

# BR

第40回日本バイオロジー学会年会

## プログラム・抄録集

会期：2017年5月27日(土)・28日(日)

年会長：望月 精一

(川崎医療福祉大学 医療技術学部 臨床工学科)

会場：川崎祐宣記念講堂





# 第40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：2017年5月27日(土)・28日(日)

年会長：望月 精一

川崎医療福祉大学 医療技術学部 臨床工学科

会 場：川崎祐宣記念講堂

#### 運営組織

年会長	望月 精一
顧問	梶谷 文彦
	小笠原 康夫
事務局長	小野 淳一
実行委員長	立花 博之
副実行委員長	茅野 功

(所属：川崎医療福祉大学 医療技術学部 臨床工学科)

#### 実行委員

軸屋 和明	後藤 真己	矢田 豊隆	仲本 博
正木 久男	山本 健一郎	近藤 真史	小川 武人
田中 直子	福原 真一	宮崎 仁	松本 卓也
竹内 雅貴	高山 綾	小野 紗佑里	

(所属：川崎医療福祉大学 医療技術学部 臨床工学科)

# 日本バイオレオロジー学会年会のあゆみ

回	年会長	所属	会場	会期
1	深田 栄一	理化学研究所	東京慈恵会医科大学 高木会館講堂	1978/6/19
2	岡 小天	国立循環器病センター	国立循環器病センター 講堂	1979/6/30~7/1
3	東 健彦	信州大学	信州大学医学部第一講義堂	1980/6/28~29
4	谷口 興一	東京医科歯科大学	東京医科歯科大学 5号館	1981/6/20~21
5	梶谷 文彦	川崎医科大学	川崎医科大学 現代医学教育博物館	1982/6/26~27
6	稲垣 義明	千葉大学	千葉県文化会館 小ホール	1983/6/18~19
7	神谷 瞭	北海道大学	北海道自治会館 自治ホール	1984/6/16~17
8	浅野 牧茂	国立公衆衛生院	国立公衆衛生院 講堂	1985/6/15~16
9	志賀 健	愛媛大学	愛媛県医師会館 ホール	1986/6/11~13
10	磯貝 行秀	東京慈恵会医科大学	東京慈恵会医科大学 高木会館講堂	1987/6/13~16
11	松田 保	金沢大学	金沢大学医学部十全講堂	1988/6/2~4
12	大島 宣雄	筑波大学	筑波大学学生会館国際会議室	1989/7/5~7
13	峰下 雄	帝塚山短期大学	奈良県新公会堂	1990/6/21~23
14	品川 嘉也	日本医科大学	日本医科大学 大講堂	1991/6/20~22
15	平川千里	岐阜大学	岐阜市文化センター	1992/6/25~27
16	菅原 基晃	東京女子医科大学	東京女子医大 弥生記念講堂	1993/6/16~17
17	松信 八十男	清和大学	エーザイホール	1994/6/17~18
18	貝原 学	帝京大学	TEPCO 地球館	1995/6/15~16
19	辻 隆之	国立循環器病センター	千里ライフサイエンスセンター	1996/6/6~7
20	増田 善昭	千葉大学	千葉大学けやき会館	1997/6/5~6
21	前田 信治	愛媛大学	エスポワール愛媛文教會館	1998/6/11~13
22	貝原 真	理化学研究所	理化学研究所 鈴木梅太郎記念ホール	1999/6/10~11
23	辻岡 克彦	川崎医科大学	倉敷公民館	2000/6/8~9
24	谷下 一夫	慶應義塾大学	慶應義塾大学 創想館マルチメディアルーム	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	安藤讓二	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
40	望月 精一	川崎医療福祉大学	川崎祐宣記念講堂	2017/5/27~28

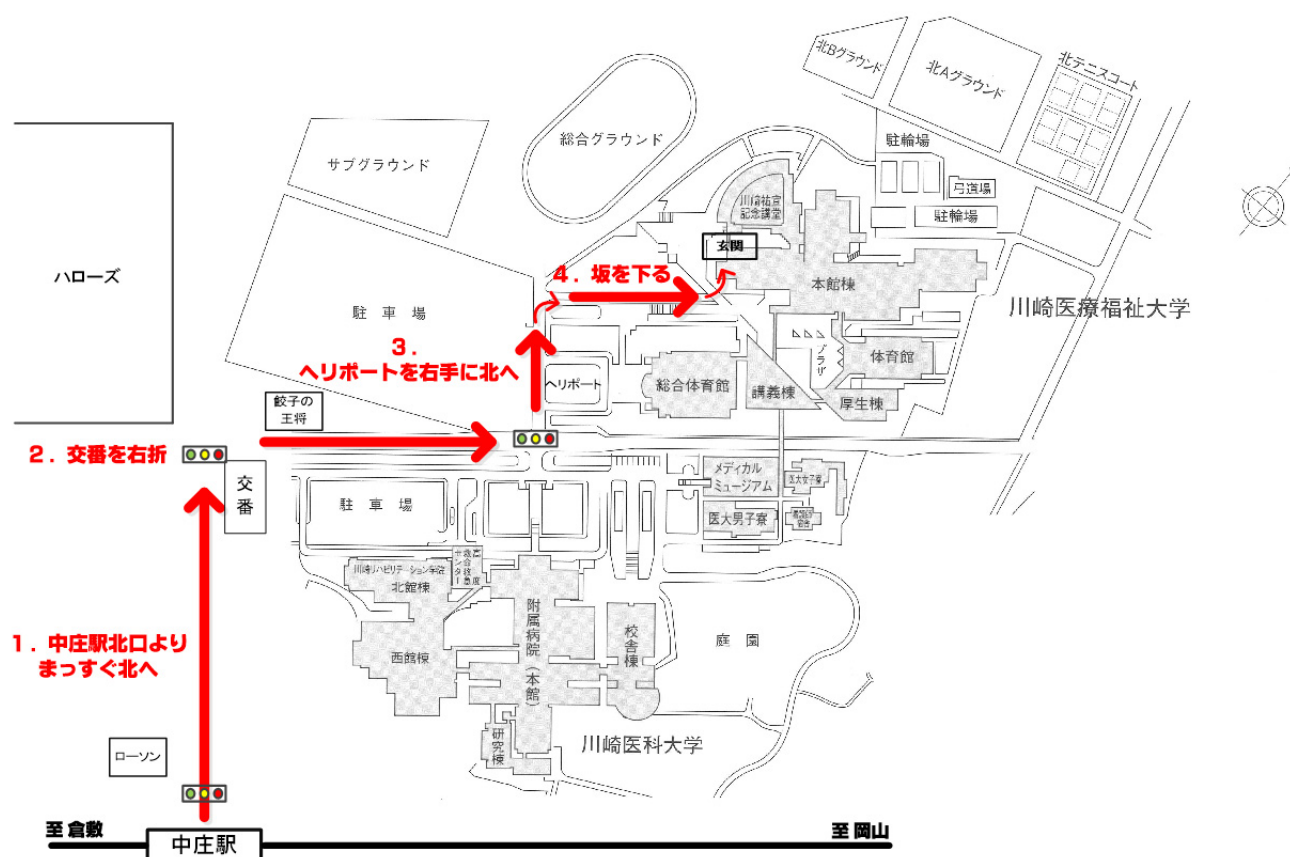
## 会場案内

会場：川崎祐宣記念講堂

(川崎医療福祉大学に隣接)

住所：〒701-0193 岡山県倉敷市松島 288

電話：086-462-1111 (代表)

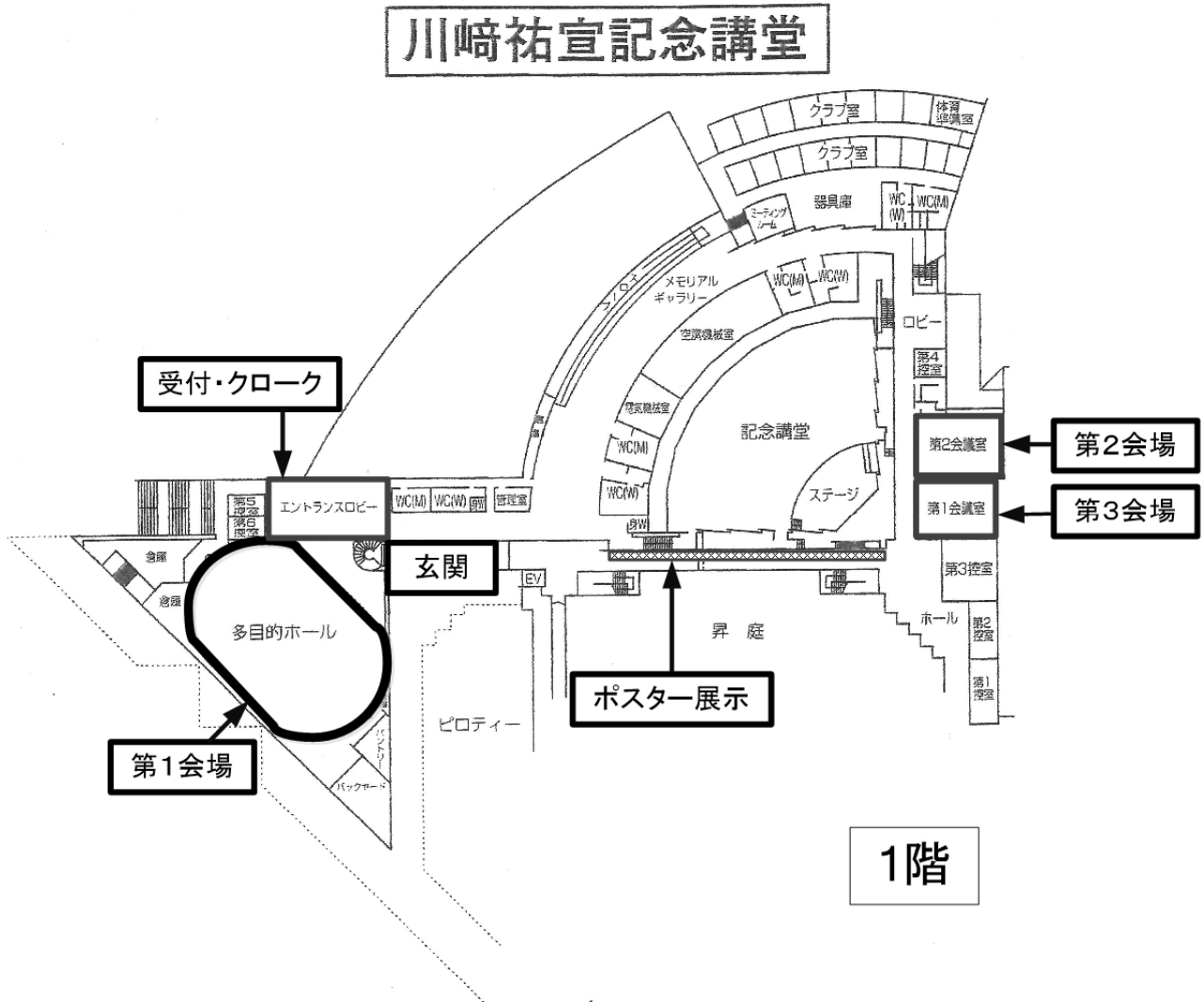


JR 中庄駅まで：在来線で岡山駅から 13 分、倉敷駅から 5 分

JR 中庄駅から ・徒歩 約 14 分

・タクシー 約 5 分「川崎医療福祉大学 職員玄関前まで」とご指定下さい。

# 会場内配置 (1階)

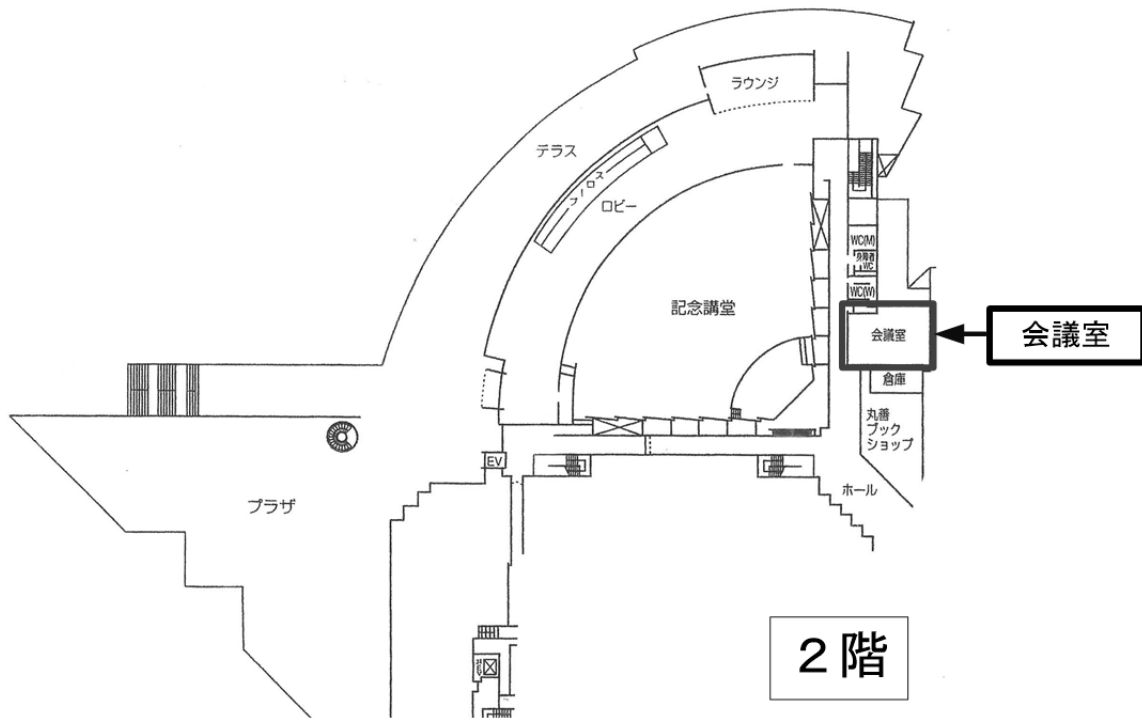


- ・ 受付・クローク
- ・ 開会式
- ・ 口頭発表セッション会場
  
- ・ 学術奨励賞応募講演会場
- ・ ポスターセッション会場

- エントランスロビー
- 第1会場
- 第1会場
- 第2会場
- 第3会場
- 第1会場
- 昇庭前通路

## 会場内配置 (2階)

### 川崎祐宣記念講堂



- ・ 理事会・評議会合同会議
- ・ リサーチ・フォーラム運営会議
- ・ JBR 打ち合わせ会議
- ・ 電子版 B&R 編集委員会

- 会議室
- 会議室
- 会議室
- 会議室

## 参加者の皆様へ

### 参加登録用紙

---

- 参加受付は2017年5月27日[土] 9:00からです。
- 事前に登録用紙にご記入の上、プリントアウトして当日お持ちください。

(参加登録用紙は年会ホームページよりダウンロードできます。)

### 参加費・参加証

---

会員	5,000 円
非会員	15,000 円
学生	3,000 円

- 非会員での参加者には、日本バイオレオロジー学会の会員資格が翌年4月末日まで付与されます。
- 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、会員ないしは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。

皆様のご参加を心よりお待ちしております。

日時： 2017年5月27日 [土] 18:30～

場所： 倉敷ロイヤルアートホテル

(倉敷市阿知 3-21-19、086-423-2400)

参加費： 会員・非会員 4,000 円、学生 2,000 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等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

---

- 講演時間は以下の通りです。
- オーガナイズドセッション、学会奨励賞セッション：12分  
(発表8分、質疑応答3分、移動1分)
- シンポジウム：60分 (発表50分、質疑応答5分、紹介・移動5分)

### 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。演者ごと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。ただし、セッションの終了時間を終了時間を厳守してください。

### 演者の方へ

---

- ご発表の2演題前までに会場内(左前方)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は用意しておりません。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、発表者ご自身ないしは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(写真参照)。



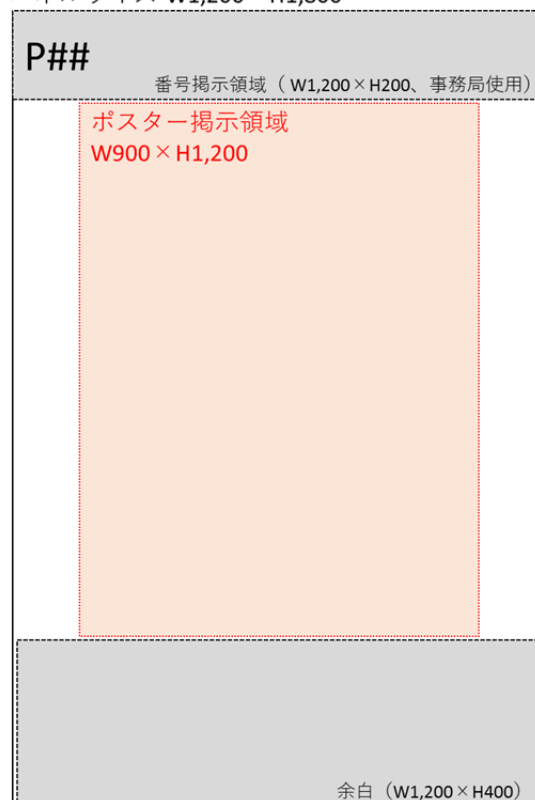
- ご持参いただく PC に保存されているご発表データの損失に備え、USB フラッシュメモリ・CD-R 等でご発表データのバックアップをご持参ください。

## ポスター発表の方へ

---

- ポスター掲示は 5 月 27 日 [土] 10:00~5 月 28 日 [日] 17:00 です。
- ポスターの掲示領域は W900mm×H1,200mm です。
- 優秀ポスター賞応募のポスターは 5 月 27 日 [土] 13:30~14:30 をコアタイムといたしますので、ご自身のポスター前で待機ください。
- 5 月 28 日 [日] は 17 時までに各自確実にポスターを撤去してください。

パネルサイズ W1,200×H1,800



# タイムテーブル

5月27日(土)

第1会場	第2会場	第3会場	ポスター
10:00~10:10 開会式			9:00~ 掲示開始     13:30~ 14:30 コアタイム
10:10~10:58 OS6 生体物質の構造形成と 機能発現・制御	10:10~10:58 OS2 循環器系ダイナミクス と疾患	10:10~11:22 OS4 細胞・分子のメカノ バイオロジー	
11:20~12:20 A1 学会奨励賞セッション			
12:30~13:30 ランチョンセミナー			
14:30~17:30 SY 創立40周年記念 シンポジウム			
18:30~ 懇親会 (倉敷ロイヤルアートホテル)			

会議の予定

- ・理事会・評議会合同会議 8:30~9:30 2階 会議室
- ・リサーチ・フォーラム運営会議 9:30~10:00 2階 会議室

5月28日(日)

第1会場	第2会場	第3会場	ポスター
10:00~10:36 OS1 血管内治療	10:00~11:00 OS7 食品およびソフトマター のレオロジー (1)	10:00~10:48 OS5 ティッシュエンジニア リング・人工臓器(1)	
11:05~12:05 OS3 血液レオロジーと 微小循環 (1)	11:05~12:17 OS7 食品およびソフトマター のレオロジー (2)	10:53~11:41 OS5 ティッシュエンジニア リング・人工臓器(2)	
12:30~13:30 ランチョンセミナー			
13:30~14:30 総会、表彰			
14:30~16:00 受賞講演			
16:00~17:00 OS3 血液レオロジーと 微小循環 (2)	16:00~17:00 OS7 食品およびソフトマター のレオロジー (3)	16:00~17:00 OS8 臨床工学分野の レオロジー	
17:05~ 閉会式			

会議の予定

- ・JBR 打ち合わせ会議 8:30~9:15 2階 会議室
- ・電子版B&R 編集委員会 9:15~10:00 2階 会議室

# プログラム 5月27日(土)

## 第1会場

10:00~10:10 開会式

10:10~10:58 OS6 生体物質の構造形成と機能発現・制御

座長：喜多 理王（東海大学）

OS6-01 液液接触・架橋過程としての血液の凝固

○土橋 敏明（群馬大学大学院理工学府），倉沢 隆太，榎 靖幸，外山 吉治，山本 隆夫（群馬大理工）

OS6-02 高い膠質浸透圧差に耐えるリポソーム（人工赤血球）脂質膜の流動性

久禮 智子（奈良県立医科大学 化学教室），○酒井 宏水（奈良県立医科大学化学教室）

OS6-03 細胞を懸濁したコラーゲン水溶液におけるゲル化と相分離の共役

○古澤 和也（北海道大学大学院先端生命科学研究院），土田 雅之（北海道大学大学院生命科学院）

OS6-04 骨コラーゲン中の最終糖化産物が骨の物性に及ぼす影響

○佐々木 直樹（北海道大学大学院先端生命科学研究院），野村 奈央（北海道大学理学部生物科学科），古澤 和也（北海道大学大学院先端生命科学研究院）

11:20~12:20 A1 学会奨励賞セッション

座長：島野 健仁郎（東京都市大学），庄島 正明（埼玉医科大学）

A1-01 シミュレーションによる血栓止血システムの構成論的理解

○後藤 信一（慶應義塾大学医学部循環器内科、東海大学医学部循環器内科），田村 典子，綾部 健吾，後藤 信哉（東海大学医学部）

A1-02 間質流の大きさがグリオーマ幹細胞の浸潤プロセスに与える影響

○布川 岳人，長南 友太，難波 尚子，須藤 亮（慶應義塾大学大学院理工学研究科）

A1-03 アミロイド性集合体を防止するペプチドの分子設計とその抑制評価

○柴立 郁美，植田 知美，橋本 慎二（山口東京理科大学大学院 工学研究科），森井 尚之（産業技術総合研究所），佐伯 政俊（山口東京理科大学大学院 工学研究科）

- A1-04 DNAの好熱・嫌熱的な分子輸送過程の多様性に与える塩基配列と分子量の効果  
○中山 耕史朗(東海大学大学院 総合理工学研究科 総合理工学専攻), 土井 駿, 八木原 晋, 新屋敷 直木(東海大学 理学部 物理学科), 喜多 理王(東海大学 理学部 物理学科, 東海大学マイクロ・ナノ研究開発センター), 中川 草(東海大学 医学部 基礎医学系分子生命科学, 東海大学マイクロ・ナノ研究開発センター), 笹川 昇(東海大学 工学部 生命科学科)
- A1-05 海綿骨内における浸透率測定  
○伊藤 誠(東北大学大学院工学研究科), Simon Tupin(東北大学 流体科学研究所), 安西 眸(東北大学 学際科学フロンティア研究所), 鈴木 杏奈, 太田 信(東北大学 流体科学研究所)

## 12:30~13:30 ランチョンセミナー

座長: 鶴田 昌之(九州大学)

卵料理のレオロジー

金田 勇(酪農学園大学)

## 14:30~17:30 SY 創立40周年記念シンポジウム

座長: 望月 精一(川崎医療福祉大学), 工藤 奨(九州大学), 金田 勇(酪農学園大学)

SY-01 バイオロロジ-と医用工学 -基礎研究から医療イノベーション-

梶谷 文彦(川崎医科大学名誉教授)

SY-02 医療ニーズに基づく医療機器開発の道筋

谷下 一夫(早稲田大学ナノ・ライフ創新研究機構)

SY-03 食のバイオロロジ-

西成 勝好, 方亚鹏(湖北工業大学軽工学部食品薬品工業学科)

## 第2会場

10:10~10:58 OS2 循環器系ダイナミクスと疾患

座長：山田 宏（九州工業大学），後藤 信哉（東海大学）

OS2-01 CFDを用いた破裂・未破裂脳動脈瘤の多変量解析

○内山 祐也（東京理科大学工学部機械工学科），高尾 洋之（東京慈恵会医科大学 脳神経外科，東京慈恵会医科大学 先端医療情報技術研究講座，東京理科大学大学院 工学研究科 機械工学専攻），鈴木 貴士，藤村 宗一郎（東京理科大学大学院 工学研究科 機械工学専攻），田中 和俊（東京理科大学 工学部 機械工学科），石橋 敏寛（東京慈恵会医科大学 脳神経外科），守 裕也，山本 誠（東京理科大学 工学部 機械工学科），村山 雄一（東京慈恵会医科大学 脳神経外科）

OS2-02 CFDを用いた未破裂脳動脈瘤における菲薄部予測に関する研究

○田中 和俊（東京理科大学大学院工学研究科），高尾 洋之（東京慈恵会医科大学 脳神経外科），鈴木 貴士（東京理科大学 工学部 機械工学科），藤村 宗一郎，内山 祐也（東京理科大学大学院 工学研究科 機械工学専攻），石橋 敏寛（東京慈恵会医科大学 脳神経外科），守 裕也，山本 誠（東京理科大学 工学部 機械工学科），村山 雄一（東京慈恵会医科大学 脳神経外科）

OS2-03 粥腫の生じたヒト頸動脈内膜に対する薄切試験片の伸展試験

○山田 宏（九州工業大学大学院生命体工学研究科），坂田 則行（福岡大学 医学部），井上 亨（福岡大学 医学部）

OS2-04 電気回路モデルを利用した血圧反射波同定法の一試案

○岡村 法宜（愛媛県立医療技術大学保健科学部）

## 第3会場

10:10~11:22 OS4 細胞・分子のメカノバイオロジー

座長：工藤 奨（九州大学），坂元 尚哉（首都大学東京）

OS4-01 冠循環の血流特性による心臓弾性蛋白質コネクチンの短縮

○花島 章，橋本 謙，氏原 嘉洋，本田 威，児玉 彩，呼元 知子，杉野 充希，毛利 聡（川崎医科大学 生理学1教室）

OS4-02 高せん断応力環境に対する血管内皮細胞の形態応答

○坂元 尚哉，堀江 悠太，大山 侑樹，舘林 耕平（首都大学東京システムデザイン学部），中村 匡徳（埼玉大学 大学院理工学研究科機械工学科）

OS4-03 磁気マイクロビーズを用いた内皮細胞膜の力学特性計測

○玉井 克志（北海道大学大学院工学院），松尾 智史（北海道大学大学院工学院人間機械システムデザイン専攻），大橋 俊朗（北海道大学大学院工学研究院人間機械システムデザイン部門）

OS4-04 血管内皮細胞PIP2加水分解に及ぼすつき刺激の影響

○宮本 聡（九州大学大学院システム生命科学府），モハイラ ビンティ モハマドディン（九州大学 工学部 機械航空工学科），荒井 雅貴（九州大学 大学院工学府 機械工学専攻），中嶋 和弘，世良 俊博，工藤 奨（九州大学 大学院工学研究院 機械工学部門）

OS4-05 刺入法によるアフリカツメガエル新鮮原腸胚内部の力学環境の推定に関する研究

○丹下 祥之（名古屋大学大学院工学研究科），前田 英次郎，村瀬 晃平（名古屋大学 工学研究科 機械システム専攻），上野 直人（基礎生物学研究所），松本 健郎（名古屋大学 工学研究科 機械システム専攻）

OS4-06 コラーゲンゲル上における骨芽細胞様細胞の能動的配向

○石川 敬一（京都大学大学院工学研究科），須長 純子，亀尾 佳貴，安達 泰治（京都大学 ウイルス・再生医科学研究所）

# プログラム 5月28日(日)

## 第1会場

10:00~10:36 OS1 血管内治療

座長：庄島 正明（埼玉医科大学）

OS1-01 動静脈循環型シミュレータにおけるカテーテル操作のシミュレーション

○廣浦 学（ニプロ株式会社企画開発技術事業部），廣田 徹（株式会社グッドマン），向井 純平，正木 涼子，直木 洋介（ニプロ株式会社），廣田 悦子，伊達 博（株式会社グッドマン），川口 晃，森 智（ニプロ株式会社），横山 武志（九州大学）

OS1-02 末梢動脈閉塞の経静脈灌流による治療法の検討：血行路の再確認

○小山 富康（北海道大学名誉教授），笹嶋 唯博（旭川医科大学名誉教授）

OS1-03 低張り応力下における内皮細胞への血小板粘着量の測定

小川 侑樹，中原 拓真，西田 悠馬（東京都市大学 工学部 機械システム工学科），小林 千尋，平田 孝道（東京都市大学 工学部 医用工学科），○島野 健仁郎（東京都市大学 工学部 機械システム工学科）

11:05~12:05 OS3 血液レオロジーと微小循環（1）

座長：柴田 政廣（芝浦工業大学）

OS3-01 血流速度に基づいたバイオマーカーによる脳動脈瘤増大とブレブ発生の予測の検討

○石黒 健太（名古屋大学大学院 医学系研究科），磯田 治夫（名古屋大学 脳とこころの研究センター），水野 崇（名古屋大学大学院 医学系研究科），田嶋 駿亮，竹原 康雄（名古屋大学大学院 医学系研究科），寺田 理希（磐田市立総合病院 第1放射線診断科），小杉 崇文（株式会社アールテック），大西 有希（東京工業大学大学院 システム制御系），福山 篤司（名古屋大学大学院 医学系研究科）

OS3-02 降圧剤による治療下の高血圧症例における赤血球変形能の検討

○丸山 徹（九州大学基幹教育院），小田代 敬太，有田 武史，深田 光敬，横山 拓，野田 裕剛，入江 圭，森山 祥平，藤田 一允，木佐貫 恵（九州大学血液腫瘍心血管内科）

OS3-03 頸動脈を対象とした3次元シネ位相コントラスト磁気共鳴法の血流動態解析の再現性

○七条 来夢（名古屋大学医学部保健学科），福山 篤司，石黒 健太，水野 崇（名古屋大学大学院 医学系研究科），磯田 治夫（名古屋大学 脳とこころの研究センター）

OS3-04 静脈血栓フィブリン構造変化—血小板数、ヘマトクリット値の影響

○平方秀男（京都市立病院麻酔科），杉田 尚子，井上 京（京都大学大学院・医学研究科），巽 和也，栗山 怜子（京都大学大学院・工学研究科），伊井 仁志，新岡 宏彦，和田 成生（大阪大学大学院・基礎工学研究科），小池 薫，村井 俊哉（京都大学大学院・医学研究科）

- OS3-05 ビールの苦味成分ホップに含まれるイソフムロンの血管内皮機能改善効果  
 ○富田 純子 (府中市民病院), 望月 精一 (川崎医療福祉大学 臨床工学科), 藤本 壮八 (川崎医科大学 健康管理学科), 柏原 直樹 (川崎医科大学 腎臓・高血圧内科), 赤阪 隆史 (和歌山医科大学 循環器内科), 谷本 光音 (岡山大学 血液・腫瘍・呼吸器内科), 吉田 清 (心臓病センター榊原病院 循環器内科)

12:30~13:30 ランチョンセミナー

座長：望月 精一 (川崎医療福祉大学)

スティーブ・ジョブズに学ぶ 就寝前の過ごし方 心地よく眠りに就くために  
 保野 孝弘 (川崎医療福祉大学 医療技術学部 臨床心理学科)

13:30~14:30 総会、表彰 (岡小天賞、論文賞、学会奨励賞、優秀ポスター賞)

14:30~16:00 受賞講演

座長：土橋敏明 (群馬大学), 松本健郎 (名古屋大学)

岡小天賞 「流れる固体」と骨組織のレオロジー

佐々木 直樹 (北海道大学大学院先端生命科学研究院)

論文賞 拡散によって誘起されるカードランゲルの異方的・多層構造

榎 靖幸 (群馬大学大学院理工学府)

16:00~17:00 OS3 血液レオロジーと微小循環 (2)

座長：田地川 勉 (関西大学)

OS3-06 過凝集性牛乳を使った血流停滞による血栓形成模擬実験系構築の試み

○田地川 勉 (関西大学システム理工学部), 田中 雅之 (関西大学 システム理工学部 機械工学科), 柳楽 恭子 (関西大学大学院 理工学研究科)

OS3-07 シースフロー型マイクロチャンネルによる赤血球変形能の定量評価 (毛細血管内の赤血球懸濁液の粘度と形状回復時定数の関係)

○乾 智幸, 山下 雄士 (関西大学大学院 理工学研究科), 田地川 勉 (関西大学 システム理工学部), 池本 敏行 (大阪医科大学附属病院 中央検査部), 武内 徹 (大阪医科大学 第一内科学教室)

- OS3-08 赤血球サスペンションの微小流路流れにおける血小板模擬粒子の断面内分布  
瀧ノ内 希陸, ○佐々木 崇洋 (関西大学大学院 理工学研究科), 関 淳二, 板野 智昭, 関  
真佐子 (関西大学 システム理工学部)
- OS3-09 GFP標識赤血球ラットを用いた脳微小血管における赤血球分配の時空間変動  
○栗原 唯花, 須貸 拓馬, 正本 和人 (電気通信大学 情報理工学研究科)
- OS3-10 骨格筋細動脈血管壁での血流によるずり応力  
○柴田 政廣 (芝浦工業大学生命科学科), 神谷 瞭 (東京大学)

17:05～ 閉会式

## 第2会場

10:00~11:00 OS7 食品およびソフトマターのレオロジー (1)

座長：高橋 智子 (神奈川工科大学)，中馬 誠 (三栄源エフ・エフ・アイ株式会社)

OS7-01 多糖類分散液のレオロジーが嚥下時の生理反応に与える影響

○中馬 誠，池上 聡，松山 信悟，石原 清香，船見 孝博 (三栄源エフ・エフ・アイ株式会社)

OS7-02 擬似咽頭通過に基づく食感評価システムに関する基礎研究

○三輪 昌徳，柴田 暁秀，東森 充 (大阪大学大学院工学研究科)，池上 聡，中馬 誠 (三栄源エフ・エフ・アイ (株))

OS7-03 ヒト胃消化シミュレーターを利用した力学特性が異なるハイドロゲル粒子の微細化挙動の観測

王 在天 (筑波大学生命環境系/農研機構食品研究部門)，神津 博幸 (筑波大学北アフリカ研究センター)，磯田 博子 (筑波大学生命環境系/筑波大学北アフリカ研究センター)，植村 邦彦 (農研機構食品研究部門)，○小林 功 (農研機構食品研究部門)，市川 創作 (筑波大学生命環境系/農研機構食品研究部門)

OS7-04 モノの「やわらかさ」を測る押込試験システムの食品への適用

○佐久間 淳 (京都工芸繊維大学繊維学系)

OS7-05 キサンタンガム系とろみ調整食品の客観的評価と主観的評価

○高橋 智子 (神奈川工科大学応用バイオ科学部)

11:05~12:17 OS7 食品およびソフトマターのレオロジー (2)

座長：金田 勇 (酪農学園大学)，鴫田 昌之 (九州大学)

OS7-06 HMHEC/Cycloamylose 混合系における cycloamylose の重合度 61 と 62 の違い

○武政 誠 (東京電機大学理工学部生命理工学系)，北村 進一 (大阪府立大学)

OS7-07 光を駆動力とする自律スイングゲルの調製

中村 駿介，○成田 貴行，大石 祐司 (佐賀大学大学院 工学系研究科)

OS7-08 アガロースゲルの流体摩擦

上瀧 守，○鴫田 昌之 (九州大学理学研究院)

OS7-09 Microrheology of kappa, iota, and mixed kappa/iota carrageenan gels by multiple particle tracking and optical tweezers

○Lester Geonzon, Faith Descallar (Tokyo University Of Marine Science And Technology, Department Of Food Science And Technology), Stephen Flores, Rommel Bacabac (University Of San Carlos, Department Of Physics Medical Biophysics Group), Shingo Matsukawa (Tokyo University Of Marine Science And Technology, Department Of Food Science And Technology)

- OS7-10 Aging effect on network structure in agarose gel studied by NMR and electrophoresis  
○Faith Bernadette Descallar, Koki Tani, Shingo Matsukawa (Tokyo University of Marine Science and Technology, Department of Science and Technology)
- OS7-11 Dynamic Rheological Properties of Mixed Carrageenan Gels Under Large Strains  
○MATSUKAWA Shingo (Tokyo University of Marine Science and Technology) ,  
FLORES L. Stephen, DESCALLAR A. Faith (Tokyo University of Marine Science and Technology, Department of Food Science and Technology), BACABAC G. Rommel (University of San Carlos, Department of Physics)

## 16:00~17:00 OS7 食品およびソフトマターのレオロジー (3)

座長：吉村 美紀 (兵庫県立大学) , 市川 寿 (長崎大学)

- OS7-12 ゲル形成能に優れた魚鱗由来ゼラチンの収率改善  
○山口 紘平 (長崎大学大学院水産・環境科学総合研究科) , Alice Mutie (Kenya Marine and Fisheries Research Institute), 斗石 日和 (長崎大学水産学部) , 市川 寿 (長崎大学大学院水産・環境科学総合研究科)
- OS7-13 野生酵母の製パン特性  
○筒井 和美 (愛知教育大学教育学部) , 辻村 幸紀, 榊原 朱梨, 早瀬 和利 (愛知教育大学) , 佐藤 恵美子 (新潟県立大学) , 西成 勝好 (中国・湖北工業大学)
- OS7-14 ゼリー状食品のかたさ測定における試料調製方法の違いが物性値に及ぼす影響  
○早川 結樹, 川上 智美, 武田 安弘 (森永乳業株式会社 研究本部 健康栄養科学研究所)
- OS7-15 手打ち麺の非等方性膨潤挙動  
○小林 祥子, 金田 勇 (酪農学園大学 食と健康学類)
- OS7-16 乾燥卵白濃厚水溶液の低温でのゲル化挙動  
○佐藤 かな子 (酪農学園大学大学院食品栄養科学専攻) , 金田 勇 (酪農学園大学 食と健康学類)

## 第3会場

10:00~10:48 OS5 ティッシュエンジニアリング・人工臓器 (1)

座長：岩崎 清隆 (早稲田大学)

- OS5-01 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の素材に対する検討  
○西田 正浩 (産業技術総合研究所), 後藤 大輝 (横浜国立大学 大学院工学研究院), 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 大学院工学研究院), 山本 好宏, 桑名 克之 (泉工医科工業株式会社), 山根 隆志 (神戸大学 大学院工学研究科)
- OS5-02 拍動循環可能な小容量抗血栓性試験回路の開発  
○松橋 祐輝 (早稲田大学大学院先進理工学研究科), 鮫島 啓 (早稲田大学大学院先進理工学研究科生命理工学専攻), 前田 真宏 (早稲田大学創造理工学部総合機械工学科), 梅津 光生 (早稲田大学大学院創造理工学研究科総合機械工学専攻), 岩崎 清隆 (早稲田大学大学院先進理工学研究科共同先端生命医科学専攻)
- OS5-03 腹部大動脈瘤モデルを用いたステントグラフトの留置形態に関する検討  
○赤岡 拓 (早稲田大学大学院創造理工学研究科), 宿澤 孝太 (早稲田大学大学院 共同先端生命医科学専攻), 藤井 智也 (早稲田大学大学院 先進理工学研究科 生命理工学専攻), 伊藤 大輝 (早稲田大学大学院 総合機械工学研究科 総合機械工学専攻), 梅津 光生 (早稲田大学大学院 総合機械工学専攻), 大木 隆生 (東京慈恵医科大学 血管外科), 岩崎 清隆 (早稲田大学大学院 共同先端生命医科学専攻)
- OS5-04 細胞接着制限環境下におけるmES細胞の培養  
○安藤 悠太 (京都大学大学院工学研究科), オケヨ ケネディ, 安達 泰治 (京都大学 ウイルス・再生医科学研究所)

10:53~11:41 OS5 ティッシュエンジニアリング・人工臓器 (2)

座長：西田 正浩 (産業技術総合研究所)

- OS5-05 多管構造を持つコラーゲンゲルを用いた細動脈様組織の構築  
○古澤 和也 (北海道大学先端生命科学研究科), 隈本 有里 (北海道大学・大学院・生命科学学院)
- OS5-06 脱細胞化腱を用いたヒツジ膝前十字靭帯再建実験による生体内での細胞浸潤に関する検討  
○岩崎 清隆 (早稲田大学理工学術院先進理工学研究科), 伊藤 匡史 (東京女子医科大学 整形外科), 井柵 浩貴, 高野 和也, 岡村 昭慶, 奥田 慶也, 八木 優大 (早稲田大学大学院総合機械工学専攻), 梅津 光生 (早稲田大学大学院総合機械工学専攻)

- OS5-07 脱細胞化処理および滅菌処理が組織のコラーゲンに及ぼす影響の検討  
○奥田 慶也 (早稲田大学大学院創造理工学研究科), 岡村 昭慶 (早稲田大学 大学院創造理工学研究科 総合機械工学専攻), 八木 優大 (早稲田大学 大学院先進理工学研究科 生命理工学専攻), 軽部 裕代 (早稲田大学 理工学術院先進理工学研究科 共同先端生命医科学専攻), 梅津 光生 (早稲田大学 大学院創造理工学研究科 総合機械工学専攻), 岩崎 清隆 (早稲田大学 理工学術院先進理工学研究科 共同先端生命医科学専攻)
- OS5-08 脱細胞化処理溶液への浸透時間が脱細胞化腱と靭帯の力学特性に及ぼす影響の検討  
○八木 優大 (早稲田大学大学院先進理工学研究科), 岡村 昭慶, 奥田慶也, 梅津 光生, 岩崎 清隆

## 16:00~17:00 OS8 臨床工学分野のレオロジー

座長：宮坂 武寛 (湘南工科大学)

- OS8-01 インピーダンス・スペクトロスコピー・トモグラフィによるリンパ浮腫の早期検出  
○孫 越, マルリン ラマダンバイディラ, アルアミン サイクルイマン, 川嶋 大介, 武居 昌宏 (千葉大学大学院工学研究科)
- OS8-02 生体電気インピーダンス法で測定した血液透析患者の体内水分量バランスと循環動態および栄養状態との関連性  
○安藤 誠 (大原記念倉敷中央医療機構倉敷中央病院臨床工学部), 隅中 智太 (公益財団法人 大原記念倉敷中央医療機構 倉敷中央病院 臨床工学部 人工透析センター支援室), 島田 典明, 浅野 健一郎 (公益財団法人 大原記念倉敷中央医療機構 倉敷中央病院 腎臓内科), 小野 淳一, 軸屋 和明, 望月 精一 (川崎医療福祉大学大学院 医療技術学研究科 臨床工学専攻)
- OS8-03 シングルニードル透析における適切な血液回路の検討  
○藤原 千尋 (岡山大学病院臨床工学部), 望月 精一, 小川 武人 (川崎医療福祉大学大学院 臨床工学専攻)
- OS8-04 Vascular Access 機能低下の重症度と CL-Gap の有用性について  
○小野 淳一 (川崎医療福祉大学医療技術学部臨床工学科), 白髪 裕二郎 (川崎医科大学 附属病院MEセンター), 佐々木 環 (川崎医科大学腎臓・高血圧内科学), 小笠原 康夫, 望月 精一 (川崎医療福祉大学医療技術学部臨床工学科)
- OS8-05 ポリスルホン膜製血液濾過器における血栓形成状況とライフタイムの比較  
○宮坂 武寛 (湘南工科大学工学部), 王 博, 佐野 斗士矢, 木下 慶祐, 八木 優太郎 (湘南工科大学 工学部 人間環境学科), 林 鳳娟 (湘南工科大学大学院 機械工学専攻)

## ポスター発表 (5月27日(土), 28日(日))

### ポスター発表 (優秀ポスター賞応募アリ)

- P1P-01 空気接触による血小板の活性化  
○澁谷 慎, 後藤 晴, 内貴 猛 (岡山理科大学学生体医工学科), 小野 和秀, 杉山 博信 (日機装株式会社)
- P1P-02 小麦・多糖類混合系ゲルの物性について  
○細田 捺希 (兵庫県立大学大学院環境人間学研究科), 吉村 美紀 (兵庫県立大学)
- P1P-03 小麦粉-パルプ混合系の物性に及ぼすパルプ粒径の影響  
○永井 紘太 (兵庫県立大学大学院環境人間学研究科), 北森 江里佳 (兵庫県立大学), 佐藤 恵美子 (新潟県立大学), 吉村 美紀 (兵庫県立大学)
- P1P-04 ミスフォールディングによる凝集形成を防止するためのペプチドとその抑制効果  
○杉山 さつき, 水沼 亮太, 柴立 郁美, 佐伯 政俊 (山口東京理科大学大学院 工学研究科)
- P1P-05 温度勾配を駆動力としたアスピリン/シクロデキストリン包接錯体の分子輸送現象  
○江口 和也, 川口 翼 (東海大学大学院総合理工学専攻), 新屋敷 直木, 八木原 晋 (東海大学理学部物理学科), 喜多 理王 (東海大学), Doreen Niether (ICS-3 Soft Condensed Matter, Forschungszentrum Julich GmbH), Jana Hovancova (Chemistry Department, Pavol Jozef Safarik University), Simone Wiegand (Chemistry Department - Physical Chemistry, University Cologne)
- P1P-06 TAMIにおける生体弁ステント部の不完全展開に関する力学的検討  
○伊藤 朋晃, 山田 宏 (九州工業大学 大学院生命体工学研究科), 白井 伸一 (小倉記念病院 循環器科)
- P1P-07 ずり応力に対する消化管組織由来の細胞応答  
○志村 大智, 上田 早希, 道端 良之介, 小川 剛伸, 梶田 哲哉, 谷 史人 (京都大学大学院 農学研究科)
- P1P-08 Langmuir法を利用した非対称性リポソーム調製法の検討  
○光武 祐希 (佐賀大学大学院工学系研究科), 大石 祐司, 成田 貴行 (佐賀大学工学系研究科循環物質化学専攻)
- P1P-09 コラーゲンゲルに現れる新奇な巨視的パターン  
○近藤 美咲 (佐賀大学大学院工学系研究科), 大石 祐司 (佐賀大学 工学系研究科), 古澤 和也 (北海道大学 先端生命科学研究院), 成田 貴行 (佐賀大学 工学系研究科)
- P1P-10 浅大腿動脈のねじり短縮複合負荷に対する自己拡張型 Ni-Ti 合金製ステントの有限要素解析  
○朱 曉冬 (早稲田大学大学院創造理工学研究科), 橋本 雅也 (早稲田大学 創造理工学部 総合機械工学科), 梅津 光生 (早稲田大学理工学術院 創造理工学部 総合機械工学科), 岩崎 清隆 (早稲田大学理工学術院 先進理工学研究科 共同先端生命医科学専攻)

- P1P-11 粒子画像流速計測法を用いた医療機器の接続部の流れ場が血栓形成に及ぼす影響の検討  
○松橋 祐輝 (早稲田大学大学院先進理工学研究科), 鮫島 啓 (早稲田大学大学院先進理工学研究科生命理工学専攻), 梅津 光生 (早稲田大学大学院創造理工学研究科総合機械工学専攻), 岩崎 清隆 (早稲田大学大学院先進理工学研究科共同先端生命医科学専攻)
- P1P-12 赤血球軸集中現象の顕微計測 -変形性の影響-  
○佐々木 崇洋 (関西大学大学院理工学研究科), 関 淳二, 板野 智昭, 関 眞佐子 (関西大学 システム理工学部)

ポスター発表 (優秀ポスター賞応募募ナシ)

- P1N-01 Gelation study of NiPAM monomer induced by UV photopolymerization  
○Isala Dueramae (Micro/Nano Technology Center/Tokai University), Fumihiko Tanaka (Department of polymer chemistry, Graduate School of Engineering, Kyoto University), Naoki Shinyashiki, Shin Yagihara (Department of Physics, Tokai University), Rio Kita (Micro/Nano Technology Center, Department of Physics, Tokai University)
- P1N-02 食肉および魚肉の物性・咀嚼性に及ぼす食品品質改良剤と加熱の影響  
○畦西 克己 (大阪大学歯学部附属病院), 吉村 美紀, 永井 紘太 (兵庫県立大学大学院環境人間学研究科)
- P1N-03 7-ketocholesterolはp38MAPK経路を介して白血球の血管内皮への接着を亢進する  
○谷 真理子 (東京医科歯科大学大学院血管代謝探索講座), 大坂 瑞子, 轟 裕美, 鎌田 悠子, 出牛 三千代, 吉田 雅幸 (東京医歯大院・先進倫理医科学分野)
- P1N-04 ゼラチンゲルの破壊エネルギー測定  
○武田 怜, 榎 靖幸, 土橋 敏明 (群馬大学大学院理工学府)
- P1N-05 シングルニードル透析の流動特性が溶質除去に及ぼす影響  
○小川 武人 (川崎医療福祉大学医療技術学部臨床工学科), 藤原 千尋 (岡山大学病院臨床工学部), 望月 精一 (川崎医療福祉大学 臨床工学科)
- P1N-06 透析器における内部濾過流量にファウリングが及ぼす影響  
○山本 健一郎 (川崎医療福祉大学医療技術学部臨床工学科), 峰島 三千男 (東京女子医科大学 臨床工学科)

(本プログラムは、抄録原稿の情報に基づいて作成しています。)

# 要旨

5月27日(土)

第1会場

OS6

生体物質の構造形成と機能発現・制御

## 液液接触・架橋過程としての血液の凝固

○土橋敏明\*, 倉沢隆太\*, 楨靖幸\*, 外山吉治\*, 山本隆夫\*

\*群馬大学大学院理工学府[〒176-8515 桐生市天神町 1-5-1]

### 1. 緒言

血液凝固の最初の段階は、内因系凝固の場合も外因系凝固の場合も、血管の内皮細胞表面または赤血球表面から始まり、ラテラル方向へのフィブリンゲル生成へ進む。したがって、その基本的メカニズムは、フィブリノゲンなどの高分子溶液と高分子を架橋させる凝固駆動物質の溶液との2相の接触によって起きるゲルの成長過程と考えることができる<sup>1)</sup>。このことから、高分子溶液/架橋剤溶液の接触・架橋過程の一般論<sup>2, 3)</sup>が血液凝固の場合にどのように適用されるかを調べることは興味深い。

本研究では、(1) エコノミー症候群のメカニズムとして考えられている赤血球存在下における血漿の凝固(ゲル形成)<sup>4)</sup>に対する *in vitro* での実験と (2) 臨床検査で用いられる血漿/血液凝固因子水溶液系の凝固時間測定を攪拌混合ではなく接触によって行う場合の対照実験について、実験及び理論により、そこから抽出できる血液に関する情報について考察した。

### 2. 実験方法

凝固阻害剤としてクエン酸塩を含有するウマ由来保存血液(日本バイオテスト研究所)を遠心分離し、パuffyコートを取り除き、血漿(PFP : Platelet Free Plasma)とパック赤血球を得た。

系 1 (1)のモデルとして、プラスチックチューブに入れたパック赤血球の上に微量の塩化カルシウムを加えた血漿を重層した。

系 2 (2)のモデルとして、血漿をプラスチックセルに入れセル上部に透析膜を貼った後塩化カルシウム水溶液を重層した。

系 1 と 2 について、25°Cにおいてゲル化の様子を撮影し、ゾル-ゲル界面の移動を追跡した。

### 3. 結果と考察

系 1, 2 の実験では、ともに2相の界面からの血漿のゲル成長が観察され、血漿ゲル層と血漿ゾル層の界面は明瞭であった。系 1 の赤血球表面からのゲル化では、図 1 のような S 字型の成長が観察された。実験 2 の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、ラグタイムの後、ゲル層の厚みは最初時間の平方根にほぼ比例して成長し、その後成長速度がさ

らに大きくなるのが観察された。系 1 については赤血球膜上での凝固開始と成長のモデル<sup>4)</sup>と矛盾しない。系 2 についてはカルシウムイオンとクエン酸イオンの相互拡散を律速とするゲル幅の成長を仮定することにより説明できる。実験結果の理論式へのフィッティングにより決定されるパラメータは血漿の凝固能に関する知見を与えると考えられる。

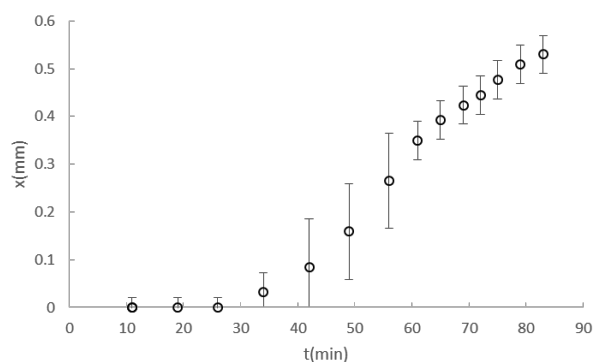


Figure 1 Time course of gel thickness

### 文献

- 1) Shida, N., Kurasawa, R., Maki, Y., Toyama, Y., Dobashi, T. and Yamamoto, T.: Study of plasma coagulation induced by contact with calcium chloride solution, *Soft Matter*, 12, 9471-9476, 2016.
- 2) Yamamoto, T., Tomita, N., Maki, Y. and Dobashi, T.: Dynamics in the Process of Formation of Anisotropic Chitosan Hydrogel, *J. Phys. Chem. B*, 114, 10002-10009, 2010.
- 3) Dobashi T. and Yamamoto, T.: Anisotropic Gel Formation Induced by Dialysis. In *Encyclopedia of Biocolloid and Biointerface Science*, Chapter 39, H. Ohshima (Ed), Wiley, 2016.
- 4) Iwata H. and Kaibara, M.: Activation of factor IX by erythrocyte membranes causes intrinsic coagulation. *Blood Coagul. Fibrinol.*, 13, 489-496, 2002.

