膠原病患者に対して形状回復時定数を測定し, その関連性を調べた.

2. 実験方法

本研究では, 一辺 $5 \mu\text{m}$ の正方断面, 長さ $100 \mu\text{m}$ の MC を 200 本有する PDMS 製チップを使用した. 赤血球サンプルを自重によって流し MC を通過させ, 通過直後の形状回復の様子を, 高速度カメラ (400 fps, 2040×750 pixel) と 50 倍対物レンズ (N.A=0.55) を取り付けた反射型倒立顕微鏡で撮影した.

血液サンプルは, 健康者 6 名, 膠原病患者 73 名から全血試験用真空採血管を使って採血した. 採血直後に遠心分離により赤血球のみを取り出し, これを PBS で 3 回洗浄後, PBS で Hct=1% に希釈して使用した. また各サンプルに対し, 血球計数検査 (WBS, RBC, PLT, CPR 等) を行った. なお, 本研究は大阪医科大学倫理委員会の承認の下, 行った.

図 1 に, MC 通過後の赤血球形状回復過程の一例を示す. この様な画像から流路幅方向への赤血球の変形を測定し, 赤血球直径で除して圧縮ひずみ ϵ_y を求め, その緩和曲線が指数減衰挙動を示すことから, 各血球の圧縮ひずみの時間変動波形から形状回復時定数を求めた. なお, これまでの研究で, 各患者の時定数は対数正規分布になることが分かっていることから, その幾何平均値を各患者の形状回復時定数の代表値とし, また合わせて標準偏差相当値も求めた.

3. 結果と考察

結果の一例として, 各血球サンプルの形状回復時定数の幾何平均値と RBC 値との関係を図 2 に示す. グラフ中では, 健康者を control ●, 膠原病患者を△とプロットしている. この結果から, 膠原病患者群が健康者に比べ形状回復時定数が長くなる傾向にあった.

基本的な粘弾力学モデルである Kelvin モデルでは, 弾性が支配的になると時定数が短く, 粘性が支配的になると時定数が長くなる. 我々のこれまでの研究では, 糖尿病患者では形状回復時定数が短くなっていったことから, 糖尿病では赤血球膜が糖化することで膜硬化し時定数が短縮したと考えられてきた. それらの結果を考慮すると, 膠原病患者では, ①赤血球膜が弾性的性質を失った, もしくは②内包ヘモグロビン溶液が増粘の可能性が考えられる. なお, 膠原病患者群には, 様々な治療の程度の患者が含まれており, その関係性を現在解析中である.

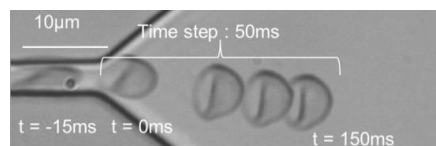


Fig. 1 Shape recovering process of an erythrocyte getting out of a micro-channel.

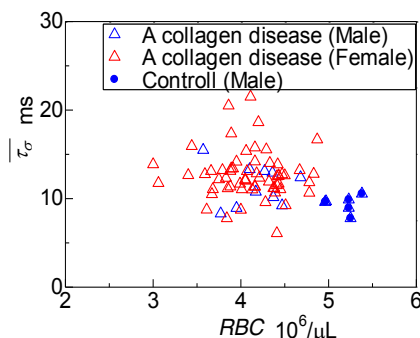


Fig. 2 Time constant distributions.

謝 辞

本研究の一部は, 科研費 (基盤研究(C), 26350521) によって行われた. ここに付記し謝意を表する.

血流条件下、血小板の VWF 接着におよぼす赤血球の役割

田村典子*, 後藤信哉*

* 東海大学医学部内科学系循環器内科 [〒259-1193 神奈川県伊勢原市下糟屋 143]

1. 緒言

赤血球は血液中の ATP, ADP の主要供給源である。血小板表面には ADP 受容体 P2Y₁, P2Y₁₂ が存在し, ADP 刺激により凝集、活性化の影響を受ける。また、活性化した血小板の濃染顆粒からも ADP は放出される。血小板は血管内皮損傷部位の表面に出現するフォンビルブランド因子 (Von Willebrand Factor: VWF) に血小板膜タンパク GPIb α と結合し、さらに活性型に構造を変化した血小板膜タンパク GPIIb/IIIa と結合することで凝集する。ヒトの赤血球、固定した赤血球、および直径 6, 8, 12 μm とサイズの異なる赤血球代替え粒子 (ポリスチレン製球状ポリマー: Copolymer) を用いて、赤血球の生理活性、濃度および形状が血小板血栓形成の最初の過程である血小板の VWF 接着におよぼす影響について検討した。

2. 実験方法

健康成人の全血を、アルガトロバン (終濃度 100 μM) にて抗凝固処理をした。固定赤血球は終濃度 2% パラホルムアルデヒドにて調製した。血小板濃度 20 万/ μL を含む、赤血球および固定赤血球の濃度ヘマトクリット (Ht) 4, 8, 12, 24, 36% の再構築血液をそれぞれ調整した。赤血球代替え粒子についてもそれぞれの volume 濃度で再構築血液を調整した。VWF と GPIb α を介した血小板の接着を観察するため、GPIIb/IIIa の機能を特異的に阻害する Fab 化したモノクローナル抗体 Abciximab (終濃度 10 $\mu\text{g/mL}$) を FITC 蛍光標識して用い、GPIIb/IIIa の活性化阻害および血小板の描出を行った。ガラスプレートに VWF を固相した並行平板フローチャンバーを用いて、1500 s^{-1} の壁すり速度の血流条件下で血液を灌流した。VWF に接着する血小板細胞の接着動態を共焦点レーザー顕微鏡にてリアルタイムイメージングを行い VWF に接着した血小板数を経時的に定量した。血小板イメージの解析にはフリーソフトウェア ImageJ を用いた。

3. 実験結果

1500 s^{-1} の流速条件下、VWF に接着した血小板数はそれぞれ経時的に増加した (図 1)。再構築した血液灌流 1 分後の VWF に接着した血小板数は Ht 4, 8, 12, 24, 36% の濃度依存的に増加が認められた (図 2)。赤血球、固定赤血球および赤血球代替え粒子では顕著な差はみ

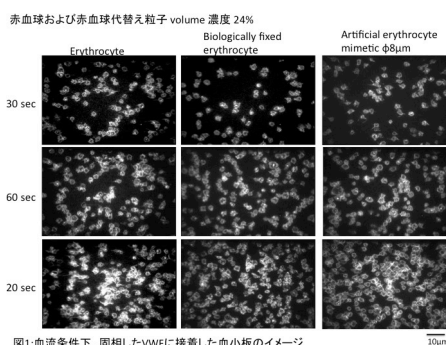


図1: 血流条件下、固相したVWFに接着した血小板のイメージ

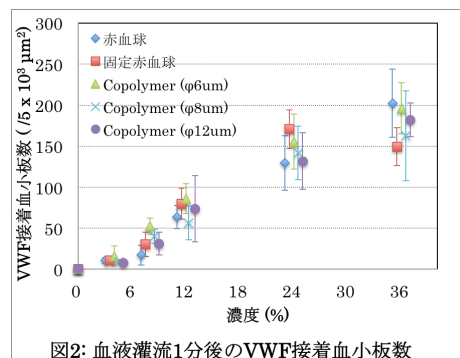


図2: 血液灌流1分後のVWF接着血小板数

とめられなかった。また、赤血球代替え粒子のサイズによる影響も認められなかった。

4. 考察

固相した VWF への GPIb α を介する血小板の接着は、再構成血液中の赤血球、固定赤血球、赤血球代替え粒子濃度により影響を受けた。しかし、赤血球、固定赤血球、赤血球代替え粒子の間には差異を認めず、これらの粒子の血小板接着におよぼす効果は ADP 放出に代表される生理学的因子ではなく、赤血球が血液流路中央に局在集中する物理的存在という力学的な因子の寄与が大であることを示唆した。また、赤血球の濃度を volume で比較しているためか、1500 s^{-1} という血流条件下では、赤血球の形状や粒子径による影響は認められなかった。

5. 結言

血流条件下、血小板と固相した VWF との接着には赤血球の濃度に依存した、力学的な作用による影響が大きいことが示唆された。

誘電緩和周波数による体外循環回路における血栓形成の計測

Dung NGUYENHUU*, 菊地大輔*, 丸山修**,

Achyut Sapkota***, 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

***木更津工業高等専門学校

1. 緒言

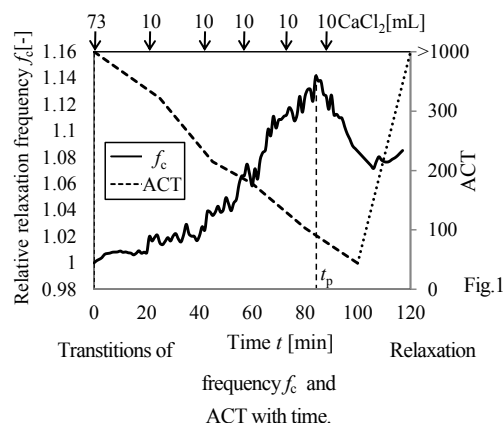
体外循環回路は人工心肺や透析などといった医療装置に用いられ、循環系疾患治療をはじめ、多くの医療現場で使用されている。しかしながら、体外循環回路には、血栓が形成する問題がある¹⁾。そこで、血栓をモニタリングする方法として、現在 Activated clotting time (ACT) などのオフライン計測が行われているが、オンラインで血栓をモニタリングする装置は存在しない。既往研究では、電気インピーダンス計測を用いて、静的状態および流動状態での血栓形成過程における電気特性を計測した結果、比誘電率の変化から血栓検出が確認された²⁾。しかし、比誘電率は計測周波数依存性がある。そこで、本研究の目的は、流動状態における血栓形成過程の電気インピーダンス計測し、Cole-Cole 解析を行い、緩和周波数 f_c による血栓検出の可能性を検討することである。

2. 実験方法

実験装置は恒温槽、リザーバー、ローラーポンプ、二つのリング電極センサー、インピーダンスアナライザー、そして制御用 PC で構成されている。恒温槽の温度は 37°C で調整されており、血液流量 Q は 2.16 L/min に設定された。二つのリング電極センサーはインピーダンスアナライザーに 4 端子プローブより接続されている。インピーダンスアナライザーより電気インピーダンス計測を行い、その結果を Cole-Cole 解析する。実験では、まず、リザーバーに 900 mL のブタ全血 ($H=41\%$) を充填した。血液に対して、0.02 M CaCl_2 を総量 123 [mL] 添加した。 CaCl_2 を添加したときを計測の開始時間 t_0 として、 $t=120$ min まで計測した。このとき、 t_0 から $t=120$ min まで、20 min ごとに、ACT 値、ヘマトクリット $H[\%]$ とフィブリノゲン Fbg 量を計測した。

3. 実験結果

Fig.1 は流動状態において、血栓形成過程における Cole-Cole パラメータ：緩和周波数 f_c と ACT の時間変化を示している。測定開始後、 f_c は時間経過と共に増加し、およそ $t_p=85$ 分においてピークが現れ、その後減少した。また、ACT 値は t_p では、100 以下を下回った。

Transitions of frequency f_c and ACT with time.

4. 考察

流動状態の血栓形成過程において、 f_c の変化は静的状態と同様の結果を示した。また、 t_p では、フィブリノゲン量は急激に減少した。これらの結果により、ピークが現れた時間 t_p は赤血球凝集が始まった時間である。

5. 結言

電気インピーダンス計測を用いて、Cole-Cole 解析した結果、流動状態において赤血球凝集による血栓形成検出を明らかにした。

謝 辞

本研究の一部は、平成 28 年度科学研究費 基盤研究 (A) 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) Vanherweghem, J. L. "Thrombosis and stenosis of central venous access in hemodialysis." *Nephrologie* 15, no. 2 (1993): 117-121
- 2) 朝倉悠太, サブコタアチュタ, 丸山修, 小阪亮, 山根隆志, 武居昌宏: 誘電緩和法によるヘマトクリットをパラメータとした赤血球の特性周波数と血栓形成過程の計測, 日本機械学会論文集, Vol.80, No.816, [DOI: 10.1299/transjsme.2014bms0245], 2014

第39回日本バイオロロジ学会年会 プログラム・抄録集

静脈血栓の研究に有望な新しい流路システム

井上京*, 杉田尚子**, 平方秀男***, 巽和也****, 新岡宏彦*****, 伊井仁志*****,
和田成生*****, 小池薫*, 村井俊哉**

* 京都大学大学院医学研究科 初期診療・救急医学講座 [〒606-8507 京都市左京区聖護院川原町 54]

**京都大学大学院医学研究科 脳病態生理医学講座（精神医学）

***京都市立病院 麻酔科

****京都大学大学院工学研究科 機械理工学専攻 熱材料力学研究室

*****大阪大学大学院基礎工学研究科 機能創成専攻 生体工学領域

1. 緒言

肺血栓塞栓症は発症するとしばしば致命的であるが、有効な予防方法が確立していない。予防が難しい理由の一つとして、血栓塞栓症の詳細が未解明ということが挙げられる。これまで、流路チップを用いて血栓形成などの評価を行うシステムはいくつか開発され様々な研究がなされてきたが、報告数はまだ限られている。また、動脈血栓に関する研究に比較して静脈血栓研究は少数である。

我々の目標としては、まず静脈を想定した流路チップ内での血栓形成・成長・崩壊や流体場、関与する分子・細胞の時間空間的情報を定量化する。流体特性を考え血栓に関与する分子や細胞などを移流拡散反応系と考え確率論的要素やパターン形成要素を抽出する。これを基に粗視化モデルを構築して将来的にはマルチスケールモデルとして血栓塞栓症の理解を進める。

2. 実験方法

データの定量解析が主眼であるため、流路チップ、ポンプ、計測法、データ定量化・処理システムの設計・構築をすることにした（図1）。ポンプ以下のシステムについては、本学工学研究科所有の機器やプログラムを組み合わせることで基本的なシステムとした。そこで、基本となる単純な流路チップを設計し上記目標に必要な要素技術の構築と検証をした。基本の流路チップはPDMS (polydimethylsiloxane) とカバーガラスで構成する直線的で単純な構造とした。そして極めて厳密に圧力を調整できる自作ポンプで血流をコントロールし、同時に血流量の測定も行った。血液には適宜蛍光物質を混合して必要な血液成分を可視化することとした。まず通常の蛍光顕微鏡と超高速カメラで撮像し、パソコンにより時間空間情報を加味しながら画像情報を定量分析する。また流路全体の様子を観察するために、キーエンス社製 BZ-9000 で画像を合成した上で、自作ソフトでの解析を試みた。これらの要素技術でデータの定量的処理などが可能か否かを予備的に検証した。

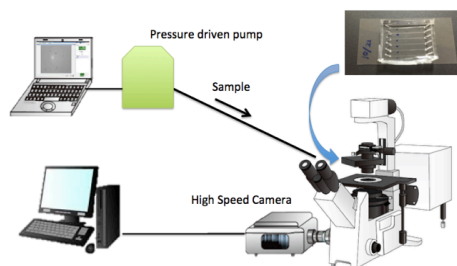


図1. 新しい流路システム

3. 実験結果

開発した新たな流路システムを用いて下記を検証した。

- ・ コラーゲンの塗布開始部位からの距離に応じて血栓の成長が異なることの定量化
- ・ 温度管理は実用的には正確で、血栓形成にクリティカルな温度を特定できること
- ・ 血小板や白血球と血栓形成の位置的关系を精密にデータ化すること

4. 考察

今回構成した要素技術を応用して血栓の定量解析が可能と考えた。解決すべき問題点としては、流路チップ流入部の乱流を制御して血液に対する不必要な刺激を避ける技術の開発が必要である。要素技術は利用できそうなので、今後は流路チップの形状を実際に静脈にさらに近づけ（静脈弁や圧排による変形の模倣、血管内皮細胞での被覆など）で、目的の定量化データを収集解析する。血流の鬱滞や急速な変化も再現し、血栓の成長崩壊過程を定量化することも可能と考えられる。

5. 結言

今回構築した流路システムの要素技術は、血栓の定量化解析の基盤として有用と考えられた。

第 39 回日本バイオロロジ学会年会 プログラム・抄録集

三次元再生組織の形態変化の動力学に与える コラーゲンの構造の影響

古澤和也*, 土田雅之**

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

**北海道大学 生命科学院

1. 緒言

我々の体は発生という生命現象を経て形作られる。正常な発生が引き起こされる条件の下では、ヒトの体の形づくりの再現性は驚くほど高く、ヒトの形や部品となる組織や臓器の形はだいたい同じ形をしている。しかしながら、再現性良く同じ形が作られる機構についてはわからないことが多い。

発生生物学の分野ではこの謎を解き明かすために、モデル生物の実際の発生過程を追跡し、各発生過程にける時空間的な遺伝子の発現パターンを解析する方法などによって研究が進められてきた。しかしながら、遺伝子の時空間的な発現パターンなどが、どのように生き物の形づくりにつながるのかについてはほとんど未解明である。このことに対して、最近、組織や臓器の形づくりを試験管内で再現する方法に注目が集まっている。例えば、胚性幹細胞塊の浮遊培養により眼杯の構造を自己組織的に再現した例などが報告されている¹。一方で、組織や臓器の形づくりには細胞だけでなく細胞外基質も重要な働きを持つことが知られている。

本研究では、細胞を構造の異なるコラーゲンゲル中に埋め込むことで様々な三次元再生組織を構築する。それぞれの再生組織の形や大きさ、および組織内部の細胞の数や形が培養期間においてどのように変化するかを追跡することで、組織や臓器の形づくりにおける細胞外基質の役割を明らかにする。以上より、発生過程における組織や臓器の再現性のよい形づくりの謎を解き明かすための手がかりを得ることが本研究の目的である。

2. 実験方法

本研究では、ヒト肝がん由来株化細胞 (HepG2)、肝類洞内皮細胞 (HSEC)、および肝星細胞 (HSC) を実験に用いた。それぞれの細胞を 280mM のグリセリンを含むアテロコラーゲン水溶液 (IPC-50、KOKEN co. ltd.) に Table 1 に示されている細胞密度の組み合わせで懸濁した。この細胞懸濁液を 20 mM の Na_2HPO_4 と 13 mM の KH_2PO_4 を含む pH7.1 のリン酸緩衝液中に電動式マイクロピペットを用いて一定の排出速度 (166.7 $\mu\text{L/s}$) で排出することで、球形の三次元再生組織を構築した。構

築した再生組織は EGM2 中で培養し、その直径 (D_T) の時間変化を追跡した。

Table 1 試料の調製条件

細胞の種類	細胞密度 (10^6 cells/mL)		
	試料1	試料2	試料3
HepG2	1.0	1.0	1.0
HSEC	0	0.5	0.2
HSC	0	0.5	0.5

3. 結果と考察

HSC および HSEC を含む試料 (試料 2 と試料 3) では培養時間の経過とともに直径が収縮した。一方で、HepG2 だけの試料 (試料 1) では直径はほとんど変化しなかった。試料 2 と試料 3 の直径の培養時間に伴う変化には、試料の直径がほとんど変化しないラグタイムとその後の収縮過程とから成ることが明らかとなった。この収縮過程は、次の実験式を用いて表すことができた。

$$D_T = D_M \exp\left(-\frac{t - t_{\text{lag}}}{\tau}\right) + D_{\text{inf}}$$

ここで、 D_M 、 t_{lag} 、 τ 、および D_{inf} は収縮の大きさ、ラグタイム、組織収縮の時定数、および最終的な組織の大きさをそれぞれ表す。HSC の細胞密度が高い方が、 t_{lag} と τ が短く、 D_M が大きく、そして D_{inf} が小さくなった。これは、HSC の数が多いほどコラーゲンゲルを収縮させようとする力が大きくなることに起因していると考えられる。また、HSC の細胞密度が高いほど HSC どうしが接着しやすくなることも原因として考えられる。

4. 結言

三次元再生組織の収縮過程を実験式で表すことにより形態形成過程を特徴づけるパラメーターを得ることができた。今後は、それぞれのパラメーターにコラーゲンゲルの構造が与える影響を明らかにすることで、形態形成における細胞外基質の構造の役割を明らかにする。

5. 文献

- Ikeda *et al.*: Generation of Rx+/Pax6+ neural retinal precursors from embryonic stem cells. *PNAS*, **102**, 11331-11336, 2005.

第 39 回日本バイオレオロジー学会年会 プログラム・抄録集

ゼラチンゲルのエイジングと温度変化の効果

片貝茉莉花*, ○横 靖幸*, 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

ゼラチンはコラーゲンの加熱等により得られる変性タンパク質であり, ゲル化剤として食品や工業製品において広く用いられている. ゼラチンはゲル化後, 一定温度で保存しておく, 時間とともに弾性率が緩やかに増加する (エイジング)¹⁾. また, ゼラチンゲルのエイジング過程において温度変化を行うと, 弾性率の経時変化が特徴的な応答を示すことが知られている¹⁾. しかし, これらの現象の機構はよく理解されていない.

ゼラチンは, 温水中ではランダムコイル状分子として可溶であるが, 冷却すると部分的にコラーゲンと同様のらせん構造を再生し, それが架橋領域となることによりゲル化する. らせん構造の再生の程度は, らせん構造に寄与する残基の割合であるらせん分率 χ で表現でき, χ は旋光度測定により求めることができる²⁾. ゼラチンゲルのエイジング過程において, 貯蔵弾性率 G' と χ の関係は温度によらないマスターカーブで表現されることが報告されている²⁾. 従って, ゼラチンゲルの弾性率の時間発展を理解する際に, 旋光度により測定されるゼラチン分子のコンフォメーション変化との比較が有効であると考えられる.

本研究では, ゼラチンゲルのエイジングと温度変化の効果について考察するため, 動的粘弾性と旋光度の測定を行った.

2. 実験方法

豚皮由来酸処理ゼラチン (新田ゼラチン APH-250) を Milli-Q 水に溶解して 2.0 wt% の水溶液を調製して実験に用いた. この溶液のゲル化点は 25.9°C であった.

ゲルの力学的性質は, 二重円筒型レオメータ (Rheologia A300, Elquest) を用いて, 周波数 0.5 Hz, 歪 0.01 で貯蔵弾性率 G' を測定することにより調べた. ゼラチン分子のコンフォメーション変化を調べるため, 旋光計 (SAC-i, Atago) を用いて, 波長 589 nm における比旋光度 $[\alpha]$ を測定し, らせん分率 χ を求めた.

等温エイジングの実験では, ゼラチン水溶液を 60°C からゲル化点以下の温度 (5.0-20.0°C) へ冷却後, 一定温度で測定を行った. また, エイジング過程における温度変化の効果を調べるため, (i)

60°C から 5.0°C に冷却して 1 時間測定後, 温度を 17.5°C に上昇 (冷却後温度上昇), (ii) 60°C から 17.5°C に冷却して 1 時間測定後, 温度を 5.0°C に冷却 (二段階冷却) の二種類の温度変化を検討した.

3. 実験結果

等温エイジングの実験では, G' と χ は時間に対して緩やかな増加を示した. 温度が低いほど G' や χ の増加は顕著であったが, G' と χ の関係は温度に依存しなかった.

冷却後温度上昇の実験では, G' と χ は, 最初 5.0°C へ冷却すると時間とともに増加し, 次に 17.5°C へ変化すると, 一度急激に減少したが, その後緩やかに増加した. 温度変化後の値は, 17.5°C における等温エイジングでの値に近かった. この時の G' と χ の関係は, 途中の温度変化の影響を受けることなく, 等温エイジングの曲線とほぼ一致した (Fig. 1).

二段階冷却の実験では, G' と χ は, 最初 17.5°C へ冷却すると時間とともに緩やかに増加し, 次に 5.0°C へ変化すると, 5.0°C における等温エイジングでの値を越えて急激に増加した. この時の G' と χ の関係は, 17.5°C の領域では等温エイジングの曲線と一致したが, 5.0°C の領域では一致しないことが分かった (Fig. 1).

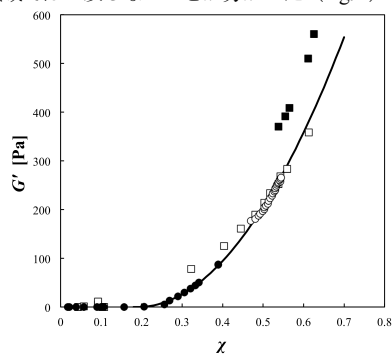


Fig. 1 冷却後温度上昇(□:5.0°C,○:17.5°C), 二段階冷却(●:17.5°C,■:5.0°C)における G' と χ の関係. 曲線は等温エイジングにおける結果を表す.

文 献

- 1) te Nijenhuis, K.: Colloid Polym. Sci., **259**, 1017-1026, 1981.
- 2) Joly-Duhamel, C., Hellio, D., Ajdari, A., Djabourov, M.: Langmuir, **18**, 7158-7166, 2002.

ラメラ相のメソ構造破壊と配向転移

藤井修治, 山本佑樹

長岡技術科学大学 物質材料工学専攻 [〒940-2188 新潟県長岡市上富岡町 1603-1]

1. 緒言

ブロック共重合体ラメラ相は、ずり流動下において構造転移を示すことが知られている。この構造転移には、ラメラの配向方向が変化するラメラ配向転移、微視的にラメラ構造を保持したままメソスケールの構造が変化するラメラ/オニオン転移の2種類がある。どのようにしてこれら異なる構造転移が選択されるのか、理由は明らかになっていない。構造転移の基本原則を明らかにするためには、異なる構造転移現象であっても同等に議論されるべきである。しかし、両方の構造転移を発現する系を見出すことが難しいために、これらの構造転移の特徴について十分な議論がなされてこなかった。我々は、ブロック共重合体P123水溶液が形成するラメラ相が、これら両方の構造転移を発現することを明らかにしてきた。本研究では、作成した動的相図を基に、これらの構造転移が発現する原因を探る。

2. 実験方法

両親媒性三元ブロック共重合体 Pluronic P123(BASF社製)、ブタノール、水の混合系を用いた。Pluronic P123は中央に疎水鎖であるPPO(重合度70)、両末端に親水鎖であるPEO(重合度20)を持つABA型の構造を有する。Pluronic P123の重量分率を23%に固定し、ブタノールと水の組成比(Butanol/H₂O)を変えて異なる試料を調整した。

レオロジー測定は、TAインスツルメンツ社製ARES-G2を用いて行った。また流動下における小角光散乱測定(Rheo-SALS)はAnton Paar社製の応力制御レオメーターMCR300により、小角X線散乱測定(Rheo-SAXS)は高エネルギー加速器研究機構(KEK)のBL10Cにて、ビームライン上に自作流動装置を設置し行った。この他、レオメーターMCR300により流動複屈折測定も行った。

3. 実験結果・考察

P123/ブタノール/水系ラメラ相は、高ずり速度域において、ラメラ配向転移とオニオン構造破壊を示す¹⁾。図1にそれら臨界ずり応力値をブタノールと水の組成比に対してプロットした。(a), (b), (c)はそれぞれ23、25、27°Cでのデータである。白抜きと塗りつぶしたシンボルは、それぞれ配向転移とオニオン破壊が生じるずり応力を示す。図1では、

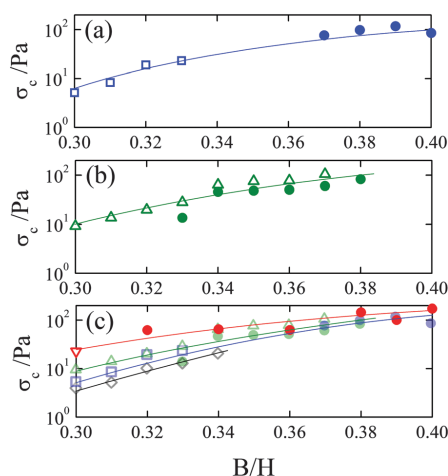


Fig.1 Stress at the critical shear rate of the orientation transition and the onion/lamellar transition as a function of B/H at different temperature.

配向転移とオニオン破壊はどちらもほぼ同じずり応力曲線に乗っているように見える。また、25°Cではどちらの構造変化も同じずり応力で起きている。この結果は、異なるトポロジーの構造転移であっても、実はその臨界ずり速度が、ずり応力と二分子膜の曲げ弾性、または表面張力とのバランスによって決まっていることを示唆する。つまり、ラメラ相における非平衡構造転移は、膜のゆらぎとずり流動場との動的結合によって誘起されるのではなく、力学的に誘起される構造転移であることを示している。

4. 結言

これまで、ラメラ相において観察される非平衡構造転移の原因は、ゆらぎと速度場の動的結合により発現する不安定性にあると考えられてきた。我々のデータは、通説とは異なる新たな構造転移メカニズムを示している。

文献

- 1) Fujii, S., Yamamoto, Y.: Dynamic orientation transition of the lyotropic lamellar phase at high shear rate. *Soft Matter*, **11**, 9330-9341, 2015

流動応力下再生植物プロトプラストの β グルカン生成

関屋大輔*, 飯野正昭*

* 千葉工業大学生命環境科学科 [〒275-0016 千葉県習志野市津田沼 2-17-1]

1. 緒言

植物細胞には硬いセルロース(β 1,4グルカン)主体の細胞壁があるが、細胞壁を除去したプロトプラストを再生させる過程で物理ストレスに曝露された細胞から生成された再生細胞壁はレオロジー特性が変化することなどが報告されている¹⁾。細胞壁は一種の物理ゲルと見なせるので、その物性変化は多糖再生量、分子の配向性や構成比率変化などが推定された¹⁾。一方、キノコ類が産生する柔らかい β グルカン(β 1,3グルカン)には、免疫向上や動脈硬化および血栓の予防に役立つとされる²⁻⁴⁾が、多くの植物では含有量が少なく、また、キノコでも量が少なく高価となっている。

本研究では、通常、セルロースを産生する植物細胞が、流動応力下で β グルカンを多く産生する可能性を調べた。

2. 実験方法

未分化ニチニチソウ培養細胞を高張液下で原形質分離させ、その後Cellulase[®] Onozuka[®]とMacerozymeによるセルラーゼ酵素液を用いてプロトプラストに調整した。このプロトプラストをインキュベータ内に設置した回転シェーカーを用いて暗条件27°Cにて24時間培養した。応力は、平均流速/平均深さにより見積もった。

細胞壁構成多糖の成分分析の方法として、単糖に分解して構成比から推定する手法では、結合様式の違いが不明である。多糖かつ単鎖のままでも精製されていれば、多次元NMRにより構造解析が可能であるが、細胞壁では多くの多糖を含むうえ、単鎖でなく分岐していることが多く、このような場合、この方法は非現実的である。本研究では細胞壁を酵素で分解し、¹H-NMRによる分析法⁵⁾を用いて再生細胞壁の多糖分子の比率を求め、比較した。

3. 実験結果

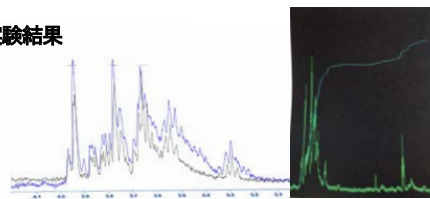


図1 NMRスペクトル(左)と積分スペクトル(右)

再生細胞を重水で複数回洗浄し、軽水を重水に置換し、セルラーゼ酵素液で分解し、NMRスペクトルを得た(図1)。多糖の種類を変数 i とし、細胞壁に含まれる多糖分子の量を y_i とし、再生細胞壁分解溶液の各

NMRスペクトルの積分値を x_j としたとき、多糖分子試薬 i の標準料の分解産物が示す各NMRスペクトル j の積分値を a_{ij} として、 a の逆行列 a^{-1} を利用して、 $y = a^{-1}x$ から多糖分子の量を求めた。

20 s^{-1} 以上において、セルロースと β グルカンの再生量が増加し、特に40 s^{-1} 以上の β グルカンは著しく増加しセルロース量を上回った。

0 s^{-1} にて細胞壁構成多糖比率は、90%以上がセルロースであったが、流動応力が大きくなるにつれて β 1,3-glucanが増え、60 s^{-1} では、セルロースは35%程度に減った。

4. 考察

流動応力による細胞壁構成 β グルカンの増加が確認された。一方、いくつかの植物ホルモンが、 β グルカンの増加を引き起こすことが確認されている⁵⁾ので、この結果が、メカノレセプターによる β グルカン合成酵素への直接効果であるのか、ホルモン産生を経た間接効果であるのかは、今後調べる課題である。ホルモンを使用する場合、細胞の分化未分化の程度が変わる欠点がある。

動脈硬化および血栓の予防に効果が期待される β グルカンを安価に大量生産できる可能性が示唆された。

5. 結言

流動応力による細胞壁を構成する β グルカンが増加することが確認された。

文献

- 1) Fujimura, Y, Iino, M and Watanabe, U: Area expansivity moduli of regenerating plant protoplast cell walls exposed to shear flows. *Jpn. J. Appl. Phys.* **44** (5A), 3325-3329, 2005.
- 2) Berecochea - Lopez, Arlet et al.: Fungal Chitin-Glucan from *Aspergillus niger* Efficiently Reduces Aortic Fatty Streak Accumulation in the High-Fat Fed Hamster, an Animal Model of Nutritionally Induced Atherosclerosis. *J. Agric. Food Chem.* **57**(3), 1093-1098, 2009.
- 3) Kim, Yea - Woon et al.: Anti-diabetic activity of β -glucans and their enzymatically hydrolyzed oligosaccharides from *Agaricus blazei*. *Biotechnol. Lett.* **27**(7), 483-487, 2005.
- 4) Delaney, B et al.: β -Glucan Fractions from Barley and Oats Are Similarly Antiatherogenic in Hypercholesterolemic Syrian Golden Hamsters. *J. Nutr.* **133**(2), 468-475, 2003.
- 5) 関屋大輔, 内金崎大己, 飯野 正昭: プロトプラストの再生細胞壁多糖構成の¹H-NMRによる分析。第54回 NMR討論会講演要旨集 200-201, 2015

伸張刺激時の肺胞上皮細胞内の小胞輸送

世良俊博*, 阿部拓磨**, 西山大貴**, 中嶋和弘*, 工藤奨*

*九州大学大学院 工学研究院 機械工学部門 [〒819-0396 福岡県福岡市西区元岡 744 番地]

**九州大学大学院 工学府 機械工学専攻

1. 緒言

肺胞を覆っている肺胞上皮細胞は肺の虚脱を防ぐために肺サーファクタントを細胞内の小胞から分泌する。肺胞上皮細胞は、人工呼吸器などにより過度な力が加わると小胞分泌能が喪失することが知られている。一方で、伸張刺激に対して細胞骨格を再構築させることで形態変化を行う。伸張刺激に対する肺胞上皮細胞の形態変化と分泌能に関係があることが示唆されている^{1,2)}が、細胞骨格と分泌能の関連は詳しくわかっていない。

本研究では、肺胞上皮細胞を弾性薄膜上に培養し、単軸伸張時の細胞骨格の変化と細胞内小胞輸送の関係を調べた。

2. 実験方法

PDMS 製のチャンパーに A549 細胞 (ヒト由来腺ガン化肺胞上皮 II 型細胞) (JCRB, Japan) を播種し、20%の伸張負荷 (1, 3, 6 時間) を与えた。小胞の染色にはキナクリン二塩酸塩二水和物を用いた。キナクリンは小胞内に取り込まれると緑色蛍光を発する。キナクリン導入後の細胞に対して伸張刺激を負荷し、共焦点顕微鏡で断層画像 (1 μm 間隔) を取得した (Fig. 1A)。その後、ローダミンファロイジンによって細胞骨格を染色し、共焦点顕微鏡を用いて断層画像 (1 μm 間隔) を取得した (Fig. 1B)。撮影後、共焦点画像から細胞の断面を抽出し、キナクリンと F アクチンの各断面内平均輝度を求め、伸張刺激による細胞内の小胞と細胞骨格の量と位置の変化を検討した。

3. 実験結果

伸張負荷を与えずに静置した状態では、時間が経過するにつれて細胞上部 (PDMS 膜が底面) でキナクリンが減少していた。特に 1 時間で約 4 割減少していた。

それに対し、伸張負荷によって細胞内の小胞は増加した。伸張刺激 1 時間では細胞上部から 10 μm に小胞が最も多く存在し、F アクチンはそれよりも上部 (8 μm) に最も多く存在した。伸張刺激 3 時間になると細胞内の小胞は減少し、F アクチンも減少していた。伸張時間 6 時間では、再度細胞上部で小胞が増加し、F アクチンは細胞全体で増加していた。

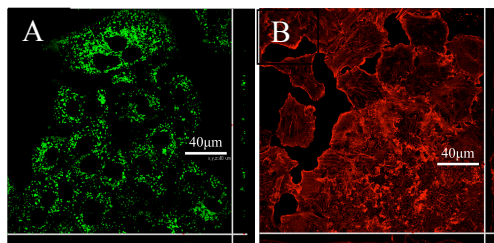


Fig. 1 細胞内の小胞 (A) と F アクチン繊維 (B)

4. 考察

静置状態では細胞内の小胞は 1 時間で約 4 割減少したのに対し、伸張刺激を加えると細胞内の小胞は増加し、その時 F アクチンは小胞が存在する上部で特に増加していた。このことから、小胞輸送が F アクチンの重合によって阻害されていることが考えられる。一方で、伸張刺激 3 時間では F アクチンは一旦減少し、細胞内の小胞も減少していた。これは、F アクチンが脱重合し小胞輸送の阻害が解消されたためと思われる。

5. 結言

静置状態では細胞内の小胞は減少していたが、伸張刺激により細胞内の小胞は増加し同時に F アクチンも増加していた。また、F アクチンが減少すると細胞内の小胞も減少した。これらの結果から、伸張刺激による細胞骨格の重合・脱重合と細胞内小胞輸送に関係があることが示唆された。

謝 辞

本研究は JSPS 科学研究費 補助金 (科研費) (26350505) の助成を受けたものである。

文 献

- 1) Gao, J., Huang, T., Zhou, L. J., Ge, Y. L., Lin, S. Y., and Dai, Y.: Preconditioning effects of physiological cyclic stretch on pathologically mechanical stretch-induced alveolar epithelial cell apoptosis and barrier dysfunction. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **448**(3), 342-348, 2014.
- 2) Mahto, S. K., Tenenbaum-Katan, J., Greenblum, A., Rothen-Rutishauser, B., Sznitman, J.: Microfluidic shear stress-regulated surfactant secretion in alveolar epithelial type II cells in vitro. *Am. J. Physiol. Lung. Cell. Mol. Physiol.* **306**(7), L672-683, 2014.