# 高い膠質浸透圧差に耐えるリポソーム(人工赤血球)脂質膜の流動性

久禮 智子, ○酒井 宏水

奈良県立医科大学 化学教室 [〒634-8521 奈良県橿原市四条町840]

## 1. 緒言

高濃度ヘモグロビン(Hb)水溶液を内包したリポソーム(ヘモグロビン ベシクル, Hb-V)は、人工赤血球(赤血球代替物)としてその安全性と有効性が詳細に検討されている<sup>1)</sup>。またその微粒子濃厚分散系の特徴的なレオロジー特性についても明らかにされている<sup>2,4)</sup>。

Hb-Vに内包される高濃度Hb溶液(35-40 g/dL)は、非常に高い膠質浸透圧(COP)、200 - 300 Torrを示す。この値は血液のCOP(20-25 Torr)に比較して極めて高く、Hb-Vは常に脂質膜を介して高いCOPに晒されていることになる。しかしHb-Vは高い安定性を有し、長期保存中(生理食塩水に分散)、また血管内投与後も構造を保持し、Hbの漏出は無い。そこで本研究では、蛍光分子(1,6-diphenyl-1,3,5-hexatriene, DPH)を脂質膜に担持させ、その蛍光異方性から脂質膜の流動性を推定する方法を利用し、内包蛋白質水溶液による高い膠質浸透圧が脂質膜の流動性にどのような影響を与えるか調べることを目的とした<sup>5)</sup>。

## 2. 実験方法

DPHの蛍光スペクトルは、Hbの吸収スペクトルと重複し、Hb-Vでは十分な蛍光強度が得られない。そこで、ヒト血清アルブミン(Alb)溶液(0 - 40 g/dL)をHbのモデル蛋白質とした。Hbと同様、Albは溶液濃度に応じた高い膠質浸透圧、粘度を示す。リポソームの脂質膜組成は、DPPC/cholesterol/DHSG/DSPE-PEG<sub>5000</sub>(5/4/1/0.03モル比)とした。常法により各種濃度Alb溶液を内包させたリポソームを調製した。そして、DPHを脂質膜に担持させ、蛍光異方性を測定した。また蛍光異方性から脂質膜の粘度を推定した。

## 3. 実験結果および考察

リポソームに内包させたAlb濃度が高くなるにつれ、DPHの蛍光異方性は低下する傾向がみられた。特に、低温度領域で顕著であった。蛍光異方性から粘度を推定したところ、40 g/dLのAlbを内包させると、25°Cにおける粘度は949±8 cPから607±10 cPにまで低下した。このことから、Alb溶液の内包により生じた脂質膜を介したCOP較差により、リポソームが膨張し表面積を大きくする方向に働き、結果として脂質膜の流動性が上昇し、粘度が低下したものと考えられた。

温度を60°Cにまで上昇させると、脂質膜粘度は377±10 cPにまで低下したが、それでもDPPC単独の脂質から構成されるリポソームの相転移温度( $T_c$ )以上(液晶状態)における粘度(40±2cP)と比較すると十分に高い。このことから、膠質浸透圧差によって生じる脂質膜の流動性の変動は軽微と考えられた。

## 4. 結言

人工赤血球は、脂質膜に対し垂直方向の膠質浸透圧差を受け、脂質膜は張力を受け水平方向にある程度の広がりを持ち、脂質分子の運動性が若干高くなるものと考えられる。しかし、その変化は軽微であり、膠質浸透圧差に対して強度は十分に保ち、内包した高濃度Hbを保持することができていると結論できる。

## 謝辞

本研究は、科学研究費補助金(基盤研究(B)25282136)、日本医療研究開発機構 委託研究開発費(15E1k0201034h001)ほかによって推進された。

## 文献

- 1) Sakai, H.: Overview of potential clinical applications of hemoglobin vesicles (HbV) as artificial red cells, evidenced by preclinical studies of the academic research consortium. *J. Funct. Biomater.* 8, 10, 2017.
- 2) Sakai, H., Okuda, N., Sato, A., Yamaue, T., Takeoka, S., Tsuchida, E. Hemoglobin encapsulation in vesicles retards NO and CO binding and O<sub>2</sub> release when perfused through narrow gas-permeable tubes. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 298, H956-65, 2010.
- 3) Sakai, H., Sato, A., Takeoka, S., Tsuchida, E.: Rheological properties of hemoglobin vesicles (artificial oxygen carriers) suspended in a series of plasma-substitute solutions. *Langmuir*, 23, 8121-8128, 2007.
- 4) Sakai, H., Sato, A., Takeoka, S., Tsuchida, E.: Mechanism of flocculate formation of highly concentrated phospholipid vesicles suspended in a series of water-soluble biopolymers. *Biomacromolecules*. 10, 2344-2350, 2009.
- 5) Kure, T. and Sakai, H.: Transmembrane difference in colloid osmotic pressure affects the lipid membrane fluidity of liposomes encapsulating a concentrated protein solution. *Langmuir*, 33, 1533-1540, 2017.

# 細胞を懸濁したコラーゲン水溶液におけるゲル化と相分離の共役

○古澤和也\*, 土田雅之\*\*

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

\*\*北海道大学 大学院 生命科学院

## 1. 緒言

コラーゲンは組織工学の分野で最も広く用いられている細胞足場素材である。これは、コラーゲンが細胞外基質の主要成分であり、コラーゲンをを用いることで生体内と同様の微小環境を試験管内で再現することができるからである。通常のプロトコルで調製したコラーゲンは、比較的均一で等方的な構造を持つ。そのため、構築される再生組織も均一かつ等方的な組織形態を持つ。このような中、我々はコラーゲン水溶液をリン酸緩衝液中で透析することで、コラーゲン線維の配向構造、多管構造、そして傾斜構造を併せ持つコラーゲングル(マルチチャンネルコラーゲングル:MCCG)が自己組織化的に形成されることを見出した。MCCGはコラーゲン水溶液のpHが中和されることで引き起こされるコラーゲン水溶液の相分離と、同時に引き起こされるゲル化が共役することで形成されることが実験によって示唆されている。

最近、我々は細胞を懸濁したコラーゲン水溶液をリン酸緩衝液中に透析することで、MCCGのゲル基質中に細胞を埋め込んで三次元的に培養することに成功した。しかしながら、細胞という不純物が含まれているにもかかわらず多管構造が形成される理由や、ほとんどの細胞がゲル基質中に埋め込まれる理由は良くわかっていない。そこで、本研究ではコラーゲン水溶液に対する細胞の懸濁が、MCCGの形成挙動と階層構造に与える影響を調査した。

## 2. 実験方法

実験にはヒト肝がん由来細胞株(HepG2)を用いた。HepG2をウシ真皮由来のコラーゲン水溶液(高研、IPC-50)に $1.0 \times 10^6$  cells/mLおよび $2.0 \times 10^6$  cells/mLの細胞密度で懸濁した。この細胞懸濁液を35 mm ディッシュの上に置かれた直径8 mmの穴の開いた厚さ1 mmのシリコンゴムの型に充てんし、その上に透析膜をかぶせてさらに同じ形のシリコンゴムを置いた。4 mLの20 mMの $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ 、13 mMの $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 、および198 mMのグリセロールを含むリン酸緩衝液をディッシュに注ぎ、細胞懸濁液をMCCG化した。30分後、リン酸緩衝液を10% FBRと1%ペニシリン・ストレプトマイシンを含むDMEMに交換し培養を開始した。得

られた試料は、細胞核、Fアクチン、およびType Iコラーゲンを蛍光染色してから、共焦点走査型レーザー顕微鏡(CLSM)で観察した。

## 3. 結果と考察

調製した三次元再生組織のCLSM像がFigure 1に示されている。組織表面からの深さが $50 \mu\text{m}$ の位置ではMCCGの構造に対する細胞密度の有意な影響は観察されなかったが、組織表面からの深さが $250 \mu\text{m}$ の位置では、高い細胞密度の試料の方がチャンネルの数が有意に少なく、また画像全体の面積に対してチャンネルの領域が占める面積も有意に小さくなる結果が得られた。コラーゲン水溶液の相分離によって、細胞がコラーゲンの濃い領域へと輸送された結果、その領域に含まれるはずだったコラーゲン分子の数が過剰となる。濃厚相の過剰なコラーゲン濃度の上昇を打ち消すために、コラーゲン濃度の濃い領域の割合が増加し、コラーゲン濃度の低い領域の割合が減少したことが細胞密度の増加に伴う多管構造の変化の原因であると考えられる。

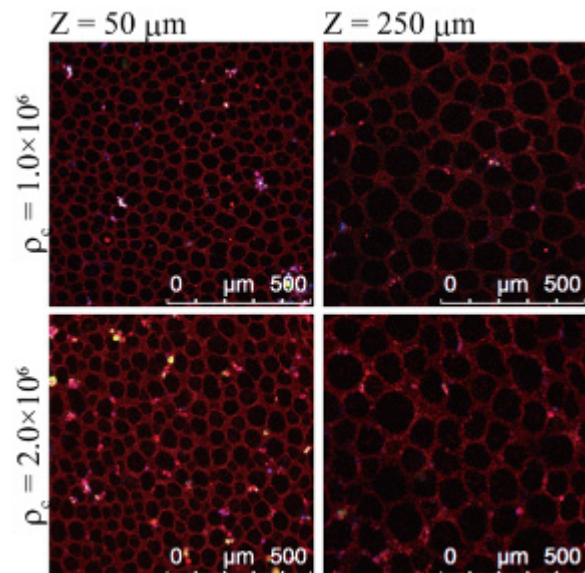


Figure 1. 構築した三次元再生組織のCLSM像。組織表面からの深さ(Z)が浅い位置(左)と深い位置(右)で撮影した画像。上側は細胞密度が $1.0 \times 10^6$  cells/mL、下側は細胞密度が $2.0 \times 10^6$  cells/mLの試料。

## 骨コラーゲン中の最終糖化産物が骨の物性に及ぼす影響

○佐々木直樹、野村奈央\*、古澤和也

北海道大学大学院先端生命科学研究院, \*北海道大学理学部

[〒060-0810 札幌市北区北10条西8丁目]

### 1. 緒言

骨組織の成熟過程では、コラーゲンマトリクス内で酵素により架橋(酵素的架橋)が形成され、結果組織が骨として十分な力学特性を獲得する<sup>1</sup>。一方で、日常的に糖化ストレスに曝されることで糖化産物による架橋(非酵素的架橋)が形成され、骨の力学特性に変化がもたらされる<sup>1</sup>。これら2種類の架橋形成による骨組織の力学特性変化が、加齢による骨の物性変化と言っても過言ではない。特に非酵素的架橋は骨の靱性を減少させ加齢による骨折要因の一つとされる。ここでは、非酵素的架橋が骨の粘弾性に及ぼす影響について実験的に調べることを目的とした。

### 2. 実験方法

骨試料としては28ヶ月去勢牛の大腿緻密骨・骨幹部を用いた。40 mm×5.5 mm×1.4 mmの矩形に切り出し表面を水やすりで整えた。HBSSに10%グルコース溶液、チモールを加えたものを糖化处理溶液とした。処理液中、整形試料を37°Cで3日から28日に亘ってインキュベートした。糖化处理による架橋の度合いは、糖化産物として代表的なペントシジン量を測定し目安とした。糖化处理試料の粘弾性は、3点ベンド法による応力緩和測定で調べた。骨の緩和弾性率は、実験式

$$E(t) = E_0 \left\{ A \exp \left[ - \left( \frac{t}{\tau_1} \right)^\beta \right] + (1 - A) \exp \left[ - \left( \frac{t}{\tau_2} \right)^\gamma \right] \right\}$$

$$(0 < A, \beta, \gamma \leq 1, \tau_1 \ll \tau_2) \quad (1)$$

で表されることが知られている<sup>2</sup>。E<sub>0</sub>は初期弾性率、第1項目は早い緩和で骨中のコラーゲン相の緩和とされる。第2項目はオステオンレベルの高次構造の不可逆的緩和とされている。τ<sub>1</sub>, τ<sub>2</sub>はそ

れぞれの緩和の緩和時間、β, γはそれぞれの緩和の緩和時間分布を表す。糖化处理に従い、これらのパラメータがどのように変化するかを解析した。また、糖化産物によって架橋が作られることにより骨、特に骨コラーゲンがどのような構造変化するかを調べるため、脱灰骨のX線回折実験を行った。

### 3. 実験結果

緩和弾性率では、糖化处理によっても弾性率E<sub>0</sub>の値には有意の差は現れなかった。糖化处理の影響を強く受けたと思われるのは長時間緩和の緩和時間τ<sub>2</sub>で、有意に大きくなった。一方、構造については、骨コラーゲン分子の配置をみると、乾燥状態では、線維内のコラーゲン分子の配置がhexagonalであるとしたときの(100)にあたる、線維中の分子の配列には違いが見えない。膨潤試料では(200)に相当する回折の半値幅が極めて大きくなり、もはやピークとは認められないほどに広がっている。

### 4. 考察

τ<sub>2</sub>の増加は糖化により、長時間緩和に関わる構造の弾性率が小さくなったことを示唆する。一方X線回折から予測される構造としては、unit cell内の電子密度分布が架橋によって不均一になっている可能性が考えられる。糖化で架橋が増えたとしても、構造的に応力集中点が増えたと考えられる。

### 文献

- 1) S. Viguet-Carrin, *et al. Osteop. Int.* **17**, 319 (2005).
- 2) T. Iyo *et al. Biorheology* **43**, 117 (2006).



# 要旨

5月27日(土)

第1会場

A1

学会奨励賞セッション

## シミュレーションによる血栓止血システムの構成論的理解

○後藤信一<sup>\*,\*\*</sup>, 田村典子<sup>\*\*</sup>, 綾部健吾<sup>\*\*</sup>, 後藤信哉<sup>\*\*</sup>

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

<sup>\*\*</sup>東海大学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

生理的止血, 病的血栓の形成には, 血小板の血管壁損傷部位への接着, 活性化が関与する. また, 血液凝固系, 炎症も寄与する. 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, 相互作用することで複雑系をなしている.<sup>1</sup> このため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

本研究では血小板を濃度で表現し, 血小板から流体への力学的フィードバックを発展方程式により計算する Guy 等のモデルを拡張した. 血小板の接着, 凝集に加えトロンビンによる血小板の活性化, 活性化血小板表面での凝固カスケードの活性化, 線溶系カスケードをモデルに組み込んだ. モデルの概要を図 1 に示す.

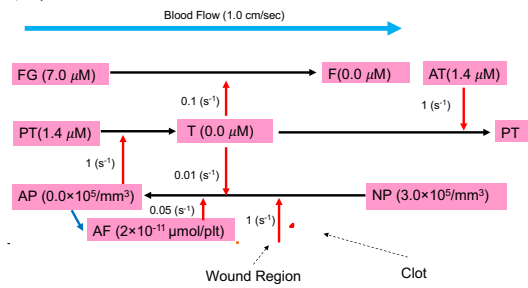


図 1. モデル

黒い矢印は酵素反応を示し, 赤い矢印は, 矢印の先端の酵素反応を活性化することを示している. 矢印の左に記載されている数値は活性化された酵素反応の速度を示す.

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それぞれパラメータとして変化させ, 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. 血栓は 30%以上の血小板が活性化されている部位と定義した.

## 3. 実験結果

血小板血栓の大きさは, 他のパラメータにかかわらず血流速度の影響を強く受けた. 血流速度が 0.5 cm/sec 以上の領域では血流速度が速いほど血小板血栓が小さくなった. 血流速度が遅い条件では他のパラメータの影響が大きくなり, トロンビンの産生抑制が血栓の成長を抑制した.

## 4. 考察

血栓の成長には血流速度が大きな影響を及ぼした. これは, 血流速度が速い条件では, 移流拡散の影響により, トロンビンなどの可溶性物質の濃度が低下してしまうためと考えられる. 血流が遅い条件で, トロンビン産生抑制を行うと血栓の成長が抑制されるという結果もこのことを支持していると考えられる. これらの事実は静脈血栓において, 動脈血栓よりも凝固系の関与が大きいという臨床試験の結果と合致しており, 本シミュレーターの妥当性を示していると考えられる.

## 5. 結言

血管内皮損傷後に形成される血小板血栓の成長は血流速度の影響を強く受ける. 血流が遅い条件では, トロンビン産生速度の抑制が血栓の成長の抑制につながり, 臨床試験の結果と合致している.

## 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」, 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

- 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.
- 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.

# 間質流の大きさがグリオーマ幹細胞の浸潤プロセスに与える影響

○布川 岳人\*, 長南 友太\*, 難波 尚子\*, 須藤 亮\*

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

## 1. 緒言

グリオーマは脳腫瘍の中で最も発生率が高く、患者の平均生存期間は約1年と、予後の悲惨な病气である。この、グリオーマの生体内での特徴として挙げられるのが「がん幹細胞」および「間質流」である。多分化能と自己複製能を有するグリオーマ幹細胞の存在により、腫瘍内の細胞の性質が不均質になり、薬剤治療に対して強い抵抗性を示す。また、生体内に存在する間質流は、血管の透過性の違いから、通常組織に比べ、腫瘍周辺の方が高い値を示す。

以上より、本研究では、グリオーマ幹細胞の浸潤プロセスにおける間質流の影響を明らかにすることを目的とした。実験には、マイクロ流体デバイスを用い、マウス由来のグリオーマ幹細胞に生体内を模擬した間質流を負荷させることによって、グリオーマ幹細胞の間質流の大きさによる挙動の違いを調査した。

## 2. 実験方法

### 2.1 マイクロ流体デバイス

細胞の足場となるゲルを挟んで2本の流路を有するマイクロ流体デバイスを作製した(図1)。この2本の流路で圧力差を生じさせるために、チューブを立て、5~20 mmの液面差を負荷することによって4種類の大きさの間質流を再現した。

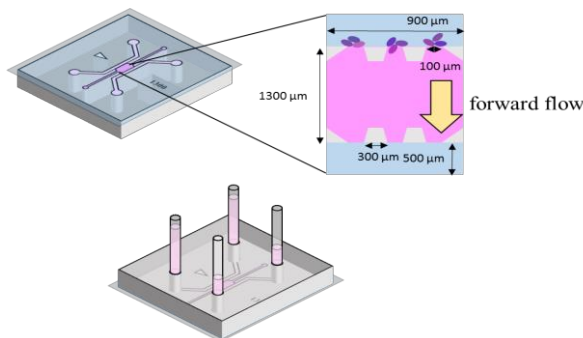


図1 マイクロ流体デバイスと培養方法

### 2.2 間質流実験

まず、分化誘導細胞に、細胞播種側から流れをかける forward flow (図1)を流速 0.58, 0.63, 1.3  $\mu\text{m/s}$  の3条件で負荷させ、通常組織付近の3種類の流速を比較した。次に、腫瘍環境を模擬した流速の 8.9  $\mu\text{m/s}$  の流速を負荷した条件で培養した。最後に、通常組織付近と腫瘍周辺の流速を比較することによって間質流の大きさによる細胞の挙動の違いを調査した。

## 3. 実験結果

まず、通常組織付近の3種類の流速を負荷したところ、1.3  $\mu\text{m/s}$  の流速を負荷した条件が 0.58, 0.63  $\mu\text{m/s}$  の流速を負荷した条件に比べて浸潤最大到達距離は約1.2倍の値を示した。次に、8.9  $\mu\text{m/s}$  の腫瘍組織付近の流速において実験を行ったところ、ゲルが溶けていく現象が見られた。そこで、流れをかけない static の条件と比較したところ、約13倍もの量のゲルを溶かすことがわかった。最後に、ゲルを溶かす因子である、MMP-9 の発現について調査したところ、通常組織付近の流速である 0.63  $\mu\text{m/s}$  よりも腫瘍組織付近の流速である 8.9  $\mu\text{m/s}$  のほうが、より強く発現した(図2)。

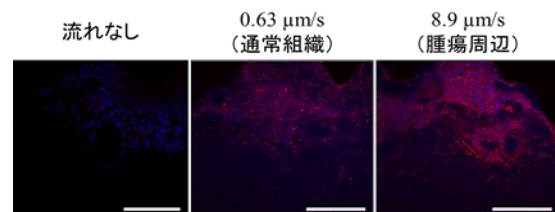


図2 各流速による MMP-9 の発現 (赤)  
青:細胞核 (Scale bar: 300  $\mu\text{m}$ )

## 4. 考察

本研究では、間質流を大きくすることにより、浸潤最大到達距離も大きくなった。従来研究では、間質流によって細胞内に張力と圧縮力がかかり、それにより、突起が形成されると報告されていることから、流速の上昇により、細胞内の張力、圧縮力の大きさに何らかの変化が起こり、浸潤しているのではないかと考えられる。また、ヒトの繊維輪細胞に大きさの異なる流速を負荷したところ、流速を上昇させるにつれて MMP の発現量が上昇するといった結果が報告されていることから、グリオーマに関しても、同様の現象が起きているのではないかと考えられる。しかし、このメカニズムについてはまだ不明確な部分が多いことから、今後、調査していく必要がある。

## 5. 結言

間質流の大きさにより、分化誘導細胞は異なる挙動を示した。通常組織付近の流速を負荷した条件では、流れを速くするにつれて、浸潤最大到達距離が上昇し、腫瘍組織付近の流速を負荷した条件では、control の条件と比べて、ゲルを多く溶かすことがわかった。

## アミロイド性集合体を防止するペプチドの分子設計とその抑制評価

○柴立郁美\*, 植田知美\*, 橋本慎二\*, 森井尚之\*\*, 佐伯政俊\*

\*山陽小野田市立山口東京理科大学大学院 工学研究科[〒756-0884 山口県山陽小野田市大学通 1-1-1]

\*\*産総研

### 1. 緒言

いわゆる狂牛病などに代表されるプリオン病は、プリオンタンパク質の異常型への構造変化が原因である。以前、我々は分子内βシート構造形成を伴うアミロイド化が可能な領域を効率的にスクリーニングすることにより、特定のストランドの組 VNITI(180-184)と、VTTTT(189-193)が、アミロイドの中核部分のクロスβ構造となる核領域(CRAP)を特定した<sup>1)</sup>。そこで、CRAPのアミロイド化を防止するために、CRAPのアミノ酸配列を基に、アミロイド形成に深く関わっている列状の疎水性のアミノ酸残基を親水性残基に置換したペプチド(BPAP)をCRAPに添加したところ、アミロイド形成の抑制に成功した。しかし、BPAPの線維形成の抑制のメカニズムは不明である。そこで、本研究では、BPAPのアミノ酸配列から変異体ペプチドを合成し、それらのアミロイド線維の抑制効果を検証した。

### 2. 実験方法

抑制ペプチドBPAPはCRAPを認識する疎水性残基部分と、凝集核を阻害する親水性残基(Asn)部分を有する特徴がある。BPAPの配列の中で凝集核を認識する疎水性残基(ValとIle)の重要性を評価するために、別の疎水性残基のLeu変異体(VIIVL, I3L, I5L)及び、短縮型ペプチド(BPAP3-12)を設計した。

また、BPAPの配列の中で凝集を阻害するAsnに着目し、側鎖の長さを長くしたGln変異体、荷電性残基による評価をしたArg変異体を設計した。設計したペプチドをFmoc固相合成法により合成し、HPLCで精製を行った。ペプチド自身で凝集性がなかったものをCRAPに添加し、凝集抑制の有無を評価した。また、設計したペプチドがβシート性での凝集抑制しているのかを評価するために円偏光二色性スペクトル測定、溶液中の線維形成の有無を評価するために、動的な光散乱測定を行った。

### 3. 実験結果

疎水性残基に着目したBPAP3-12, VIIVL, I3L, I5LをCRAPに添加すると、蛍光強度が増大したままの傾向が見られたため、凝集抑制能が低下した。従って、抑制には、BPAPと同様の疎水性残基が重要

だと考えられる。一方、親水性残基Asnに着目したペプチドについて、全てのAsnをArgに変異すると(NR)、蛍光強度が増大したままの傾向が見られ凝集抑制能が低下し、全てのAsnをGlnに変異すると(NQ)、蛍光強度が増大したままになり、全く凝集抑制ができなかった。そこで部分的にAsnの2番目と13番目をArgに変異したところ(N2-13R)、BPAPと同様に蛍光強度が低下し、凝集を抑制した。一方、4番目と11番目をArgに変異すると(N4-11R)、蛍光強度が増大したままの傾向が見られ、凝集抑制能が低下した。

また、動的な光散乱法では、線維形成を抑制したペプチドはモノマーと集合体に相当する粒径が見られた。一方、凝集を抑制しなかったペプチドでは集合体に相当する粒径のみであった。

### 4. 考察

疎水性残基に着目したBPAP3-12, VIIVL, I3L, I5LをそれぞれCRAPへ添加した結果から、疎水性残基は、ValとIleが重要であると考えられる。また、親水性残基に着目したペプチドでは、2番目と13番目をArgに変異したN2-13Rは、設計ペプチドの二次構造はβシート性で、AsnからArgに変異しても抑制されるが、4番目と11番目をArgに変異すると凝集抑制ができなかったことから、アミロイド線維の抑制には4番目と11番目が重要であると考えられる。

また、動的な光散乱測定から、アミロイド線維の抑制ができたBPAP, N2-13Rは、設計したペプチドとCRAPが相互作用しダイマー以上になり凝集を防止していると考えられる。

### 5. 結言

アミロイド線維の抑制のためには、BPAPの疎水性残基のValとIleが重要であり、親水性残基は、4番目と11番目のAsnが重要であると推定される。

### 文献

- 1) Saiki, M., Hidaka, Y., Nara, M., and Morii H.: Stem-Forming Regions That Are Essential for the Amyloidogenesis of Prion Proteins. *Biochemistry*, **51**, 1566–1576, 2012.

# DNA の好熱・嫌熱的な分子輸送過程の多様性に与える 塩基配列と分子量の効果

○中山耕史朗<sup>1</sup>, 土井駿<sup>2</sup>,

八木原晋<sup>2</sup>, 新屋敷直木<sup>2</sup>, 喜多理王<sup>2,3</sup>, 中川草<sup>3,4</sup>, 笹川昇<sup>5</sup>

<sup>1</sup>東海大学大学院 総合理工学研究科 総合理工学専攻[〒289-1292 神奈川県平塚市北金目 4-1-1]

<sup>2</sup>東海大学 理学部 物理学科,

<sup>3</sup>東海大学 マイクロ・ナノ研究開発センター

<sup>4</sup>東海大学 医学部 基礎医学系分子生命科学

<sup>5</sup>東海大学 工学部 生命科学科

## 1. 緒言

溶液系に代表される混合流体中で温度が空間的に不均一に分布している場合、その溶液の溶質が持つソレー係数 $S_T$ と呼ばれる非平衡熱力学的なパラメータに従い、好熱的あるいは嫌熱的な振る舞いを示す。すなわち、 $S_T > 0$ であれば、溶質は嫌熱的な振る舞いをし、 $S_T < 0$ であれば好熱的な振る舞いを見せる。このような空間的に温度が不均一に分布している(温度勾配がある)系で見られる溶質分子の好熱・嫌熱的な輸送過程を Ludwig - Soret 効果(以下 L-S 効果)と呼び、それにより生じる溶質の流束は以下の式

$$J = -\rho_0 D \nabla c_1 - \rho_0 c_{1,0} c_{2,0} S_T D \nabla T$$

で表される[1]。ここで、 $\rho_0$ は溶液密度、 $D$ は拡散係数、 $c_1$ は溶質の濃度、 $c_{1,0}$ は溶質の仕込み濃度、 $c_{2,0}$ は溶媒の仕込み濃度、 $S_T$ はソレー係数、 $T$ は絶対温度である。

L-S 効果は、混合流体に普遍的にみられる現象であるから、溶質が DNA の場合でも観測される[2]。DNA のいくつかの測定例はあるが、分子量でのみ考察が行われてる。サンプルとして、DNA を扱う場合、塩基配列の特定の部位を選択的に増幅すれば、アデニン(以下 A)、チミン(以下 T)、グアミン(以下 G)、シトシン(以下 C)の組成比を変化させた測定ができる。また、L-S の研究の中で好熱的な輸送というのは、いまだにその詳細な機序が明らかにされていない。しかし、多くは水溶液系で観測され[3]、また近年では溶質分子の持つ水素結合サイト数によって整理される可能性が示唆された[4]。本研究では、DNA を用いることで、温度勾配下での嫌熱的・好熱的輸送過程の機序の解明に貢献することを目的とする。

## 2. 実験方法

L-S 効果の研究では、最も単純な空間的な温度分布である線形な温度勾配を外部熱源により試料に強制的に形成させ、行われる。この際に、L-S 効果によ

って生じる試料の濃度勾配を屈折率の勾配として光学的手法により読み取るものがほとんどである。今回、用いる Optical Beam Deflection 法(以下 OBD 法)もそのうちの一つである。OBD 法では温度勾配に対して垂直になるように、試料に LASER を通すことで、屈折率勾配があるために LASER は濃度勾配の大きさに従い、屈曲する。したがって、LASER スポットの位置の変位の大きさから、溶質のソレー係数を測定することができる。

サンプルは、 $\lambda$ -DNAの鎖長 100 bp、GC30%になるような個所を選択的に増幅させたものを使用した。

## 3. 結言

発表では、実際の測定データを用いて DNA の好熱・嫌熱的輸送過程について議論する。

### 文献

- 1) Y. Kishikawa, S. Wiegand, and R. Kita: Temperature dependence of Soret coefficient in aqueous and nonaqueous solution of pullulan, *Biomacromolecules*, 11, 740, 2010.
- 2) S. Duhr and D. Braun: Why molecules move along a temperature gradient, *PNAS*, 103, 19678, 2006.
- 3) Berend-Jan de Gans, Rio Kita, Simone Wiegand, and Jutta Luettmer-Strathmann: Unusual thermal diffusion in polymer solutions, *Phys. Rev. Lett.* 91, 245501, 2003.
- 4) K. Eguchi, D. Niether, S. Wiegand, and R. Kita: Thermophoresis of cyclic oligosaccharides in polar solvent, *Eur. Phys. J. E.*, 39, 86, 2016.

## 海綿骨内における浸透率測定

○伊藤誠\*, Simon Tupin\*\*, 安西眸\*\*\*, 鈴木杏奈\*\*, 太田信\*\*

\*東北大学 工学研究科 ファインメカニクス専攻[〒980-8579 宮城県仙台市青葉区荒巻字青葉 6-6-04]

\*\*東北大学 流体科学研究所

\*\*\*東北大学 学際科学フロンティア研究所

### 1. 緒言

海綿骨には造血幹細胞を多く含む骨髓液が存在する。骨髓液はドナーの腸骨に針を穿刺し、そして吸引することで採取する。しかしながら、この手法の高侵襲性ゆえ、ドナーへの肉体的・精神的負担の大きさが問題となっている。骨髓液流れの解明は、造血幹細胞の採取効率向上に寄与すると考えられている。先行研究<sup>1)</sup>では、大腿骨内の海綿骨における浸透率の異方性が示されている。そのため、穿刺が行われる腸骨においても、海綿骨の異方性が骨髓液流れに影響を与える可能性がある。そこで本研究では、腸骨内の海綿骨における浸透率を測定し、異方性を調べたのでここに報告する。

### 2. 実験方法

マイクロCT(scanXmate-D180RSS270, コムスキャンテクノ)撮影によって3次元再構築されたブタ腸骨内から3箇所を選択し、立方体状に切り出したものを、海綿骨モデルの形状データとした。この形状データに対し、3Dプリンタ(agilista 3100, Keyence)を用いて立体造形を行った。この際、3Dプリンタの解像度を考慮し、3倍に拡大したモデルの造形を行った。

次に、海綿骨モデル内の流速と圧力損失の関係を求める灌流試験を行うため、図1に示すような流路を構築した。図1中Test Section部では、海綿骨モデルを挿入出来、モデルの留置方向を容易に変えることが出来る。異方性を調べるため、灌流試験を各モデルのXYZ方向それぞれに対して行った。各サンプルの浸透率は、以下に示すDarcy-Forchheimer則に基づき、灌流試験結果を用いて算出した。

$$-\frac{\Delta P}{\Delta L} = \frac{\mu}{K}v + \frac{C_f}{\sqrt{K}}\rho v^2 \quad (1)$$

ここで、 $\Delta P$ は圧力損失、 $\Delta L$ は海綿骨モデルの厚み、 $\mu$ は粘性係数、 $K$ は浸透率、 $v$ は流速、 $\rho$ は密度を示している。式(1)の右辺第二項は慣性効果を示す項であり、比例係数 $C_f$ はForchheimer係数と呼ばれる。

### 3. 実験結果

Darcy-Forchheimer則に基づいて算出した浸透率は、海綿骨モデルの留置方向によって異なる値を示し、すべてのモデルにおいて、Z軸方向における浸透率が最も高くなった。また、海綿骨モデルを抽出する場所によって、浸透率は異なる値を示した。

### 4. 考察

実験結果より、ブタ腸骨の海綿骨は異方性を持ち、また抽出場所によって異方性の度合いに違いが生じることが示された。これは、海綿骨のねじれや空隙率が浸透率の差を生じさせると考えられる。今後はモデルの数を増やし、より詳細に海綿骨の異方性の評価を行う予定である。

### 5. 結言

灌流試験を行うための流路を構築し、ブタ腸骨内の海綿骨を3Dプリンタによって再構築して浸透率を測定した。また、海綿骨内の浸透率は、抽出場所と灌流方向によって変化することが分かった。

### 謝辞

本研究はImPACTプログラムの助成の下で行われた。3Dプリンタによる造形は東北大学 芳賀研究室の協力の下行われた。

### 文献

- 1) Sean S. Kohles and Julie B. Roberts: Direct perfusion measurements of cancellous bone anisotropic permeability. *Journal of Biomechanics*, 34, 1197-1202, 2001.

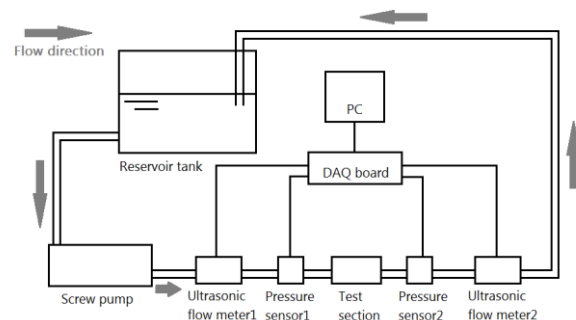


Fig. 1 Perfusion flow-path

# 要旨

5月27日(土)

第1会場

ランチオンセミナー

## 卵料理のレオロジー

金田 勇

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

### 1. 緒言

卵はさまざまな料理において重要な役割を果たしている。卵なくしては現在の豊かな食生活は考えられない。一方でその調理法は簡単ではない。たとえば、強火で加熱してしまったカルボナーラは「パスタに炒り卵が絡んだもの」になってしまうし、絶妙な「半熟卵」を再現性よく調理するのは熟練が必要である。これらの例は卵を加熱した際のレオロジー特性変化が一筋縄ではいかないということを表している。卵料理の成功のコツは調理学的な観点からは「火加減」が重要であることは明らかであるが、調理という行為のタイムスケール、卵料理の場合はせいぜい数分から数十分、を考えると「火加減」すなわち加熱温度に着目して卵のレオロジー特性変化を考えることになる。しかしながらタイムスケールの制限を取り去って、[加熱温度]と[加熱時間]という二つの独立したパラメータを考えてみるとこれまで知られていなかった事実が見えてくる。本講演では卵の加熱によるレオロジー特性変化についての最近の研究成果を紹介する。

### 2. 卵黄のレオロジー

最近、これまで経験的に行われてきた調理を物理化学的に説明しようという立場の Molecular Gastronomy という学問領域が形成され興味深い研究報告がなされている<sup>1)</sup>。この分野のパイオニアの一人である C. Vega が卵黄のレオロジーについての興味深い研究を報告している<sup>2)</sup>。朝食に供される卵料理である。ゆで卵、目玉焼きの卵黄部分のレオロジー特性はどのように決定されるのか? というポイントが彼らの着目点であった。彼らは完全にゲル化しない段階での卵黄の粘度変化に着目した。すなわち卵黄を 60°C 台の各温度で保持し、その粘度変化の時間発展を詳細に調べた結果、卵黄のレオロジー特性(見かけ粘度)は[time] × [temperature]という量で明確に説明できることを明らかにした。

### 3. 卵白のレオロジー

C. Vega らの卵黄のレオロジーに関する一連の研究に刺激され、我々は卵白のレオロジーに関する研究をここ数年進めてきた。卵白は数種類のたんぱく質を含み、それらのたんぱく質の中でもオボアルブミン(OA)とオボトランスフェリン(OT)が加熱によるゲル化

に関連している。熱分析や分光学的研究により OA の熱変性温度は 80°C、OT のそれは 63°C であることが明らかになっている。ただし注意を要するのはこれらの測定においては一定の昇温速度で各種パラメータが測定されており、それらの時間発展に関する情報がないということである。

卵白熱変性ゲルを形成するたんぱく質である OT および OA の報告されている熱変性温度未満で十分な時間処理された卵白はゲル化しないのか? というのが我々が設定した問題であった。

我々はまず一定の昇温速度において卵白の粘度がどのように変化するかを調べた。卵白の見かけ粘度は温度の上昇と共に低下するが、ある温度を境に粘度上昇に転ずることが観察された、そしてその転換点の温度は OT の変性温度とされる 63°C よりも低い温度であることがわかった。そこで 45°C から 65°C の範囲で一定温度に保たれた卵白の見かけ粘度および動的弾性率の時間発展を詳細に調べた。

OT の変性温度である 63°C 付近では卵白の粘度は加熱開始後直ちに上昇したが、60°C 未満の温度においても十分な時間処理することにより見かけ粘度の上昇に引き続き弾性率が上昇することが観察された。

たんぱく質分子の立体構造は「柔らかい構造」であり、熱変性温度という臨界温度未満にあってもその近傍の温度にさらされるとその構造が熱運動により揺らぎ一時的に un-folded 状態に陥る確立が高まると予想される。十分に長い時間観察することでそのような一時的に un-folded 状態になったたんぱく質分子同士が会合し、それが成長することで見かけ粘度の上昇およびゲル化が観察されたと考えている。

### 文献

- 1) This, H.: Molecular Gastronomy, a Scientific Look at Cooking. Accounts of Chemical Research, 42, 575-583, 2009.
- 2) Vega, C., and R. Mercade-Prieto: Culinary Biophysics; On the Nature of the 6X°C Egg. Food Biophysics 6, 152-159, 2011

# 要旨

5月27日(土)

第1会場

SY

創立40周年記念シンポジウム

# バイオレオロジーと医用工学 —基礎研究から医療イノベーション—

梶谷文彦

川崎医科大学名誉教授[〒701-0192 倉敷市松島 577]

## 1. はじめに

日本バイオレオロジー学会は創立40周年を迎えたが、この間にバイオレオロジーの守備範囲である医療に対する考え方は大きく変化している。

すなわち、従来の対症療法的医療から未病、予防、先制医療へ、侵襲医療から低侵襲、無侵襲医療へ、平均值的医療から個別化、精密医療へ、そして患者参加型へとパラダイムシフトした。

本学会の創始者であり中心的指導者であった岡小天先生はバイオレオロジー創刊号で「研究の基礎と応用は関連する諸学問分野の知識を総合的、多面的に総動員しなければならない。バイオレオロジーは境界学問であり、その内容は生き物のように時代と共に変わり得る」と述べられている。科学が進歩することで新しい技術が発展し、技術の貢献が人や社会へと浸透し、それによって新しい科学が展開するサイクリックな進展の重要性を物理学者の岡先生が長期的視点で示唆されたものと拝察する。

このようなサイクリックな関係を推進する車の両輪として、医用工学とバイオレオロジーが機能して来たと言える。

## 2. 医療技術の進歩

医療技術が大きく発展したのは20世紀後半である。坂本捷房東大工学部長(当時)などのご努力で日本エムイー学会(現:生体医工学会)が発足したのは1962年で、数年前に50周年を祝った。様々な研究課題を抱えるこの学会は時代と共に変化する課題に対応するために研究会方式が採用されている。

米国を中心として世界の産官学から選ばれた約1500名の fellow からなる「米国生体医工学会(AIMBE)」は20世紀から現在までに開発され医療の現場で役立っている約30の医療技術を選んで、「殿堂入り(Hall of Fame)→Milestones of Innovation)」を発表している(下図)。私も選出に関与したことがあるが、これらのリストを見ると、現在の医療になくはならないものばかりである。バイオレオロジー関係の技術も多く含まれ、血液透析、人工心肺、血液解析装置、人工血管、バルーンカテーテル、血管ステント、フローサイトメトリー/セルソーター、OCT など技術的にも本

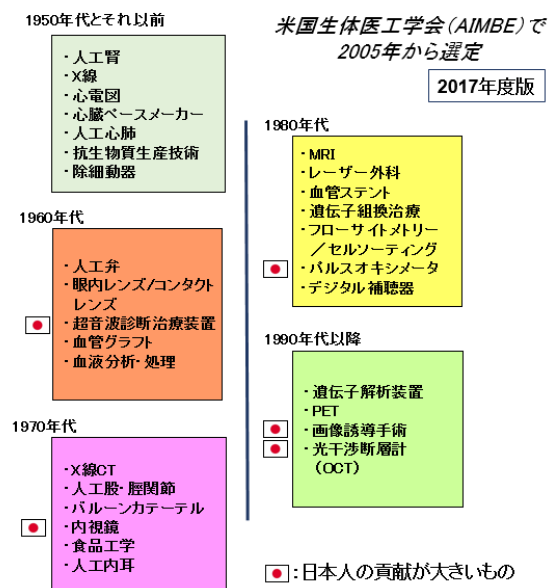
分野の重要性が分かる。図中の日の丸印は日本の貢献が比較的大きいと私が判断した技術で、今後も再生医療などとの連携を含めて医療技術への日本の貢献が大きく期待されるものと思われる。

長年にわたり循環器分野の医用工学とバイオレオロジーの境界領域での研究をし、これらの技術的進歩に接してきたので、この度は私達のささやかな経験にも触れたいと考えている。

## 3. 産官学連携による医療イノベーション

基礎研究からイノベーションへと至る道には「魔の川」、「死の谷」、「ダーウインの海」など、険しい関所があることが良く知られている。これらの関所を越えるためには基礎研究における「知の創造」から医学、社会・経済的な「価値の創造」に繋ぐ産官学の異分野融合による「共創の場」が鍵である。文科省が推進してきた10年プロジェクトの“先端融合領域イノベーション創出拠点形成プログラム”は本分野の推進に寄与した好例として評価される。AMED のメカノバイオロジーの研究開発も進んでいる。今後の医療イノベーションにおけるバイオレオロジーに対する期待は大きい。

## 殿堂(Hall of Fame)入りした医療技術 — Milestones of Innovation —



## 医療ニーズに基づく医療機器開発の道筋

○谷下一夫\*

\*早稲田大学ナノ・ライフ創新研究機構[〒162-0041 東京都新宿区早稲田鶴巻町 513]

国内の医療機器開発の動きが最近著しく加速している。2015年に日本医療研究開発機構(AMED)が設立されて、医療技術開発に関する総合的な支援が国の機関として開始された事もその一因であろう。さらに、東京都を始めとして地方自治体が、それぞれの地域のものづくり技術を医療分野に円滑に参入出来るように活発な支援をしている。さらに、医療機器開発に成功した過去の事例の共通要件は、医療ニーズに即した開発であるという認識が大きく広がっており、医療者を中心として、ものづくり企業、工学アカデミアなどから構成される開発チームが構築されて、公的資金を獲得して、意欲的に開発に取り組んでいる例が目立っている。

開発された医療機器が医療現場で有用であるためには、医療ニーズに基づく医工連携の開発が必須であるが、医療者を含む異分野による開発の進め方に関しては、開発チームによって大きく異なっているのが現状である。望ましい医工連携とは以下のようなものである。即ち、医療者と産学の工学者が、互いの分野の価値観を共有し、医療現場で有用な医療技術を創出するための継続的持続的な協働活動である。医療者との継続的持続的な協働活動の結果、医療現場でのニーズが円滑に反映できるような開発が進行する。

一方、医工連携を困難にする原因は、異分野間にある境界(社会的境界と認知的境界)のためと言われている(Ferlie et al. 2005, Abe et al. 2016)。従って、意図的に境界を乗り越える機会を作る、即ち出会う機会を作る必要がある。出会う事によって、医療現場での価値観を共有する事が可能になり、開発チームが納得する形で医療現場に即した開発課題の決定がなされる。開発課題の決定には、開発の進め方や出口戦略が明確になっている必要があり、様々な要因の考慮が必要で、実際には難しい部分であるが、優れた出口戦略の基で事業化実現への計画を立てるという意味でも極めて重要な部分である。医療ニーズと技術シーズのマッチングの詳細な検討の結果として、開発課題が決定されるが、医療ニーズと技術シーズには、階層がある。ニーズには、改良改善から革新的なニーズ、シーズには、既存技術から革新的なシーズが考えられるが、改良改善のニーズに対して既存技

術のシーズで具現化する課題が、最もバードルが低く、数年で製品化した事例も見受けられる。所が、革新的な要素が増えて来るに従って、開発の機関と手間が増大し、革新的なニーズとシーズのマッチングは、難易度が最も高い高度目標と考えられる。

このように革新的な要素が増える事によって、基盤的研究のウエイトが高くなり、前臨床における研究開発の重要性が高まる。即ち、in vitro, ex vivo, in vivoの実験のウエイトが高く、医療機器承認の難易度も高くなり、少なくともクラス2以上の新規の医療機器となる。開発の難易度が高くなるにつれて、審査の難易度も高くなるが、最終的な出口では、相当な競争力を持つ製品として仕上がる可能性も高く、結果として医療産業の強化に繋がるのではと思われる。革新的な部分が含まれている開発課題の場合には、正に最初から最後まで医療者とのものづくり技術者との継続的持続的な協働活動が必要であるが、このような異分野の専門家同士が協働活動を行う時に大きな障壁となるのは、情報の粘着性があるからと言われている(Hippel 1994)。その結果、専門家間で、情報の真意が伝わりにくくなるので、情報の粘着性を超えて革新的な開発を進められる道筋を見つけるためにも、密度の高い協働活動が必要となる。

このような医工連携の道筋に沿う医療機器開発が日本でも徐々に進み始めており、この動きがさらに加速する事を願いたい。さらに、スタンフォード大学のバイオデザインプログラムが日本でも始まっており、情報の粘着性を超えるためのブレーンストーミングのトレーニングも始まっている。この点では、日本では、新たな医工連携の仕組みが着実に形成されている。

日本バイオレオロジー学会は、異分野の専門家が、至近距離で討論や情報交換を出来るという点で、情報の粘着性を乗り越える場である。本学会が、是非とも新たな医工連携をリードして頂きたい。

### 文献

- 1) Ferlie et al. Academy of management journal, 48(1), 117-134(2005)
- 2) 阿部真美ほか、赤門マネジメントレビュー(2016)
- 3) Von Hippel, E, Management Science, 40(4), 429-439 (1994)

# 食のバイオレオロジー

○西成勝好, 方亚鹏

湖北工業大学軽工学部食品薬品工業学科[Wuchang, Wuhan 430068 P.R. China]

## 1. 緒言

40年前, 日本における食品レオロジーでは, テクスチュロメータが広く用いられていた. これは咀嚼の模擬試験で平板により食品を二度圧縮して得られる力-時間曲線を解析するものであった. 横軸が時間でなく距離であれば, 物理的な意味としては仕事になるのだがと不思議に思った. レオロジーを勉強し始めたばかりの筆者にはこれは難しすぎると思い, 先ずゲルの振動解析を始めることとした. 豆乳の凝固過程なども動的粘弾性測定により解析できるので, 豆腐の製造工程理解に役立つと思われた. そのうち, 国内でも, 動的粘弾性測定による食品研究が盛んになった. 食べ物の物理特性と組織構造との関係に関する研究は活発になされてきた. 感覚評価との対応では物理特性だけではなく, 味や香りなどの化学的特性の影響も考慮に入れる必要がある. 大変形・破壊・非ニュートン流動の研究は難しくてなかなか進んでいないが, 高齢者人口の増大に伴う咀嚼・嚥下困難者のための食事が緊急の課題となってきた<sup>1)</sup>. 食べ物自体のレオロジーと並んで, 食べる過程のレオロジーが盛んに研究されている.

## 2. 食べる過程のレオロジー

2005年本学会誌にもこの問題について書かせていただいたが, 今回は最近の研究として, 誤嚥の判定に使える標準溶液の作成, 人工舌による圧縮試験, 注射器からの押し出しによる試験, 嚥下時の音波計測などについて話題提供したい.

## 3. 今後の課題

バイオレオロジーの創始者のひとりである Scott Blair は当時学問体系が出来つつあったレオロジーを使いつつ, 心理学関係の学術誌へも投稿している. ニュートン時間に関する疑問を持ち, 分数微

分を使って力学特性の感覚評価に取り組んだが, 最近, 食品の感覚評価でこの考えを取り入れた研究が活発化している<sup>2)</sup>.

## 文献

- 1) Nishinari, K., Takemasa, M., Brenner, T., Su, L., Fang, Y., Hirashima, M., Yoshimura, M., Nitta, Y., Moritaka, H., Tomczynska-Mleko, M., Mleko, S., Michiwaki, Y., The food colloid principle in the design of elderly food. *J. Texture Studies*, 47, 284-312, 2016.
- 2) Faber, T. J., Jaishankar, A., McKinley, G. H., Describing the firmness, springiness and rubberiness of food gels using fractional calculus. Part I & Part II, *Food Hydrocolloids*, 62, 311-324 & 325-339, 2017.

# 要旨

5月27日(土)

第2会場

OS2

循環器系ダイナミクスと疾患

## CFD を用いた破裂・未破裂脳動脈瘤の多変量解析

○内山祐也\*, 高尾洋之\*\*,\*\*\*, \*\*\*\*, 鈴木貴士\*\*, 藤村宗一郎\*\*, 田中和俊\*, 石橋敏寛\*\*\*, 守裕也\*, 山本誠\*, 村山雄一\*\*\*

\*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]

\*\*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[〒105-8471 東京都港区西新橋 3-25-8]

\*\*\*\*東京慈恵会医科大学 先端医療情報技術研究講座[〒105-8471 東京都港区西新橋 3-25-8]

### 1. 緒言

脳動脈瘤の破裂は、くも膜下出血の原因となる。脳動脈瘤の処置方法として手術と経過観察が挙げられるが、手術には合併症のリスク、経過観察には自然破裂のリスクが存在する。脳動脈瘤の破裂リスクを客観的に判断し、適切な処置を行えるようにする数値的指標を整備する必要がある。脳動脈瘤の破裂には血流が関係しているとされ、数値流体力学 (CFD : Computational Fluid Dynamics) が注目されている。その中で、多くの血行力学的パラメータが提案され、破裂・未破裂症例間での統計学的有意差が報告されているパラメータも多い。しかし、破裂・未破裂症例の分別精度は必ずしも高いとは言えない<sup>(1)</sup>。本研究では、CFD と統計学的な多変量解析を用いて、破裂・未破裂状態をより高い精度で分別できるパラメータを作成し、脳動脈瘤の破裂リスクを評価できるか検討することを目的とする。

### 2. 解析方法

本研究では、CFD を用いて、ICA-Pcom 分岐部に発生した脳動脈瘤計 67 症例(破裂 7 症例、未破裂 60 症例)について血流解析を実施し、血行力学的パラメータを算出する。ロジスティック回帰分析を用いて、脳動脈瘤の破裂リスクを算出し、破裂・未破裂症例における比較を行う。その後、ROC 解析を用いて破裂・未破裂を分類する閾値を決定し、閾値を元にそれぞれの症例を分別した際の分別精度を計算する。本研究において考慮する血行力学的パラメータは、WSS (Wall Shear Stress), OSI (Oscillatory Shear Index), EL (Energy Loss), ELV (Energy Loss Volume), PLc (Pressure Loss coefficient)であり、それぞれの値を多変量解析に導入する。

### 3. 解析結果

ロジスティック回帰分析の結果より、脳動脈瘤の破裂リスクを算出する回帰式を作成したところ、式中には PLc と WSS が含まれていた。算出した破裂リスクの値は有意差を示した(P<0.01)。ROC 解析を行い、決定された破裂リスクの閾値に基づいて判断した各脳

動脈瘤の状態(破裂・未破裂)と、実際の状態を比較すると、全体の 94.0 %の脳動脈瘤において、それぞれの状態が一致した。

### 4. 考察

ロジスティック回帰分析の結果より PLc および WSS の値が低いほど破裂しやすい傾向にあった。PLc が低い場合、脳動脈瘤を含む領域の血管形状は、血流が流れやすい形状をしているということが出来る。そのため、その血行動態は安定した状態にあり、急激な血圧上昇に対する耐性が低くなるため、破裂しやすくなるものと考えられる<sup>(2)</sup>。一方で、WSSが低い場合は、血管内皮の損傷が引き起こされ、破裂しやすくなるという報告がなされており、先行研究の結果と一致している<sup>(3)</sup>。

多変量解析を用いて脳動脈瘤の破裂リスクを考慮することによって、より高い精度での脳動脈瘤の破裂を判断することができ、将来的には脳動脈瘤の破裂予測に適応できる可能性がある。

### 5. 結言

脳動脈瘤を含む脳血管における血流解析によって得られた複数の血行力学的パラメータを用いて多変量解析を行い、以下の知見を得た。

- 多変量解析より、脳動脈瘤の破裂には PLc と WSS の両者が強く関与している可能性が示唆された。
- 多変量解析を用いた結果より脳動脈瘤の破裂リスクをより正確に評価することが可能である。

### 文献

- 1) Y., Qian, *et al.*: Risk Analysis of Unruptured Aneurysms Using Computational Fluid Dynamics Technology: Preliminary Results. *AJNR*, 32, 1948-1955, 2011.
- 2) T., Takao *et al.*: Hemodynamic Differences Between Unruptured and Ruptured Intracranial Aneurysms During Observation. *Stroke*, 43, 1436-1439, 2012.
- 3) L., Boussel, *et al.*: Aneurysm Growth Occurs at Region of Low Wall Shear Stress: *Stroke*, 39, 2997-3002, 2008.

# CFDを用いた未破裂脳動脈瘤における菲薄部予測に関する研究

○田中和俊\*, 高尾洋之\*\*,\*\*\*,\*\*\*\*, 鈴木貴士\*, 藤村宗一郎\*, 内山祐也\*,  
石橋敏寛\*\*\*, 守裕也\*\*, 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]

\*\*\*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]

\*\*\*\*東京慈恵会医科大学 先端医療情報技術研究講座[〒105-8461 東京都港区西新橋 3-25-8]

## 1. 緒言

現在、脳動脈瘤の破裂メカニズムは完全に解明されていないが、一般的には瘤壁の菲薄部から破裂すると考えられている<sup>(1)</sup>。手術中、菲薄部に対するコイル等の接触により破裂する症例もあるため、脳動脈瘤菲薄部の術前予測が可能となれば、破裂する可能性の高い脳動脈瘤を判別出来るだけでなく、手術の際に菲薄部に対する接触を避けるなど、適切で計画的な手術の施行が期待される。

Suzuki ら<sup>(1)</sup>による先行研究において、最大圧力( $P_{max}$ )領域と菲薄部が一致する傾向にあると報告されている(80.0%,50 症例)。本研究では、未破裂脳動脈瘤における菲薄部特定の精度向上のため、菲薄部の生成に関わる血行力学的因子のさらなる発見を目的とする。

## 2. 解析方法

数値流体解析を用いて中大脳動脈に発生した脳動脈瘤計 40 症例について血流解析を行い、脳動脈瘤における圧力分布画像に加え、壁面せん断応力(WSS)の湧き出し吸い込み量である壁面せん断応力の発散( $divWSS$ )分布画像を開頭手術中に撮影された脳動脈瘤画像と比較した。次に最大  $divWSS$  ( $divWSS_{max}$ )領域が菲薄部と一致した症例群としなかった症例群間で、式(1)に示す無次元量  $divWSS Diff$  を統計学的に比較した。 $divWSS Diff$ は、脳動脈瘤壁上の  $divWSS_{max}$ と瘤壁全領域の  $divWSS$  の平均値との差を、検査領域の入口母血管における  $divWSS$  の平均値で除した値である。

$$divWSS Diff = \frac{divWSS_{max} - divWSS_{ave}}{divWSS_{ave \text{ Inlet side}}} \quad (1)$$

## 3. 結果

菲薄部と、 $divWSS_{max}$ ,  $P_{max}$  が示す領域が一致した場合を○として、両パラメータと菲薄部の一致・不一致の結果を Category 1~4 に分類し、表 1 に示す。 $divWSS$ 分布と圧力分布双方を考慮することで全40症例中、Category 1~3 の合計 32 症例(80.0%)の菲薄部

が定性的に特定され、単一のパラメータ分布と術画像の比較よりも菲薄部の特定精度が上昇した。

次に、 $divWSS_{max}$ 領域と菲薄部の一致が認められる症例群と認められない症例群間で  $divWSS Diff$ を統計学的に検討した結果、 $P < 0.01$  と統計学的に極めて有意であり、 $divWSS$  が菲薄部特定に有用であることが定量的に示された。

## 4. 考察

Category 4 の症例群は菲薄部が存在しない症例も多い。これらの症例群の大きな特徴として、瘤内における血流の平均流速が著しく低く、血流の有するエネルギーが低いことが挙げられる。菲薄部生成の原因は、高いエネルギーを有した血流による瘤壁の引き伸ばしおよび衝突による圧力上昇であると考えられる。

## 5. 結言

1) 未破裂脳動脈瘤 40 症例に対して数値流体解析を実施し、 $divWSS_{max}$ 領域と菲薄部が一致した症例群と一致しなかった症例群間で  $divWSS Diff$ を統計学的に解析し、有意差が認められた。脳動脈瘤の高  $divWSS Diff$ 領域に菲薄部を認める可能性が高い。

2) 高エネルギーを有する血流の、瘤壁への衝突に伴う圧力上昇および瘤壁の引き伸ばしが脳動脈瘤菲薄部の生成因子であることが示唆された。

## 文献

1) Suzuki, T. et al.: Determining the Presence of Thin-walled Regions at High-Pressure Areas in Unruptured Cerebral Aneurysms by Using Computational Fluid Dynamics. *Neurosurgery*,79, 589-595, 2016.

Table. 1 Comparison Chart

(○, Correspondence; -, Non-correspondence)

	$divWSS_{max}$	$P_{max}$	Number of cases
Category 1	○	○	29/40 (72.5%)
Category 2	○	-	2/40 (5.0%)
Category 3	-	○	1/40 (2.5%)
Category 4	-	-	8/40 (20.0%)

# 粥腫の生じたヒト頸動脈内膜に対する薄切試験片の伸展試験

○山田 宏\*, 坂田 則行\*\*, 井上 亨\*\*

\*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

頸動脈分岐部は粥状動脈硬化病変の好発部位であり、粥腫の破裂は脳梗塞などの重篤な疾患に繋がりが、症状に応じて内膜剥離術などの治療が施される。

内膜は加齢や粥腫の発達に伴って肥厚するのに対し、脂質コアと血管内腔を仕切る線維性被膜の破断は被膜が十分薄い場合に生じる。粥腫破裂の機序に関し、実験や数値解析を通して力学的観点から調べられているが、いまだ十分には解明されていない。

著者らはこれまで頸動脈壁から内膜を分離して伸展挙動を調べてきた<sup>1)</sup>。最近では、マイクロームで薄切し、伸展挙動と組織の関係を調べた<sup>2)</sup>。この場合、組織の局所的な特徴が薄切片の変形挙動に現れやすい。

本研究では、薄切片を用いた伸展試験において、アメリカ心臓協会に従った動脈硬化病変部の組織学的分類<sup>3)</sup>で Va 型(線維性の粥腫)に属す場合に着目し、I 型(び慢性内膜肥厚)の結果と比較し検討した。

## 2. 方法<sup>2)</sup>

剖検あるいは内膜剥離術で摘出した頸動脈標本を温度 -40℃ の冷凍庫で保存した。伸展試験の際には、標本を自然融解し、中・外膜を剥がして取り除き、O.C.T.コンパウンドで包埋してマイクロームを用いて伸展用と組織観察用にそれぞれ厚さ 50 μm と 6 μm に数枚分薄切した。

伸展試験のため、薄切片は幅 2 mm のフィルム2枚の端部に瞬間接着剤で取り付け、生理食塩水で満たされた水槽中で容量 100 mN のロードセルにつなげて一定速度 0.08 mm/s で伸展した。試験片の伸展量はロードセルの移動量を可視光レーザ変位計で測定して得た。また、内膜組織はヘマトキシリン-エオシン染色してから光学顕微鏡観察を行い、動脈硬化の進行度に関する分類を行った<sup>3)</sup>。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。

## 3. 結果

内膜剥離術で摘出した頸動脈標本のうち、黄色ブランクが視認される Va1 型(1:粥腫が主。標本の一部を示す図 1 で中央を縦走)と非病変部の I 型の試験片の応力-ひずみ曲線の一例を図 2 に示す。Va1 型の試験片では伸展途中で応力の急激な低下が複数回あったのに対し、I 型では破断まで応力が上昇した。

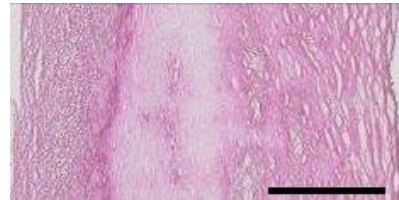


Fig. 1 Hematoxylin and eosin stained section of the intimal specimen of type Va1. Bar: 500 μm.

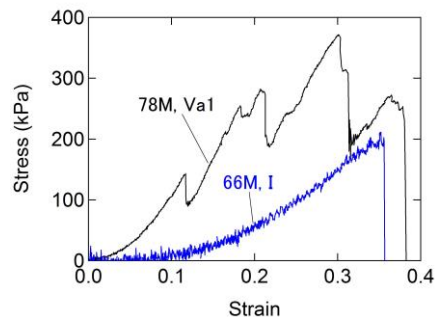


Fig. 2 Examples of stress-strain relationships for specimens identified as types I and Va1.

## 4. 考察

Va1 型の応力-ひずみ曲線における応力の急激な減少は部分的な損傷が試験片に蓄えられた弾性エネルギーを解放したものと考えられる。また、I 型では途中で応力の低下はほとんど生じなかった。

## 5. 結言

粥腫の生じた頸動脈内膜では伸展に伴って損傷が容易に生じた。これは正常の場合と大きく異なる。

### 謝辞

本研究の一部は JSPS 科研費 26420018 の助成によるものである。ここに謝意を表す。

### 文献

- 1) 山田宏, 坂田則行, 森田康之, 中島豊: 頸動脈と大動脈の動脈硬化病変部線維性被膜の伸展性の比較評価, 日本機械学会九州支部第 67 期総会・講演会講演論文集, 2 pages, 2014.
- 2) 山田宏, 坂田則行, 井上亨: ヒト頸動脈の薄片試験片の引張り変形特性と組織学的特性との関係の評価, 日本機械学会第 29 回バイオエンジニアリング講演会講演論文集, 2 pages, 2017.
- 3) Stary, H.C., et al.: Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology, 15, 1512–1531, 1995.

# 電気回路モデルを利用した血圧反射波同定法の一試案

○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

中枢側の血圧波形は、末梢で発生した血圧反射波が重畳することで修飾される。圧波の進行速度は動脈硬化によって速くなる。したがって、圧波形から反射波成分を分離同定することで、動脈硬化の指標として利用できることが期待される。現在、血圧反射波を利用した動脈硬化の指標として、増大係数 (Augmentation Index, 以下 AI) がある<sup>1)</sup>。しかし、AI は反射波を特定しているものではない。今回、心拍のような低周波で反射波を無視できる<sup>2)</sup>回路シミュレータによる血圧波形と被験者より測定した脈波波形を比較して、反射波を抽出する方法について検討した。

## 2. 実験方法

健常男子大学生3名と48才男性1名を被験者とした。仰臥位で左上腕より血圧を測定し、パルスドプラー法で左室流出路血流を測定した。次に空気伝導型脈波トランスデューサを用いて左総頸動脈の圧脈波を測定した。測定した頸動脈波の立ち上がり点に最低血圧を、頂点に最高血圧を当てはめた波形を総頸動脈血圧波形とした。左室流出路に左室流出路血流を乗じて心拍血流波形を得た。大動脈のコンプライアンス( $C_A$ )、総末梢抵抗( $R_p$ )の2要素からなる電気回路モデルに心拍血流波形( $F$ )を電流源として適用し、最高血圧、最低血圧が測定した血圧値となるように回路のパラメータを調整して得られた血圧波形( $P$ )を反射波が存在しない血圧波形とした(図1)。この血圧波形に様々なタイミングで大きさの異なる反射波を重畳させ、総頸動脈血圧波形と最も近似する波形が得られるケースを求めた。このときの反射波の振幅と潜時を大学生3名と48才男性で比較した。

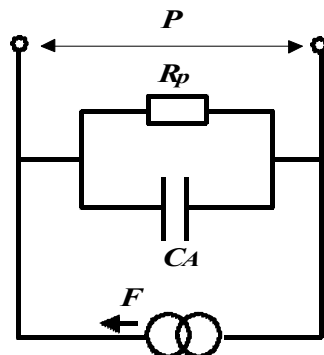


図1. 二要素の Windkessel model

## 3. 実験結果

大学生の頸動脈血圧波形と電気回路シミュレーションによる血圧波形および分離した反射波の一例を図2に示した。大学生3名の反射波潜時は  $0.25 \pm 0.01$  s, 48才男性の反射波潜時が 0.20 s だった。また、反射波の振幅は、大学生3名では駆出波の  $9.6 \pm 1.3$  % だったが、48才男性では駆出波の 24 % だった。

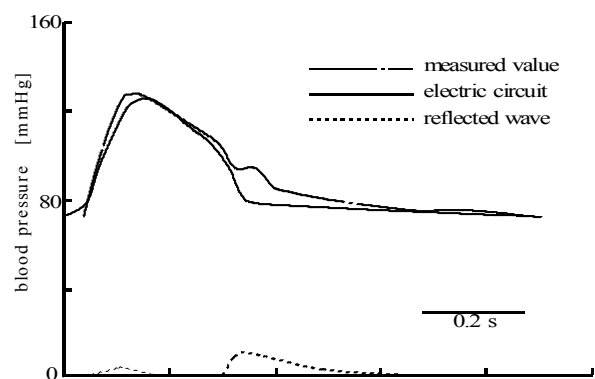


図2. 健常大学生の頸動脈血圧波形解析例

## 4. 考察

本法によって、頸動脈血圧波形から反射波が分離され、健常大学生より中年男性で頭頸部の動脈の粘性抵抗の増大と動脈コンプライアンスの低下を反映した結果が得られた。一方で、反射波と区別がつかない複数の成分が検出された例も有り、それらの中から真の反射波を同定する方法を検討する必要がある。

## 5. 結言

電気回路シミュレータを用いた頸動脈波の反射波解析法の一試案について検討した結果、頭頸部の動脈硬化を評価できる可能性が示唆された。

## 文献

- 1) Wilkinson, I. B., Prasad, K., Hall, IR., Thomas, A., MacCallum, H., Webb, D. J., Frenneaux, M. P., Cockcroft, J. R.: Increased central pulse pressure and augmentation index in subjects with hypercholesterolemia. *J Am Coll Cardiol.* 39, 1005-1011, 2002.
- 2) 本山英器: 電気回路の過渡現象を考える. *電学誌*, 125, 300-303, 2005.



# 要旨

5月27日(土)

第3会場

OS4

細胞・分子のメカノバイオロロジー

## 冠循環の血流特性による心臓弾性蛋白質コネクチンの短縮

○花島章\*, 橋本謙\*, 氏原嘉洋\*, 本田威\*, 児玉彩\*, 呼元知子\*, 杉野充希\*, 毛利聡\*

\*川崎医科大学 医学部 生理学 1 教室 [〒701-0192 岡山県倉敷市松島 577]

### 1. 緒言

脊椎動物の心臓は、冠循環と呼ばれる血管ネットワークにより心筋組織に酸素が供給される心臓(冠循環心臓)と、血管を持たず心室腔からスポンジ状の心筋組織に直接酸素が供給される心臓(類洞循環心臓)に大別される。冠循環の存在は心筋組織が緻密に配置された強力な血液ポンプ機能により大量の酸素や栄養を供給可能とするため、特にエネルギー消費の大きな哺乳類・鳥類は共通して冠循環心臓である。また、冠循環心臓は収縮期には心臓自身による冠血管の圧迫で血流が途絶し、圧力の緩んだ拡張期にのみ血液が流れるという制約を受けており、拡張期の過度な心室伸展でも血流障害が起きると考えられる。

この冠循環心臓の出現時期と出現理由については、軟組織である心臓が化石として残らないため、現生動物の遺伝情報から推定して解明を進める必要がある。本研究では冠循環の有無を反映する機能として心室の機械特性に焦点を当て、特に心筋の伸展性を規定している弾性蛋白質コネクチン(タイチン)に着目した。コネクチン(文献 1)は心筋細胞サルコメアの Z 線から M 線までを 1 分子で繋ぐ生体内最大の蛋白質(3-4MDa)であり、I 帯の弾性領域が心臓の拡張期に受動的張力を発生させる(文献 2)。そこで、類洞循環心臓のコネクチン I 帯弾性領域の構造を明らかにし、冠循環心臓のコネクチン I 帯弾性領域の構造と比較することで、冠循環の存在によるコネクチン弾性領域の変化や冠循環の出現時期の推定を行った。

### 2. 実験方法

両生類カエル(類洞循環)、爬虫類カメ(主に類洞循環)、爬虫類ワニ(冠循環)、鳥類ニワトリ(冠循環)のゲノム情報を基にコネクチンの遺伝子構造を推定(文献 3)し、心室で発現しているコネクチンの I 帯弾性領域の配列を RT-PCR にて決定(文献 4)した。また哺乳類ヒト(冠循環)コネクチンの配列と比較した。

### 3. 実験結果

冠循環を持つ哺乳類・鳥類の心臓は冠循環の無い両生類・爬虫類の心臓と比べ非常に伸展しにくい性質を有しており、コネクチン I 帯弾性領域が著明に短縮していた。また、両生類で見られる巨大エクソンが、

鳥類ではスプライシングによりスキップされることで PEVK 領域(弾性に最も寄与する領域)が短縮されており、哺乳類ではゲノム上から消失していることで PEVK 領域が短縮されていることが明らかとなった。

### 4. 考察

哺乳類・鳥類におけるコネクチンの短縮は、冠循環の登場により心筋細胞の伸展抑制という新たな制約に適応した結果であると考えられる。また、哺乳類と鳥類は約 2.5 億年前(P-T 境界)に酸素濃度が急速に低下した後の同時期に出現しているものの、環境に適応した収斂進化によって別々の方法でコネクチンを短縮し冠循環心臓となったことが考えられた。

### 5. 結言

本研究により、冠循環心臓ではコネクチンの弾性領域の長さが類洞循環心臓と比べて短縮していることが明らかとなった。冠循環の出現時期を明らかにし、拡張機能障害の出現解明にも繋げたい。

### 謝辞

本研究は JSPS 科研費 JP16K01385, JP26702014, JP26282127 及び川崎医科大学プロジェクト研究費の助成を受けて実施した。動物実験に当たって、川崎医科大学動物実験委員会の承認を受けて行った。

### 文献

- 1) Maruyama, K. Natori, R. and Nonomura, Y. New elastic protein from muscle. *Nature*, 262, 58-60, 1976.
- 2) Labeit, S. and Kolmerer, B. Titins: giant proteins in charge of muscle ultrastructure and elasticity. *Science*, 270, 293-6, 1995.
- 3) Hanashima, A. Ogasawara, M. Nomiya, Y. Sasaki, T. Bao, Y. and Kimura, S. Genomic- and protein-based approaches for connectin (titin) identification in the ascidian *Ciona intestinalis*. *Methods*, 56, 18-24, 2012.
- 4) Hanashima, A. Hashimoto, K. Ujihara, Y. Honda, T. Yobimoto, T. Kodama, A. and Mohri, S. Complete primary structure of the I-band region of connectin at which mechanical property is modulated in zebrafish heart and skeletal muscle. *Gene*, 596, 19-26, 2017.

## 高せん断応力環境に対する血管内皮細胞の形態応答

○坂元 尚哉\*, 堀江 悠太\*, 大山 侑樹\*, 館林 耕平\*, 中村 匡徳\*\*

\*首都大学東京 システムデザイン学部 知能機械システムコース[〒191-0065 東京都日野市旭が丘 6-6]

\*\*埼玉大学 大学院理工学研究科 機械科学系専攻

### 1. 緒言

血管内膜に単層で存在している血管内皮細胞は血流による壁せん断応力をはじめとする様々な力学環境にさらされており、内皮細胞の機能や形態が壁せん断応力に応答して変化することが明らかになっている。これまでの壁せん断応力に対する内皮細胞応答を調べた研究は、血管分岐部や曲がり部など血流のよどみ等が生じやすい箇所好発する動脈硬化症発症を背景にしたものが多く、動脈に作用する平均的壁せん断応力値である 2 Pa までの細胞応答が詳細に調べられている。一方で、大動脈弁狭窄症における上行大動脈では 10 Pa 以上の高い壁せん断応力が動脈壁に作用することが指摘されており<sup>1)</sup>、高せん断応力環境に対する内皮細胞の応答が病態形成に関与している可能性も考えられる。しかし、高せん断応力に対する内皮細胞の応答について報告は非常に少ない。病態形成メカニズム検討において、生理的な壁せん断応力までの知見から高せん断応力に対する内皮細胞応答の推定が多く行われているが、詳細な関係は不明である。

そこで我々は高せん断応力に対する内皮細胞の応答に注目した研究に取り組んでいる。本報では内皮細胞の応答指標の一つとして、高せん断応力を負荷した細胞形態について結果を示す。

### 2. 実験方法

ウシ動脈由来血管内皮細胞(JCRB 細胞バンク)を実験に用いた。0.1 mg/mL コラーゲンコーティングを施したディッシュに播種した細胞に対して 2, 10 または 20 Pa の壁せん断応力を負荷した。流れ負荷時間を 24 時間とした。せん断応力負荷後、Hoechst33342 で細胞核を染色し、倒立型蛍光顕微鏡(Olympus)を用いて細胞位相差画像および細胞核蛍光画像を取得した。

### 3. 実験結果および考察

図1に得られた位相差顕微鏡画像を示す。全ての条件において細胞剥離は見られず、内皮細胞は単層を維持していることが確認された。2 Pa および 10 Pa の壁せん断応力を負荷した場合、内皮細胞は流れの方

向に伸長・配向した形態を示した。一方で、20 Pa の壁せん断応力を負荷した細胞では伸長した形態を示したものの、流れの方向に配向する様子は観察されなかった。細胞核の配向性を調べた結果も同様に、20 Pa の壁せん断応力環境では流れ方向に対する配向性は見られなかった(データ掲載なし)。

内皮細胞は作用した壁せん断応力方向に配向することが従来の研究によって報告されており<sup>2)</sup>、本研究で観察された 10 Pa までの応答は従来の報告と一致する。一方で、20 Pa では細胞配向性低下が見られた。内皮細胞の形態は機能と密接な関係をもつと考えられることから、10 Pa 程度までの壁せん断応力環境に比べ、20 Pa 環境では内皮細胞が異なる機能を示す可能性が考えられる。今後、血管拡張に関与する細胞外基質分解酵素 MMP 産生への高せん断応力環境の影響を調べる予定である。

### 謝辞

本研究の一部は科学研究費補助金の援助の下、行われた。記して謝意を表す。

### 参考文献

- 1) Kimura N, et al, J Thorac Cardiovasc Surg, 153, s52-62, 2017.
- 2) Kataoka N, et al, Med Biol Eng Comp, 36, 122-128, 1998.

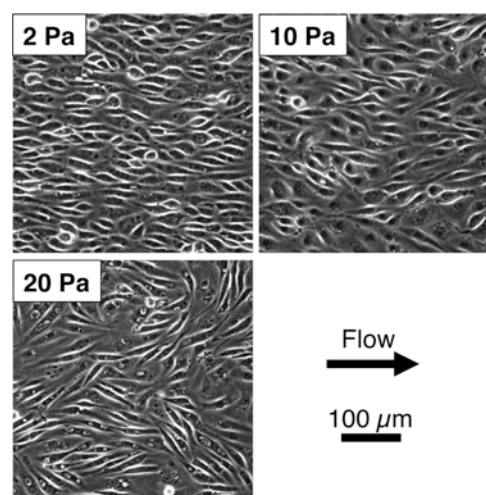


図1 せん断応力を負荷した内皮細胞の位相差画像

# 磁気マイクロビーズを用いた内皮細胞膜の力学特性計測

○玉井克志\*, 松尾智史\*, 大橋俊朗\*\*

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

\*\*北海道大学大学院工学研究院人間機械システムデザイン部門

## 1. 緒言

細胞膜の力学特性を知ることは、細胞の基本的理解のためだけでなく、病態原因の解明に活用できることから多くの研究者に注目されている。細胞膜の力学特性の評価方法には、マイクロピペット吸引法や磁気マイクロビーズを用いたものがある。古くは、Evans<sup>(1)</sup>は、マイクロピペット吸引法を用いて赤血球や白血球などの血球細胞の細胞膜の弾性率を推定した。Huら<sup>(2)</sup>は、細胞膜に接着させた磁気マイクロビーズを外部磁場によって変位させることで細胞膜の異方性力学特性を評価した。

血管内皮細胞は、常に血流による流れ刺激が細胞膜に負荷されていることから、細胞膜を介した力学情報伝達機構を考える上で、細胞膜の力学特性を評価することは重要である。そこで本研究では、磁気マイクロビーズ法を用いて、ウシ大動脈血管内皮細胞(BAEC)の細胞膜の力学特性を評価した。

## 2. 実験方法

磁場を発生させる磁気ピンセットは、芯材に先端を円錐形に加工した高透磁率材 78 パーマロイ丸棒を用い、銅線を 235 回巻いて作製した。試料として BAEC を使用した。細胞膜への磁気マイクロビーズの接着には、ビオチン-アビジン結合を用いた。培養した BAEC を洗浄し、ビオチン化小麦胚芽凝集素を添加し細胞表面をビオチン化した後、直径 2.8  $\mu\text{m}$  ストレプトアビジンコート磁気マイクロビーズを加えた。

測定では、倒立顕微鏡下で細胞に接着させた磁気マイクロビーズと磁気ピンセットの先端を同一視野に入れ、1A の直流入力電流を印加し磁場を発生させた。CCD カメラを用いて、引力による磁気マイクロビーズの変位を撮影した (Fig. 1(a)).

## 3. 実験結果

磁気マイクロビーズの外力により引き起こされた細胞膜の変形は粘弾性特性を有することが観察された。続いて標準粘弾性モデルでフィッティングすることで細胞の粘弾性係数を求めた (Fig. 1(b)). 粘弾性係数は計測点 1 で  $k_1 = 4.4 \times 10^{-5} \text{ Pa}$ ,  $k_2 = 0.77 \text{ Pa}$ ,  $\mu = 0.78$

$\times 10^{-3} \text{ Pa}\cdot\text{s}$ , 計測点 2 で  $k_1 = 6.5 \times 10^{-5} \text{ Pa}$ ,  $k_2 = 0.95 \text{ Pa}$ ,  $\mu = 1.1 \times 10^{-3} \text{ Pa}\cdot\text{s}$  となった。

## 4. 考察

計測点 1 および 2 から得られた粘弾性係数の値は概ね一致した傾向を示しており、本実験方法の有効性が確認された。弾性要素  $k_1$  はクリープ後の最終変位量に大きく寄与する。計測点 1 の  $k_1$  の値が計測点 2 の値の 6 割程度である理由として、磁気ビーズの接着位置の影響が考えられる。磁気ビーズは計測点 1 では細胞中心寄りに接着したのに対し、計測点 2 では細胞周辺部に接着した。そのため計測点 1 では細胞膜の変形能が高く、最終変位量が大きくなり、 $k_1$  の値が減少したと考えられる。

## 5. 結言

本研究では、磁気マイクロビーズを用いて内皮細胞膜の力学特性を評価した。接着部位による粘弾性係数の差異は、接着部位の局所の力学特性を反映していると考えられる。

## 文献

- 1) Evans, E.A.: New membrane concept applied to the analysis of fluid shear and micropipette-deformed red blood cells. *Biophysical Journal* 13, 941-954, 1973.
- 2) Hu, S., et al.: Mechanical anisotropy of adherent cells probed by a three-dimensional magnetic twisting device. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 287(5), C1184-C1191, 2004.

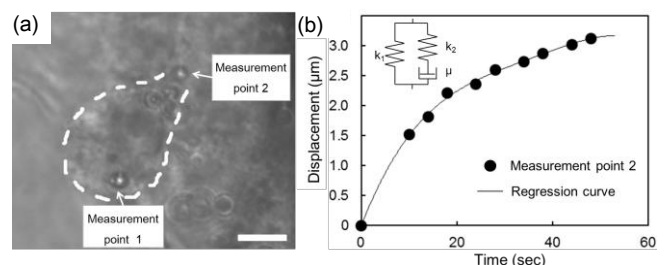


Fig. 1 (a) Measurement points of magnetic microbeads displacement on a BAEC (Scale bar, 10  $\mu\text{m}$ ) and (b) time course of change in the displacement at measurement point 2 and regression curve fitted by a standard linear viscoelastic solid model.

## 血管内皮細胞 PIP<sub>2</sub> 加水分解に及ぼすつつき刺激の影響

○宮本聡\*, モハイラ ビンティ モハマドディン\*\*, 荒井雅貴\*\*\*

中嶋和弘\*\*\*\*, 世良俊博\*\*\*\*, 工藤奨\*\*\*\*

\*九州大学 大学院システム生命科学府[〒819-0395 福岡市西区元岡 744]

\*\*九州大学 工学部機械航空工学科

\*\*\*九州大学 大学院工学府 機械工学専攻

\*\*\*\*九州大学 大学院工学研究院 機械工学部門

### 1. 緒言

細胞内情報伝達物質は力学刺激に応答し濃度変化および活性化することが知られており, 細胞には力学感知メカニズムが存在することが示唆されてきた. ガラスピペットによる局所力学刺激を細胞に与えた際, Protein Kinase C $\alpha$  (PKC $\alpha$ )が刺激領域に集合する PKC $\alpha$  トランスロケーション<sup>1)</sup>や細胞内 Ca<sup>2+</sup>濃度上昇<sup>2)</sup>が報告されてきた. しかしながら, これらの細胞内情報伝達物質がどのような経路を介して反応しているかの詳細については不明な点が多い. PKC $\alpha$  は DAG と Ca<sup>2+</sup>によって制御されることが知られ<sup>3)</sup>, PIP<sub>2</sub>加水分解とそれに伴う DAG 生成が PKC $\alpha$  トランスロケーションを制御している可能性がある. そこで本研究では, 力学刺激が血管内皮細胞内 PIP<sub>2</sub>加水分解および DAG 生成に及ぼす影響に関して, 蛍光タンパク質を用いたライブセルイメージングにより調査した.

### 2. 実験方法

ウシ大動脈由来血管内皮細胞(Bovine aortic endothelial cells: BAECs, 東洋紡)に対して GFP のみのプラスミド(GFP), PIP<sub>2</sub> 結合ドメインをもつプラスミド GFP-C1-PLCdelta-PH (GFP-PH, Addgene), DAG 結合ドメインをもつプラスミド GFP - C1 - PKC $\gamma$  - C1A (DAG-GFP, Addgene)を導入し, 細胞内における DAG 産生および PIP<sub>2</sub>加水分解を輝度輝度変化として観察できる実験系を構築した. また, 同時に Ca<sup>2+</sup>の伝播を観察するために Fura-2,AM cell permeant special packaging (Invitrogen)を細胞に導入した. 単一細胞への局所力学刺激には, 先端径約 2 $\mu$ m ガラスマイクロピペットを使用し直径 2 $\mu$ m の関心領域の輝度を解析した.

### 3. 結果および考察

内皮細胞につつきによる力学刺激を負荷すると, Ca<sup>2+</sup>伝播と共に GFP-PHの輝度減少が見られた. また, GFPのみとGFP-DAGはCa<sup>2+</sup>伝播に伴い蛍光輝度回復を示した. この輝度回復は GFPのみと比較して

GFP-DAGの方が早かった. これらの結果より, つつき刺激領域において PIP<sub>2</sub>加水分解と DAG 産生が示唆され, PKC $\alpha$ トランスロケーションが PIP<sub>2</sub>と DAG によって制御されていることが示唆された.

さらに, つつき刺激による Ca<sup>2+</sup>伝播発生よりも早い段階において GFP-PH の輝度上昇が見られ, PIP<sub>2</sub>生成を伴う化学反応が生じていることが考えられた.

### 5. 結言

BAECs に対してつつきによる局所力学刺激を与えた際, 細胞の刺激領域において PIP<sub>2</sub>が加水分解し, DAG が産生されることが示唆された. また, 細胞の力学刺激領域において PIP<sub>2</sub>産生経路が存在することが示唆された.

### 謝辞

本研究は JSPS 科研費 16H02529 の助成を受けたものです.

### 文献

- 1) Arai, M., Shimada, T., Kora C., Nakashima, K., Sera, T., and Kudo, S.: Biphasic and directed translocation of protein kinase C $\alpha$  inside cultured endothelial cells after mechanical wounding (Submitted)
- 2) Abu Khamidakh, A.E., Juuti-Uusitalo, K., Larsson, K, Skottman, H., and Hyttinen, H. : Intercellular Ca<sup>2+</sup> wave propagation in human retinal pigment epithelium cells induced by mechanical stimulation. *Exp. Eye. Res.*, 108, 129-139, 2013.
- 3) Irie, K., Oie, K., Nakahara, A., Yanai, Y., Ohigashi, H., Wender, A.P., Fukuda, H., Konishi, H., and Kikkawa U.: Molecular Basis for protein Kinase C Isozyme-Selective Binding: The Synthesis, Folding, and Phorbol Ester of the Cysteine-Rich Domains of All Protein Kinase C Isozymes. *J. Am. Chem. Soc.*, 120, 9159-9167, 1998.

# 刺入法によるアフリカツメガエル新鮮原腸胚内部の力学環境の推定に関する研究

○丹下祥之\*, 前田英次郎\*, 村瀬晃平\*, 上野直人\*\*, 松本健郎\*

\*名古屋大学 大学院工学研究科 機械システム工学専攻 [〒464-8603 愛知県名古屋市千種区不老町]

\*\*基礎生物学研究所 [〒444-8585 愛知県岡崎市明大寺町字西郷中 38]

## 1. 緒言

近年, 生物の形態形成における力学因子の影響を示唆する研究結果が報告されている. しかし, 陥入や腔形成などダイナミックな形態形成運動がどのような力で駆動されているのかは殆ど明らかでない. そこで当研究室では, 発生生物学のモデル動物であるアフリカツメガエル (*Xenopus laevis*) 胚を対象に, 発生過程の胚内部の応力分布を明らかにする研究を行ってきた. 従来の研究では胚切断時の断面近傍の残留応力解放による断面の凹凸から推定されるひずみ分布と, 切断面で計測したヤング率を用いて応力分布推定を行ってきた. しかし, 試料が極めて柔らかいことから, 良好な切断面が得られず, 精密な凹凸の評価が難しいなどの問題があった.

そこで本研究では, 刺入法という新たな内部の力学環境の計測法を考案した. 刺入法とは胚に極細針を刺入した後の穿孔形状から内部の力学環境を推定する方法である. 予備実験からその有効性を確認した後, 実際の胚に刺入法を適用し, 実際の形態形成運動における力学環境の寄与を推測した.

## 2. 実験方法

### 2.1 予備実験

実験試料には初期原腸胚期のアフリカツメガエルから摘出したアニマルキャップ (AC) を使用した. AC をシリコーン製チャンバ内のゲルに包埋し, 治具によりチャンバごと引張ひずみを負荷した状態で, 先端外径約 40  $\mu\text{m}$  のガラスマイクロピペットを刺入・抜去して形成される穿孔形状と AC の変形解析から得られた最大主ひずみ方向との関係を調べた.

### 2.2 胚刺入実験

原腸胚期のアフリカツメガエル胚の正中面に垂直にマイクロピペットを刺入・抜去した. この際, 穿孔形状可視化のためピペットから朱墨を注入した. その後, 液体窒素で試料を凍結, クライオスタット (CM30505, Leica) で切断しつつ矢状面を観察した.

## 3. 結果と考察

### 3.1 予備実験

変形が大きくなるにつれ, 最大主ひずみの方向と穿孔の長軸方向が一致する傾向が確認された. この

結果から, 刺入法で得られる穿孔形状から刺入点における張力方向を推定できると考えた.

### 3.2 胚刺入実験

原腸陥入時に外部の組織が内部に引き込まれる部分である原口の背側部 (Dorsal lip) 付近にピペットを刺入した結果を図 1 に示す. 図 1(C)において穿孔形状は先行中胚葉の方向を向いている. これは原腸陥入時の中胚葉進展において先行中胚葉が後部中胚葉を引っ張っているという報告<sup>1)</sup>と一致した結果であると言える. また, 図 1(B)において朱墨が大きく広がっていることが確認された. このことから陥入点付近の内胚葉において細胞間接着が弱くなっている可能性が考えられる.

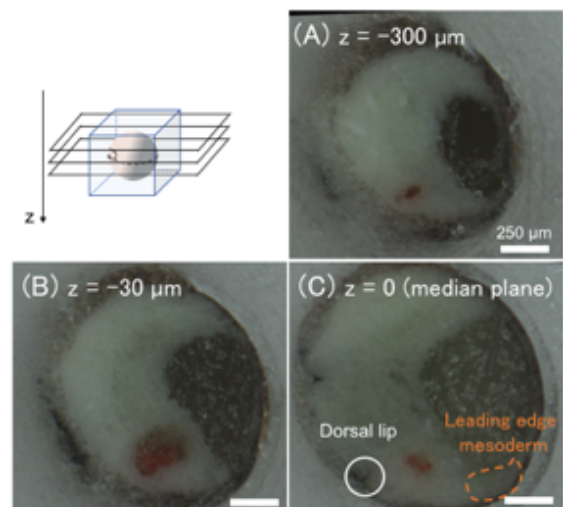


Fig. 1 Sagittal cross-sections of gastrula taken at different height positions following the micro-piercing test. z, distance from the median plane.

## 4. 結言

マイクロピペット刺入時の穿孔形状から胚内部の力学環境を推定した. 今後は再現性を確認した後に, 穿孔形状の3次元解析を行うことで原腸陥入運動の力学的な理解を進めたい.

### 謝辞

本研究の一部は, 科研費・新学術領域研究 (3705-15H05860) に依った. 記して謝意を表す.

### 文献

1) Hara et al., *Dev. Biol.* 382: 482-95, 2013.

## コラーゲンゲル上における骨芽細胞様細胞の能動的配向

○石川 敬一\*, 須長 純子\*\*, 亀尾 佳貴\*\*, 安達 泰治\*\*

\*京都大学大学院 工学研究科 マイクロエンジニアリング専攻 [〒615-8540 京都市西京区京都大学桂]

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

### 1. 緒言

骨は、周囲の力学環境に応じて破骨細胞による吸収と骨芽細胞による形成を絶えず繰り返し、適応的に構造を変化させる。この代謝作用は、骨リモデリングと呼ばれ、骨中でメカノセンサーとして働く骨細胞により制御されていると考えられている<sup>(1)</sup>。骨細胞は、海綿骨を構成する骨梁内部において、長軸方向に配向することが知られており<sup>(2)</sup>、その配向や形態は、力学感知機能に大きく関わっていると示唆されている<sup>(3)</sup>。

骨細胞は、骨芽細胞が自らの産生した類骨基質に埋没し、分化した細胞である。そこで我々は、骨細胞配向が決定される機構として、主にI型コラーゲンから構成される類骨基質の力学環境に着目した。本研究では、生体内の骨梁で形成される類骨基質の境界条件を想定し、骨芽細胞の張力に起因する基質の引張応力が、細胞配向に及ぼす影響を検討した。

### 2. 実験方法

本研究では、マウス頭蓋冠由来骨芽細胞様細胞 MC3T3-E1 細胞 (RIKEN CELL BANK) を用い、I型コラーゲンゲル上で培養した。コラーゲンゲルに異なる力学的境界条件を導入するため、二種類の細胞培養容器を作製した。まず、ガラスベースディッシュ内に 4 mm×8 mm の長方形ブロックを静置し、周囲に熱硬化性を持つ PDMS (東レ・ダウコーニング) を流し込んだ。次に、60 °C で 2 時間加熱後、ブロックを取り外し、濃度 3 mg/mL のコラーゲン溶液 (Cellmatrix Type I-A, 新田ゼラチン) を 50 μL 添加した。ブロックの個数を調整することで、Fig. 1 に示すように、周囲の四辺を全て拘束した(A)全周固定ゲルと、短辺二辺のみを拘束した(B)二辺固定ゲルを作製した。これらのゲル表面で骨芽細胞様細胞を 12 時間培養した。

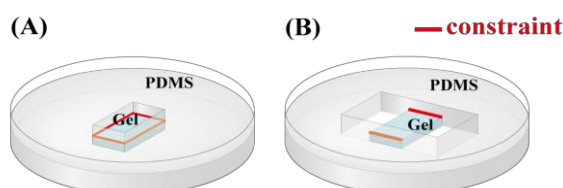


Fig. 1: Collagen gels for cell culture: (A) all-edges clamped gel and (B) two-edges clamped gel.

### 3. 実験結果

コラーゲンゲル上の細胞を染色し、配向方向を解析した。長方形ゲルの長辺方向を 0° とし、細胞の配向角度を -90° から 90° で表した。Fig. 2 (A), (B) に、12 時間培養後の全周固定ゲルおよび二辺固定ゲルの細胞配向ヒストグラムをそれぞれ示す。全周固定ゲルでは、一様分布に近いグラフが得られ、細胞は不規則に配向した。一方、二辺固定ゲルでは、固定辺に対して垂直方向に配向性が生じた。

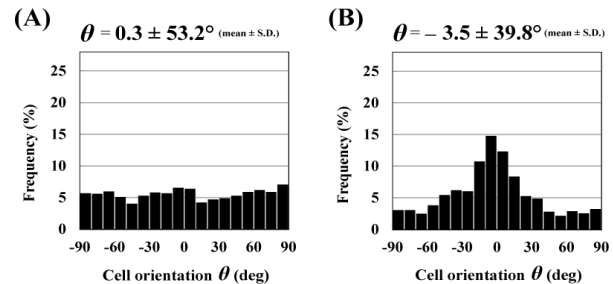


Fig. 2: Histograms of cell orientation.