力学刺激による細胞間情報伝達と隣接細胞内 PKCa 局在の関係

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 [〒819-0396 福岡県福岡市西区元岡 744 番地]

**九州大学大学院 工学研究院 機械工学部門

1. 緒言

血管内皮細胞に負荷された機械刺激は、生化学シグナルに変換され細胞内・細胞間に伝達される。マイクロピペットによる機械刺激により細胞内 Ca^{2+} 濃度が上昇し周囲の細胞に伝播する Ca^{2+} wave は、細胞間情報伝達の1つと考えられている⁽¹⁾。

プロテインキナーゼ C α (PKCa) は細胞内に存在する情報伝達物質であり、増殖や遊走等に関与している⁽²⁾。PKCa は Ca^{2+} によって活性化し、細胞質から細胞膜へと移動し細胞膜に局在することが薬剤刺激による実験によって確認されている⁽³⁾。しかし、力学刺激による Ca^{2+} wave と PKCa の局在化をリアルタイムで同時観察した実験はなく、PKCa の局在メカニズムは分かっていない。

そこで本研究では、マイクロピペットを用いて細胞に力学刺激を加え、刺激を加えた細胞の隣接細胞内 PKCa の局在変化を Ca^{2+} wave と同時に観察し、さらに阻害剤を用い PKCa 局在化のメカニズムも検討した。

2. 実験方法

実験にはウシ大動脈由来血管内皮細胞 (東洋紡) を用い、 $\phi 27\text{mm}$ のガラスベースディッシュ (IWAKI) に播種した。内皮細胞内 PKCa を観察するために、PKCa と蛍光タンパク質 Dronpa-Green (DG, Amalgam) を融合させた PKCa-DG を作製し、Hily Max (Dojindo) を使用して遺伝子導入を行った。 Ca^{2+} は Fura2-AM (Invitrogen) を用いた。

蛍光観察には倒立型蛍光顕微鏡 (ECLIPSETE2000-S, NIKON) を使用した。蛍光の同時観察には AQUACOSMOS (浜松フォトニクス) を用いた。画像取得間隔は 256 msec に設定した。

細胞への力学刺激は硼珪酸ガラス電極をピペットプレーで先端が $3\mu\text{m}$ 程度になるように処理し、マニピレーターを用いて操作した。

PKCa の局在変化と Ca^{2+} の関係を調べるために、PKCa の Ca^{2+} 結合ドメイン阻害剤である Go6976 を負荷した。また、Suramin で P2Y 受容体を、18 α -GA でギャップ結合をそれぞれ阻害することで

隣接細胞への情報伝達方法を限定し、PKCa の局在変化を観察した。

3. 実験結果

Control 時における力学負荷に対する PKCa と Ca^{2+} の蛍光変化を Fig.1 に示す。力学刺激後 Ca^{2+} は刺激部位から Ca^{2+} wave が起こった。PKCa は Control と Suramin 負荷時では隣接細胞で刺激を加えた側の蛍光輝度が増加した (白矢印)。18 α -GA・Go6976 負荷時では蛍光輝度の増加が見られなかった。各条件で PKCa の蛍光ピークを比較したところ、18 α -GA・Go6976 負荷時では Control に比べ優位に蛍光輝度が減少した。

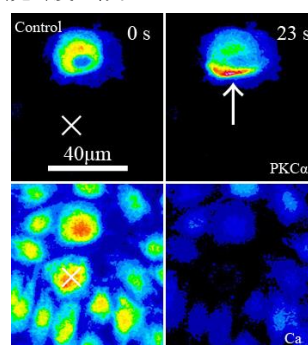


Fig. 1 Control 時の PKCa (上段) と Ca^{2+} (下段) の蛍光変化, ×: 刺激位置

4. 考察

今回の実験から力学刺激時の PKCa の局在変化には Ca^{2+} が必要だと考えられる。また、Suramin 負荷時にも局在が見られたことから、P2Y 受容体よりもギャップ結合の存在が重要だと考えられる。

文献

- 1) Demer L.L et al., Mechanical stimulation induces intercellular calcium signaling in bovine aortic endothelial cells. *Am. J. Physiol.*, 264, 2094-2102, 1993.
- 2) Olga K. et al., Protein kinase Ca: disease regulator and therapeutic target. *Trends Pharmacol Sci.*, 31, 8-14, 2010.
- 3) Wagner S., et al., Analysis of the subcellular distribution of protein kinase Ca using PKC-GFP fusion proteins. *Exp Cell Res.*, 258, 204-214, 2000

血管内皮細胞における形質膜を介したメカノセンシング機構

山本 希美子*, 安藤 譲二**

*東京大学 大学院医学系研究科 システム生理学 [〒113-0033 東京都文京区本郷 7-3-1]

**獨協医科大学 医学部医学科 生体医工学研究室[〒321-0293 下都賀郡壬生町北小林 880]

1. 緒言

血管内面を一層に覆う内皮細胞の働きは、ホルモンやニューロトランスミッターなどの化学的メディエーターだけでなく、血流に起因する流れずり応力 (shear stress) や血圧に基づく伸張力 (stretch) などの力学的刺激によっても調節を受けている。特に shear stress に対する内皮細胞応答は循環機能の恒常性の維持に加え、血流依存性の現象として知られている血管新生、血管のリモデリング、粥状動脈硬化の発症などにも深く関わっている。我々は内皮細胞膜の脂質ミクロドメインのカベオラから shear stress 依存的に内因性 ATP が放出し、ATP 作動性のイオンチャネル P2X4 を介して細胞内へカルシウム (Ca^{2+}) が流入するメカノトランスダクション機構が血圧の調節や、血流依存性の血管拡張、血管のリモデリングに中心的な役割を果たしていることを見出してきた。本研究では、内皮細胞におけるメカノセンシング機構を明らかにすることを目的として、shear stress や stretch が誘発するカベオラを含む内皮細胞形質膜の挙動をリアルタイムで観察すると共に、細胞膜分子の活性化機構について検討した。

2. 実験方法

ヒト肺動脈内皮細胞 (HPAECs) における膜脂質相 (lipid order) の変化を環境感受性色素 Laurdan と 2 光子顕微鏡によるイメージング法で解析した。細胞膜のリン脂質二分子層は規則正しく配列した結晶状態にあり、膜リン脂質のアシル鎖が配向して運動が制限される秩序液体相 (liquid-ordered phase: L_o) とアシル鎖の運動が活発な無秩序液体相 (liquid-disordered phase: L_d) の二つの相状態が存在する。 L_o から L_d に変化すると、Laurdan の極大吸収波長が 50 nm レッドシフトする性質に基づき、lipid order の指標となる generalized polarization (GP) 値を計算し、擬似カラー表示することで、 L_o と L_d の相状態を観察した。また、dipalmitoylphosphatidylcholine (DPPC) と dioleoylphosphatidylcholine (DOPC)、コレステロールを所定比率で混合して作製した人工脂質二分子膜リポソームにおいても同様の検討を行った。さらに、shear stress と stretch による lipid order の変化が血管内皮増殖因子受容体 (VEGFR2) と血小板由来増殖因子 (PDGFR) の活性化に及ぼす影響について検討する為に、VEGFR2 と PDGFR のリン酸化をウエスタン・ブロッティング法により解析した。

3. 実験結果

Laurdan を負荷した HPAECs の細胞膜では、 L_o と L_d が混在し、特に細胞膜辺縁に L_o が多く局在していた。カベオラのマーカー蛋白である caveolin-1 の発現と比較した所、 L_o 領域とはほぼ一致することから、 L_o 領域がカベオラの指標となることが確認された。HPAECs に shear stress (5~20 dynes/cm²) を負荷すると、即座に細胞膜の lipid order が減少し始め、 L_o から L_d に相転移した。Lipid order の減少率は shear stress の大きさに依存的で、可逆性であった。一方、シリコン製のチャンパーに接着させた HPAECs を一軸方向に 10% 伸展させる方法と、300 mosmol/L の等張液から 200 mosmol/L の低浸透圧溶液に交換することにより、HPAECs を低浸透圧膨張させ、形質膜に張力を与える 2 つの方法で stretch 刺激を負荷した所、lipid order が増大し、 L_o 領域が有意に増大した。また、人工脂質二分子膜リポソームでも、これら力学的刺激に伴う lipid order の変化が同様に観察されたことから、物理現象であることが示された。

さらに、HPAECs に shear stress を負荷すると VEGFR2 が、stretch を負荷すると PDGFR がそれぞれリン酸化する。HPAECs にコレステロール (100 μM , 4h) を添加して shear stress による lipid order の減少を阻害すると、shear stress 依存的な VEGFR2 のリン酸化が有意に抑制された。一方、細胞膜のコレステロールを除去する働きのある methyl β cyclodextrin (M β CD: 10 mM, 30min) の作用により stretch による lipid order の増大を減少させると、stretch 依存的な PDGFR のリン酸化が顕著に抑制された。これらの結果は細胞膜の物理的性質が細胞膜を足場とする膜タンパク質の活性化に影響することを示唆する。

4. 考察

これまで shear stress のセンシングには、細胞膜のイオンチャネルや増殖因子受容体、G 蛋白共役型受容体、細胞間あるいは細胞と細胞外基質との接着に関わる接着分子、アクチンフィラメントなどの細胞骨格、さらには細胞膜と連結した細胞外マトリックスであるグリコカリックスや微絨毛のプライマリーシリアなど、細胞膜に存在するか、細胞膜と結合している分子の関与が提唱されてきているが、実際の役割はまだ確定していない。本研究の結果から、血管内皮細胞の形質膜自体がメカノセンサーとして働く可能性が考えられる。

分子論と連続体がつながる脂質二分子膜の構造不安定現象に現れる固体と流体の二重性

東京農工大学 工学研究院 先端機械システム部門

花崎 逸雄

細胞を分離したり細胞内への分子浸透を促進したり医療用に衝撃波を用いたりする際には、いずれも流体中にある細胞膜にせん断流れの力学的な作用が及んでいる。目的とする効果を増すためには流れ場を強める選択肢もあるが、強過ぎれば細胞膜にダメージが及ぶリスクもある。では、細胞膜がせん断流れによって構造不安定現象を引き起こす場合、力学的には何が起きているのであろうか？細胞膜の主成分である脂質二分子膜は、膜構造としては明らかに固体であるが、膜の面内に注目すれば個々の脂質分子は互いの相対位置を熱揺らぎによって変えることも可能なため流体のようでもある。医療上の実用的な重要性はもちろん、このような特徴を持つソフトマターの一種がいかなる道筋で構造不安定を引き起こすのか解明することは、非平衡統計力学や非線形力学系の数理としても大いに学術的な重要性を持つ。

脂質二分子膜やリポソームなどは古くから連続体力学の枠組みで理論的に構造安定性が議論されてきたが、そこに分子論的な機構を議論する余地を見出すことは困難である。これに対して原子 1 個 1 個について運動方程式を解く分子動力学法は、原子間の相互作用を出発点として対象となる現象自体を仮定しない特長も併せ持つ。しかし、高い時空間解像度に伴う計算負荷により、膜構造の安定性を十分な時空間スケールで議論することは容易ではない。このような領域を扱うために、私達は粗視化分子動力学法に基づく理論的な研究をおこなった[1]。その結果、脂質二分子膜がせん断流れにさらされると、その構成要素である個々の脂質分子は流れの方向に傾き、せん断速度が或る閾値を越えると膜構造全体の崩壊に至ることがわかった。さらに、構造不安定現象の過程では座屈によるうねり構造が発生し、その上で Kelvin-Helmholtz 不安定現象が起きて膜の崩壊に至るという道筋が明らかになった。

ここで、座屈は固体構造に見られる典型的な現象であり、Kelvin-Helmholtz 不安定は流体に見られる典型的な現象である。すなわち、構造不安定現象に際しても、脂質二分子膜は固体と流体の性質を共に顕在化させている。したがって、これは固体力学か流体力学かと二者択一的で考えると理解できない現象である。そして、せん断流れに対する膜の応答として、まずは脂質分子レベルの変化が起き、それが座屈など膜構造全体に波及する。これは、要素還元的な視点では全体像を捉えきれないマルチスケールな現象でもある。また一方で、分子論と連続体がつながる領域では、平均値を見ても分散はわからないのと同様の留意が必要である。このような状況では、統計力学における粗視化 (Coarse-Graining) の視点が有効である。一般に、粗視化では対象として豊かなデータが必要であるが、それは数値計算だけではなく実験計測から得られる場合もあり、時には簡便な定量評価手法として結実することもある[2]。

[1] I. Hanasaki, J. H. Walther, S. Kawano, P. Koumoutsakos, Phys. Rev. E, Vol.82, 051602 (2010).

[2] I. Hanasaki, S. Uehara, Y. Arai, T. Nagai, S. Kawano, Jpn. J. Appl. Phys., Vol.54, 125601 (2015).

単細胞生物の機械反応と機械受容

芝浦工業大学 システム理工学部

吉村 建二郎

単細胞生物は細胞全体が環境にむき出しになっているため、多様な機械刺激を受けることになる。本演題では、真核単細胞生物の機械刺激に対する行動と、原核単細胞生物の機械受容チャネルの2点について解説する。

(1) 真核単細胞生物の機械刺激に対する行動

クラミドモナスやパラメシウム（ゾウリムシ）などの遊泳する単細胞生物には、障害物に衝突すると一過的に後退遊泳し、方向転換し、別の方向に泳ぎ去るという障害物避ける「回避反応」(avoiding reaction) という反応がある(図1)。これは、単にボールが壁にぶつかって跳ね返るのは違い、衝突によって細胞膜が電氣的に興奮し、運動装置(繊毛)の運動が後退モードに切り替わり、pivoting という回転運動により方向転換し、障害物とは異なる方向に泳ぎ出すという一連の反応によって行われる。私たちのグループは、衝突の知覚に必要な膜タンパク質 TRP11 (おそらく機械受容チャネル) と、後退遊泳モードの繊毛の打ち方を誘導する電位依存性カルシウムチャネルの遺伝子 CAV2 を同定した。その分布を見ると、TRP11 は繊毛の根本付近に、CAV2 は中央から先端に分布するという相互排他的分布をしていた。これは、繊毛で行われるさまざまな反応を繊毛という一つの器官で行うための巧妙な分布である。

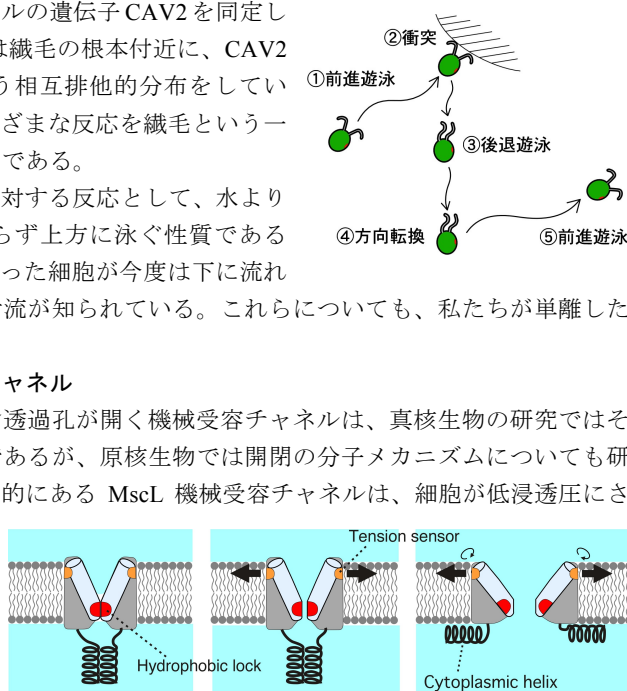
クラミドモナスは、機械刺激に対する反応として、水より細胞の比重が大きいためにもかかわらず上方に泳ぐ性質である重力走性や、重力走性で上に集まった細胞が今度は下に流れて対流のような流れになる生物対流が知られている。これらについても、私たちが単離した変異体を用いた研究を紹介する。

(2) 原核単細胞生物の機械受容チャネル

細胞膜の張力に反応してイオン透過孔が開く機械受容チャネルは、真核生物の研究ではその分子の同定が始まったところであるが、原核生物では開閉の分子メカニズムについても研究が進んでいる。原核生物に普遍的にある MscL 機械受容チャネルは、細胞が低浸透圧にさらされた時に開いて、細胞が吸水により破裂するのを防ぐチャネルである。

MscL は細胞膜の張力を細胞膜に接するすべての面で受ける訳ではなく、チャネルの開閉に

直結する場所(図の tension sensor)があり、その力がイオン透過孔を閉じさせている機構(hydrophobic lock)を解錠することによりチャネルが開くと考えられる。



第1日目
6月18日(土)
第2会場

空間分解能が磁気共鳴流体力学解析に与える影響

水野 崇¹⁾, 瀧口 和也¹⁾, 磯田 治夫^{2), 1)}, 小杉 崇文³⁾, 福山 篤司¹⁾, 小森 芳秋⁴⁾
¹⁾名古屋大学 大学院医学系研究科 [〒461-8673 名古屋市東区大幸南 1-1-20],
²⁾名古屋大学脳とこころの研究センター, ³⁾株式会社アールテック, ⁴⁾シーメンズヘルスケア株式会社

1. 緒言

血流動態を解析する手法として様々な方法がある。計算流体力学(Computational Fluid Dynamics, CFD)解析は、高空間・時間分解能で解析を行うことができる。2次元シネ位相コントラスト磁気共鳴法(2D cine Phase Contrast [PC] Magnetic Resonance [MR])は、血管断面の流速を取得する方法であり、その臨床的価値が認められている。3次元シネ位相コントラスト磁気共鳴法(3D cine PC MR)を用いた磁気共鳴流体力学(MR Fluid Dynamics, MRFD)解析は血流動態を短時間で解析できるため、臨床への応用が期待されている。MRFD解析は、3mmの血管径ならば、ピクセル径が1mm以下である必要がある¹⁾。本研究の目的は、脳動脈瘤を持つ患者の医用画像から再現した動脈瘤発生前のシリコーン製の等倍と2倍の血管モデルに模擬血液を拍動流で流した流体実験を行い、2D cine PC MRを境界条件としたCFD解析を基準とし、2倍の空間分解能の3D cine PC MRに基づいたMRFD解析は等倍のそれと比べて動脈瘤の好発部位として知られる傍前床突起を含む内頸動脈の血流解析の精度が向上するか否かを調べることである。

2. 実験方法

本研究は本学学生倫理委員会の承認を得た[承認番号13-306]。3T MR装置(MAGNETOM Verio 3T, 12ch Head Matrix Coil)を使用して両モデルに3D TOF MRA, 2D cine PC MR, 3D cine PC MRを撮像した。2倍モデル撮影時には等倍モデルとReynolds数とWomersley数が等しくなるように流速、周期を設定した。MRFD解析は血流解析ソフト(Flow Visualization and Analysis, Flova)を用いて、3D TOF MRAから血管形状を作成し、3D cine PC MRの位相画像から血流速度を取得して解析を行った。CFD解析は、メッシュ作成ソフト(ICEM CFD v.14.5)を用いて、血管形状を非構造メッシュに分割し、2D cine PC MRを境界条件に設定して、汎用熱流体解析ソフト(CFX v.14.5)を用いて計算を行った。各解析でWSS(Wall Shear Stress), SWSSG(Spatial WSS Gradient)を算出した。解析領域をICAのC1-4の各領域と定め、等倍モデルのMRFD解析とCFD解析、2倍モデルのMRFD解析とCFD解析の間で流速、WSS,

SWSSGの相関係数を算出した。また、同検討項目でBland-Altman解析を行った。

3. 実験結果

表1に相関係数の解析結果を示す。WSS, SWSSGのBland-Altman解析では、2倍モデルの方が等倍モデルよりもCFD解析結果とMRFD解析結果の差のばらつきが小さかった。

Table1. Correlation coefficient of ICA of model

Measured region	Item	Actual size model (MRFD vs CFD)	Double size model (MRFD vs CFS)
C1	Velocity	0.429	0.671
	Systolic WSS	0.211	0.516
	Systolic SWSSG	0.022	0.217
C2	Velocity	0.469	0.835
	Systolic WSS	0.387	0.506
	Systolic SWSSG	0.301	0.462
C3	Velocity	0.744	0.863
	Systolic WSS	0.652	0.778
	Systolic SWSSG	0.563	0.464
C4	Velocity	0.748	0.741
	Systolic WSS	0.726	0.696
	Systolic SWSSG	0.309	0.349

4. 考察

2倍モデルは、等倍モデルより相対的に高い空間分解能となったため、MRFD解析結果とCFD解析結果の流速、WSS, SWSSGは強い相関を示し、Bland-Altman解析のこれらの差のばらつきが小さかったと考えられた。ICAのC4領域は他の部位より血管径が太いため、等倍モデルでも2倍モデルと同程度の相関係数が得られたと考えられた。

5. 結言

2倍モデルのMRFD解析結果は等倍モデルよりもCFD解析結果に近かったことから、高空間分解能の3D cine PC MRに基づいたMRFD解析は、血管径が細い脳血管にも応用できる可能性が示唆された。

文献

- 1) Lotz J, Meier C, Leppert A, and Galanski M. Cardiovascular flow measurement with phase-contrast MR imaging: basic facts and implementation. Radiographics. 2002; 22(3): 651-71.

三次元シネ位相コントラスト磁気共鳴法の時間分解能が 磁気共鳴流体力学解析と計算流体力学解析に与える影響

水野 崇¹⁾, 磯田 治夫^{2), 1)}, 小杉 崇文³⁾, 福山 篤司¹⁾, 小森 芳秋⁴⁾

¹⁾名古屋大学大学院医学系研究科 [〒461-8673 名古屋市東区大幸南 1-1-20],

²⁾名古屋大学脳とこころの研究センター, ³⁾株式会社アールテック, ⁴⁾シーメンスヘルスケア株式会社

1. 緒言

脳動脈瘤の発生には壁剪断応力 (Wall Shear Stress, WSS) が影響する。血流動態解析の手法として、三次元シネ位相コントラスト磁気共鳴法 (3D cine Phase Contrast [PC] Magnetic Resonance [MR]) を用いた磁気共鳴流体力学 (MR Fluid Dynamics, MRFD) 解析や、計算流体力学 (Computational Fluid Dynamics, CFD) 解析がある。MRFD 解析は短時間で解析が行えるが、精度が低い¹⁾。CFD 解析は 3D cine PC MR から得られた流速情報を境界条件として、コンピュータ計算により解析を行う。計算に時間がかかるが、高空間・時間分解能で解析を行うことができる。本研究の目的は、3D cine PC MR の時間分解能が MRFD 解析及び CFD 解析に与える影響を検討することである。

2. 実験方法

本研究は本学生命倫理委員会の承認を得た [承認番号: 15-305]。また、全被験者からインフォームド・コンセントを取得した。3T MR 装置 (MAGNETOM Verio 3T, 12ch Head Matrix Coil) を用いて健康ボランティア 6 名の脳血管に 3D Time of Flight (TOF) MR angiography (MRA), 3D cine PC MR を撮像した。3D cine PC MR の時間分解能は Number of Segment (NOS) の変更によって平均 31ms, 63ms, 93ms の 3 通りで撮像した。MRFD 解析では血流解析ソフト (Flow Visualization and Analysis, Flova) を使用して、3D TOF MRA から血管形状を作成し、3D cine PC MR から流速情報を得た。各ボランティアの内頸動脈 (ICA), 前大脳動脈 (ACA), 中大脳動脈 (MCA) の流量, 断面平均流速, 断面最高流速を取得し, WSS を算出した。CFD 解析では血管形状を, メッシュ作成ソフト (ICEM CFD v. 14.5) を用いて非構造メッシュに分割した。3D cine PC MR から得られた流速情報を境界条件とし, 汎用熱流体解析ソフト (CFX v. 14.5) で計算を行い, WSS を求めた。流量, 断面平均流速, 断面最高流速では, NOS1 の値を基準値とし, NOS1 に対する NOS2, 3 の相対誤差を算出した。WSS の解析対象は両解析とも ICA の C2 領域とした。NOS1 での WSS の最高値を基準値とし, NOS1 に対する NOS2, 3 の相対誤差を算出した。

3. 実験結果

ボランティア 1 の右 ICA の流量の MRFD 解析の結果を図 1 に示す。

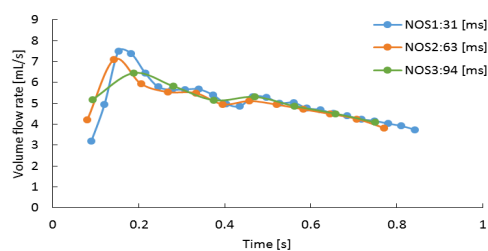


Fig.1 Temporal volume flow rate of right ICA obtained by MRFD analysis (volunteer1)

MRFD 解析での NOS2 の収縮期の相対誤差は流量 8.2%, 断面平均流速 8.5%, 断面最高流速 9.6%程度であった。NOS3 でのそれらは 18%, 14%, 17%程度であった。WSS の結果は, MRFD 解析より CFD 解析の方が NOS2, NOS3 ともに相対誤差が低かった。

4. 考察

時間分解能が低いと平滑化の影響を受けやすくなり, 収縮期で流量, 断面平均流速, 断面最高流速, WSS が過小評価されたと考えられた。両解析の WSS の結果比較では, CFD 解析の方が高空間・時間分解能で解析できるため, MRFD 解析より相対誤差が低くなったと考えられた。

5. 結言

3D cine PC MR の時間分解能を低くすると収縮期の流量, 断面平均流速, 断面最高流速, WSS が低下するが, MRFD 解析, CFD 解析ともに NOS2 は NOS3 より影響が少ないことが分かった。

文献

- 1) Lotz J, Meier C, Leppert A, and Galanski M. Cardiovascular flow measurement with phase-contrast MR imaging: basic facts and implementation. *Radiographics*. 2002; 22 (3): 651-71.

MR を用いた脳血管の患者固有計算流体力学解析にセグメンテーションによる血管径の大きさと流量の変化が与える影響

石黒 健太⁽¹⁾, 磯田 治夫⁽²⁾⁽¹⁾, 渡辺 智哉⁽¹⁾, 竹原 康雄⁽³⁾, 寺田 理希⁽⁴⁾
小杉 崇文⁽⁵⁾, 大西 有希⁽⁶⁾, 小森 芳秋⁽⁷⁾

⁽¹⁾名古屋大学 大学院医学系研究科 [〒461-8673 愛知県名古屋市東区大幸南 1-1-20]

⁽²⁾名古屋大学脳とこころの研究センター, ⁽³⁾浜松医科大学 医学部附属病院 放射線部

⁽⁴⁾磐田市立総合病院 第 1 放射診断科, ⁽⁵⁾株式会社アールテック

⁽⁶⁾東京工業大学 情報理工学研究所 情報環境学専攻, ⁽⁷⁾シーメンスヘルスケア株式会社

1. 緒言

動脈瘤の発生, 成長, 破裂に血流動態が関係していると考えられている. 血流動態を評価する方法として 3D Time of Flight (TOF) MR Angiography (MRA) データを血管形状, 3D cine Phase-Contrast (PC) MRI で得られた流速情報を基に磁気共鳴流体力学 (Magnetic Resonance Fluid Dynamics, MRFD) を行い, MRFD から得られた流量を境界条件に用いた MR-based Computational Fluid Dynamics (CFD) 解析¹⁾がある. MRFD で流量を取得する際に, セグメンテーション時の血管径の大きさの変動により, 得られる流量が変化し, これを境界条件とする CFD 解析の結果が変動する可能性がある. 本研究の目的は, MRFD の血管のセグメンテーションの条件による流量の変化がこれを境界条件とする MR-based CFD 解析結果に与える影響を脳血管ファントムを用いて検証することである.

2. 方法

本研究は本学の生命倫理委員会の承認を得ている (承認番号: 14-305). 内頸動脈後交通動脈分岐部に動脈瘤を持つ 70 歳代女性の 3D TOF MRA からアールテック社製血流解析ソフト (Flow Visualization and Analysis, Flova) を使用して血管形状を作成し, シリコン製脳血管ファントムを作成した. 作成したファントムを用いて閉鎖流路を組み, ヒトの収縮期の流量を定常流で循環させながら 3T MR 装置を用いてファントムの 3D TOF MRA, 3D cine PC MRI を撮像した. MIP 像を参考に得られた 3D TOF MRA データを Flova を用いて Region Growing 法でセグメンテーションし, Marching Cube 法で血管形状を作成した. セグメンテーションの閾値を Pixel 値 125, 150, 175, 200, 225 に変化させ, 対象領域の抽出をした. 解析者は Pixel 値 175 が最適であると判断した. 得られた各 Pixel 値の形状を CD-adapco 社製汎用熱流体解析プログラム STAR CCM+ を用いてメッシュの作成や CFD 解析を行った. CFD 解析の境界条件は

MRFD で次のように取得した. 流入境界条件は各 Pixel 値の形状から取得した流速, 流出境界条件は各 Pixel 値の形状から取得した流出流量の分配比を設定した. 定性的な評価として各 Pixel 値の CFD 解析結果の流線図, Wall Shear Stress (WSS) 分布図を Pixel 値 175 の CFD 解析結果と比較した. 定量的な評価として前大脳動脈, 中大脳動脈, 内頸動脈, 動脈瘤の空間平均 WSS を算出し, Pixel 値 175 の CFD 解析結果との誤差率を算出した.

3. 結果

MRFD の血管形状決定時の Pixel 値に関わらず, CFD 解析結果の流線図, WSS 分布図は, 解析者が最適であると判断した Pixel 値 175 の MRFD の流量を用いた CFD 解析結果と似た分布を示した. また, 各部位の空間平均 WSS と Pixel 値 175 の CFD 解析結果との誤差は約 10% 以下となった.

4. 考察

MRFD のセグメンテーションの条件の違いによる血管形状の変化があっても, これを用いた MR-based CFD の流線図や WSS 分布図, 空間平均 WSS に大きな変化がなかったのは, セグメンテーションの条件の変化に応じて, 流量が変化し, CFD 解析の形状に適した境界条件になったと考えられた.

5. 結言

MR-based CFD は境界条件を求める MRFD の血管形状の変化があっても, 形状ごとに適切な境界条件が得られるため, CFD 解析結果に及ぼす影響は小さいと考えられた. このことから解析者が異なっても, 結果に及ぼす影響は小さいと考えられた.

6. 参考文献

- 1) Isoda H, Takehara Y, et al. MR-based computational fluid dynamics with patient-specific boundary conditions for the initiation of a sidewall aneurysm of a basilar artery. *MagnReson Med Sci.* 14, 39-144, 2015.

第 39 回日本バイオロロジ学会年会 プログラム・抄録集

三次元シネ位相コントラスト磁気共鳴法を用いた脳動脈瘤の血流動態解析 (計算流体力学との比較)

石黒 健太⁽¹⁾, 磯田 治夫⁽²⁾⁽¹⁾, 竹原 康雄⁽³⁾, 寺田 理希⁽⁴⁾, 内藤 丈裕⁽⁵⁾
 田ノ井 千春⁽⁶⁾, 小杉 崇文⁽⁷⁾, 大西 有希⁽⁸⁾, 福山 篤司⁽¹⁾, Marcus Alley⁽⁹⁾
⁽¹⁾名古屋大学 大学院医学系研究科 [〒461-8673 愛知県名古屋市東区大幸南 1-1-20]
⁽²⁾名古屋大学脳とこころの研究センター, ⁽³⁾浜松医科大学 医学部附属病院 放射線部
⁽⁴⁾磐田市立総合病院 第 1 放射診断科, ⁽⁵⁾春日井市民病院 脳神経外科
⁽⁶⁾磐田市立総合病院 脳神経外科, ⁽⁷⁾株式会社アールテック, ⁽⁸⁾東京工業大学
 情報理工学研究所 情報環境学専攻, ⁽⁹⁾スタンフォード大学 医学部放射線科

1. 緒言

血流動態は動脈瘤の発生, 成長, 破裂に関係していると言われており, 血流動態を正確に評価することは重要である. 血流動態を評価する方法として三次元シネ位相コントラスト磁気共鳴法 (3D cine Phase Contrast [PC] MR imaging [MRI]) を用いた磁気共鳴流体力学 (Magnetic Resonance Fluid Dynamics, MRFD)¹⁾ が注目されている. 本研究の目的は MRFD の臨床応用を目指し, MRFD と計算流体力学 (Computational Fluid Dynamics, CFD) 解析から得られた結果を比較し, MRFD の精度を検討することである.

2. 方法

本研究は本学の生命倫理委員会の承認を得ており (承認番号: 15-302), 全ての症例からインフォームドコンセントを得た. 対象は 3T MR 装置を用いて 3D Time of Flight (TOF) MR Angiography (MRA) 及び 3D cine PC MRI を施行した 7 症例, 7 動脈瘤を対象とした. 得られた 3D TOF MRA のデータをアールテック社製血流解析ソフト (Flow Visualization and Analysis, Flova) を用いて MRFD を行った. また, Flova より CFD 解析を行うための血管形状を得た.

得られた血管形状を ANSYS 社製メッシュ作成ソフト ICEM CFD を用いて非構造のテトラメッシュに分割し, 同社製汎用熱流体解析ソフト CFX を用い, CFD 解析を行った. 境界条件は Flova より得られた症例固有の拍動波形の流量を流入, 流出境界条件ともに設定した.

定性的な評価として, 各症例の収縮期時の MRFD と CFD 解析結果の Wall Shear Stress (WSS) 分布図, 流線図の評価を行った. また, 動脈瘤内における血流の流れ方, 親動脈から動脈瘤への血流の入り方, 渦流の頂点の位置や数, 渦流に伴う低 WSS 領域を MRFD と CFD 解析結果で比較した. 定量的な評価として, MRFD と CFD 解析結果の前

大脳動脈, 中大脳動脈, 内頸動脈, 動脈瘤の収縮期の速度ベクトルと WSS の相関解析と Bland-Altman 解析を行った.

3. 結果

定性的な評価では 7/7 例で瘤内の流れ方, 親動脈から動脈瘤への血流の入り方が一致し, 6/7 例で流線図や WSS 分布図, 渦流の位置や数, 渦流に伴う低 WSS 領域が一致した.

速度ベクトルは相関係数が 0.5 以上となり, 比較的良好な相関を示した. WSS は前大脳動脈, 動脈瘤は 0.2~0.4 程度と弱または中程度の相関となり, 内頸動脈は 0.4~0.5 程度, 中大脳動脈は 0.5 以上となった. Bland-Altman 解析では速度ベクトルは扇状の分布, WSS は右肩上がりの分布を示し, MRFD と CFD 解析の差の平均は 0 とはならなかった.

4. 考察

MRFD と CFD 解析結果の WSS が定量的に一致しなかったのは, WSS の算出方法が MRFD と CFD 解析で異なることや, 前大脳動脈と動脈瘤では MRFD の空間分解能が不十分であったためと考えられた. MRFD と CFD 解析結果で得られた内頸動脈の速度ベクトル, WSS の相関係数が高い値を示したのは, 内頸動脈は相対的に径が大きく, MRFD を用いて流速や WSS を算出するのに相対的に十分な空間分解能があったと考えられた.

5. 結言

WSS 分布図や流線図の定性的な評価は, MRFD と CFD 解析結果で良く似ていたことから, 臨床現場において, MRFD は定性的評価に応用できると考えられた.

6. 参考文献

- 1) Naito T, Miyachi S, Matsubara N, et al.: Magnetic resonance fluid dynamics for intracranial aneurysms comparison with computed fluid dynamics. *Acta Neurochir (Wien)*. 154,993-1001, 2012.

せん断応力が血液凝固因子の反応速度に及ぼす影響

○丸山 修*, 川上滉貴**, 迫田大輔*, 小阪 亮*, 西田正浩*, 山根隆志***

*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]

1. 緒言

重篤な心疾患患者救命の治療法の一つとして、遠心血液ポンプが用いられている。遠心血液ポンプは、血液を駆出するためのインペラと呼ばれる回転子が高速で回転するため、遠心血液ポンプ内には高せん断応力が発生する。高せん断応力は、血球破壊が懸念されるが、一方で血栓形成の抑制に貢献することがわかっている。我々は、これまでにウシ血液およびブタ血液を試験血液として、せん断応力の増加に伴って血栓形成が抑制されることを定量的に明らかにしてきた。しかし、どの程度のせん断応力が、どのようなメカニズムで、またどの程度の血栓を抑制するかの定量評価は明らかにできなかった。これは、血液凝固因子活性を計測するための試薬が臨床用の計測キットであり、動物血中の血液凝固因子と十分に反応しないことに基づくものと考えられた。そこで本研究では、臨床用キットで血液凝固因子の活性を正確に測定できるように、ヒト血液を試験血液として使用した。また二重円筒式のレオメータを使用して血液に一定のせん断応力を負荷することで、どの血液凝固因子が血栓形成にどのように関与しているかを調べた。これにより、せん断応力に関与する血液凝固因子を特定し、せん断応力が、血液凝固反応速度をどの程度抑制するかを定量的に明らかにす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（楕円エルクレスト製レオロジー 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最終濃度 0.32%で抗凝固したヒト血液を試験血液とした。外筒の最高回転速に相当する $2,880\text{s}^{-1}$ のせん断速度で 3 時間回転させることで、この試験血液にせん断応力を負荷した。せん断負荷後の血液を遠心分離して血漿を取り出し、この血漿について、外因系凝固反応を反映するプロトロンビン時間 (PT)、および内因系凝固反応を反映する活性化部

分トロンボプラスチン時間 (APTT) を計測した。また、血液凝固第 XII、XI、X、IX、VIII、V および II 因子について、それぞれの血液凝固因子の欠乏に基づく PT および APTT の延長を計測した。

3. 実験結果および考察

$2,880\text{s}^{-1}$ で 3 時間のせん断負荷の前後で、PT は 9.3%、APTT は 12.1% 延長したことから、外因系および内因系凝固反応ともに、本せん断条件によって反応速度が約 10% 抑制されることが明らかとなった。一方、PT を反映する血液凝固第 VII 因子の欠乏による PT の延長、および APTT を反映する血液凝固第 XII、XI、IX、VIII 因子の欠乏による APTT の延長は見られなかった。従って、これらの血液凝固因子は、せん断応力に基づく血栓形成の抑制には関与していないか、あるいは極めて小さいと考えられた。一方、PT および APTT の共通経路を反映する血液凝固第 X、V、II 因子の中で、血液凝固第 V 因子の欠乏が、せん断負荷の前後で PT を 19.9%、同様に APTT を 17.4% 延長させた。これらの延長結果は、血液凝固第 V 因子が、せん断応力によって、血液凝固反応抑制に大きく関与していることを意味し、結果として PT および APTT を上記の通り約 10% 延長させる要因となっていることがわかった。血液凝固第 V 因子が、せん断応力によって具体的にどのように血液凝固反応を阻害しているかについては今後の課題となるが、現段階では、分子量 333kDa の糖タンパク質である血液凝固第 V 因子が、せん断応力によって構造変化を来し、他の血液凝固因子との結合ができず、血液凝固促進に必須な複合体を形成できなくなることで、血栓形成が抑制されるものと考えている。

4. 結論

$2,880\text{s}^{-1}$ のせん断速度をヒト血液に 3 時間負荷することで、外因系凝固反応および内因系凝固反応が約 10% 阻害された。そのメカニズムとして、外因系および内因系の共通経路を反映する血液凝固第 V 因子の活性が抑制されることが原因であることがわかった。

コネクタ形状の違いが血栓形成に与える影響の検討

松橋祐輝*, 山本祥宜*, 鮫島啓*, 高橋東*, 梅津光生*, 岩崎清隆*

* 早稲田大学大学院 TWIns [〒162-8480 東京都新宿区若松町 2-2]

1. 緒言

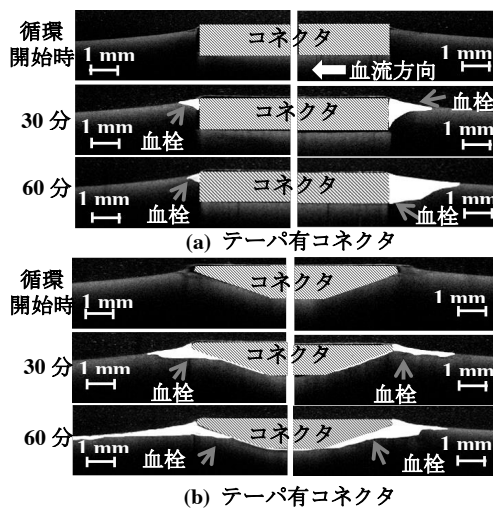
人工肺回路等の、血液と接触する医療機器は患者の治療に貢献している。一方、血栓は心筋梗塞や脳梗塞といった合併症を引き起こす可能性がある。回路内のコネクタとチューブの接続部に血栓が形成されることは広く知られているが、その解決策は確立していない。血栓形成過程を経時的に可視化する手法の確立により、血栓形成と飛散の原因を定量的に捉え、血栓形成を抑制、または、できた血栓を飛びにくくする医療機器の設計に寄与できる。本研究では光干渉断層装置(Optical Coherence Tomography : OCT)を用いてコネクタのテーパの有無が血栓形成に及ぼす影響を観察することを目的とした。

2. 実験方法

試験回路は空気非接触の一巡回路とし、ローラポンプ、ポリウレタン製コネクタ、末梢抵抗とセグメント化ポリウレタン製の内径12mmのチューブで構成した。各要素は内径6mmの医療用ポリ塩化ビニルチューブで接続した。試験対象コネクタは内径6mm、外径が8mmのテーパ無コネクタと、同一の径の内側に30°のテーパ加工を施し、コネクタ先端の段差が100μmのテーパ有コネクタの2種類とした。血流量は100ml/min、回路内圧は70mmHgとした。回路容量は50mlとした。観察にはSS-OCT方式の歯科用OCTを用いた。血液接触面はMPCポリマーでコーティングした。早稲田大学のヒト倫理委員会の承認を得て行った(承認番号:2015-212)。ヘパリン添加で活性化凝固時間を約160秒としたヒト血液を回路に挿入し、60分間循環した。循環開始から10分毎にコネクタ流入部とチューブの接続部位とコネクタ流出部とチューブの接続部位の2か所をそれぞれ撮像した。

3. 実験結果

循環開始、30分、60分での血栓の抽出結果を図1に示す。血栓は白色で示した部分である。テーパ無コネクタの流入部ではコネクタの壁に沿って血栓が形成された。流出部ではコネクタ先端を起点として血栓が形成されたが30分から60分にかけて形成面積の減少を確認した。また、流入部と流出部では流入部の方が血栓形成量が多いことが分かった。テーパ有コネクタの流入部では、コネクタ



(a) テーパ有コネクタ

(b) テーパ有コネクタ

クタ先端を起点とし、チューブの内壁に沿って血栓が形成され、その後コネクタ壁に沿って成長していく過程が観察された。流出部でもコネクタ先端を起点として形成され、その後チューブ内壁に沿って下流側に成長していた。

4. 考察

いずれの条件でも、コネクタとチューブ接続部位を起点に血栓が形成されていた。これは、接続部の段差による淀み点が影響していると考えられた。また、テーパ無コネクタでは流れが段差部に衝突するため、壁に沿って血栓が成長したと考えられる。一方、テーパ有コネクタではチューブ内壁に沿って血栓が成長した。これは、テーパによる流れの剥離が影響したものと考えられる。

5. 結言

本研究により、コネクタ形状・流入流出部に関わらずコネクタとチューブ接続部位の段差を起点として血栓が形成されることがわかった。また、形状と部位の違いが血栓の成長に影響を与えることが示唆された。

謝辞

本研究は、医薬品等規制調和・評価研究事業・革新的医療機器の開発を加速する性能試験法拡充のための研究のご支援を得て行った。

3Dプリンタ成形技術を用いて作製した遠心血液ポンプの性能評価

西田正浩*, 根岸匠**, 迫田大輔*, 小阪亮*, 丸山修*

百武徹**, 山本好弘***, 桑名克之***, 山根隆志****

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

横浜国立大学大学院 ** 泉工医科工業株式会社 ** 神戸大学大学院

1. 緒言

遠心血液ポンプの開発において、インペラやケーシングなどの内部形状の最適化は、重要な設計プロセスの一つである。このプロセスにおいて、3Dプリンタ成形技術を効果的に用いる¹⁾ことを目的として、形状を同一として、3Dプリンタにより作製した血液ポンプと金型射出成形により作製した血液ポンプ（製品）の諸特性を比較した。

2. 実験方法

メラ遠心ポンプ（泉工医科工業社製 HCF-MP23）のインペラを3Dプリンタにより成形し、表面粗さ計を用いて表面粗さを計測した。インペラを製品のケーシングとアセンブルし、3Dプリンタポンプモデルを作製した。まず、閉回路に接続して、ポンプの圧力流量特性を計測した。ここで、本ポンプはピボット軸受によりインペラを1点支持しているため、同時に、変位センサを用いてインペラの回転位置を計測した³⁾。回転数は1,000~5,000 rpm、流量は0~10 L/minとした。次に、ウシ保存血を用いて溶血試験を行った。圧力は100~300 mmHg、流量は4 L/min、試験時間は4時間とした。製品のインペラを用いて、同様の実験を行い、得られた結果をそれぞれ比較した。

3. 実験結果および考察

3Dプリンタにより成形したインペラ、および製品のインペラの表面粗さは、それぞれおよそ0.5 μm、0.02 μmであり、表面粗さには20倍以上の差があった。これを反映し、3Dプリンタポンプモデルの圧力流量特性は、製品の圧力流量特性を下回った。しかし、その差は5%程度であった（図1）。また、3Dプリンタポンプモデルの溶血量は、インペラが低回転である圧力100 mmHg、200 mmHgの条件では、製品の溶血量のそれぞれ1.4倍、3倍程度であった。ところが、インペラが高回転である圧力300 mmHgの条件では3Dプリンタモデルの溶血量は、製品の溶血量の18.8倍となった（図2）。その原因として、インペラの回転位置の変化が回転数の増加に伴い増加し、3Dプリンタにより成形したインペラの回転位置の変化が、製品の

インペラの回転位置の変化よりも大きいためであると考えられた。すなわち、3Dプリンタモデルにより成形したインペラ側のピボット軸受部分が高回転により変形し、ケーシング側のピボット軸受部分に接近したことが、溶血量の増加の原因であることがわかった。

4. 結言

3Dプリンタは、遠心血液ポンプの初期駆動や圧力流量特性を確認するための有力なツールであるが、溶血特性の確認のためには、表面粗さや変形による接近に注意しなければならないことがわかった。

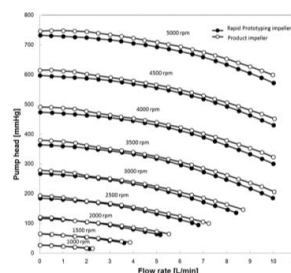


Fig. 1 Comparison of hydraulic performance of pumps.