### 4. 考察

コラーゲンゲル上で培養した骨芽細胞様細胞に細胞内張力が発生すると、全周固定ゲルでは、長辺方向、短辺方向共に引張応力が生じる。一方、二辺固定ゲルでは、固定されている短辺に垂直な方向のみに引張応力が発生する。したがって、このような力学状態の相違により、細胞の配向性に違いが生じたと考えられる。また、細胞は、配向方向に引張力を生み出すことから、ゲルに生じる引張応力と細胞の配向性が相互に影響を与えていることが示唆された。

### 5. 結言

本研究では、ゲル周囲の拘束を制御することにより、骨芽細胞様細胞が自身の張力を介して、能動的に一方方向に配向する過程を観察することができた。本研究は、骨細胞の規則的な配向が生じる機構を解明する足掛かりとなることが期待される。

### 文献

- (1) Bonewald, L. F., *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1116**, 281–290, 2007.
- (2) Hasegawa, T. *et al.*, *Biomed. Res.* **34**, 153–9, 2013.
- (3) Vatsa, A. *et al.*, *Bone* **43**, 452–458, 2008.



# 要旨

5月28日(日)

第1会場

OS1

血管内治療

## 動静脈循環型シミュレータにおけるカテーテル操作のシミュレーション

○廣浦学\*, 廣田徹\*\*, 向井純平\*, 正木涼子\*, 直木洋介\*, 廣田悦子\*\*, 伊達博\*\*, 川口晃\*, 森智\*, 横山武志\*\*\*

\*ニプロ株式会社 企画開発技術事業部 iMEP[〒525-0055 滋賀県草津市野路町 3023]

\*\*株式会社グッドマン 研究開発部 GMIC[〒489-0976 愛知県瀬戸市井戸金町 277-1]

\*\*\*九州大学 歯学研究院[〒812-8582 福岡県福岡市東区馬出 3-1-1 ]

### 1. はじめに

今日漸増する虚血性心疾患に対して冠状動脈治療デバイスの開発は急務である。同時に、医療従事者のカテーテル手技に対する off the job トレーニングの場、およびシミュレータの開発も治療スキルの向上を図る上で重要と考えられる。

当研究開発グループは実際のカテーテル操作感に近い環境でトレーニングが行えるシミュレーションの開発を目的として、上半身(頭部を除く)の動静脈循環型シミュレータ(以下、CVS)と疑似血液を開発し、各種カテーテル操作のシミュレーションを行ったので報告する。

### 2. 実験方法

#### ■血行動態の再現を可能とした CVS

CVS は成人の心臓モデル(ポリウレタン製)と動静脈の血管サーキット(シリコン製)から構成されている。循環ポンプとしての補助人工心臓(VAD, NIPRO)と末梢血管抵抗の圧格差調整装置を組み込むことにより生体に近い循環動態と動静脈の血压差を再現した。

#### ■カテーテル操作のシミュレーションと冠動脈造影

CVS の大腿部に設置したシースより以下のカテーテル類の操作を行った。

1. ガイディングカテーテル(Profit-JL / Roadmaster-CL, GOODMAN)を左冠動脈入口部へ挿入し、実際に近い冠動脈造影が行えるか検討した。

2. 各種カテーテル: GOODMAN 社製のバルーン(NSE / LAXA)、ステント(Vival)、吸引カテーテル(Rebirth)、NIPRO 社製の DCA を左冠動脈内へ挿入し、操作シミュレーションを行った。

3. 脂質が心臓内に固着した病態モデルや血栓閉塞における血行再建シミュレーションも行った。

#### ■カテーテル挿入荷重値と充填液粘度の測定

Interventional device testing equipment (IDTE, MSI) と心臓・大動脈モデル(ポリウレタン製)を接続し、NSE (φ2.25x13mm) の左冠動脈への挿入荷重を評価した。充填液の温度を 15-37°C まで変化させたときの挿入

荷重値と充填液の粘度との関係も検討した。

### 3. 実験結果と考察

#### ■血行動態再現とカテーテル操作シミュレーション

CVS において、血压(120 / 80)を再現することができた。正常の心臓モデルにおける左冠動脈の造影結果を図 1 に示す。



図1:左冠動脈の造影(代表例)

左冠動脈の入口部へ Profit-JL / Roadmaster-CL を挿入した後、各種カテーテルを挿入した。挿入感は総じて容易であったが、カテーテルの形状や材質によって挿入抵抗感の違いは見られ、疑似血液により、カテーテルの挿入抵抗を低減すると考えられた。

CVS の心臓内に脂質が固着した左冠動脈内の一部において、疑似血液が滞留する部位を発見した。同疑似病変を用いて、バルーンによる拡張およびステント留置による血行再建を試みた。結果、バルーンカテーテルによる一過性の血管拡張では、再閉塞を抑制できなかったが、ステント留置では血行再建が可能であった。血管モデルのリモデリングが抑制できるかどうかはその原因として考えられた。

#### ■カテーテル挿入荷重値と充填液粘度との関係

充填液の温度に対するカテーテル挿入の平均荷重値(g)とニュートン粘度(in·Pa·s)は、15°C:(53, 0.012), 22°C:(52, 0.013), 25°C:(37, 0.009), 30°C:(38, 0.010), 37°C:(35, 0.009)であった。温度が低くなるにつれて粘度が増加し、挿入荷重値が高くなることが示唆された。

### 4. 結言

3D 心臓モデルシミュレータにおけるカテーテル挿入荷重を数値化することで、医療従事者しか知りえなかった人でのカテーテル挿入感覚を再現できることが期待される。

## 末梢動脈閉塞の経静脈灌流による治療法の検討: 血行路の再確認

○小山富康\*, 笹嶋唯博\*\*

\*元北海道大学

\*\*元旭川医科大学、江戸川病院血管外科センター

### 1. 緒言

生体組織は強い復旧力を備えている。かなりの障害が発生しても復元することが出来る。正常な血管壁では血管内皮細胞増殖因子、VEGF (Vascular endothelial growth factor) などが適宜分泌されて血管細胞・細胞壁の活性が保たれ、障害は常に修復されている。ところが糖尿病などに侵されると、血管細胞による VEGF 等の合成・分泌機能が低下し、細動脈性の小血管などは荒廃に向かい、下肢の壊死などが発生して、生体は凋落の一途をたどる。

こうして、末梢動脈性疾患(PAD)は年齢とともに有病率が上昇するが、その 75%は無症候性とも云われる。日本人の 50-69 歳の年齢層で PAD 罹患率は 29%に及ぶという。喫煙、糖尿病などにより、ひとたび血管系に支障が起きれば、障害が障害を呼び、動脈性微小血管の再建は困難となり、患者は下肢の鋭い痛みに晒される。笹嶋らはこの困難を取り除くために、足底静脈の逆行性動脈血灌流を行っている。しかし未だ、幾つもの疑義が提出される。我々は数年来この問題の外科的解決法を求めて、検討を続けている。

### 2. 検討対象・方法と結果

#### 2-1. 灌流血管網と血流経路

##### 逆行灌流による酸素の供給経路

我々の逆行灌流方法では前回は述べたとおり、侵襲を受けていない動脈枝を、逆行性に末梢静脈枝へ連結する。酸素化した動脈血は、下肢末梢の細静脈網を流れる。細静脈は分岐と吻合連絡を繰り返しながら、広い領域に広がる。上流の動脈系は PAD によりすでに変性萎縮しているため、上位の動脈系へ遡って流れ抜けることはできない。したがって、送り込まれた動脈血は末梢静脈網を巡って周囲の組織に酸素を拡散させながら、ついに近くの静脈へ抜け出すとみられる。この間に、血液にのせられた酸素と栄養

は血液に乗って足筋へ供給されることとなる。血液が末梢静脈、一部は毛細血管を流れる間に、周囲組織との間の酸素勾配に従って、酸素や栄養が供給される。

骨格筋には多くの細静脈網が発達しており、細動脈網より緻密な網目構造を形成し、全表面積は大きい。骨格筋の安静呼吸時ならば十分量の酸素を運ぶことが出来ると推定される。しかし細静脈総面積も限られているので、過度の運動では血流や酸素不足に陥る可能性、また動脈性小血管系へ流入する筈であるという発言を受けることが少なくない。検討すべき幾つかの問題が残されている。

#### 2-2. 皮弁による手術部位の被覆と結論

1. 細静脈ネットによる酸素輸送経路として充足させることが出来るとみられる。
2. 健常部に予め被弁を用意しておく。術後に、手術部を被覆する。手術部組織を保護するとともに健常な皮弁は VEGF などを合成して、血流中に放出する。これは微小血管の新生を促し、術部を保護するので被覆の生理学的意義は大きい。
3. 足底などの細い静脈枝へ逆向きに注入された動脈血は、静脈弁を押し広げて、細静脈網へ流入する。静脈側は分枝と合流が多いので、網状に微小通路が発達している。動脈血は静脈性のアミ目構造を流れて最後は他の静脈枝へ合流する筈である。
4. 血管の退縮癱瘓化と更新。生体組織に外的圧力と小障害が加わると、局所的廃絶と更新が発生しやすい。X 線撮影で確認することができる。

## 低ずり応力下における内皮細胞への血小板粘着量の測定

小川侑樹\*, 中原拓真\*, 西田悠馬\*, 小林千尋\*\*, 平田孝道\*\*, ○島野健仁郎\*

\* 東京都市大学 機械システム工学科 [〒158-8557 東京都世田谷区玉堤 1-28-1]

\*\* 東京都市大学 医用工学科

### 1. 緒言

血栓形成の予測は基礎研究や臨床の様々な場面で重要であり、多くの数理モデルが提案されている。これら既存のモデルは内皮細胞下組織が血流に露出していることを前提としており、内皮細胞の損傷がない部位で低ずり応力により惹起される凝固の進行速度を過大に評価してしまう。凝固の進行速度は活性化した血小板膜上での凝固因子複合体を介した加速反応により左右されることが知られており、とりもなおさず血小板の粘着量はその部位の凝固反応を支配していることになる。ところが、無損傷の内皮細胞への血小板粘着量に関する定量的情報は不足している。そこで本研究では、ADP 刺激を受けた血小板のブタ大動脈内皮細胞への粘着数を *in vitro* で測定した。

### 2. 実験方法

Confluent なブタ大動脈内皮細胞を播種した幅 5mm, 高さ 0.8mm, 長さ 48.2mm の矩形断面流路 ( $\mu$ -slide) 内で灌流を行った。血液には ACD-A 液を添加したブタ全血を用いた。ずり速度は、完全な停滞状態の  $0 \text{ s}^{-1}$ , 血流停滞による凝固が起こるとされる閾値  $1 \text{ s}^{-1}$  未満を含む 3 条件を調べた。また、ADP 濃度は  $0 \mu\text{M}$ ,  $1 \mu\text{M}$  の 2 通りとし、ずり速度の条件と合わせて計 6 条件の下で 30 分の灌流を行った。各条件の灌流の後、生理食塩水による洗浄とエタノールによる固定処理を施し、SEM による観察を行った。30 $\mu\text{m}$  × 30 $\mu\text{m}$  の範囲の観察を 100 カ所で行い、粘着している血小板数の平均値を算出した。

### 3. 実験結果

Case 4 における血小板粘着の電子顕微鏡写真を Fig.1 に示す。また、Table 1 に  $900 \mu\text{m}^2$  当たりの粘着血小板数を示す。なお、本実験は東京都市大学動物実験規程に準拠して実施された。

### 4. 考察

Fig.1 より血小板には偽足の出現と形態変化が認められ、活性化していると判断できる。また、Table 1 によると、ADP を用いなかった Case1~3 ではずり速度の大小に関係なく粘着数は極端に少ないのに対し、ADP 濃度  $1 \mu\text{M}$  の Case4, 5 では粘着が顕著に認められる。これらのことは ADP による血小板の活性化が内皮細胞への粘着に大きく寄与していることを示唆してい

る。ただし、ADP 濃度  $1 \mu\text{M}$  であってもずり速度  $16.8 \text{ s}^{-1}$  (ずり応力  $0.12 \text{ Pa}$  相当)である Case6 では Case 1, 2 と同程度まで粘着数が減少している。露出したコラーゲンへの粘着が高ずり応力下でも瞬間的に完了することと対照的に、内皮細胞への血小板粘着は  $0.1 \text{ Pa}$  オーダーの低ずり応力でも妨げられることが示された。

### 5. 結言

本研究では ADP 刺激を受けた血小板のブタ大動脈内皮細胞への粘着数を測定した。SEM により内皮細胞に粘着した血小板が活性化していることを確認した。血小板粘着数は ADP 濃度だけでなくずり速度に大きく左右され、ADP 濃度  $1 \mu\text{M}$  では  $0.1 \text{ Pa}$  程度のずり応力によって粘着が妨げられることが示された。

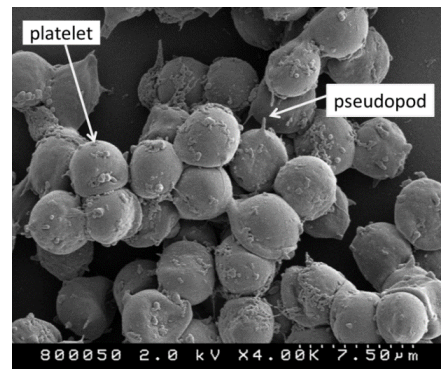


Figure 1 Platelets adhering to endothelial cells (Case 4)

Table 1 Numbers of adhering platelets with 95% CIs

	ADP conc. [ $\mu\text{M}$ ]	Shear rate [ $1/\text{s}$ ]	Platelets per $900 \mu\text{m}^2$
Case 1	0	0	$2.56 \pm 0.42$
Case 2	0	0.51	$2.92 \pm 0.78$
Case 3	0	14.1	$0.25 \pm 0.11$
Case 4	1	0	$30.07 \pm 2.71$
Case 5	1	0.84	$20.82 \pm 3.06$
Case 6	1	16.8	$3.02 \pm 1.37$

### 文献

- 1) Iwata, H. et al.: Purification, identification, and characterization of elastase on erythrocyte membrane as factor IX-activating enzyme. *Biochem Biophys Res Commun*, 316, 65-70, 2004.
- 2) Polanowska-Grabowska, R. and Gear, A.R.: High-speed platelet adhesion under conditions of rapid flow. *Proc Natl Acad Sci*, 89, 5754-58, 1992.

# 要旨

5月28日(日)

第1会場

OS3

血管レオロジーと微小循環(1)

## 血流速度に基づいたバイオマーカーによる脳動脈瘤増大とブレブ発生の予測の検討

○石黒 健太<sup>(1)</sup>, 磯田 治夫<sup>(2)(1)</sup>, 水野 崇<sup>(1)</sup>, 田嶋 駿亮<sup>(1)</sup>, 竹原 康雄<sup>(1)</sup>, 寺田 理希<sup>(3)</sup>, 小杉 崇文<sup>(4)</sup>, 大西 有希<sup>(8)</sup>, 福山 篤司<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> 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]

<sup>(2)</sup> 名古屋大学 脳とこころの研究センター, <sup>(3)</sup> 磐田市立総合病院 第1放射診断科,

<sup>(4)</sup> 株式会社アールテック, <sup>(8)</sup> 東京工業大学 システム制御系

### 1. 緒言

脳動脈瘤の発生, 成長, 破裂には血流動態が関係しており, 血流動態を正確に評価することは大切である. 血流動態を解析する方法として主に計算流体力学(Computational Fluid Dynamics, CFD)解析と磁気共鳴流体力学(Magnetic Resonance Fluid Dynamics, MRFD)解析がある. CFD解析は臨床応用されているが, MRFD解析は低分解能のため臨床応用されていない. しかし, MRFD解析から得られた流速はCFD解析から得られた流速と高い相関<sup>1)</sup>を示し, 値は概ね一致する<sup>2)</sup>という報告がある. このため, MRFD解析から得られた血流速度を用いたバイオマーカーはCFD解析と同様の精度と期待される. また, 同様の精度であれば, MRFD解析は動脈瘤の破裂因子である動脈瘤の増大やブレブの発生を予測することができる<sup>3)</sup>と期待される. 本研究はMRFD解析の臨床応用を目指し, MRFD解析から得られた血流速度バイオマーカーがCFD解析から得られたそれらと同様の精度か否かを検討した. また, MRFD解析の血流速度バイオマーカーは増大群と非増大群間, ブレブ群と非ブレブ群間に有意差があるか否かを検討した.

### 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. 対象は経過観察目的で撮像された48例57動脈瘤の3次元磁気共鳴血管撮像(3D Time of Flight MR Angiography, 3D TOF MRA)データと3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])データとした. 1例は2年後に破裂, 12例は増大, 他は増大や破裂をしなかった. また, 23動脈瘤にブレブがあった. これらのデータを基にMRFD解析とCFD解析を行い, 動脈瘤に流入する断面最高流速と断面平均流速, Inflow Concentration Index (ICI), Energy Loss (EL), Pressure Loss Coefficient (PLc), EL Aneurysmsを算出した. MRFD解析とCFD解析に基づく各血流速度バイオマーカーの相関係数, 級内相関係数を算出し, 血流速度バイオマーカーの精度の検討を行った. また, 動脈瘤を増大群・非増大群, ブレブ群・非ブレブ群に分類し, 血流速度バイオマーカーの統計的な

有意差の検討を行った. 有意差を示した血流速度バイオマーカーに対してROC解析を行った.

### 3. 結果

MRFD解析とCFD解析に基づく各血流速度バイオマーカーの相関係数, 級内相関係数は0.8以上となった.

増大群・非増大群間ではELとPLc ( $p < 0.05$ )が, ブレブ群・非ブレブ群間ではICI ( $p < 0.04$ )がMRFD解析, CFD解析ともに有意差を示した. EL, PLc, ICIの曲線下面積はMRFD解析, CFD解析ともに0.7以上, Youden indexが最高値を示すときの感度は0.7以上となった.

### 4. 考察

MRFD解析から得られたEL, PLcを用いて動脈瘤の増大を, ICIを用いてブレブ形成の予測を行うことができると考えられた. また, これらのバイオマーカーが高値を示す場合は, 今後の動脈瘤の増大, ブレブの発生が疑われるため, 適切に経過観察を行う必要があると考えられた.

### 5. 結言

MRFD解析から得られた血流速度バイオマーカーはCFD解析と同様の精度で解析することができた. MRFD解析のEL, PLcを用いて動脈瘤の増大を, ICIを用いてブレブの形成を予測することができると推定された.

### 6. 参考文献

- 1) Isoda H, et al. Comparison of hemodynamics of intracranial aneurysms between MR fluid dynamics using 3D cine phase-contrast MRI and MR-based computational fluid dynamics. *Neuroradiology*. 2010; 52: 913-20.
- 2) van Ooij P, et al. 3D cine phase-contrast MRI at 3T in intracranial aneurysms compared with patient-specific computational fluid dynamics. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2013; 34: 1785-91.

## 降圧剤による治療下の高血圧症例における赤血球変形能の検討

○丸山徹\*, 小田代敬太\*\*, 有田武史\*\*, 深田光敬\*\*, 横山拓\*\*,  
野田裕剛\*\*, 入江圭\*\*, 森山祥平\*\*, 藤田一允\*\*, 木佐貫恵\*\*

\*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 医学研究院 血液腫瘍心血管内科

### 1. 緒言

高血圧では微小循環が障害されており,これが高血圧での標的臓器障害につながる。赤血球の変形能は微小循環の最大の規程因子であるが,ヒトの高血圧での詳細な検討は不十分である。今回,ニッケルメッシュろ過法を用いて降圧剤による治療下にある高血圧症例の赤血球変形能を測定した。

### 2. 実験方法

本態性高血圧症で通院加療中の症例 101 名を対象とした。糖尿病を合併している症例は除外した(高血圧群)。また年齢をマッチさせた 14 名の正常血圧者を対照とした(正常血圧群)。同意のもとに上腕静脈から採血を行い,直ちにヘマトクリット 3%の赤血球浮遊液を作成した。小孔サイズ 4.94 $\mu$ のニッケルメッシュを用いてろ過実験を行い,得られた圧-流量曲線から当該症例の赤血球変形能(%)を評価した。

### 3. 実験結果

採血前の血圧は高血圧群で  $143 \pm 19 / 81 \pm 11$  mmHg, 正常血圧群では  $125 \pm 16 / 72 \pm 3$  mmHg で,高血圧群で有意に ( $p < 0.01$ ) 高値であった。平均赤血球体積(MCV), 平均赤血球 Hb 濃度(MCHC)を含めて両群の臨床背景に有意差はなかったが,図 1 のように赤血球変形能は高血圧群で有意に低下していた ( $87.8 \pm 2.2\%$  vs.  $89.4 \pm 1.7\%$ ,  $p = 0.01$ )。赤血球変形能と有意な相関を示す因子は単相関でも重相関解析でも平均血圧のみであった(図 2)。

### 4. 考察

今回の検討で降圧治療下のヒトの高血圧においても赤血球の変形能は低下しており,その程度は平均血圧値に相関することから降圧治療の良否と関連することが明らかとなった<sup>1</sup>。かつてわれわれは自然発症高血圧ラットにおいて赤血球変形能が週齢により低下することを報告したが<sup>2</sup>, 今回の結果はこれに符合するものと考えられる。同時に高血圧症に対する厳格な降圧が微小循環を維持し,高血圧合併症としての臓器障害を予防する上で重要と考えられた。

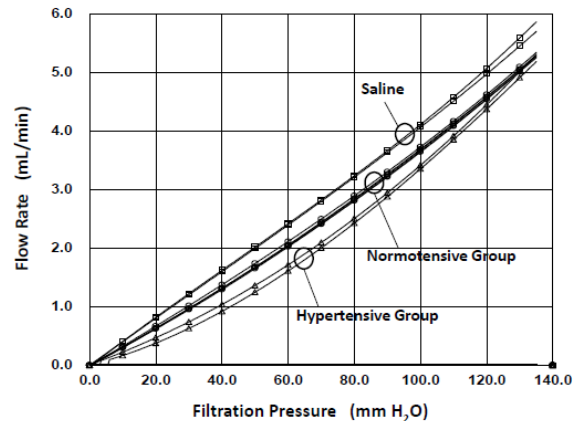


図 1. 生理食塩水と高血圧・正常血圧両群の赤血球浮遊液による圧-流量曲線。

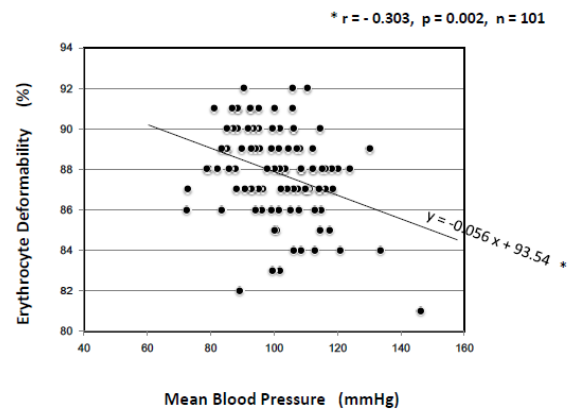


図 2. 高血圧群における平均血圧と赤血球変形能の関係。

### 5. 結言

ヒトの高血圧においては,降圧治療下においても赤血球の変形能は低下していることから厳格な降圧目標の設定が重要である。

#### 謝辞

レオロジー機能食品研究所のスタッフに深謝する。

#### 文献

- 1) Odashiro, K., et al: Clinical Hypertension 21, 17, 2015.
- 2) Ariyoshi, K., et al: Circulation Journal 74, 129-136, 2010.

## 頸動脈を対象とした3次元シネ位相コントラスト磁気共鳴法の 血流動態解析の再現性

○七条 来夢\*, 福山 篤司\*\*, 石黒 健太\*\*, 水野 崇\*\*, 磯田 治夫\*\*, \*\*\*

\*名古屋大学 医学部保健学科 放射線技術科学専攻 [〒461-8673 名古屋市東区大幸南一丁目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

\*\*\*名古屋大学 脳とこころの研究センター

### 1. 緒言

頸動脈分岐部はアテローム性動脈硬化症の好発部位であり、血流動態の指標の1つである血管壁剪断応力(Wall shear stress, WSS)がアテローム形成に関係していると考えられている<sup>1)</sup>。動脈硬化の発症予測や進行の把握のために、頸動脈の血流動態を正確に評価することは重要であり、3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])による血流動態の評価の研究が進められている。

本研究の目的は、頸動脈を対象とした3D cine PC MRを用いた血流動態解析の再現性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ている。男性健常ボランティア10名の右頸動脈を解析対象として定めた。データの取得は3T MR装置(MAGNETOM Verio, Siemens, Erlangen, Germany)を用いて行われた。各ボランティアに3D cine PC MRと3D time of flight (TOF) MR angiography (MRA)の1回目のMR撮像を行った。30分~1時間の休憩後、同一プロトコルで2回目のMR撮像を各ボランティアに行った。3D cine PC MRのVelocity Encoding (VENC)は150cm/sとした。血流解析ソフト(Flow visualization and analysis [Flava], R'tech, Hamamatsu, Japan)を用いて3D TOF MRAから血管形状を作成し、3D cine PC MRから流速情報を読み込んだ。

総頸動脈、内頸動脈、外頸動脈に解析断面を設定し、各心時相の断面平均流速、断面最大流速を取得した。取得した断面平均流速、断面最大流速を縦軸に、心時相を横軸にと定めて血管別にそれぞれプロットし、1回目と2回目の各波形を比較した。その後、1回目と2回目の間で断面平均流速、断面最大流速それぞれのピアソンの相関係数を血管別に求めた。

また、WSSを算出し、1回目と2回目の収縮期WSSコンター図を比較した。総頸動脈、内頸動脈、外頸動脈、頸動脈球部に関心領域を設定し、部位別に空間

平均WSSを算出した。1回目と2回目の間で空間平均WSSのピアソンの相関係数を部位別に算出した。

### 3. 実験結果

総頸動脈、内頸動脈、外頸動脈における断面平均流速と断面最大流速の波形はほぼ一致した。ピアソンの相関係数はいずれも0.79以上と高い相関を示した。断面平均流速と断面最大流速の相関係数の大小関係は等しく、総頸動脈の相関が最も高く、次いで外頸動脈であり、内頸動脈の相関が最も低かった。

収縮期WSSのコンター図は一致しなかった。しかし、空間平均WSSのピアソンの相関係数はいずれも0.73以上と高い相関を示した。

### 4. 考察

流速測定は血管径が大きいほど正確な測定が可能である。このため総頸動脈が最も相関が高くなったと考えられた。内頸動脈の相関が最も低い原因として、総頸動脈や外形動脈に比べて内頸動脈の流速は遅く、今回のVENC設定値では流速の測定精度が低下したためであると考えられた。

WSS算出は血管形状の違いによる影響を受ける<sup>2)</sup>。今回の検討では、3D TOF MRAから血管形状を作成し、流速情報は3D cine PC MRから取得した。各シーケンスによって歪み率は異なる。血管形状と流速情報の歪みの違いによってWSSが正確に算出できなかったため、WSSの分布は一致しなかったと考えられた。

### 5. 結言

3D cine PC MRIを用いた頸動脈の血流動態解析の再現性を検証したところ、断面平均流速、断面最大流速の測定は良い再現性を示した。

### 6. 文献

- 1) Malek AM, Alper SL, Izumo S. Hemodynamic shear stress and its role in atherosclerosis. *JA-MA*. 1999 Dec 1; 282: 2035-42.
- 2) Markl M, Wallis W, Harloff A. Reproducibility of flow and wall shear stress analysis using flow-sensitive four-dimensional MRI. *J Magn Reson Imaging*. 2011 Apr; 33: 988-94.

## 静脈血栓フィブリン構造変化—血小板数、ヘマトクリット値の影響

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

\*京都市立病院麻酔科[〒604-8845 京都市中京区壬生東高田町 1-2]

\*\*京都大学大学院医学研究科, \*\*\*京都大学大学院工学研究科, \*\*\*\*大阪大学大学院基礎工学研究科

### 1. 緒言

静脈血栓塞栓症(VTE)は主要な死因の1つである。米国において年間10万人以上が本疾患により死亡していると推測されている<sup>1</sup>。様々な予防ガイドラインがあるが、有効性には疑問が残る<sup>2</sup>。抗凝固薬の使用も推奨されるが重大な出血事象も問題である<sup>3</sup>。一般的にまず患者のリスク分類をして予防方法を決定する。しかし、リスク分類によりVTE発生の確率はわかるが、実際にどの患者が発症するかは不明である。

VTEの発症機序は、①下腿の大きな静脈に血栓を形成する ②その血栓が崩壊する ③崩壊した血栓が血流により肺に流される ④そこで肺の血管を閉塞することで発症する。この事実から血栓の力学的性状がVTEのカギを握っていることが推測される。血栓の力学的性状は、血栓の構造、特にフィブリンの構造により決定される。血栓構造に関する研究のほとんどは試験管の中で作った血栓を観察している～つまり流れがない条件でできた血栓を観察している。しかし、我々は血栓ができる時の血流が血栓構造に大きく関与することを報告した<sup>4</sup>。今回、流れのある条件下で血小板数や赤血球数が血栓構造に及ぼす影響を検討したので報告する。

### 2. 実験方法

本研究は京都大学「医の倫理委員会」の承認を受けた。まず健康者の静脈血をクエン酸採血した。遠心分離によりwashed platelet (WP), red cell concentrate (RCC)とplatelet free plasma (PFP)を作成した。WP, RCC, PFPを様々な割合で再合成し、血小板数、赤血球濃度を調整した。

PDMS (polydimethylsiloxane)とカバーガラスで流路チップを作成した。圧力制御ポンプを用い血液を流路に静脈相当のずり速度で流して、倒立蛍光顕微鏡で観察した。なお、蛍光標識したデキストランとフィブリンノーゲン、およびキナクリン(血小板顆粒を標識する蛍光色素)を試料に添加した。

### 3. 実験結果

・赤血球減少モデルでは、フィブリン繊維が細く配向性も失われた。さらに、大きな血小板塊が生成した。

・血小板減少モデルでは、フィブリン網に多くの赤血球を巻き込んだ。

### 4. 考察

赤血球が減少するとフィブリンの配向性や血小板塊に変化が見られ、血小板減少状態でもフィブリン構造に変化が見られた。血球成分同士またはフィブリンとの物理的または化学的な相互作用が考えられる。上記結果(変化)は各血球成分がゼロ近くにまで減少した時に出現しリニアな変化ではない。これらの結果は血栓の数理モデル解析をする場合の情報になると考えられる。

### 5. 結言

VTE発症には血栓の力学的性状～フィブリン構造が重要と考えられるが、血小板数や赤血球数がフィブリン構造に大きく関与する。

### 謝辞

流路チップ用モールドを作成していただいた京都大学(工)ナノメトリクス工学の小寺秀俊教授に感謝いたします。

### 文献

- 1) The Surgeon General's Call to Action to Prevent Deep Vein Thrombosis and Pulmonary Embolism. US department of health and human service 2008
- 2) Francois-Andre' Allaert, Eric Benzenine and Catherine Quantin: Hospital incidence and annual rates of hospitalization for venous thromboembolic disease in France and the USA. Phlebology published online October 4, 2016 DOI: <https://doi.org/10.1177/0268355516653005>
- 3) J. J. van Veen and M. Makris: Management of peri-operative anti-thrombotic therapy. Anaesthesia 2015, 70 (Suppl. 1), 58-67
- 4) Hirakata H, Sugita N, Inoue K, Tatsumi K, Ii S, Wada S, Koike K and Murai T: Thrombus structure change under various shear rate, using a novel microfluidic device. BR06 62nd Annual SSC Meeting of the ISTH, Montpellier, France, May 25-28, 2016

# ビールの苦味成分ホップに含まれるイソフムロンの血管内皮機能改善効果

○富田純子<sup>\*\*</sup>, 望月精一<sup>\*\*\*</sup>, 藤本荘八<sup>\*\*\*\*</sup>, 柏原直樹<sup>\*\*\*\*\*</sup>, 赤阪隆史<sup>\*\*\*\*\*</sup>, 谷本光音<sup>†</sup>, 吉田清<sup>‡</sup>

<sup>\*\*</sup>府中市民病院 循環器内科 [〒726-8501 広島県府中市鶴飼 555-30]

<sup>\*\*</sup>笠岡市民病院 循環器内科, <sup>\*\*\*</sup>川崎医療福祉大学 臨床工学科, <sup>\*\*\*\*</sup>川崎医科大学 健康管理学, <sup>\*\*\*\*\*</sup>川崎医科大学 腎臓・高血圧内科学, <sup>\*\*\*\*\*</sup>和歌山県立医大 循環器内科, <sup>†</sup>岩国医療センター呼吸器科, <sup>‡</sup>心臓病センター榊原病院 循環器内科

## 1. 緒言

ビールの苦み成分であるイソフムロンは、抗酸化作用を示すことが知られている。我々は、イソフムロンを含む異性化ホップエキス(IHE)が、ヒト大動脈内皮細胞において低酸素下における細胞障害とアンジオテンシンII 負荷による酸化ストレス産生を抑制することを報告した<sup>1)</sup>。そこで、IHEの経口摂取が、健常ボランティアの喫煙者と非喫煙者の血管内皮機能に及ぼす影響を評価した。

## 2. 実験方法

本実験では、イソフムロンを79%含有するIHEを使用した。男性健常ボランティア(喫煙者12名、非喫煙者11名)に対し、体重10kg当たり8.5mgのイソフムロンを含むホップエキスカプセルを早朝空腹時に内服し、30分後と2時間後に超音波装置を用いて前腕駆血後の血管拡張反応(FMD)を計測した。また、血管内皮由来NO産生能の評価として、FMD計測時に採血して、駆血前と駆血解除後のhyperemia時の血漿中亜硝酸イオン(NO<sub>3</sub><sup>-</sup>)濃度に基づいて、NO産生量を求め、駆血前の値(NO<sub>BE</sub>)とhyperemiaの値(NO<sub>HE</sub>)の比、すなわちNO<sub>ratio</sub>を求めた。

本研究は笠岡市民病院倫理委員会に申請し実施許可を得た。また、ヘルシンキ宣言に準拠して被験者の人権やプライバシーに十分配慮した。

## 3. 実験結果

### ①イソフムロンのFMD改善効果

喫煙者群、非喫煙者群とも、イソフムロン内服によってFMDは、有意に改善した。一方、プラセボ群では両群ともに有意な変化を認めなかった。

血圧、脈拍、総コレステロール、LDLコレステロール、HDLコレステロール、遊離脂肪酸、MDA-LDLの値について、イソフムロン投与群、プラセボ投与群ともに喫煙者群、非喫煙者群いずれでも有意な変化を認めなかった。

### ②イソフムロンのNO産生量への効果

FMD計測時のNO産生(NO<sub>ratio</sub>)は、喫煙者7人のみでは、イソフムロン投与前から投与後に有意に増加した。非喫煙者3人を加えた計10人についても、

IHE投与前に比べ、増加していた。なお、プラセボ投与群では、投与前後で有意差を認めなかった。

## 4. 考察

喫煙者では、血管内皮機能が健常者より低下していることが報告されている<sup>2)</sup>。本研究の喫煙者群でも、血管内皮機能の低下が認められ、イソフムロン投与で改善した。さらに、特徴的なのが、非喫煙者群でもイソフムロン投与で血管内皮機能がさらに向上した。

イソフムロン投与によって、血圧は変化しておらず、正常血圧の若者では降圧効果による血管内皮機能改善の可能性は低いと思われた。

FMD測定時のNO産生が上昇しており、血管内皮機能改善効果のメカニズムの一部として、イソフムロンが、その抗酸化作用によってNOの生理的活性(bioavailability)を増加、あるいはNO産生を刺激した可能性が考えられた。なお、培養ヒト大動脈内皮細胞の実験結果でも、イソフムロンの酸化ストレス抑制効果が示唆されている<sup>1)</sup>。

## 5. 結言

イソフムロンは、抗酸化作用を介して、酸化ストレスを抑制し、NOのbioavailabilityを改善することにより、血管内皮機能を改善すると示唆された。

## 謝辞

今回の研究の施行にあたり、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) 富田純子他, 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, 日本バイオ誌, 30(2), 85, 2016.
- 2) Barua RS, et al. Dysfunctional endothelial nitric oxide biosynthesis in healthy smokers with impaired endothelium-dependent vasodilatation, Circulation 104(16), 1905-1910, 2001.

# 要旨

5月28日(日)

第1会場

ランチオンセミナー

## スティーブ・ジョブズに学ぶ 就寝前の過ごし方 心地よく眠りに就くために

○保野 孝弘

川崎医療福祉大学 医療福祉学部 臨床心理学科 [〒701-0193 岡山県倉敷市松島 288]

本セミナーでは、不眠症状の1つである入眠困難への対処法を、スティーブ・ジョブズ氏の言動から考える。

不眠の症状として、入眠困難(なかなか寝付けない)、中途覚醒(途中で何度も目覚める)、早朝覚醒(いつもより早く起き過ぎる)、そして、熟眠感の欠如(起床時にぐっすり感がない)がある。この中で、入眠困難は、なぜか、なかなか寝付けない、横になると様々な雑念が頭の中に出てきて寝付けないなど、眠りのスタートが切れないことである。

この問題に対処するためのヒントについて、スティーブ・ジョブズ氏から学ぶことが2つある。いずれも、就寝前の過ごし方にある。その1つは、就寝前にスマートフォンやタブレットなどのメディアの使い過ぎである。彼は、iPhone や iPad などのメディア機器を作ったが、彼の子どもには使い過ぎに注意し、自宅ではほとんど使わせなかったという。当然、自分自身も就寝前に機器をほとんど使用しなかったであろう。就寝前の過ごし方として、眼からの入る光を制限することが極めて重要である。なぜならば、液晶から発せられるブルーライトが、眠りを誘発されるメラトニンを抑制し、サーカディアンリズムの調整がうまくできないからである。夜間に液晶やスマートフォンの画面を見続けたり、LED 照明の下で生活する。その結果、入眠困難などの不眠症や睡眠障害に至ることが考えられる。また、見る機能にも悪影響を与えることが考えられている。視力の低下や網膜への障害である。まだ、研究のほとんどが動物実験によるものであるが、人間においても同じような影響を想定して対応することが望まれる。

もう1つは、マインドフルネスである。彼は、創造性を高め、新しい発想を生み出し、心身の癒しを得るために、このマインドフルネスを実践していたと考えられる。簡単に言えば、「今この時、ここにいる自分」に気づくことである。例えば、イスに座っているとき、お尻とイスが接している感覚、呼吸によって動く体の感覚を感じる。この時、過去のことを思い出し、後悔する気持ちが生まれるかもしれない。この時は、この気持ちを

「こんな気持ちになっているな」と気づき、捕らわれないようにする。すぐに、呼吸や体の感覚にもう一度注意を向ける。大切なことは、心を「今」に向けて、今ここで自分に生じている様々なことに気づくことである。

特に今回は、マインドフルネス瞑想法をご紹介します。就寝前に、この瞑想を実践すると、脳疲労が緩和され、雑念などが消え、眠り込みやすくなると期待できる。具体的には、まず、イスに浅く腰掛け、体をまっすぐに伸ばす。両手は、膝の上に置く。そして、鼻からスーッと息を軽くゆっくと吐いて、鼻からスーッと軽くゆっくと吸う。この時、いろいろな感覚に気づいて感じるようにする。例えば、息が鼻の中をスーッと通る感覚、鼻や胸などの筋肉が動く感覚をそのまま感じる。途中で、過去の出来事、不安や後悔などの雑念が浮かんでも、「浮かんでいること」を認め、その雑念を抑えようとしない。捕らわれないで、呼吸や体の感覚に意識を戻す。最初は、4、5分間、慣れてきたら15分、20分、30分と長くすると良い。その結果、注意集中力が増し、自己肯定感も高まると考えられる。さらに脳の疲労も緩和されると言われている。

以上のように、就寝前の過ごし方として、眼から入る光刺激を少なくし、そして、脳を休めるためにマインドフル瞑想を実践してはいかがでしょうか。

## 要旨

5月28日(日)

第1会場

受賞講演

- ・岡小天賞
- ・論文賞

## 「流れる固体」と骨組織のレオロジー

佐々木直樹

北海道大学大学院先端生命科学研究院

[〒060-0810 札幌市北区北10条西8丁目]

多くの高分子物質は、「流れる固体」であり、「弾性液体」である。その意味で多くの生体物質・組織も、(生体)高分子からなっており、「流れる固体」の特性である粘弾性を示す。臓器や血管、脳組織、そして骨をも含めた結合組織と呼ばれる一群の組織は顕著な粘弾性体である。骨の粘弾性については1960年代の J. D. Currey や A. A. Lugassy 等、1970年代の J. L. Katz 等の先駆的実験研究がある。近年の生物学研究には種々のイメージング技術の革新が大きな役割を果たしているが、骨組織についても nm レベルの構造が明らかになり、肉眼レベルから、分子レベルまでの各階層の詳細情報が得られている。では「骨の力学特性」という場合、どの階層の性質を見ていることになるのだろうか?それは、測定手段に依存する。例えば、現在、多くの骨研究者が取り組んでいるナノインデンテーションはまさにナノレベルで分子の集合体の構造・物性を見ていることになる。Debye-Waller 因子の測定から求められる力学定数は、数オングストロームから、数十オングストロームの分子構造が有するものである。日常的または臨床的に「骨の力学特性」という場合は、一本の骨としてまたはそれを整形して得られる骨試料の応力・歪・時間関係を指すと考えられる。我々は主としてこのレベルでの骨の性質を調べてきた。

我々が行ってきた粘弾性測定は整形骨試料の3点撓みによる応力緩和測定である。この実験結果を通して、骨の粘弾性を定量的に把握するために、緩和現象を支配する物質関数を決定する必要がある。緻密骨では少なくとも二つの緩和過程を含んでいることが明らかになっており、我々は物質関数として

$$E(t) = \sum_{i=1}^2 E_i e^{-\left(\frac{t}{\tau_i}\right)^{\beta_i}}$$

の形の実験式を提案した。ここで、 $\tau_i$  は緩和時間、 $\beta_i$  はその分布を表す。多くの場合、 $\tau_1 \sim 10^1$  sec,  $\tau_2 \sim 10^{6-7}$  sec となり速い緩和仮定と遅い緩和過程に分けるこ

とができた。緩和過程の X 線回折実験や異方性試料の応力緩和実験から、速い緩和は骨中のコラーゲン線維の緩和、遅い緩和はオステオン等の高次の骨組織の関係する緩和に帰属された。

ここでは、粘弾性測定および実験式を用いて、骨研究では避けて通れない骨粗鬆症の問題に取り組んだ例を紹介する。

骨粗鬆症は1994年のWHOの定義では「骨密度が低下し、骨の微細構造に異常が生じた結果、骨がもろくなり骨折しやすくなった状態」とされていた。これを受けわが国では、骨密度の定量が広く行われてきた。しかし、高骨密度であるにもかかわらず骨折リスクの高い症例が多く現れるようになり、2000年 NIH コンセンサス会議で骨粗鬆症は再定義され「骨強度の低下を特徴とし、骨折のリスクが増大しやすくなる骨格疾患」というように骨密度に代わり骨強度という概念が重視されている。そこでは「骨強度は骨密度と「骨質(骨密度以外の骨強度因子)」で決定される」とされた。骨密度を定量する方法は確立され臨床応用に至っているが、新たに提案された骨質という概念は、骨密度に比べ定義が曖昧で現時点でも定量化に至っていない。骨質は骨を形成する材料特性とそれらが形成する構造の力学特性を総合したものと考えられる。

ここでは粘弾性測定を通して、骨を形成するミネラルとコラーゲン線維の力学的役割を探り、各成分の骨質への寄与の度合いを調べた。ミネラルの減少により骨の弾性率は徐々に減少した。一方、骨コラーゲンをほんの少し分解しただけで骨の粘弾性挙動は著しく変化した。骨質を踏まえ、骨粗鬆症にクリティカルな因子を考えると、骨コラーゲンの劣化は無視できない要素である。

従来骨はバイオメカニクスの対象だったが、ここで紹介した例のように、バイオレオロジーとしても興味深い研究対象である。

# 拡散によって誘起されるカードランゲルの異方的・多層構造

○槇靖幸\*

\*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

マイクロカプセルなどの調製に用いられるプロセスに不溶化反応法というものがある。不溶化反応法では、高分子溶液を架橋剤溶液中に滴下する。まず液滴界面で架橋(ゲル化)が生じ、次に形成されたゲル膜を通して架橋剤が液滴内部に向かって拡散することでゲル化が進行し、時間の経過に従ってゲルカプセル、さらにはゲルビーズが形成される。

この現象は、レオロジー的な観点では、時間経過とともに架橋反応が進行し、液体から固体への変化が生じるという点で、拡散を伴う化学レオロジー(ケモレオロジー)の一種と見ることができる<sup>1)</sup>。また、このような拡散によって誘起されるゲル化は、様々な生体内のゲル形成、例えば、深部静脈血栓症(エコノミークラス症候群)の原因となりうる血栓(フィブリンゲル)の形成との関連性が指摘されている<sup>2)</sup>。このため興味深いバイオレオロジーの研究対象といえる。

以前に、多糖類( $\beta$ 1,3-グルカン)の一種であるカードランのアルカリ水溶液を、架橋剤となる  $\text{Ca}^{2+}$  の水溶液中で透析すると、複雑な屈折を示し、同心円状に濁度の異なる多層構造を持った(図1左)、異方的・多層構造ゲルが生成するという現象が報告された<sup>3,4)</sup>。この透析によるゲル化は上述の不溶化反応法の一つといえる。カードランゲルの特徴的な多層構造は、ドラッグデリバリーシステムにおける急激な初期の放出の低減などに活用できる可能性があり、その実現のためには、ゲルの構造を理解し、構造の制御法を明らかにする必要がある。本研究<sup>5)</sup>では、X線小角散乱(SAXS)と小角光散乱(SALS)によりカードランゲルの異方的・多層構造を明らかにし、その構造形成メカニズムから構造制御の可能性について検討した。

## 2. 実験方法

カードラン( $M_v=5.9 \times 10^5$ )を0.3M NaOHに溶解し、5.0wt%の溶液を調製した。直径16-28 mmの透析チューブにカードラン溶液を入れ、8.0g/L  $\text{CaCl}_2$  水溶液中で24時間透析し、カードランゲルを調製した。ゲルの構造を、SAXS(KEK-PF, BL15A・6A)およびSALSを用いて調べた。

## 3. 結果と考察

SAXS 測定により、(1)カードラン分子はらせん状の規則構造をとる (2)規則構造をとったカードランが直径約9 nmのフィブリルを形成する (3)10-20 nmのフィブリルの凝集体がゲルの中心寄りの領域で多く形成される (4)拡散と垂直方向にフィブリルが配向しており、配向度はゲル内の位置に依存する ということ、SALS 測定により、ゲルの中心寄りの領域で網目構造がより大きな不均一性を持つことが示された。ゲルの形成は  $\text{Ca}^{2+}$  の流入によるフィブリルの架橋と、 $\text{OH}^-$  の流出によるフィブリルの凝集の両方に起因すると考えられた。

上記に示したゲルの微細構造には空間分布があり、それは多層構造の層の厚み<sup>4)</sup>およびゲル化ダイナミクス<sup>6)</sup>と同じスケールリングに従うことが示された。ここから、ゲルの構造形成は拡散による  $\text{Ca}^{2+}$  と  $\text{OH}^-$  濃度の時空間分布により支配されると考えられた(図1右)。

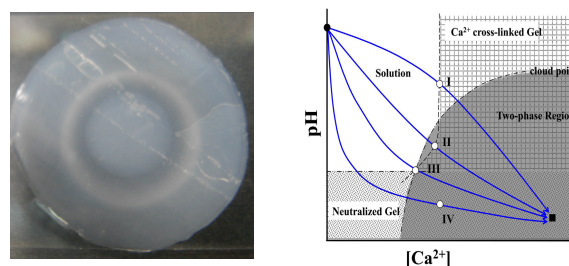


Fig. 1. Photograph of the cross-section of the curdlan gel (left) and schematic diagram of pH versus  $[\text{Ca}^{2+}]$  for the gelation process of the curdlan gel (right).

## 謝辞

土橋敏明教授(群馬大)、古澤和也助教(北大)、山本隆夫教授(群馬大)、杉本泰伸准教授(名大)、若林克三名誉教授(阪大)のご指導、ご助言に対し、厚く御礼申し上げます。

## 文献

- 1) 村上謙吉: 高分子の化学レオロジー, 朝倉書店, 1968.
- 2) Shida, N. et al.: *Soft Matter*, 12, 9471-9476, 2016.
- 3) 紺野昭ら: カードランのゲル化について, 金蘭短期大学研究誌, 29, 89-95, 1998.
- 4) Dobashi, T. et al.: *Langmuir*, 20, 6530-6534, 2004.
- 5) Maki, Y. et al.: *Carbohydr. Polym.* 155, 136-145, 2017.
- 6) Nobe, M. et al.: *Langmuir*, 21, 8155-8160, 2005.



# 要旨

5月28日(日)

第1会場

OS3

血管レオロジーと微小循環(2)

# 過凝集性牛乳を使った血流停滞による血栓形成模擬実験系構築の試み

○田地川勉\*, 田中雅之\*, 柳楽恭子\*\*

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

\*\*関西大学大学院理工学研究科 システム工学専攻[〒564-8680 吹田市山手町 3-3-35]

## 1. 緒言

血流停滞によって形成される赤色血栓は、塞栓症などの疾患の原因の一方で、動脈瘤に対するワイヤーやステント留置治療では所望の部位にだけ血栓が形成される事が望まれる。前述のような塞栓治療デバイスの血栓形成性の評価のために、これまで動物実験がなされてきたが、個体差や再現性の低さ等の問題もあるため、これを補える新たな定量評価法として血栓形成を模擬できる生体外実験が必要である。

低温殺菌牛乳に塩と酵素(Rennet),  $\text{Ca}^{2+}$ を加え凝集・凝固しやすとした過凝集性牛乳を使った模擬血栓形成モデルに着目した報告がある<sup>1)</sup>。しかし、赤色血栓形成に重要なせん断速度と凝塊形成の関係や凝塊形成過程のレオロジーは調べられていない。

そこで本研究では、凝固に至る過程におけるレオロジー特性がヒト血液に近く、また再現性の高い血液モデルを構築するため、成分調整と保存が可能な Skim milk を使った実験系の構築を試みた。

## 2. 実験方法

コーンプレート型粘度計で作り出した Couette 流れ下で、せん断速度  $\dot{\gamma}=0.2\sim 200\text{s}^{-1}$  の範囲の一定せん断ひずみを Skim milk サンプルに 150 分間負荷し、溶液構成比(Skim milk 量・ $\text{CaCl}_2$  量・Rennet 量)の違いと粘性特性の関係を調べた。さらに、光散乱式粒度分布計を使い、形成された凝塊の粒径を測定した。

## 3. 実験結果および考察

Fig. 1に一定せん断速度負荷中の粘度 $\eta$ の経時変化, Fig. 2にせん断負荷後に観察できた凝塊を示す。Fig. 3に $\dot{\gamma}$ と凝固終了時の粘度 $\eta_y$ の関係, Fig. 4に $\dot{\gamma}$ と粒径分布算術平均値 $\bar{d}_c$ の関係を示す。

これらの結果から、負荷したせん断速度が小さいほど形成された凝塊サイズが大きく粘度が高くなっており、低せん断における血液のレオロジーと類似していた。また、過凝集性Skim milk溶液構成比を、Skim milkとRennet濃度を増加、または $\text{CaCl}_2$ 濃度を減少させることで、 $\eta_y$ が高くなり、ヒト血液の凝固時の粘度に近づけることができた。また、凝塊サイズも溶液構成比を調整することである程度制御できることが分かった。

以上のことから、過凝集性Skim milk溶液を赤色血栓形成のモデルに応用できる可能性が示唆された。

## 4. まとめ

成分調整可能な過凝集性 Skim milk を用いた血栓形成モデルの構築のためし、凝集反応中のレオロジー特性を調べた結果、血液同様高せん断速度では凝塊が形成されず、低せん断速度で形成された。また、せん断ひずみ速度が低いほど凝塊の粒径が大きくなった。さらに、skim milk 溶液構成比を変化させることで粘度を調節できることが確認できた。

### 文献

- 1) A. Narracott, et al, J Artif Organs, 8(1), pp.56-62, (2005).

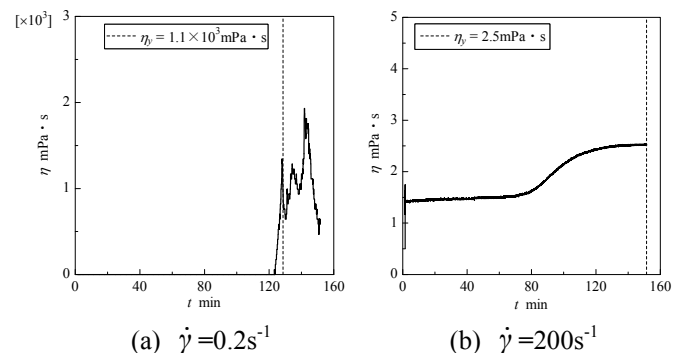
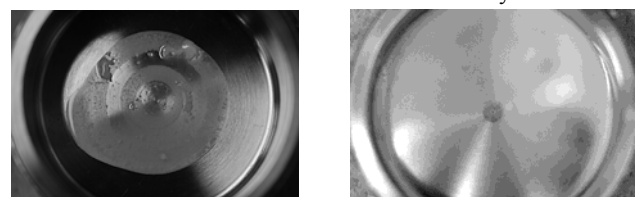


Fig. 1 Relationship between applying shear rate and time variation of viscosity.



(a)  $\dot{\gamma}=0.2\text{s}^{-1}$  (b)  $\dot{\gamma}=200\text{s}^{-1}$

Fig. 2 Formed skim milk cot.

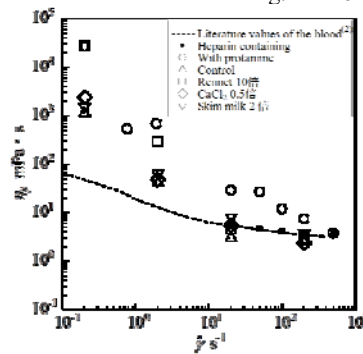


Fig. 3  $\dot{\gamma}$  v.s.  $\eta_y$

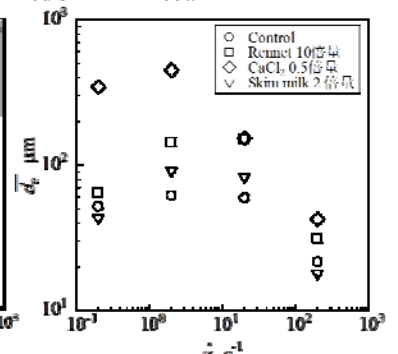


Fig. 4  $\dot{\gamma}$  v.s.  $\bar{d}_c$

# シースフロー型マイクロチャンネルによる赤血球変形能の定量評価 (毛細血管内の赤血球懸濁液の粘度と形状回復時定数の関係)

○乾智幸\*, 山下雄士\*, 田地川勉\*\*, 池本敏行\*\*\*, 武内徹\*\*\*\*

\*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丁目3番35号]

\*\*関西大学 システム理工学部[〒564-8680 大阪府吹田市山手町3丁目3番35号]

\*\*\*大阪医科大学附属病院 中央検査部[〒569-0801 大阪府高槻市大学町2番7号]

\*\*\*\*大阪医科大学 第一内科学教室[〒569-0801 大阪府高槻市大学町2番7号]

## 1. 緒言

赤血球は変形能に優れており、自身よりも細い毛細血管をわずかな圧力差で自由に変形しながら通過することができる。しかし、変形能が低下すると、血液循環が阻害され、末梢循環障害の原因となるため変形能の測定は重要である。

膠原病の代表的な病態である循環障害をもたらす原因は、血管内が向血栓傾向になるためと考えられている。しかし一般的な循環障害では、その要因は血管だけでなく血球にもあることが多い。そこで本研究では、膠原病と赤血球変形能の関係を調べるため、シースフロー型MCを用いて膠原病患者と健常者の赤血球の形状回復時定数を測定し比較した。

## 2. 実験方法と形状回復過程のモデル化

図1は膠原病患者の赤血球の形状回復過程の様子の一例である。MCに対して垂直方向の赤血球の最大幅を $d_y$ とし、赤血球が一辺約 $5\mu\text{m}$ のMCから出た瞬間を $t=0\text{ ms}$ とし、 $2\text{ ms}$ 間隔で変形が十分収束したと考えられる $t=100\text{ ms}$  ( $d_y=d_{y\infty}$ )まで測定した。また、その時のMCに対して平行方向の長さ( $d_x=d_{x\infty}$ )を測定し、式(1)で定義される変形指標DI値を算出した。なお、DI値は赤血球の弾性的な性質を表す変形指数である。

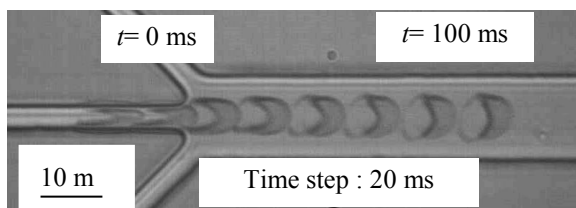


Fig. 1 Shape recovering process of a collagen disease erythrocyte getting out of a MC.

$$DI = d_{x\infty} / d_{y\infty} \quad (1)$$

MC通過後の赤血球の形状回復過程をKelvinモデルでモデル化した。Kelvinモデルの構成方程式を解くと、赤血球の圧縮ひずみは式(2)に示す時定数を緩和時間として、指数関数的に減少する。

$$\tau_{\sigma} = \mu_2 \left( \frac{1}{k_1} + \frac{1}{k_2} \right) \quad (2)$$

## 3. 実験結果

図2に健常者と膠原病患者の形状回復時定数の幾何平均値を比較したグラフを示す。図2の結果に対し、KS検定を行った結果、 $p=0.03$ となり二標本に有意な差がみられ、健常者より膠原病患者の形状回復時定数の幾何平均値が有意に低いことが分かった。

図3に健常者と膠原病のDIを比較したグラフを示す。KS検定を行った結果、 $p=0.31$ となり二標本に有意な差がみられなかった。このことから、健常者と膠原病患者の赤血球の弾性的な性質に有意な差がないことが分かり、形状回復時定数の幾何平均値は赤血球の粘性的な性質の差があらわれた可能性がある。

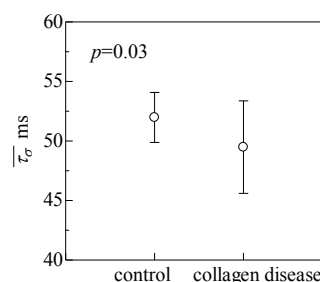


Fig. 2 Comparison of relaxation time constant.

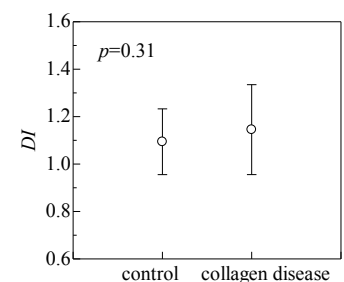


Fig. 3 Comparison of deformation index.

## 4. 考察

赤血球は加齢が進むにつれ変形能が低下し、それが原因で脾臓により、濾過・回収される。さらに、赤血球は加齢が進むにつれ、内部粘度が上昇していくことが知られている。膠原病患者は、高頻度で貧血を発症するため、膠原病患者の赤血球は十分に寿命を全うできず破壊され、それを補う為に赤血球が産生されていると考えられる。その結果、加齢による増粘が進んでいない若い赤血球の存在確率が高くなり、形状回復時定数の幾何平均値が低くなった可能性が示唆された。

## 5. 結言

膠原病患者の赤血球変形能を調べた結果、膠原病患者の赤血球形状回復時定数は健常者に比べて短いにもかかわらず、変形指標に違いは無いことが分かった。

# 赤血球サスペンションの微小流路流れにおける血小板模擬粒子の断面内分布

瀧ノ内希陸, ○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

生体内微小血管の血液流れにおいて血小板は血管壁近傍に多く分布することが知られている<sup>1)</sup>. この現象は Near-Wall Excess (NWE) と呼ばれ, 止血や損傷を受けた血管壁の修復などの血小板の働きに極めて重要である. これまで生体内外において NWE 現象は調べられてきたが, その詳細なメカニズムは未解明な点が多い. 本研究では, 人工微小流路に赤血球サスペンションを流し, その中に浮遊させた蛍光粒子(血小板模擬粒子)の流路断面における分布を計測した. 特に, 赤血球の体積分率(ヘマトクリット:Hct)を 40% まで増加させた場合について計測を行い, NWE の Hct 依存性について調べた.

## 2. 実験方法

リン酸緩衝生理食塩水にウシ血清アルブミン, デキストラン 40 を添加し, ヒト赤血球(Hct=0 - 40%)と血小板模擬粒子として粒子径  $2.9\mu\text{m}$  のポリスチレン蛍光粒子を浮遊させた. 一辺が  $50\mu\text{m}$  の正方形断面をもつ PDMS 製人工微小流路(長さ  $30\text{mm}$ )に模擬血液をシリッジポンプで一定の流量( $1.0\mu\text{l}/\text{min}$ , 壁剪断速度  $\sim 1000\text{s}^{-1}$ )で流し, 共焦点レーザー走査顕微鏡-高速度カメラシステムにより蛍光観察を行った. 流路底面から様々な高さ( $z$ )で撮影した画像は, 画像処理ソフト Image J で解析することにより, 流路幅方向( $y$ )の粒子分布を得た.  $40$  倍の対物レンズを用いた場合,  $z$  方向の分解能は  $\pm 5.6\mu\text{m}$  である.

図1は, 流路中心軸に対して左右対称化を行った後の粒子分布の一例を示す. 図1に示すように, 流路壁から  $10\mu\text{m}$  以内に存在する粒子の割合を  $R_w$  と定義し, NWE の程度を表す指標とした. 一様分布で  $R_w = 20\%$ ,  $R_w$  の最大値は  $50\%$  である. また, 流路底面から中央まで6断面( $z=4, 8, 12, 16, 20, 24\mu\text{m}$ )で得られた粒子分布から, 上下の対称性も仮定して, 流路断面における2次元粒子分布を求めた(図3).

## 3. 実験結果と考察

流路入り口から  $25\text{mm}$  の断面において, 流路底面から  $z=4, 12, 24\mu\text{m}$  の高さで得られた粒子分布より  $R_w$  の値を評価し, Hct の関数として図2に描いた. Hct=0%では全ての断面において  $R_w \sim 20\%$  となってい

ることから, 赤血球が存在しない場合には粒子はほぼ一様な分布となることが示された. また, いずれの高さにおいても  $R_w$  は右上がりのグラフになっていることから, NWE は Hct の増加と共に顕著になることが分かる.

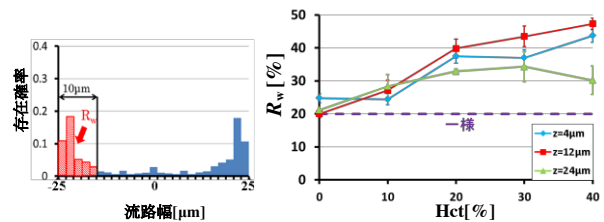


図1 粒子分布(Hct=20%,  $z=4\mu\text{m}$ ) 図2 Hct 依存性

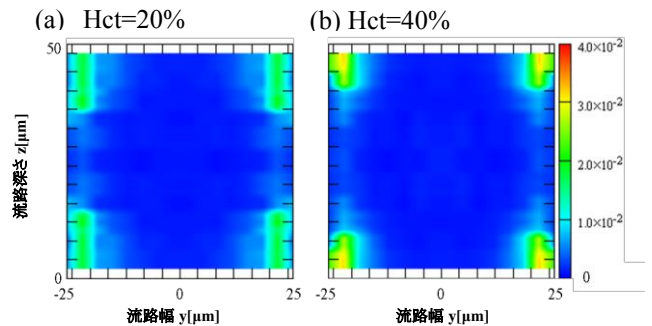


図3 血小板模擬粒子の断面内分布

次に, Hct=20%と40%の場合に流路断面全体にわたる粒子の2次元分布を求めた結果を図3に示した. 図3(a), (b)より, Hctによらず粒子は流路の4隅付近に多く分布することが分かった. また(a)と(b)の比較により, Hct=40%の方が粒子分布のピークはより4隅に近づき, より高くなることが示された.

## 4. 結言

血小板が起こす NWE 現象は赤血球の存在により引き起こされ, Hct が高くなる程血小板模擬粒子はより壁近傍に集中することが確認された. また, 矩形流路において血小板模擬粒子は管壁に沿って一様に分布するのではなく, 4隅に多く分布することが示された.

## 文献

- 1) Tangelder G.J., Teirlinck H.C., Slaaf D.W. and Reneman R.S.: American Journal of Physiology, 248, H313-H323, 1985.

# GFP 標識赤血球ラットを用いた脳微小血管における赤血球分配の時空間変動

○栗原唯花\*, 須貸拓馬\*, 正本和人\*\*

\*電気通信大学 情報理工学研究科[〒182-0021 東京都調布市調布ケ丘 1-5-1]

\*\*電気通信大学 脳科学ライフサポート研究センター[〒182-0021 東京都調布市調布ケ丘 1-5-1]

## 1. 緒言

脳の血流は絶えず変動している. 特に 0.1Hz 以下の低周波の変動は, 脳に内在する神経細胞とグリアの活動に起因すると考えられており, このような脳血流の変動量を評価することで脳の活動状態をモニターすることが可能になると期待されている.

本研究では, 脳の血流の変動を生じる神経細胞やグリア等の活動と細胞近傍の脳微小血管内の血流変動を同時に可視化し, 脳血流の変動と脳活動の揺らぎに関する因果関係を明らかにするための実験系の構築を目的とした. まず, 脳微小血管 1 本ごとの血流の揺らぎを可視化する手法として, 赤血球に緑諸蛍光タンパク質 (green fluorescence protein; GFP) を発現した遺伝子改変ラットを用いた. さらに, 画像解析の手法を用いて 1 本 1 本の脳微小血管および複数の微小血管間における血漿及び赤血球の流れに関する時間空間的な揺らぎについて定量評価するための手法について検討した.

## 2. 方法

本実験に関しては電気通信大学動物実験倫理委員会によって承認されたプロトコルに基いて行った. イソフルラン麻酔下で遺伝子改変ラット (GFP-RBC Wistar Rat, N = 4) の頭皮および頭蓋を切開し, 観察用のカバーガラスを脳表上に固定した. 血漿成分はスルホローダミン 101 (10 mM in saline) によって蛍光標識し, 大脳表面においてカバーガラスを通して脳血管を二光子顕微鏡 (励起波長 910 nm) によって撮像した. 赤血球および血漿からの蛍光は, バンドパスフィルター (525/25 nm, 610/75 nm) を通してそれぞれ同時に撮像した. 撮像条件は, 画像サイズが 128×256 ピクセル (ピクセル解像度 1.0  $\mu\text{m}/\text{pixel}$ ) で, フレームレートは 11.9 ms/frame とした.

撮像画像に対し, 線形判別分析法を用いて各ピクセルの輝度値を血漿もしくは赤血球に分離した. つぎに撮像フレーム間で最大値投影し, 血管領域を定義した. 得られた血管領域内において, 赤血球および血漿のピクセル数をフレーム毎に計数し, 赤血球と血漿の面積比を求め, 50 フレーム毎にこれらの面積比

の時空間変動の大きさを, 変動係数  $C_v$  (標準偏差/平均) を用いて評価した.

また, 赤血球と血漿のピクセルのどちらかを含む領域を血管領域と定義し, 楕円近似法によって血管の径をフレーム毎に算出した. さらに, 血管の長さ方向に 2 つの関心領域を設置し, 両者における赤血球領域の時空間変動に関して相互相関解析を行い, 注目血管内の平均流速を 50 フレーム毎に算出した.

## 3. 結果および考察

まず, 撮像された血管領域内の 1 フレーム毎に赤血球と血漿の面積に関して相関分析をおこなったところ, 毛細血管内において有意な負の相関 ( $R = -0.66$ ) が認められた. このことから, 血管内における赤血球と血漿の分離が正しく行えていることを確認した.

血管径が 15  $\mu\text{m}$  以上の細動脈において  $C_v = 0.2-0.4$  であり, 血管径が 7-15  $\mu\text{m}$  の細動脈および細静脈に比べて小さい傾向がみられた. また, 血管径が 7  $\mu\text{m}$  未満の毛細血管では  $C_v = 0.3-1.9$  と高値を示し, さらに時間的にも大きく変動していることがわかった.

つぎに, 赤血球と血漿の面積比の時間的な変動と血管径の変動との相関分析を行ったところ, いずれも血管径の変化との有意な相関は認められなかった. しかし, 血管の径が 15  $\mu\text{m}$  未満の細動脈では, 赤血球と血漿の面積比が 35-53% と, 血管径が 15  $\mu\text{m}$  以上の細動脈での面積比の変動 11-22% と比べて, 大きく変動していることがわかった. また, 静脈でも同様な結果が得られた. これらの結果は, 血管径が赤血球の大きさに近い微小血管内の赤血球の流入に関する時間的な揺らぎが微小血管の径の変動とは独立に生じていることを示唆する. そこで, 次に赤血球と血漿の面積比と赤血球流速との相関分析を行ったところ, 流速が低い血管ほど, 赤血球の面積比が相対的に高くなる傾向が得られた.

## 4. 結言

提案法によって 1 本の脳微小血管及び複数の微小血管間の赤血球の分配に関する時間空間的な変動を可視化し, 定量評価することが可能であった.

## 骨格筋細動脈血管壁での血流によるずり応力

○柴田 政廣, 神谷 瞭  
芝浦工業大学 生命科学科

### 1. はじめに

細動脈血管壁での血流によるずり応力は、血管内皮細胞での NO 産生等も含め全身の血流血圧調節に強く関与しているが、微小循環の流体力学的特殊性から大血管系と比べ不明な点が多い。大血管系では、血管径はずり応力が一定となるように制御されていると考えられているが、抵抗血管である細動脈においても同様な制御機構が存在するかどうかは明らかではない。本研究では、直径 50-120 $\mu\text{m}$  の異なった血管径を有する細動脈を対象に、安静時(生理的状态)と血管拡張時での血管壁ずり応力を *in vivo* で求め、それらの関連を検討した。

### 2. 方法

実験には麻酔下ラットの骨格筋(挙蹠筋)を用いた。ラット挙蹠筋微小血管網の生体顕微鏡像を図 1 に示す。筋中央部を流れる細動脈を A1 (80<D<120 $\mu\text{m}$ )、A1 からの分岐を A2 (60<D<100 $\mu\text{m}$ )、A2 からの分岐を A3 (D<60 $\mu\text{m}$ ) とし、直線的で分岐のない上・下流 2 点を選び圧較差の測定部位とした。圧測定は、先端を平坦にした 24G のニードル( $\phi 0.55\text{mm}$ )で細動脈を上部から圧迫し、血流停止時の力から求める方法により行った。圧迫力と血管内圧の較正は、挙蹠筋に流入する動脈(A0)の血流停止時の圧迫力(F)と尾動脈で測定した血圧値(BP)とが同等であると仮定して行った。血管壁でのずり応力( $\tau$ )は、細動脈上・下流 2 点間での圧較差( $\Delta P$ )とその距離(L)および血管径(D)から

$$\tau = (\Delta P) (D) / 4 (L)$$

の関係式により求めた。実験は、まず安静時において A1、A2、A3 細動脈での測定を行い、その後パパベリン(0.1mM)局所投与により血管拡張状態に保った上で同じ部位での測定を行なった。

### 3. 結果と検討

ラット 11 匹による測定結果を図 2 に示す。安静時の細動脈血管壁のずり応力は、上流(A1)から下流(A3)へと血管径が減少するに従い有意に低下したが、その大きさは A3 細動脈においても大血管系よりはるかに高く、100dyn/cm<sup>2</sup>以上の値を示した。一方、パパベリン局所投与による血管拡

張時には、ずり応力は全ての細動脈血管で安静時に比べ有意に低下し、血管径に依存せずほぼ同レベルになった。この結果は、大血管系と細動脈の生理機能の違いに起因すると考えられる。エネルギーロスを減らし効率的な血液輸送を目的とする大血管系に対し、安静時の骨格筋細動脈は、筋への血流を制限する抵抗血管として働いているため、ずり応力は大血管系に比べ必然的に大きくなる。一方、血管拡張時(擬似運動時)には、高代謝の骨格筋組織へ最大限の血流を確保するため、全ての細動脈においてずり応力を最小とするような大血管系と同様な適応制御機構が存在するのではないかと考えられる。

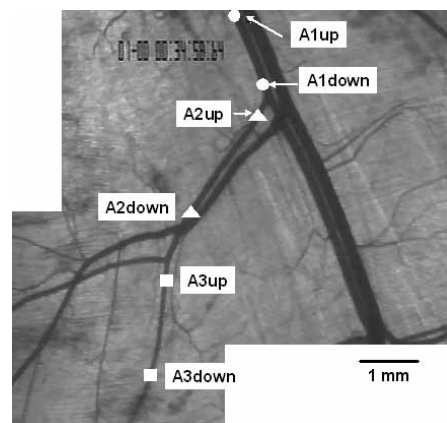


図 1 ラット挙蹠筋の微小循環生体顕微鏡画像  
細動脈の分類(A1-A3)と圧測定部位

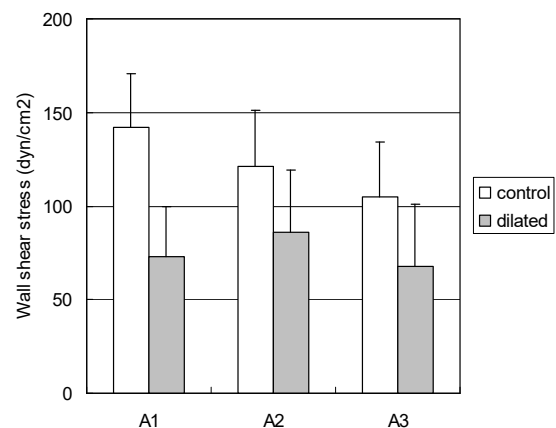


図 2 A1-A3 細動脈でのずり応力測定結果

# 要旨

5月28日(日)

第2会場

OS7

食品およびソフトマターのレオロジー

(1)

# 多糖類分散液のレオロジーが嚥下時の生理反応に与える影響

○中馬誠\*, 池上聡\*, 松山信悟\*, 石原清香\*, 船見孝博\*

\*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]

## 1. 緒言

近年、固形状の食品だけでなく液状食品の製品開発においても食感(テクスチャー)が重視されることが多くなっている。テクスチャーは口腔あるいは咽喉内における物理化学的な刺激に対する感覚特性であり、食品のレオロジーと密接に関連している。食品のテクスチャーやレオロジーがフレーバーや栄養・機能性成分のリリースに与える影響が知られており<sup>1)</sup>、製品開発において、これらが喫食時の生理反応に対して様々な影響を与える可能性を考慮する必要がある。

本研究では、ヒトを被験者にした生理計測によって、増粘多糖類分散液嚥下時における、唾液腺(耳下腺)の活性化とそれに伴う唾液分泌量を計測し、分散液のレオロジーや官能評価との相関を調べた。

## 2. 実験方法

イオン交換水(1 mPa·s at 20°C, 50 s<sup>-1</sup>)に、0%, 0.07%, 0.14%のクエン酸を添加し、これらにキサンタンガム(XG)もしくはローカストビーンガム(LBG)を分散させ 20°Cにおける 50 s<sup>-1</sup>の定常流粘度が 100, 350 mPa·s になるように調整した分散液(試験分散液)の動的粘弾性等レオロジー特性をフルイドレオメーター ARES-LS1 (TA インストルメント)で測定した。また、上記の試験分散液を 3 名の被験者(全て男性, 平均年齢 33.0±10.4 歳)に嚥下させたときの耳下腺部の酸素化ヘモグロビン(Hb)信号強度(≒血流量)の変化を顔側面部近赤外光計測装置 WOT-S20 (日立ハイテクノロジーズ)で計測した<sup>2)</sup>。さらに、上記と同一の被験者の試験分散液嚥下後 2 分間の唾液分泌量を測定するとともに、各被験者に Visual analog scale (VAS)法<sup>3)</sup>でまとまり感, 付着感などの食感や酸味の感覚強度を官能評価させた。得られたパラメータ同士の相関を調べ、試験分散液のレオロジーが嚥下時の食感, 味覚や生理反応に及ぼす影響を解析した。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 分散液は, LBG 分散液に比べて, 特に低周波速度や低周波数領域で, 固体的なレオロジー特性を

示した。試験分散液嚥下直後における耳下腺部の酸化 Hb 信号強度は, クエン酸濃度に従って増加し, この増加がみられる時間も延長した。試験分散液嚥下後 2 分間の唾液量も, 酸化 Hb 信号強度と同様の傾向を示した。0.07%のクエン酸が添加された試験分散液同士を比較すると, 低粘度のものほど酸化 Hb 信号強度が増加した。一方, クエン酸無添加の試料分散液では, 全ての粘度において同程度の血流量を示した。酸味の感覚強度は, 試料分散液粘度が高いものほど低下したが, この傾向は, XG 分散液の方がより顕著だった。

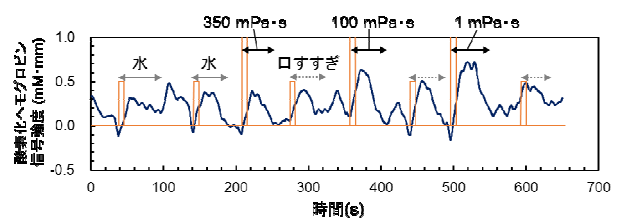


図 XG 分散液(0.07%クエン酸含有)嚥下時の酸化 Hb 信号強度

## 4. 考察

多糖類によってクエン酸の酸味がマスキングされた試験分散液は, 多糖類なしのものより耳下腺部の血流量変化が小さく, クエン酸による唾液腺の活性は, クエン酸量ではなく酸味の感覚強度に支配されていることが示唆された。

## 5. 結言

以上の結果から, 飲食品のレオロジーがヒトの味覚強度を変化させることにより, 嚥下時の生理反応に影響を与える可能性があることが示された。

## 文献

- 1) Baines, Z. V. and Morris, E. R. :Flavour/taste perception in thick of guar gum and below c. Food Hydrocolloids, 1, pp. 197-205, 1987.
- 2) Sato, H. et al. :Application of near-infrared spectroscopy to measurement of hemodynamic signals accompanying stimulated saliva secretion, Journal of Biomedical Optics, 16 (4) , 047002 , 2011.
- 3) Wewers, M. E. and Lowe, N. K.: A Critical Review of Visual Analogue Scales in the Measurement of Clinical Phenomena, Research in Nursing & Health, 13: pp. 227-236, 1990.

## 擬似咽頭通過に基づく食感評価システムに関する基礎研究

○三輪昌徳\*, 柴田暁秀\*, 東森充\*, 池上聡\*\*, 中馬誠\*\*

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

\*\*三栄源エフ・エフ・アイ株式会社

### 1. 緒言

高齢者が安全に咀嚼し、嚥下することのできる介護用ペースト状食品(以下、ペースト食と呼ぶ)が開発されている。ヒトが食感を評価するフェーズとして、口腔期(舌触り)と咽頭期(喉越し)がある。現状では、口腔期にヒトが感知する食感の評価手法<sup>1)</sup>が提案されている一方で、咽頭期にヒトが感知する食感の評価手法は確立されていない。本研究では、ペースト食の咽頭通過挙動を擬似的に再現した実験システムを構築し、ペースト食の咽頭期食感を評価する手法を提案する。

### 2. 実験システム

図1(a)は、ヒトがペースト食を嚥下する様子を示している。この際の咽頭通過挙動を、シリンジとシリコン製人工咽頭を用いて擬似的に再現する。図1(b)は、実験システムの概観であり、図1(c)は、図1(b)の人工咽頭周辺部分の拡大模式図である。人工咽頭は直方体であり、中央に円筒状の流路を有する。この流路の上端に、ペースト食を流入させるためのシリンジが装着されている。人工咽頭の4つの側面は剛体板で拘束されている。ただし、1つの面において、剛体板と人工咽頭の間には触覚器に相当する圧力分布センサ(ニッタ株式会社製)が装着されている。リニアスライダにより、一定速度でシリンジのプランジャーを押し、ペースト食を人工咽頭に送り込むと、ペースト食の挙動に応じた圧力分布値を測定することができる。

### 3. 実験

ペースト食を評価するための食感として「まとまり感」、「べたつき感」が重要であるとされている。「まとまり感」とは、ペースト食を嚥下する際、咀嚼により形成された食塊の崩れにくさの印象度合である。また、「べたつき感」とは、ペースト食嚥下中の咽頭でのべたつく印象度合である。8人の試験員が、市販品5種A～Eのペースト食に対し「まとまり感」、「べたつき感」の官能評価を行い、その評価値の平均値を教師データとして採用する。ペースト食A～Eに対して、擬似咽頭通過システムにおける圧力分布の時系列データを取得する。各ペースト食の圧力分布データ $P(x,y,t)$ に対して、 $x,y,t$ について平均を取った圧力値 $\bar{P}_{x,y,t}$ と、「ま

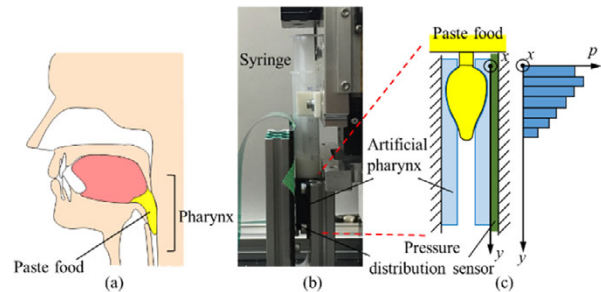


Fig. 1 Outline of artificial pharyngeal stage.

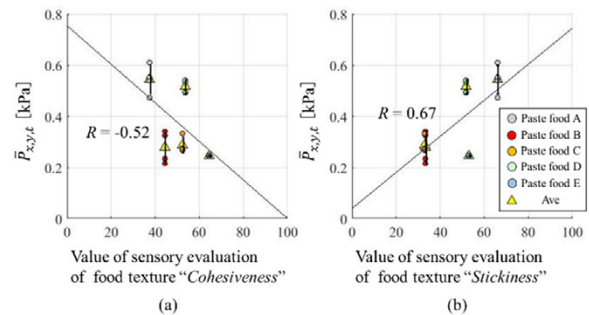


Fig. 2 Results of food texture evaluation.

とまり感」および「べたつき感」の官能評価値との関係を調べたところ、「まとまり感」については弱い負の相関( $R=-0.52$ )が確認でき(図2(a))、「べたつき感」については正の相関( $R=0.67$ )が確認できた(図2(b))。以上の結果は、提案システムによってペースト食の咽頭期食感を評価できる可能性を示唆している。

### 4. 結言

本研究では、擬似的にペースト食の咽頭通過挙動を再現する実験システムを構築した。複数種類のペースト食による比較実験を行い、咽頭期食感を評価できる可能性があることを示唆した。今後は、食感評価に向け、実験システム、実験条件、および圧力分布解析手法を改良していく予定である。

### 文献

- 1) S. Kumakura, A. Shibata, and M. Higashimori: Texture Evaluation System of Paste Food by Using Elastic Imitation Tongue, Proc. of the 2016 IEEE Int. Conf. on Systems, Man, and Cybernetics, 2016, pp. 4781-4786.

# ヒト胃消化シミュレーターを利用した力学特性が異なる ハイドロゲル粒子の微細化挙動の観測

王 在天<sup>\*,\*\*</sup>, 神津 博幸<sup>\*,\*\*\*</sup>, 磯田 博子<sup>\*,\*\*\*</sup>, 植村 邦彦<sup>\*</sup>, ○小林 功<sup>\*</sup>, 市川 創作<sup>\*,\*\*</sup>

<sup>\*</sup>農研機構 食品研究部門[〒305-8642 茨城県つくば市観音台 2-1-12]

<sup>\*\*</sup>筑波大学 生命環境系, <sup>\*\*\*</sup>筑波大学 北アフリカ研究センター

## 1. 緒言

近年、消化性が制御された食品の開発に対する需要が高まっており、消化プロセスの基礎解析が求められている。ヒトの胃では、胃液による化学的消化と、胃壁でのぜん動運動による物理的消化が同時に進行している。しかし、試験管等を用いた *in vitro* 消化試験では、ぜん動運動の考慮が難しく、食品粒子の微細化や胃液との混合を解析することは困難である。また、被験者による *in vivo* の消化試験には実験的制約があり、得られる情報は限られる。

本研究グループでは、固形食品の物理的消化を主な対象とし、胃のぜん動運動を模擬した *in vitro* 消化試験装置であるヒト胃消化シミュレーター(GDS, Gastric Digestion Simulator)を開発した<sup>1)</sup>。固形食品の胃内微細化に影響を及ぼす因子の一つに、食品の力学に関する特性(以下、力学特性)がある。最近、異なる力学特性を有するハイドロゲルを用いた *in vitro* 胃消化試験が報告されたが<sup>2)</sup>、ハイドロゲルの力学特性と胃内微細化との相関は明らかになっていない。

本研究では、ハイドロゲルの代表的な力学特性が GDS 内部での微細化におよぼす影響について定量解析することを目的とした。

## 2. 実験方法

濃度の異なる寒天(和光純薬工業(株))とネイティブ型ジェランガム(三栄源エフ・エフ・アイ(株)より提供)を 90 °C に加熱した水に添加し、30 分間高速攪拌してハイドロゾルを調製した後、8 °C で 2 時間冷却させてハイドロゲルを得た。円筒状(直径 16 mm, 高さ 10 mm)に整形したハイドロゲル試料をテクスチャー測定器(TPU-2D, (株)山電)に設置して、ハイドロゲル試料の破断応力と破断歪率を測定した(測定条件: プランジャー直径 16 mm, 降下速度 2.5 mm/s, 変形率 90%)。

調製したハイドロゲル試料 100 g を一辺 5 mm の立方体にカットし、人工唾液 30 mL と 2 分間混合して咀嚼を模擬した<sup>1)</sup>。次に、人工胃液 260 mL (pH 1.3) を上記混合物とともに GDS に投入し、37 °C で最大 180 分間の消化試験(37 °C)を最大 180 分間行った<sup>1)</sup>。胃

のぜん動運動については、成人の文献値(進行速度 2.5 mm/s, 発生周期 40 秒)を参考にして設定した<sup>1)</sup>。消化試験終了後、内容物を目開き 3.35, 2.36, 1.18, および 0.60 mm の篩を用いて分級し、各画分の湿潤重量を測定した。

## 3. 実験結果

調製したハイドロゲル試料の力学特性を測定した結果、各ゲル化剤の濃度を制御することで、破断応力を 20~60 kPa 程度に維持したまま、破断歪率が異なるハイドロゲル試料を調製できることがわかった。

GDS を用いた *in vitro* 消化試験を行ったところ、ハイドロゲル粒子が経時的に微細化される様子が観察された。胃幽門から排出され得るサイズである約 2 mm 以下に微細化されたハイドロゲル粒子の重量は、消化試験時間とともに増加した。ハイドロゲル粒子の微細化度は、破断歪率が 30%~40% の間で大幅に低下した。破断歪率が 40% 以上の場合では、ハイドロゲル粒子の微細化度は、破断歪率の増大につれて緩やかに低下した。破断応力に影響に関しては、破断歪率が 30% の場合に部分的な差異が認められたが、破断歪率が 40% 以上の場合では差異が認められなかった。

GDS を用いて得られた結果より、ハイドロコロイドの力学特性がハイドロゲル粒子の胃内微細化に与える影響の解析に有用な知見が得られた。

## 謝辞

本研究の一部は、JSPS 科研費 16K16260, (財)日本食品化学研究振興財団, および文部科学省・科学技術振興機構「センター・オブ・イノベーション(COI)プログラム」の助成を受けて実施した。

## 文献

- 1) Kozu, H. et al.: Development of a Human Gastric Digestion Simulator Equipped with Peristalsis Function for the Direct Observation and Analysis of the Food Digestion Process. Food Sci. Technol. Res., 20, 225-233, 2014.
- 2) Guo, Q. et al., Behaviour of whey protein emulsion gel during oral and gastric digestion: effect of droplet size. Soft Matt., 10, 4173-4183, 2014.

## モノの「やわらかさ」を測る押込試験システムの食品への適用

○佐久間淳\*

\*京都工芸繊維大学 繊維学系 [〒606-8585 京都市左京区松ヶ崎御所海道町]

## 1. 緒言

生体の軟組織などの柔らかいモノは、身近に数多く存在しますが、その特性から必然的に大きくなる変形の理論的な解析や数値シミュレーションによる評価が意外に難しい課題でした。これは、力が加って生じた大きな変形の挙動を高精度に測って数値で表すことが困難であったのが主な要因です。この結果、柔らかいモノの変形挙動を客観的・数値的に表す指標については、専門分野や業界ごとに異なった指標が考案される状況を生み出され、食品分野でも評価したデータが他のモノと相互比較が難しい課題がありました。

そこで本報では、柔らかいモノの変形特性について、物理的な指標を用いて簡単に計測できる方法を示します。これは、医師の触診テクニックを解決のヒントとして、ヒトの指で触れた感覚を弾性係数(ヤング率)など物理学的な指標で表現する方法で、その高い客観性から、医療分野ばかりか食品の評価、材料開発、スポーツ科学など様々な分野で利用できます。

## 2. モノの柔さの押込試験法による定量化

軽く触れるだけで大きく変形する柔いモノは、モノの変形特性を測る標準的な方法である引張試験適用の難度が極めて高く、その変形の客観的な定量化も難しい課題でした。そこで谷らは、Hertzの弾性接触理論を拡張して、柔らかく薄いモノでも高い精度を保って弾性を定量化できる押込試験の評価法を提案しました。まず Hertz の弾性接触理論では、Young 率  $E$  のモノに球圧子を押し込むと、図 1 に示すように Hooke 則と等価な  $\delta$  の  $3/2$  乗の曲線について解析できます。しかし Hertz の弾性接触理論では、押し込まれるモノが半無限体である必要があって、薄い場合では誤差が大きくなることが知られていました。

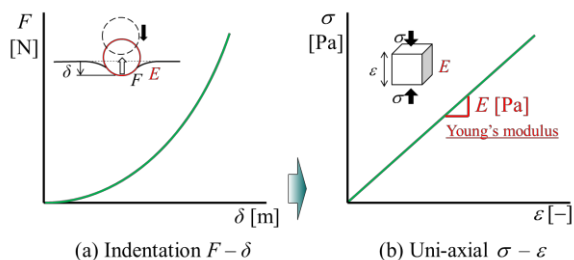


Fig. 1. Evaluation of elastic specimen and its translation to uni-axial relationship.

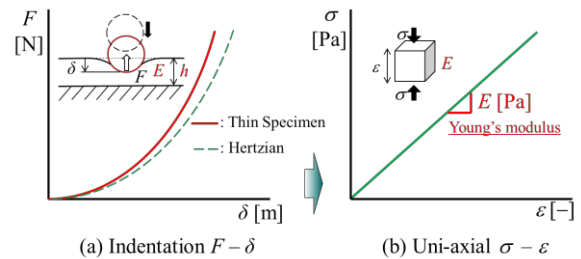


Fig. 2. Evaluation of thin specimen and its translation to uni-axial relationship.

そこで谷らは、高度な診断技術である触診を分析した結果から、Hertzの弾性接触理論を拡張して図2のように薄いモノでもYoung率  $E$  の評価が出来る方法を提案しました。

さらなる理論式の拡張によっては、図3に示すように、モノの粘性についても評価できる方法が提案されています。

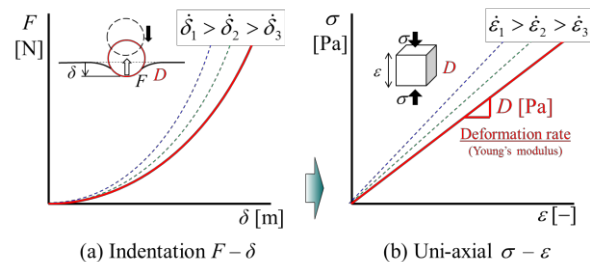


Fig. 3. Simplified model of viscoelasticity by using deformation rate  $D$ .

## 3. 結言

その変形特性が特に複雑で多岐に渡る食品にとって、その製品の品質を高めるためには、さまざまに「やわらかさ」を分析して研究開発、生産、管理する技術の確立が求められます。本報の内容については、更に研究が進んでいますが、その成果が食品のやわらかさの分析技術に活かされるものと考えられます。

## 文献

- 1) 谷他: 球圧子の押し込み試験による軟材料の厚さとYoung率の計測, 日本機械学会論文集, 75A(755), 901-908, 2009.
- 2) H. Hertz: Über die Berührung fester elastischer Körper, Journal für die reine und angewandte, Mathematik, 92, 156-171, 1881.