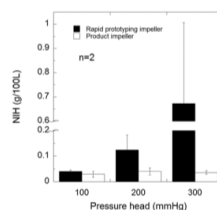


Fig. 2 Comparison of hemolysis level of pumps in different pressure heads.

謝辞

3Dプリンタにおける成形においては、茨城県工業技術センター山下宏氏にご協力いただいた。

文献

- 1) Golding, L., Smith, W., Horvath, D., Medvedev, A.: Rotodynamic pump development. In Rotary blood pumps, Matsuda, H. (Eds.), Springer-Verlag Tokyo, 2000, pp. 47-56.

第 39 回日本バイオロロジ学会年会 プログラム・抄録集

臨床応用を目的とした立体心筋組織構築に向けた 脱細胞化血管床の開発

戸部 友輔***, 坂口 勝久***, 佐野 和紀**, 関根 秀一**,

清水 達也**, 小林 英司***, 梅津 光生*, 岡野 光夫**

* 早稲田大学 先進理工学研究科 生命理工学専攻 [〒162-8480 東京都新宿区若松町 2-2]

**東京女子医科大学 先端生命医科学研究所

***慶應義塾大学 医学部 プリヂェストン臓器再生医学寄付講座

1. 緒言

本研究では, 細胞をシート状に回収した細胞シート
の積層化により生体外で立体心筋組織を構築し, 移植
治療する方法の確立を目指している. 生体内において
組織には微細な血管網が張り巡らされ, 酸素や栄養素
が持続的に供給されており, この供給が途絶えると組
織は壊死する. そのため生体外で組織を構築するには,
細胞シート内に灌流を誘導する血管床が重要となる.

そこで本研究では動脈と静脈のループがあり, 異所
移植が容易な腸管を用いた新規血管床の開発を目指し
た. 脱細胞化した腸管に, ヒト血管内皮細胞を播種す
ることで, ヒトに移植可能な血管床を作製することを
目的とし, 脱細胞化条件の検討, 及びヒト血管内皮細
胞播種による内皮化条件の検討を行った.

2. 実験方法

ラットの腸管($\phi=7$ mm, $L=20$ mm)を動脈と静脈の循
環が閉じるように単離後, 動脈及び腸管部より灌流脱
細胞化を行った. 流量 $25 \mu\text{L}/\text{min}$ で, まず 4°C 下におい
て超純水を 15 h, 続いて 25°C 下においてデオキシコ
ール酸 Na を 4 h, 最後に 37°C 下において DNase-I を 3 h
灌流することで脱細胞化した. 処理後の検体の HE 染
色, Hoechst 染色による核の形態観察, 及び DNA 量
の測定結果より脱細胞化組織の基準¹⁾を満たすかどうか
評価することで, 核酸分解酵素濃度の検討を行った.

また, 脱細胞化腸管にヒト血管内皮細胞を播種後,
灌流培養することで脱細胞化組織内血管を内皮化する
ことを目的とし, 細胞の播種方法の検討を行った. 動
脈一方からのみ, 動脈静脈双方からの播種の二つ
のアプローチで内皮化を試みた.

以上, 全ての動物実験は東京女子医科大学動物実験
倫理委員会の承認 (承認番号 15-26) を得て行った.

3. 実験結果

単離後 PBS 処理のみの Control, 及び脱細胞化後
の組織内 DNA 量の測定結果を表 1 に示す
(Condition 1: DNase 2×10^4 kU, Condition 2: DNase
 2×10^3 kU). 核の形態観察, DNA 量の測定結果よ
り基準を満たすことが確認できた.

また再播種後の血管網の観察結果より, 双方向
から播種後一週間培養を行うことで, 血管を内皮
化させることに成功した (図 1).

Table 1 The amount of DNA in the tissue

	Control	Condition1	Condition2
Average	122.5 ± 11.2	13.3 ± 12.1	19.1 ± 15.8

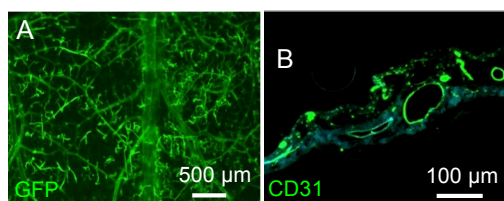


Fig. 1 Histological observation of the reseeded rat
intestine. A) Microscopic observation of the vascular
structures of reseeded intestine with GFP-HUVEC. B)
Cross section of reseeded intestine stained with CD31.

4. 考察

脱細胞化により核だけでなく他のタンパク質も
少なからずダメージを受け, 動静脈のコネクショ
ンが多く存在する粘膜層が脱離する. そのため,
動静脈のうち一方からの細胞播種では, 両血管
内に細胞を生着させることが難しいと考えられる.

5. 結言

生体由来の臨床応用可能な血管床の開発を目的とし,
脱細胞化, また脱細胞化後の組織内血管の内皮化実験
を行い, ラットの腸管においてこれに成功した. 今後,
臨床応用を目指して, スケールアップしたブタの腸管
($\phi=20$ mm, $L=50$ mm)を用い実験を行う.

文 献

- 1) P.W. Carpro, et al: An overview of tissue and
whole organ decellularization processes.
Biomaterials 32:3233-3243, 2011.

第39回日本バイオレオロジー学会年会 プログラム・抄録集

PFG-NMR 法による食品ゲル中での水の拡散挙動解析

川口翼*, 斉藤宏伸*, 青山剛志**, 里村ベロニカ***, 喜多理王***, 新屋敷直木***,
八木原晋***, 福崎稔****

*東海大学大学院総合理工学研究科 [〒259-1292 神奈川県平塚市北金目 4-1-1]

**東海大学大学院理学研究科

***東海大学理学部物理学科

****東海大学情報通信学部[〒108-0074 東京都港区高輪 2-3-23]

1. 緒言

食品ゲルの特徴付けやゲル化条件などに関する研究は産業分野でも必要とされていることもあり、数多くの報告がなされている。一般に食品ゲルを特徴づける手法としてクリープ法による粘弾性測定¹⁾や光散乱測定などが知られており、食品のテクスチャーを特徴付けている。一方で、NMR (Nuclear Magnetic Resonance) のような分子を直接観測するような手法での食品評価に関する報告は少ない²⁾。本研究では、PFG (Pulsed Field Gradient) NMR 法³⁾を用いることで食品中の水の拡散現象を直接観測することにより、食品物性評価の新たな知見を得ることを目的とする。

2. 実験方法

食品ゲルのモデルとして豆腐を測定対象に用いた。市販の豆乳(大豆タンパク成分約9%)に塩化マグネシウム二水和物をにがりとして加え、80±2°Cに水浴させることで豆腐を調製した。一般に、にがりの濃度や加熱時間によって豆腐のテクスチャーが変化することが知られている。そのため、本研究ではにがりの濃度を0.4wt%から0.6wt%、また、加熱時間を10分から60分の間で変化させ、それぞれ調製を行なった。測定手法には Stimulated Echo 法⁴⁾を用い、水の拡散係数を決定した。

3. 実験結果および考察

図1に示す豆腐および豆乳の¹H-NMR スペクトルから4ppm付近に大きな水由来のピークとその他の小さな大豆タンパク由来のピークが認められる。豆乳のゲル化に伴い、いずれのピークも減少することが認められた。一般に、NMRでは固体のような強固な結合を有する分子のピークは得られないため、ゲル構造に直接寄与した水及び大豆タンパクの成分が消失し、ピークが減少したものと考えられる。PFG-NMR法から得られた水の拡散係数を図2に示す。図から加熱時間、にがり濃度の増加にともなった拡散係数の減少が認められる。以上の結果から豆腐ゲルの構造変化に伴う水の拡散挙動の変化を捉えることができた。

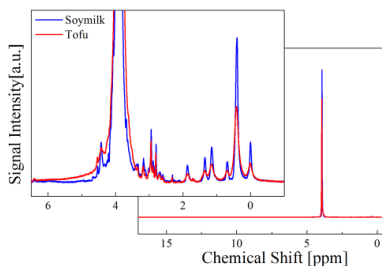
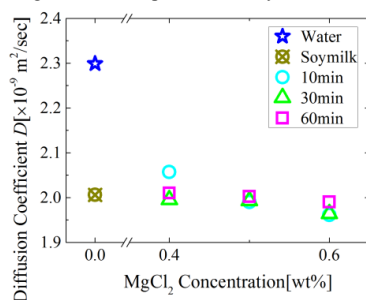
Fig.1 ¹H-NMR spectrum of soymilk and tofu.

Fig.2 Diffusion coefficient of water, soymilk and tofus.

4. 結言

水分子の拡散現象をプローブとすることで、加熱時間やにがり濃度の変化に伴う豆腐のテクスチャー変化を捉えることができた。

文 献

- 1) 森 友彦：食品ゲルの構造形成とテクスチャー解析に関する研究，日本食品化学工学会誌，**47**(12)，873-881，2000.
- 2) T. Li, X. Rui, W. Li, X. Chen, M. Jiang, and M. Dong.: Water Distribution in Tofu and Application of T2 Relaxation Measurements in Determination of Tofu's Water-Holding Capacity, *J. Agri. Food Chem.*, **62**, pp. 8594-8601, 2014.
- 3) E. O. Stejskal, and J. E. Tanner.: Spin Diffusion Measurement; Spin Echoes in the Presence of a Time-Dependent Field Gradient, *J. Chem. Phys.*, **42**(1), 288-292, 1965.
- 4) R. M. Cotts, M. J. R. Hoch, T. Sun, and J. T. Markert.: Pulsed field gradient stimulated echo methods for improved NMR diffusion measurements in heterogeneous systems, *J. Magn. Reson.*, **83**(2), pp. 252-266, 1989.

第39回日本バイオレオロジー学会年会 プログラム・抄録集

脳動脈瘤治療用多孔薄膜カバードステントの開発： フローダイバータとの瘤内血流抑制能の生体外回路での比較

森脇健司*, 中山泰秀*, 日高涼**, 田地川勉***

* 国立循環器病研究センター 医工学材料研究室 [〒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

*** 関西大学 システム理工学部 機械工学科

1. 緒言

脳動脈瘤を低侵襲で簡便かつ確実に塞栓するデバイスとして、多孔薄膜カバードステント (MCS) を開発している。多孔膜で親血管から動脈瘤内へ入る血流を抑制し瘤内での血栓形成を促進させ塞栓するため、デバイスの血流抑制能の評価を目的に、生体外模擬循環回路を用いた瘤内流れの可視化計測を行ってきた。これまで、ワイドネック動脈瘤や弯曲血管外縁の動脈瘤は瘤内流れが速く高い血流抑制能がデバイスに求められるが^{1,2)}、小径孔にすれば同じ開口率でも血流抑制能を向上できることを示し³⁾、孔設計に活かしてきた。

本研究では、開発した MCS と 2015 年度に本邦で認可された脳動脈瘤治療用機器であるフローダイバーター (FD) の血流抑制能を比較するため、模擬体留置時の瘤モデル内流れを調べた。

2. 実験方法

既報³⁾と同様の生体外回路 (図1) と手順で瘤モデル内の可視化を行い、相互相関法 PIV による 100 時刻平均の流速ベクトル場とせん断速度分布を求めた。ステンレス鋼薄板 (厚み: 0.03 mm) をレーザー加工し、FD, MCS のメッシュ形状模擬体 (図2) を作製した。また、血管支持用ステント (BS) の模擬体として、MCS 金属骨格のみの形状を模した。

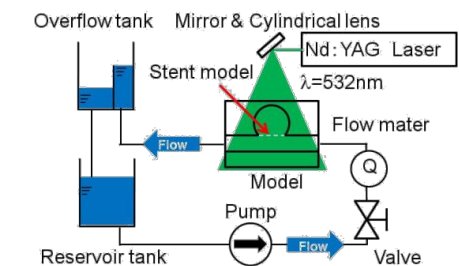


Fig. 1 Schematic diagram of flow simulator.

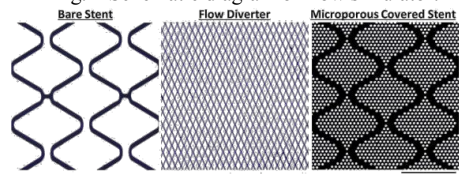


Fig. 2 Stent models.

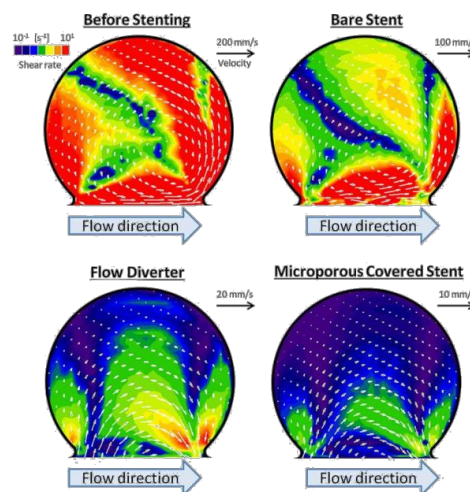


Fig. 3 Distributions of flow velocity and shear rate.

3. 結果と考察

代表例として、親血管流れの Re が約 600 のときの結果を示す (図3)。模擬体留置前は、親血管流れのずり応力の伝達で駆動される旋回流が生じ、血栓が生じ難い高せん断速度領域が瘤内全域で散見された。BS 留置で、旋回流がやや緩やかになったがネック部付近のせん断速度は高かった。FD, MCS 留置により、旋回流の向きが反転し瘤内流速とせん断速度は激減した。ずり応力の伝達がほとんど遮断され、瘤内の主な駆動力が摩擦損失で生じる微小な圧力差になったと考える。模擬体留置後の瘤内の平均せん断速度は、BS で約 36% に、FD で約 9% に、MCS で約 3% に低減した。MCS の瘤内流れ抑制能は FD に比べ約 3 倍高く、より確実に動脈瘤塞栓できると考えられ、ワイドネックな瘤や弯曲部外縁の瘤などの瘤内流れが速い動脈瘤に対し特に有用だと期待できる。

謝辞

本研究は、科研費 (若手研究 B, 15K19985) の援助を得て行った。ここに厚く御礼申し上げます。

文献

- 1) 森脇他：機講論, No. 13-69, pp. 425-426 (2014)
- 2) 森脇他：機講論, No. 14-67, pp. 73-74 (2015)
- 3) 田地川他：機論 B, 79(801), pp. 265-277 (2013).

第 39 回日本バイオロロジ学会年会 プログラム・抄録集

系統的変異体合成と動的散乱法による アミロイド集合体形成機構の解明

座安瑞希, 穂本光弘, 佐伯政俊

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

アミロイド病は、アミロイド線維の集合体であるアミロイドの沈着が発症の原因であると言われる、そのメカニズムの解明が必要とされている。アミロイド線維は、タンパク質の構造異常により形成されたβシートの積層からなる、タンパク質の種類によらない幅 10 nm の微細状の線維であるが、興味深いことに、アミロイド形成性タンパク質である barnase の M1 モジュール (BM24) の C 末端 3 残基 (Asp, Asn, Tyr) を欠損させたペプチド (BM21) では、幅 20 nm の線維を形成すると報告されている¹⁾。BM24 は、1-18 番残基が線維形成の核となるβシートを形成しているため、欠損させた 3 残基は線維形成の核ではないが、線維及びアミロイドの形態に影響していることが考えられる。そこで本研究では、3 残基が与える影響を調べるため各種変異体ペプチドを設計し、変異の種類と位置が与える結果から、線維及びアミロイド形成機構を解明することを目的とした。

2. 実験方法

これまでに、アミロイド線維の形成には 24 残基目の Tyr が関与していることが明らかにされている。そこで、Tyr 残基の性質の評価のために、疎水性が高い脂肪族側鎖の Leu に置換したペプチド (BM24YL)、Tyr とは異なる芳香環側鎖を有する Phe に置換したペプチド (BM24YF) を設計した。また、側鎖のかさ高さによる影響の評価のために、Asp と同じ性質だが側鎖が長い Glu に置換したペプチド (BM24DE)、同様に Asn を Gln に置換したペプチド (BM24NQ) を設計し、さらに、側鎖の電荷の影響を評価するために負電荷の Asp を正電荷の Arg に置換したペプチド (BM24DR) を設計した (図 1)。調製した各種ペプチドは、0.1 mM 経過観測溶液として保存した。これらをβシートに特異的に結合し強い蛍光を発する試薬チオフラビン T を用いた蛍光測定と、動的散乱 (DLS) 法を用いた粒

子径の測定の 2 種類を行い、溶液中でのアミロイド様凝集の有無とその大きさを評価した^{2), 3)}。

3. 実験結果

Tyr 残基の性質を評価するペプチド BM24YL, BM24YF では、蛍光強度は増大し、DLS 測定の結果は、粒子径の大きさが BM24YL < BM24YF < BM24 であった。次に、側鎖のかさ高さの影響を評価するペプチド BM24DE, BM24NQ では、蛍光強度は増大せず、アミロイド線維を形成しなかった。側鎖の電荷の影響を評価するペプチド BM24DR では蛍光強度は増大し、DLS 測定では、BM24 よりも大きい 500 nm 以上の大きな粒子径が観測された。

4. 考察

BM24YL, BM24YF および BM24DR は、蛍光強度の増大から、アミロイド線維を形成したと考えられる。また、それぞれの粒子径の大小関係から、アミロイドの形成には、Tyr や Phe が持つ芳香環側鎖の相互作用が寄与していること、電荷の違いによる影響が考えられる。また、BM24DE, BM24NQ は蛍光強度の増大が見られなかったことから、側鎖のかさ高さは線維形成を妨げる要因であると考えられる。

5. 結言

アミロイド線維の形成には、疎水性側鎖の相互作用が必要であり、側鎖のかさ高さは形成を妨げていることが示唆された。また、アミロイド形成には、芳香環側鎖の相互作用が寄与しており、電荷の違いが影響していると示唆された。

文 献

- 1) Saiki, M., et al.: Higher-order Molecular Packing in Amyloid-like Fibrils Constructed with Liner Arrangements of Hydrophobic and Hydrogen-bonding Side-chains. *J.Mol.Biol.*, **348**, 983-998, 2005.
- 2) Saiki, M., et al.: Structural stability of amyloid fibrils depends on the existence of the peripheral sequence near the core cross-β region. *FEBS Letters.*, **589**, 3541-3547 (2015).
- 3) Saiki, M., Akimoto, M.: Evaluation of the structural stability of amyloid fibrils by dynamic light scattering. *J Biorheol.*, **29**, 24-27(2015).

BM24 A Q V I N T F D G V A D Y L Q T Y H K L P D N Y
 BM21 A Q V I N T F D G V A D Y L Q T Y H K L P
 (BM24NQ) BM24YL A Q V I N T F D G V A D Y L Q T Y H K L P D N L
 BM24YF A Q V I N T F D G V A D Y L Q T Y H K L P D N E
 BM24DE A Q V I N T F D G V A D Y L Q T Y H K L P E N Y
 BM24NQ A Q V I N T F D G V A D Y L Q T Y H K L P D Q Y
 さらに、側鎖の電荷 BM24DR A Q V I N T F D G V A D Y L Q T Y H K L P R N Y

図1 変異体ペプチドのアミノ酸配列
 ※下線太字はBM24の配列から変異させたアミノ酸

血管壁損傷部位の血栓形成における血流, 凝固系, 線溶系の定量的寄与のシミュレーションによる解析

後藤信一*, **, 田村典子**, 綾部健吾**, 加藤恵理**, 河村洋太**, 後藤信哉**

* 慶應義塾大学医学部内科学教室 循環器内科 [〒160-0014 東京都新宿区信濃町 35]

** 東海大学 医学部循環器内科 [〒259-1193 神奈川県伊勢原市下糟屋 143]

1. 緒言

血小板細胞は、血流条件下において血管壁損傷部位に接着、同部位にて活性化して凝固系、炎症にも影響を与える。凝固カスケードが作用するとトロンビンが産生され、トロンビン受容体を介して血小板細胞を活性化し、血栓形成、止血に複雑な役割を演じる。¹しかし、血管壁損傷部位の止血血栓、動脈硬化巣破綻部位の病的血栓の形成における血流、血小板活性化速度、凝固系の活性化速度、線溶系の活性化速度の定量的寄与は十分に理解されていない。本研究ではコンピューターを用いて流体と化学反応の連成シミュレーションを行うことで、血栓形成に寄与する因子の定量的理解を目指した。

2. 実験方法

本研究では Guy 等のモデル²を拡張し損傷血管中を流れる血流の流体シミュレーションモデルを作成した。血小板の接着、凝集、活性化、凝固カスケード、線溶系カスケードを化学反応としてモデルに組み込んだ。血流速度、活性化血小板表面でのトロンビン生成速度、トロンビンによる血小板活性化速度、プラスミンの生成速度、フィブリンの生成速度をパラメーターとして相対値を変化させ、血栓形成に対するこれらの因子の定量的寄与を評価した。フィブリンの安定化をモデルに組み込んでいないため、フィブリン濃度が 4.2 μM 以上となった部位をフィブリン血栓と定義した。その面積を血栓として各パラメーターの寄与を定量的評価した。

3. 実験結果

フィブリン血栓の大きさは、他のパラメーターにかかわらず血流速度の影響を強く受け、血流速度が遅いほど血栓は大きくなり血流速度が速いほど小さくなった (図1)。

血流速度が遅い条件ではフィブリン溶解速度定数は血栓の大きさと負の相関を示したが、速度が速くなるとその影響はほぼ消失した (図2)。

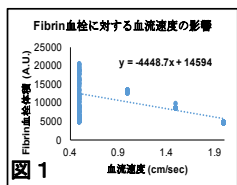


図1

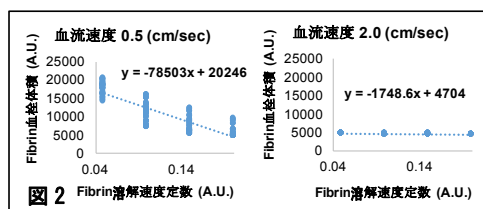


図2

4. 考察

血流速度が速い条件では、フィブリン血栓の大きさとプラスミンによるフィブリン溶解速度には関連がなかった。これは、血流速度が速い条件では、プラスミノゲン、プラスミンが拡散してしまうためと考えられる。このことは、静脈血栓において、動脈血栓よりも線溶系の関与が大きいことを示唆している。線溶系のコントロールからの静脈血栓の治療、予防戦略によりより効果的なアプローチができる可能性がある。

5. 結語

血管内皮損傷後に形成されるフィブリン血栓は血流速度が遅い条件では、線溶系の影響を受けるが、血流速度が遅くなるとその影響は小さくなることが示された。静脈系の血栓の治療においては、線溶系からのアプローチが有用である可能性がある。

謝辞

本研究は文部科学省リーディングプロジェクト「細胞生体機能シミュレーションとその応用」、ライフサイエンスグランドチャレンジ「次世代生命体統合シミュレーションソフトウェアの研究開発」²⁾ 科学研究費基盤研究 (B) : 血小板細胞の構成論的理解による心筋梗塞発症メカニズムの理解と制御法の開発、HPCI 戦略プログラム戦略分野 1. 「予測する生命科学医療および創薬基盤」、公益財団法人先進医療研究振興財団平成 25 年度研究助成を受けた

文献

- 1) Goto S and Goto S. The Way to Select a Suitable Patient Population for Thrombin Receptor Antagonist from the Large Clinical Trial Database of the TRA-2P-TIMI50 Trial. *Circulation*. 2015.
- 2) Fogelson AL and Guy RD. Platelet-wall interactions in continuum models of platelet thrombosis: formulation and numerical solution. *Math Med Biol*. 2004;21:293-334.

第2日目
6月19日(日)
第1会場

第 39 回日本バイオレオロジー学会年会 プログラム・抄録集

増粘多糖類分散液のレオロジーと生体挙動の相関

○池上聡*, 松山信悟*, 石原清香*, 中馬誠*, 船見孝博*, 堀一浩**, 小野高裕**

* 三栄源エフ・エフ・アイ株式会社 [〒561-8588 大阪府豊中市三和町 1-1-11]

** 新潟大学 医歯学総合研究科

1. 緒言

近年、ビール、ゼリー飲料、スープなどといった飲料や液状食品に関して、喉ごし、飲み応え、発泡感などといった食感(テクスチャー)が商品開発の大きな鍵になることが多くなっており、まとまりやすさやべたつきやすさは、嗜好性だけでなく嚥下のしやすさにも大きく影響するため、介護食などでは重要視されている。演者らはこれまでにテクスチャーを数値化する手法として、口蓋に貼り付ける薄いシート状の感圧センサや喉に貼り付ける板状の屈曲センサを用いて、喫食時の舌や喉の動きをリアルタイムに測定することができる生体計測法を開発してきた。本研究では、増粘多糖類分散液試料を用い、これらを嚥下した時の舌や喉の動態を解析し、官能評価における「まとまりやすさ」、「べたつきやすさ(付着感)」といった易嚥下性と相関するパラメータを抽出することを目的とした。また、これらのパラメータが飲料試料のどのようなレオロジー特性の影響を受けているかを考察した。

2. 実験方法

キサントガム(XG)もしくはローカストビーンガム(LBG)で増粘させた粘度の異なるろみ付き飲料(飲料試料)を対象とした。これらの試料の定常流粘性、動的粘弾性や伸長粘度をフルイドレオメーターおよび伸長粘度計で測定した。また、これらの飲料試料を8名の被験者(すべて男性、平均年齢29.6±6.8歳)に喫食させたときの舌圧、喉頭運動量、舌骨上筋群(SH)筋電位の経時変化を測定した。さらに、同一の被験者に飲料試料の「まとまりやすさ」と「べたつきやすさ」をVisual analog scale法で官能評価させた。これらの結果得られたパラメータ同士の相関を調べ、飲料試料の食感によりよく反映するパラメータを抽出した。

なお、本研究は「人間を対象とする医学研究の倫理的原則」に則り、被験者に研究の目的と危険性について十分説明した上で実施した。

3. 実験結果

XG飲料試料とLBG飲料試料を併せた全飲料試料について解析した場合、定常流粘度は、「べたつきやすさ」との間に高い相関がみられ、「まとまりやすさ」との相関はみられなかった。また、高周波数(100 rad/s)における G' もしくは低周波数(1 rad/s)における G'' と「べたつきやすさ」との間には高い相関がみられたが、「まとまりやすさ」との相関はみられなかった。喉頭運動測定から得られた「喉頭運動量」、「最大屈曲度」、「嚥下時間」は、「まとまりやすさ」、「べたつきやすさ」と負の相関を有している($p < 0.01$)ことが確認された。特に「喉頭運動量」、「最大屈曲度」と「まとまりやすさ」の相関係数が高かった($|r| > 0.9$)。筋電位測定から得られた「SH筋活動量」は、「べたつきやすさ」との相関は低かったが、「まとまりやすさ」との相関はみられた($|r| \approx 0.7$)。

4. 考察

「べたつきやすさ」は、定常流粘度や弾性率のようなレオロジー測定由来のパラメータと高い相関を示しており、このテクスチャーが嚥下時における流動や変形のしにくさに由来していることが推察された。一方、「まとまりやすさ」は、レオロジー測定由来のパラメータより、生体計測由来のパラメータとの相関係数が高く、このテクスチャーが、飲食品自体の物性だけでなく、嚥下に関わる生体組織の複雑な挙動や口腔、咽頭部などの環境の影響を受け易いことが推察された。

5. 結言

喉頭運動測定や筋電位測定によって得られたパラメータは、定常流粘度や動的粘弾性などのレオロジー測定では評価し難い食感である「まとまりやすさ」と非常に高い相関を示した。これらの生体計測パラメータは、新規な食感評価法の確立のために有用であることが確認され、レオロジー測定と組み合わせることにより、幅広い食感を評価できる可能性が示唆された。

超音波照射を併用した魚鱗由来高強度ゼラチン抽出法

山口紘平*, Alice Mutie**, 市川 寿*

*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]

**Kenya Marine and Fisheries Research Institute

1. 緒言

先に我々は、日本産海産魚(シログチ, エソ)及びケニア共和国ヴィクトリア湖産魚(ナイルパーチ, ナイルティラピア)の鱗を既報^{1,2)}に従って前処理後熱水抽出する事により、ゲル形成能に優れたゼラチンを短時間かつ低コストで調製できる事を報告すると共に、ゲル形成に關与する主要成分がゼラチンの α_1 -、 β -鎖であることを明らかにした^{1,2)}。一方、ナイルティラピア鱗由来ゼラチンのゲル形成能のみは、市販の家畜由来ゼラチンのそれに及ばず、抽出法のさらなる改良が必要だった。本研究では、ナイルティラピアの鱗由来ゼラチンのゲル形成能を改善する方法として、従来の熱水抽出法に超音波照射を併用した新たな抽出法を考案した。その結果、ナイルティラピア鱗から得られたゼラチンのゲル形成能は飛躍的に向上し、タンパク質組成の分析結果からは α_1 -、 β -鎖含有量が著しく増大した事が明らかとなった。

2. 実験方法

水洗した魚鱗を既報^{1,2)}に従って酸、アルカリ処理後乾燥させ、5倍量の蒸留水を加えて80°Cで1時間熱水抽出を行った。抽出中、20分毎に3回、総照射時間が90秒、180秒及び270秒となるよう、フェライト振動による出力100W、50kHzの超音波照射を施した。抽出後、得られたろ液のタンパク質濃度をBiuret法で求め、タンパク質収率を算出した。さらに20mg/ml濃度の溶液を5°C、24hr冷却して得たゲルの破断強度(BS値)を測定した。また、熱水抽出物のタンパク質組成をSDS-PAGE像のデンストメトリーにより解析した。

3. 実験結果

超音波照射を施した場合、Fig.1のように、得られるゼラチンの収率(▲)は全ての照射時間でほぼ一定で、変化は見られなかった。しかし、ゲルのBS値(△)は総照射時間180秒まで大幅に向上し、未照射時の3.58倍となった。この時のBS値 $1.72 \times 10^4 \text{ N/m}^2$ は、市販の家畜由来食用ゼラチンやすでに工業生産されているティラピア鱗あるいは皮由来ゼラチンのBS値を凌いでいた。また、このゼ

ラチン溶液のタンパク質組成は、Fig.2のように α_1 - (●)、 β - (◆)及び α_2 - (■)鎖含量がBS値の変化と同じ傾向で総照射時間に伴って増加し180秒で最大となっていた(α_1 -、 β -及び α_2 -鎖含量はそれぞれ1.84倍、2.08倍、1.79倍に増加)。

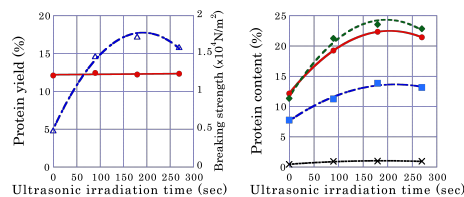


Fig.1 Effect of ultrasonic wave irradiation on the protein yield and gel strength of heat-extracted gelatin
Yield: ▲, BS: △

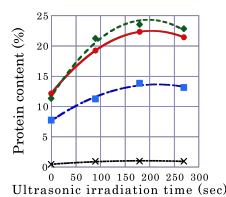


Fig.2 Effect of ultrasonic wave irradiation on the protein content of heat-extracted gelatin
Protein content: α_1 - (●), α_2 - (■), β - (◆), γ -OO chain

4. 考察

従来、ゼラチン溶液に超音波照射を施すと分子切断が生じ、低分子量化によりゲル形成能は低下する事が知られていたが³⁾、本研究の結果、超音波照射を熱水抽出時併用する事により抽出成分組成が変化し、高強度ゼラチンが得られる事が判った。この様な報告例はこれまでに無い。特に α_1 -、 β -鎖の含有割合が増した事から、これらゲル形成に高く關与する成分の純度が向上した結果と考えれば矛盾がない。超音波照射が熱水抽出時に3重鎖コラーゲン分子からのこれら成分の生成と溶出を促進させる事が示唆された。ティラピアの鱗は、コラーゲンの熱加水分解を妨げる、ないしは生成した α_1 -、 β -鎖の溶出を妨げる構造上の要素があるのかも知れない。同様の特性を持ち、高強度ゼラチンを得難い魚鱗での有効性が期待できる。

文 献

- 山口紘平, Alice Mutie, 市川寿: 熱帯産淡水魚由来ゼラチンのキャラクターゼーション, 第38回日本バイオレオロジー学会年会抄録, B&R (電子版), 29(2), 66, 2015.
- 元村まみ, 市川寿: ゲル強度に優れた魚由来ゼラチンの調製と特徴, 日本バイオレオロジー学会誌 (電子版), 27(3), 119-123, 2013.
- 大野隆司, 小林裕幸, 水澤伸也: 超音波照射によるゼラチンの分子量分布の変化, 日写誌, 48(5), 373-376, 1985.

第39回日本バイオレオロジー学会年会 プログラム・抄録集

化学修飾セルロース水溶液の粘弾性挙動

○四方俊幸, 佐川直也, 新井健悟

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

通常の力学的手法では測定が困難な程に低い粘弾性をもつ液状試料の粘弾性挙動を、散乱光強度の時間的なゆらぎを観測する動的散乱法(DLS)を応用することによって、広い周波数範囲で観測する手法の確立を我々は目指している。本研究では、本来水に不溶なセルロースに化学的処理を施して水溶性を付加した化学修飾セルロースの低濃度水溶液が有する低い粘弾性挙動を、DLSを用いた新規な測定手法で検討した結果を報告する。

2. 実験方法

天然セルロースのグルコース環にある三つの水酸基の内1.9個をメトキシ基(-OCH₃)、0.25個をヒドロキシプロポキシ基(-OCH₂CH(OH)CH₃)に置換して水溶性を与えた平均分子量75000の化学修飾セルロースChMC(1.9-0.25-75)の水溶液を濃度 $c=0.3\sim 3.0$ wt%の範囲で調製した。得られた水溶液に、粒径 $d=0.1\ \mu\text{m}$ のpoly(styrene) latex 粒子を分散させた懸濁液試料を調製した。

懸濁液試料のDLS測定は、波長 $\lambda=632.8\ \text{nm}$ のHe-Neレーザを入射光源に用い、散乱角 $\theta=30\sim 120^\circ$ の範囲で温度 25°C において行った。また、 25°C におけるChMC水溶液の定常粘度測定をレオメータ(MCR301, Anton Paar)を用いてずり速度 $\dot{\gamma}=10^0\sim 10^2\ \text{s}^{-1}$ の範囲で行った。

3. 実験結果と考察

時間 t の関数として観測される懸濁液試料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 $g_1(t)$ と次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、 β は測定装置に依存する定数である。また、 $g_1(t)$ は散乱角 θ と入射光の波長 λ で決まる散乱ベクトルの大きさ q と懸濁粒子の並進拡散係数 D を用いることで、(2)式の様に表わせる。

$$g_1(t) = \exp(-q^2Dt) \quad (2)$$

さらに、Stokes-Einsteinの関係式を用いると、粒子の拡散係数 D は Boltzmann 定数 k_B と絶対温度 T を介して、次式のように粒子直径 d と液体の粘性率 η に関係付けられる。

$$D = \frac{k_B T}{3\pi d \eta} \quad (3)$$

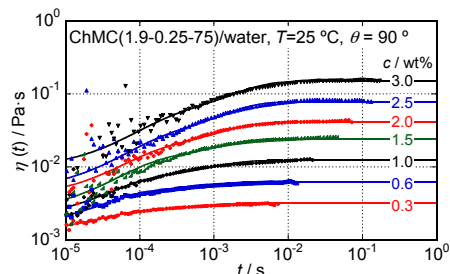


Fig.1 Dependencies of $\eta(t)$ on t for aqueous solution of ChMC(1.9-0.25-75) at several concentrations determined at 25°C and a scattering angle $\theta=90^\circ$.

本研究では粒径 d が既知なので、試料懸濁液の $g_2(t)$ が示す t 依存性から試料液体の粘性率が有する時間依存性 $\eta(t)$ を決定した。様々な散乱角 θ において測定された純水の $\eta(t)$ は、 t 依存性を示さず文献値に近い $0.9\ \text{mPa}\cdot\text{s}$ であった。

Fig. 1 は、様々な濃度の ChMC(1.9-0.25-75) 水溶液から得られた $\eta(t)$ の t 依存性を示す。高濃度の水溶液の $\eta(t)$ は t に強く依存して増加した後、一定値 ($\eta(\infty)$) に至った。また、 $\eta(\infty)$ の値は、定常粘度測定によって得られたゼロずり粘性率 η_0 と一致した。ChMC(1.9-0.25-75) の固有粘性率の逆数から見積もられる重なり合い濃度 c^* が約 $0.3\ \text{wt}\%$ なので、 $1\ \text{wt}\%$ 以上の水溶液では、からみ合いを生じると考えられる。一方、 $0.3\ \text{wt}\%$ 程度の希薄な水溶液が示す $\eta(t)$ の t 依存性は弱かった。

DLS 測定で得られた $\eta(t)$ の t 依存性が、時刻 $t=0$ でずり流動を開始した後に観察される粘性率の時間変化と同じ物理的意味をもつと仮定して、式(4)に示す Maxwell 模型の和で $\eta(t)$ を再現した結果が、Fig.1 中の実線である。

$$\eta(t) = \eta_\infty + \sum_{p=1}^2 G_p \tau_p \left[1 - \exp\left(-\frac{t}{\tau_p}\right) \right] \quad (4)$$

式(4)中の η_∞ は高周波数極限粘性率、 G_p と τ_p は緩和モード p の緩和強度と時間である。以上の結果から、ChMC(1.9-0.25-75) の低濃度水溶液が有する低い粘弾性挙動が、精度良く測定されたと結論付けられる。

謝辞

化学修飾セルロース試料は、信越化学工業(株)より提供された。

グリセロール添加によるアガロースゲルからの溶媒輸送挙動変化

金田 勇, 桜井由衣

酪農学園大 農食環境学群 食と健康学類 [〒069-8501 北海道江別市文京台緑町 582]

1. 緒言

ポリオール、糖あるいは糖アルコールのアガロースゲルの物性に対する影響は食品工業の観点から興味深い課題である。グリセリンの添加によりアガロースゲルのヤング率およびゲル融点エンタルピーが変化することが報告されているが、食品加工製造で問題となる離水現象に対する系統的な研究は少ない。我々は圧縮拘束されたアガロースゲルの圧縮荷重と体積変化の時間発展が同期すること、またゲルのネットワーク構造の変化によりその時定数が変化することを明らかにしてきた。本報告ではグリセリンの添加効果について報告する。

2. 実験方法

アガロースゲルの調製：アガロースはSigma-Aldrich社のAgarose- Type IV をそのまま使用した。アガロースを1.5wt%で蒸留水あるいはグリセリン水溶液（20-80wt%）に分散させ、室温で24時間膨潤させた後に95℃で完全に溶解させた。アガロース熱水溶液を直径20mmのポリカーボネート製の円筒に注入し、10℃の恒温槽に24時間浸漬してゲルを調製した。

圧縮試験：直径20mm高さ20mmの円筒形に成形したゲルを万能試験機（Instron mini55）を用いて圧縮歪0.05を印加し、圧縮拘束した状態で圧縮荷重変化を18時間観察した。この際にゲルの形状をデジタルカメラで同時に記録し、投影画像から円筒の体積を計算し、圧縮拘束後の体積を圧縮変形前の体積で除した値を体積変化率（ $V(t)$ ）とした。

走査型電子顕微鏡観察：サンプルを液体窒素で急速凍結した後に凍結乾燥し、ピンセットで乾燥サンプルを切断してSEM観察標本を作製した。

3. 実験結果および考察

圧縮拘束されたゲルの圧縮荷重および体積は指数関数的に減衰し、かつその減衰の時定数はカップルしていることを既に報告している¹⁾。これは圧縮変形されたゲルから一定の速度で溶媒が絞り出されているためであると考えられる。この溶媒輸送速度からゲル網目構造と溶媒間の摩擦の大きさを見積もることが出来る。我々はこの溶媒輸送挙動（ゲルの体積変化）を伸長型指数関数（式1）で解析した。式1の時定数 τ_v を指標にグリセリンの添加効果を評価

$$V(t) = V_0 \exp\left[-\left(\frac{t}{\tau_v}\right)^\beta\right] + V_L \quad (1)$$

した。Fig. 1には混合溶媒中のグリセリン濃度と τ_v の関係を示す。

τ_v はグリセリン濃度依存的に低下していることが見て取れる。この結果はグリセリン濃度が上昇することで溶媒の輸送速度が低下したことを示している。一方で圧縮荷重もグリセリン添加により上昇したことから、水/グリセリン混合溶媒で調製されたアガロースゲルの微細構造に変化が生じていることが推察された。アガロースの微細構造の変化を確認するためにSEM観察を行ったところ、グリセリン添加系ではゲルネットワーク構造におけるメッシュサイズの低下が観察された。

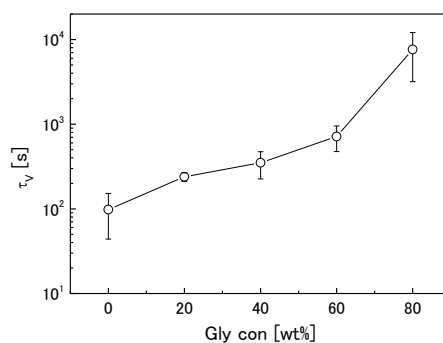


Fig.1 The effect of glycerol on the time constant of the solvent transportation from the mechanically constrained agarose gel

4. 結論

グリセリン添加によりアガロースゲルからの溶媒輸送速度が低下することが定量的に確認された。

謝 辞

本研究はJSPS 科研費 No. 25410231 の助成を受けたものである。

文 献

- 1) Kaneda I, and Iwasaki S: Solvent transportation behavior of mechanically constrained agarose gels. *Rheol. Acta*, **54**, 437-443, 2015.

第 39 回日本バイオロロジ学会年会 プログラム・抄録集

血管細胞・分子の力学・病態生理学的解析手法

片岡則之*, 橋本謙**

* 日本大学工学部機械工学科 [〒963-8642 福島県郡山市田村町徳定字中河原 1]

** 川崎医科大学 生理学 1

1. 緒言

アテローム性動脈硬化症の発生プロセスでは、細胞や分子レベルで多くの力学因子が関与している。いまだにその発生メカニズムには未解明の事柄多く、生体工学的観点からの研究が寄与する余地は大きい。アテローム性動脈硬化症の発生初期には、局所的な力学刺激あるいは炎症性サイトカイン等の化学的刺激によって内皮細胞が活性化し、その部位における単球の接着・浸潤が特徴的である。単球の内皮下へ浸潤には、細胞間接着タンパクや細胞骨格成分のダイナミックな挙動が関与しているが、それらを In vivo で観察することは不可能である。よって、いかに病態生理学的な培養観察系を構築するが、血管病変発生メカニズムの解明のカギである。

我々は、共焦点レーザー顕微鏡 (CLSM) を用いて単一細胞レベルでの単球の浸潤動態を 3 次元、連続的に観察するシステムを構築し、単球の内皮下浸潤挙動、ならびに、内皮細胞間の接着タンパクである PECAM-1 の動態観察を行った。

2. 実験方法

薄いコラーゲンゲル層 (厚さ 30-50μm) をカバーガラス上に作製し、ゲル上に、あらかじめ PECAM-1-GFP のベクターを導入したヒト臍帯静脈由来内皮細胞 (HUVEC) を培養した。HUVEC が十分に増殖後、IL-1β で刺激を加え、ヒト末梢血より分離した単球 (CD14+) を添加して単球の浸潤挙動と PECAM-1-GFP の動態を共焦点レーザー顕微鏡で観察した。

3. 実験結果及び考察

解析した 149 の単球浸潤 event のうち、98% は内皮細胞間を浸潤する Paracellular ルートであったが、2% (3 events) は、内皮細胞本体を貫通する Transcellular ルートであった。Paracellular 浸潤では、浸潤中の単球の周囲を内皮細胞 PECAM-1 がリング状に取り囲む様子が観察され、両細胞の PECAM-1 同士が結合していると考えられた。浸潤完了後は、単球が浸潤スポットを離れた後においても、浸潤後 10-20 分に渡って内皮細胞 PECAM-1

の浸潤スポットへの持続的集積が認められた (Fig. 1)。輝度増加は浸潤が起こっていない細胞間隙部位では見られなかったことから、単球の浸潤もしくは浸潤時に起こる PECAM-1 同士の結合が PECAM-1 集積のトリガーである可能性が考えられた。また、浸潤スポット近傍の細胞質部位では逆に輝度が減少しており、この部位から浸潤スポットへ向けて PECAM-1 が集積していると考えられた。

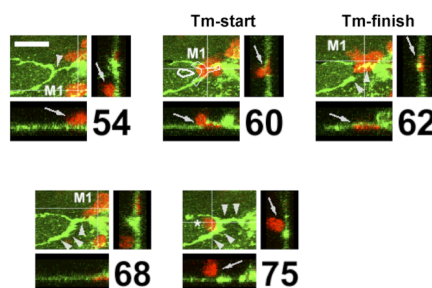


Fig.1 Typical example of PECAM-1 accumulation after monocyte transmigration. Green, PECAM-1-GFP in endothelial cells; Red, monocyte (M1).

ところで、コラーゲンゲル内に酸化 LDL を包埋し、その上に HUVEC を培養して単球の浸潤挙動を観察したところ、顕著に単球浸潤を促進した。これは、酸化 LDL が内皮細胞同士の接着に関わる 2 つの接着タンパク、PECAM-1 と VE-Cadherin の発現を一方は増加 (PECAM-1)、一方は減少 (VE-Cadherin) と絶妙にコントロールすることによって実現していることが分かった。VE-Cadherin は内皮細胞同士の接着に関与しているのみであるが、PECAM-1 は単球の同分子と homophilic 結合することにより、単球を引き込むように浸潤させることから、発現増強により単球の引き込みが促進されることが示唆された。

4. 結言

本研究では、単球浸潤を直接可視化な 3 次元培養システムを構築し、単球の内皮下浸潤に関わる分子挙動、とくに内皮細胞間接着タンパクの役割について明らかとなった。

血流と血球細胞の流体力学と細胞接着の連成シミュレーション

高木 周*, 清水和弥*, 伊井仁志**, 塩崎聖治***, 後藤信哉***, 杉山和靖**

* 東京大学 大学院工学系研究科 [〒113-8656 東京都文京区本郷 7-3-1]

大阪大学 大学院基礎工学研究科, *東海大学 医学部

1. 緒言

生体の基本要素は細胞である。生命の本質を理解するためには、細胞レベルのモデルから生体全体を理解する必要がある。また、疾患のメカニズム解明や薬剤による治療を考えた場合には、分子生物学的知見を如何に病態に結びつけるかが極めて重要となる。すなわち、タンパク質、細胞レベルから器官・臓器までを結びつけるマルチスケールモデルを構築することが重要となる。本講演では、タンパク質レベルの相互作用から細胞スケール、さらに連続体としての血流や筋肉までを結びつけるための手法について説明する。具体的には、循環器系疾患を再現するマルチスケールシミュレーションの例として、血栓症の初期過程である血小板粘着現象について解析する計算手法について紹介する。

2. 血小板粘着プロセスのモデリング

動脈硬化巣への血小板粘着を再現するため、血管壁上のフォンウィレブランド因子(VWF)分子と、血小板表面の GPIb α 分子の間のタンパク質分子間の相互作用をモンテカルロ法で計算しながら、有限差分法に基づくオイラー型流体構造連成計算手法と連成させる手法の開発を行った。この手法では、血流中を流れる多数の赤血球や血小板などの血球細胞については、流れ場と相互作用して変形しながら流れていく状態を流体構造連成問題と

して詳細に解く。血小板については、膜表面の GPIb α 分子と血管壁の VWF 分子の分子間相互作用力を分子動力学シミュレーションにより評価し、GPIb α 分子と VWF 分子の結合・乖離を遷移状態理論に基づいてモンテカルロ法により計算する。この結果を、血小板と壁面の間に働く力として、造連成の計算の中に取り込んで連成させて解くことにより、血小板の壁面吸着まで取り込んだマルチスケールシミュレーションが達成される。

3. 結果

計算手法の詳細は文献[1]を参照のこと。ここでは、この手法を用いて、血管の一部に動脈硬化巣を想定した凸部があるとし、その形状の違いにより血小板粘着現象にどのような差異が生じるかをシミュレートした結果を図に示しておく。

謝 辞

本研究は、文部科学省、HPCI 戦略プログラム分野 1 「予測する生命科学・医療および創薬基盤」及び、ポスト「京」の開発重点課題(2)「個別化・予防医療を支援する統合計算生命科学」の支援を受けている。

文 献

- 1) 高木周 (分担): 岩波講座計算科学 4 「計算と生命」, 第 5 章 「人体シミュレーション」, 中村春木 他編, 岩波文庫, 2012, pp. 169-210.

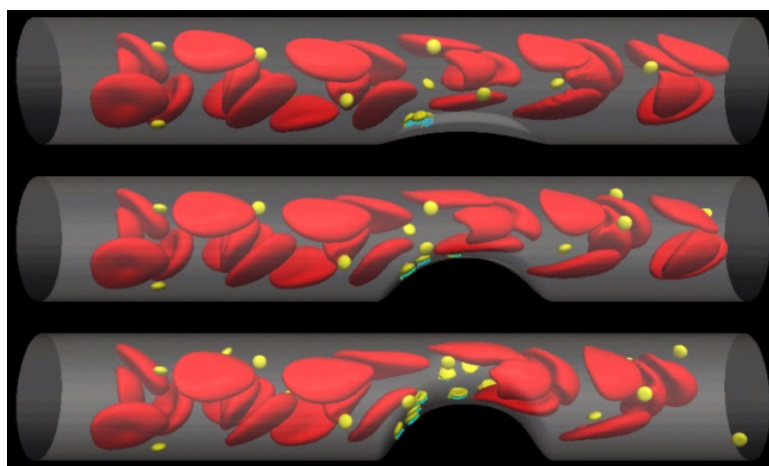


Fig. 1 血小板粘着現象に対する動脈硬化巣の形状の影響に関するシミュレーション

第 39 回日本バイオロロジ学会年会 プログラム・抄録集

細胞シミュレーションプラットフォーム(RICS)を用いた 血小板細胞活性化シミュレーション

須永泰弘*, 七澤洋平**, 野田茂穂*, 田村典子***, 岡秀樹***,
後藤信哉***, 横田秀夫****

* 理化学研究所 情報基盤センター計算工学応用開発ユニット
[〒351-0198 埼玉県和光市広沢 2-1]

** 伊藤忠テクノソリューションズ株式会社 科学システム事業部

*** 東海大学 医学部 内科学系 循環器内科学

**** 理化学研究所 光量子工学研究領域 画像情報処理研究チーム

1. 結言

血小板の特徴的生理機能である血管損傷部位への接着凝集には血液の流れ・血小板の接着・血小板の活性化のプロセスが相互に関連している。しかしながら、生体内で直接これらの現象を同時に観察することは困難である。血管損傷部位への接着凝集をシミュレートすることは臨床的に重要な知見を与える可能性があるため、基盤モデル開発を行っている。本発表では細胞シミュレーション統合プラットフォーム (RICS) を用いて構築した血小板細胞内外の移流反応拡散モデルについて報告する。

2. 実験方法

RICS (Real world Image-based Cell Simulator) は、細胞内の場や複数のシミュレーションを連成するための共通基盤である。固定格子 (ボクセル) の空間内に細胞をボクセルに区画し、区画したボクセルに、実測データより得られた細胞内外の物質質量・物質の移動量・生化学反応などの情報を取り込みシミュレーションする。RICS は実際の顕微鏡から取得した 3 次元断層画像を元にオルガネラ等の形状を取り込む方法があるが、今回は CAD を用いてポリゴンで血小板細胞を作成し配置した。さらにその条件での血小板周りの流れ場を計算し、RICS の計算条件として使用した。(図 1)

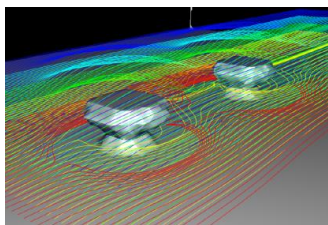


図 1 今回使用した血小板配置と細胞周りの流れ場の例。

移流ソルバとして、5 次の WENO 法を用いた。血小板細胞内の反応は既報の論文および KEGG のパスウェイマップを参考に構築し、SBML フォーマットで記述した。これらを使って RICS を用いて計算を行った。

3. 実験結果

血小板が vWF が塗布された面に付着し血小板が活性化し、濃染顆粒から ADP を細胞外に放出する過程のシミュレーションを行った。(図 2)

上流側の細胞を刺激し、ADP を細胞外に放出させた場合、下流の血小板表面に配置した P2Y12 受容体を刺激し血小板を活性化することを確認した。



図 2 活性化した上流 (左) の細胞から ADP (緑) が放出され下流 (右) の細胞を活性化した一例。活性化はマゼンタの強さで表示した。

4. 考察

活性化した血小板から放出される ADP が下流で接着している血小板に作用を及ぼすことが示唆された。

5. 結言

RICS を用いて複数の血小板の活性化に関する計算を行うことが可能であった。今後は臨床的に重要な薬物の細胞内反応をさらに精緻にし、それらの薬物の作用を検討する予定である。

謝 辞

血小板の細胞内反応の作成に協力して下さった塩崎聖治博士に感謝します。本発表の計算結果は理化学研究所の HOKUSAI システムを利用して得られた。

第39回日本バイオレオロジー学会年会 プログラム・抄録集

動脈硬化巣におけるびらん性傷害に關与する血行力学的因子の検討

鮫島直樹*, 山下篤*, 浅田祐士郎*

*宮崎大学 医学部 病理学講座 構造機能病態学 [〒889-1692 宮崎県宮崎市清武町木原 5200]

1. 緒言

急性心筋梗塞を代表とする急性冠動脈症候群は、冠動脈における動脈硬化巣（プラーク）の破綻とそれに伴う血栓の形成を主な契機として発症する。プラークの破綻には、脂質に富んだプラークの被膜の破綻（プラーク破裂）と、平滑筋や細胞外基質に富んだプラークの表層傷害（プラークびらん）が知られている。プラーク破裂の機序については、血行力学的因子に加え、炎症による被膜の脆弱化が重要視されている。一方、プラークびらんの発生では、血行力学的因子や細胞生物学的応答が原因として想定されているが、詳細は不明である。本研究では家兎動脈硬化モデルにおいて、プラークびらん部位とコンピューターシミュレーション上での血行力学的因子の関連性を検討し、加えて病理組織学的検討から、生物学的応答についても考察した。

2. 実験方法

5羽の家兎の大腿動脈をバルーン傷害し、肥厚内膜を形成した。同部位を不完全結紮により狭窄させ、乱流を発生させることでプラークびらんを誘発した。摘出・固定した動脈を100 μ m毎に輪切り組織標本とし、内皮細胞の有無を指標に、びらん（血管内皮細胞の一定領域以上の脱落、血栓の有無は問わない）の分布を組織学的に評価した。また、組織画像からコンピューター上で血管内腔を再構築した3次元モデルを作成し、血流シミュレーションにより、血行力学的因子（ずり応力、乱流エネルギー、血圧、圧勾配）を解析した。血流シミュレーションは非ニュートン流体の定常流で、壁の変形は考慮せず、Reynolds-averaged Navier-Stokes modelを用いた。両実験の結果を統合し、組織学的に評価したびらんの局在と血行力学的因子の相関性を統計学的に検討した。これらの動物実験は、文部科学省の“研究機関等における動物実験等の実施に関する基本指針”ならびに“宮崎大学動物実験規則”に則り、愛護的に行った（承認番号2010-511）。

3. 実験結果

バルーン傷害により、平滑筋と細胞外基質から成る内膜肥厚層が形成され、結紮に伴いびらん性内皮傷害を起こすことが確認された。プラークびらんは、狭窄部を中心に前後に不規則に広がっていた。狭窄部から前後1 mm, 2 mm, 5 mmの観察面において、血管周上のびらんの広がり、ずり応力、乱流エネルギー、圧勾配と正の相関が見られた。さらに、これらの観察面において、びらん発生部位と非発生部位で、ずり応力・乱流エネルギーを比較したところ、これらの値はびらん発生部位で有意に高値であった。しかし、びらんの形成における、これらの物理量には明らかな閾値の存在は見られなかった。また、結紮により狭窄を生じた部分以外にも、内膜肥厚による狭窄部位が存在していたが、同部位においては、内皮傷害は見られなかった。傷害部位の内皮細胞においては病理組織学的にはアポトーシスの関与が示唆された。

4. 考察

以上の結果より、プラークびらんの発生において、血行力学的因子が深く関与していることが示唆された。上記力学的因子とびらん性内皮傷害には正の相関性が見られたが、閾値は見られず、単純な力学的構造破壊ではなく、アポトーシスを介した生物学的応答の側面があるものと考えられた。

5. 結言

物理的要因の関与する生体现象においては、力学的因子と生物学的応答の両者を統合的に解析していくことが重要と考えられた。

謝 辞

本研究は文部科学省の科学研究費助成事業「挑戦的萌芽研究（課題番号25560205）」の支援を受け行われた。

第 39 回日本バイオレオロジー学会年会 プログラム・抄録集

血管内治療を要する下肢閉塞性動脈硬化症における 血清多価不飽和脂肪酸プロファイルの重要性

丸山徹*, 小田代敬太**, 有田武史**, 横山拓**, 深田光敬**,
野田裕剛**, 児玉浩幸**, 安田潮人**, 藤原昌彦***

* 九州大学 基幹教育院 [〒816-8580 福岡県春日市春日公園 6-1]

**九州大学大学院医学研究院 病態修復内科学

***岸和田徳洲会病院 循環器科

1. 緒言

下肢の閉塞性動脈硬化症は動脈硬化を基盤とした下肢の血流障害で、全身性の動脈硬化の指標でもあり、未治療例の生命予後は不良である。一方多価不飽和脂肪酸は血管拡張作用、脂質改善作用、抗血小板作用、赤血球変形能や血管内皮機能の改善作用による抗動脈硬化作用がある。今回血管内治療を要する閉塞性動脈硬化症の入院例を対象に血清多価不飽和脂肪酸を測定し、そのプロファイルと短期的予後との関係について検討した。

2. 方法

研究はヘルシンキ宣言(2008)に準拠して被験者の人権やプライバシーに配慮して行った。対象は九州大病院に血管内治療を目的に入院した閉塞性動脈硬化症の70例(平均年齢70±8才, 男性53名, 女性17名)で、高純度エイコサペンタエン酸(EPA)製剤を内服している例、入院時に研究に対する同意書が得られなかった例は対象から除外した。血清多価不飽和脂肪酸のプロファイルとして血清エイコサペンタエン酸/血清アラキドン酸比(EPA/AA)を、炎症マーカーとして高感度C反応タンパク(CRP)を、脂質プロファイルとしては動脈硬化指数でもある血清LDL/HDLを用いた。

3. 結果

対象者のうち高血圧を93%に、糖尿病を59%に、脂質異常症を81%に認めたが、いずれも薬物療法でコントロールされていた。また対象者の76%が喫煙者であった。血管内治療を施した対象者でその後再治療が必要であったのは19例であった。

血管内治療は腸骨・深部大腿・浅大腿・膝窩・下腿動脈に対して、血管形成術およびステント留置術を施行した。急性期合併症は認めず、血管外科的な緊急バイパス術に移行した例はなかった。

全例を対象とした血清EPA/AAとCRPの関係は負の相関があり($y = -0.545x + 0.599$, $r = -0.235$, $p = 0.05$)、血清LDL/HDLとCRPの関係には正の相関が示された($y = 0.191x - 0.048$, $r = 0.275$, $p = 0.02$)。

また血清EPA/AAとLDL/HDLの間には、明らかな相関を認めなかった。新規病変または再狭窄病変に対して血管内再治療を要した例では血清EPA/AAが有意に低かったが、他のリスク因子に有意差は認めなかった。

4. 考察

今回、血管内治療を要する重症度の高い下肢閉塞性動脈硬化症の入院例を対象に、血清多価不飽和脂肪酸プロファイルを従来の動脈硬化リスク因子と比較検討した。動脈硬化は近年、酸化ストレスや炎症性サイトカインの誘導による血管の軽微な慢性炎症を基盤に進展すると考えられている。

今回の結果で脂質プロファイル(動脈硬化指数)が炎症マーカー(CRP)と正の相関を示したことはこの動脈硬化炎症説に合致する。逆にEPA/AAがCRPと負の相関を示したことはEPAの抗炎症作用を示唆するといえる。さらにEPA/AAがLDL/HDLと相関を示さなかったことは、多価不飽和脂肪酸のプロファイルは従来の脂質プロファイルとは独立した動脈硬化のリスク因子である可能性を示唆する。繰り返し血管内治療を要する重症例でEPA/AAが低値であったことから、従来のリスク因子が十分コントロールされている集団ではEPA/AAが動脈硬化の残余リスク(residual risk)として重要であると考えられた。

5. 結言

血清EPA/AAは多価不飽和脂肪酸のプロファイルを示す有用性の高い臨床検査であり、閉塞性動脈硬化症の残余リスクとしても重要であり、今後は前向き介入研究の対象になり得ると考えられた。

COI: 本研究に関して開示すべきCOI(利益相反)は無し。

文 献

- 1) Fujihara, M., Fukata, M., Odashiro, K., Maruyama, T., Akashi, K. and Yokoi, Y.: Reduced plasma eicosapentaenoic acid-arachidonic acid ratio in peripheral artery disease. *Angiology*, **64**, 112-118, 2013.

第39回日本バイオロロジ学会年会 プログラム・抄録集

電気回路による頭頸部の動脈系三要素モデル解析 — 頸部後屈の影響 —

岡村法宜*

* 愛媛県立医療技術大学 臨床検査学科 [〒791-2101 愛媛県伊予郡砥部町高尾田 543]

1. 緒言

現在、動脈硬化の生理的指標は、中枢から四肢の圧脈波の伝播時間を測定している。動脈系を簡単な電気回路モデルで仮定した場合、対象の動脈血流を電流、血圧を電圧としたとき、測定部位から末梢までの動脈系の物性を電気回路の素子として表すことができる。頭頸部の動脈系では、カフを使用した血圧測定ができないことから、電気回路モデルによる動脈系の物性推定が、脳動脈硬化の有効な評価法となる可能性がある。今回、通常の仰臥位と、仰臥位で頸部を後屈させたときについて、総頸動脈を起始部とする動脈系の物性を三要素の電気回路モデルと仮定し、総頸動脈の粘性抵抗、コンプライアンスおよび総末梢抵抗を算出し、本法の有効性について検証した。

2. 実験方法

健常男女大学生 5 名について、通常の仰臥位時と頸部を後屈させた状態で、パルスドプラ法で総頸動脈血流を、空気伝導型脈波センサで頸動脈波を同時に測定した。圧脈波波形に、聴診法で測定した最高血圧と最低血圧を当てはめた波形を総頸動脈血圧波形とした。図1の回路に、血流波形 (F) を電流波形、血圧波形を電圧波形 (P) とした時の総頸動脈粘性抵抗 (Rc)、総頸動脈コンプライアンス (Cc)、総末梢抵抗 (Rp) とするとインピーダンス (Z) は、①式で表される。

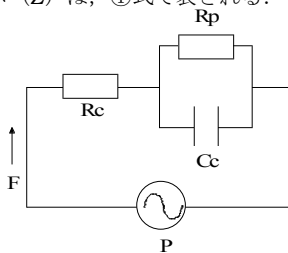


図1. 総頸動脈系の三要素電気回路モデル

$$Z = R_c + \frac{R_p}{1 + j\omega C_c R_p} \quad \text{①}$$

角速度 (ω) が十分大きい時と十分小さい時、①式はそれぞれ、②③式で表され、 R_c 、 R_p を近似的に求め

ることができる。また、電圧波形と電流波形の位相のずれを θ とすると C_c は④式で求めることができる。

$$\begin{aligned} \lim_{\omega \rightarrow \infty} Z &= R_c \quad \text{②} \\ \lim_{\omega \rightarrow 0} Z &= R_c + R_p \quad \text{③} \\ C_c &= \frac{\frac{1}{\tan \theta} \pm \sqrt{\frac{1}{\tan^2 \theta} - \frac{4R_c(R_c + R_p)}{R_p^2}}}{2\omega R_c} \quad \text{④} \end{aligned}$$

$\omega \rightarrow \infty$ の電流、電圧成分として各波形の上行脚を、 $\omega \rightarrow 0$ の電流、電圧成分として実効値を採用した。さらに、電流・電圧波形の位相のずれを FFT 法で求めた。これらの値を②～③式に代入して、 R_c 、 C_c 、 R_p を算出した。

3. 実験結果

後屈時に総頸動脈粘性抵抗、総末梢抵抗は有意に上昇、総頸動脈コンプライアンスは有意に低下した (図2, $p < 0.05$)。

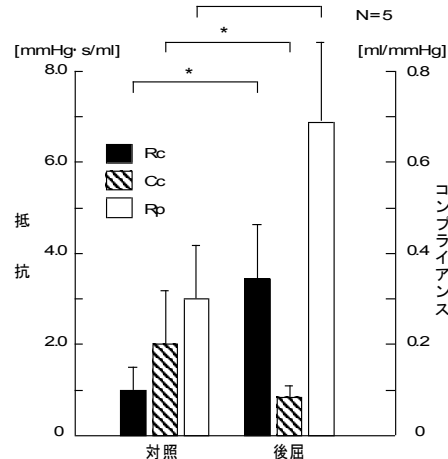


図2. 頸部後屈が総頸動脈系物性に及ぼす影響

*: $p < 0.05$

4. 考察

頸部後屈によって前頸部の皮膚～筋に圧迫された総頸動脈の粘性抵抗は上昇、コンプライアンスは低下し、頭頸部からの静脈還流低下によって総頸動脈系総末梢抵抗が上昇したと考えられる。

5. 結言

総頸動脈系の三要素モデル解析は脳動脈の加齢性変化評価に有用である可能性が示唆された。

第39回日本バイオロロジー学会年会 プログラム・抄録集

頸動脈プラークの破裂一症例に見られる 特徴的形狀に対する力学的検討

山田 宏*, Hamed Esmaili Monir*, 千住緒美**, 緒方利安**, 井上 亨**, 坂田則行**
*九州工業大学大学院生命体工学研究科生体機能応用工学専攻 [〒808-0196 北九州市若松区ひびきの 2-4]
**福岡大学医学部

1. 緒言

動脈硬化による頸動脈狭窄に対する外科的治療として内膜剥離術が行われている。本研究において、内膜剥離術に先立って行った超音波計測の画像と摘出して染色した組織の光学顕微鏡像を調べた結果、プラークが破裂して内出血状態にある症例があった¹⁾。

山田と坂田はこれまで未破裂のプラークを有する頸動脈の有限要素解析を行い、脂質コア内の圧力が血圧に比べて著しく小さい結果を得た²⁾。

本研究では上述の一症例を選んで頸動脈の有限要素モデルを作成し、プラークの特徴的形狀に及ぼす脂質コア内の圧力の影響を調べた。

2. 方法

症例の画像データから輪郭を抽出してFig. 1に示す頸動脈の形状モデルを作成した¹⁾。形状データは有限要素解析ソフトウェア Abaqus 6.14 (SIMULIA)で読み込んで、変形解析の初期形状とした。血管壁は非圧縮等方超弾性体とした。また、境界条件は管軸方向一定伸びとするため、近位側の変位を拘束し、遠位側に一定変位を与えた。



Fig. 1 Sectional view of the arterial model.

境界条件のうち血圧は血管内腔面と脂質コアの内壁面に与えた。血液で満たされた血管内腔と脂質コアからなる領域を対象とし、乱流モデルを適用して Abaqus 6.14 を用いて数値流体解析を実行した。その結果得られた圧力低下の分布と血圧 13 kPa 等を足し合わせて血圧の境界条件とした。

なお、本研究は福岡大学病院倫理審査委員会の承認を得て行った。また、患者には事前に説明を行って同意を得た。

3. 結果と考察

Fig. 2 にモデルの変形形状と血圧分布を示す。血管内腔のプラーク表面では血圧に分布が生じたが、脂質コア内では血流が静止し、内腔と同程度の一定圧だった。線維性被膜の形状が短軸面で超音波画像の形状に近かったのはそのためと言える。

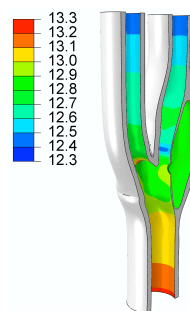


Fig. 2 An example of the arterial model deformed with wall surface pressure (unit: kPa).

4. 結言

破裂したプラークを有する頸動脈の有限要素解析を行った。プラーク内腔面の短軸面での特徴的形狀は脂質コア内の圧力によるものと言える。

謝 辞

本研究は JSPS 科研費 26420018 の助成を受けた。

文 献

- 1) Esmaili Monir, H., Hamada, O., Ogata, T., Inoue, T., Sakata, N. and Yamada, H.: Finite element modeling of a ruptured plaque in human carotid artery. 日本機械学会第28回バイオエンジニアリング講演会論文集, No. 15-69, 3 pages, 2016.
- 2) Yamada, H. and Sakata, N.: Low pressure condition of a lipid core in an eccentrically developed carotid atheromatous plaque: a static finite element analysis. J. Biorheol. 27, 9-17, 2013.

当施設における多発脳動脈瘤の血流解析と破裂部位予測

山田健嗣*, 唐鎌淳**, 三木一徳**, 唐鎌淳**, 吉野義一**, 根本繁**

* 秀和総合病院 脳神経外科科 [〒344-0031 埼玉県春日部市谷原新田 1200]

**東京医科歯科大学 血管内治療科

1. 緒言

当チームは東京医科歯科大学血管内治療科のスタッフ及び大学院生を中心に、プロジェクトセメスター（長期自由研究期間）の医学部学生や研修医などから構成されている。2011年にCFD解析環境を整え、脳動脈瘤症例の血流解析を行なっている。臨床家が主体のチームであり、臨床家としての勤にCFD解析による裏付けをつける事をモットーに取り組んでいる。

2. 方法

解析はソフトウェアクレイドル社の SCRYU/Tetra を使用、解析モデルは事務局で用意した STL ファイルを一部修正し使用した。

・計算格子

血管分岐部や動脈瘤ネック部・ブレブなど血流の変化が予想される箇所は細かい格子を設定し、全体で 500000~1000000 程度のメッシュサイズになるよう調整している。

・境界条件

血液はニュートン流体、血管壁は剛体壁として設定している。入口は延長を行なった上で plug flow と設定し、入口近傍の WSS (Wall shear stress) が 2Pa となるよう、血管径に応じて流量指定している。出口境界は全て圧力指定で 0Pa とし、出口延長は行っていない。

・計算

solver は SCRYU/Tetra を使い、乱流モデルでの定常解析を行なっている。parameter は WSS, pressure, velocity を計算。Post processing は SCRYU Post を使用、WSS は絶対値のみならず、gradient が分かり易いよう表示範囲を調整している。特に bleb 近傍では細かく表示させる。

3. 結果

解析は全て終了していないが、課題 1 においては前大脳動脈瘤に、課題 2 においては右後交通動脈瘤により低い WSS が認められた。

いずれも bleb を有しており、その近傍で特に値は低かった。

4. 考察

臨床的には動脈瘤の形状 (bleb の有無、不整であるか)、発生場所、大きさによって破裂部位を予測する。当施設においてそのような形態学的特徴を持つ過去の破裂瘤について CFD 解析を行なったところ、他に比べ低い WSS を示す傾向があり、また破裂部位となった bleb では WSS gradient が大きい傾向にある。さらに高い velocity や pressure も破裂瘤に認められる傾向にある。

形状・場所など経験的に破裂し易いとされる動脈瘤に、上記の血行力学的所見が認められるかを加味し、総合的に破裂瘤を判断する。

また動脈瘤の発生に関しては親血管の形状が重要と考えており、仮想的な瘤頸部断面の pressure や近傍の流速なども計算し参考にしている。

5. 結言

発表では当施設における症例の data を踏まえ、課題の解析結果を解釈し、破裂動脈瘤を示す。

第 39 回日本バイオロロジ学会年会 プログラム・抄録集

計算流体力学による破裂脳動脈瘤に関する検討： DISTURBED FLOW の観点から

下権谷 祐児*, 福田 俊一**

* 東北大学 学際科学フロンティア研究所 [〒980-8578 仙台市青葉区荒巻字青葉 6-3]

** 国立病院機構京都医療センター 脳神経外科

1. 緒言

脳動脈瘤破裂は、致死的な疾患であるクモ膜下出血の主原因である。その一方で、脳動脈瘤の平均年間破裂率は 1%にも満たない¹⁾。したがって、破裂する可能性の高い瘤を選択的に治療することが望ましいが、破裂の危険因子に関する情報は未だ不十分である。

脳動脈瘤破裂の危険因子の候補として我々が注目しているのは、心臓の拍動と血管形状の複雑さに起因する、局所血流刺激 (特に wall shear stress; WSS) の時間的・空間的な「乱れ」である²⁾。本研究ではこうした disturbed flow の観点から、AVED CFD 2016 の 2 つの課題において破裂瘤の識別を試みる。

2. 方法

血管形状

提供された STL ファイルを使用した。3-matic (Materialise, Leuven, Belgium) を用いて形状の編集を適宜行った。また、血流計算の際に流れを十分に発達させる目的で、流入部および流出部に直円管状の助走区間を設けた。

計算格子

格子生成ソフトウェア MEGG3D³⁾を用いて、四面体格子とプリズム格子を混合したハイブリッド格子を生成した。血管壁近傍の境界層においては、流れの急峻な速度変化を捉えるためにプリズム型の層状格子を 5 層配置し、それ以外の領域では四面体格子を配置した。

計算

血液は密度 1,050 kg/m³, 粘性係数 0.0035 Pa·s の Newton 流体, 血管壁は剛体と仮定した。非圧縮 Navier-Stokes 方程式に従う拍動流を, CFD ソフトウェア ANSYS-CFX 16.2 (ANSYS, PA, USA) により計算した。

境界条件

健康成人の総頸動脈, 外頸動脈, 内頸動脈, 椎骨動脈における peak systolic velocity および end-diastolic velocity のリファレンスデータが Scheel らによって報告されている⁴⁾。その中から

対象課題の部位に応じた流速データを選択し, その値に合致するようにヒトの典型的な拍動波形をスケールリングすることで, 流入境界における拍動条件を設定した。また血管分岐部における流量分配を各血管径の 3 乗に比例する形で推定し⁵⁾, その値に基づいて流出境界条件を設定した。ただし, 複数本ある流出血管のうち的一本において圧力固定の境界条件を与えることで, 計算領域内の流体の質量保存が自然に満たされるようにした。

ポストプロセッシング

拍動流計算により得られた速度場データから, TAWSS (time-averaged WSS), TAWSSG (time-averaged WSS gradient), OSI (oscillatory shear index), GON (gradient oscillatory number), transWSS (transverse WSS)⁶⁾, および NtransWSS (normalized transWSS)²⁾を算出する。

3. 結果および考察

結果の詳細および破裂瘤の識別に関しては, 当日の AVEC CFD 2016 で報告する。WSS の時間的・空間的な「乱れ」に注目して考察する予定である。

文 献

- 1) UCAS Japan Investigators: The natural course of unruptured cerebral aneurysms in a Japanese cohort. *New Engl. J. Med.*, **366**, 2474-2482, 2012.
- 2) Fukuda, S., et al.: Hemodynamic localizations in anterior communicating artery aneurysms in comparison with middle cerebral artery aneurysms with computational fluid dynamics analysis. *Stroke*, **47** (Suppl 1), AWP88, 2016.
- 3) Ito, Y., et al.: Multiple marching direction approach to generate high quality hybrid meshes. *AIAA J.*, **45**, 162-167, 2007.
- 4) Scheel, P., et al.: Flow velocity and flow volume measurements in the extracranial carotid and vertebral arteries in healthy adults: reference data and the effects of age. *Ultrasound Med. Biol.*, **26**, 1261-1266, 2000.
- 5) Murray, CD.: The physiological principle of minimum work: I. the vascular system and the cost of blood volume. *PNAS*, **12**, 207-214, 1926.
- 6) Peiffer, V., et al.: Computation in the rabbit aorta of a new metric - the transverse wall shear stress - to quantify the multidirectional character of disturbed blood flow. *J. Biomech.*, **46**, 2651-2658, 2013.

第39回日本バイオレオロジー学会年会 プログラム・抄録集

AVEC CFD 2016

安西眸*, Simon Tupin**, 渡邊 和浩***, Sherif Rashad****, 太田信**

* 東北大学 学際科学フロンティア研究所 [〒980-8578 宮城県仙台市青葉区荒巻字 6-3]

**東北大学 流体科学研究所

***東北大学 医工学研究科

****東北大学 医学研究科

1. 緒言

東北大学に所属する研究者で解析を行った。チームの参加者として4名のエンジニア及び1名の医師が含まれる。

2. 方法

- ・セグメンテーション

AVEC-CFD 事務局によりセグメンテーションされた動脈瘤 STL ファイルを使用した。

- ・計算格子

ICEM-CFD (Ansys)を使用し、境界層メッシュおよび四面体メッシュを作成した。4つの STL について、総メッシュ数はそれぞれのケースについて、79万~543万要素となった。

- ・境界条件

密度 1.05×10^3 [kg/m³], 粘性 3.50×10^{-3} [Pa s]のニュートン流体とし、壁面には滑り無し条件を与えた。入口端ではレイノルズ数が300となる速度境界条件を与えた。ただし脳底動脈瘤のケースでは、流入が合流した直後の脳底動脈部におけるレイノルズ数が300となるよう、二つの入口端の断面積比に応じて流量を分配した。出口端は流出境界とし、出口端の血管断面積比に基づいて流量を分配した。

- ・計算

Fluent (Ansys)を用いて定常流の解析を行った。

- ・ポストプロセッシング

破裂瘤の同定のため、動脈瘤サイズの計測に加え、壁せん断応力(WSS_ave)、流速(Velocity_ave)、渦度(Vorticity_ave)および瘤への流入流量(Inflow coefficient)を計算した。各パラメータは動脈瘤部で得られる値を親血管部で得られる値で除し正規化した。また瘤への流入流量は、瘤の直上流部にお

ける流量で除した値とした。可視化には EnSight 及び ParaView を用いて、動脈瘤壁面の壁せん断応力および内部流体の流線を観察した。

3. 結果

Aspect ratio 及び正規化された各血行力学パラメータを Table 1 に示す。

4. 考察

- ・Geometry

Aspect Ratio が1.6以上の動脈瘤は、課題2のL-MCAとR-ACAのみである。しかし同時に、破裂による瘤の縮小や歪な形への変形の可能性が考えられる。課題2ではR-Pcomの動脈瘤で特に細長比が高く、歪な形状と考えられる。

- ・Flow Pattern

課題1は共にエンドウォール型動脈瘤だが、BAのケースでは瘤内で流れ方向が二分する複雑な流れ場を形成している。課題2ではR-Pcomの瘤上部で2次渦が観察された。

- ・Hemodynamic Parameters

課題1ではInflow coefficientに最も顕著な差が見られ、BAで0.5以下となった。課題2では高AR、低WSSを示す二つの動脈瘤でもInflow coefficientには顕著な差が見られ、R-ACAで0.5以下であった。

5. 結言

以上より、課題1では脳底動脈部(BA)、課題2では右大脳動脈起始部(R-ACA)の動脈瘤が破裂したものと判断した。

Table 1 Geometrical and hemodynamic parameters

		Aspect Ratio	WSS_ave	Velocity_ave	Vorticity_ave	Inflow coefficient
課題1	前大脳動脈(ACA)	1.35	0.648	0.501	0.574	0.691
	脳底動脈(BA)	1.18	0.488	0.554	0.776	0.394
課題2	左中大脳動脈(L-MCA)	3.23	0.193	0.206	0.309	0.531
	右後交通動脈(R-Pcom)	0.94	1.622	0.845	2.627	0.068
	右大脳動脈起始部(R-ACA)	1.67	0.395	0.387	1.012	0.095

第39回日本バイオロロジ学会年会 プログラム・抄録集

脳動脈瘤内の流動不安定性と破裂の相関：流入低調波の影響

EXPLORING ASSOCIATION BETWEEN FLOW INSTABILITY AND RUPTURE IN MULTIPLE INTRACRANIAL ANEURYSMS: LOW HARMONIC INFLOW EFFECTS

Lijian Xu*, Ryuhei Yamaguchi*, Gaku Tanaka*, Atsushi Saito** and Hao Liu*

*Graduate School of Engineering, Chiba University, 1-33, Yayoi-cho, Inage-ku, Chiba-shi, Chiba, Japan

** Department of Neurosurgery, Aomori Prefectural Central Hospital, 2-1-1 Higashitsukurimichi, Aomori, Japan

1. Introduction

Multiple intracranial aneurysms are observed in 15% to 35% of patients with aneurysms who present with SAH [1]. For SAH patients with multiple aneurysms, it is very crucial for doctors to determine the cause of SAH [2].

2. Methods

A patient was confirmed to have two aneurysms with one located in the anterior communicating artery (ACA) and the other in the basilar artery (BA). Patient-specific geometries of the cerebral aneurysm and vessels were extracted using a gradient-based level set segmentation algorithm. The reconstructed surface model was then smoothed by a Taubin filter. We included the vessel's geometric features as much as possible but added some artificially extended vessels at inlet and outlet with a length of eight diameters so as to damp out the numerical reflective waves at boundaries.