# キサンタンガム系とろみ調整食品の客観的評価と主観的評価

高橋智子

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

## 1. 緒言

現在、病院や介護施設では、キサンタンガム系のとろみ調整食品が多く用いられているが、とろみ調整を行ってから、喫食に至るまで一定時間がかかるのが現状である。本研究ではとろみ調整後の液状食品について、力学的特性の経時変化を検討した。9種類の液状食品にとろみ調整食品を添加し、テクスチャー特性、コーンプレート型回転粘度計により力学的特性の測定を行った。加えて官能評価を行い、力学的特性との関係を検討した。

## 2. 実験方法

液状食品は、イオン交換水、緑茶飲料、イオン飲料2種類、1%食塩水、牛乳、濃厚流動食2種類、オレンジジュースとし、外割で1.5g/100mlになるように、キサンタンガム系市販とろみ調整食品を添加したものを試料とした。試料の力学的特性の経時変化を、テクスチャー特性(硬さ、付着性、凝集性)、コーンプレート型回転粘度計(すり速度50s<sup>-1</sup>粘度)により検討した。また、水添加試料、オレンジジュース添加試料、牛乳添加試料、濃厚流動食添加試料の調整後60分間経過したものを試料として、非経口評価、経口評価による官能評価を行った。

とろみの目安の表示例

とろみの強さ	++++	++++	++++	++++
とろみのイメージ	フレンチドレッシング状	とんかつソース状	ケチャップ状	マヨネーズ状
イメージ図				
使用時の目安	←-----→ ←-----→ ←-----→ ←-----→			

表1 とろみの強さの評価方法(非経口評価)

テクスチャー特性の測定結果より、たんぱく質、脂質を多く含むO/Wエマルジョンである牛乳添加試料の硬さは経時的に大きく変化しないが、付着性は大きく変化することが示された。一方、イオン交換水と緑茶飲料のテクスチャー特性の経時変化は、硬さは大きく変化するが、付着性の変化は小さいものとなった。pHが低いオレンジジュース、イオン飲料のテクスチャー特性の経時変化は、小さいものとなった。粘度測定の結果より、オレンジジュース、イオン飲料添加試料の粘度の経時変化は大きく、一方、イオン交換水と緑茶飲料の粘度の経時変化は小さいものとなり、テクスチャー特性の測定結果とは異なる傾向が見られた。

そこで、測定方法(変形方法)により力学的特性の経時変化の傾向が異なるイオン交換水添加試料、オレンジジュース添加試料、牛乳添加試料、濃厚流動食添加試料について、非経口評価としてとろみの強さ(表1)、経口評価として口中のべたつき感、飲み込みやすさの官能評価を行った。その結果、とろみの強さの評価は粘度よりもテクスチャー特性の硬さと、また、口中のべたつき感は付着性よりも50s<sup>-1</sup>における粘度と高い相関関係が得られた(図1)。

## 5. 結論

とろみ調整食品を添加した液状食品の力学的特性と、とろみの性状の関係の検討には、テクスチャー特性や粘度測定等、変形様式の異なる測定方法を組み合わせた測定が有効であると考えられる。

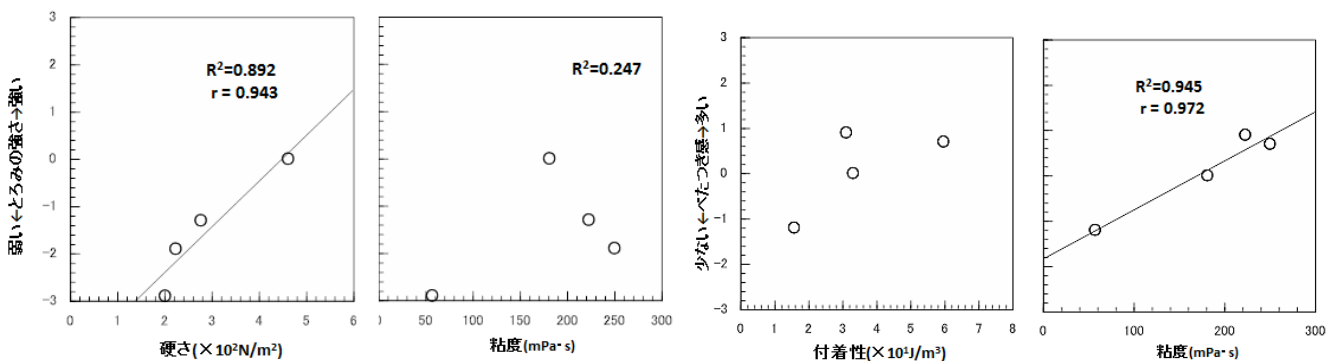


図1 力学的特性と官能評価の関係

## 要旨

5月28日(日)

第2会場

OS7

食品およびソフトマターのレオロジー

(2)

## HMHEC/Cycloamylose 混合系における cycloamylose の重合度 61 と 62 の違い

○武政誠\*, 北村進一\*\*

\*東京電機大学理工学部生命理工学系[〒350-0394 埼玉県比企郡鳩山町石坂]

\*\*大阪府立大学生命環境科学研究科分子情報化学領域

## 1. 緒言

バイオレオロジーにおいて高分子の特性とそれらの相互作用は構成成分として根幹である。高分子は天然物および合成のいずれにおいても、一般に分子量は単一化されておらず、多分散である。分子量が異なる高分子試料は、粘度などレオロジー特性が大きく異なる事が知られているが、重合度(DP)が1だけ異なる高分子の物性はほとんど知られていない。

これは、そのような試料精製が著しく困難である事に起因すると思われる。また高分子においては DP1 の違いは全体の重合度(例えば DP100)に対する比率(〜1/100)程度しか物性が変わらない、と考えられており、重要視されていない事も一つの要因であると考えられる。低分子においては、DP1 の重要性は相対的に高く、試料の作成も容易である事からもその物性の違いは広く研究されている。例えば、シクロデキストリン DP6, 7, および 8 の包摂化合物形成能の違いは広く知られている。一方で DP100 と DP99 はほぼ同じ性質である、と実際に調べることなく、「信じられている」と言っても過言ではないだろう。

分子量 1 万を超える高分子領域においても、DP1 が系のレオロジー特性を大きく変える現象を、HMHEC/cycloamylose 混合系において発見したので報告する。

## 2. 実験方法

水溶性のセルロース誘導体 HEC(Hydroxy-Ethyl Cellulose)の hydroxyethyl 基に、疎水性の側鎖を伸ばした構造を持つ、HMHEC(hydrophobically modified HEC)は、その側鎖が amylose や cyclodextrin などと包摂化合物を形成する事が知られており、レオロジー特性などについても研究されている。

大環状シクロデキストリン(cycloamylose, CA)は、シクロデキストリンと同様の構造、つまり $\alpha(1,4)$ 結合の D-glucose が環状に閉じた構造を持ち、より高重合度の試料の一般的な呼称である。広く市販されている DP6~8 に対して、DP100 程度までを含む CA を酵素合成により作成し、逆相 HPLC を用いて DP61, 62 を単離精製した。HMHEC と CA 混合水溶液を調整し、レオロジー測定(動的粘弾性及び定常ずり粘度測定)

を行った。また、等温滴定型カロリメトリーを用いて HMHEC 溶液に CA 水溶液を滴定した際の発熱挙動から結合モデルについて解析した。

## 3. 実験結果

HMHEC 水溶液の定常ずり粘度  $\eta$  は、CD6 を添加すると減少した。一方で、CA26 を添加した際には  $\eta$  は HMHEC 単独の  $\eta$  に対して大きく増加し、shear thickening が見られた。CA61 においても、 $\eta$  は増加したが、動的粘弾性の周波数依存性からは液体的な挙動であった。CA62 の場合では、 $\eta$  は大きく増加し、また  $G^*(\omega)$ は(弱い)ゲルの挙動を示した。つまり、CA61 ではゾルにも関わらず、CA62 では弱いゲルを形成した。CA62 の分子量は 10053 と、高分子の分子量領域であり、また CA61 と比較して全く異なる挙動が系全体で現れたと言える。

## 4. 考察

HMHEC は弱会合性高分子であり、水溶液中では疎水性側鎖間の会合により、分子量や剛直性から予測される  $\eta$  と比較して、大きめの  $\eta$  が現れる事が知られている。CD6 は、この側鎖と包摂化合物を形成するため、HMHEC の側鎖間の会合が阻害され、その結果  $\eta$  が減少すると考えられる。CA26 や 62 が、それぞれ CA25, 61 と比較して大きく異なるのは、 $DP=12n+2$  ( $n$  は整数)においてヘリックス構造が安定化するためであると考えられた。

## 5. 結言

高分子領域(例えば  $M_w > 1.0 \times 10^4$ )において、重合度 1 の違いが見られた。ポリペプチド鎖や核酸のように特定の配列が立体構造を支配し、その結果ごくわずかな配列や、さらには分子量の違いが全体の構造や機能を支配する事が既知であるが、高分子分野一般において、特に繰り返し構造が単一種しかないホモポリマーにおいても見られた点の特筆すべきであると言える。環状高分子に限らず他の系においても、同様に高分子領域において、極僅かな分子量の違いや、分子量分布の差が生み出す事例についても当日発表する予定である。

## 光を駆動力とする自律スイングゲルの調製

中村 駿介, ○成田 貴行, 大石 祐司

佐賀大学大学院 循環物質化学専攻[〒840-8502 佐賀市本庄町 1]

### 1. 緒言

心筋細胞のように自律して拍動する材料は電池の必要のない人工心臓やペースメーカーの材料、自ら液体を輸送するホースなどに期待できるため興味深い。当研究室では定常光により体積を振動させる光駆動型自律振動材料を創造するために温度応答性のゲルに顔料をコンポジットした光-熱変換型の光応答性ゲル<sup>1)</sup>を用いることを検討している。バイメタルからなるサーモスタット機構が位置を自律スイングすることにヒントを得て、転移温度の異なる光応答性ゲルを有する多層ゲルに光照射を行えば、定常光下において自律するシステムを構築できると着想した。そこで本研究では、転移温度の異なる光応答性ゲルからなる多層体の調製を行い、その受光時の変位挙動を実験及び数値シミュレーションにより検討した。

### 2. 実験方法

1層目にN-isopropyl-acrylamide(NIPAM)、2層目にAcrylamide(AAm)、3層目にNIPAM-AAmを有する3層構造ゲルを調製した。この際、1層目は無色透明、2層目は黒色、3層目は白色に着色した。調製したゲルを(350×5×3)mmの直方体に切り出し、膨潤平衡に達したサンプルを観察試料とした。このゲルの一端を固定し、蒸留水を満たしたセルの上から垂らした。変位の挙動を観察する際には、水循環装置を用いてセル内の温度を10℃、20℃及び30℃に保持した。透明なNIPAMゲル側からゲルの先端に半導体レーザー(532nm)を出力0.7mAで照射し、その時のゲル末端の挙動をCCDカメラを用いて撮影し、画像解析ソフトを用いて解析することにより変位を評価した。

### 3. 実験結果および考察

結果及び考察 一定出力のレーザーの受光に伴い、ゲルの末端部分の位置はスイングを繰り返した(Fig.1.)。その平均周期 $T$ は10℃、20℃及び30℃において、 $T_{10^\circ\text{C}}=400$  s/回、 $T_{20^\circ\text{C}}=480$  s/回、 $T_{30^\circ\text{C}}=540$  s/回。また、平均振幅 $A$ はそれぞれの温度で $A_{10^\circ\text{C}}=138$   $\mu\text{m}$ 、 $A_{20^\circ\text{C}}=145$   $\mu\text{m}$ 、 $A_{30^\circ\text{C}}=174$   $\mu\text{m}$ であり、環境温度と周期及び振幅は比例関係にあることが分かった(Fig.2.)。このゲルシステムでは、1層目の

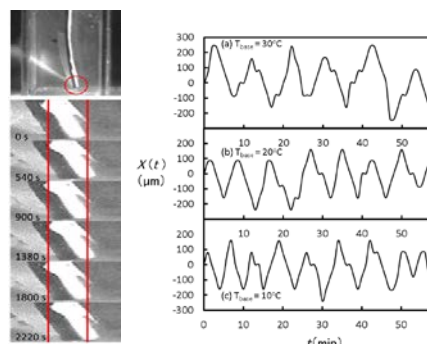


Fig.1

Fig.2

Fig.1. Swing behavior of the gel head at 30°C

Fig.2. Time course of swing head positions  $X(t)$  observed experimentally on ambient temperatures (a) 30, (b)

N-isopropyl-acrylamide(NIPAM)ゲルが約33℃、3層目のNIPAM-AAmゲルが約45℃で収縮し、1層目に比べて3層目の収縮力が大きくなるように設計している。この自律的スイング現象をより深く知る為に、この転移点の違いと収縮力の異なりを踏まえた現象モデル(連立微分方程式)を構築し、数値的に解いたところ、ゲル末端がレーザーを受光し始める場所と受光しなくなる場所が異なる条件を入れることでスイングが表れることが明らかになった。このことは、感受温度の異なるゲルを張り合わせることで一種のヒステリシスが生じ永続的な周期運動が生じたことを示唆している。

一方で、系内の環境温度が低いと受光により温められたゲルの温度との温度差が大きくなり、放熱による降温が速やかに起こる。このため、振動の周期が短くなったと考えられる。この結果は数値シミュレーションの結果を良く表した。

### 4. 結言

感受温度の異なる温度応答性ゲルを積層することで定常光で自律的にスイングするシステムを構築できることを実験及び数値シミュレーションから明らかにした。

### 文献

- 1) Suzuki, A. and Tanaka, T.: Phase transition in polymer gels induced by visible light. *Nature*, 346, 345-347, 1990.

# アガロースゲルの流体摩擦

上瀧守, ○鴫田昌之

九州大学大学院理学研究院物理学部門[〒819-0395 福岡市西区元岡 744]

## 1. 緒言

アガロースは海藻由来の天然高分子であり、医薬や食品に多用されている。アガロース水溶液が温度の昇降に伴いゾル・ゲル転移をすることは古くから知られており、これまでに数多くの研究がなされている。通常、室温まで冷却されたアガロースゲルは強く白濁する。これに類似したゲルの白濁現象は様々なゲルで観測されており、その一部については、その網目構造も明らかにされている。しかしながら、アガロースゲルでは白濁化の要因、白濁ゲルの構造については殆ど明らかにされていない<sup>1)</sup>。本研究では、これらの点を明らかにする目的で研究を行ったので報告する。

## 2. 実験方法

最初に、ゲルを調製する条件を決定するため、アガロース水溶液系の相図を決定した。濃度の異なるアガロース水溶液を恒温槽にておよそ 60°Cから室温まで冷却し、ゲル化温度と曇点を決定した。この相図をもとに溶液状態から 30.0 ならびに 38.0°Cへ急冷して試料ゲルを調製することとした。光散乱並びにフリクション測定用のゲルを同一の条件で調製し、各々の測定に充てた。小角光散乱、フリクションの測定には自作の装置を用いた<sup>2)3)</sup>。

## 3. 実験結果

図 1 にゲルの摩擦係数の濃度依存性を示した。この図から、アガロースゲルの摩擦係数はアガロース濃度のおよそ 1.5 乗に比例して増加する。少なくともこの

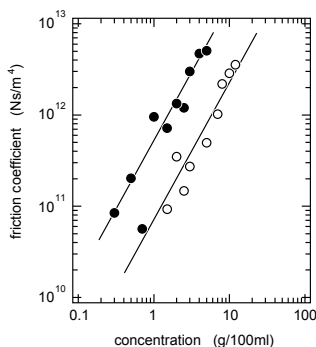


図1 アガロースゲルの摩擦係数

結果からは、従来得られた測定結果と同一の濃度依存性を示しているように見える。

図 2 にはアガロースゲルからの小角光散乱の散乱パターンを示した。

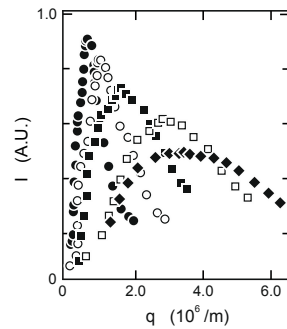


図 2 ゲルからの光散乱パターン。ゲルの濃度は 1.0 (●), 2.0 (○), 3.0 (■), 5.0 (□), 7.0wt% (◆)である。

急冷温度は 38.0°Cである。図から、アガロースゲルからの光散乱パターンは明らかな極大を示すことがわかる。このような特徴的な散乱パタ

ーンは、相分離、特に尖点分解により相分離が進行している系に特徴的なものであることが知られている。

## 4. 考察

図 1 に示した結果から、アガロースゲルの摩擦係数は、均一なポリアクリルアミドゲルのものと比較すると、およそ2桁小さいものであることがわかる<sup>4)</sup>。すなわち、流体はアガロースゲルの内部を容易に流れることを示している。光散乱の結果を考慮すると、アガロースゲルの小さな流体摩擦は相分離構造によるものと考えられる。講演ではゲルの構造について詳細に考察し、ゲルの流体摩擦との関係を明らかにする。

## 文献

- 1) Morita, T., et al., Phase behaviors of agarose gel. AIP Advances, 3, 042128/1-13, 2013.
- 2) Doi, Y. and Tokita, M., Friction coefficient and structural transition in a poly(acrylamide) gel. Langmuir, 21, 9420-9425, 2005.
- 3) Dobashi, T., et al., Light scattering of a single microcapsule with a hydrogel membrane. Langmuir, 14, 745-749, 1998.
- 4) Tokita, M. and Tanaka, T., Friction coefficient of polymer network of gels. J. Chem. Phys., 95, 4613-4619, 1991.

# Microrheology of kappa, iota, and mixed kappa/iota carrageenan gels by multiple particle tracking and optical tweezers

○Lester Geonzon,<sup>1</sup> Faith Descallar,<sup>1</sup> Stephen Flores,<sup>2</sup> Rommel Bacabac,<sup>2</sup> and Shingo Matsukawa<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Department of Food Science and Technology, Tokyo University of Marine Science and Technology, 4-5-7 Konan, Minato, Tokyo, 108-8477, Japan  
<sup>2</sup>Medical Biophysics Group, Department of Physics, University of San Carlos, Cebu City, Philippines

## 1. Introduction

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]. Here, the gelation mechanism of  $\kappa$ ,  $\iota$  and mixed  $\kappa$ : $\iota$  CR isoforms was investigated using multiple particle tracking utilizing video microscopy and active microrheology using optical tweezers (OT).

## 2. Experimental Method

Sodium-type Kappa (KC) and Iota (IC) Carrageenan powders were kindly supplied by MRC Polysaccharide Co. (Tokyo, Japan). Carrageenan were diluted with deionized water added with 10mM KCl with further stirring and heating at 90°C for 30mins. 1 $\mu$ m and 0.3 $\mu$ m fluorescent microspheres were further added at 90°C to a final concentration of 2%. Carrageenan solutions were mixed at 90°C for 30mins for the mixed systems with a 1:1 KC/IC ratio.

Using video microscopy, 15-20 particles were tracked and images were captured using a 1.3 M CCD at 30 frames s<sup>-1</sup> viewed using 100x/1.30 Nikon oil-type objective. Center of mass of each particle was tracked and the mean square displacement (MSD) was calculated by Mathematica (Wolfram) program. Fitting were carried out at lag time  $\tau=1-10$ s to give diffusion coefficient  $D$  and exponent  $n$  for each temperature.

To implement active microrheology, a single particle is trapped by optical tweezers (OT) on a stepping motor driven pair of mirrors. The particle at position  $\mathbf{r} = (x,y)$  feels a restoring exerted by the optical trap position  $\mathbf{r}_0 = (x_0,y_0)$  that is  $\mathbf{F}_0 = -k(\mathbf{r}-\mathbf{r}_0)$ . We followed two protocol sketched in Fig.1 a and b. In Fig.1a, trapped particle was moved in  $(x,y)$  directions. In Fig.1b (i) the trap is kept fixed at position  $\mathbf{r}_0$  during time  $t_0 \leq t \leq t_1$ . Here the particle is in thermal equilibrium with surrounding fluid thus, enable us to calculate the trap stiffness  $k$  of the optical trap from the thermal fluctuations  $(x,y)$ . Then (ii), at time  $t = t_1$ , optical trap starts to move at constant velocity  $v$ . At trap position  $x_0 = X_0$ , trap movement is reversed to position  $x_0 = -X_0$  following a sequence of back and forth movements.

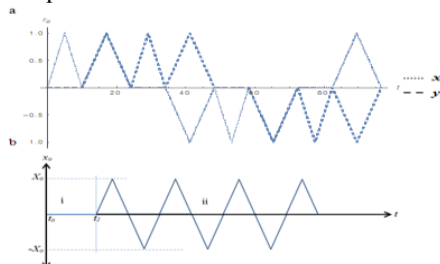


Figure 1. Experimental protocol to implement active microrheology.

## 3. Results and Discussion

From passive particle tracking experiment, IC and mixed KC/IC shows a wider variance in the decreasing diffusivity as gelation proceeds. 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. 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. It is also found that the diffusivity for all gels decreases with decreasing temperature.

Figure 2 shows the differences in probe displacement with the movement of the optical trap. At high temperature, movement of the probe clearly follows the optical trap in KC, IC and mixed KC/IC. At gelling temperature, probe displacement varies with different locations especially in the mixed KC/IC @ 25°C. This can be related to the different micro rheological properties which is due to the gelation of IC (at 30°C) ahead of KC (at 20°C).

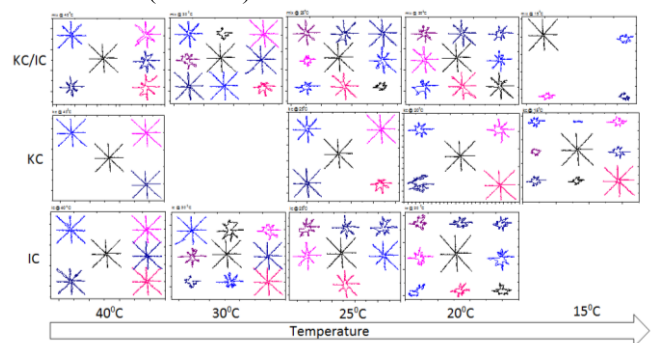


Figure 2. Temperature dependence of probe displacement by OT

## 4. Conclusion

We observed probe diffusion behavior and observed differences between different carrageenan isoforms, which can be associated to differences in the gelling mechanisms. It is hypothesized that with decreasing temperature, particle diffusion is inhibited due to the corresponding polymer network stiffening.

### Acknowledgement

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

### References

- 1.) L. Du, T. Brenner, J. Xie, S. Matsukawa.: A study on phase separation behavior in kappa/iota carrageenan mixtures by micro DSC, rheological measurements and simulating water., *Food Hydrocolloids*, **55**, 81, 2016.

# Aging effect on network structure in agarose gel studied by NMR and electrophoresis

○ Faith Bernadette Descallar, Koki Tani, and Shingo Matsukawa

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

## 1. Introduction

Agarose is a linear and sulfate-free polysaccharide extracted from red seaweeds. At high temperature, agarose chains appear to be in random coil conformation and reaching gelling temperature; coils reorder to form helices and subsequently aggregate to form a gel network. Thick bundles of aggregates form in the network of this polysaccharide thereby forming rigid and turbid gels. The formation of thick bundles leads to the thinning of polymer chains among the bundles as a result of which the local viscosity is reduced, which in turn markedly affects the molecular diffusion in gels<sup>[1]</sup>. Agarose gels also show considerable degree of hysteresis between its melting and setting temperatures.

Agarose gels are widely used in food and separation technologies due to its gelling properties however much less attention is focused on the aging of this hydrogel. Hence, this research aims to study the change of the network structure of agarose in different storage time conditions using NMR and electrophoresis studies.

## 2. Materials and Methods

1% Agarose gels were prepared using a purified, low EEO type agarose (A2929, Sigma-Aldrich) dispersed in D<sub>2</sub>O and stirred at high temperature. 0.1% of PAMAM dendrimer containing COONa terminal group was added as a probe molecule in the gel. NaN<sub>3</sub> (Sigma Aldrich) was also added to solutions to prevent bacterial growth. Agarose gels stored for electrophoresis experiments are prepared in same manner but with H<sub>2</sub>O and without the addition of dendrimer. Electrophoresis of 20bp DNA ladder (Dye Plus) was done with a running time of 30mins at 194V.

Pulsed-field-gradient stimulated echo (PGSTE) <sup>1</sup>H NMR method was used to determine the aging behavior of agarose solutions using a Bruker Avance II 400WB spectrometer. The decay of the echo signal intensity with increased gradient was used as the molecule's diffusion coefficient relating to the viscosity and the local interspatial environment of the medium. Equation 1 is used to calculate the diffusion coefficient of the dendrimer where I is the intensity; gyromagnetic radius  $\gamma$ , gradient strength g, diffusion coefficient D, gradient pulse length  $\delta$ , and  $\Delta$  as diffusion time.

$$I(g) = I(0)\exp[-\gamma^2 g^2 D \delta^2 (\Delta - \delta/3)] \quad (1)$$

## 3. Results and Discussion

Figure 1 shows the single-component diffusion coefficient of the dendrimer that tends to increase as the number of storage days increases. This suggests that probe molecule diffuses easily in the medium with increasing storage time. This could be related to the aging effect of agarose that the aggregates thicken leaving larger spaces for the dendrimer to diffuse faster.

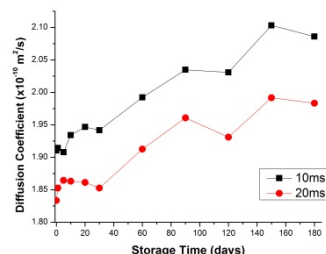


Figure 1. Storage Time dependence of Diffusion coefficient of dendrimer.

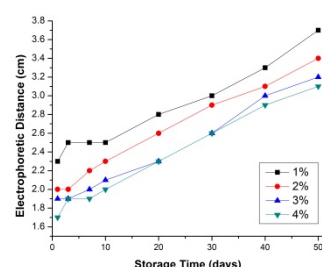


Figure 2. Changes in Electrophoretic distances at different concentrations of agarose with increasing storage time.

The same behavior was observed from the gel electrophoresis experiment using varying concentration of agarose as shown in Figure 2. In all of the concentrations, the electrophoretic distance of the DNA ladder increases as the number storage days also increases. This clearly support that thicker bundles of agarose continue to form in the network as aging process proceeds.

## 5. Conclusion

The diffusion coefficient of dendrimer has been studied using the PGSTE <sup>1</sup>H NMR method. Aging behavior of agarose reflects further aggregation of gel network with increasing storage time. This finding is also consistent with the results of electrophoresis.

## Acknowledgement

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

## References

- 1) Matsukawa Shingo, Daisuke Sagae, Akiko Mogi (2009), Molecular Diffusion in Polysaccharide Gel Systems as Observed by NMR, Colloid Polymer Science, 136, 171-176
- 2) Dai Bona, Matsukawa Shingo (2013), Elucidation of gelation mechanism and molecular interactions of agarose in solution by <sup>1</sup>H NMR, Carbohydrate Research, 365, 38-45

# Dynamic Rheological Properties of Mixed Carrageenan Gels Under Large Strains

○Shingo Matsukawa\*, Stephen Flores\*\*, Faith Bernadette Descallar\*, Rommel Bacabac\*\*

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

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

## 1. Introduction

Kappa and iota carrageenan are two commercially important kinds of carrageenan. Kappa carrageenan produces rigid and brittle gels in the aqueous solutions of potassium salts. Iota carrageenan on the other hand yields soft and elastic gels in aqueous calcium salt solutions [1-2]. Mixtures of two or more polymers can show complex properties that depend on the total polymer concentration, relative proportion of each of the components and the temperature. The rheological properties of carrageenan are one of the major factors for determining the functionality in any applications.

## 2. Materials and Methods

Sample solutions of mixed carrageenan are made by combining kappa and iota solutions (10mM KCl) with a 1:1 ratio at 90°C. Oscillatory shear measurements are performed with a HAKKE MARS II stress-controlled rheometer with a parallel plate geometry (d=35mm). The samples are polymerized by cooling down the sample to 10°C ( $f=1\text{ Hz}$ ,  $\gamma=1\%$ ). This is followed by a 90-min equilibration step to assure that the  $G'$  and  $G''$  have stabilized. Nonlinear rheological measurements are applied using two methods: linearly increasing the strain by varying the strain rate (differential strain) and superimposing a small amplitude oscillatory stress over an applied pre-stress (pre-stress method).

## 3. Results

Standard strain sweep test reveals that the extent of linearity of the sample is only within up to a critical strain of 3%. Beyond this, the network exhibits strain softening. In the nonlinear regime, the binary gel shows the same intermediate properties. At large enough strains, all gels exhibit strain softening in the elastic moduli due to irreversible deformations introduced in the gel networks.

## 4. Discussion

The softening of the elastic moduli and expressed increase in the viscous moduli is a hallmark behavior of soft glassy materials [3]. The gel network behaves as if a colloidal glass based on the dynamic rheological data. Most of, if not all, the systems that follow this theory are either naturally in the form of spherical particles, or theoretically treated like one. The kappa-iota carrageenan binary gel, however, is a gel network formed by individual chains from helical structures and not spherical shells. After removal of the stress, the gels exhibit an expressed increase in the strain. Details of this phenomena will be discussed in the presentation.

## 5. Conclusion

The weak strain overshoot in both the strain sweep and pre-stress imply that, probably, the spaces in between the hydrogel or the long chains formed by the mixture behave like spherical particles, ultimately dominating the response during large deformations.

## Acknowledgement

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

## References

- 1) Hu, B., Du, L., & Matsukawa, S., NMR study on the network structure of a mixed gel of kappa and iota carrageenans. *Carb. Poly.*, 150, 57-64, 2016.
- 2) Picullel, L., Nilsson, S., & Muhrbeck, P., Effects of small amounts of kappa-carrageenan on the rheology of aqueous iota-carrageenan. *Carb. Poly.*, 18, 199-208, 1992.
- 3) Hyun, K., Kim, S. H., Ahn, K. H., & Lee, S. J., Large amplitude oscillatory shear as a way to classify the complex fluids., *J. of Non-Newtonian Fluid Mech.*, 107, 51-65, 2002.



## 要旨

5月28日(日)

第2会場

OS7

食品およびソフトマターのレオロジー

(3)

## ゲル形成能に優れた魚鱗由来ゼラチンの収率改善

○山口紘平\*, Alice Mutie\*\*, 斗石日和\*, 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、日本産海産魚及びケニア共和国ヴィクトリア湖産淡水魚の鱗を、前処理後熱水抽出する<sup>1)</sup>事により、ゲル形成能に優れたゼラチン(HG-ゼラチン)を短時間かつ低コストで調製できる事を報告し<sup>2)</sup>, ゲル形成に關与する主要タンパク質成分が $\alpha_1$ -、 $\beta$ -鎖である事を示した<sup>2,3)</sup>. さらに、熱水抽出法ではゲル形成能が優れたグループのレベルに及ばないティラピア鱗由来ゼラチンのゲル形成能改善法として、熱水抽出操作中に超音波照射を併用する新手法を見出した<sup>3)</sup>. 一方、ナイルパーチ鱗由来ゼラチンの場合、収率が他の魚種の1/3以下と低値であり、改善法が求められた. 本研究は、この収率改善法として、80°C熱水抽出後直ちに23°Cに降温しインキュベーションする手法の有効性を報告する. また、ナイルパーチは他魚種に比べ大型魚体が漁獲され、大きなサイズの鱗を含む特徴がある事から、魚鱗サイズによってゼラチン収率が影響を受ける可能性について検討した.

### 2. 実験方法

水洗したナイルパーチ鱗を既報<sup>1,2)</sup>に従って酸、アルカリ処理後乾燥させた. 2倍量の蒸留水を加え80°C, 0.5hr加熱後、直ちに23°C水槽中で冷却し、60rpmで0.5~24hr震盪して抽出物を得た. タンパク質濃度をBiuret法で求め収率を算出した. 20mg/ml濃度とした溶液を5°C, 24hr冷却して得たゲルの破断強度を測定し、抽出物のタンパク質組成をSDS-PAGE像のデンストメトリーより解析した. 次に、鱗を大小2群(S, L size)に分け、群毎に80°C, 0.5hr抽出を行い収率の差異をみた. また、平均体長(BL)で3群(BL40.3cm, BL54.1cm, BL76.5cm)に分けた魚から採取した鱗について収率の差異を検討した.

### 3. 実験結果と考察

23°Cで0.5~24hr震盪する操作を追加した場合、Fig. 1のように、ゼラチンの収率は保持時間の経過に伴い向上し、保持時間12hrで3.83%まで改善した. この23°C震盪保持操作は、ゼラチンの $\alpha_1$ -、 $\beta$ -鎖含量とゲル形成能には影響を及ぼさなかった. この事から、80°C, 0.5hrの熱水抽出では、ナイルパーチ鱗から熱

加水分解により $\alpha_1$ -、 $\beta$ -鎖が生じるものの、同時内に水中へ溶出し尽くせない事が考えられ、魚鱗構造にこれら成分の水中拡散を妨げる要因が存在する事が窺われた.

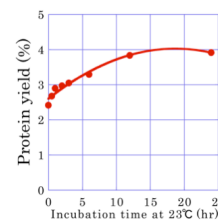


Fig.1 Change of protein yield during 23°C-incubation after the heat-extraction step

鱗サイズの異なる S, L size 群と、体長差で分けた BL40.3cm, BL54.1cm, BL76.5cm 各群の鱗を用いて熱水抽出した際の収率は Fig. 2 とおり、順に、5.36, 1.68, 8.71, 2.95, 1.71%と著しく異なり、原料魚鱗や採鱗魚体のサイズが小さいものほど良好な事が判った.

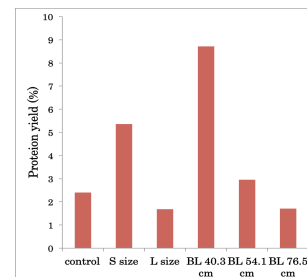


Fig.2 Difference of protein yield depending on the size of material scale or the body length of scale-collected Nile Perch

### 4. 結言

ナイルパーチでは、80°C, 0.5hr熱水抽出後23°C, 12hr保持する操作がHGゼラチンの収率改善法として有効であり、生産コスト低減に寄与すると期待できる. 同魚では、原料魚鱗サイズが小さいか採鱗魚体が小さい場合、収率が良好となる事も判明し、収率に影響を与える複数の要因が明らかになった.

#### 文献

- 1) 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, B&R(電子版), 27(3), 119-123, 2013.
- 2) 山口紘平, Alice M., 志田奈津実, 榎靖幸, 土橋敏明, 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回日本バイオテクノロジー学会年会抄録, 69, 2015.
- 3) 山口紘平, Alice M., 市川寿:超音波照射を併用した魚鱗由来高強度ゼラチン抽出法, 第39回日本バイオテクノロジー学会年会抄録, 66, 2016.

## 野生酵母の製パン特性

○筒井和美\*, 辻村幸紀\*, 榊原朱梨\*, 早瀬和利\*, 佐藤恵美子\*\*, 西成勝好\*\*\*

\*愛知教育大学 教育学部 [〒448-8542 愛知県刈谷市井ヶ谷町広沢 1]

\*\*新潟県立大学 人間生活学部 [〒950-8680 新潟市東区海老ヶ瀬 471]

\*\*\*中国湖北工業大学 [Glyn O. Phillips Hydrocolloid Research Centre, School of Food and Pharmaceutical Engineering, Faculty of Light Industry, Hubei University of Technology, Wuhan, 430068, China]

### 1. 緒言

我われの身近なパン、清酒、醤油などは酵母による発酵過程を経て製造されている<sup>1)</sup>。特にパンは、酵母により生じた炭酸ガスによって生地膨張が保持されている<sup>1)</sup>。酵母は、業務用の乾燥状態のもの、自然界に存在する花卉や果物などから抽出した野生酵母に大別されており、後者の発酵力は弱い、市販ドライイーストにない独特な味や香りを付与できる利点がある。本発表では、第6次産業、地産地消の推進を目的に、これまで廃食材として取り扱われてきた愛知県伝統野菜の一つである碧南鮮紅五寸人参の茎に着目し<sup>2)</sup>、製パン実験を行い、比容積や気泡割合などを調べ、その妥当性について検討した。

### 2. 実験方法

①**野生酵母の抽出と培養**:平成24年12月に愛知県碧南市矢作川下流で収穫された碧南鮮紅五寸人参の乾燥粉末(根・茎)をYPD液体培地に入れ30°C2日間培養後、この液体培地の一部を新たなYPD液体培地に分注し、30°C2日間静置した。さらに、この一部を固体培地(YPD, 寒天(シグマ製), モルトシロップ(富澤商店製))に塗布し30°C2日間培養させた。

②**顕微鏡観察**:実体顕微鏡(オリンパス製CX41, DP26)を用いて、酵母のコロニーを観察した。条件は、接眼レンズ10倍、対物(位相差)レンズ100倍とした。

③**製パン**:市販強力粉(日清製カメリア), 純水, モルトパウダー(ワルツ製), 抽出酵母を業務用ミキサー(キッチンエイド社製KSM5)にて攪拌し中種を作り、28°C4時間静置した。その後、上白糖, 食塩, 無塩バターなどを加えて攪拌し一次発酵した(28°C2時間)。ガス抜き・成形、ベンチタイム(28°C20分間)後に生地430gを焼き型に入れ二次発酵をした(38°C4時間)。ガスオープンで200°C25分間焼成した。

ノータイム法の場合、発酵時間を38°C100分間と設定し製パンした。なお、実験は4~5回繰り返した。

④**比容積と気泡割合**:焼成後、室温放冷2時間後のパンの比容積を菜種置換法で求めた。パン中央部を縦に切断し、その断面画像を高解像度スキャナー(キ

ャノン製8800F)で取り込み、見かけの気泡割合(%)をソフト((株)恒河沙製 黒面積計算)より算出した。

⑤**色調とテクスチャー**:焼成翌日(25°C1日間保管), パンの色調(クラスト, クラム)を色彩色差計(コニカミノルタ製CR-5)で調べた(主光源D65, 視野10°)。パンのクラムを25mm立方に切断し、山電製レオナー(RE-33005)でテクスチャーを測定した(プランジャー直径20mm, 速度1mm/sec, 歪50%, 温度25°C)。

### 3. 実験結果と考察

碧南鮮紅五寸人参(茎)由来野生酵母パンの平均比容積は、中種法が2.99cm<sup>3</sup>/g、ノータイム法は2.25cm<sup>3</sup>/gを示した。中種法の比容積がノータイム法より大きいのは、発酵が長時間であるため発酵力の弱い酵母でも十分に膨化したためと考えられた。パン断面については中種法の気泡割合が約60%、ノータイム法は7%を示し、中種法のパンは比容積、気泡割合ともに大きかった。さらに、一般に食されている同人参(根)由来の野生酵母添加パンを中種法で調製すると、比容積が2.93cm<sup>3</sup>/g、気泡割合は54%で、テクスチャー測定における応力もほぼ等しかった。これまで廃食材として取り扱われてきた人参茎部位の天然酵母が根部位に匹敵すると推察されるため、今後、発酵食品の加工を目指した廃食材の有効活用が求められる。

### 4. 結言

廃食材の有効活用により、第6次産業の一環として、いろいろな発酵食品の加工に役立つと期待できる。

#### 謝辞

本研究の一部は、平成25年度エリザベスアーノルド富士財団の助成により実施しました。人参を提供下さったJAあいち中央碧南園芸課様に感謝致します。

#### 文献

- 1) 西山隆造:小崎道雄監修「図解 応用微生物の基礎知識」, オーム社, p.65~67(1981)
- 2) 筒井和美, 西成勝好:公益財団法人 エリザベス・アーノルド富士財団 平成25年度報告書, p.147~152(2014)

# ゼリー状食品のかたさ測定における試料調製方法の違いが物性値に及ぼす影響

○早川結樹, 川上智美, 武田安弘

森永乳業株式会社 研究本部 健康栄養科学研究所[〒252-8583 神奈川県座間市東原 5-1-83]

## 1. 緒言

レオロジー測定によって得られる食品の力学的特性(食品物性)は、舌触り、歯ごたえ、歯切れ、口どけ、喉越しなど、咀嚼・嚥下の際に重要となるテクスチャーと密接に関連している。特に咀嚼・嚥下機能が低下しやすい病者または高齢者において、食品のかたさ、付着性および凝集性に関する力学的特性は重要であり、その特性値に基づき咀嚼・嚥下に適した食品の規格基準が設けられている。代表的な規格基準として「えん下困難者用食品許可基準」および「嚥下食ピラミッド分類」があり、それぞれ測定時における条件が規定されている。

### クリープメーターにおける測定条件

	えん下困難者用食品	嚥下食ピラミッド
測定項目	かたさ、付着性、凝集性	かたさ、付着性、凝集性
容器	直径40mm高さ20mm(または15mm)	直径40mm高さ15mm
試料の調製法	試料を容器の高さ15mmに充填する。なお、製品と同一の組成を有する調合液を容器に充填後、固形化し、測定することも可能	容器の大きさ(直径40mm高さ15mm)に切り抜き、空気が入らない様に充填
プランジャー	直径20mm高さ8mm 樹脂製	直径20mm高さ25mm 樹脂製
圧縮速度	10mm/sec	1mm/sec
クリアランス	5mm	5mm
測定温度	冷) 10±2°C、20±2°C 温) 20±2°C、45±2°C	15°Cまたは45°C

しかしながら測定値に影響を及ぼすと考えられる試料の調製方法(切り出し方法、温度の調整方法等)については詳細な規定が無く、測定手技の影響を受ける可能性がある。そこで今回、ゼリー状食品のかたさ測定における試料調製方法の違いが物性値に及ぼす影響を検討した。

## 2. 実験方法

試料は寒天系ゼリー(以下、Aゼリー)およびゼラチン系ゼリー(以下、Bゼリー)の2種類を用いた。試料の測定はクリープメーター(RE2-33005B, 株式会社電製)を用い、えん下困難者用食品の測定条件に準拠して実施した。

### (1) 切り出し方法の違いによる影響の検討

容器の直径に合わせて切り出しが出来る筒状治具(φ40mm, 自社製)および専用抜型(φ39mm, 株式会社電製)を用い、測定を実施した。

### (2) 温度調整方法の違いによる影響の検討

5°Cに保管した試料を室温で切り出した後、測定する温度(10°C)に馴致する時間を変えて、測定を実施した(30分、60分、90分、120分、150分)。

## 3. 実験結果

### (1) 切り出し方法の違いによる影響の検討

切り出し方法により、かたさ、付着性、凝集性の測定値に違いが生じた。筒状治具は専用抜型に比べて測定値としてかたさが大きく、付着性が小さく、凝集性は高い傾向にあった。この傾向はAゼリー、Bゼリーとも同じであったが、差の大きさは異なった。

### (2) 温度調整方法の違いによる影響の検討

馴致する時間による影響はAゼリーで認められなかったが、Bゼリーで認められた。Bゼリーのかたさは馴致時間が120分まで同じ値であったが、150分後でのみ減少した。

## 4. 考察

切り出し方法の違いによる物性値の差は、切り出されたゼリーの直径の違いによるものと考えられた。

φ40mmの筒状治具で切り出したゼリーの方が、容器の壁面からの反発による抵抗が大きくなり、かたさ等の測定値に影響したものと推察された。また、Aゼリー、Bゼリーでの温度調整時間の違いによるかたさの変化の差異は、試料中のゲル化剤の温度変化に対する時間依存性の違いに起因するものと推察された。

## 5. 結論

試料調製方法の違いが物性値に及ぼす影響を認識した上で、その差異を少なくするように統一した手技で物性測定を行うことが重要である。

## 文献

- 1) 船見 孝博: 食品のレオロジー測定, B&R, 21,16-26, 2007.
- 2) 野内 義之, 安食 雄介, 飛塚 幸喜, 佐々木 朋子, 神山かおる: 2バイトテクスチャー試験における測定速度条件の検討, 日食化工会誌, 59,96-103, 2012.

# 手打ち麺の非等方性膨潤挙動

○小林 祥子, 金田 勇

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

## 1. 緒言

手打ち麺とは、小麦粉を原料とした生地を放射状に展延し、包丁で細長く切り分ける切り出し法により作られるものであり、四角い形状の断面が特徴である。ゆで上げ後の麺線は外側が膨らみ、角が形成される。この角は「エッジ」と表現され、コンや歯ごたえといった食感に大きく影響するため、エッジが立つことはおいしい手打ち麺の大切な要素といえる。しかしエッジが立つ理由については十分に理解されていない。本研究では、麺線に形成されるエッジと小麦粉の主成分となるでん粉および製麺工程で形成されるグルテンとの関係に着目し、検討を行った。

## 2. 実験方法

材料として中力粉、食塩水を用い、手打ち麺を調製した<sup>1)</sup>。切り出した麺線の延伸面には食紅で着色した。ゆで加熱後垂直に切断し、断面画像を撮影したのち角度と辺長を計測した。断面画像を元に、エッジ変化率  $E(t)$  を次式のように定義した。

$$E(t) = \frac{A(t)}{A(0)} \dots (1)$$

ここで  $A(t)$  はゆで時間  $t$  での 4 つの角度の平均値、 $A(0)$  はゆで時間 0 分時の平均値とした。次に断面における 4 辺を向かい合う辺同士  $se$  (延伸面) と  $sa$  (切断面) にまとめ、辺長変化率を(2)、(3)式で求めた。

$$Se(t) = \frac{se(t)}{se(0)} \dots (2), \quad Sa(t) = \frac{sa(t)}{sa(0)} \dots (3)$$

ここで  $se(t)$ 、 $sa(t)$  はゆで時間  $t$  の時、 $se(0)$ 、 $sa(0)$  はゆで時間 0 分時の辺長とした。麺線内部のグルテン構造の分布を調べるため、ゆで上げ後の麺線における切断面と延伸面から採取した切片を CBB 染色し、顕微鏡観察を行った。圧縮試験は、荷重を加える方向を延伸面に対して平行及び垂直となる 2 方向で行い、応力-歪曲線を得てそれを解析した。

## 3. 結果および考察

(1)エッジ変化率:  $E(t)$  はゆで時間 3 分で急激に低下した後、上昇を続け 15 分にかけて横ばいとなった。

すなわち最も鋭いエッジが形成されたのは 3 分時点であり、ゆで時間の経過に伴い鈍角へ近づいた。

(2)辺長変化率:  $Se$  はゆで加熱により中心に向かい湾曲したことに伴い、最大値 1.3 を示した。 $Sa$  はゆで時間が経過しても 1.0 付近を維持する結果となった。

(3)顕微鏡観察: Fig1 に示す切断面では扁平状のでん粉粒が同方向に配列し、グルテンはその隙間を埋めるように存在していた。一方延伸面では、円状のでん粉粒が確認され、その周囲にグルテンが全方向に存在していたことから、麺線の切断方向によりでん粉粒とグルテンの分布が異なることが明らかとなった。

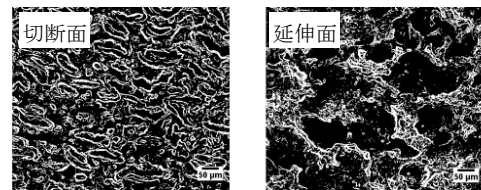


Fig.1 光学顕微鏡によるグルテンネットワーク構造観察像

(4)圧縮試験: 切断面より延伸面でヤング率が有意に高くなり、圧縮時の方向により異なる性質をもつことが示された(Fig2)。これは生地内部に生成されたグルテンに覆われるでん粉粒が製麺時の圧延と展延により、異なる形状で存在するためであると考えられる。これが加熱に伴う吸水・膨潤の仕方に違いをもたらすと考えられ、グルテンが全面に広がり、でん粉粒が円状であった延伸面でより強固な構造となったことに影響したと示唆された。

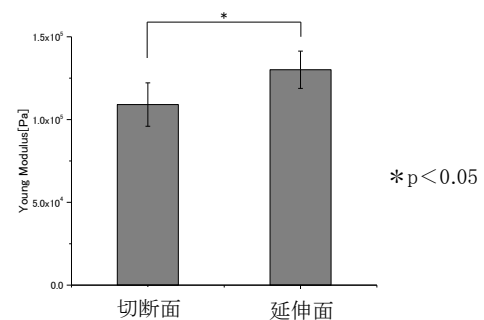


Fig.2 圧縮試験によるヤング率の異方性

## 文献

1) 社団法人農山漁村文化協会 編 地域食材大百科第 7 巻 小麦粉, パン, うどん, ほうとう類, 中華麺, パスタ, 麩, そば, こんにゃく 194(2012)

## 乾燥卵白濃厚水溶液の低温でのゲル化挙動

○佐藤かな子, 金田勇

酪農学園大学大学院 食品栄養科学専攻[〒069-8501 北海道江別市緑町 582]

### 1. 緒言

卵は栄養価に優れ、凝固性、気泡性、乳化性といった食品加工において重要な特性を有する。卵白の凝固性については、62℃で凝固し始め、80℃で完全に凝固する<sup>1)</sup>といわれている。しかしながら、卵白タンパク質の正確な変性温度とゲル化挙動の関係については十分な情報がないのが現状である。本研究では、乾燥卵白を用いて、60℃未満での凝集ゲル化挙動を明らかにすることを目的とした。

### 2. 実験方法

**乾燥卵白水溶液の調整:** 乾燥卵白は和光純薬工業株式会社のアルブミン卵由来を使用した。ビーカーに蒸留水と乾燥卵白を入れ、冷温下で24時間攪拌し、10000rpm, 60分, 10℃の条件で遠心分離をかけ、上清を抽出した。その後、タンパク質濃度が10wt%になるよう調整した。

**レオロジー測定:** 大塚技研のONRH-1型レオメータを使用し、一定温度(40~60℃)における定常流粘度及び動的弾性率を測定した。

**SDS-PAGE:** 一定温度で24時間加熱処理したサンプルに超音波を照射し、凝集物を分散させ、14000rpm, 30分, 10℃の条件で遠心分離にかけた。この上清を100倍希釈したものを電気泳動することで、上清中のタンパク質量を半定量的に測定した。

**SEM:** 各温度(50, 60及び80℃)で一定時間処理したサンプルを、切り出し、グルタルアルデヒド固定、アルコール置換、蒸着処理の後、走査型電子顕微鏡(S-2460, 日立ハイテクノロジー)を用い、付加電圧10kV, 倍率10000倍でサンプルの微細構造を観察した。

### 3. 実験結果及び考察

**レオロジー測定:** 40℃と45℃では24時間後も定常流粘度の上昇はほとんど見られなかった。50℃ではおよそ7000秒経過した時点で、また、55℃の場合はおよそ800秒、60℃の場合はおよそ200秒で急激な定常流粘度の上昇が見られた。動的弾性率は、50℃

ではおよそ30000秒、55℃ではおよそ3000秒、60℃ではおよそ300秒付近から上昇した。

**SDS-PAGE:** 卵白タンパク質のおよそ54%を占めるオボアルブミンのバンドは、どの温度帯でもあまり変化は見られなかった。一方、オボトランスフェリンのバンドは55℃でわずかな減少が見られ、卵白の変性温度付近である60℃では、ほぼなくなった。また、オボトランスフェリン以外のバンドも、55℃から減少している部分があることが観察された。

**SEM:** 24h@50℃で処理したサンプルに比べて24h@60℃で処理したサンプルの方が、24h@60℃で処理したサンプルに比べて30min@80℃で処理したサンプルの方が、網目構造を形成する凝集体が大きくなっていることが観察された。(Fig.1)

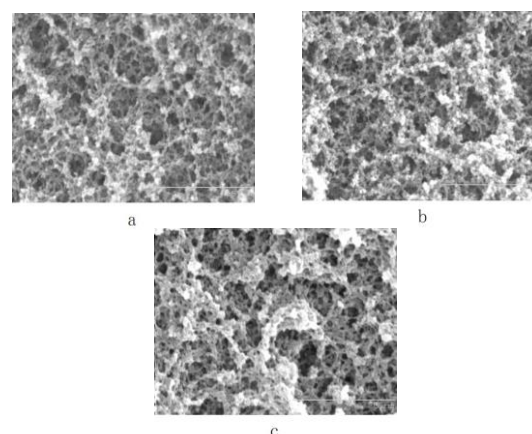


Fig.1 Microstructure of 10% Albumin, from Egg gels.

(a):24h@50℃, (b):24h@60℃, (c):30min@80℃

これらの結果から、オボトランスフェリンの変性温度(61℃)<sup>2)</sup>未満の温度であっても、長時間処理することで見かけの粘度を上昇及び弾性率を上昇させ、引き続きゲルを形成することが考えられた。また、低温で形成されたゲルは80℃で形成されたゲルよりも網目構造を形成する凝集体が小さく、これは凝集に関わるタンパク質の量が異なることが原因だと考えられた。

### 文献

- 1) 鮫島邦彦・高橋史生 編著「ニューフードサイエンス」三共出版株式会社(2005)
- 2) I.Nicorescu et al, Food Hydrocolloids, 25, 797-808(2011)

## 要旨

5月28日(日)

第3会場

OS5

ティッシュエンジニアリング・人工臓器

(1)

## 3D プリント成形技術を用いて作製した遠心血液ポンプの 性能評価の素材に対する検討

○西田正浩\*, 後藤大輝\*\*, 迫田大輔\*, 小阪亮\*, 丸山修\*,  
百武徹\*\*, 山本好宏\*\*\*, 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、3D プリントは、モデルの実機を作製し、それぞれのモデルの初期駆動や揚程流量特性を確認するための有力なツールである。しかしながら、モデルの溶血特性を確認するためには、表面粗さや、ピボット軸受を有する場合には、インペラの回転による素材の変形に伴うケーシングへの接近に注意しなければならない。そこで、本研究では、3D プリントの素材の弾性率に着目し、弾性率の異なる素材を用いてモデルを作製して、モデルの揚程流量特性、インペラの回転位置、および溶血特性について素材間で比較し、それぞれの評価の精度について検討した。

### 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 プリント(Stratasys 社製 Objet30 Pro)により成形した。素材は、VeroClear または RGD525 を用いた。それぞれの素材の弾性率のカタログ値は、2.5 または 3.35 GPa である。まず表面粗さ計を用いて成形したインペラの表面粗さを計測した。次にインペラを製品のケーシングとアセンブルし、ポンプモデルを作製した。

実験では、まず閉回路に接続して、ポンプの揚程流量特性を計測した。回転数は、1,000~4,000 rpm、流量は 0~10 L/min とした。ここで、本ポンプはピボット軸受によりインペラをケーシング上の1点で支持しており、回転に伴う流体力により、インペラがケーシングに向けて押し付けられて弾性変形するため、流量 0 の条件のみ、変位センサを用いてインペラの回転位置を計測した。次に、ウシ新鮮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。一方、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 プリントで作製したインペラの表面粗さは、VeroClear、RGD525 ともにおよそ 0.4  $\mu\text{m}$  であり、製品

インペラの表面粗さはおよそ 0.02  $\mu\text{m}$  であり、およそ 20 倍の差があった。しかしながら、3D プリントによるポンプモデルの揚程流量特性は製品のポンプの揚程流量特性とほぼ一致し、その差は 1~2% であった。ところが、インペラの回転位置は、例としてインペラの回転数が 3,000 rpm のとき、インペラの回転位置の変化は、VeroClear が 0.12 mm であるのに対し、弾性率の大きい RGD525 や製品はともにおよそ 0.03 mm であり、4 倍の差があった。これを反映するように、流量 4 L/min、揚程 100、200、300 mmHg の条件で、VeroClear モデルの溶血量は製品の 1.4、3、19 倍であったが、RGD525 モデルの溶血量は製品の 1.5、2.2、3.9 倍であり、素材の弾性率を大きくすることで、3D プリントモデルによる溶血量の増加は緩和された。溶血量の増加は、3D プリントモデルにより作製したインペラが、高回転による変形のために軸受部においてケーシングに接近したからであり、弾性率を大きくすることで、その接近を少し回避したためであると考えられた。

### 4. 結言

ピボット軸受を有する遠心血液ポンプの溶血特性を確認するためには、素材の変形による微小軸受隙間の変化に注意しなければならないが、素材の弾性率を大きくすることでその変化を緩和し、製品に若干近づけた評価ができることがわかった。

### 謝辞

3D プリント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) Nishida, M., Negishi, T., Sakota, D., et al.: Properties of a monopivot centrifugal blood pump manufactured by 3D printing. J. Artif. Organs, 19, 322-329, 2016.