• Mesh

Unstructured grids composed of tetrahedral and prism elements were generated by ANSYS ICEM 15.0 with a minimum element size of 0.035 mm and maximum element size of 0.14 mm. A total number of 0.81 ~ 1.28 million elements were used in different aneurysm models. Three prism layers were employed to resolve the near-wall regions.

• Boundary conditions

At inlet a prescribed fully developed Womersley velocity profile was imposed on the basis of a flow rate waveform [3], which has a cycle-averaged velocity of 0.5 m/s and a period of 0.75s.

• Computational fluid dynamic modeling

Blood is modeled as an incompressible and Newtonian fluid. The governing equations for the fluid are unsteady and incompressible three-dimensional Navier-Stokes equations. Transient flow simulations were performed using ANSYS CFX 15.0, which utilizes a finite volume approach to discretize in space,

and a high-resolution scheme for the stabilization of the convective term.

3. Results

Both the ACA and BA models show a stable flow pattern with a single vortex in the aneurysm. The BA aneurysm experiences more significant temporal WSS fluctuations than the ACA aneurysm at the feature points under the same boundary conditions. However, there also exists a combination of high OSI and low WSS at the blebs of the ACA aneurysm and neck of the BA aneurysm, which is more significant in the ACA aneurysm. The ACA aneurysm is more likely to rupture than the BA aneurysm based on the low-WSS theory.

4. Conclusion

The present study investigated the flow instabilities and hemodynamics in multiple intracranial aneurysms. The ACA aneurysm is more likely to rupture than the BA aneurysm considering that it exhibits an obvious characteristic of high OSI and low WSS at the bleb.

Acknowledgements

This work has been supported by Research and Development of the Next Generation Integrated Simulation of Living Matter, JST, Japan.

References

- 1) Lu, H. T., Tan, H. Q., Gu, B. X., Wu, W. and Li, M. H.: Risk factors for multiple intracranial aneurysms rupture: a retrospective study. *Clinical neurology and neurosurgery*, 115(6):690–694, 2013
- 2) Jeon, H. J., Lee, J. W., Kim, S. Y., Park, K. Y. and Huh, S. K.: Morphological parameters related to ruptured aneurysm in the patient with multiple cerebral aneurysms (clinical investigation). *Neurological research*, 36(12):1056–1062, 2014
- 3) Baek, H., Jayaraman, M. V., Richardson, P. D. and Karniadakis, G. E.: Flow instability and wall shear stress variation in intracranial aneurysms. *Journal of the Royal Society Interface*, 7(47), 967–988, 2010

数値流体力学を用いた血行力学的パラメータおよび形態学的パラメータによる脳動脈瘤破裂状態の診断

辻正範*, 石田藤鷹*, 岸本智之*, 古川和博**, 三浦洋一***, 佐野貴則***, 芝真人**, 深澤恵児***, 田中克浩*, 種村浩*, 梅田靖之***, 安田竜太**, 霜坂辰一*, 鈴木秀謙**

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

** 三重大学大学院医学系研究科脳神経外科, *** 三重脳神経外科流体科学チーム

1. 緒言

三重脳神経外科流体科学チームは 2007 年から脳動脈瘤の数値流体力学 (CFD) をはじめ, 解析結果を臨床現場で応用している

2. 方法

DICOM から患者固有形状モデルを作成し, 格子は ANSYS ICFEM CFD16.1 で最小サイズ 0.1mm の四面体と 6 層の五面体を使用した. 血液は密度 1056kg/m³, 粘稠率 0.0035Pa・s の非圧縮性ニュートン流体で設定した. 血流は層流でナビエ-ストークス方程式と連続の式に従うとし, 離散化は有限体積法を用いた. 入口には健康成人内頸動脈の volumetric flow rate の波形で constant shear theory に基づく血流量を設定した. 出口は自由端とし, ANSYS CFX 16.1 で time step 0.0001s の非定常解析を行った. 破裂状態に関する報告の中で, 統計学的有意差を認めたパラメータを評価した^{1),2),3),4)}.

形態学的パラメータは aspect ratio (AR), projection ratio (PR), size ratio (SR), volume-to-ostium area ratio (VOR) を評価した. 一方, 血行力学的パラメータは WSS, normalized WSS (NWSS), oscillatory shear index (OSI), aneurysm formation indicator (AFI), WSS gradient (WSSG), low shear area ratio (LSAR) を計算し, ドームで定量した. これまでの研究では, 形態学的パラメータおよび OSI, LSAR が大きく, WSS, NWSS, AFI, WSSG が小さいと破裂脳動脈瘤である可能性が高い. そこで, これらのパラメータ 10 個で, スコアリング(破裂疑い 1 点, 未破裂疑い 0 点)を行い, 合計点の高いものを破裂脳動脈瘤と予測した.

3. 結果

Table1. に結果を示す. 前大脳動脈瘤 (ACA) と中大脳動脈瘤 (MCA), 脳底動脈瘤 (BA), 後交通動脈瘤 (PCOM) でパラメータを定量評価後, 合計点を比較した.

Table1. 形態学的および血行力学的パラメータ

Parameters	課題 1		課題 2	
	ACA	BA	MCA	PCOM
AR	1.16 (1)	0.95 (0)	1.33 (0)	1.39 (1)
PR	1.19 (1)	0.96 (0)	1.33 (0)	1.39 (1)
SR	2.54 (1)	1.33 (0)	3.74 (1)	1.29 (0)
VOR, mm	4.17 (1)	2.46 (0)	14.86 (1)	1.79 (0)
WSS, Pa	0.76 (1)	1.66 (0)	1.51 (1)	4.18 (0)
NWSS	0.17 (1)	0.32 (0)	0.17 (1)	0.37 (0)
OSI	0.009 (0)	0.017(1)	0.019(1)	0.005 (0)
AFI	0.92 (1)	0.93 (0)	0.93 (1)	0.97 (0)
WSSG, Pa/mm	1.60 (1)	2.80 (0)	1.56 (1)	8.55 (0)
LSAR	0.40 (1)	0.12 (0)	0.38 (1)	0.23 (0)
Total Score	9	1	8	2

4. 考察

脳動脈瘤の破裂状態を CFD で診断するためには, 標準化された画像データや解析方法, 部位や発育形式ごとの検討が望ましいが, 多数例での報告はない. このため今回の課題では, これまでの研究報告に基づいた破裂状態が推測可能とされる複数のパラメータによる総合評価を行った.

5. 結言

課題 1 は前大脳動脈瘤, 課題 2 は中大脳動脈瘤が破裂したと判断した.

文 献

- 1) Maryam R, Janel S.: Size ratio correlates with intracranial aneurysm rupture status: A prospective study. *Stroke*, 41, 916-920, 2010.
- 2) Yasuda R, Strother C.M.: Aneurysm volume-to-ostium area ratio: A parameter useful for discriminating the rupture status of intracranial aneurysms. *Neurosurgery*, 68, 310-318, 2011.
- 3) Jianping S, Sabareesh K.N.: Hemodynamic-morphologic discriminants for intracranial aneurysm rupture. *Stroke*, 22, 144-152, 2011.
- 4) Miura Y, Ishida F.: Low wall shear stresses is independently associated with the rupture status of middle cerebral artery aneurysms. *Stroke*, 44, 519-521, 2013.

限られた時間での AVEC への取り組み：臨床現場を想定して

河野 健一

昭和大学藤が丘病院 脳神経外科

[〒227-8501 神奈川県横浜市青葉区藤が丘 1-30]

1. 緒言

私は脳神経外科医師として、主に脳血管内治療を行いながら、脳動脈瘤などの CFD を行っています。CFD をはじめてから 5 年が過ぎました。まだチームを作るまでには至らず、1 人で CFD を行っています。

今回は、忙しい臨床医の立場から、如何にポイントを押さえながら、短い時間で AVEC にトライできるかを試そうと思っています（解析をはじめられていません）。実際に今回の AVEC のような症例に遭遇した場合（血腫分布などで破裂が特定出来なかった場合）、CFD を用いて検討する時間は限られているはずですが、そのような状況を想定しました。

2. 方法

・セグメンテーション

STL ファイルを使用しました。

・計算格子

Tetra + 5 prism layer

Tetra は 0.2mm 位を基準にしたいと思います。

・境界条件（予定）

血液：ニュートン流体

血管壁：rigid

入口：流量で指定します(ICA, BA の流量比は検討します)

出口：0 Pa

・計算

ANSYS CFX, 定常計算

・ポストプロセッシング

主に streamline と WSS

3. 結果

解析が終了していません。

4. 考察

解析が終了していません。大雑把に streamline を見て、動脈瘤内で複雑な流れ、jet flow などがあれば、破裂の可能性が高いと考えます。WSS の見た目の分布で、ばらつきが大きければ、破裂の可能性が高いと考えます。WSS の絶対値と、母血管の WSS で normalized した値は、計算しますが、参考程度にします。

5. 結言

解析は終了していません。

多発性脳動脈瘤症例のくも膜下出血時における破裂瘤の特定

藤村 宗一郎*, 高尾 洋之**, 高山 翔*, 鈴木 貴士*, 市川 千尋*, 神谷 薫*, 川上 拓海***, 守裕也***, 福島 直哉***, 元祐 昌廣***, 石橋 敏寛**, 山本 誠***, 村山 雄一**

* 東京理科大学大学院 工学研究科 機械工学専攻 [〒125-8585 東京都葛飾区新宿 6-3-1]

** 東京慈恵会医科大学 脳神経外科 [〒105-8461 東京都港区西新橋 3-25-8]

*** 東京理科大学 工学部 機械工学科 [〒125-8585 東京都葛飾区新宿 6-3-1]

1. 緒言

脳動脈瘤の破裂には血行動態学的要因が深く関わっていると考えられており, 近年ではその解明に数値流体力学 (CFD: Computational Fluid Dynamics)を用いる試みが広く行われている. CFDを用いた未破裂脳動脈瘤の破裂予測が可能となれば, 治療方針決定に大きな一助となることが期待される.

本研究では多発性脳動脈瘤でくも膜下出血を発症した 2 患者の 5 つの脳動脈瘤に対する CFD 解析とレオロジー観点から破裂した脳動脈瘤の識別を行うことを目的とした.

尚, 本研究は東京理科大学 工学部と東京慈恵会医科大学 脳神経外科の共同研究により行われたものである.

2. 方法

2.1 解析手法 汎用 3D 可視化ソフト Amira 5.6 (FEI/VSF-division, Bordeaux, France)を用いて血管のモデリングを行った. 三次元脳血管撮影の画像を DICOM (Digital Imaging and Communication in Medicine)データ形式で抽出し, 閾値を半値幅より決定し, 形状の抽出を行った. 解析対象は内頸動脈から脳動脈瘤の発生箇所までとし, 不要部分の血管に対してトリミングを施した. 出力した血管形状を ANSYS ICEM CFD 15.0 (ANSYS, Inc., Canonsburg, PA, USA)に取り込み, 計算格子の生成を行った. 格子は非構造格子で, 壁近傍に 7 層のプリズムメッシュ, その他の領域にテトラメッシュを配置した. 平均格子サイズを 0.5mm として, 要素点数は約 140 万~260 万点であった. 流れの剥離や曲りによる影響を考慮し, 流入・流出口に 75 mm の延長管を接続した. 血管内の流れ場を三次元非圧縮性層流場, 血液は密度 $\rho = 1,100 \text{ kg/m}^3$, 粘性係数 $\mu = 0.0036 \text{ Pa}\cdot\text{s}$ のニュートン流体と仮定した. 血管壁を剛体と仮定し, 壁面にすべりなし条件を与えた. 出口端面は静圧平均 0 Pa を課す. 流入境界として成人の内頸動脈における平均質量流量を 2 拍動分与えた. ソルバーには汎用熱流体解

析ソフトウェア ANSYS CFX 15.0 (ANSYS, Inc., Canonsburg, PA, USA)を用いた.

2.2 評価パラメータ 脳動脈瘤壁の菲薄部を推定する血行動態学的パラメータである PD (Pressure difference)を破裂・未破裂の判断に用いる.

$$PD = \frac{P_{\max} - P_{\text{ave}}}{\frac{1}{2} \rho v_{in}^2} \quad (2.1)$$

ρ は密度, v は流速, P_{\max} , P_{ave} は, それぞれ脳動脈瘤域における最大圧力と平均圧力である.

3 結果・考察

それぞれの Case にて定性的かつ定量的に評価を行う. 先行研究では高 PD 値と脳動脈瘤の菲薄箇所的一致が示されており¹⁾, 破裂後脳動脈瘤においても PD の値が相対的に高くなることが予想される. Case1 の 2 動脈瘤では前大脳動脈瘤が脳底動脈瘤と比較して最大 PD 値が大きく, 脳動脈瘤の広範囲に渡って高 PD 域が分布していた. よって, 前大脳動脈瘤が破裂した症例である可能性がある. 一方, Case2 の 3 動脈瘤では中大脳動脈瘤と後交通脳動脈瘤の PD 値が大脳動脈起始部瘤と比較して大きかった. しかし, 後交通脳動脈瘤の PD の分布を見ると, 最大値は動脈瘤の根元付近にあり, 破裂しやすいとされる bleb における分布は均一的なものであった. よって, 破裂症例は中大脳動脈瘤である可能性がある. さらに, 中大脳動脈瘤のサイズは他の 2 症例と比較して大きく, 相対的に破裂しやすい状態であったと思われる.

4. 結言

CFD 解析を行った結果, 以下の脳動脈瘤が破裂したものと予測した.

・ Case1 前大脳動脈瘤 ・ Case2 中大脳動脈瘤

文 献

- 1) Suzuki, T., Takao, H., Suzuki, T., Kambayashi, Y., Watanabe, M., Sakamoto, H., Kan, I., Nishimura, K., Kaku, S., Ishibashi, T., Ikeuchi, S., Yamamoto, M., Fujii, Y. and Murayama, Y.: Determining the presence of thin-walled regions at high-pressure areas in unruptured cerebral aneurysms by using computational fluid dynamics. *Neurosurgery*, **29**, 2016.

AVEC CFD 2016 理化学研究所 計算工学開発ユニット

深作和明^{*,**}, 野田茂穂^{*}^{*} 理化学研究所 情報基盤センター 計算工学開発ユニット

[〒100-1111 埼玉県和光市広沢 2-1]

^{**} 碑文谷病院 脳神経外科**1. 緒言**

我々は理化学研究所情報基盤センター計算工学開発ユニット深作和明、野田茂穂の2名で解析に当たっている。

2. 方法

理化学研究所 VCAD システム研究プログラムで開発したボクセル法を用いる熱流体解析システムをもとにして、それを血流解析システムに拡張したソフトウェア群¹⁾を利用している。このシステムでは、形状の入力からシミュレーションの実行、結果の可視化までの全てをボクセルデータのみで完結することができる。そのため、原則として医療画像のデータから形状を抽出する必要がない。

・セグメンテーション

セグメンテーションは、輝度地の Window Width と Window Level を指示することによって行った。ボクセル作成に用いたプリシステムである VXgen での Window 情報設定に先立ち、ImageJ により、近接する血管を分離可能なできるだけ高い輝度値を下限とした。近接した、あるいは、接触した血管が連続した血管となってしまう点は、セグメンテーションにおいて常に大きな問題である。血管と動脈瘤が連続してしまう部分では、動脈瘤が形状を保てるように、血管側に境界を移動して境界を作成した。血管同士の接触ではなるべく本来の境界に境界を設定したが、一部の小径の血管は削除した。

解析領域は必要最小限とした。近位部の構造から動脈瘤近傍に旋回流の発生が予想される場合には、その構造は解析領域に加えた。

・計算格子

計算格子のサイズは DICOM のボクセルサイズをそのまま用いている。したがって、課題 1 では 0.14 mm、課題 2 では、0.23 mm である。ただし、各ボクセルには血液がボクセルに占める体積率、開口率が設定され、血管壁部分の構造も反映されている。ボクセル法では階段近似による形状再現性の低下が懸念されるが、体積率開口率を用いることで、体積積分及び面積積分において形状を正確に表現することができる。

課題 1 の前大脳動脈遠位部では 87 x 91x144 ボクセル、脳底動脈先端部 210 x 108 x 309 ボクセル、課題 2 右内頸動脈系 200 x 132 x 131 ボクセル、左内頸動脈系 199 x 131 x 130 ボクセルである。

・境界条件

血液は非圧縮性ニュートン流体とし、比重 1.05、粘性係数 3.5 cP とした。血液血管壁はリジッドなものとし、流体-構造連成解析は行っていない。入り口は直径を代表長さとして、ハーゲンポアズ

イユ分布を作成した上で、レイノルズ数 700 程度の流れを流入させている。出口はフリーフローとしている。

・計算

流体解析ソフトウェアである V-FLOW3D を用いた。V-FLOW3D は非圧縮流体方程式の離散化として対流項を三次精度風上である QUICK 法、時間項を二次精度の Adamsbashforth 法、その他の項には二次精度中心差分を用いている。解法として HSMAC 法を用いており、圧力の境界条件を指示する必要がない。方程式の離散化時に体積率及び開口率を用いることで、形状を正しく表現している。

・ポストプロセッシング

得られたデータは、可視化ソフトウェア Viso にて可視化した。瘤内の流線の差を表現できるように心がけた。

3. 結果

定常流での流速の分布までの計算は終了したが、代表値の算出には至らなかった。

課題 1 では、脳底動脈瘤では瘤の近位部に振動する流れが形成され、瘤内部にも影響が及んでいた。一方の前大脳動脈末梢部ではきれいな定常流が形成され、瘤内部全体に広がっていた。

課題 2 では左中大脳動脈瘤では、瘤全体に流れが分布していた。右前大脳動脈起始部では、瘤内の流れは乏しく、底部の流れは不良であった。右交通動脈部では、bleb での流れが極めて悪く、ほとんど停滞していた。

4. 考察

血管壁が維持されるには、ある一定の安定した張り応力が必要と思われる。したがって、定常流解析の段階では、課題 1 では、脳底動脈瘤が、課題 2 では右後交通動脈が破裂したものと判断した。

5. 結言

課題 1 では、脳底動脈瘤が、課題 2 では右後交通動脈が破裂したものと判断した。

文 献

- 1) <https://vcad-hpsv.riken.jp>

第 39 回日本バイオロロジ学会年会 プログラム・抄録集

多発脳動脈瘤における CFD 解析 - 同一症例における増大瘤と非増大瘤の比較 -

堀 恵美子*, 梅村 公子*, 岡本 宗司*, 久保 道也*, 柴田 孝*, 堀江 幸男*,
黒田 敏**

* 済生会富山病院 脳卒中センター 脳神経外科 [〒931-8553 富山県富山市楠木33-1]

** 富山大学 医学部 脳神経外科

1. 緒言

脳動脈瘤の増大因子に関しては、これまでにその大きさや形状、部位等があげられているが、いまだに不明な点が多い。さらに近年では CFD (Computational Fluid Dynamics) 解析を用いた検索がなされているが、剛体モデルを使用する、増大例・非増大例の異なる個体間で比較する等、生体内での条件を必ずしも再現しているとは言えない。本研究では、多発動脈瘤を有する同一個体において CFD 解析を実施して、増大瘤と非増大瘤における流体力学を比較検討した。

2. 実験方法

多発動脈瘤を有し経過観察中に一つのみの動脈瘤が増大した 5 例を対象とした。3D-CTA あるいは MRA から得られた DICOM データを使用し、血管形状の構築は Zio station®, 数値流体解析は hemoscope® 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。検討項目は、年齢、性別、動脈瘤の大きさ、増大までの期間、親動脈からの流入量、増大瘤と非増大瘤の Wall shear stress (WSS) について比較検討を行った。

3. 実験結果

年齢は 72-76 歳 (平均 66 歳)、全例女性であった。動脈瘤の大きさは、増大瘤が $1.2-505.3\text{mm}^3$ ($131.6 \pm 211.7\text{mm}^3$)、非増大瘤 $6.1-154.9\text{mm}^3$ ($44.5 \pm 57.5\text{mm}^3$) であった。大きさおよび部位に一定の傾向は認められず、増大までの期間は 1-8 年で、3 例が経過中に破裂し、いずれも増大瘤であった。親動脈からの流入量は増大瘤で 10.6-66.8%、非増大瘤で 11-97.3% と一定の傾向はなかったが、動脈瘤の WSS の平均値は増大瘤 VS 非増大瘤で、 6.1 ± 1.9 VS 8.7 ± 6.6 Pa、最大値 37.1 ± 6.2 VS 88.6 ± 53.9 Pa、最小値 0.5 ± 0.7 VS 0.4 ± 0.5 Pa で、いずれの症例でも平均値および最大値は、増大瘤より非増大瘤で小さかった。

4. 考察

破裂脳動脈瘤と未破裂脳動脈瘤の比較検討では、種々のパラメーターが比較検討されている。特に WSS に関するパラメーターが多く、low WSS, low area-average WSS, high WSSG 等が破裂瘤に認められるとされている¹⁾²⁾。これらの報告は、いずれも異なる個体間での比較検討であり、同一症例における報告はすくない。Jung ら³⁾は同一個体における破裂と未破裂瘤を比較しており、破裂瘤において優位に WSS の平均値および最小値、low WSS area が大きいとしている。本研究でも、増大瘤で WSS が低くなっていた。

5. 結言

同一症例における流体力学の結果、増大瘤の WSS は親血管や非増大瘤よりも低い傾向にあった。WSS は増大および破裂の重要な因子とされており、本研究でも改めて未破裂動脈瘤の増大に重要な因子であると考えられた。

文 献

- 1) Kawaguchi T, Nishimura S, Kanamori M.; Distinctive flow pattern of wall shear stress and oscillatory shear index: similarity and dissimilarity in ruptured and unruptured cerebral aneurysm blebs. J neurosurg, 117, 774-80, 2012.
- 2) Lee CJ, Zhang Y, Takao H.; A fluid-structure interaction study using patient-specific ruptured and unruptured aneurysm: the effect of aneurysm morphology, Hypertension and elasticity. J Biomech, 46, 2402-10, 2013.
- 3) Jing L, Fan J, Wang Y.; Morphologic and hemodynamic analysis in the patients with multiple aneurysms: Ruptured versus unruptured. PLoS One, Jul 6, 10(7), e0132494, 2015.

脳幹型 PRES を合併した慢性腎不全の3例の検討

徳岡健太郎、高地真以子、阿部哲郎、飯嶋一侑樹、安田高志、北川泰久、野川茂
東海大学医学部附属八王子病院 神経内科 [〒192-0032 東京都八王子市石川町 1838]

1. 目的

Posterior reversible encephalopathy syndrome (PRES)は、高血圧性脳症、子癇、免疫抑制剤使用など背景として生じる後頭部を中心とした可逆性の脳症である。その病態は、MRIでADC値の上昇が認められ、血管性浮腫病変とされている。好発部位は、後頭葉、頭頂葉、前頭葉であるが、まれに脳幹部を主体とした脳幹型PRESを発症することがある。今回、脳幹型PRESと診断したCKDの3症例を経験したので、文献的考察も含めて報告する。

2. 症例

症例1は、60歳男性。高血圧症、統合失調症、慢性腎不全で維持透析されていた。透析終了後に意識障害を呈し、救急搬送。来院時血圧182/123mmHg、失外套症候群、四肢痙性麻痺を認め、頭部MRIでは、FLAIRで脳幹部にびまん性の高信号を認め、一部基底核にも及んでいた。ADC値は上昇しておりPRESと診断。厳重な血圧管理を行ったところ、入院第7病日には症状は改善。第14病日の頭部MRIで病変は消失。

症例2は、高血圧のある50歳男性。頭痛を主訴に来院。来院時血圧220/140mmHg、血清クレアチニン5.32mg/dlと高値。頭部MRIで脳幹部を中心とする病変を認めた。降圧治療を主体に加療を行い、頭痛は消失。第15病日の頭部MRIで病変は消失。

症例3は、41歳男性。意識障害、痙攣にて救急搬送。来院時血圧200/114mmHgで、血清クレアチニン3.3mg/dlと高値。FLAIRで脳幹部に高信号を認めた。降圧治療を行い、意識回復したが、四肢痙性麻痺は残存した。第31病日の頭部MRIでは病変は残存していた。

3. 考察

PRESは、血管性浮腫を主体とした可逆性の病態であると考えられている。その病態が後部領域で冒されやすい理由として、頭蓋内細動脈に対する交感神経支配密度が、内頸動脈系に比して脳底動脈系で最も疎となるためと考えられている。そのため、過灌流によって

血管性浮腫が生じる場合、病変分布は脳底動脈系に生じやすくなると考えられる。また、CKDによる細動脈血管病変の進展に伴いBBB機能が障害され、急激な血圧上昇により脳幹部の浮腫性変化が惹起されたものと推察した。

5. 結言

脳幹型PRESを合併したCKDの3症例を経験した。交感神経支配密度は脳底動脈系で疎であるが、CKDによる細動脈硬化でBBB機能障害を来し、急激な血圧上昇に耐えられなくなり、脳幹部及び小脳の浮腫性変化が出現するものと考えられる。

CKD患者で血圧コントロールが不良の場合、脳幹型PRESを来す可能性がある。

文 献

- 1) Moon SN, Jeon SJ, Choi SS, et al. Can clinical and MRI findings predict the prognosis of variant and classical type of posterior reversible encephalopathy syndrome (PRES). *Acta Radiol* 2013; 54: 1182-1190.
- 2) Kumai Y, Toyoda K, Fujii K, et al. Hypertensive encephalopathy extending into the whole brainstem and deep structures. *Hypertens Res* 2002; 25: 797-800.
- 3) Bo G, Hui L, Feng-Li L, et al. Relationships between edema degree and clinical and biochemical parameters in posterior reversible encephalopathy syndrome: a preliminary study. *Acta Neurol Belg* 2012; 112: 281-285.
- 4) Edvinsson L, Owman C, Sjöberg N-O. Autonomic nerve, mast cells, and amine receptors in human brain vessels. A histochemical and pharmacological study. 1976; 115: 377-393.
- 5) Wardlaw JM, Farrall A, Armitage PA, et al. Changes in background blood-brain barrier integrity between lacunar and cortical ischemic stroke subtype. 2008; 39: 1327-1332.
- 6) Bo G, Hui L, Feng-Li L, et al. Isolated pons involvement in posterior reversible encephalopathy syndrome in a patient with chronic renal insufficiency: case report and literature review. *Clin Neuroradiol* 2012; 22: 341-344.

第2日目
6月19日(日)
第2会場

第39回日本バイオレオロジー学会年会 プログラム・抄録集

新潟県産米粉パンのテクスチャーに及ぼすガス抜き時間の影響

○佐藤恵美子*、古澤佳奈、三井瑠奈*

* 新潟県立大学人間生活学部健康栄養学科 [〒950-8680 新潟市東区海老ヶ瀬471]

1. 緒言

近年、米粉製品が普及し、小麦粉の代替で米粉を使用した“米粉パン”に対する消費者の関心が高まってきた。おいしいパンを作るには、生地が膨化が重要な因子の一つである。ガス抜き操作は、パン生地に空気(CO₂)の均一な分散ときめ細かな食感を与え、二次発酵を促進する効果があり、生地が膨化する重要な操作である。本報告では、ガス抜き操作に着目し、ガス抜き時間が米粉パンの膨化及びテクスチャーに及ぼす影響について検討した。また、強力粉パンについて比較検討した。

2. 実験方法

米粉パンの割合は、米粉180g(コシヒカリ)、水165g、砂糖16g、食塩2g、ドライイースト6g、無塩バター16gとした。比較のための強力粉パンは、強力粉180g、水105gとし、その他は同様にした。供試材料を攪拌後、一次発酵を30分間行い、ガス抜き時間は1分、5分、8分とした。二次発酵は20分間行い、180℃で15分間焼成後、放冷した。パンの部位を上下に分け、左・中・右を部位別に各1.5cm角にナイフで切り分けたものを試料とし、卓上型物性測定器(TPU-2C、(株)山電)によりテクスチャー測定を行った。パンの気泡の分散状態を実体顕微鏡で観察した。さらに、SD法及び順位法による官能検査も検討した。

3. 実験結果

強力粉パンと米粉パンの比較では、米粉パンの方が膨化率と凝集性が大きく、かたさ応力は小さかった。②米粉パンのガス抜き時間における比較では、膨化率の高い順に5分、1分、8分となった。硬さ応力と凝集性は、共にガス抜き

時間の長い8分、5分、1分の順に大きかった。

③分散分析の結果から、かたさ応力はガス抜き時間(T)の項目で1%の危険率、上下の部位(P₂)で5%の危険率で有意差が認められた。二元配置分散分析では、ガス抜き時間(T)と上下の部位(P₂)の間に有意差は認められず、ガス抜き時間が異なる場合でも上下の部位において、下部の方がかたさ応力は大きくなる傾向が見られた。凝集性については、上下の部位(P₂)で1%の危険率で有意差が認められ、下部の方が大きかった。④官能検査の結果から、強力粉パンと米粉パンの比較では、SD法において、米粉パンはしっとり感ともっちり感の項目で高い評価が得られ、1%の危険率で有意差が認められた。順位法では強力粉パンが硬さの項目、米粉パンがもっちり感、しっとり感、おいしさの項目で評価が高く、1%の危険率で有意差が認められた。ガス抜き時間の比較では、順位法においてガス抜き5分が弾力性としっとり感の項目で最も高いと評価され、5%の危険率で有意差が認められた。

4. 考察

米粉パンは、強力粉パンに比べて細かい気泡が均等に分散しているために膨化がよく、さらに加水量が多いため、しっとり感やもっちり感が特徴であることが分かった。ス抜き時間の異なる米粉パンでは、最も膨化がよく嗜好性が高いのは、ガス抜き5分であった。また機器測定よりガス抜き時間が長いほどパンは硬く内部が緻密となるが、パンの分散相が気泡であるために官能検査では識別が難しく、機器測定との相関は低かった。

謝辞

新潟県産パン用米粉について、ご教示いただきました新潟県新発田市斎藤製粉(株)様に感謝申し上げます。

ペースト状介護食の静粘度温度依存性と嚥下時筋活動の関係

高橋智子

神奈川県立工科大学応用バイオ科学部 [〒243-0292 厚木市下荻野 1030]

1. 緒言

近年、摂食・嚥下機能の低下した高齢者の増加に伴い、より安全に摂取できる食品の研究開発が求められている。食品の物性は、経口摂取の安全性に影響を与えており、ことに、その温度依存性は食べやすさに大きく影響を与える。そこで本研究では、均一ペースト状介護食に含まれている原材料の違いが、静粘度の温度依存性に与える影響について検討した。加えて、静粘度の温度依存性と食べやすさの関係について検討を行った。

2. 実験方法

脂肪分の含有量の異なる部位の鶏肉を原材料とした、ユニバーサルデザインフード区分4（かまなくてもよい）に分類されるペースト状試料の静粘度温度依存性の測定を行った。試料は材料として用いる鶏肉の部位及び配合割合を変えて調製したものをを用いた。すなわち、試料肉Aとしてモモ肉50%：ムネ肉50%、試料Bとしてモモ肉0%：ムネ肉100%である。モモ肉はムネ肉に比べ、脂質含量が多く、たんぱく質含量の少ない。

静粘度測定には音叉振動式粘度計SV-100（（株）A&D）を用い、固有振動数30Hz、振動振幅 ± 0.1 mm、試料品温15～45℃における静粘度（Pa・s \times 密度）温度依存性を測定した。

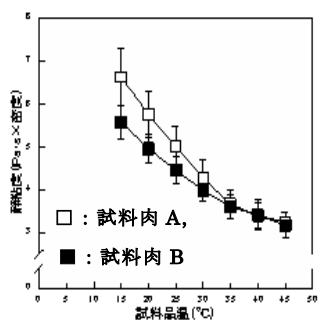


図1. 試料の静粘度温度依存性

加えて、食べやすさの評価として、嚥下時舌骨上筋群の筋電位測定を行った。嚥下時筋電位測定には、PowerLab4/25T (AD Instruments)を用いた。

3. 実験結果

音叉振動式粘度計による静粘度温度依存性測定より、試料A、B共に鶏の脂肪分の融点付近である30℃以下になると、静粘度の温度依存性が大になることがわかった。ことに、試料Aは試料Bに比べ、静粘度温度依存性は30℃以下で大となった（図1）。嚥下時の舌骨上筋電位測定の結果より、筋活動時間と最大振幅の積分値である筋活動量は、試料A、B共に、試料品温20℃の筋活動量が試料品温45℃に比べ、大となった（図2）。ことに、試料Aは被験者5名のうち2名で、20℃で筋活動量が顕著に大きくなった（図2）。

4. 考察

本研究の結果より、脂質含量が多い試料Aは静粘度の温度依存性が大であり、また、嚥下時筋活動量の温度依存性も大であることが示された。すなわち、静粘度の温度依存性が大であるペースト状食品は、45℃から20℃へ冷めることによって、嚥下時により多くの筋活動量を要することがわかった。

5. 結言

固定周波数、固定振幅における音叉振動式粘度計測定で得られた静粘度の温度依存性より、食べやすさの温度依存性を推測することができた。

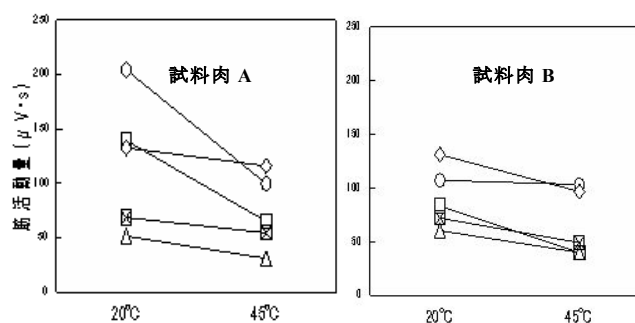


図2. 嚥下時筋活動量の被験者別の温度依存性

魚肉練り製品食塊の性状と嚥下音にみられる特徴

幕田充志*, 河野康成*, 小井土 隆**, 市川 寿**

長崎大学水産学部水産学科*

**長崎大学大学院水産・環境科学総合研究科 [〒852-8520 長崎市文教町1-14]

1. 緒言

魚肉練り製品は良質なタンパク質と油脂及びカルシウム、鉄などミネラルの摂取源であり、独特の食感・“足”の良さが日本人に好まれてきたが、加齢や病態によっては咀嚼嚥下時に食塊形成が難しく、誤嚥を生じさせやすい点で今日の問題を抱える。そのため、介護や医療の現場で安全性の観点から忌避される事がある。しかし、我国では様々な魚肉練り製品が上市されており、物性も区々である¹⁾ 事から、製品毎に食塊の性状や嚥下動態は異なるはずである。本研究は、かまぼこ類とその他の食物の嚥下音の比較から、嚥下し易さを表すパラメータを抽出する事を試み、咀嚼物の性状と嚥下し易さとの関係性を明らかにする事を目的とした。

2. 実験方法

板付かまぼこ2種、豆腐かまぼこ、レトルト米飯、水を試料とし、咀嚼前後の物性パラメータ（硬さ、凝集性、弾力）の変化、水分含量変化を検討すると共に、食塊を流水下で楕円分粉砕度を測定した。また、健康な被験者が試料5gを座位で自由に咀嚼嚥下した時の咀嚼回数、咀嚼時間、並びにHamletの方法²⁾による嚥下音パラメータ（嚥下音持続時間、咽頭通過時間、ボラスフロー(t_2)）を測定した。

3. 実験結果と考察

咀嚼によって種々の食物の硬さ（BS値）と凝集性はFig.1に示したように減じ、一定の領域（嚥下領域）に収束した。食塊粉砕度は、板付かまぼこでは3.35mmサイズの目穴を通過しない大きい成分が89.8%を占めたのに対し、豆腐かまぼこはその割合が35.2%と低く、1mmサイズの目穴を通過した成分が19.5%あった。米飯は3.35mmの目穴を通過し2.36mmの目穴を通過しなかった成分が61.5%だった。嚥下音解析の結果から、Fig.2のように、 t_2 咽頭通過時間の値に食物の嚥下特性の差異が表れる事を見出した。また、足の強いかまぼこ(K1, K2)でと水は、同値に年齢差が認められ、加齢に伴って値が大きくなっていったが、豆腐かまぼこで(TK)は年齢差を認めず、米飯(R)と似ていた。以上の結果から、足の強い板付かまぼこの食塊は比較的大きなサイズの断片で構成され、散け易いのに対し、

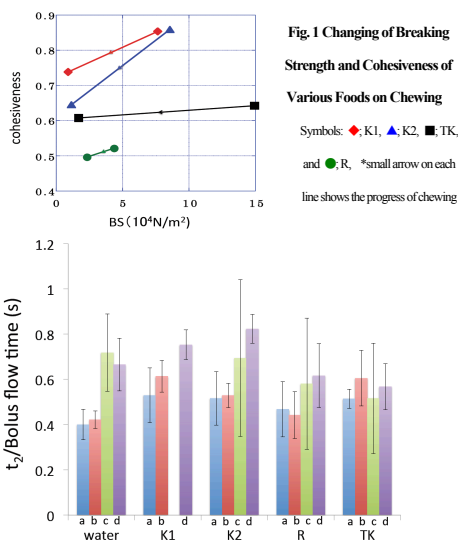


Fig. 1 Changing of Breaking Strength and Cohesiveness of Various Foods on Chewing
Fig. 2 Relation for Participant's age and " t_2 /Bolus flow time" on the Swallowing of Various Food Boluses

豆腐かまぼこでは異なり、微細な断片を多く含み米飯と似る事が判明した。咀嚼物の凝集性も、板付かまぼこの食塊がやや高値である特徴を有するのに対し、豆腐かまぼこの値はより小さく米飯に近い特徴をもっていた。これらの特徴は口腔内で総合的に知覚され、 t_2 咽頭通過時間の値に差を生じる原因となっている事が示唆される。咽頭通過時間は、口頭蓋が閉じてから開く迄の時間であり、この間気道は閉鎖されている。従って、この時間内で生じたボラスフローの時間が長い程、誤嚥に至る可能性が大きくなると考えることが出来、換言すれば、嚥下物の t_2 咽頭通過時間の値の大小をもって食物の安全な嚥下し易さの指標とする事が出来ると思われた。

文 献

- 1) Qian, J., Ichikawa, H., Rheological Properties of Fish paste products Sold on the Market in Japan, Bull. Fac. Fish. Nagasaki U., 94, 17-22, 2014.
- 2) Hamlet, S. L.: Sounds of Swallowing Following Total Laryngectomy, Dysphagia, 7, 160-165, 1992.

第39回日本バイオレオロジー学会年会 プログラム・抄録集

ヒト胃消化シミュレーターを利用した ゲル状食品の消化挙動の観察・評価

市川 創作*, 神津 博幸*, 王 在天*, 中田 友輝*,
Marcos A. Neves*, 植村 邦彦**, 中嶋 光敏*, 小林 功**

*筑波大学 生命環境系 [〒305-8572 茨城県つくば市天王台 1-1-1]

**農業・食品産業技術総合研究機構 食品研究部門 [〒305-8642 茨城県つくば市観音台 2-1-12]

1. はじめに

消化はヒトの生命活動に不可欠なプロセスであり、食事で摂取した食物を体内で利用可能な状態に変化させる役割を担っている。消化プロセスは、咀嚼やぜん動運動による物理的消化、唾液や胃液等による化学的消化、ならびに腸内細菌による生物的消化に大別される。胃や小腸では、消化酵素や pH 等の化学的な作用に加え、ぜん動運動に誘起される内容物の流動が生じており、食品の消化に影響を与える重要な物理的因子と考えられる。

食品の胃消化挙動を観察・評価して、食品の物理化学的特性との相関を明らかにすることは、消化特性が制御された食品の設計・開発に有用である。本講演では、当研究グループが進めている食品の消化挙動を評価するための胃消化シミュレーター (Gastric Digestion Simulator; GDS) の開発について紹介する。次に、GDS を利用したゲル状食品の消化特性について報告する。

2. 胃消化シミュレーター (GDS) の開発

GDS は、ヒト胃の物理的環境および化学的環境を模擬し、食品の消化プロセスを直接観察できる *in vitro* 消化試験装置として開発したり。開発に当たり、胃をシンプルな構造モデルに置き換えつつ、ぜん動運動により誘起される内容物の流動状態が装置内で再現できるよう配慮した。

胃のぜん動運動と内容物の流動が生じている胃の幽門部の構造を単純化したモデルをコンピュータ上で構築し、ぜん動運動により引き起こされる内容物の流動状態を流体シミュレーションにより求めた。その結果、幽門部を単純化した構造モデルで、胃のぜん動運動により誘起される内容物の流動状態を再現できることがわかった²⁾。

次に、コンピュータ上で構築した幽門部のモデルをもとにぜん動運動の動きを模擬できる GDS 装置を設計・作製した。装置容器は透明な素材で作製し、内部の流動状態や食品の消化試験の過程を直接観察できるようにした。作製した GDS においてぜん動運動により引き起こされる内容物の流動

を観測した結果、シミュレーションで求められた流動と対応しており、GDS により胃の内容物の流動状態を再現できることが確認できた。

3. 胃消化シミュレーターによるゲル状食品の消化

寒天ゲル粒子 (濃度 1.5 wt%) を一辺 5 mm の立方体にカットして人工消化液と共に GDS に投入し、消化試験を行った³⁾。ゲル粒子は、消化時間の経過に伴い微細化が進行した。胃から腸への排出口である幽門と同程度のサイズ 2.36 mm 以下のゲル粒子の割合は、消化 180 分後には試料全体の 82% となった。微細化されたゲル粒子の形状は不定形であり、ぜん動運動の収縮部に隣接する粒子同士の圧縮やせん断によりゲル粒子が微細化されたと考察される。

これまで一般的に行われている振とうフラスコ内での *in vitro* 消化試験では、消化試験 180 分後においてもゲル粒子は、ほとんど微細化しなかった。この結果から、振とうフラスコ試験では胃のぜん動運動に誘起される物理的な環境を適切に模擬できず、ゲル状食品の様な固形食品の消化試験には適していないと考えられる。

以上の結果より、胃におけるゲル状食品の消化では、ぜん動運動による物理的消化プロセスが重要な役割を果たしていることが強く示唆された。

文 献

- 1) Koza, H., Nakata, Y., Nakajima, M., Neves, M. A., Uemura, K., Sato, S., Kobayashi, I. and Ichikawa, S.: Development of a human gastric digestion simulator equipped with peristalsis function for direct observation and analysis of the food digestion process. *Food Sci. Technol. Res.*, 20, 225-233, 2014.
- 2) Koza, H., Kobayashi, I., Nakajima, M., Uemura, K., Sato, S. and Ichikawa, S.: Analysis of flow phenomena in gastric contents induced by human gastric peristalsis using CFD. *Food Biophys.*, 5, 330-336, 2010.
- 3) Koza, H., Nakata, Y., Nakajima, M., Neves, M. A., Uemura, K., Sato, S., Kobayashi, I. and Ichikawa, S.: Analysis of disintegration of agar gel particles with different textures using gastric digestion simulator. *Japan J. Food Eng.*, 16, 161-166, 2015.

第 39 回日本バイオレオロジー学会年会 プログラム・抄録集

微粒子会合体構造を有するゲルの流体力学的摩擦

嶋田昌之

九大院理 物理 [〒819-0395 福岡市西区元岡 744]

1. 緒言

ゲルは高分子網目と大量の溶媒で形成される物質状態である。通常の条件下で調製されるゲルは、多くの場合均一であり弾性に富む。しかし、ポリアクリルアミドゲルにおいては、架橋剤濃度を増加させることによりゲルは著しく白濁することが知られている。このような白濁したゲルは、図 1 に示すように、サブミクロンサイズの微粒子が凝集した構造となることが共焦点顕微鏡観察による実空間構造解析によって明らかにされた[1]。本研究では、このようなコロイドゲル中における溶媒の流れとゲルの構造との関係を明らかにすることを目的に研究を行ったので報告する。

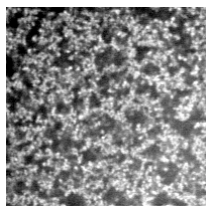


図 1 白濁したゲルの共焦点画像。高輝度部分に物質が存在している。画像の 1 辺の長さは 48.8 μm である。

2. 実験方法

本研究では、仕込み時に架橋剤の濃度を増加させ、白濁したポリアクリルアミドゲルを調製しこれを試料とした。ゲルの全濃度を 700mM とし、ここに含まれる架橋剤のモル分率を 20 から 50%まで変えた。プレゲル溶液を内径がおおよそ 0.5mm のガラスマイクロピペット中に導入してゲルを得た。ゲルを含むガラスマイクロピペットを適当な深さまで水中に浸した。このときゲル中を流れマイクロピペット中に流入する水の速度を測定することにより摩擦係数を決定した。更に、測定に用いたゲルはガラスマイクロピペットから取り出し、蛍光染色した後に共焦点レーザー走査顕微鏡により観察、実空間におけるゲル構造を決定した。

3. 実験結果

厚さ L のゲルに圧力 P が印加されると網目中を速度 v で流体が流れる。このゲル流体の流れに対しては Darcy の法則が成り立つ。

$$P/L = fv \quad (1)$$

ここで、 f はゲルの高分子網目と溶媒との摩擦係数とよばれる。液体の流れの解析によりゲルの摩擦係数を求めた。結果を図 2 に示した。

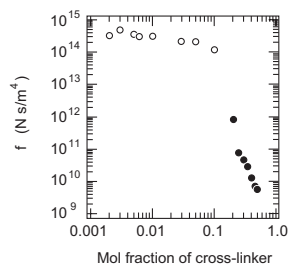


図 2 ゲルの摩擦係数。白濁したゲルの結果は●で示した。○は透明なゲルの摩擦係数である。

4. 考察

透明なゲルと比較すると、白濁したゲルの摩擦係数は 4 桁以上減少することは明らかである。従って、白濁したゲル中においては、ゲルの流体は殆ど自由に流れることがわかった。このような摩擦係数の急激な減少は、架橋剤濃度が 20% を越えたときに生ずる。これらのことは、架橋剤濃度の増加に伴いゲルの構造が分子網目状からコロイド凝集状へと転移することを強く示唆する。当日は共焦点画像解析の結果も合わせて報告する[2]。

5. 結言

ポリアクリルアミドゲルは、架橋剤濃度の増加に伴い、分子網目状ゲルからコロイドゲルへ構造転移する。

文献

- 1) Doi, Y. and Tokita, M.: Real space structure of opaque gels. *Langmuir*, **21**, 5285-5289 2005.
- 2) Doi, Y. and Tokita, M.: Friction coefficient and structural transition in a poly(acrylamide) gel. *Langmuir*, **21**, 9420-9425 2005.

第39回日本バイオレオロジー学会年会 プログラム・抄録集

チョコレート中の油脂移行観察

本同宏成*, 幾竹美春**, 下田康平*, 青木大**, 上野聡*

* 広島大学大学院 生物圏科学研究科 [〒739-8528 広島県東広島市鏡山 1-4-4]

** 広島大学 生物生産学部

1. 緒言

ブラリネのような、内部にナッツ類を含むチョコレートや、ビスケット生地にかけているチョコレートは、チョコレート表面が白化する“ブルーム”と呼ばれる劣化を起しやすいたことが知られている。一般的なチョコレートのブルームとは、チョコレート中のココアバターが融解再結晶化することで粗大化し、光を乱反射することで起きるが、ブラリネの場合、ナッツに含まれる油脂成分がチョコレート中に移動する“油脂移行”によりブルームが形成されるといわれている。この油脂移行の駆動力として、ココアバターとナッツ類に含まれる油脂成分の違いから起きる拡散によるものと、チョコレート中に存在する隙間を通る毛管力の2種類が提案されている。しかしながら実際の油脂移行にどちらがより大きな影響を与えているのか、また油脂移行後にどのようにブルーム形成が促進されるのか、詳細は未だ不明である。我々は近年、シリコンオイルを移動相としてチョコレート中に移行させることで、チョコレートの内部構造および油脂移行機構を明らかにしようと試みている。¹⁾ 本報告では、油脂移行時のチョコレートの質量変化および表面における油滴噴出を観察することで、シリコンオイルの油脂移行機構を明らかにすることを目的とする。

2. 実験方法

チョコレートは市販のものを、シリコンオイルは、粘度 10 mm²/s、表面張力 20 mN/m のものを用いた。ちなみにココアバターの場合はそれぞれ 17 mm²/s、26 mN/m (60 度) である。²⁾ シリコンオイルをしみ込ませたコットンの上にチョコレートをおき、24度の恒温槽内に試料を保存した。チョコレートの質量を経時的に測定すると同時に、表面に析出してきた油滴の密度を測定した。また、チョコレート中のシリコンオイル分布は、エネルギー分散型 X 線分光装置を備えた走査型電子顕微鏡 (SEM-EDX) を用いて測定した。

3. 実験結果

シリコンオイルが接触面からチョコレート内部へと移行している様子が SEM-EDX により観察され

た。また直径 50 ミクロンほどのシリコンオイルのスポットがチョコレート内部に観察された。保存時間とともにチョコレート表面には油滴が現れ始め、時間とともに液量は増加していった。質量は時間とともに増加していったが、増加率は時間とともに減少していった。表面への油滴出現後、質量の増加率はわずかに上昇した。

4. 考察

シリコンオイルはココアバターなどの植物油と相溶性が低く、液体同士でもほとんど混合しない。そのため前述の油脂移行機構のうち、拡散による油脂移行はほとんど無視できると考えられる。また高いぬれ性により、ココアバター結晶の表面を濡らしながら進むと考えられる。シリコンオイルの移行は非常に早いスポット状のもの、ゆっくりとした面上のものが観察された。またチョコレート表面に液油が噴出することから、比較的広いキャピラリを毛管力により進む早い移行と、ココアバター結晶間の液状油を押し上げながら進む遅い移行があると示唆された。質量の増加率が時間とともに減少することも、液状油を押し上げながら進むためと考えられる。

5. 結言

シリコンオイルを用いてチョコレート内への油脂移行の様子を観察した。シリコンオイルは液状油を押し上げながらチョコレート内の様々な隙間に浸透し、移行すると考えられる。

文 献

- 1) Hondoh, H., Yamasaki, K., Ikutake, M., and Ueno, S.: Visualization of oil migration in chocolate using scanning electron microscopy-energy dispersive X-ray spectroscopy. *Food Structure*, **8**, 8-15, 2016.
- 2) Bocanegra, R., Gaonkab, A.G., Barrero, A., Loscertales, I.G., Pechack, D., and Marquez, M.: Production of cocoa butter microcapsules using an electrospray process. *Journal of Food Science*, **70**, E492-497, 2005.

STUDY ON GELATION MECHANISM OF MIXTURE SOLUTION OF KAPPA AND IOTA CARRAGEENANS BY MULTIPLE PARTICLE TRACKING METHOD

L. Geonzon¹, F. Descallar¹, R. Bacabac², O.S. Matsukawa¹

¹Department of Food Science and technology, Tokyo University of Marine Science and Technology, 4-5-7, Konan, Minato-ku, Tokyo, Japan 108-8477

²Medical Biophysics Group, Department of Physics, University of San Carlos, Cebu, Philippines

1. Introduction

Carrageenans are p extracted from species of red seaweeds, and are commonly used as gelling or stabilizing agent. A generally accepted model of the gelling process of carrageenan solutions involves a coil-to-helix transition followed by aggregation of helices forming a space-spanning network[1]. Commonly used gelling carrageenans are Kappa (KC) and Iota (IC) types. Several studies shows that mixed KC/IC systems undergo two-step gelation where two independent gel networks are formed and a possible phase separation takes place in the mixed system[2]. This study focuses on the gelation mechanism of KC, IC, and Mixed KC/IC carrageenans through observation of the microscopic rheology.

2. Theory

The mean-squared displacement (MSD) of a particle by Brownian motion is proportional to the diffusion time τ in a homogeneous media. But in an inhomogeneous media with tortuous passway for the diffusion, the particle may exhibit subdiffusive motion as described by the following equation [3]

$$MSD = 4D\tau^n \quad (1)$$

where D corresponds to the diffusion coefficient and n is the diffusive exponent which is related with the tortuosity of diffusion pass in the inhomogeneous media, $0 < n < 1$.

3. Methodology

Sodium-type KC and IC were supplied by MRC Polysaccharide Co. with further dialysis. Solutions added with polystyrene beads and 10Mm KCl were stirred for 30 min at 90°C and the final concentration is 2%. Carrageenan solutions kept at high temperature were viewed using a 100x/1.30 Nikon oil-type objective with stage controlled using a Peltier thermo 0.68° C/min controller with a cooling rate of. 15-20 particles were tracked using a 1.3M CCD camera and images were processed using a free software ImageJ. The particles MSD were calculated using a written Mathematica. When the plots of MSDs showed a monodispersity, averaged MSD was calculated and fitted on equation (1) to give D and n for each temperature. When the MSDs showed a bimodal dispersity, the MSDs were divided into two groups to give two averaged MSDs and the fitting gave

two sets of fitting parameters of D and n . The fitting were carried out on the data of $\tau=1-10s$.

4. Results and Summary

From Figure 1a, IC and mixed KC/IC shows a wider variance as gelation proceeds. Both figures at low temperatures, MSDs for particles in the mixture could be divided into two groups to give different D s and n s as shown two points connected with thin lines. This can be related to a possibility of the phase separation with different rheological properties. It is found that the displacements of embedded particles in the IC gels demonstrated higher diffusivity compared to that of KC gels while mixed system appears to have the lowest diffusivity as this reflects the expected rheology. It is hypothesized that with decreasing temperature, particle diffusion is inhibited due to the corresponding polymer network stiffening. Thus, our observed differences in probe diffusion behaviour can be associated to differences in the gelling mechanisms between the carrageenan isoforms.

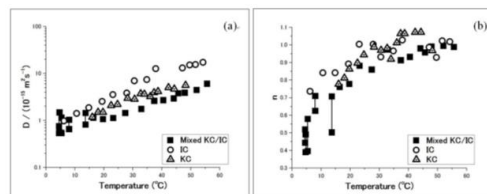


Fig. 1. Temperature dependences of D (a) and n (b). Connected squares refers to a separation of D and n of mixture at low temperature

References

- [1] L. Du, T. Brenner, J. Xie, S. Matsukawa, (2016) A study on phase separation behavior in kappa/iota carrageenan mixtures by micro DSC, rheological measurements and simulating water and cations migration between phases, *Food Hydrocolloids*, 55, 81-88.
- [2] T. Brenner, R. Tuvikene, A. Parker, S. Matsukawa, K. Nishinari, (2014) Rheology and structure of mixed kappa-carrageenan/iota-carrageenan gels, *Food Hydrocolloids*, 39,272-279.
- [3] M.L. Gardel, M.T. Valentine, D.A. Weitz, *Microrheology. Microscale Diagnostic Techniques*. K. Breuer (ed) Springer Verlag (2005)

GELATION OF MIXED KAPPA AND IOTA CARRAGEENAN SOLUTION

Lei Du, Bingjie Hu, ○Shingo Matsukawa*

東京海洋大学 大学院応用生命科学 [〒108-8477 東京都港区港南 4-5-7]

1. Introduction

Carrageenans are sulfated polysaccharide, obtained from certain species of red seaweeds, and are widely used in food, pharmaceutical, cosmetic industries. κ/ι -carrageenan mixtures undergo two-step gelation, meaning that two components form gel networks independently [1-3]. In the present work [2], rheological and thermal properties of carrageenans were studied. The effect of gelation on water and ion distribution between KC and IC phases was studied by forcing a macroscopic separation across a dialysis membrane.

2. Materials & Methods

Sodium-type κ -carrageenan (KC) and ι -carrageenan (IC) were supplied by MRC Polysaccharide Co. with further dialysis. Carrageenan solutions with fixed KCl concentration were stirred for 30 min at 90°C. After that, hot solutions were mixed another 15 min at 90°C to obtain mixtures. Rheological measurement at a frequency of 1 Hz and a strain of 1.0% was on a Hakke Mars II rheometer. And DSC measurements were carried out on a Setaram Micro-DSC VII. Water and ion migration between KC and IC rich phases during gelation were detected by gravimetric analysis and ICP-AES, respectively.

3. Results

Rheological and thermal properties of 2wt% mixed carrageenan under 10mM KCl were studied (Fig. 1) and two-step gelation could be observed.

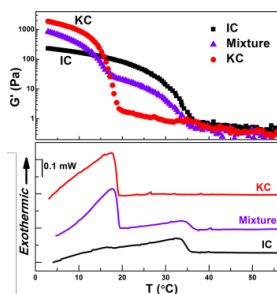


Fig. 1. Rheology (upper panel) and DSC (lower panel) for 2% carrageenan with 10mM KCl with cooling rate of 0.5°C/min.

Furthermore, migration of cations between KC and IC rich phases occurred after storing 10 hrs at 5°C, with increasing KC concentration and the content of K⁺ in KC rich phase. At 15 and 20°C, no obvious changes of cation between

KC and IC rich phases could be observed regardless of storing time. In addition, NMR results also gave much information on the micro-structure of the mixed system [4].

4. Discussion

It could be observed that KC and IC formed gel structure independently in the mixture. Furthermore, solvent and ion redistribution between KC and IC solutions could occur only after long keeping times at temperatures far below the transition temperatures of the KC.

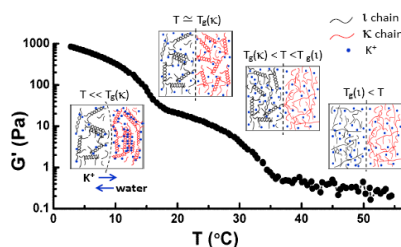


Fig. 2. Schematic representation of water and cation between KC and IC rich phases during gelation.

5. Conclusion

Two step transition temperatures of mixture were almost same to that of individual KC and IC at the same condition. Furthermore, solvent and ion redistribution between KC and IC solutions could occur only after long keeping times at temperatures far below the transition temperatures of the KC.

Acknowledgement

The authors are thankful for the financial supports of a Grant-in-Aid for Scientific Research (No. 26282017) from the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology, Japan (MEC-SST).

References

- [1] Brenner T, Tuvikene R, Parker A, Matsukawa S, Nishinari K. Rheology and structure of mixed kappa-carrageenan/iota-carrageenan gels. *Food Hydrocolloids*. 2014; 39: 272-279.
- [2] Du L, Brenner T, Xie JL, Matsukawa S. A study on phase separation behavior in kappa/iota carrageenan mixtures by micro DSC, rheological measurements and simulating water and cations migration between phases. *Food Hydrocolloids*. 2016; 55: 81-88.
- [3] Parker A, Brigand G, Miniou C, Trespoey A, Vallée P. Rheology and fracture of mixed ι - and κ -carrageenan gels: Two-step gelation. *Carbohydrate Polymers*. 1993; 20: 253-262.
- [4] Hu BJ, Du L, Matsukawa S. NMR study on the network structure of a mixed gel of kappa and iota carrageenans. *Carbohydrate Polymers*. 2015. Under review.

酵素的脱アミド化処理が乳タンパク質に及ぼす影響

*三輪 典子, *岡本 武

*味の素株式会社 食品研究所 食品技術開発センター [〒210-8681 川崎市川崎区鈴木町 1-1]

1. 緒言

食品分野において、酵素を利用した新しい加工技術の開発やタンパク質含有食品の高付加価値化は重要な課題である。脱アミド化処理は、タンパク質分子の負電荷の増大をもたらす食品物性向上に寄与することが報告されているが、酵素的脱アミド化に関する研究例は少ない。本研究の目的は、タンパク質脱アミド酵素（プロテイングルタミナーゼ、以下PG）による脱アミド化が、乳タンパク質の物性、機能に及ぼす影響について調べることである。本発表では、PG処理が脱脂粉乳の物理化学的特性及び機能特性に及ぼす影響、さらに酸乳ゲルの物性や微細構造特性について報告する。

2. 実験方法

10%w/v 脱脂粉乳（ローヒート）溶液にPG（天野エンザイム社製）を0~18U/g-protein 添加し、55℃、1hr 反応させたときの脱アミド量をアンモニア遊離量により評価した。反応後の溶液物性については、濁度(600nm)及び相対粘度を測定した。動的光散乱式の粒子径分布測定装置によりカゼインミセルの大きさを確認し、さらに透過型電子顕微鏡観察も実施した。脱脂粉乳溶液を大豆油と3:1の割合でホモジナイズして得たo/w エマルジョンの濁度と粒子径を分析し、乳化性を評価した。

低脂肪乳にPG1.5U/g-protein を添加し、55℃、1hr 反応させた後、加熱殺菌(95℃、2分)し、冷却後に乳酸菌スターターを添加した。pH4.5 になるまで44℃で4~5hr の発酵を行い、酸乳ゲルを得た。ゲル物性はテクスチャーアナライザー（Stable Micro Systems 製, TA.XTplus）を用いて10%歪み時の応力と付着を測定した。ゲルの構造は共焦点レーザー走査型顕微鏡（LSM 510 META, Zeiss）により観察した。

3. 実験結果

PG処理度に応じて脱脂粉乳溶液のカゼインの溶解度、相対粘度は増加し、一方濁度は減少した。カゼインミセルの大きさは、脱アミド処理の度合いが増すにしたがって減少した。粒度分布の分析と透過型電子顕微鏡の観察から、より小さいサブミセル粒子の生成が高度に脱アミド処理した脱脂

粉乳で確認された。PG処理した脱脂粉乳を大豆油と混合して得たO/W エマルジョンの濁度は増加し、より小さな液滴径を有する傾向が確認された。

PG処理度の増加に伴い、無脂肪の酸乳ゲルの表面離水は減少し、滑らかで光沢のある外観へと変化した。ゲルの破断応力はPG処理により減少し、付着性は増加した。微細構造を共焦点レーザー顕微鏡により観察した結果、未処理では間隙の大きいカゼインネットワーク構造がPG処理区では、より緻密な構造へ変化する様子が確認された。

4. 考察

PG処理によりもたらされた脱脂粉乳溶液の物性変化は、乳タンパク質（主にミセルを形成したカゼイン）のカルボキシル基が増加したことにより、ミセル間の静電反発力が強まったため、ミセル適合性が低下したためと推察された。PG処理脱脂粉乳の乳化性が向上した原因は、脱アミド化によるカゼインのサブミセル化に伴い、油滴に吸着するカゼイン量が増加するためと考察された。

一方、酸乳ゲルでは、PG処理により負電荷が付与されたカゼインミセルが酸性pH下でも高い溶解性を有するため、ゲルの離水が抑制されたものと考えられた。ゲルの軟化と網目構造の変化も、カゼインミセルの凝集力低下に起因するものと推察された。

5. 結言

PGを用いて乳タンパク質の酵素的脱アミド化処理の効果を調べた結果、処理度に応じて脱脂粉乳や酸乳ゲルの物性、機能特性に大きな影響をもたらすことが示された。今後、乳タンパク質物性の新たな改質手段として期待される。

文 献

- 1) Miwa, N. Yokoyama, K. Wakabayashi, H. and Nio, N.: Effect of deamidation by protein-glutaminase on physicochemical and functional properties of skim milk. *Int Dairy J.*, **20**, 393-399, 2010.
- 2) Miwa, N. Nio, N. and Sonomoto, K.: The effect of enzymatic deamidation by protein-glutaminase on the textural and microstructural properties of set-yogurt. *Int Dairy J.*, **36**, 1-5, 2014.

流れに対するコラーゲン繊維の傾斜角度と血小板の粘着容易さの関係性評価方法の検討

大石 麻代, 花房 昭彦, 町村 幸夫, 吉田 脩右, 渡邊 宣夫
芝浦工業大学 生命科学科 [〒337-8570 埼玉県さいたま市見沼区深作 307]

1. 緒言 血栓形成初期過程に血小板が関与する事は知られているが, 未だ, 流れに対するコラーゲン繊維の角度と血小板の粘着のし易さとの間の関係について十分な理解がされていない¹⁾。そこでこれを調査する事を本研究の目的とした。

2. 方法 Nycomed 社製のタイプ I コラーゲン線維 (Horm collagen) 溶液 [10mg/dl] を 76mmx52mm のスライドガラス (Matsunami S9213) 中央部に 10 μ L 滴下後に 10 分間放置したものを血管損傷部位モデルとして使用した。これを流露幅 24mm 流路深さ 0.2mm の四角形断面のチャンバへその底辺としてマウントし, このチャンバへシリンジポンプ (Model133 MA1 55-3333, Harvard Apparatus) にて全血を 120 秒間注入する事で 2 次元ポアズイコ流れを作用させ, チャンバ内のスライドガラス上のコラーゲン繊維上の粘着血小板を撮影した。この実験では理論壁面せん断速度を 348 [1/s] と設定した。撮影画像について, MATLAB ソフトウェア (MathWorks, version9.7, (R2014a)) を用いて, 流れとなすコラーゲン繊維の角度と血小板粘着の容易さの関係性を検証した。その手順を以下に示す。1. はじめに撮影画像上のガラス表面のコラーゲン繊維形態を抽出した。その方法は, 2 次元画像上における全てのコラーゲン繊維の持つ線分情報を曲線分として近似する事で導出した。2. 導出した線分を血小板スケールで分割する事で, コラーゲン繊維に対する血小板の最多粘着可能数と流れとなすコラーゲン繊維角度の頻度を導出した。3. 血流を与えた後に残った粘着血小板があるコラーゲン線維部分が血流となす角度情報を抽出した。4. 以上の工程から得た, 理論上のコラーゲン繊維角度頻度と粘着可能数に対して, 粘着血小板数とそこでのコラーゲン繊維角度の頻度を導出し, これらの比率を評価する事で, コラーゲン繊維の流れとの角度と血小板粘着の容易さを比較した。実験は 7 回施行した。

3. 結果 Fig1 は, ガラス表面にコーティングされたコラーゲン繊維について, 画像解析の結果見積もられた血小板スケールのコラーゲン繊維角度頻度・理論最多粘着可能数, 結果としての粘着血小板を有したコラーゲン繊維の角度の頻度の比

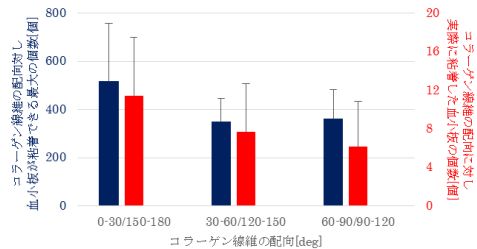


Fig1 コラーゲン線維角度頻度と理論粘着可能血小板数, 粘着血小板数の実測値の比較

較を Mean \pm SD で示す。コラーゲン線維角度は, 繊維が流れと平行に近い順に

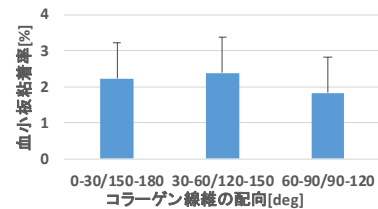


Fig2 流れの向きとコラーゲン繊維角度に対しての血小板の粘着容易さ

0-30/150-180 [deg], 30-60/158-180 [deg], 60-90/90-120 [deg], というように 3 通りに分けて比較した。Fig2 に, Fig1 の 2 本の棒グラフ同士を割り算して得た粘着の容易さを示す。この図からは, 中間角度において最も粘着の容易さが優れた結果となった。その一方で, SPSS でノンパラメトリック検定の結果は, 各角度間で有意差が得られなかった。

4. 考察 血小板粘着挙動とコラーゲン繊維角度との関係性検証のため, 本研究は, コラーゲン繊維形態と粘着血小板部位の情報抽出方法, そして, 繊維角度と血小板粘着の容易さとの関係性を検証する方法を提案した。現時点では関係性に法則性が統計的に得られなかったが, その判断には更なる検討が必要と考える。

5. 結論 本研究は, 血小板粘着挙動と流れに対するコラーゲン繊維角度との間の関係検証方法を提案した。

参考文献

- 1) K. Affeled and J. Gadischke, "Shear Rate and Thrombin Transport", in Biofluid Mechanics, No107 edited by D. Liepsch (1994), pp.35-40

第 39 回日本バイオロロジ学会年会 プログラム・抄録集

低レイノルズ数領域における 血液環流フローチャンバーシステムの開発

安西眸*, 白石泰之**, 山家智之**, 太田信***

* 東北大学 学際科学フロンティア研究所 [〒980-8578 宮城県仙台市青葉区荒巻字 6-3]

**東北大学 加齢医学研究所

***東北大学 流体科学研究所

1. 緒言

脳動脈瘤の治療として、近年ではフローダイバータ(FD)ステントが使用されているが、親血管内での血栓化や瘤内の不完全な血栓化等の例が報告されている。治療の安全性を向上させるためには、血栓生成の制御が必要であり¹⁾、動脈瘤-FD ステント周辺の低速度環境における血栓生成のメカニズムを解明が重要である。本研究では、*in vitro* システムを用いた血流の定量的評価を目指した。瘤内での血液の滞留を模擬するためキャビティー形状を取り入れたフローチャンバーシステムを作成し、ヤギ血を用いた血液環流を行ったので、報告する。

2. 実験方法

図 1 にフローチャンバーキャビティー部を示す。流路内部は MPC ポリマーでコーティングし²⁾、抗凝固剤としてクエン酸 Na を用いたヤギ保存血に 0.2M CaCl₂ 水溶液を添加した物をローラーポンプで 1 時間駆動した。その後、キャビティー部底面を、走査型電子顕微鏡を用いて観察した。

また環流時の内部流れを、数値流体解析を用い

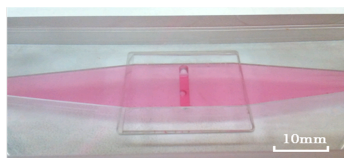


Fig. 1 フローチャンバーキャビティー部

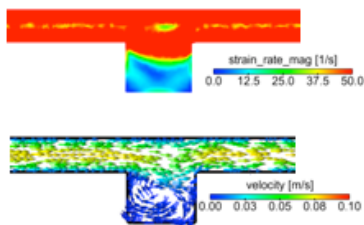


Fig. 2 キャビティー部数値解析結果

て解析を行った。

3. 実験結果

キャビティー部における速度ベクトル図およびずり速度コンター図を図 2 に示す。数値解析の結果より、キャビティー部において二次渦の発生により、駆動部と比べ低いずり速度が発生している様子が確認された。また、キャビティー深さの増加に伴い、ずり速度が低くなった。

環流実験後、5 分間生理食塩水を循環させ置換したところ、血液環流実験後のキャビティー部に血栓が確認された。

4. 考察

キャビティー形状を採用することで、キャビティー内部のみに低いずり速度が発生し、その結果キャビティー部に血栓が付着したと考えられる。今後は流量の変化および底面材料の変化をさせた際の、血栓生成量の定量評価を行う予定である。

5. 結言

キャビティー形状を用いることにより、低せん断速度を負荷する血液環流フローチャンバーシステムを開発することができた。

謝 辞

本研究は JSPS 科研費 26882002 研究活動スタート支援の助成の元行われた。

文 献

- 1) Lubicz, B., *et al.*: Silk Flow-Diverter Stent for the Treatment of Intracranial Aneurysms: A Series of 58 Patients with Emphasis on Long-Term Results, *Am J Neuroradiol*, **36**, 542-46, 2015 .
- 2) 深澤今日子, 石原一彦: 光反応性 MPC ポリマーによるマテリアル表面機能化 (特集 バイオマテリアルの高機能化技術最前線: 生体組織/生体材料の異方性制御から考える), *機能材料*, **33**, 2013, 26-32.

冠循環微小循環系における末梢抵抗に関する 3 次元数値シミュレーション

程田将平*, 湯博洋*, 清水和弥**, 野田茂穂***, 伊井仁志***, 杉山和靖***, 高木周**

* 東京大学大学院 工学系研究科 [〒113-8654 東京都文京区本郷 7-3-1]

** 東京大学 工学系研究科 [〒113-8654 東京都文京区本郷 7-3-1]

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

**** 理化学研究所 情報基盤センター [〒351-0198 埼玉県和光市広沢 2-1]

1. 緒言

冠循環微小循環系は冠動脈と冠静脈の間を接続する直径 5 - 100 μm 程度の血管の複雑なネットワークである[1]. 微小循環系で生じる末梢抵抗は心臓全体の機能に大きく影響しているとされ, 赤血球の流動が顕著に影響する可能性が示唆されている[2]が, そのメカニズムはほとんど不明となっている. こうしたことから著者らは流動の 3 次元解析による赤血球の流動の末梢抵抗への影響の解明を目指しており, 本稿では赤血球の流動を長期的に安定して解析する手法を導入し流動の計算を行ったことについて報告する.

2. 解析手法

本研究では Immersed Boundary 法[3]を用いて解析を行っており, 膜力は赤血球膜上の点の座標を用いて計算している. 通常的手法では面ごとに独立に計算された曲率や膜力を点の周りで平均化して計算するため長時間の計算によって赤血球表面に細かな凹凸が生じ正しく計算できなかった. そこで本研究では有限要素法を用いた膜力の計算手法[4]を用い, 曲率と膜力の面内分布を考えすべての面の情報を考慮した連立方程式として計算を行うようにしている.

この手法によって長時間の解析ができることを確認するために周期境界の直管を用いて赤血球の流動を解析した. 血管径は 10.4 μm , 血管長は 35.1 μm , ヘマトクリットは 31.6 % とし, 圧力勾配は重力項に組み込み $2.27 \times 10^3 \text{ m/s}^2$ としている.

3. 解析結果

図 1 は $dx = 0.16 \mu\text{m}$, $dt = 0.15 \mu\text{s}$ のもとで計算された計算開始後 225 ms の赤血球界面位置を示している. 長時間の計算を行っても赤血球の表面形状に 1 点おきの凹凸ができていないことが確認された. 図 4 は dx 及び dt を変えて計算された流量の変化を示している. この条件では赤血球の存在しないもとのポワズイユ流れの理論的な流量は $0.54 \mu\text{m}^3 / \mu\text{s}$ となり, 流量の減少は赤血球によって圧力損失が増大していることを意味する. いずれの条件でも流量の変化は同様の傾向を示し, 特に赤血球の流動は同様に計算できているものと考えられる. また赤血球の流動を考慮する場合には流量の

変化がかなり長時間に及び, すぐには収束をしないということが確認された.

4. 結言

本稿で示した手法により, 赤血球の長時間の解析が安定して行えるようになった. 著者らは今後微小循環系を模した複雑な形状についても赤血球の流動を考慮した計算を行っていく予定である. 赤血球の流動は, 特に分岐部などにおいてまだ未解明な部分も多く赤血球の流動の末梢抵抗への影響が明らかになることが期待される.

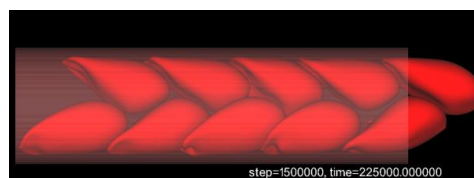
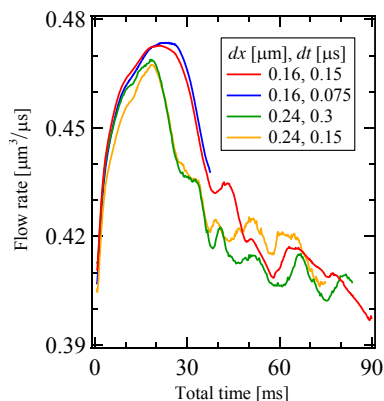
図 1 赤血球界面位置 ($dx=0.16 \mu\text{m}$, $dt=0.15 \mu\text{s}$, 225 ms)

図 2 流量の変化

文 献

- 1) Kaneko, N., et al., Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol., **300**, 754-761, 2011.
- 2) Kenichi Tsubota, et al., 生体医工学, 47(6): 501-507, 2009
- 3) D.V.Le et al., J. Comput. Phys., **228**, 8427-8445, 2009
- 4) J. Walter et al., Int. J. Numer. Meth. Eng., **83**, 829-850, 2010

第39回日本バイオレオロジー学会年会 プログラム・抄録集

ビールホップの含有成分イソフムロンによるヒト大動脈内皮細胞の保護作用の検討

富田純子*, 望月精一**, 藤本荘八***, 柏原直樹***, 谷本光音****

*笠岡市立市民病院 循環器内科 [〒714-0081 岡山県笠岡市笠岡 5628-1]

川崎医療福祉大学 医療技術学部 臨床工学科, *川崎医科大学 医学部 腎臓・高血圧内科,

****岡山大学 医歯薬学部大学院 血液・腫瘍・呼吸器内科学

1. 緒言

ホップはビールの苦み成分であるが、ビールの醸造過程でホップに含まれるフムロンが異性化され、イソフムロン、イソコフムロン、イソアドフムロンが生成される。これらの物質は、PPARs 活性化作用や2型糖尿病患者の血糖降下作用を有することが報告されており¹⁾、血管内皮機能の改善に作用することが期待される。また、ラットの腎臓で ROS (reactive oxygen species) の産生、すなわち酸化ストレスを減少させることも報告されている²⁾。今回、我々はヒト大動脈内皮細胞を用いて、in vitro でのイソフムロンの抗酸化作用を検討した。

2. 実験方法

イソフムロンを79%含有する異性化ホップ (IHE) を使用した。第3代ヒト大動脈内皮細胞 (HAECs) を継代培養し第5~8継代細胞を実験使用し、以下の2種類のストレス負荷の IHE による抑制効果を検討した。

①低酸素ストレス負荷: 低酸素下 (99%CO₂, 1% air) で、0.2~2 μg/mL の IHE を添加した状態で、HAECs を24時間培養して、cell viability を測定した。

②アンジオテンシンII (Ang II) 負荷: HAECs に 1 μmol/L Ang II を負荷し、生成した細胞内 ROS 量を DCFH-DA 法で測定した。

3. 実験結果

①低酸素ストレス負荷: cell viability は、コントロールに対して、低酸素下で0.44 ± 0.19 倍に低下したが、2 μg/mL IHE の添加によって、0.82 ± 0.12 倍に改善した。

②Ang II 負荷: Ang II 負荷では、コントロールに対し、生成 ROS 量が増加したが、IHE 添加によって、抑制された (Table 1)。

Table 1: Effect of IHE on Ang II-induced intracellular production of ROS in HAECs.

	Fluorescence intensity	p value
control	57.8±16.0	
Ang II	124.8±30.7	<0.01*
Ang II+IHE	87.8±20.5	<0.01 [#]

*p<0.01 vs control, #p<0.01 vs Ang II.

4. 考察

低酸素環境や Ang II 負荷は、酸化ストレスを増加させることが知られている。本研究では、ヒト大動脈内皮細胞において、イソフムロンが、こうした条件下で増加する酸化ストレス、すなわち生成 ROS を抑制する抗酸化作用を介して、細胞保護作用を発揮し得ることを認めた。また、イソフムロンの持つ抗酸化作用のみならず、PPARs 活性化作用も酸化ストレスを減少させた可能性があるものと推測された。

5. 結言

ビールホップに含まれるイソフムロンは、酸化ストレスの増加を抑制し、血管内皮細胞障害を抑制する細胞保護作用があると示唆された。

謝 辞

今回の研究の遂行にあたり、ホップエキスを提供して頂いたキリン株式会社 飲料技術研究所 吉田有人博士に深謝する。

文 献

- 1) Yajima H, Ikeshima E, and Shiraki M.: Isohumulones, bitter acids derived from hops, activate both peroxisome proliferator-activated receptor alpha and gamma and reduce insulin resistance. *J Biol Chem.* **279**, 33456-62, 2004.
- 2) Namikoshi T, Tomita N, Fujimoto S, Haruna Y, Ohzeki M, et al.: Isohumulones derived from hops ameliorate renal injury via an anti-oxidative effect in Dahl salt-sensitive rats. *Hypertens Res.* **30**, 175-84, 2007.