## 拍動循環可能な小容量抗血栓性試験回路の開発

○松橋祐輝\*, 鮫島啓\*, 前田真宏\*\*, 梅津光生\*\*, 岩崎清隆\*\*\*

\*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 早稲田大学 TWIns]

\*\*早稲田大学 創造理工学部 総合機械工学科,

\*\*\*早稲田大学先進理工学研究科 共同先端生命医科学専攻

### 1. 緒言

医療機器の開発・改良の迅速化を図るためには安全性と有効性を評価することが重要である。その中で、動物や臨床では評価が困難な事象に対する評価法として、実使用環境を模した *in vitro* 血液適合性試験法の開発への期待が国際的に高まっている。特に、ヒトの新鮮血液を循環可能な回路を開発することで、凝固活性や血小板活性といった市販の動物血液用キットでは計測できない項目の評価が可能となる。本研究では、ヒト血液を循環できる内部容量で、かつ、生体内の血流・血圧環境を創出可能な大気非接触一巡閉鎖型回路を開発することを目的とした。

### 2. 実験方法

開発した回路は、小容量拍動ポンプ、高分子製の流入出弁、大動脈圧調整チューブ、抵抗器、リザーバ要素弾性チューブで構成した(図1)。

グリセリンで粘度を  $3.7\text{mPa}\cdot\text{s}$  に調整した生理食塩水を回路内に充填した。回路を  $37^\circ\text{C}$  に調整した恒温槽に設置し、ポンプを空気圧駆動装置により拍動させ、ポンプ拍出流量、ポンプ出口圧力、および、ポンプ入口圧力波形を取得した。

空気圧駆動装置の駆動圧力は陽圧を  $160\text{ mmHg}$ 、陰圧を  $-20\text{ mmHg}$  に設定した。また、拍動数は  $70\text{ beat/min}$ 、収縮時間比は  $34\%$  とした。ポンプ拍出流量は超音波流量計、ポンプ流入出圧力は圧カトランスデューサを用いて測定した。

### 3. 実験結果

内部容量  $55\text{ mL}$  の空気非接触/拍動一巡閉鎖系回路を構築し、回路内部圧力をポンプ出口圧  $120 \pm 1 / 80 \pm 3$  (平均  $100 \pm 2$ )  $\text{mmHg}$ 、ポンプ入口圧  $4 \pm 23\text{ mmHg}$  の環境下で  $290\text{ mL/min}$  の平均拍出流量が得られた。(図2)。

### 4. 結言

本研究により、拍動循環が可能な内部容量  $55\text{ mL}$  の空気非接触一巡閉鎖型回路を開発した。本研究で開発した回路はヒト血液を循環可能な内部容量であ

るため、これまで評価が困難であった凝固活性や血小板活性の測定を可能とし、*in vitro* 血液適合性試験法の評価項目の充実に貢献でき得ると考えられた。

### 謝辞

本研究は AMED の医薬品等規制調和・評価研究事業における「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。ここに関係者諸氏に厚くお礼申し上げる。

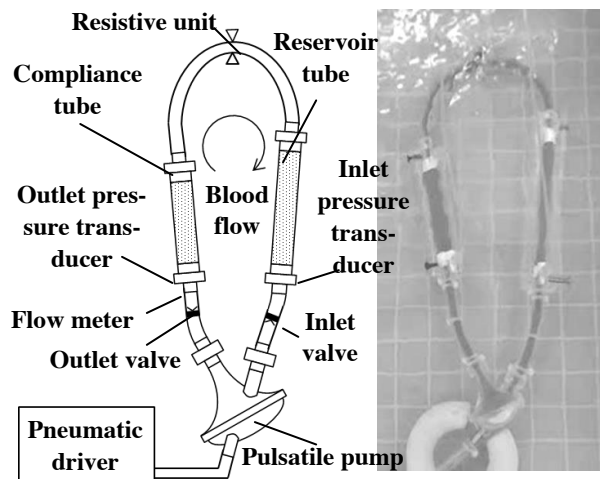
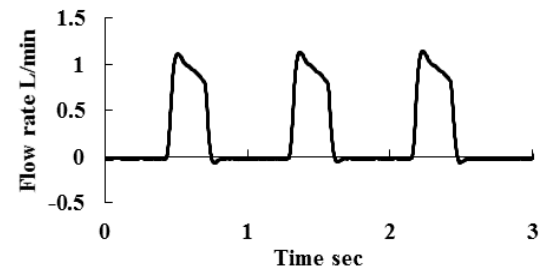
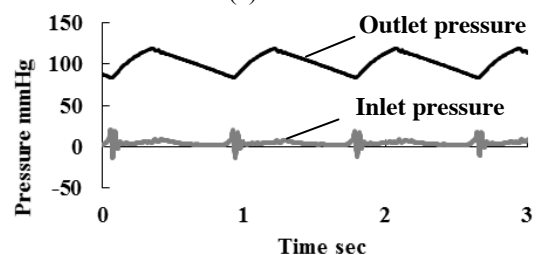


Fig.1 The developed *in vitro* circuit for thrombogenicity test. Black arrow show the blood flow direction



(a) Blood flow rate



(b) Inlet and outlet pressure

Fig.2 Simultaneous flow and pressure waveforms

## 腹部大動脈瘤モデルを用いたステントグラフトの留置形態に関する検討

○赤岡拓\*, 宿澤孝太\*\*, 藤井智也\*, 伊藤大輝\*, 梅津光生\*, 大木隆生\*\*\*, 岩崎清隆\*\*

\*早稲田大学大学院 創造理工学研究科 総合機械工学専攻[〒162-8480 東京都新宿区若松町 2-2]

\*\*早稲田大学大学院 先進理工学研究科 共同先端生命医科学専攻

\*\*\*東京慈恵医科大学 血管外科

### 1. 緒言

傍腎動脈腹部大動脈瘤に対する外科的手術の代替治療として Chimney technique を用いた腹部ステントグラフト内挿術が行われている。本手技は腎動脈血管径に合ったステントグラフトを腹部大動脈から腎動脈に入れて腎動脈への血流を確保し、腹部動脈にステントグラフトを留置するものであり、径の異なるステントグラフトが壁面で接触する。ステントグラフトと血管壁の間に“gutter”と呼ばれる隙間が生じ、遠隔期での瘤内への血流侵入(エンドリーク)による瘤破裂が課題である。本研究では、腹部大動脈瘤モデルを用いて、ステントグラフトの留置形態がエンドリークに与える影響を検討することを目的とした。

### 2. 実験方法

#### 2・1 圧力損失試験

腹部大動脈瘤モデルを定常流試験回路(図 1)に組み込み、ステントグラフト留置後の腹部大動脈と瘤内の圧力差を測定し、ステントグラフトの留置形態がエンドリークに及ぼす影響を検証した。腹部大動脈瘤モデルは、腎動脈直下 4mm から大動脈瘤が起始する形状とした。モデルはシリコンで作製し、弾性率はヒト大動脈( $2.1 \pm 0.2$  MPa)<sup>1)</sup>を模擬し、壁厚は 2.0 mm とした。ステントグラフトは Excluder (Gore 社)を、腎動脈へ用いるステントグラフトは Advanta V12 stentgraft (Atrium 社)を用いた。腎動脈上のステントグラフトどうしが接するシールゾーンの長さは 10, 20, 30mm と設定した。大動脈流量は 3.5L, 腎動脈流量は 1.2 L/min とし、大動脈圧は 100, 120, 140 mmHg の 3 条件で回路を循環させ、瘤内圧を測定した。

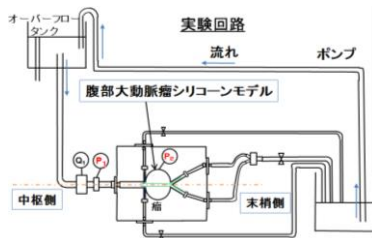


Fig.1 Investigation of pressure drop between stent grafts and aneurysm

#### 2・2 Micro CT による gutter 計測

ステントグラフトを留置した腹部大動脈瘤モデルを Micro CT で撮像し、3次元形状構築ソフト Mimics® (Materialize) を用いて gutter 面積およびグラフトと血管壁の非圧着体積を測定した。

### 3. 実験結果

#### 3・1 シールゾーンの長さとの圧力損失

SG のシールゾーンの長さを 10 mm にした場合、30 mm の場合と比較し、動脈圧と瘤内圧の差である圧力損失が有意に大きくなった。

#### 3・2 Gutter 計測

シールゾーンの長さを 30mm にした場合、腎動脈直下におけるステントグラフトの密着性が悪くなり、ステントグラフトの上端部で生じた gutter が瘤内部に直結することが明らかとなった。

### 4. 考察

ステントグラフトは二股に別れる部分にテーパがある。シールゾーンの長さを 30 mm にした場合、このテーパ部分が腎動脈直下に位置し、血管壁に密着できなくなる。そのため、gutter が瘤内部に直結し、圧力損失が小さくなったと考えられた。

### 5. 結言

傍腎動脈腹部大動脈瘤への圧力損失を大きくするためには、ステントグラフトの分岐部の 3次元形状の仕様を踏まえたシールゾーンの選択が重要であることが、定常流試験による圧力損失と Micro CT による 3次元圧着形態分析から明らかとなった。

#### 謝辞

本研究は、文部科学省基盤研究 (B) (一般) (平成 27~平成 29 年度) のご支援を得て行った。ここに関係者諸氏に厚く御礼申し上げる。

#### 文献

1)A Duprey, Vascular mechanics laboratory University of Michigan, 1-26, 2008

## 細胞接着制限環境下における mES 細胞の培養

○安藤 悠太\*, オケヨ ケネディ\*\*, 安達 泰治\*\*

\*京都大学大学院 工学研究科マイクロエンジニアリング専攻 [〒615-8530 京都市西京区京都大学桂]

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

### 1. 緒言

多能性幹細胞の未分化維持に関わる外的要因の一つとして、細胞-基質間接着を介した基質からの機械的刺激が重要な役割を果たしていることが知られている<sup>1)</sup>。しかし、細胞接着が多能性幹細胞の未分化状態を制御する詳細なメカニズムは解明されていない。細胞接着が未分化状態に及ぼす影響を検討するためには、微細加工したマイクロ構造基板を用いて細胞-基質間接着を調節する方法が有用である。その一例として、網目が大きく線幅が狭い微細加工メッシュシートを用いて細胞-基質間接着が可能な領域を制限することで、多能性幹細胞に通常培養時とは異なる挙動が現れることが観察されている<sup>2)</sup>。

本研究では、細胞-基質間接着が制限された環境下でマウス胚性幹細胞(mES細胞)が示す挙動を明らかにすることを目的とする。そのために、微細加工メッシュシートを用いて mES 細胞の培養と観察を行った。

### 2. 実験方法

mES 細胞株 E14tg2a (RIKEN Cell Bank)を微細加工メッシュシート上に播種し培養した(Fig. 1)。本実験では、線幅 5  $\mu\text{m}$ 、網目の対角線長 50  $\mu\text{m}$ 、100  $\mu\text{m}$  の菱形メッシュシートを用いた。ディッシュ底面から離して設置したメッシュシートに対して、0.1% gelatin solution (Sigma)によりコーティングを行い、細胞懸濁液を注いで培養することで、細胞がメッシュシートのみを足場として接着するようにした。培養液には、15% FBS (Sigma), 1% sodium pyruvate solution (Sigma), 1% MEM non-essential amino acid solution 100x (Sigma), 0.1% 0.1 M 2-mercaptoethanol (Sigma), 2,000 units/mL LIF (Merck Millipore)を含む G-MEM (Wako)を用いた。メッシュシートに接着できなかった細胞を除去するため、培養液の交換と、別のディッシュへのメッシュシートの移設を適宜行った。

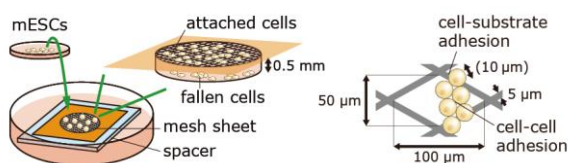


Fig. 1 Cell seeding on a suspended wide open mesh.

### 3. 実験結果

微細加工メッシュシート上に播種した mES 細胞の一部が、メッシュシートに接着し増殖することが観察された。Fig. 2 に、本実験で用いたメッシュシートの顕微鏡画像を示す。メッシュシートの網目が大きいため多くの細胞はメッシュシートに接着できず、ディッシュ底面に落下していた。メッシュシートへ接着できた細胞は、接着直後は球形状をなしていた。その後、足場に沿って増殖・伸展し、コロニーを形成した。

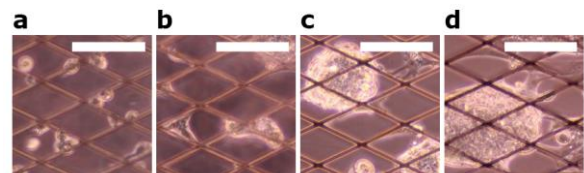


Fig. 2 Observation of attached cell growth on mesh sheets at 6 hours (a), Day 1 (b), Day 2 (c) and Day 3 (d). Scale bars: 100  $\mu\text{m}$ .

### 4. 考察

細胞がメッシュシートに接着し増殖したことから、少なくとも3日間はメッシュシート上での培養が可能であるといえる。また、細胞が基質と接着できない網目にも存在していることから、細胞-細胞間接着により自己組織的にコロニーが形成されたと考えられる。

### 5. 結言

本研究では、mES 細胞をメッシュシート上に播種し、細胞-基質間接着を制限した環境下で培養し、その様子を観察した。先行研究<sup>2)</sup>によると、メッシュシート上では1週間以上に渡ってヒト iPS 細胞の未分化維持培養が可能であることが示されている。今後は、mES 細胞の場合でも長期に渡る未分化維持培養が可能かどうか、未分化性を評価して確認する。

### 謝辞

本研究は MEXT 科研費 JP16K17501, JSPS 科研費 JP16H06486 の助成を受けたものです。

### 文献

- 1) Chowdhury, F. et al.: PLoS one, 5, e15655, 2010.
- 2) Okeyo, K. et al.: Tissue Engineering Part C, 21, 1105-1115, 2015.



# 要旨

5月28日(日)

第3会場

OS5

ティッシュエンジニアリング・人工臓器

(2)

## 多管構造を持つコラーゲンをを用いた細動脈様組織の構築

○古澤和也\*, 隈本有里\*\*

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

\*\*北海道大学 大学院 生命科学院

### 1. 緒言

組織工学の究極的な目標は、人工的に丸ごとの臓器や器官を再構築することである。そのためには、細胞を三次元的に集積する必要がある。しかしながら、再生組織表面からの培養液成分の拡散のみでは、厚さ100 mm程度の三次元組織しか構築することはできない。これ以上の厚さの再生組織を構築しようとする、組織深部の細胞が酸素や栄養の不足のために壊死してしまうからである。そこで、再生組織に血管を導入する試みが世界中で盛んに開発されている。

血管は組織や臓器に酸素や栄養を供給する輸送経路である。組織や臓器に張り巡らされた血管網は、血液の流れを効果的かつ効率的に伝えるように設計されている。したがって、生体内の血管網の階層構造を再生組織内部に再現することが、より機能的で巨大な再生組織を構築するために重要となる。

本研究では、再生組織内部に生体内の血管網によく似た階層構造を持つ血管網を導入することを目的とする。そのために、コラーゲン水溶液をリン酸緩衝液中に透析することによって得られる、多管構造を持つコラーゲングル(マルチチャンネルコラーゲングル: MCCG)を血管網の鋳型として利用する。MCCGは表層付近では沢山の小さなチャンネルがあり、深部に近づくにつれてチャンネルの直径が増加しつつその数が減少する。このような構造的特徴は生体内の血管網にもよく見られる特徴である。MCCGの多管構造の直径は最も細いところで直径20 μmであり、最も太いところでは500 μmに達する。ちょうど細動脈と毛細血管の間の直径であると言える。したがって、本研究ではMCCGを用いて細動脈様組織を構築することに挑戦した。

### 2. 実験方法

MCCGは次の方法で調製した。ウシ真皮由来のコラーゲン水溶液(高研、IPC-50)を35 mmディッシュの上に置かれた直径8 mmの穴の開いた厚さ1 mmのシリコンゴムの型に流し込んだ。その上に透析膜をかぶせてさらに同じ形のシリコンゴムを上からかぶせた。4 mLの20 mMの $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ と13 mMの $\text{KH}_2\text{PO}_4$ を含むリン酸緩衝液をディッシュに注ぐことで、コラーゲ

ン水溶液をリン酸緩衝液に透析してMCCGを調製した。次に、MCCG表面のゲルの膜をコラゲナーゼ処理によって消化除去し、EDTAを含むリン酸緩衝液で失活させた後、1 mMのゲニピン水溶液で化学架橋処理を行った。最後に、リン酸緩衝液で4回以上洗浄してから細胞足場として用いた。

動脈の筋線維層を構築するために、マウス骨格筋由来筋芽細胞株(C2C12)およびヒト由来血管内皮平滑筋細胞(SMC)を用いた。動脈の内皮層を構築するためにヒト動脈由来内皮細胞(HAEC)を用いた。試料は、C2C12のみをMCCGに播種したものと、SMCを播種してから、次の日にHAECを播種したものの二種類を構築した。得られた試料は、細胞核、Fアクチン、およびType Iコラーゲンを蛍光染色してから、共焦点走査型レーザー顕微鏡(CLSM)で観察した。

### 3. 結果と考察

Figure 1にC2C12をゲニピン架橋したMCCGに播種して得られた試料のCLSM像が示されている。C2C12細胞はMCCGのチャンネル表面に接着し管腔状の構造を構築している様子がわかる。三次元像の解析の結果、C2C12細胞はチャンネルの表面に対して垂直に配向して接着していることが分かった。MCCGはコラーゲン線維がチャンネルの表面に対して平行に配向していることが過去の研究で示されており、C2C12の配向はコラーゲン線維の配向によってガイドされたものと考えられる。一方で、ゲニピン架橋していないMCCGではC2C12事態の細胞の接着性が良くなかった。この結果は、C2C12の接着に適した弾性率があることを示唆している。

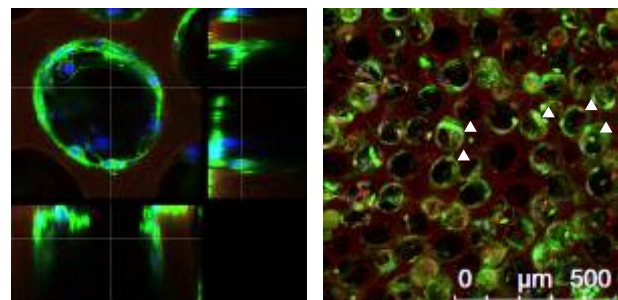


Figure 1. MCCGのチャンネル表面でC2C12細胞が構築した管腔様構造。左) 拡大像。右) 低倍率像矢頭は観光用構造を示す。

# 脱細胞化組織を用いたヒツジ膝前十字靭帯再建実験による 生体内での細胞浸潤に関する検討

○岩崎清隆<sup>\*,\*\*,\*\*\*</sup>, 伊藤匡史<sup>\*\*\*\*</sup>, 井柵浩貴<sup>\*\*</sup>, 高野和也<sup>\*\*</sup>  
岡村昭慶<sup>\*\*</sup>, 奥田慶也<sup>\*\*</sup>, 八木優大<sup>\*\*\*</sup>, 梅津光生<sup>\*,\*\*,\*</sup>

\*早稲田大学 先進理工学研究科 共同先端生命医科学専攻[〒162-8480 東京都新宿区若松町 2-2]

\*\*早稲田大学 創造理工学研究科 総合機械工学専攻

\*\*\*早稲田大学 先進理工学研究科 共同先端生命医科学専攻

\*\*\*\*東京女子医科大学 整形外科

## 1. 緒言

スポーツで発生することの多い膝前十字靭帯損傷の治療においては、本来採る必要のない健全な自家腱を術中に採取して再建組織として用いている。臨床ニーズを満たす生体組織の粘弾性特性を兼ね備えた人工靭帯がなく、複合靭帯損傷時や再手術時に自家腱が足りなくなり温存治療をせざるを得ない場合もある。我々は、ウシ腱組織を用い、組織から細胞成分を除去して低抗原化する技術と組織強度を保持可能な滅菌技術を開発し、体内で自己細胞が入り組織リモデリングが期待できる膝前十字靭帯再建に用いる脱細胞化腱を開発している。本研究では、脱細胞化腱を用いてヒツジ膝前十字靭帯再建試験を行い、再建後3ヶ月における細胞浸潤の程度を検証し、ヒツジの自家アキレス腱を用いた再建術後の組織と比較した特徴を明らかにすることを目的とした。

## 2. 方法

1wt%のデオキシコール酸溶液中に組織を留置し、拍動循環とマイクロ波照射を同時に作用させてウシ腱組織を処理した<sup>1)</sup>。その後、核酸分解酵素処理溶液に組織を浸潤処理し、脱細胞化処理した。組織の滅菌に関しては、特定の溶液を組織に浸透させて凍結乾燥し、エチレンオキサイドガス滅菌した。組織は使用前に生理食塩水で再水和した。ヒツジサフォークメスを用い、脱細胞化して滅菌処理したウシ腱を用いてヒツジ膝前十字靭帯再建実験を行い、再建後3ヶ月における脱細胞化組織についてヘマトキシリン・エオジン染色を行い、脱細胞化組織への細胞浸潤の程度を調べた(n=4)。比較対象として、ヒツジ自家アキレス腱を用いた3ヶ月の再建試験もを行い、同様に染色を行った(n=7)。また、脱細胞化組織への細胞浸潤の到達目標のベンチマークとして、ヒツジ前十字靭帯組織の染色も行い、細胞数を比較した。本研究は、早稲田大学動物実験審査委員会の承認を得て行った。

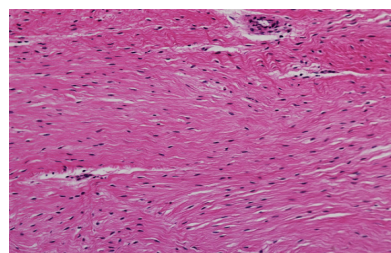


Fig.1 Cell infiltration and vessel formation in the decellularized bovine tendon: 3 months after ovine anterior cruciate ligament reconstruction.

## 3. 結果

脱細胞化処理後の組織内 DNA 残留量は 5ng/mg 以下となり、膝前十字靭帯再建に使用できる長さ 14cm の脱細胞化腱を作製できた。再建3ヶ月後の脱細胞化組織には炎症は認められず、組織内に細胞が浸潤し、微小血管が多く形成されていることが明らかとなった(Fig1)。脱細胞化組織中の単位組織面積当たりの細胞数を調べた結果、細胞数はヒツジの膝前十字靭帯の細胞数と同程度に達していた。一方、自家アキレス腱にはマクロファージの存在を多く認め、細胞数は脱細胞化腱および膝前十字靭帯と比較して有意に多かった。

## 4. 結言

長さ 14cm の脱細胞化脱細胞化ウシ腱を開発した。ヒツジを用いた実験により、脱細胞化ウシ腱に浸潤する細胞数は術後3ヶ月で自家膝前十字靭帯組織と同程度に達することが明らかとなり、生体内での組織再構築が期待できることが示唆された。

### 謝辞

本研究は、国立研究開発法人科学技術振興機構(大学発新産業創出拠点プロジェクト)の援助を得て行った。関係者諸氏に御礼申し上げる。

### 文献

1) 岩崎清隆, 他, 前十字靭帯再建用のウシ由来無細胞腱の開発, 日本機械学会 2011 年次大会, 東京, 2011 年 9 月

## 脱細胞化処理および滅菌処理が組織のコラーゲンに及ぼす影響の検討

○奥田慶也\*, 岡村昭慶\*, 八木優大\*\*, 軽部裕代\*\*\*, 梅津光生\*, \*\*, \*\*\*, 岩崎清隆\*, \*\*, \*\*\*

\*早稲田大学 大学院創造理工学研究科 総合機械工学専攻 [〒162-8480 東京都新宿区若松町 2-2]

\*\*早稲田大学 大学院先進理工学研究科 生命理工学専攻

\*\*\*早稲田大学 理工学術院先進理工学研究科 共同先端生命医科学専攻

### 1. 緒言

膝前十字靭帯再建術は、膝前十字靭帯が断裂した際に、機能回復を図るために行われる手術である。現在、膝前十字靭帯再建術では、自家腱を手術中に採取して治療が行われる<sup>1)</sup>。自分の足から健康な腱を採取するため侵襲の高い治療であり、再断裂時や複合靭帯断裂時に自家腱の不足が課題となる<sup>1)</sup>。本課題を解決すべく、当研究室では膝前十字靭帯再建術のための新しい再建組織として、ウシ由来の脱細胞化組織を開発している。対象とする靭帯組織は主としてコラーゲンで構成されているが、脱細胞化処理および滅菌が組織を構成するコラーゲンにどのような影響を及ぼすかはわかっていない。本研究では、脱細胞化処理および滅菌処理がウシ靭帯のコラーゲンの組成に及ぼす影響を検討した。

### 2. 実験方法

#### 2. 1. 脱細胞化処理および滅菌処理法

本研究の試験組織は、未処理ウシ靭帯、脱細胞化処理したウシ靭帯、組織保護処理をした後に凍結乾燥および滅菌処理した脱細胞化ウシ靭帯の3種類とした。本研究の脱細胞化処理は、組織に対してデオキシコール酸ナトリウム溶液を回路内で拍動循環させつつマイクロ波を24時間照射させる工程、その後、核酸分解酵素溶液を用いて振とう処理する工程の2工程で行った<sup>2)</sup>。脱細胞化処理後に、組織保護を目的として糖を含んだ溶液に浸透させ、凍結乾燥処理及びエチレンオキサイドガス滅菌処理を行った。その後再水和した注木を用いて試験を行った。

#### 2. 2. SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動法

試験組織(20 mg)に対して酢酸、ペプシン処理を行いコラーゲン溶液を作製した。Laemmliの方法に従って、濃縮ゲル(3.0%ポリアクリルアミドゲル, 10×85×1 mm)、分離ゲル(7.5%ポリアクリルアミドゲル, 60×85×1 mm)を支持体として、10 mAの定電流で泳動した。色素マーカーであるBPBが分離ゲルに入る時点から30分後にチオグリコール酸を添加した。泳動終了後CBB染色を行った。

#### 2. 3. 分離・同定した $\alpha$ 鎖の定量化

画像解析ソフトウェアのImageJを使用し、各 $\alpha$ 鎖の

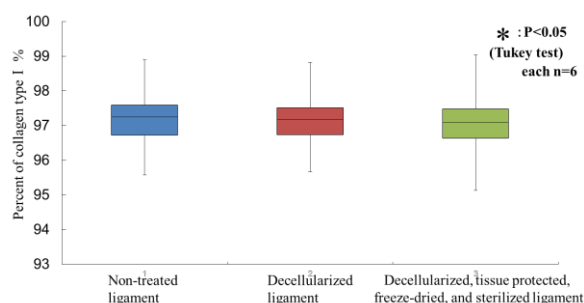


Fig. 1 Percent of collagen type I

密度を測定し定量化を行った。 $\alpha 1(I)$ 鎖と $\alpha 1(III)$ の比をコラーゲンのタイプIとタイプIIIの比とした。

### 3. 実験結果

各処理におけるコラーゲンタイプIの割合を図1に示す。各組織における割合は、未処理ウシ靭帯が $97.20 \pm 1.01\%$ 、脱細胞化ウシ靭帯が $97.17 \pm 0.95\%$ 、組織保護処理および滅菌処理済み脱細胞化ウシ靭帯が $97.07 \pm 1.18\%$ となった。以上より、我々が行っている脱細胞化処理および滅菌処理は靭帯組織のコラーゲンの分解や変性を起こさないことが示唆された。

### 4. 結言

SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動法を用いて脱細胞化処理、滅菌処理を施したウシ靭帯のコラーゲンタイプの定量化を行った。脱細胞化処理、滅菌処理が組織のコラーゲンタイプの変化に影響を与えないことが明らかとなった。

#### 謝辞

本研究は国立研究開発法人科学技術振興機構(大学発新産業創出拠点プロジェクト)の援助により行われた。関係者諸氏に熱くお礼申し上げる。

#### 文献

- 1) 日本整形外科学会診療ガイドライン委員会, 前十字靭帯(ACL)損傷診療ガイドライン策定委員会編, 前十字靭帯(ACL)損傷診療ガイドライン2012, 改訂版2版(2012), pp.93-128, 株式会社南江堂
- 2) Iwasaki K., et. Al., Innovative bioractor technologies produced a completely decellularized and pre-endothelialized functional aortic valve, *Proceedings of the 12<sup>th</sup> International Conference on Biomedical Engineering*, (2005)

# 脱細胞化処理溶液への浸透時間が 脱細胞化腱と靭帯の力学特性に及ぼす影響の検討

○八木優大\*, 岡村昭慶\*\*, 奥田慶也\*\*, 梅津光生\*, \*\*\*, \*\*\*, 岩崎清隆\*, \*\*, \*\*\*

\* 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]

\*\* 早稲田大学 創造理工学研究科 総合機械工学専攻

\*\*\* 早稲田大学 先進理工学研究科 共同先端生命医科学専攻

## 1. 緒言

膝前十字靭帯断裂は年間 27,000 件<sup>1)</sup>とスポーツ膝障害の中で最も受傷頻度が高い損傷の一つである。本治療には患者の自家腱による再建術が第一選択であるが、健全組織の採取が必要であるため再断裂時や複合靭帯損傷時に自家腱が不足する、あるいは組織採取部の疼痛や損傷が発生するといった課題が存在する。そこで異種動物組織から抗原性を有する細胞成分を除去した脱細胞化組織を開発してきた<sup>2)</sup>。先行研究<sup>3)</sup>では脱細胞化処理の時間と比例して組織の力学的強度が低下するという報告があるが、組織の違いによる力学特性への影響は明らかになっていない。本研究では、脱細胞化処理溶液への浸透時間が脱細胞化腱と靭帯の力学特性に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。

## 2. 実験方法

### 2.1 腱および靭帯組織の脱細胞化処理

デオキシコール酸ナトリウム溶液を拍動循環させた回路内に組織を留置し、組織に 24 時間マイクロ波を照射して細胞膜の除去を行う<sup>2)</sup>。細胞膜を除去した組織を 37°C, 180 rpm 環境下で 24 時間核酸分解酵素の浸透処理を行い細胞核を除去する。

### 2.2 単軸引張試験による組織の力学特性評価

ウシ腱と靭帯について、未処理組織、脱細胞化処理溶液を 24 時間浸透した組織、脱細胞化処理溶液を 72 時間浸透した組織の 6 群の引張試験を行った。

引張速度 300 mm/min で引張試験を行い、破断荷重およびスティフネスを評価した。スティフネスは荷重伸び線図より、最大となる箇所から算出した。

## 3. 実験結果と考察

ウシ靭帯の破断荷重、スティフネスは脱細胞化処理溶液の影響を受けにくいことが示唆された(Fig1(a))。

一方、ウシ腱は脱細胞化処理溶液の浸透時間の増加にとともに、破断強度およびスティフネスは有意に低下する傾向があることがわかった。

## 4. 考察

腱組織に含まれている可溶性コラーゲン量は靭帯組織の約 3 倍であり、それらが脱細胞化処理溶液中に

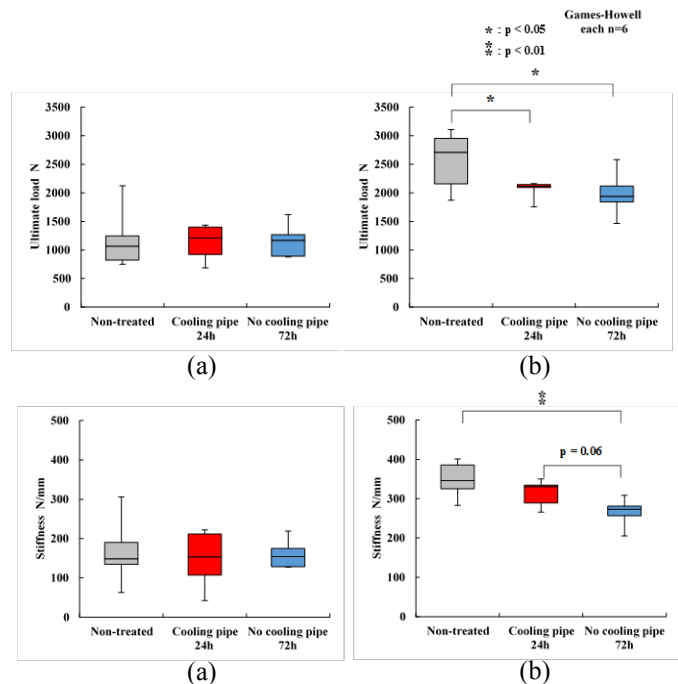


Fig.1 Ultimate load and stiffness of decellularized bovine (a)ligament, (b)tendon

溶出したことが破断強度およびスティフネス低下の原因であると考えられる。

## 4. 結語

脱細胞化処理溶液への浸透時間が組織の力学特性に及ぼす影響を明らかにした。靭帯組織は脱細胞化処理溶液の影響を受けにくいのに対し、腱組織は溶液の浸透時間の増加につれ、有意に破断荷重およびスティフネスが低下することがわかった。

## 謝辞

本研究の一部は、国立研究開発法人科学技術振興機構(大学発新産業創出拠点プロジェクト)の援助を得て行った。関係者諸氏に御礼申し上げる。

## 文献

- 1) 矢野経済研究所, 2014 年版メディカルバイオニクス(人工臓器)の中期予測と参入企業の徹底分析第 25 版, 478, 2014.
- 2) Iwasaki K., et al., Proc. 12th Int. Conf. Biomed. Eng., 2005.
- 3) Layland KS, et al., J Struct Biol, 143, 201-208, 2003.



## 要旨

5月28日(日)

第3会場

OS8

臨床工学分野のレオロジー

## インピーダンス・スペクトロスコピー・トモグラフィーによるリンパ浮腫の早期検出

○孫越\*, Marlin Ramadhan Baidillah\*, Alamin Saichul Iman\*, 川嶋大介\*, 武居昌宏\*

\*千葉大学 工学研究科[〒263-0044 千葉県千葉市稲毛区弥生町]

## 1. 緒言

現在、乳がんや子宮がん新たに罹患する患者は毎年10万人もおり、これらの患者の治療の発達により癌サバイバーが増加している一方、手術後の合併症として四肢にリンパ浮腫の発症リスクを生ね負うことになる。リンパ浮腫治療には、リンパ浮腫の早期発見が重要であるものの、現状として、そのような手法は十分に研究されていない。本研究の目的は、アルブミンのよどみによる細胞間質液の電気特性変化からリンパ浮腫の兆候を早期発見の方法を確立すること。

## 2. 実験方法

インピーダンス・スペクトロスコピー・トモグラフィー法(EIST法)により、図1に示したリンパ浮腫の早期状態を模擬したファントムの断面画像の作成を行った。

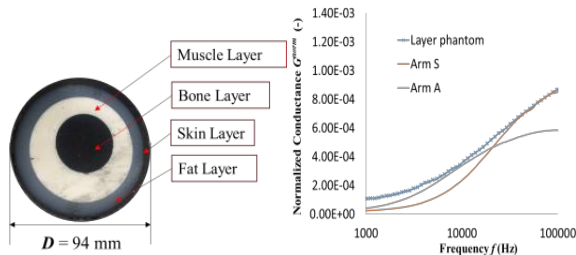


Fig.1 Configuration & electrical properties of layer phantom

図2に示した通り、EIST法は、電極を空間場外周に多数配置させたセンサにより、各電極間の電気を計測し、アルゴリズムにより断面画像再構成するものである。

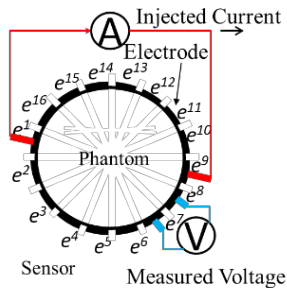


Fig.2 EIS measurement

## 3. 実験結果

図3に示した通り100 mL当たり0.1gのアルブミンのよどみが発生したリンパ浮腫早期状態のファントムの画像を作成した。

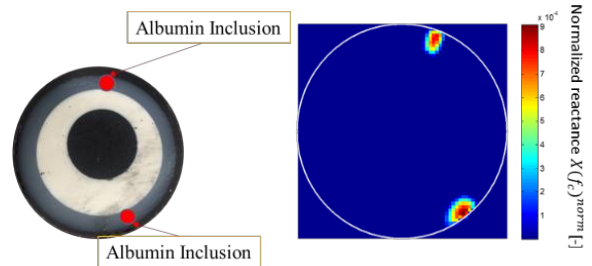


Fig.3 Reconstructed image

## 4. 考察

上腕ファントムに100 mL当たり0.1gのアルブミンのよどみが画像再建によって検出されました。これによって、実際のリンパ浮腫画像診断の可能性を示しました。

## 5. 結言

- (1)リンパ浮腫早期状態を模擬したファントムを作成し、計測しました。
- (2)断面画像により、ファントムにアルブミンの変化を観測することが出来ました。

実際のリンパ浮腫を計測に応用することは今後の課題となる。

## 文献

- 1) Packham, B.; Koo, H.; Romsauerova, A.; Ahn, S.; McEwan, A.; Jun, S. C.; Holder, D. S. Comparison of frequency difference reconstruction algorithms for the detection of acute stroke using EIT in a realistic head-shaped tank. *Physiol. Meas.* 33, 2012, 767–786.
- 2) Warren, A. G.; Brorson, H.; Borud, L. J.; Slavin, S. a Lymphedema: a comprehensive review. *Ann. Plast. Surg.* 2007, 59, 464–72.

# 生体電気インピーダンス法で測定した血液透析患者の体内水分量バランスと循環動態および栄養状態との関連性

○安藤 誠<sup>1,2</sup>, 隅中 智太<sup>1</sup>, 島田 典明<sup>3</sup>, 浅野 健一郎<sup>3</sup>, 小野 淳一<sup>2</sup>, 軸屋 和明<sup>2</sup>, 望月 精一<sup>2</sup>  
<sup>1</sup>公益財団法人 大原記念倉敷中央医療機構 倉敷中央病院 臨床工学部 人工透析センター支援室  
[〒710-8602 岡山県倉敷市美和 1-1-1]

<sup>2</sup>川崎医療福祉大学大学院 医療技術学研究科 臨床工学専攻

<sup>3</sup>公益財団法人 大原記念倉敷中央医療機構 倉敷中央病院 腎臓内科

## 1. 緒言

近年、血液透析(HD)患者の dry weight (DW) の評価指標の 1 つとして生体電気インピーダンス法(BIA)が用いられている。特に、多周波数 BIA(MF-BIA)で測定される細胞外水分量(ECW)と総体水分量(TBW)の比率である ECW/TBW 比は、体内水分量バランスを示し、DW 評価指標としての利用が期待されている。

我々は、HD 患者の ECW/TBW 比と循環動態および栄養状態との関連性について検討し、ECW/TBW 比の臨床的特性を調査した。

## 2. 研究方法

過去に DW 評価の目的で MF-BIA による体成分分析と連続的ヘマトクリットモニタによる循環血液量変化率(%BV)の測定を実施した維持HD患者 60名(男性 30名, 女性 30名)を対象に、ECW/TBW 比および定期の血液検査値を調査した。

循環動態指標として、%BV と除水率から volume index (VI)を、HD 前後の血清蛋白濃度から plasma body weight index (PWI)を算出し、ECW/TBW 比との相関を調べた。同時に、血清アルブミン(Alb)、geriatric nutritional risk index (GNRI)、標準化蛋白異化率(nPCR)を栄養評価指標として ECW/TBW 比との相関を調べた。また、年齢、VI、心胸郭比(CTR)、脳性ナトリウム利尿ペプチド(BNP)、HD 後の Alb、nPCR の 6 項目を用いた重回帰分析(stepwise 法)を実施し、ECW/TBW 比の規定因子を調査した。

なお、本研究は倉敷中央病院 倫理委員会の承認を得て実施した。

## 3. 結果

単相関では、男女ともに ECW/TBW 比は年齢 ( $p<0.05$ )、%BV ( $p<0.01$ )、VI ( $p<0.05$ )、CTR ( $p<0.05$ )、BNP ( $p<0.05$ )と有意な正の相関を、HD 前後の Alb (HD 前:  $p<0.01$ , 後:  $p<0.001$ )、GNRI

( $p<0.05$ )、nPCR ( $p<0.05$ )と有意な負の相関を認めた。

重回帰分析では、男性で VI ( $p<0.01$ )、CTR ( $p<0.05$ )、HD 後の Alb ( $p<0.05$ )が、女性では年齢 ( $p<0.01$ )、BNP ( $p<0.05$ )、nPCR ( $p<0.05$ )が、全対象では年齢 ( $p<0.05$ )、VI ( $p<0.01$ )、HD 後の Alb ( $p<0.01$ )が ECW/TBW 比の独立した関連因子であった。

## 4. 考察

HD 患者の ECW/TBW 比は加齢に伴って上昇し、その相関は女性で強い傾向にあった。筋肉量は細胞内液量と関連し、その低下は ECW/TBW 比の相対的な上昇をきたすことから、加齢に伴う生理的な筋肉量の低下が ECW/TBW 比の上昇をきたすとされる。女性では体脂肪量が多く、男性に比べ筋肉量のばらつきが小さい。そのため、女性で年齢による ECW/TBW 比の変化が強く現れた可能性がある。

VI は間質から血管内への plasma refilling の程度を反映する適正体重評価指標とされる。VI と ECW/TBW 比との相関関係から、ECW/TBW 比の示す体内水分量バランスが適正体重の指標となり得ると考えられた。また、ECW/TBW 比は栄養評価指標である Alb、nPCR と強く関連した。HD 患者の栄養低下は実体重の低下を引き起こし、DW との乖離から ECW/TBW 比の上昇をきたすと考えられ、栄養状態と体内水分量バランスとは密接に関連すると考えられる。これらのことから、ECW/TBW 比は適正体重と栄養状態の両方を評価できる指標であることが示唆された。加齢による生理的変化を考慮することで、適正体重評価指標としての ECW/TBW 比の有用性がより高まる可能性がある。

## 5. 結言

MF-BIA で測定した HD 患者の ECW/TBW 比は加齢に伴って上昇し、循環動態および栄養状態と強く関連する指標であると考えられた。

## シングルニードル透析における適切な血液回路の検討

○藤原千尋\*, 望月精一\*\*, 小川武人\*\*

\*岡山大学病院 臨床工学部[〒700-8558 岡山県岡山市北区鹿田町2丁目5-1]

\*\*川崎医療福祉大学 臨床工学科

### 1. 緒言

通常の血液透析は、2本の穿刺針を用い脱血および送血を連続に行うことで連続的な流れとして血液回路内を灌流している。しかし、シングルニードル透析(SND)では1本の穿刺針で血液回路内を灌流させるため、分岐回路の必要性により、脱血と送血を交互に行うため、間歇的な流れとなる。

本研究では、得られた実験結果をもとに、(公社)日本臨床工学技士会「透析用血液回路標準化基準 Ver1.00」<sup>1)</sup>のシミュレーション内容について、SNDにおける適切な血液回路を検討した。

### 2. 実験方法

SND 治療モードにおいて、静脈圧の切替上限値/下限値を 250/150 mmHg とし、血液浄化器には APS15SA(旭化成メディカル)、穿刺針はクランプキャス(カニューレ長 33 mm, 16G;メディキット)、Y字型コネクタ(日本コヴィディエン)を用いた。灌流液はウシ血液を用い、生理食塩液を用いてヘマトクリット値(Hct)を 30%に調整し、尿素を混和した。調整後のウシ血液の総蛋白量(TP)は 4.3~5.5 g/dLであった。設定血液流量は 200, 250, 300 mL/min に変化させた。平均血液流量、尿素クリアランスの比較には *t* 検定を用い、*p*<0.05 を有意とした。

また得られた SND 回路内流量波形(Fig. 1)から、血液回路の送血側の圧力損失 *dP* を評価した。

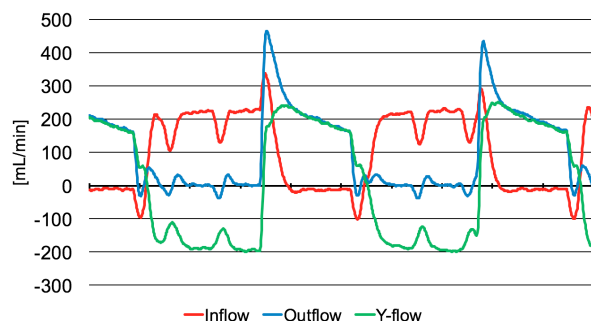


Fig. 1 The waveforms at SND circuit (10 sec).

### 3. 実験結果

設定血液流量 200, 250, 300 mL/min の平均血液流量は 114.1±1.2, 131.3±1.5, 145.9±1.2 mL/min

で、尿素クリアランスは 83.3±3.9, 92.3±2.9, 99.9±1.4 mL/min で、いずれも有意であった(Fig. 2)。脱血時間は、2.5±0.2, 2.2±0.2, 2.0±0.2 sec で、送血時間は 1.4±0.2, 1.4±0.2, 1.5±0.2 sec であった。

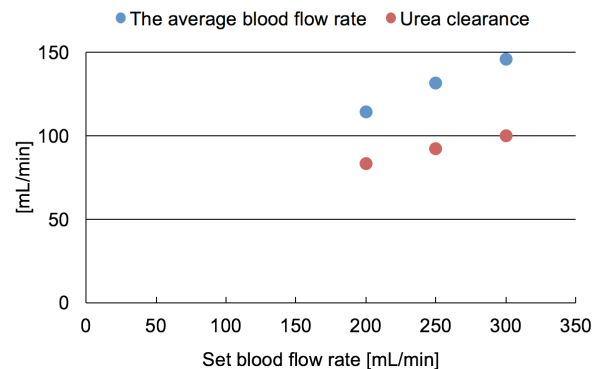


Fig. 2 The average blood flow rate and urea clearance.