ポスターセッション

第39回日本バイオレオロジー学会年会 プログラム・抄録集

大豆タンパク質と米粉混合系の経時変化における影響

○吉村美紀*, 桑原亜衣*, 上野山あつこ*

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

1. 緒言

タンパク質や澱粉などの食品ハイドロコロイドは、食品素材としてだけでなく、健康維持増進において優れた機能性を有することが解明されつつある。

食品ハイドロコロイドとして加工食品に用いられ栄養価・機能性の高い大豆タンパク質と米粉に着目し、混合系ゲルの経時変化における混合比率の影響を力学的・熱的特性から検討した。

2. 実験方法

1) 試料調製

大豆タンパク質（粉末状大豆タンパクフジプロE, 不二製油（株））、米粉（うるち米, 前原製粉（株））を用いた。試料をイオン交換水に混合後、20分間で95℃まで昇温し95±5℃で30分間加熱後、ガラスリング（直径30mm×高さ20mm）に流しこみ、25℃で1時間保持し、10℃で18時間冷却後のものを試料ゲルとした。総濃度16.7w/w%とし、混合比率SPI:RF=0:10~10:0の11通りのゲルを調製した。

2) 米粉の物理化学的特性

米粉の平均粒子径、損傷澱粉率、アミロース含量、レジスタントスターチ含量、安息角を測定した。

3) 圧縮測定

クリープメーター（RE2-3305B, 山電製）を用いて、直径40mmのプランジャーで試料高さの70%を圧縮した。破断点がみられなかったため、初期弾性率と歪0.6における圧縮応力、圧縮エネルギーを求めた。

4) 示差走査熱量測定（DSC）

示差走査熱量計DSC6100（セイコーインスツルメンツ）を用いて、70μl銀製密封容器に50mgの試料20%水分散液を精秤し、同量の蒸留水をリファレンスとして、2℃/minで20~140℃まで昇温し、吸熱ピークの糊化温度（ $Tp1$ ）と米粉1mgあたりの糊化エンタルピー（ $\Delta H1$ ）を求めた。測定後、試料を10℃で21日間保蔵し、同条件で再度測定し、再糊化エンタルピー $\Delta H2$ を求めた。 $\Delta H2/\Delta H1$ を老化率として示した。

3. 実験結果および考察

1) 米粉の物理化学的特性

米粉の平均粒子径は小さく、米澱粉の単粒程度まで細かく粉碎されていると推察された。粒子の大きさと関係する安息角も低値となった。また、損傷澱粉率、アミロース含量、レジスタントスターチ含量も低値であった。本研究で用いた米粉が水挽きで製粉されているため、熱による損傷が少ないことが推察された。

2) 圧縮測定

混合ゲルにおいて初期弾性率、圧縮応力、圧縮エネルギーは時間経過に伴い、わずかに増加する傾向がみられた。大豆タンパク質単独系ゲル（SPI:RF=10:0）では24時間後、72時間後の各値は大きく増加した。大豆タンパク質1gあたりの吸水量は4.7gを示し、米粉の吸水量2.3gより大きく、大豆タンパク質比率が増加すると大豆タンパク質が水を抱き込み、米粉が利用できる残存水量が少なくなることが推察された。

3) DSC測定

混合系において、大豆タンパク質比率の増加に伴い、 $Tp1$ は高温側にシフトし、 $\Delta H1$ は減少する傾向がみられ、大豆タンパク質添加により米粉の糊化が抑制されることが推察された。21日後のDSC測定により再糊化ピークが認められたことより、米粉中の澱粉の老化が推察された。大豆タンパク質比率の増加に伴い、再糊化ピーク温度（ $Tp2$ ）は低温側にシフトし、 $\Delta H2$ は減少する傾向がみられた。老化率 $\Delta H2/\Delta H1$ は、大豆タンパク質比率の増加に伴い減少した。これらより、大豆タンパク質混合により米粉の老化が抑制されていることが推察された。

4. 結言

大豆タンパク質と米粉混合系ゲルは、時間経過に伴い圧縮測定各値はわずかに増加し、DSC測定で米粉中の澱粉が老化することが推察された。混合比率の影響より、大豆タンパク質により米粉の糊化は抑制され、老化がやや抑制されることが推察された。

新潟産米粉（こしのめんじまん）を利用した 生パスタ生地の力学特性と食感について

佐藤恵美子*、○永井紘太*、山田碧*、吉井洋一**

*新潟県立大学人間生活学部健康栄養学科 **新潟県農業総合研究所食品研究センター

1. 緒言

米を主食とする日本人の食生活が変化しつつあり、小麦製品の消費量が増え米の国内消費量は減少している。従来の米粒のまま利用・加工を行う粒食から、麺・パンなどの小麦粉製品への適用を想定して粉食化が提唱されてきた。米粉は小麦粉とは異なる米粉特有のテクスチャーがみられ、さらに機能性を高めるべく米粉の特性や製粉方法について研究されている。グルテンが含まれない米粉を種類などの食品に加工することは困難な課題とされていたが、新潟県では微細製粉技術や気流粉砕技術などにより利用性の高い米粉の製造がなされ実用化されている。生パスタの特徴は鶏卵を使用しているため独特のテクスチャーを有し、加熱時間と食味との相互作用について検討することは興味深いことである。米粉の利用推進とより良い食味食感の優れた米粉パスタを研究するために、高アミロース米粉の麺専用こしのめんじまんを用いて生パスタを調製した。生パスタの力学特性に及ぼす鶏卵ならびに茹で時間、加熱後の放置時間の影響について、大変形領域の破断特性、テクスチャー、官能検査について検討した。さらに硬質小麦粉のデュラムセモリナと麺用米粉こしのめんじまんを用いて調製した生パスタ生地の力学特性について比較検討した。

2. 実験方法

米粉（こしのめんじまん）120g、食塩2g、十分に攪拌した鶏卵120g、オリーブ油12gの順に専用ボールに加え、ミキサー（Kitchen Aid KSM100）を用いて50rpmで5分間、70rpmで15分間混捏した後、ラップで米粉生地を包み冷蔵庫に入れ30分間熟成させた。米粉生地を2分割し、パスタローラー（Kitchen Aid付属）で圧延し、パスタカッター（Kitchen Aid付属）を用いて麺を調製した。カッターは幅6.5mmのものを使用した。5分間加熱した試料を2cmの長さで切り破断測定を行った。加熱前の米粉生地についてはテクスチャー測定を、

加熱後の生地については破断測定を行った。クリープメータ及び楔型プランジャーを用い定速圧縮試験を実施し、自動解析ソフトウェア（テクスチャー解析Windows ver.1）にて測定した。

3. 実験結果

破断特性はいずれも延性破断を示し、加熱後のこしのめんじまんパスタ生地の破断歪率は卵白添加試料が最も高く破断しにくいタフな特性を示した。また、5分加熱生地の破断歪率（78.3%）と7分加熱生地（78.5%）は共に高く、両者の間に有意差は認められなかった。5分加熱後のパスタ生地の破断応力に及ぼす放置時間の影響は、放置時間の増加に伴って破断応力と破断歪率は低下し、5～8分で最も減少した。こしのめんじまんとデュラムセモリナの比較においては官能検査のSD法により、5分加熱試料は硬く弾力があるが、7分加熱試料は軟らかくもっちりとした食感を示した。加熱前の卵添加のこしのめんじまんの破断歪率（53.0%）はデュラムセモリナの破断歪率（70.2%）よりも低いですが、加熱によってこしのめんじまん生地（77.3%）は、約24%も増加した。こしのめんじまんで調製した生パスタの破断特性と官能検査のもっちりとした弾力性は卵添加と加熱操作によってデュラムセモリナの生地に劣らず、おいしさの点からも高く評価された。

4. 考察

官能検査の結果から、こしのめんじまんならびに生地にもっちり感（粘りとこし）を与える特性があり、これは麺に必要なテクスチャーパラメーターであることより、米粉の特徴を生かした嗜好性の高いパスタ生地になることが考えられた。

5. 結語

こしのめんじまんならびに、卵添加と加熱操作によって弾力性やコシのある生地に変化し、デュラムセモリナの破断応力および破断歪率、およびテクスチャー特性の凝集性に近似する値を示した。

気管・気管支内の気流運動と痰塊の運動

多羅尾範郎* 元 聖隷クリストファー大学

1. 緒言

高齢化の進む近年、嚥下能力や(繊毛運動や咳を含む)去痰能力が衰え、吸引等の呼吸器系のケアを必要とする者の増加と共に、痰のレオロジー研究が発展的な呼吸器浄化に必要となりつつある。

咳や呼吸音の研究と吸引や去痰の研究は、一見、全く関係がない様に思われがちであるが、咳に於ける気道壁の痰塊の運動や呼吸の気流による肺音が気道壁に付着した痰の運動で変わる事を考えれば、相互の深い関係が推測される。事実、気管や太い気管支に張り出した痰塊は、比較的低い振動数で振動し、咳音中に Productive Cough(痰の絡んだ咳)特有の音を発し、痰で細くなった気管で生ずる肺音は、呼吸中にできる渦の大きさが小さくなり、高音側にずれる。更に、これらのメカニズムを調べる事で、振動気流と痰塊の共振を利用して、積極的に去痰を促す事ができることがわかる。

もちろん、痰の物理的性状は一樣ではなく、場所により、採取方法により、採取からの物理的・化学的経過により、経過時間により、かなり変化し、簡単にはレオロジー研究対象とはなりえない。

しかしながら、多くの粘性痰の場合、大雑把な物理的性状が共通しているので、実際には、前述の様に Productive Cough の音声分析で、120Hz~500Hz の比較的低い振動数の特徴的音声が含まれる。

今回の研究においては、物理的性状が人の標準的粘性痰に類似したムチン水溶液を使用し、物理的実験結果から得られた疑似痰の流動特性に即したモデルを構築し、その計算から気道に付着した痰塊の気流中の挙動を調べた。特に、気流との相互作用では、共振と剥離の可能性について、興味深い結果が出たので、ここに発表する。

2. 実験方法と計算モデル

2. A1 Productive Cough の実験

内径 1.8cm の塩化ビニール管内に、ムチン水溶液(物理的性状は別の実験で測定済み)を paste し、咳類似の破裂的気流を流し、その時の音をマイクで拾い、それを周波数分析した。比較のため、管内に何も塗らない場合の音も調べた。

2. A2 疑似痰ムチンの流動特性を調べる実験

Maron-Krieger-Sisko 型の非 Newton 粘度計により、いろいろな Share rate に於ける見かけ上の粘度を測定した。(20%ムチン水溶液, 10°C)

2. A3 平行板型振動 Couette 流の実験

疑似痰(ムチン水溶液)振動中の剛性率を測定するために、2枚の平らな板の間に疑似痰を挟み、振動させた。上に置く1枚は透明なアクリル板で、注入した疑似痰の体積と広がった面積から、板間の疑似痰の厚みが分かる。

2. A4 振動板上の疑似痰の実験

振動板上の疑似痰塊の挙動をみる実験で、単にいろいろな振動数の振動板上で疑似痰が振動する場合と、振動中に気流による剥離を起こさせる実験とを行い、痰塊の挙動と剥離を高速ビデオカメラで撮影した。

2. B1 痰栓モデル

円筒形の痰の栓が圧力振動で駆動され、運動する様を計算した。痰栓内の流動モデルは、実験でその妥当性が確認された Casson 流動特性を採用した。

2. B2 管内突出痰塊モデル

円筒内に付着した痰塊が振動気流に駆動され運動するメカニズムを記述する解析的方程式から、張り出し幅・高さ・痰の弾性率、から、共振周波数を求めた。

また、上記形状痰塊表面の圧力分布から、定常的に一樣に気流が流れている場合の剥離開始(中心)流速と形状値の関係を計算により求めた。

3. 実験とモデル計算結果

実験では、湿性咳嗽(Productive cough)の音中には120Hz~500Hz の比較的低い振動数の音が含まれる事、ムチン疑似痰の流動特性の代わりに Casson 流動性を使用する事が妥当である事、ムチン疑似痰の剛性率、疑似痰の大きさと共振周波数、気流による剥離メカニズム、等が測定・観察された。計算では、痰栓の径と共振振動数の関係、気管支に突出した痰塊の形状と共振振動数の関係、剥離開始流速と(不変形)形状値との関係、等が分かった。

4. 考察と結論

管内渦の大きさからの自然発生圧力波振動数下限により、中枢付近の気道内の痰塊を取り除くには、外部からの強制振動が必要である。

第39回日本バイオレオロジー学会年会 プログラム・抄録集

フィブリン重合過程へのカルシウム添加効果

小島瑠美, 土橋敏明, 外山吉治

群馬大学 理工学府 物質・生命理工学専攻 [〒376-8515 群馬県桐生市天神町1丁目 5-1]

1. 緒言

フィブリノゲンは血液凝固因子の1つであり中央にE領域, その両端にD領域をもつ血漿糖タンパク質である。血液凝固カスケード反応の最終段階において, フィブリノゲンに酵素トロンビンが作用すると, フィブリノゲンのE領域にあるFpAとFpBが切断されフィブリンとなる。フィブリンは半分子ごとに重合することによりプロトフィブリルを形成し, その後ラテラル方向への集合によってゲルネットワークを形成する。一方, フィブリノゲンのD領域には4つのカルシウムイオン結合サイトが存在する。フィブリン重合におけるこれらの結合サイトの役割については, いくつかの研究報告があるが完全に理解されていない¹⁾。本研究は, カルシウムイオンがフィブリン重合過程, フィブリンゲルの力学特性およびトロンビン活性に与える影響について, 濁度測定, 動的粘弾性測定および蛍光測定により検討した。

2. 実験方法

試料: フィブリノゲンはウシ由来フィブリノゲン(SIGMA-Aldrich, Type1-s)をトリス緩衝生理食塩水(TBS)に溶解し, 透析を行ったものを用いた。トロンビンは牛由来トロンビン(和光純薬)を用いた。カルシウム溶液は, 塩化カルシウム二水和物をTBSに目的の濃度に溶解した。

濁度測定: 測定は分光光度計(V-630, Jasco)を使用した。5mg/ml フィブリノゲン水溶液に0.25U/ml トロンビンおよび塩化カルシウム溶液を0mM, 10mM, 25mM, 50mM, 75mM, 100mMと濃度を変えて添加した試料を用いて, 波長350nmにおける濁度の波長依存性を測定した。

動的粘弾性測定: 動的粘弾性の測定には平行板型動的粘弾性装置(東洋精機 レオグラフ・ゾル)を使用した。測定は温度25°C, 加振周波数3Hz, 変位量 $\pm 50\mu\text{m}$ で行った。5mg/ml フィブリノゲン水溶液に0.25U/ml トロンビンおよび塩化カルシウム溶液を0mM, 50mM, 100mMと濃度を変えて添加した試料の貯蔵弾性率(G')および損失弾性率(G'')を測定した。

蛍光測定: 蛍光強度の測定は蛍光分光光度計(FP-8200, Jasco)を使用した。0.03mM MCA 蛍光試薬溶液に0.1U/ml トロンビンおよび塩化カルシウム溶液を0mM~100mMと濃度を変えて添加した試料の蛍光強度の経時変化よりトロンビンの酵素活性を測定した。

3. 実験結果

濁度測定: カルシウム濃度10mM, 25mM, 50mMでは濁度の立ち上がりまでの時間が短くなり, 飽和値が0mMよりやや上昇したことからゲル化の促進が観察された。一方75mM, 100mMでは, 濁度の立ち上がりまでの時間が長くなり, 飽和値が0mMより低下したことからゲル化の抑制が観察された。

動的粘弾性測定: G' の経時変化を図に示す。カルシウム濃度0mMに対して50mMでは G' の値の著しい上昇が観察された。一方, 100mMでは G' の増加の遅延が観察された。

蛍光測定: カルシウム濃度25mM程度でやや活性が上昇した後, さらに濃度を上げると活性は抑制された。

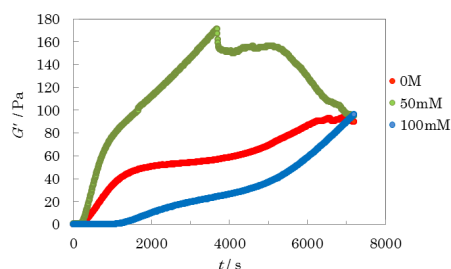


図 各カルシウム濃度における動的粘弾性測定で得られた G' の経時変化

文献

- 1) J. W. Weisel et al., Blood, 121, 1712-1719 (2013).

赤血球酵素処理が赤血球集合能に与える影響

岩上祐樹, 須田巧, 中村真彦, 植靖幸, 土橋敏明, 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丁目5-1]

1. 緒言

赤血球はフィブリノゲンなどの高分子溶存下で連鎖とよばれる集合体を形成する。連鎖は血液のレオロジー的性質に大きな影響を与え、その異常亢進は時に致命的なものになる。ところが、連鎖の形成メカニズムについては現在、高分子が赤血球間を架橋する「架橋集合」と高分子が赤血球間から排除される「枯渇集合」の競合する二つの説がある。これまでにそれぞれの説を間接的に支持するいくつかの報告はあるが、両者の優位性について議論がなされている。赤血球の集合能は集合因子である高分子の種類やウシやウマなど赤血球の由来によって大きく異なる。また、本来集合能をもたないウシ赤血球もトリプシン処理を施すことにより、集合体を形成することが貝原によって報告されている (M. Kaibara, *Biorheology*, 1983)。本研究の目的は赤血球表面の物理化学的性質や赤血球と集合因子との相互作用を調べ、赤血球集合の形成メカニズムに関する知見を得ることである。今回の発表では、酵素処理による赤血球表面の電気的性質の測定と水晶振動子マイクロバランス (QCM) 法を用いた赤血球とフィブリノゲンとの相互作用測定について報告する。

2. 実験

赤血球表面の電気的性質：

ウマおよびウシ血液を遠心し、血漿とパフィーコートを除いた後 PBS で赤血球の洗浄を 3 回行った。洗浄した赤血球を PBS で希釈し、目的の Ht の赤血球懸濁液を調製した。ノイラミダーゼおよびトリプシンを目的の濃度に調製し、赤血球懸濁液と等量混合して 3h 反応させた。遠心処理により上澄みを取り除いた赤血球を PBS で洗浄し、スクロース緩衝液を用いて目的の Ht に調製した。25℃, 60V でゼータ電位の測定を行った。また、酵素処理により遊離されたシアル酸およびグルコースの定量を試みた。

赤血球表面-フィブリノゲン間の相互作用：

9 MHz 水晶振動子の金表面にフィブリノゲンを固定し、ウシおよびウマ赤血球を添加した。添加後の周波数変化から赤血球表面-フィブリノゲン間の相互作用の直接測定を試みた。

3. 結果

ゼータ電位測定：

ノイラミダーゼ処理後のウマ赤血球表面のゼータ電位は、糖鎖末端のシアル酸が切除されることで未処理赤血球よりも約 20% 負電位が減少した。一方、トリプシン処理後の赤血球表面におけるゼータ電位は未処理赤血球よりも約 27% 負電位が増加した。このことはウマ血液については、トリプシン処理が赤血球間の斥力を減少させるわけではないことを示唆する。同様の測定をウシ赤血球にて行う予定である。

QCMによる相互作用測定：

まず始めに、ポジティブコントロール実験として赤血球表面との強い相互作用が知られているコンカンバリン A との相互作用について測定を行った (下図)。赤血球添加により、著しい周波数の低下が観測され赤血球表面との相互作用が確認された。同様の測定を酵素処理を施した赤血球とフィブリノゲンを用いて行う予定である。

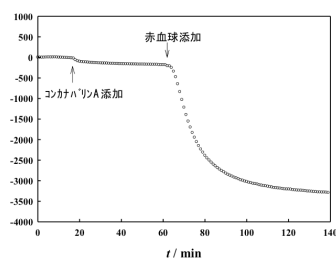


図 ConA-赤血球間の QCM 測定

第 39 回日本バイオレオロジー学会年会 プログラム・抄録集

枯渇相互作用による凝集現象の MONTE CARLO SIMULATION

工藤雄貴*, 山本隆夫**

*群馬大学大学院理工学府 分子化学部門 理論物理化学研究室

[〒376-8515 群馬県桐生市天神町 1-5-1]

**群馬大学大学院理工学府 理工学基盤部門

1. 緒言

枯渇相互作用とは、溶液中の粒子の局所的な濃度差によって生じるエントロピー由来の引力であり、1958 年に朝倉・大沢¹⁾によって提唱された。

本研究では枯渇相互作用をする粒子系を格子模型²⁾で記述し、この凝集現象を調査した。

2. シミュレーション方法

各格子点 \mathbf{r} は巨大分子が入っている $Q=1$ の状態と二成分溶媒が入っている $Q=0$ の状態のいずれかをとるものとする。枯渇相互作用は、 $Q=0$ の格子点の両側の格子点が $Q=1$ であるときに発生する。また、生じる枯渇相互作用が x, y, z 方向の全てで独立であるとし、ハミルトニアン H を以下のように表した。

$$\frac{H}{k_B T} = J \sum_{\mathbf{r}} \sum_{\mathbf{e}} [Q(\mathbf{r}-\mathbf{e})(1-Q(\mathbf{r}))Q(\mathbf{r}+\mathbf{e})] - h \sum_{\mathbf{r}} Q(\mathbf{r})$$

ここで、 k_B はボルツマン定数、 T は温度、 J は枯渇相互作用の強さ、 \mathbf{e} は単位ベクトル、 h は巨大分子の化学ポテンシャルである。シミュレーションで変更するパラメータとして J と h を設定した。格子体積を 40^3 、 J を $0 \sim 2.0$ 、 h を $-1.0 \sim 1.0$ とした。このときに巨大分子の濃度 $\langle Q \rangle$ を求め、さらに濃度のゆらぎ $\langle Q^2 \rangle - \langle Q \rangle^2$ を求めた ($\langle \dots \rangle$ は熱平均)。

3. シミュレーション結果

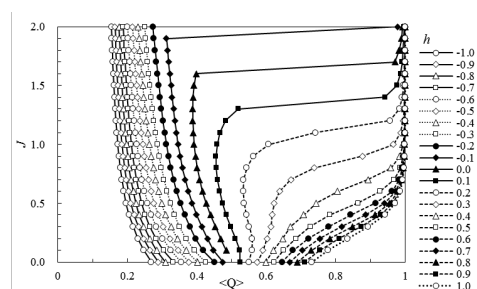


Fig 1. Relationship between J and $\langle Q \rangle$

h を固定し、 J を変化させたときの $\langle Q \rangle$ の変化と、そのときのゆらぎの変化を図 1 および図 2 に示し

た。 J の大きい領域において $\langle Q \rangle$ の値に飛びが見られ、相分離が生じた。また $h=0.1$ および 0.2 のとき、ゆらぎの値に大きなピークが見られた。

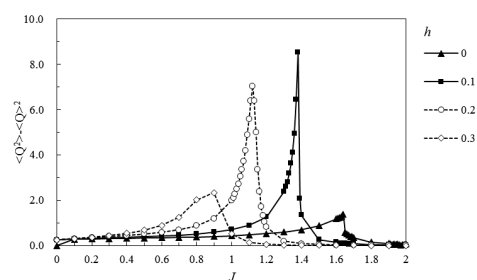


Fig 2. Relationship between $\langle Q^2 \rangle - \langle Q \rangle^2$ and J

4. 考察

図 1 において $\langle Q \rangle$ の値に飛びが生じた原因として、ほぼ全てのセルが $Q=1$ となったほうが、 $Q=0$ のセルが残るよりもエントロピーロスを抑えることができるためであると考えられる。図 1 および図 2 について、相分離が見られなくなったところでゆらぎの値にピークが見られることから、この近傍に臨界点が存在すると考えられる。

5. 結言

今後の展望として、枯渇相互作用の影響の受け方に方向性をもたせた場合の凝集挙動について調べていくとともに、枯渇相互作用に加えて巨大分子間に直接相互作用が働いた場合の凝集挙動についても調査を行っていきたいと考えている。

文献

- 1) Asakura, S. and Oosawa, F.: Interaction between Particles Suspended in Solutions of Macromolecules, *J. Polymer Sci.*, **33**, 183, 1958.
- 2) Shimoda, K. and Yamamoto, T.: Effect of Concentration Fluctuation of Solution to Membrane Fluctuations in Multi Lipid-bilayer Membrane System, *AIP Conference Proceedings*, **1518**, 440, 2013.

第 39 回日本バイオロロジー学会年会 プログラム・抄録集

平行平板間の高分子溶液のモンテカルロシミュレーション

宮下嶺*, 山本 隆夫**

* 群馬大学大学院理工学府分子科学部門(物質・生命理工学教育プログラム) 理論物理化学研究室
[〒376-8515 群馬県桐生市天神町 1-5-14 号館]

** 群馬大学理工学府理工学基盤部門

1. 緒言

生体内では高分子鎖が本来の広がり程度より狭い領域に閉じ込められることがある。そのような狭い領域に閉じ込められた高分子溶液の性質についてモンテカルロシミュレーションで調べた結果を報告する。狭い領域として間隔 Mz の平行平板間を考える。その平板間に挟まれた高分子溶液中の高分子鎖の広がり具合を、平行平板に垂直な方向の慣性半径 R_z と、 Mz および高分子鎖長 L の関係に注目して解析した。この関係を導出する現象論を構築し、シミュレーション結果をこの現象論に基づき解析した。

2. 格子模型

モンテカルロシミュレーションは格子模型を用いて行った。x, y 方向の格子点数 M を 300 とし、周期境界条件を課した。x-y 平面に平行な平板の間隔 $Mz=6\sim 70$, $L=20\sim 280$ とし、体積分率が $\Phi=1/90$ となるような分子鎖の本数 n を調整した。

j 番目の高分子鎖での s 番目の segment の格子上的位置を, $r_j = (x_j^{(1)}(s), x_j^{(2)}(s), x_j^{(3)}(s))$ とする。

Hmailtonian H と計測する慣性半径はそれぞれ

$$H = \varepsilon \sum_{a=1}^3 \sum_{j=1}^n \sum_{s=1}^L |x_j^{(a)}(s) - x_j^{(a)}(s-1)| \quad (1)$$

$$R_z^2 = \frac{1}{n} \sum_{j=1}^n \frac{1}{L} \sum_{s=1}^L (x_j^{(3)}(s) - x_{j,G}^{(3)})^2 \quad (2)$$

ここで ε は、高分子鎖の曲がりにくさを示す。 $x_{j,G}^{(3)}$ は j 番目の高分子鎖の重心の z 座標。ボルツマン定数を k_B として、温度 T は $T = \varepsilon/k_B$, 高分子鎖間相互作用として排除体積効果のみを考慮した。

3. シミュレーション結果と考察

一般に R_z^2 は高分子鎖長 L と間隔 Mz の関数、すなわち 2 つの引数を持つ関数 f を用いて $R_z^2 = f(L, Mz)$ で表せることがわかる。

平板間の溶液中の高分子鎖をガウス鎖にその z 座標 $x^{(3)}(s)$ に対して $0 \leq x^{(3)}(s) \leq Mz$ という条件を

課した現象論模型に Self-Consistent Harmonic 近似¹⁾を用いて解析を行うと、スケーリング関係

$$R_z^2 / L = g(Mz^2 / L) \quad (3)$$

が得られる。ここで、 g はある関数。このことはシミュレーション結果を、 R_z^2/L , Mz^2/L でプロットするとある Universal Curve 上に乗ることを示している。

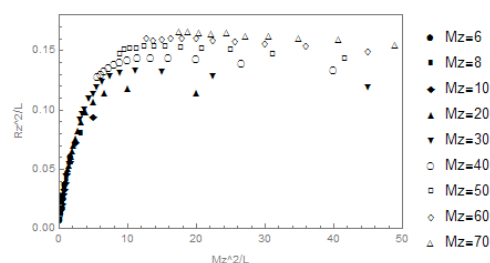


Fig.1 Relationship between R_z^2/L and Mz^2/L .

データをプロットしたものを図 1 に示す。これより Mz^2/L が十分小さいとき、Universal Curve 上にプロット点に乗るので導出したスケーリング関係式が正しいことが分かる。

4. 結言

平行平板中の濃厚高分子鎖溶液の一本の高分子鎖の広がり具合を、格子模型を用いたモンテカルロシミュレーションで調べた。

平行平板に垂直方向 (z 軸方向) では、 z 軸方向の慣性半径 R_z に制限が加えられる。このため、 R_z は L と Mz の関数となる。現象論によりスケーリング関係 $R_z^2 / L = g(Mz^2 / L)$ を導出した。シミュレーション結果を R_z^2/L , Mz^2/L でプロットすると Universal Curve に乗ることより、スケーリング関係が妥当であることを示した。

文 献

- 1) Nattermann, T.: Domain-walls fluctuations and the incommensurate-commensurate transition in 2 and 3 dimensions. Journal de physique, **43**, 631, 1982.

第 39 回日本バイオレオロジー学会年会 プログラム・抄録集

異なるゲル化剤を用いたゼリーの嗜好性と物性の比較

桑原亜衣*, 吉村美紀*, 中村浩行**

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

** シナノケンシ株式会社

1. 緒言

日本は超高齢社会に到達し、ゲル状食品の需要が高まり、ゲル化剤に要求される機能性も幅広いものとなっている。食品に用いられるゲル化剤には起源の異なるものが種々あり、その特性も異なる。各々の特性を活かし食品に用いることで、幅広い性質を付与することができる。そこで本研究では、6種類の起源の異なるゲル化剤を用いたゼリーを調製し、その物性と離漿量・吸水率を測定し、嗜好性との関連を検討した。

2. 実験方法

試料は寒天 (AG)、ゼラチン (GL)、キサンタンガムとローカストビンガムの1対1混合 (X-L)、ネイティブ型ジェランガム (NG)、脱アシル型ジェランガム (DG)、コーンスターチ (CS) を用いた。ゲル化剤濃度は AG, X-L, NG, DG は 1% (w/w) とし、GL は 2% (w/w)、CS は 13% (w/w) とした。NG と DG は乳酸カルシウムを 0.1% (w/w) 添加した。6種類のゲルの破断測定と濾紙法による離漿量測定、重量増加による吸水量測定を行った。また、AG, X-L, DG, CS の 4種類のゲルについて、平均年齢 21.5 歳の学生 20 名をパネルとして 5 点尺度による採点法を用いて官能評価を行った。官能評価は、兵庫県立大学倫理委員会の承認を得て実施した。破断測定、離漿量測定、吸水率測定と官能評価で有意差が認められた項目について、統計ソフト (IBM SPSS Statistics22) を使用し、二変量の相関分析を行い、Pearson の積率相関係数を算出した。

3. 実験結果

1) 破断測定: AG は破断歪、破断応力、破断エネルギーが最も小さくなり、脆く弱いゲルであった。GL は破断歪が大きく、応力とエネルギーは小さくなり、軟らかく変形しやすいゲルであった。X-L は試料の高さ 80 % までの圧縮において破断点が見られず、砕けにくいゲルであった。NG は歪、応力、エネルギーが大きく、硬く変形しやすいゲルであった。DG は歪が小さく、応力とエネルギーが大きく、非常に硬く脆いゲルであった。CS は歪が中程度で応力、エネルギーは小さいため、軟らかくある程度の変形性のあるゲルであった。

2) 離漿量: いずれのゲルも時間経過とともに有意に増加した。30 分後では AG, DG の離漿量は大きく、CS の離漿量が顕著に小さくなった。AG は他の多糖に比較して離漿が生じやすいことが報告されているが、本研究においても同様の結果を得た。

3) 吸水率: X-L, NG の 2種類が他のゲルと比べ有意に大きく、吸水性の高いゲルであった。その他の 4種類に有意な差は認められなかった。

4) 官能評価: 砕けやすさ、飲み込みやすさの項目に有意差がみられた。AG, X-L, CS, DG の順に砕けやすく飲み込みやすいと評価され、AG, X-L 間以外には全て有意差が認められた。砕けやすさと飲み込みやすさ間の Pearson の相関係数は 0.990 であり、本研究では、砕けやすいものが飲み込みやすいと評価された。

4. 考察

破断測定と官能評価の結果を比較すると、砕けやすさ、飲み込みやすさと破断応力、破断エネルギー間の Pearson の相関係数は 0.91 程度であり、有意差は認められないものの関連性が強い傾向にあった。破断応力、破断エネルギーが小さいものは官能評価でも砕けやすく飲み込みやすいと評価された。X-L と NG には吸水性がみられ、離漿量測定では AG の離漿量が多く、CS は少なくなった。この結果が官能評価の飲み込みやすさに影響すると予想したが、相関は見られなかった。本研究では、ゲル強度に差がみられ、飲み込みやすさに強く影響したためであると推察される。また、若年者ではゲルの口腔内滞在時間が短いため、離漿・吸水の影響が小さくなったためであると推察した。

5. 結言

食品のテクスチャー・コントロールを目的として使用される 6種類のゲルの破断測定、離漿量測定、吸水量測定と官能評価の結果を比較した。ゲルの破断応力、破断エネルギーが小さいものは官能評価で砕けやすいと評価された。官能評価では AG, X-L, CS, DG の順に砕けやすく、飲み込みやすいと評価された。ゲルの離漿量・吸水量は官能評価の飲み込みやすさへの影響は小さく、破断応力、破断エネルギーにより飲み込みやすさを判断していることが示唆された。

分離大豆タンパク質添加エマルションの流動特性

江木伸子^{*,**}, 平尾和子^{**}, 前田康智^{**}, 村上昌弘^{*}, 斎尾恭子^{**}

* 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]

**愛国学園短期大学

1. 緒言

前報¹⁾では, 部分加水分解処理した分離大豆タンパク質 (以後 SPI) を水に懸濁し, 大豆油 (以後油) と乳化した後酢を添加混合する方法により安定性が高く滑らかなエマルションを調製することができた. しかし, SPI, 油, 酢水の配合割合により, エマルションの性状が異なると考えられた. 本研究では, Scheffé の単純格子計画法²⁾を用いて SPI, 油, 酢水の 10 個の配合比を求め, 各エマルションの機器測定および官能評価を行い, エマルションの性状に及ぼす 3 成分の影響を検討した.

2. 実験方法

SPI および油は不二製油 (株), 水は蒸留水, 酢は 4.3%酢酸溶液を用いた. SPI, 油, 酢水の 10 個の材料配合比に基づき, パーミックス M250 (ESGE 社) を用いてエマルションを調製した. 流動特性は, TV22 型回転粘度計 (東機産業 (株)), 25°C, 3° × 9.7R コーンローターにて, ずり速度 1~100 s⁻¹ で段階的に上昇下降させ測定した流動曲線よりチキソトローピー特性値 Th (以後 Th) と, 上昇時の流動曲線から降伏値, 粘弾性係数および流動性指数を求めた. その他, 平均粒子径 (顕微鏡), pH, 色度 (分光色差計), 硬さ・付着性 (クリープメーター: RHEONER II 山電 (株) ならびに官能評価 (特性評価および嗜好) を行った. 各特性値に対して 3 次の推定式を算出し, 推定値の適合性を検定した後, 3 次の推定曲線で描写した.

3. 実験結果

①のエマルションは測定中に試料の滑りがみられ, SPI が過剰であると考えられた. ②~⑩のエマルションはすべて降伏値をもつ擬塑性流動を示した. SPI の水準が高いエマルションほど pH が高く, 粒子は小で, 赤と黄色が強く, 硬さ, 付着性が大で, 官能評価において硬く, 酸味と油味が無いと評価された. 特に④と⑧は Th, 降伏値, 粘弾性係数が高く示された. 酢水の水準の高い③, ⑤, ⑩は低い Th, 降伏値, 粘弾性係数を示した. 油の水準の高い②, ⑦, ⑨と⑥はこれらの中間の値を示した. また②, ⑦, ⑨ の流動性指数は他のエマルションと比較して低い値を示し, 低い pH, 明る

い白色, 粒子が大で, 硬さ, 付着性が低く, 滑らかさを有し, 色, 硬さ, 滑らかさ, 油味が官能評価において好まれた. ②のエマルションはホイップクリーム様, ⑦はマヨネーズ様, ⑨はスプレッド様の形状を示し, 官能評価 (嗜好) の総合評価で有意に好まれた.

4. 考察

①を除く②~⑩のエマルションの機器測定の特性値は, 官能評価・特性評価の色, 硬さと嗜好の色との間に相関が認められた. また, 流動性指数は官能評価・嗜好の油味と相関があり, その他, Th, 降伏値, 粘弾性係数と特性評価の硬さとの間, 降伏値は嗜好の色との間に, Th は嗜好の色と総合評価との間に相関が認められた. 官能評価で好まれた油の水準の高い②, ⑦, ⑨のエマルションは, pH, 流動性指数, 硬さ, 付着性の値が低く, 滑らかさがあるエマルションを示したことから, 物性の各特性値はエマルションの性状の評価に有効であることが考えられた.

5. 結言

Th, 降伏値, 粘弾性係数, 流動性指数の流動特性値は官能評価の特性値との間に相関が認められ, SPI エマルションの性状の評価には有効であった.

謝 辞

試料を提供いただきました不二製油株式会社にお礼申し上げます.

文 献

- 江木伸子, 平尾和子, 廣瀬理恵子, 斎尾恭子, 村上昌弘: 大豆タンパク質添加エマルションの物性とそのエマルション特性を利用した食品の調製, 日食科工学会誌, **63**, 5, 2016, 掲載予定.
- H. Scheffé: Experiments with Mixtures. Journal of Royal Statistical Society Series B, **20**, 344-361, 1958.

表 1. Scheffé の単純格子計画法による材料配合比

試料番号	格子点水準			材料配合比 (全量 100g)			
	X ₁	X ₂	X ₃	SPI	大豆油	酢水	
			酢			水	
①	(1, 0, 0)	23	36	5	36		
②	(0, 1, 0)	4	55	5	36		
③	(0, 0, 1)	4	36	5	55		
④	(1/2, 1/2, 0)	13.5	45.5	5	36		
⑤	(0, 1/2, 1/2)	4	45.5	5	45.5		
⑥	(1/2, 0, 1/2)	13.5	36	5	45.5		
⑦	(1/3, 1/3, 1/3)	10.4	42.3	5	42.3		
⑧	(2/3, 1/6, 1/6)	16.7	39.1	5	39.2		
⑨	(1/6, 2/3, 1/6)	7.2	48.6	5	39.2		
⑩	(1/6, 1/6, 2/3)	7.2	39.1	5	48.7		

酢: 4.3%酢酸

カルボン酸型シゾフィランの水溶液中での構造変化

大隅隆光*, 吉場一真*, 佐藤尚弘**

* 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]

** 大阪大学大学院 理学研究科 [〒560-0043 大阪府豊中市待兼山町 1-1]

1. 緒言

シゾフィラン (SPG) は β -1, 3-グルコシド結合を主鎖とする多糖であり, 主鎖グルコース 3 残基当たり 1 つ β -1, 6-結合の側鎖グルコースを持つ. この多糖は水溶液中では剛直な三重らせん構造で溶解する.¹⁾ Crescenzi らは過よう素酸ナトリウム (NaIO_4) と亜塩素酸ナトリウム (NaClO_2) を用いた二段階の酸化反応により側鎖グルコースを開裂させた Fig.1 に示すカルボン酸型シゾフィラン (Sclerox) を合成した.²⁾ 側鎖にカルボキシ基が導入されているため, Sclerox は水溶液中で電解質高分子の性質を示す.

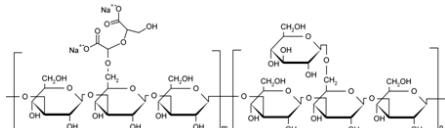


Fig.1 Chemical structure of carboxylated schizophyllan

最近, 我々は Sclerox が反応後に三量体を維持しており, その分子形態が SPG よりも屈曲性が高くなり, 伸びた分子形態となることを報告した.³⁾ 本研究では, 多角度光散乱検出器付きサイズ排除クロマトグラフィー (SEC-MALS), 及び粘度測定により Sclerox の三重らせんの水溶液中での構造変化について調査した.

2. 実験方法

2-1. 試料: 分別精製した SPG を, NaIO_4 , 及び NaClO_2 を用いた酸化反応によって酸化度の異なる Sclerox 試料を合成した. 合成した試料の酸化度 (DS) を 0.01 M NaOH を用いた酸塩基滴定により決定した.

2-2. SEC-MALS 測定: Sclerox を 0.1 M NaCl+0.01 M NaOH 水溶液に溶解させた. この溶液を 40~90 °C で 2 時間加熱処理した後 40 °C で SEC-MALS 測定を行った. SEC カラムとして SHODEX 製 OHpak-806MHQ を二本直列に用い, MALS に Wyatt technology DAWN HELLEOS II を用いた. 溶出液に 0.1 M NaCl 水溶液を用い, 1.0 ml/min の流速で行った.

2-3. 粘度測定: Ubbelohde 型毛細管粘度計を用いて Sclerox 試料の 0.1 M NaCl+0.01 M NaOH 水溶液の粘度を測定した.

3. 実験結果と考察

Fig. 2 は Sclerox-1.0 (DS=0.32) の 0.1 M NaCl 水溶液中 0.01 M NaOH の溶媒条件で 40 °C から 90 °C で 10 °C 間隔で 2 時間の加熱処理後に測定された 40 °C での SEC-MALS 測定の結果を示す.

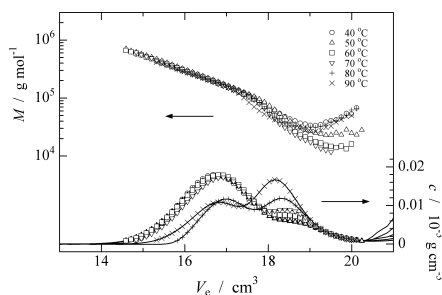


Fig. 2 Elution curves for Sclerox-1.0 (DS=0.32) in 0.1 M NaCl after heating at indicated temperatures for 2 hours.

70 °C 以上の加熱処理後の試料では, 低 M 側のピークが増加し, 高 M 側のピークが減少した. 40 °C で加熱した試料では $M_w=184,000 \text{ g mol}^{-1}$ ($M_w/M_n=1.7$) であったが, 90 °C で加熱した試料では $M_w=107,000 \text{ g mol}^{-1}$ ($M_w/M_n=1.9$) まで低下した. 同じ条件で行われた粘度測定でも加熱処理後の粘度は低下した. これらの結果は加熱により解離した単一鎖が三重鎖と溶液中に共存し, 三重鎖から単一鎖への構造変化が不可逆であることを示している. ピーク位置が加熱温度にほとんど依存しないことから, Sclerox の三重鎖から単一鎖への構造変化は中間状態を経ずに起こると考えられる.

4. 結言

Sclerox は三重鎖から単一鎖へ構造変化は中間状態を経ずに起こり, 三重鎖と単一鎖の混合状態となる.

文 献

- 1) Norisuye, T., Yanaki, T., Fujita, H. J. Polym. Sci., Polym. Phys. Ed. 1980, 18, 547-558.
- 2) Crescenzi, V., Gamini, A., Paradossi, G., Torri, G. Carbohydr. Polym. 1983, 3, 273-286.
- 3) Yoshida, K., Sato, T., Osumi, T., Ulset, T. A.-S., Christensen, E. B. Carbohydr. Polym. 2015, 134, 1-5.

第 39 回日本バイオロロジ学会年会 プログラム・抄録集

シゾフィランの水溶液中での秩序-無秩序転移
におけるカルボキシ基導入の効果

岡本理花*, 吉場一真*, 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

シゾフィラン (SPG) はスエヒロタケから産生される中性の天然多糖で, 水溶液中では三重らせんで溶解する.¹⁾ 水溶液中のシゾフィランは, 低温で側鎖の秩序-無秩序転移を起こすことが知られている.²⁾ 転移は, 側鎖グルコースと水分子との間で形成される秩序構造が高温で水素結合が壊れて無秩序構造になることで起こる.

シゾフィランの側鎖を過よう素酸酸化, 亜塩素酸酸化を用いて化学修飾すると側鎖がカルボキシ基となったカルボン酸型シゾフィラン (Sclerox) が得られる (Fig.1).³⁾

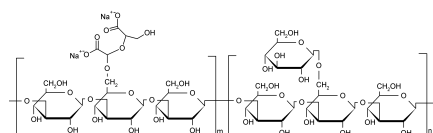


Fig.1. Chemical structure of carboxylated schizophyllan.

本研究では秩序-無秩序転移に与える Sclerox の酸化度の影響を DSC, 及び旋光度測定で調査した. 得られた結果から秩序-無秩序転移の分子機構を解明することを目的とした.

2. 実験方法

2-1. 試料: SPG ($M_w=34.1 \times 10^4$ g/mol, $M_w/M_n=1.4$) を用いて, 過よう素酸ナトリウムと亜塩素酸ナトリウムによりカルボキシ化した試料 Sclerox-0.2 ($M_w=32.4 \times 10^4$ g/mol, $M_w/M_n=1.4$), Sclerox-0.4 ($M_w=32.2 \times 10^4$ g/mol, $M_w/M_n=1.4$) を合成した.

2-2. DSC 測定: SPG, Sclerox-0.2, 及び Sclerox-0.4 について 0.1 M NaCl D₂O を溶媒として Perkin Elmer Pyris-1 DSC を用いて DSC 測定した. 10wt% 試料溶液について走査速度 2.0 °C/min で測定を行った.

2-3. 旋光度測定: SPG, Sclerox-0.2, 及び Sclerox-0.4 の 1wt% 試料溶液の波長 589 nm における比旋光度 $[\alpha]_{589}$ を JASCO DIP-1000 旋光計で測定した. 溶媒に 0.1 M NaCl D₂O を用いた.

3. 実験結果と考察

DSC 測定から求めた各試料の転移温度 T_t , 転移エンタルピー ΔH_t , 及び酸化度 DS を Table 1 に示す. DS の増加に伴い T_t は低下し, ΔH_t は減少した.

Table 1. Transition temperature T_t and transition enthalpy ΔH_t for the sclerox solutions in 0.1 M NaCl D₂O.

Sample	DS	T_t / °C	ΔH_t / kJ mol ⁻¹
SPG	0	18.3	3.9
Sclerox-0.2	0.16	16.6	3.0
Sclerox-0.4	0.20	13.9	2.3

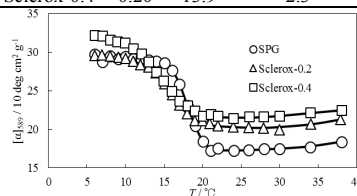
Fig.2. Temperature dependences of $[\alpha]_{589}$ for SPG, Sclerox-0.2, and Sclerox-0.4 in 0.1 M NaCl D₂O.

Fig.2 に各試料の $[\alpha]_{589}$ の温度依存性を示す. 酸化度の増加とともに転移曲線は低温へ移動し, プロードとなった. これは酸化によりカルボン酸型の側鎖が導入されたことにより, 秩序構造の長さが短くなったためと考えられる.

5. 結言

シゾフィランの側鎖を酸化すると, 秩序-無秩序転移の転移温度は低下し, 転移エンタルピーは減少する. 酸化度の増加により秩序構造の長さが減少し, 転移曲線が変わる.

謝 辞

御議論いただきました大阪大学大学院理学研究科の佐藤尚弘教授に感謝いたします.

文 献

- 1) Norisuye, T., Yanaki, T., Fujita, H.: J. Polym. Sci., Polym. Phys. Ed.1980, **18**, 547
- 2) Itou, T., Teramoto, A., Matsuo, T., Suga, H.: Macromolecules 1986, **19**, 1234-1240.
- 3) Yoshiba, K., Sato, T., Osumi, T., Ulset, A.-S. T., Christensen, B. E.: Carbohydr. Polym. 2015, **134**, 1-5.

血漿と塩化カルシウム水溶液との接触界面からの凝固のダイナミクス

倉沢隆太, 志田奈津美, 外山吉治, 榎靖幸, 山本隆夫, 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

架橋剤と高分子溶液による反応では架橋剤により高分子鎖同士が架橋し, 三次元網目構造を形成しゲルとなる. ゲル化のダイナミクスは大きく分けて架橋剤と高分子溶液の混合による方法と, 架橋剤と高分子溶液の接触による方法の二種類がある. ゲル化の進行を表すパラメータとして, 前者ではゲル分率, 分子量分布等があり, 一方, 後者ではゲル体積, ゲルの配向度, ゲル中の濃度分布等がある. これまでのゲル化のダイナミクスの研究はほとんどが前者に対するものであり, 後者の研究例は少ないが, 後者の研究では, ダイナミクスを表すパラメータから系の性質に関するより多くの情報を得られる可能性がある. 本研究では, 臨床検査で用いられる血漿/塩化カルシウム水溶液系のゲル化(凝固過程)を後者の方法で行い, そのダイナミクスから抽出できる情報について調べた.

2. 実験方法

ウマ由来保存血液(日本バイオテスト研究所)を遠心分離し血漿(PFP: Platelet Free Plasma)を得た. 血漿をアクリル製のセルに入れセル上部に透析膜を貼った後, 25°Cにおいて塩化カルシウム水溶液に浸漬させた. ゲル化の様子をカメラで撮影し, ゴル-ゲル界面の移動を追跡した. 実験はセル長依存性と塩化カルシウム濃度依存性について行った.

3. 実験結果

血漿と塩化カルシウム水溶液との接触によるゲル化では, lag time の後界面からゲル層が成長した. この時, 血漿ゲル層と血漿ゾル層の界面は常に明瞭であった. ゲル幅 X の経過時間 t 依存性を界面移動画像(Moving Boundary Picture)による理論式

$$\xi \left(\tilde{X}, \frac{\beta}{K_{in}} \right) = \int_0^{\tilde{X}} \frac{u}{1 - \frac{\beta}{K_{in}} \ln(1-u)} du = K_{in} \tilde{t} \quad (1)$$

と比較した. ここで $\tilde{X} = X/L$, $\tilde{t} = t/L^2$ であり, L はセル長である. また, K_{in} はゲルの成長速度を表

すパラメータであり, $[Ca^{2+}]$ に比例する. また, β は血漿内に含まれる抗凝固剤の効果を表すパラメータである. この理論式により解析を行った結果を Figure 1(a), (b) に示す.

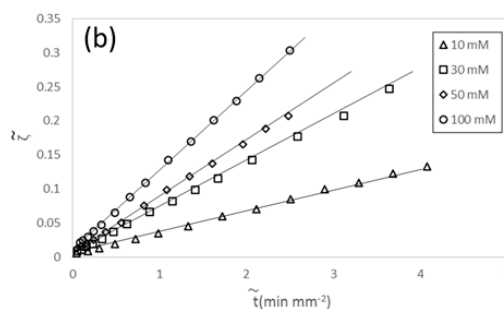
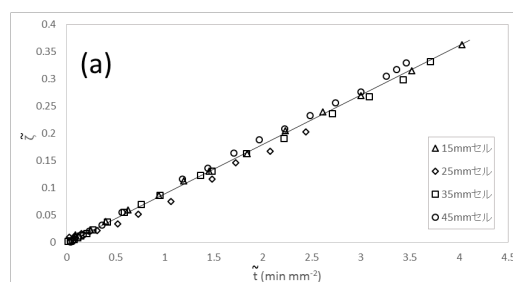


Figure.1 血漿凝固過程のセル長依存性(a)と塩化カルシウム濃度依存性(b). 実線は(1)式への fitting 曲線を示す.

4. 考察

実験結果はセル長に依存しない(1)式が成り立つことを示唆し, $[Ca^{2+}]$ が小さい時は ξ vs. \tilde{t} の比例係数である K_{in} は $[Ca^{2+}]$ にほぼ比例することを示した. lag time およびパラメータ $K_{in}/[Ca^{2+}]$ と β は血漿の凝固能に関する知見を与えると考えられる.

第 39 回日本バイオレオロジー学会年会 プログラム・抄録集

DNA/コンニャクグルコマンナン不織布による アクリジンオレンジの吸着

山口岳*, 佐藤良佑*, 横靖幸*, 永井大介*, 山本隆夫*, 土橋敏明*
*群馬大学理工学府 [〒376-8515 桐生市天神町 1-5-1]

1. 緒言

DNA は発がん物質をインターカレーションにより選択的に吸着するが水溶性であるため、水媒体中での吸着材として用いるためには水不溶性にする必要がある。そのための方法として、紫外線や多価カチオンにより架橋する方法が報告されてきた^{1,2)}。また、吸着材としての効率を上げるためには空隙率を高く比表面積を大きくする必要があるのである。

近年、エレクトロスピニングにより、比表面積の大きいナノファイバーからなる不織布を簡単に作製できるようになった。そこで、DNA を含む高分子溶液をエレクトロスピニングすることにより非常に高い分子量を持つ DNA を絡ませた不織布を作製すれば高効率な吸着材として機能する可能性があると考えられる。本研究では、DNA を含むコンニャクグルコマンナン(KGM)水溶液をエレクトロスピニングすることにより作製した不織布を化学架橋して得られた吸着材を用いて、DNA のインターカレーターであるアクリジンオレンジ(AO)を発がん物質のモデル物質として、その吸着挙動を調べた。

2. 実験方法

微量の Triton X-100 を含み、DNA/KGM の重量比が 0/100, 20/80 である水溶液をそれぞれ作製し、エレクトロスピニング法(電圧 27kV, 温度 42℃, 湿度 20%, 電極間距離 15cm, 流量 25μL/min)により不織布を作製した後、ヘキサメチレンジイソシアナートにより、化学架橋を行った。架橋後の不織布はミリ Q 水で十分に洗い、凍結乾燥させた。次に、20μg/mL AO 水溶液 50mL に架橋した不織布 10mg を浸漬し、495nm の吸光度変化を、分光光度計を用いて経時的に測定することにより、AO の濃度変化を調べた。

3. 結果と考察

浸漬時間 t における浸漬溶液の AO 濃度 $C_{AO}(t)$ を時間 0 における値で割ったものの時間変化を Fig.1

に示す (Fig.1)。DNA を含まない不織布による吸着は DNA を含む不織布による吸着に比べて十分小さかった。

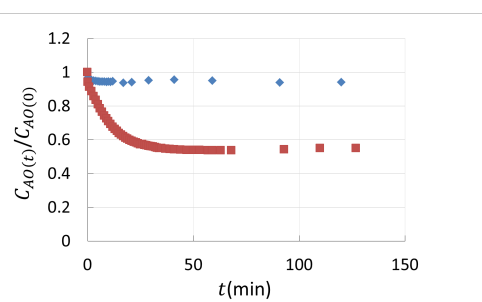


Fig.1 DNA/KGM=0/100 (◆), 20/80 (■) で作製した不織布による AO 吸着挙動

Fig.1 より DNA1g 当たりの平衡 AO 吸着量は、0.268g/g であった。この値は、コバルト架橋した DNA ゲルビーズについての値 0.039g/g²⁾ や紫外線照射により架橋した DNA フィルムについての値 0.014g/g³⁾ よりかなり大きい。これは、ナノファイバーの不織布とした効果によるものと考えられる。

4. 結言

DNA/KGM 不織布の AO 吸着量測定より、含 DNA 含有不織布の発がん物質吸着材としての可能性が示唆された。

参考文献

- 1) Wong, P. T., Tang, K., Coulter, A., Tang, S., Baker, J. R. and Cho, S. K. *Biomacromolecules*, 15, 4134-4145, 2014
- 2) Furusawa, K., Wakamatsu, M., Dobashi, T., and Yamamoto, T. *Langmuir*, 23 (20), 10081-10087, 2007
- 3) Yamada, M. Kato, K. Nomizu, M. Ohkawa, K. Yamamoto, H. and Nishi, N. *Environ. Sci. Technol.*, 36, 949-954, 2002

紫外線照射ゼラチンゲル足場における分化度の異なる胃がん細胞の接着・増殖性

吉田啓恭*, 高木宣祥*, 槇靖幸*, 土橋敏明*, 田中進**

*群馬大学理工学府 [〒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

酵素分解性マイクロカプセル足場は膜厚や架橋密度の調整により分解時間を制御できるため多様な応用が可能である。最近、有機溶媒中のゼラチン水溶液液滴に紫外線を照射することにより得られるマイクロカプセルを足場として線維芽細胞を懸濁培養させると、正常細胞(WI-38)は接着増殖する一方、がん化した細胞(WI-38-VA-13)は接着しないことがわかった¹⁾。このような細胞選択性が線維芽細胞に限ることなのかあるいは他の細胞でも見られることなのか興味もたれる。本研究では、分化度の異なるヒト胃がん細胞を培養させ、紫外線照射時間による細胞の接着・増殖性を調べることを試みた。

2. 実験方法

イソオクタンにテトラグリセリン脂肪酸エステルを5wt%の濃度で加えて分散媒を作製した。次にこの分散媒30mlを40℃で攪拌(500rpm)しながら10 wt%ゼラチン水溶液を0.5ml添加し、イソオクタン中にゼラチン液滴を作製した。これを15℃に保ちながら10分攪拌して物理架橋ゲル粒子とした後、この懸濁液をヘキサン30mlで3回洗浄したあと、紫外線を照射しゼラチンマイクロカプセルを作製した。紫外線照射時間 t_{UV} は、3, 5, 8時間とした。得られたゼラチンマイクロカプセルは2-プロパノール、エタノール、70v/v%エタノールでそれぞれ3回ずつ洗浄し、生理食塩水に分散させた。得られたゼラチンマイクロカプセルを足場とした細胞培養実験を行った。得られたマイクロカプセル足場を用い、低分化型(MKN45)と中分化型(MKN74)のヒト胃がん細胞の懸濁培養を行った。

3. 結果と考察

MKN45とMKN74を $t_{UV}=3$ hで作製したゼラチンマイクロカプセル上で6日間培養した後の様子をFig.1に示す。MKN45はコロニーを作り、カプセルを避けて増殖し、カプセルへの接着は確認できない。MKN74はコロニーを作り、小さな接触面積でカプセルに接着している。MKN45は $t_{UV}=5$ hでも $t_{UV}=8$ hでもカプセルへの接着は観察されなかったが、MKN74は $t_{UV}=5$ hではコロニーが小さな接触面積でカプセルに接着していたが、 $t_{UV}=8$ hではカプセルへの接着は観察されなかった。分化度が低く、また、紫外線照射量が多い方がカプセル足場に接着しにくい傾向は、高分化型(MKN7)も含めて行った紫外線照射ゼラチンゲルシートでも観察された。以上のように、紫外線照射マイクロカプセル足場上での正常な線維芽細胞とがん化した細胞の接着性の違いと類似の選択性が分化度の異なる胃がん細胞でも見られることが分かった。

線維芽細胞に対するTEMによる観察では、がん化した細胞では細胞塊とゲル足場が接触し細胞間には接着班が観察されたのに対して、正常細胞では細胞塊も接着班も観察されず、細胞がゲルに入り込んで接着しているのが観察された。分化度の異なる胃がん細胞で同様な構造が観察されるかどうかについて今後調べる予定である。

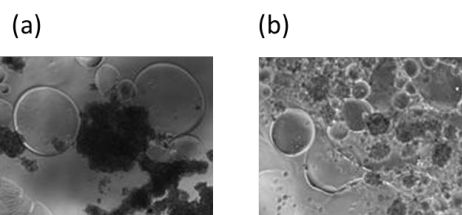


Fig.1 Microscopic image of MKN45 cells (a) and MKN74 cells (b) with microcapsule scaffold

参考文献

- 1) Dobashi, T. Koike, M. Kobayashi, K. Maki, Y. Yamamoto, T. and Tanaka, S.: Progr Colloid Polym. Sci., **136**, 149-154, 2009

第 39 回日本バイオレオロジー学会年会 プログラム・抄録集

コンニャクグルコマンナン不織布の力学的性質と タンニン吸着挙動

佐藤良祐*, 山口岳*, 志田奈津美*, 榎靖幸*, 永井大介*, 中村邦男**, 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]

**酪農学園大学 [北海道江別市文京台緑町 582 番地]

1. 緒言

発がん物質を代表とする様々な化学物質による環境汚染に起因するヒトの健康や生態系に対する影響を未然に防止する観点から、効率の良い吸着物質の開発が進められている。ナノファイバーからなる不織布は高い空隙率と広い比表面積により高効率の吸着材料として期待される。一方、不織布はそのままでは力学的強度が十分でない場合も多く吸着効率と力学的強度を両立させるためには何らかの工夫が必要である。また、吸着材料の素材も作製する過程も環境を汚染しないものであることが望まれる。

本研究では、エレクトロスピンニング法により作製したコンニャクグルコマンナン(KGM)ナノファイバーからなる不織布をアルカリ溶液で脱アセチル化するとともに水素結合性の架橋をし、その力学的性質とタンニン吸着挙動を調べた。タンニンは工業廃水などに含まれ、水質や土壌が汚染され環境汚染につながっていることが知られている。KGM は水溶性であるため、エレクトロスピンニングの際にしばしば観察される有機溶媒の蒸発による環境汚染がないのが利点であり、脱アセチル化するとタンニンを選択的に吸着することが知られている。

2. 方法

エタノールでの洗浄により精製した KGM 粉末(スーパーマンナン, 荻野商店)を MilliQ 水に溶解して、KGM 水溶液を作製した。この KGM 水溶液を遠心分離して不溶物を除き、微量のポリオキシエチレン(9)オクタチルフェニルエーテルを加えて攪拌した後、エレクトロスピンニングを行った。KGM ナノファイバーの最適な作製条件は、KGM 濃度 0.6-1.2 wt%, 電圧 28 kV, 溶液流量 25-50 $\mu\text{L}/\text{min}$, 温度 40-43 $^{\circ}\text{C}$, 湿度 20 %, ドラムコレクタから電極までの距離 15 cm であった。SEM 写真による観察から、作製した不織布は繊維径約 200 nm のファイバーからなることが確認できた。また、ナノファイバーの繊維直径は濃度が低いほど細く、濃度が高いほど太くなった。得られた不織布を 0.1 M NaOH のエタノール溶液に浸漬し、4 $^{\circ}\text{C}$ で 60 min 振とう攪拌させ脱アセチ

ル化した。反応後、不織布を MilliQ 水とエタノールで 3 回ずつ洗浄した。その後、25 $^{\circ}\text{C}$ で 24 h 真空乾燥した。不織布の力学的性質は、応力-歪直接測定装置による静的および動的粘弾性の測定により調べた。膜厚は厚み計により測定した。タンニン吸着挙動は、50 mM 酢酸緩衝液に溶解したタンニン酸(和光純薬)溶液 (1.9×10^{-5} mol/L, pH = 4.3) 50 mL に脱アセチル化 KGM 不織布 0.03 g(System A)または 0.01 g(System B)を入れ、一定時間ごとに溶液中のタンニン酸濃度を 272 nm の吸光度測定から求めることにより調べた。

3. 結果と考察

動的測定より動的ヤング率 $E' = 5.4 \times 10^8$ Pa, 静的測定より破断応力 1.5×10^7 Pa が得られた。単位体積当たりのタンニン酸吸着量の時間変化を Fig.1 に示す。得られた結果は次式のストレッチ型指数関数で Fitting することができた。

$$C = C_{eq}(1 - e^{-\frac{t}{\tau}}) \quad (1)$$

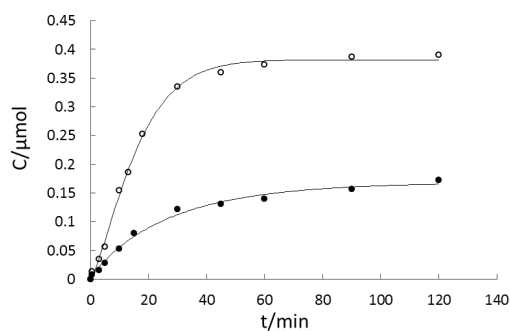


Fig.1 タンニン酸吸着量の時間変化(○; System A, ●; System B)

以上をまとめると、アルカリによる脱アセチル化により架橋した KGM 不織布は実用に耐える破断強度を持ち、小さな時定数を持つストレッチ型指数関数に従ってタンニンを吸着することが分かった。

第 39 回日本バイオロロジ学会年会 プログラム・抄録集

血小板様ディスク状粒子の調製と 2 次元相互作用を 活用した接着挙動

岡村 陽介^{*}, 曾我部 大輝^{*}, 中川 篤^{**}, 長瀬 裕^{*}^{*} 東海大学大学院工学研究科 [〒259-1292 神奈川県平塚市北金目 4-1-1]^{**} 東海大学マイクロ・ナノ研究開発センター

1. 緒言

高分子微粒子は高分子溶液を用いた乳化法 (oil-in-water emulsion 等) で調製される。得られる微粒子は、通常熱力学的に安定な真球形態のため、粒子同士あるいは界面との反応は点接触反応 (1 次元相互作用) となる。血小板細胞のようにディスク状構造体であれば、目的界面と面接触反応 (2 次元相互作用) できるため、反応性の向上等、特異な機能発現が期待できる。本研究では、既存の汎用性高分子であるポリスチレン (PS) 微粒子を熱プレスにて変形させディスクとする簡易調製法を提案し、2 次元相互作用によるユニークな特性 (界面に対する接着性等) を明らかにする。

2. 実験方法

アルギン酸ナトリウム水溶液 (Na-Alg, 20 mg/mL, 10 mL) に PS 微粒子 (1 $\mu\text{m}\phi$, 0.25 wt%: 5×10^9 particles/mL, 0.5 mL, Polysciences 社製) を添加し均一に分散させた後、塩化カルシウム水溶液 (20 mg/mL, 20 mL) を滴下してゲル化させた (r. t., overnight)。純水洗浄した後、小型熱プレス機 (AH-2003, アズワン社製) にて加熱圧縮 (r. t. - 120°C, 5 - 40 MPa) した。最後に、EDTA (0.1 M, 25 mL) にてゲルを溶解させ、遠心分離にて PS ディスク分散液を精製した。PS ディスク分散液をメンブレンフィルター (孔径: 100 nm ϕ) 上に滴下し乾燥後、高分解能電界放出形走査電子顕微鏡 (FE-SEM S-4800, 日立ハイテク社製) を用いて観察し、ディスク径を実測した。

3. 実験結果

加熱温度を一定 (110°C, 30 s) とし、10 MPa で PS 微粒子内包ゲルをプレスした。精製後の微粒子を電顕観察したところ、プレス前の真球微粒子 (Fig. 1A, 1015 \pm 3 nm ϕ) と比較して、粒径が顕著に増大したディスク (1665 \pm 38 nm ϕ) が得られた (Fig. 1B)。20 MPa 以上ではほぼ定値となり、プレス条件は 10 MPa で十分であると判断した。次いで、プレス条件を一定 (10 MPa, 30 s) とし、加熱温度を検討したところ、110°C (ガラス転移温度 (T_g) 付近) で確実にディスクに変形した。従って、PS 微粒子をディスク状に変形させる簡便な手法を確立し、その条件 (10 MPa, 110°C) を見出した。さらに、

得られたディスク分散液は、血小板分散液と同様スワーリング現象 (渦巻状に分散する挙動) を示すことも特筆すべき点である。ポリ-L-リジン を吸着させたカチオン表面にカルボキシル基導入 PS 真球微粒子あるいはディスクを吸着させたところ、両者の吸着数はほぼ同程度であった (それぞれ $(8.9 \pm 2.9) \times 10^3$, $(9.9 \pm 2.6) \times 10^3$ particles/mm²)。そこで、両基板に空気を流入させたところ、真球微粒子の大半は脱着したのに対し (脱着率: 92.9 \pm 3.7%)、ディスクの吸着状態は維持されていた (脱着率: 4.8 \pm 1.4%)。

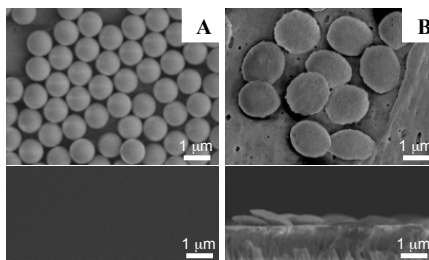


Fig. 1 SEM images of (A) PS microspheres with the diameter of 1 μm and (B) PS disks. Lower images were taken at 90° rotation.

4. 考察

微粒子をディスク状に変形させるには、微粒子の T_g 付近で加圧することが必要条件であった。また、ディスクは面を有する形状のために界面と 2 次元相互作用し接着性が向上したと考察でき、ユニークな特性のひとつといえる。

5. 結言

ゲルをマトリックスとして微粒子を内包し、熱プレスすることでディスクを調製できる簡便な手法を確立した。また、ディスク状に変形するだけで界面に対する接着性が飛躍的に上昇するユニークな特性を明らかにした。

謝 辞

本研究の一部は、日本学術振興会科学研究費「若手研究 B」(15K21384) の助成より行われた。記して謝意を表する。

分子動力学法による高分子溶液中の水素結合ネットワークの解析

高村優*, 宮本陽介*, 喜多理王**, 新屋敷直木**, 八木原晋**

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

**東海大学理学部物理学科

1. 緒言

分子間に働く種々の相互作用は物質の性質を決定する重要な要因の一つである。特に水素結合は水やアルコールなどに代表される水素結合性液体のダイナミクスを理解する上で欠かせない。U. Kaatzteらによって液体ダイナミクスと水素結合ネットワークの関係が考察されている¹⁾。過去の研究において溶液の密度測定と分子の水素結合サイトの数から水素結合密度を求め、誘電分光法による緩和パラメータと比較されている²⁾。我々はこれまで様々な種類の高分子溶液の液体ダイナミクスの観測をしてきた³⁾。本研究では分子動力学法により水素結合ネットワークの解析を行い、誘電分光法による実験データと相補的な解析を行うことを目的とする。

2. 実験方法

周期境界条件を適用した立方体セルに分子を配置し、およそ1000から5000個の分子によって構成された高分子溶液を分子動力学法により運動を解析し、得られた各原子の座標データから系内の水素結合を数え上げた。計算条件は1ステップを2fsとし合計400ps行い、分子力場としてCHARMmを用いNPTアンサンブルを設定した。また計算はBIOVIA社Discovery Studio 4.1を用いて東海大学総合情報センターの計算サーバーを利用して実行した。

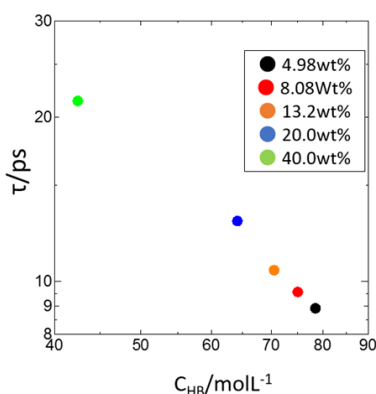


Figure 1. Relationship between relaxation time of h-process and hydrogen bond density

3. 実験結果

図1に様々な濃度における poly vinyl pyrrolidone (PVP) 水溶液の水由来の誘電緩和時間²⁾と分子動力学法から得られた水素結合密度の関係性を示す。

4. 考察

図1から高分子溶液の溶媒に由来する緩和の緩和時間と水素結合密度に相関があることが確認された。これは水素結合の生成、消滅にともなった分子の再配向に緩和時間が依存しているためであると考えられる。発表ではPVPのほか、poly ethylene glycol (PEG) など様々な高分子溶液の水素結合ネットワークと液体ダイナミクスの相関について議論を行う。

5. 結言

分子動力学法を用いることで密度を測定することなく、水素結合密度を得ることができた。また誘電分光法によって測定された溶媒に由来する誘電緩和の緩和時間が純溶媒の場合と同様に水素結合密度に依存することが確認され、主に純溶媒を想定していた水素結合ネットワークと液体ダイナミクスの相関のモデル¹⁾が高分子溶液中の溶媒にも適用されると考えられる。以上のことから分子動力学法によるシミュレーションが誘電分光法などの実験による研究に対する相補的手法として有効であると考えられる。

謝 辞

本研究には東海大学総合情報センターの計算サーバーを利用して頂きました。

文 献

- 1) U. Kaatzte, R. Behrends, and R. Pottel.: Hydrogen Network fluctuations and dielectric spectrometry of liquid. *Journal of Non-Crystalline Solid*, **305**, pp.19-28, 2002
- 2) N. Shinyashiki, D. Imoto, S. Yagihara.: Broadband dielectric Study of Dynamics of Polymer and Solvent in Poly(vinyl pyrrolidone)/Normal alcohol Mixtures. *J. Phys. Chem. B*, **111**, pp.2181-2187, 2007
- 3) N. shinyashiki, S. Yagihara, I. Arita, and S. Mashimo.: Dynamics of Water in a Polymer Matrix Studied by a Microwave Dielectric Measurement. *J. Phys. Chem. B*, **102**, pp.3249-3251, 1998

生分解性ディスク状粒子の調製法の確立とユニークな薬剤放出挙動

中川 篤*, 岡村 陽介**

* 東海大学マイクロ・ナノ研究開発センター [〒259-1292 神奈川県平塚市北金目 4-1-1]

** 東海大学大学院工学研究科

1. 緒言

Oil-in-water emulsion 法などの乳化法により調製される薬剤内包高分子微粒子の形状は通常熱力学的に安定な真球状である。そのため、薬剤の放出挙動は粒子サイズや表面性状との相関についての報告例が多く、粒子形状についてはほとんどない。本研究では、Shirasu Porous Glass (SPG) 膜乳化法を用いて作製したモデル薬剤内包真球粒子を、当研究室により開発された熱プレス法によりディスク状粒子へと加工し、水中およびゲル表面へのモデル薬剤放出挙動の違いについて報告する。

2. 実験方法

PLGA (500 mg) と 3,3'-diethyloxycarbocyanine iodide (DiOC₂(3), 50 mg) の CH₂Cl₂ 溶液 (10 mL) を、4 kPa の圧力で SPG 膜 (細孔径: 10.1 μm) に圧入し、PVA 水溶液 (10 mg/mL, 190 mL, 攪拌速度 1,000 rpm) に分散させた。その後、CH₂Cl₂ を留去し、遠心分離 (3,500 rpm, 4°C, 5 min) により PLGA 粒子分散液を精製した。次いで、アルギン酸ナトリウム水溶液 (20 mg/mL, 10 mL) に PLGA 粒子分散液 (3.5 × 10⁶ particles/mL, 0.5 mL) を添加し、CaCl₂ 水溶液 (20 mg/mL, 20 mL) を滴下してゲル化させた (r. t., 12 h)。その後、PLGA 粒子内包ゲルを、小型熱プレス機にて加熱圧縮 (10 MPa, 55°C, 60 s) した。次いで、EDTA-2Na (0.1 M, 25 mL) にてゲルを溶解させ、遠心分離 (3,500 rpm, 4°C, 5 min) により PLGA ディスク分散液を精製した。

真球状およびディスク状粒子分散液 (2 × 10⁵ particles, 1.0 mL, 0.05% Triton x-100) を 37°C で攪拌し、一定時間ごとに粒子分散液 (100 μL) を分取し、遠心分離 (2,000 rpm, r. t., 1 min) により回収した上澄みを蛍光スペクトル測定に供した。また、真球状およびディスク状粒子分散液 (2 × 10⁴ particles, 3.0 μL) をアルギン酸ゲル上にのせ、37°C でインキュベートした。その後、EDTA-2Na (0.1 M, 2 mL) にてゲルを溶解させ、遠心分離 (3,500 rpm, 4°C, 10 min) により上澄みを回収し蛍光スペクトル測定に供した。

3. 実験結果

SPG 膜乳化法により平均粒子径が 37.6 ± 2.3 μm, 変動係数 (CV) が 6.2% の真球粒子を作製し得た (Fig. 1)。熱プレス前の真球粒子 (Fig. 1a, b) と

比較して、粒子径が約 1.9 倍増大したディスク状粒子が観察された (Fig. 1c, d)。PLGA 真球およびディスク状粒子の DiOC₂(3) 内包率はそれぞれ 0.23 ± 0.04, 0.20 ± 0.05% となった。水中およびアルギン酸ゲル表面へのディスク状粒子からの DiOC₂(3) の放出速度は真球粒子と比較して顕著に増加した (Fig. 2a, b)。

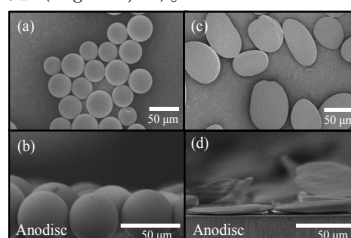


Fig. 1. FE-SEM images of (a), (b) PLGA particles and (c), (d) disks. Images (b) and (d) were taken at 90° rotation.

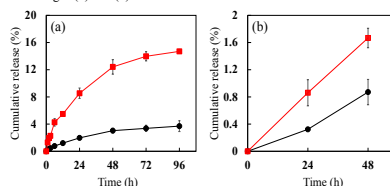


Fig. 2. (a) Cumulative release of DiOC₂(3) from PLGA particles (●) and disks (■) (a) in water with 0.05% Triton x-100 at 37°C (N=5), (b) into the Ca-Alg gel at 37°C (N=5).

4. 考察

熱プレス過程での DiOC₂(3) の内包率低下はほとんど見られず、SPG 膜乳化法と熱プレス法によりモデル薬剤内包ディスク状粒子を調製し得た。ディスク状粒子の薬剤放出速度の増加は、表面積の増加、熱プレスによる粒子中心部の DiOC₂(3) の辺縁部への移動、ゲル界面に対して点接触から面接触になったことに起因すると考えられる。

5. 結言

薬剤内包粒子の形状を変形させることにより薬剤放出挙動を制御できることを実証した。

謝辞

本研究の一部は、日本学術振興会科学研究費「若手研究 B」(15K21384)、文部科学省私立大学戦略的基盤形成支援事業「高分子超薄膜から創成する次世代医用技術」の助成より行われた。記して謝意を表す。

力学刺激による細胞間情報伝達と隣接細胞内 PKC α 局在の関係

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 [〒819-0396 福岡県福岡市西区元岡 744 番地]

**九州大学大学院 工学研究院 機械工学部門

1. 緒言

血管内皮細胞に負荷された機械刺激は、生化学シグナルに変換され細胞内・細胞間に伝達される。マイクロピペットによる機械刺激により細胞内 Ca^{2+} 濃度が上昇し周囲の細胞に伝播する Ca^{2+} wave は、細胞間情報伝達の 1 つと考えられている⁽¹⁾。

プロテインキナーゼ C α (PKC α) は細胞内に存在する情報伝達物質であり、増殖や遊走等に関与している⁽²⁾。PKC α は Ca^{2+} によって活性化し、細胞質から細胞膜へと移動し細胞膜に局在することが薬剤刺激による実験によって確認されている⁽³⁾。しかし、力学刺激による Ca^{2+} wave と PKC α の局在化をリアルタイムで同時観察した実験はなく、PKC α の局在メカニズムは分かっていない。

そこで本研究では、マイクロピペットを用いて細胞に力学刺激を加え、刺激を加えた細胞の隣接細胞内 PKC α の局在変化を Ca^{2+} wave と同時に観察し、さらに阻害剤を用い PKC α 局在化のメカニズムも検討した。

2. 実験方法

実験にはウシ大動脈由来血管内皮細胞 (東洋紡) を用い、 $\phi 27\text{mm}$ のガラスベースディッシュ (IWAKI) に播種した。内皮細胞内 PKC α を観察するために、PKC α と蛍光タンパク質 Dronpa-Green (DG, Amalgam) を融合させた PKC α -DG を作製し、Hily Max (Dojindo) を使用して遺伝子導入を行った。 Ca^{2+} は Fura2-AM (Invitrogen) を用いた。

蛍光観察には倒立型蛍光顕微鏡 (ECLIPSETE2000-S, NIKON) を使用した。蛍光の同時観察には AQUACOSMOS (浜松フォトニクス) を用いた。画像取得間隔は 256 msec に設定した。

細胞への力学刺激は硼珪酸ガラス電極をピペットプレーで先端が $3\mu\text{m}$ 程度になるように処理し、マニピレーターを用いて操作した。

PKC α の局在変化と Ca^{2+} の関係を調べるために、PKC α の Ca^{2+} 結合ドメイン阻害剤である Go6976 を負荷した。また、Suramin で P2Y 受容体を、18 α -GA でギャップ結合をそれぞれ阻害することで

隣接細胞への情報伝達方法を限定し、PKC α の局在変化を観察した。

3. 実験結果

Control 時における力学負荷に対する PKC α と Ca^{2+} の蛍光変化を Fig.1 に示す。力学刺激後 Ca^{2+} は刺激部位から Ca^{2+} wave が起こった。PKC α は Control と Suramin 負荷時では隣接細胞で刺激を加えた側の蛍光輝度が増加した (白矢印)。18 α -GA・Go6976 負荷時では蛍光輝度の増加が見られなかった。各条件で PKC α の蛍光ピークを比較したところ、18 α -GA・Go6976 負荷時では Control に比べ優位に蛍光輝度が減少した。

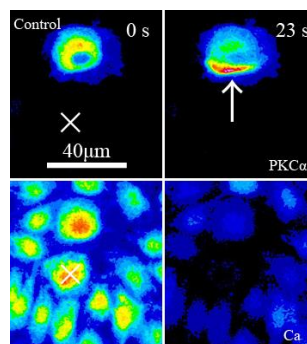


Fig. 1 Control 時の PKC α (上段) と Ca^{2+} (下段) の蛍光変化, ×: 刺激位置

4. 考察

今回の実験から力学刺激時の PKC α の局在変化には Ca^{2+} が必要だと考えられる。また、Suramin 負荷時にも局在が見られたことから、P2Y 受容体よりもギャップ結合の存在が重要だと考えられる。

文献

- 1) Demer L.L et al., Mechanical stimulation induces intercellular calcium signaling in bovine aortic endothelial cells. *Am. J. Physiol.*, 264, 2094-2102, 1993.
- 2) Olga K. et al., Protein kinase Ca: disease regulator and therapeutic target. *Trends Pharmacol Sci.*, 31, 8-14, 2010.
- 3) Wagner S., et al., Analysis of the subcellular distribution of protein kinase Ca using PKC-GFP fusion proteins. *Exp Cell Res*, 258, 204-214, 2000

Solution Properties of Acetylated Dextran Studied by Light Scattering and Optical Beam Deflection Method

Isala Dueramae¹, Masaru Yoneyama², Naoki Shinyashiki³, Shin Yagihara³, Rio Kita³

¹Micro/Nano Technology Center, Tokai University, Kitakaname, Hiratsuka, Kanagawa 259-1292

²Faculty of Science and Technology, Gunma University, Tenjin-cho 1-5-1, Kiryu, Gunma 376-8515,

³Department of Physics, Tokai University, Kitakaname, Hiratsuka, Kanagawa 259-1292.

1. Introduction

Dextran, a soluble water polysaccharide consisting predominantly of α -1,6-glucosidic linkages has a long history in biomedical usage. Modified polysaccharides are an interesting for designing new materials with applications in biomedicine. Hydroxyl groups in glucose repeating units have been replaced with acetylated groups to trigger their properties. Altering of thermal and mechanical properties have already shown in the acetylated polysaccharides [1-2]. Initially, the influence of acetylation degree on solution properties have investigated in this study.

2. Experimental Method

Ac-DEXs were synthesized by the reaction of dextran (M_w of 40 kg/mol) with various amounts of acetic anhydride to change the acetylation degree (0 to 26.42%) in the present of pyridine at 50 °C for 24 hour. Ac-DEXs were dissolved in water to study the solution properties.

Light scattering experiment was performed at 25°C with sample concentration of 2-10 gL⁻¹

Thermal diffusion property was studied at temperature range of 20-50 °C with 10 gL⁻¹ by an optical beam-deflection method.

3. Results and Discussion

The M_w and R_g of dextran increased due to the acetylation process as showed in Table 1. When dissolved in water, Ac-DEXs can self-aggregate due to intra- and/or intermolecular hydrophobic interactions. The positive second virial coefficient (A_2) of modified samples implied that water is a good solvent for the modified dextran.

The Soret coefficient, S_T , of all samples significantly increase with increasing of temperature. Moreover, the increase of S_T were observed with increase of acetylation degrees. This indicates that the hydrogen bonding between polysaccharide molecules and water are broken by heating and substitution of acetylated functional groups.

Table 1. M_w , R_g , and A_2 of Ac-DEX solutions with different degree of acetylation

% Acetylation	M_w (kg/mol)	R_g (nm)	A_2 (mol \times L/g ²)
0	41.8	14.3	0.00064
4.62	58.6	84.0	0.00087
9.62	43.8	82.2	0.00106
17.11	42.0	76.3	0.00079
20.85	45.2	62.6	0.00180
26.43	44.4	44.7	0.00034

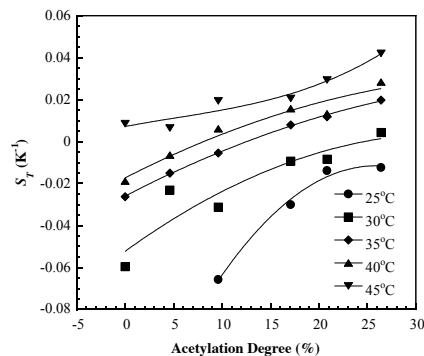


Figure 1. S_T of Ac-DEX solutions with different degree of acetylation

4. Conclusion

Acetylation process can induce the formation of self-aggregate, rendering the increasing of molecular weight and radius of gyration. Hydrogen bonding between polysaccharide molecules and water can be destroyed by substitution of acetylated groups on hydroxyl groups in dextran molecular chains.

Acknowledgement

Micro/Nano Technology Center, Tokai University, Kitakaname, Hiratsuka, Kanagawa 259-1292

References

- 1) N. Teramoto, and M. Shibata, *Carbohydr. Polym.*, 63 (2006) 476-481.
- 2) B.H. Zimm, *J. Chem. Phys.*, 16 (1948) 1093-1099.

編集後記

第 39 回日本バイオレオロジー学会を支えて下さった多くの皆様に感謝致します。年会の準備は当初の想定よりも大変でした。会場の選定、会場費の確保、プログラム作成、抄録集の作成など想像以上の業務量でした。無事開催できたとすれば、年会を支えて下さった皆様のご努力の賜物です。学内の事務局をほぼ一手に引き受けてくれた菅原美幸さん、ホームページの作成、更新をしてくれた塩崎聖治さん、添田恵子さんは、外注すれば専門の会社が行うレベルの業務をこなしてくれました。学問研究の成果を発表する学会は学者だけでは開催できないことがわかったのが最大の成果でした。コンピューター、IT 技術が進歩したので、次期会長に基盤を引き継いでなるべく軽い負担にて年会長を引き受けられるになれば何よりと思います。あとは当日の質の高い学術的議論を期待しています。

(後藤 信哉)

編集委員会

編集委員長	山田 宏			
編集委員	市川 寿	喜多 理王	坂元 尚哉	庄島 正明
	田地川 勉	西田 正浩	一杉 正仁	望月 精一
特別編集委員	後藤 信哉	塩崎 聖治	添田 恵子	菅原 美幸

日本バイオレオロジー学会誌 (B & R, 電子版) 第 30 巻 第 2 号

2016 年 6 月 18 日発行

編集者 山田 宏

発行者 関 眞佐子

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 2016, by Japanese Society of Biorheology