### 4. 考察

設定血液流量に対する SND の平均血液流量は、およそ 1/2 程度であり、尿素クリアランスについても平均血液流量に依存し、通常の透析のように十分なクリアランスを得られなかった。SND の間歇的な流れは、脱・送血において緩急のある流量波形となる。送血流量(Outflow)で、それは顕著であり 0-500 mL/min を約 0.15 sec の僅かな時間で変位する。また穿刺針の長さ・径についても考慮が必要であるが、「透析用血液回路標準化基準」によると Hct 30%においても、細径チューブは圧力損失 *dP* が大きいと示されている。一方、太径チューブは血液回路のコンプライアンス、ピロー部の有無、ポンプチューブセグメントなどによるバッファの増大が考えられるが、圧力損失を低下させることで送血時間の短縮が可能になると考えられた。

### 5. 結言

シングルニードル透析は、細径チューブにおいて圧力損失を助長し、太径チューブではバッファを増大させるが、送血時間を短縮させクリアランスを向上させることが可能であると予測された。

### 文献

- 1) [http://www.ja-ces.or.jp/03publish/pdf/touseki\\_hyoujuka\\_kijun1.00.pdf](http://www.ja-ces.or.jp/03publish/pdf/touseki_hyoujuka_kijun1.00.pdf)

## Vascular Access 機能低下の重症度と CL-Gap の有用性について

○小野淳一\*, 白髪裕二郎\*\*, 佐々木環\*\*\*, 小笠原康夫, 望月精一

\*川崎医療福祉大学医療技術学部臨床工学科[〒701-0193 岡山県倉敷市松島 288]

\*\*川崎医科大学附属病院 ME センター, \*\*\*川崎医科大学腎臓・高血圧内科学

### 1. 緒言

血液透析治療を行うには、動脈と静脈を吻合し、表在静脈から 200～300ml/min の脱、返血ができる Vascular Access(VA)を作成する必要がある。血液透析は VA に2本の透析穿刺針を穿刺し、脱血した血液をダイアライザーに導き、血液を浄化した上で返血する治療である。しかし、動静脈吻合部における流れの乱れや頻回穿刺により血管壁の肥厚が生じ血管狭窄が生じると VA 機能低下を引き起こし、透析効率の低下や VA 閉塞をきたす。このような VA 機能低下を的確に検出し、VA Intervention Therapy (VAIVT) を適応することは、透析効率の維持や VA 寿命の延長のために重要な課題である。この問題に対し、我々は透析前後の BUN 濃度から算出される透析効率と、透析治療条件から理論的に計算される透析効率の格差を評価するクリアランスギャップ (CL-Gap) を提唱し、実血流量の低下や再循環による透析効率の低下を検出できることを報告してきた。しかし、VAIVT 前後で CL-Gap 値が変化する群と変化しない群があり、その機序は明らかにされていない。そこで、我々は VA 機能低下の重症度分類の重症度と CL-Gap 値の関係について検討を行った。

### 2. 実験方法

VA 機能低下に伴う脱血不良と、穿刺針の太さや形状による脱血不良と分別することを目的に、牛血液実験系により穿刺針の脱血特性を評価し、設定血流量に対する実血流量の関係式を求めた。

次に、自己内シャントの狭窄にて VAIVT を施行した 52 例を対象に、透析開始 30 分後に指示血流量ならびに設定血流量 300ml/min の条件下にて、実血流量を測定した。また、治療前後の BUN 濃度の変化から、CL-Gap 値を計算した。VA 機能低下の重症度分類として、穿刺針の脱血特性推定値に対して実血流量が 10%以上低下した症例を脱血不良と定義し、正常群 (QB 指示:-, QB300:-), 低下群 (QB 指示:-, QB300:+), 不全群 (QB 指示:+, QB300:+) の3群に分類し、CL-Gap 値の推移を比較した。

### 3. 実験結果

VA 機能低下の重症度別の CL-Gap 値を比較したところ、正常群では CL-Gap 値は低値を示したのに対し、低下群、不全群と重症度の進行に伴い、CL-Gap 値は高値を示した(図1)。また、VAIVT 後には、低下群、不全群の CL-Gap 値はいずれも正常群の値程度まで低下した。

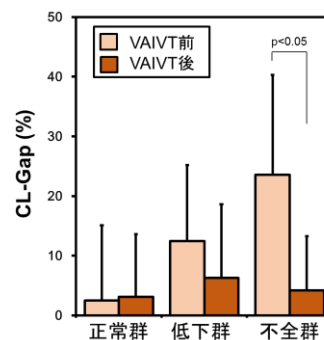


図1. VA機能低下の重症度とCL-Gapの関係

### 4. 考察

VA 機能低下の進行に伴い VAIVT 前の CL-Gap は高値になる傾向を示し、かつ、VA 機能低下、機能不全群では、VAIVT 後に実血流量の上昇と CL-Gap 値の低下が確認された。このことから、CL-Gap 値は VA 機能低下による透析効率の低下を正確に検出できるものと考えられた。また、機能低下群では、指示血流量で脱血不良が認められなかったにも関わらず CL-Gap 値が高値を示した原因として、指示血流量は、透析前半の評価であるのに対し CL-Gap 値は透析治療全体における評価であることから、透析治療中の除水による VA 機能のさらなる低下が寄与した可能性が示唆された。

### 5. 結言

穿刺針の脱血特性推定式を用いて VA 機能不全の重症度分類を行った結果、VAIVT 治療適応の指標としての CL-Gap 値の有用性が確認された。

## ポリスルホン膜製血液濾過器における血栓形成状況とライフタイムの比較

○宮坂武寛<sup>\*,\*\*</sup>, 王博<sup>\*</sup>, 佐野斗士矢<sup>\*</sup>, 木下慶祐<sup>\*</sup>, 八木優太郎<sup>\*</sup>, 林鳳娟<sup>\*\*</sup>

<sup>\*</sup>湘南工科大学 工学部 人間環境学科[〒251-8511 神奈川県藤沢市辻堂西海岸 1-1-25]

<sup>\*\*</sup>湘南工科大学大学院 機械工学専攻[〒251-8511 神奈川県藤沢市辻堂西海岸 1-1-25]

### 1. 緒言

持続緩徐式血液濾過器(フィルタ)は 24 時間以上使用できることが求められ、血液の凝固を防ぐ方法が試みられている。中空糸開口部の淀み低減を目的としてファンネル構造(漏斗形状)を取り入れた旭化成メディカル社製エクセルフロー(以下 AEF)と、透水性能向上を目的として中空糸設計の最適化によるリニューアルを実施した東レ社製ヘモフィール SHG(以下 SHG)が販売されている。そこで、各種血液濾過器における中空糸開口部を実際に観察し、透水性能とフィルタライフタイムの比較を行うことを目的とした。

### 2. 実験方法

ポリスルホン中空糸膜を用いた血液濾過器 AEF と SHG、川澄社製レナサポートの中空糸開口部を電子顕微鏡にて観察した。また、AEF と SHG を用いて、血液流量  $Q_B$  を 100 mL/min、濾過流量  $Q_F$  を 10 mL/min に設定して牛血液系の血液濾過実験を施行し、実験開始から血液側入口圧が 250 mmHg に達する時間をフィルタライフタイムとして測定した。血液実験後、中空糸を切開しその内表面を観察した。

### 3. 実験結果

図 1 に中空糸開口部の電子顕微鏡画像を示す。現行の AEF でファンネル構造が、また SHG においてもすり鉢状の構造が確認されたが旧品の AEF、レナサポートでは観察されなかった。図 2 に現行の AEF と SHG のライフタイム計測結果を示す。AEF と SHG のライフタイムには差が見られなかった。図 3 に血液濾過実験後の中空糸内表面の観察結果を示す。AEF では比較的流れ方向全体でクロッシングが生じているが、SHG では血液側入口付近のみでクロッシングが生じていた。

### 4. 考察

中空糸開口部の観察結果では、SHG にもすり鉢状構造が観察されたが、これは SHG でも中空糸開口部の血液淀み低減を目的として、すり鉢状構造が取り入れられていると考えられる。牛血液実験では AEF と

SHG にライフタイムの差は見られなかったが、中空糸内表面のクロッシングの状態は AEF と SHG で異なっていた。これは AEF の方が中空糸内径は大きく中空糸本数が多いことから、AEF の方が線速度は低く、クロッシングが生じやすかったためではないかと考える。

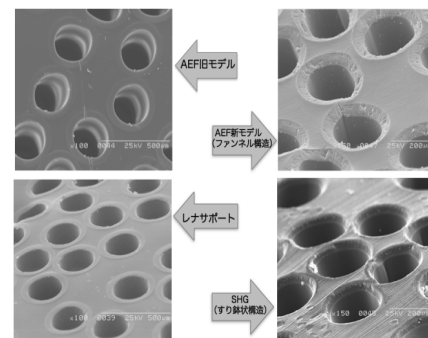


図 1 中空糸開口部の電子顕微鏡画像

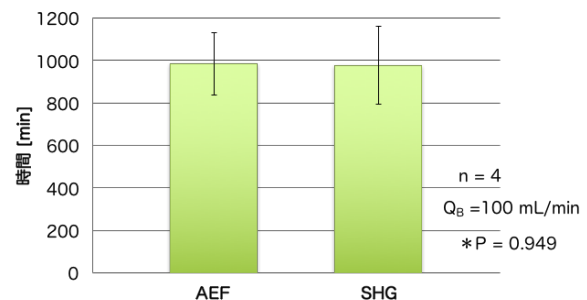


図 2 フィルタライフタイムの比較

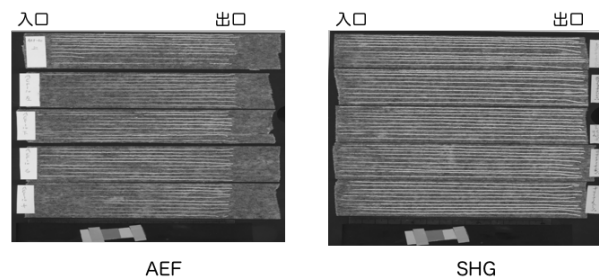


図 3 中空糸内表面の観察

### 5. 結言

現行の AEF と SHG で中空糸開口部に漏斗形状が確認された。AEF と SHG にライフタイムの差は見られなかったが、クロッシングの分布が異なることがわかった。

# 要旨

ポスターセッション

(優秀ポスター賞応募アリ)

## 空気接触による血小板の活性化

○澁谷慎<sup>1</sup>, 後藤晴<sup>1</sup>, 内貴猛<sup>1</sup>, 小野和秀<sup>2</sup>, 杉山博信<sup>2</sup>

<sup>1</sup>岡山理科大学 生体医工学科[〒700-0005 岡山県岡山市理大1-1]

<sup>2</sup>日機装株式会社

### 1. 緒言

血液に異物が混入すると血液中の血小板や凝固因子が活性化して血液は凝固し、血栓が形成される。空気接触によっても血液の凝固が促進することが一般的に知られている。しかし、空気接触によりどの程度凝固が促進するのか、そしてそのメカニズムについては実はよくわかっていない。そこで、本研究では空気接触により増加する血液中の血小板第4因子(PF4)とβトロンボグロブリン(β-TG)の濃度を測定して空気接触による血小板の活性化度合いを検討した。

### 2. 実験方法

11人の健常人から採取した5 mLの血液を2分間静置(static),あるいは2分間転倒混和(no air),同量の空気を入れて2分間転倒混和(with air)し、氷冷した。転倒混和については、血液を入れたシリンジを軸が鉛直方向になるようにローテータに取り付けて18 rpmで押し子とシリンダの位置が入れ替わるように回転させた。20分間氷冷した後、血液を2,500 G, 20分間, 5°Cで遠心分離し、上清中のPF4, β-TGの濃度を測定した。採取した血液中の血小板数も測定した。

2分間静置あるいは転倒混和した血液から200 μLを分注して10 mLの生理食塩液に添加し、750 Gで5分間遠心分離した後の上清3 mLをキュベットに入れ、波長576 nmにおける吸光度を測定して式(1)により溶血率H(%)を求めた。ここで、最初に採血した血液から200 μLを分注して10 mLの純水, 10 mLの生理食塩液に添加した溶液をそれぞれ陽性対象, 陰性対象とした。

$$H = \frac{\text{試験液吸光度} - \text{陰性対照吸光度}}{\text{陽性対照吸光度} - \text{陰性対照吸光度}} \times 100 \dots (1)$$

なお、採血を含む本研究は、岡山理科大学人を対象とした研究倫理審査委員会の承認(受付番号27-6)を受けて実施した。

### 3. 実験結果

個人差をなくすためstaticの値で基準化したno airの血液とwith airの血液中のPF4濃度を比較した結

果、with airはno airより有意に( $p < 0.01$ )大きく、約2.5倍であった(図1)。

また、with airのβ-TGもno airより有意に( $p < 0.01$ )大きく、約1.8倍であった(図2)。

溶血率を測定した結果、static, no air, with air, いずれの間にも有意差はなく、空気と接触しても溶血が発生しないことがわかった。

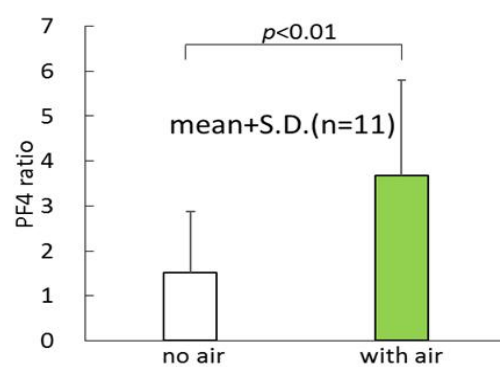


Fig. 1 The ratio of PF4 concentration of no air and with air to that of static blood.

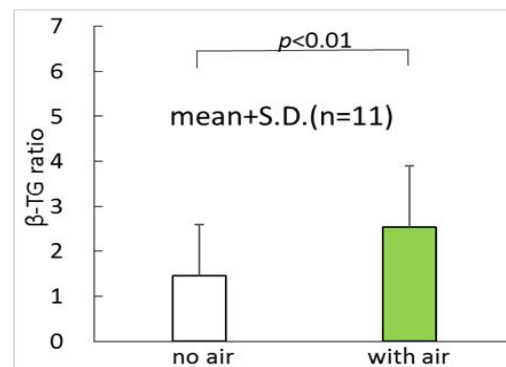


Fig. 2 The ratio of β-TG concentration of no air and with air to that of static blood.

### 4. 結言

血液を空気に接触させると、ポリプロピレンに接触させた場合と同程度のPF4とβ-TGが放出され、ポリプロピレンに接触させた場合と同程度血小板を活性化させることがわかった。血小板の活性化には空気中の酸素あるいは窒素が関係していると考えられ、現在、窒素を血液と接触させた場合の血小板の活性化度合いを検討している。また、そのメカニズムを明らかにするため、TATと第XII因子等の血液凝固因子の動態を検討している。

## 小麦・多糖類混合系ゲルの物性について

○細田捺希\*, 吉村美紀\*\*

\*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 1-1-12],

\*\*兵庫県立大学

### 1. 緒言

食品ハイドロコロイドは、増粘性、保水性、ゲル化性、気泡性、乳化性といった様々な機能を持つことから、加工食品、高齢者用食品の食感改良のために用いられる食品素材としての役割などとして発展してきている<sup>1)</sup>。また、多くの食品は混合系で用いられることが多いことから、食品モデルとして、今回は小麦とセルロースと澱粉の多糖類混合系ゲルを作成し、その物性を検討した。

### 2. 実験方法

#### (1) 試料

小麦粉(中力粉)と蒸留水(粉に対して 50%)、食塩(粉に対して 3%)を用い試料を調製し、単独試料(C)とした。セルロースA、セルロースB、セルロースF、タピオカ澱粉 T を各々 5%混合した試料を SA, SB, SF, ST とした。先行研究より、セルロースは、F, A, B の順に水分散状態が良く、体積基準粒子径は小さかった(SA:47 $\mu$ m, SB:21 $\mu$ m, SF:252 $\mu$ m)。試料は、30 分間混捏し、10 $^{\circ}$ Cで 40 分間以上静置、圧延、成形(縦1cm, 横1cm, 高さ2.5mm)した。15分間ゆでた後、冷却、水切りし、ゆで後試料とした。

#### (2) 水温変化

温度計(HI 9063, ハンナ製)を使用しゆで始めからゆで終わりまでの水温変化を 10 秒ごとに測定した。

#### (3) 吸水率

ゆで前試料 150g を用い、ゆで前試料とゆで後試料の重量を測定し吸水率を以下の式により算出した。  
吸水率(%) = (ゆで後試料重量(g) - ゆで前試料重量(g)) / ゆで前試料重量(g) × 100

#### (4) 表面色

測色計(ND-300A, 日本電色工業(株)製)を用いてゆで後試料の測定を行い、L 値、a 値、b 値を求め、色差として $\Delta E$  値を以下の式より算出した。

$$\Delta E \text{ 値} = \sqrt{(a' - a)^2 + (b' - b)^2 + (L' - L)^2}$$

#### (5) 貫入試験

クリープメーター(RE-3305: 山電製)を使用し、試料の 95%を圧縮速度 1.0mm/sec で圧縮した。初期弾性率と、歪 0.2, 0.5, 0.8 における貫入応力を求めた。

### 3. 実験結果

ゆで時の水温変化は、試料間に大きな差は認められなかった。

吸水率は、C と比較し、SA, SB は低値を示し、SF はわずかに低値を示した。ST は大きく高値を示し吸水性の高い試料となった。

表面色は、C と比較し、SA < SF < ST < SB の順で $\Delta E$  値が高値を示し、C との色差が大きくなった。

貫入試験において、初期弾性率は、C と比較し、SA, SB, SF, ST のいずれの試料もやや高くなり、SB で最大となった。貫入応力は、全ての試料において、歪の増加に伴い高くなり、歪 0.8 における試料間の差が最大となった。貫入応力は、C と比較し、ST < SF < SA < SB の順で高値を示し、SB の貫入応力は他の試料より有意に高くなった。

### 4. 考察

貫入応力は、C と比較し、ST < SF < SA < SB の順で高値を示し硬くなった。これはセルロースの水分散状態と体積基準粒子径との相関がみられ、水分散状態がよく体積基準粒子径が小さいほど貫入応力が高値を示し硬くなることが明らかとなった。粒子径が小さい試料は全体の表面積が広がりセルロースの保水性が高くなり小麦粉の実際の濃度が高くなることも予想される。タピオカ澱粉 ST は、貫入応力が低値を示したが、これはセルロースが水分吸収を阻害するのに対し、タピオカ澱粉は促進し水分を多く含むことによると推察された。

### 5. 結言

水分散状態が良く体積基準粒子径が小さいセルロースの混合により、より貫入応力は高値を示し硬くなった。一方、タピオカ澱粉は水分を吸収しセルロース試料より軟らかくなった。混合する食品ハイドロコロイドの違いにより差がみられることが明らかになった。

### 文献

- 1) 西成勝好: 食品ハイドロコロイドの開発と応用, シーエムシー出版, 1-3, 2007.

## 小麦粉-パルプ混合系の物性に及ぼすパルプ粒径の影響

○永井紘太\*, 北森江里佳\*\*, 佐藤恵美子\*\*\*, 吉村美紀\*\*

\*兵庫県立大学 大学院 [〒670-0092 兵庫県姫路市新在家本町 1-1-12]

\*\*兵庫県立大学

\*\*\*新潟県立大学

### 1. 緒言

近年, 食品に様々な機能性を付加させた商品の開発が盛んに行われている。不溶性食物繊維の一種であるパルプ素材(以下パルプ)は, 食品添加物としても広く用いられており, 腸内環境の改善や血清 LDL-コレステロールの低下, 血糖値上昇抑制作用などの効果を有することが報告されている<sup>1)</sup>。本研究ではパルプの添加によって食品の有する機能性の向上を目指し, 置換率・粒径の異なるパルプを用い小麦粉-パルプ混合系を作製し, その物性への影響を調べた。

### 2. 実験方法

試料は同量の薄力粉(日清製粉:フラワー), 強力粉(日清製粉:カメリア)を混合したものの一部をパルプに置換して作製した。パルプは粒径, 形状の異なる4種類 A, B, C, D(表 1)を使用した。置換割合は小麦粉重量の 20%, 30%とした。全粉量の 80%の蒸留水で 10 分間膨潤させたパルプを小麦粉に加え, 5 分間混捏しドゥに調製したものを 12.0±0.1g ずつ分割し直径 30mm, 高さ 12mm のガラス製リングを用い充填, 成型した。この試料を 25℃で 60 分間静置した後, 1000ml の沸騰水中で 10 分間加熱を行った。加熱後 25℃で 60 分間静置させたものを測定試料とした。測定はクリープメーター (RE2-3305B(山電(株)))を用い, 圧縮試験・テクスチャー測定を行った。圧縮試験では圧縮速度 1mm/sec, 圧縮率 80%で圧縮応力, 圧縮歪, 圧縮エネルギー, 初期弾性率を求めた。テクスチャー測定では圧縮速度 1mm/sec, 測定歪率 80%でかたさ, 凝集性, 付着性を求めた。

表 1 パルプの形状・粒径

サンプル名	形状	中央値(μm)	最頻値(μm)
パルプ A	粉末状	121	142
パルプ B	無定形 (フレーク状)	252	316
パルプ C	無定形 (フレーク状)	372	479
パルプ D	無定形 (フレーク状)	612	710

### 3. 実験結果

置換率の影響では, 全てのパルプにおいて 20%置換試料より 30%置換試料で圧縮応力, 圧縮歪, 圧縮エネルギーが有意に増加した。

圧縮応力はパルプ A, B, C, D 20%置換試料, 30%置換試料とも有意な差はみられなかった。圧縮歪では 20%置換試料, 30%置換試料ともパルプ A 試料が最も低値であり, 初期弾性率ではパルプ A 試料とパルプ D 試料が高い値を示した。

付着性は 20%置換試料において, パルプ A 試料が低く, パルプ B, C, D 試料の順に高くなった。パルプの粒子径が大きくなるにつれ, パルプ置換試料の付着性も増加する傾向がみられた。凝集性では 20%置換試料, 30%置換試料ともパルプ A 試料が最も低く, ばらつきやすい結果となった。

### 4. 考察

パルプ 20%置換試料と比較し, パルプ 30%置換試料で有意に初期弾性率, 圧縮応力, 圧縮エネルギーが増加したことから, パルプの置換率が高くなると硬くなることが示唆された。これは高い吸水性をもつパルプの置換率が増加したことで, 小麦粉が利用する水分が減少したためと考えられる。

パルプの粒径に関しては, パルプ A 試料で圧縮歪, 凝集性が低値を示したことから, 粒径が小さいパルプは崩れやすく, ばらつきが大きくなる傾向を示した。粒径が小さいものほどパルプの表面積が増加し, より多くの水分がパルプに分布したためだと推察する。

### 5. 結言

小麦粉-パルプ混合系における, パルプ置換が物性に与える影響を置換率, 粒径の異なる 4 種類のパルプを用い検討した。パルプ置換率が高い方が硬く, 粒径が小さい方が硬いゲルとなった。

#### 文献

- 1) Brown L, Rosner B, Willett WC, et al. Cholesterol-lowering effects of dietary fiber: a meta-analysis. Am J Clin Nutr 1999; 69: 30-42

# ミスフォールディングによる凝集形成を防止するためのペプチドとその抑制効果

○杉山さつき, 水沼亮太, 柴立郁美, 佐伯政俊

山陽小野田市立山口東京理科大学大学院 工学研究科[〒756-0884 山口県山陽小野田市大学通1-1-1]

## 1. 緒言

タンパク質のミスフォールディングにより凝集形成されたアミロイドはアミロイドーシスと深く関係し、その集合体形成を抑制するための研究が精力的に進められている。本研究ではモデルタンパク質としてRNA分解酵素のバルナーゼのM1モジュール(BM1)に着目した。BM1は、タンパク質中では $\alpha$ ヘリックス構造であるが、BM1フラグメントではアミロイドを形成する。そこで分子シャペロン様の分子設計を施すことによってタンパク質中と同様のBM1の $\alpha$ ヘリックス形成を実現させ、アミロイド形成による凝集を防止するメカニズムを解明することを目的とした。

## 2. 実験方法

タンパク質中のある領域が $\alpha$ ヘリックス構造を形成する場合、他のヘリックスと分子間や分子内で疎水性相互作用し $\alpha$ ヘリックス構造を形成する「会合型」と独立してヘリックスを形成する「単一型」がある。BM1は単独では $\beta$ シート構造を形成するため会合型であると考えられる。



図1.  $\alpha$ ヘリックス構造形成の様式

しかし、BM1は会合する $\alpha$ ヘリックス構造が存在しないため、キネシンスーパーファミリータンパク質であり単一型の $\alpha$ ヘリックス構造の形成能を有するncdをBM1と相互作用する領域として用いた。 $\alpha$ ヘリックスの形成を促すタンパク質としてキネシンスーパーファミリータンパク質の $\alpha$ ヘリックス領域ncdを用い、BM1とncdの間にループを介したペプチド(BN1A: AQVINTFDGVADYLQTYH - [ $\beta$ -Ala - Asp - D-Ala -  $\beta$ -Ala(5)] - KEQLFQSNM)を設計した。さらにそれぞれのアミノ酸残基の重要性について調べるため、probrnやncdの配列中の残基を別の残基に置換したペプチドを設計した。これらのペプチドはFmoc固相合成法により合成し、チオフラビンT蛍光測定で

凝集の有無を評価しCDスペクトル測定で二次構造を評価した。

## 3. 実験結果

BN1AはチオフラビンTの蛍光測定においてアミロイドの形成を抑制することができた。さらに、BN1Aのncdに相当する配列の残基を別の残基に置換した各種変異体ペプチドを調製したところ、PheをAlaやTyr、Leuに置換、LysをArgやAlaに置換すると蛍光強度が増大した。また、これらのペプチドのCDスペクトル測定ではランダムコイルや $\beta$ シート構造を形成してしまった。ncdのPheやLysがBM1の $\alpha$ ヘリックス構造の形成において重要であると考えられる。

## 4. 考察

ncdの配列中において、PheをAlaやTyr、Leuに置換、LysをArgやAlaに置換すると $\alpha$ ヘリックスを形成しなくなり凝集してしまったことから、これらの変異位置が $\alpha$ ヘリックス構造形成を誘導するにあたり重要であると考えられる。

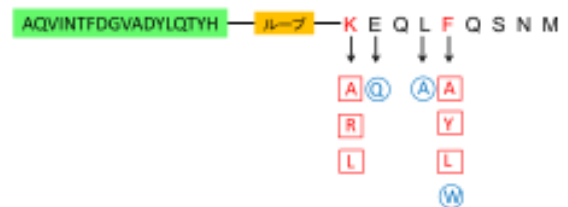


図2. ncdにおける各種変異位置と凝集の有無

四角は凝集、丸は凝集しなかった変異位置を示す

## 5. 結言

LysやPhe残基がミスフォールディングを防ぐ $\alpha$ ヘリックス構造の誘導形成において重要なアミノ酸残基である。

## 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.

# 温度勾配を駆動力とした アスピリン/シクロデキストリン包接錯体の分子輸送現象

○江口和也<sup>(1)</sup>, 川口翼<sup>(2)</sup>, 新屋敷直木<sup>(3)</sup>, 八木原晋<sup>(3)</sup>, 喜多理王<sup>(3),(4)</sup>, Doreen Niether<sup>(5)</sup>,  
Jana Hovancova<sup>(6)</sup>, Simone Wiegand<sup>(5),(7)</sup>

<sup>(1)</sup>東海大学大学院 理学研究科物理学専攻 [〒259-1292 神奈川県平塚市北金目 4-1-1]

<sup>(2)</sup>東海大学大学院 総合理工学科総合理工学専攻, <sup>(3)</sup>東海大学 理学部物理学科

<sup>(4)</sup>東海大学マイクロ・ナノ開発研究センター, <sup>(5)</sup>ICS-3 Soft Condensed Matter, Forschungszentrum Jülich GmbH

<sup>(6)</sup>Chemistry Department, Pavol Jozef Šafárik University

<sup>(7)</sup>Chemistry Department – Physical Chemistry, University Cologne

## 1. 緒言

シクロデキストリン(CD)は内側にゲスト分子を包接することが知られている。そのため包接、徐放挙動を利用してドラッグデリバリーシステムに応用しようとする研究が盛んになされている。しかし包接錯体の熱力学的非平衡下での物質輸送は今までに議論されていない。そこで本研究では温度勾配を駆動力とした物質の輸送現象であるルービッチ・ソレー効果に着目した。この現象を特徴づける値としてソレー係数 $S_T$ があるが、 $S_T$ の大きさや符号反転のメカニズムについての詳しい分子論的な解釈は充分ではない。しかし近年では水溶液において水素結合の寄与が $S_T$ の値を増減させる報告が成されている<sup>1)</sup>。本研究ではCDとアスピリンの包接錯体の $S_T$ がどのように変化するかを詳細に調べることで、分子量の変化や水素結合サイト数のソレー効果への寄与を明らかにすることを目的とする。

## 2. 実験方法

$\alpha$ -、 $\beta$ -、 $\gamma$ -、methyl- $\beta$ -、heptakis(2,6-di-O-methyl)- $\beta$ -CD を溶質に、溶媒に超純水を用いてそれぞれの濃度を 1.0wt%に調製した。ゲスト分子にはアセチルサリチル酸(アスピリン)を用いてそれぞれのシクロデキストリンに等モルとなるように調製した。測定温度範囲は 10~60°Cで infrared thermal diffusion forced Rayleigh scattering 法(IR-TDFRS 法)<sup>2)</sup>を用いてソレー効果の観測を行った。

## 3. 実験結果

Fig.1 に水を溶媒とする $\alpha$ -、 $\beta$ -、 $\gamma$ -CD およびこれらCDとアスピリンの包接錯体の水溶液の $S_T$ の温度依存性を示す。水溶液中の $S_T$ は測定温度範囲で温度の上昇と共に負から正へと増加した。測定温度 40°C以下においてCDとアスピリンの包接錯体の $S_T$ は包接により増加した。

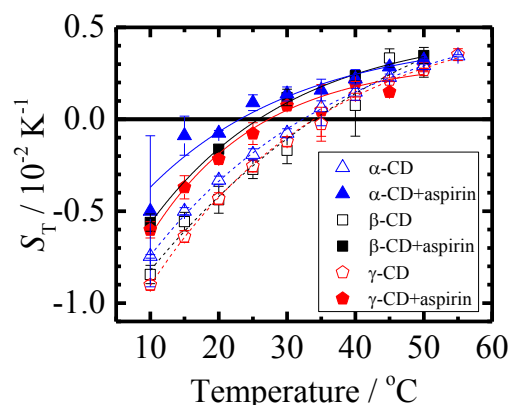


Fig.1: The Soret coefficient of CDs(open symbol) and CD/aspirin(solid symbol) in water as a function of temperature.

## 4. 考察

アスピリンを包接したことによる $S_T$ の増加はCDがアスピリンを包接し水酸基数がCD単体よりも増加したためだと考えられる。一方で測定温度が40°C以上になると低温側で見られたようなソレー係数 $S_T$ の増加はなかった。これは測定温度が高温になるにつれて包接能が弱まり包接錯体を形成する割合が減ったためだと考えられる。発表では上記の議論に加え methyl- $\beta$ -、heptakis(2,6-di-O-methyl)- $\beta$ -CD のソレー効果についても詳細に議論する。

## 5. 結言

CDにアスピリンを包接させたことにより $S_T$ の値は上昇した。これはアスピリンの包接に伴い水酸基数が変化したためだと考えられる。よって水素結合はソレー係数の支配因子の一つである。

## 文献

- 1) K. Eguchi, D. Niether, S. Wiegand, and R. Kita. Eur. Phys. J. E 39, 16086-16094, 2016.
- 2) S. Wiegand, H. Ning, and H. Krieger. J. Phys. Chem. B 111, 14169-14174, 2007.

# TAVIにおける生体弁ステント部の不完全展開に関する力学的検討

○伊藤朋晃<sup>\*, \*\*</sup>, 山田宏<sup>\*</sup>, 白井伸一<sup>\*\*\*</sup>

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

<sup>\*\*</sup>小倉記念病院 検査技師部工学課, <sup>\*\*\*</sup>小倉記念病院 循環器科

## 1. 緒言

経カテーテル的大動脈弁植込み術(transcatheter aortic valve implantation; TAVI)は石灰化大動脈弁狭窄症に対する有効な手術法である<sup>1)</sup>。TAVIに用いられる弁のうちバルーン拡張式弁は弁輪部で保持されるので、弁輪部の力学特性の影響を受ける。Nijhoffらによると、規定径23 mmのステント付生体弁の留置後の直径はCT撮像より $21.4 \pm 1$  mm(平均値 $\pm$ 標準偏差)であった。このステントの不完全展開の原因解明は手術成績の向上に不可欠である<sup>2)</sup>。

## 2. 方法

臨床症例で規定径23 mmの生体弁が選択された症例に着目し、留置術後のCT画像から生体弁の形態計測を行った。なお、本研究は小倉記念病院倫理委員会の承認を得ている。

生体弁の留置後の直径が23 mmを下回る原因を明らかにするため、内径20 mm、幅10 mmのフッ素樹脂製リングをバルーン中央の外周に配置し、規定量の水17 mLを用いてバルーンを拡張した。

上述の実験条件を模擬してバルーンによる拡張時の内圧と体積の関係を検討するため、Abaqus 2017 (SIMULIA)にて回転軸対称の有限要素解析を行った。バルーンは初期容積19.6 mL、ヤング率800 MPa、ポアソン比0.45、リングはヤング率13 GPa、ポアソン比0.42とした。

## 3. 結果

CT画像での術前弁輪径(長軸長と短軸長)が21.6 mmと21.2 mmであった92歳女性の臨床例を図1に示す。留置後のステントの直径(長軸長と短軸長)は20.5 mmと19.5 mmで、規定径を3 mmほど下回っていた。

バルーンの拡張実験におけるバルーンの形状を図2に示す。図左側のリングを付けていないバルーンでは、拡張時の外径は23.2 mmで、このときの内圧は0.61 MPaであった。また、図右側のリングで変形を拘束したバルーンでは、拡張時の最大外径は23.8 mm、このときのバルーン内圧は0.71 MPaであった。

有限要素解析の結果、バルーンの内圧は0.61 MPaで19.8 mL、内圧1.21 MPaで20.7 mLで、それぞれ除荷時から0.2 mLおよび1.1 mLだけ増加した。

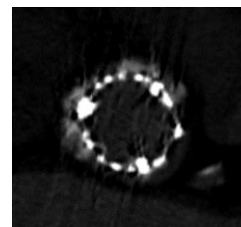


Fig. 1 Short-axis view of a stent in CT image.



Fig. 2 Comparisons of balloons with/without a ring. Each one expanded with 17 mL of water.

## 4. 考察

臨床症例で規定径に満たないステント部の不完全展開の原因については、弁輪部に石灰化が生じるなどしてバルーンの拡張を妨げられ、バルーン他の領域が膨張し、結果としてステントの拡張が途中で止まることが推察された。したがって、今後、臨床症例の術前CTで観察される石灰化がバルーンの拡張とステントの展開をどのように妨げるのか予測できれば、弁破裂の予防に繋げられる可能性がある。

## 5. 結言

バルーンの変形挙動の力学的検討により、バルーンの一部の拡張が抑制されることによってステント付生体弁が不完全展開となり得ることが示された。

## 謝辞

本研究はJSPS 科研費26420018の助成を受けた。

## 文献

- 1) Willson A., et al.: Structural integrity of balloon-expandable stents after transcatheter aortic valve replacement: assessment by multidetector computed tomography. *J. Am. Coll. Cardiol. Interv.*, 5, 525-532, 2012.
- 2) Nijhoff F et al.: Transcatheter aortic valve implantation with the new balloon-expandable Sapien 3 versus Sapien XT valve system: a propensity score-matched single-center comparison. *Circ. Cardiovasc. Interv.* 8, e002408, 2015.

## ずり応力に対する消化管組織由来の細胞応答

○志村大智, 上田早希, 道端良之介, 小川剛伸, 榊田哲哉, 谷史人

京都大学大学院農学研究科 [〒611-0011 京都府宇治市五ヶ庄]

### 1. 緒言

近年, 膜受容体や細胞骨格等が物理的刺激を感知することが注目されている. 例えば, 血管内皮細胞は, 細胞外 ATP により活性化されるイオンチャンネル型受容体の P2X4 を介して血流のずり応力 (Fluid Shear Stress: FSS) の物理的刺激を感知し, NO 産生や血管拡張といった応答を引き起こすことが報告されている<sup>1)</sup>. また, 消化管内においても, 嚥下後の食塊の形状や流動性等を感知する機構が存在すると考えられる. 我々はこれまでに, 消化管組織由来の細胞が P2X4 を介して FSS の物理的刺激に応答することを確認している<sup>2)</sup>. 一方, P2X4 以外の機械受容体の存在は示唆されているが, それらの受容体を介した消化管組織由来の細胞における応答については十分にわかっていない. 本研究では, カルシウムイメージング法を用い, P2X4 に加えてイオンチャンネル型の TRPV4 を指標に, 消化管組織由来の細胞の FSS に対する応答を明らかにすることを目的とした.

### 2. 実験方法

ヒト消化管組織由来の細胞として, 顎下腺由来 A-253, 咽頭由来 Detroit562, 結腸由来 Caco-2, 結腸腺由来 HT29-MTX-E12 を用いた. Real-Time PCR により各々の細胞について TRPV4 の遺伝子発現の有無と発現量を調べた. 次に,  $\mu$ -slide に接着させた細胞にカルシウム蛍光指示薬である Fura-2 を取り込ませた後, FSS を供し, 蛍光比を測定した (図 1). 細胞内カルシウムイオン濃度は, 細胞に FSS を供した後, カルシウムイオンフォア (A-23187) およびカルシウムキレート剤 (EGTA) を添加し, その際の蛍光比の値より算出した.

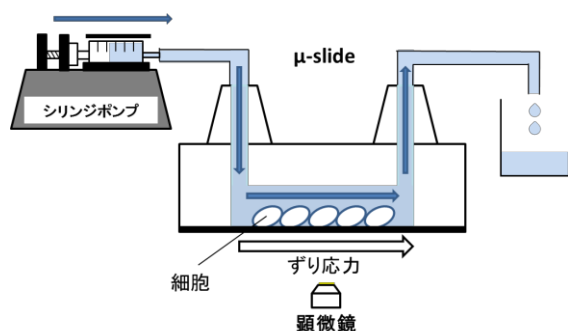


図1  $\mu$ -slideを用いた流路系の概要図.

### 3. 結果および考察

Real-Time PCR の結果から, TRPV4 は Caco-2 以外の細胞で発現し, Detroit562 において最も多かった. そこで, Detroit562 に対して TRPV4 を指標に FSS を供したところ, ATP 非存在下において細胞外からのカルシウムイオンの流入が認められた. また, TRPV4 のアンタゴニストである HC-067047 存在下で同様の試験を行ったところ, 細胞内カルシウムイオン濃度の増加量は有意に減少した. この結果から, Detroit562 はずり応力に対して TRPV4 を介して主に応答していると考えられる. 一方, HT29-MTX-E12 には P2X4 が多く発現していることから, P2X4 を指標に ATP 存在下/非存在下で FSS に対する応答を比較したところ, ATP 存在下においてより顕著な細胞外からのカルシウムイオンの流入が認められた. また, P2X4 のアンタゴニストである 5-BDBD 存在下で同様の試験を行ったところ, 細胞内カルシウムイオン濃度の増加量は有意に減少した. この結果から, HT29-MTX-E12 はずり応力に対して P2X4 を介して主に応答していると考えられる.

### 4. 結言

FSS に対して, Detroit562 および HT29-MTX-E12 は, 各々 TRPV4 および P2X4 を介して主に応答すること, また, 消化管組織においては部位特異的な FSS に対する細胞応答機構が存在することを見出した.

### 謝辞

本研究を始めるにあたり, 獨協医科大学 生体医工学 安藤譲二先生, 東京大学大学院システム生理学 山本希美子先生にご指導いただきました. また, 本研究は生研センター「革新的技術創造促進事業 (異分野融合共同研究) - 工学との連携による農林水産物由来の物質を用いた高機能性素材等の開発」の支援を受けて実施しました. ここに謝意を表します.

### 引用

- 1) Yamamoto, K., Korenaga, R. and Ando, J.: Fluid shear stress activates  $Ca^{2+}$  influx into human endothelial cells via P2X4 purinoceptors. *Circ. Res.* 87(5), 385-391. 2000
- 2) 道端良之介ほか: 日本農芸化学会関西支部大会 (第 496 回講演会), B-a01, 2016

# Langmuir 法を利用した非対称性リポソーム調製法の検討

○光武祐希, 大石祐司, 成田貴行

佐賀大学大学院 循環物質化学専攻[〒840-8502 佐賀県佐賀市本庄町1]

## 1. 緒言

細胞内の多様な化学種の影響と解析の難しさのため、細胞そのものを用いて目的の物質や構造の役割を解明するには限度がある。この困難から、最小限度の構成要素を再構成し、特定の挙動を実験にて再現することでこれらの機能的役割を明らかにしようとする試みがなされている。細胞の膜表面は表と裏が異なる組成の脂質から構成されており、この非対称性は細胞構造安定性<sup>(1)</sup>や細胞死<sup>(2)</sup>に関して必要不可欠な要素として知られている。しかし、そのメカニズムは明らかではない。非対称性リポソームの調製法として液滴法があるが、この方法では脂質二重層間にオイルが混入する欠点があった。そこで我々は非対称性ユニラメリポソームを調製する手段として気/液界面上の単分子膜(Langmuir 膜(L膜))に着目した。本研究では Langmuir 法を利用した非対称性リポソームの新規調製法を提案する。Langmuir 法を用いて調製したリポソームは蛍光顕微鏡観察を使った相分離構造の有無により、その非対称性を確かめた。

## 2. 実験方法

超純水を張ったテフロンシャーレ(内径 90 mm)の中に ITO 基板(50 mm×50 mm)を静置し、水面上に DOPC (NBD-Chol 蛍光標識)をトルエンにて展開した。乾燥後 ITO 基板を引き上げ、12 時間この基盤を乾燥することで単分子脂質を有する ITO 基板を得た。同サイズの ITO 基板上に超純水を張り、DOPC/DPPC/Chol=1/1/1 (Texas Red DHPE)トルエン溶液を用いて L 膜を同様に水面上に調製した。乾燥脂質単分子膜を有する前者の ITO 基板とこの L 膜を張り合わせ、45°C で ±2V、10kHz のパルス電圧を 2 時間印加しリポソーム分散液を得た。調製されたリポソームは赤フィルター(645/75):Texas Red と緑フィルター(527/30):NBD のフィルターを変えて蛍光顕微鏡で観察を行った。

## 3. 実験結果および考察

図1は、単分子脂質膜を有する ITO 基板上の蛍光顕微鏡像を示している。この結果より L 膜を利用したことでほぼ均一に脂質膜が ITO 基板上に累積されていることが分かった。

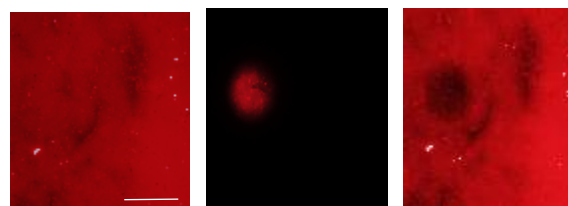


図1,水平引上法によって ITO 基板上に累積された Texas Red DHPE 膜の蛍光退色の様子。左図:全体の蛍光像、中図:スポット照射時の蛍光像、右図:20 分スポット照射後の全体の蛍光像  
スケールバー10 μ m

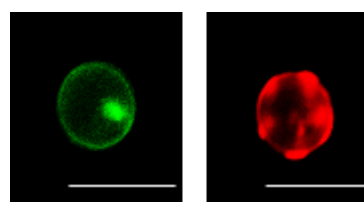


図2,DOPC と DOPC/DPPC/Chol=1/1/1 からなる非対称リポソーム 蛍光顕微鏡像(左図/緑フィルター)と(右図/赤フィルター)  
スケールバー10 μ m

図2はそれぞれの蛍光フィルターで観察された蛍光顕微鏡像を示す。同一のリポソームに対して NBD-Chol (左) と Texas Red (右) の蛍光による縁取りがそれぞれ確認できた。この結果は異なる脂質成分の両方が一つのリポソームに含まれていることを示している。また、フィルターの違いで全くことなる形態が観察された。DOPC 一成分系の縁が均一な蛍光像に対し、DOPC/DPPC/Chol 三成分からなる膜成分の蛍光像では相分離構造が現れたことを示している。このことは、膜表裏の拡散(フリップフロップ)は起こっていないため、非対称性が保たれていることを示唆している。

## 4. 結言

Langmuir 膜を使った新規のリポソーム調製法を用いて、非対称性を有するリポソームの調製に成功した。この方法は、油の混入がない非対称性リポソーム調製方法として今後細胞膜の非対称性の役割を明らかにするうえで重要なツールとなりえる。

### 文献

- 1) Manno, S. ; Takakuwa, Y. Mohandas, N. PNAS. 2002, 99, 1943–1948.
- 2) Balasubramanian, K. ; Schroit, A. J. Annu. Rev. Physiol. 2003, 65, 701–734.

## コラーゲンゲルに現れる新奇な巨視的パターン

○近藤美咲\*, 大石祐司\*, 古澤和也\*\*, 成田貴行\*

\*佐賀大学大学院工学系研究科[〒840-8502 佐賀県佐賀市本庄 1]

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

### 1. 緒言

コラーゲンは動物の代表的な細胞外マトリックス(ECM)である。ECM は体内で、細胞外側に構造体を形成し、細胞と細胞の接着や細胞配列に強く関与している。当研究室では海藻成分のECMの一種であるアルギン酸水溶液を束縛された空間でゲル化すると、特徴的な巨視的パターンを有するアルギン酸カルシウムゲルを自発的に形成できることを見出している。コラーゲンもアルギン酸と同じような条件場におかれた際に、パターンを自発的に形成するのであれば、ECM 自身が元来、特徴的な形態を形成する能力を有していることを示す証拠となり得る。一方で細胞工学の面からは、三次元細胞組織体の制御が切望されており、ECM を利用した組織形態のコントロールは生体外で臓器及び組織再生する技術を後押しする手段になる可能性を秘めている。本実験では、コラーゲンをアルギン酸ゲルのパターン形成時と同様な条件でゲル化させ、巨視的なパターンを形成する能力があるかを検討した。

### 2. 実験方法

内径が異なる毛細管(0.30, 1.0, 1.90 mm)に各々コラーゲン溶液 ICP-50 (KOKEN)を充填した。そのコラーゲンを封入した毛細管の端を透析膜で、もう片方の端をフッ素シールテープで封緘し、透析膜から緩衝溶液が拡散するシステムを構築した。この毛細管を各 pH 緩衝溶液(pH 7.0, 8.0, 9.0, 10, 11)中、10°Cで一週間ほど浸漬した。その後、明視野顕微鏡及び偏光顕微鏡で形成したゲルの形態の観察を行った。

### 3. 実験結果

主に pH 9、10 の緩衝液に浸したコラーゲン溶液に緩衝溶液の拡散方向と垂直に縞模様のパターンが形成することを確認した。その間隔は約 50  $\mu\text{m}$  であった。明視野顕微鏡観察と、これをクロスニコル状態で観察した像を図 1 (a),(b)に其々示す。この縞間隔は緩衝溶液の拡散口より遠くなるに従って広がった。コラーゲン分子は線維状態で規則正しく配列し、特徴的な縞模様バンド構造(平均間隔 64 nm)を形成することが知られているが、今回観察されたパターンは拡散から

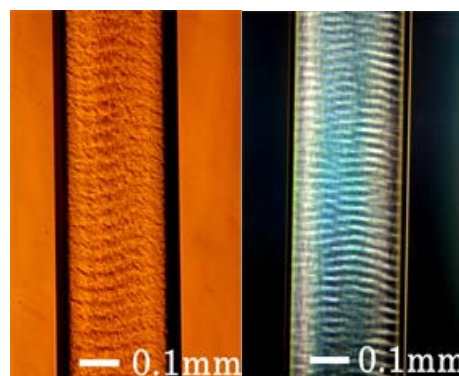


図 1 pH 9 緩衝溶液、10 °Cゲル化させたコラーゲンゲルの(a)明視野顕微鏡像 (b)偏光顕微鏡像

の距離が増すと間隔が増加すること、間隔サイズのオーダーが  $10^4$  倍ほど大きいことから、既知の線維バンド構造とは異なる新奇なコラーゲンの形態であることを示唆している。パターンの数値的な解析から、今回得られた縞間隔は、拡散口から縞までの距離におおよそ比例する事が分かった。パターンの数値的な特徴は、ゲル中での拡散反応の結果、沈殿物が生成される際に沈殿物の不連続なバンド構造として現れるリーゼガング現象と一致した。コラーゲンは等電点を約 pH 9.1 に持ち、pH 9 付近の緩衝溶液がコラーゲン水溶液に拡散することで電荷がキャンセルされ、水への溶解度を低下させる。実験結果でも pH 9 で最もパターンが鮮明に表れている。このことから、コラーゲン水溶液の場合、溶解度の低下により生じる凝集及び収縮作用を伴った一種のリーゼガング現象が引き起こされ、不連続で規則的なパターンが形成されたと考察される。

### 5. 結言

アテロコラーゲン溶液を空間内でゲル化することで巨視的なバンド形態が生じることを見出した。形態の特徴はリーゼガング現象に類似した。

### 文献

- 1) Ramachandran, G. N., and Kartha, G.: Structure of collagen. Nature, 174, 269-270, 1954.

# 浅大腿動脈のねじり短縮複合負荷に対する 自己拡張型 Ni-Ti 合金製ステントの有限要素解析

○朱 暁冬\*, 橋本雅也\*\*, 梅津光生\*\*\*, 岩崎清隆\*\*\*\*

\*早稲田大学 創造理工学研究科[〒162-8480 東京都新宿区若松町 2-2]

\*\*早稲田大学 創造理工学部 総合機械工学科

\*\*\*早稲田大学理工学術院 創造理工学部 総合機械工学科

\*\*\*\*早稲田大学理工学術院 先進理工学研究科 共同先端生命医科学専攻

## 1. 緒言

浅大腿動脈には、歩行などの日常的運動に伴い、血管の長軸方向への短縮変形やねじり変形が複合的に作用する。自己拡張型 Ni-Ti 合金製ステントで治療された浅大腿動脈の約 25%に再狭窄が起こり、その内 43.7% にステント破断が起こっていたという報告がある<sup>1)</sup>。本研究では、有限要素法を用いて血管モデル内でステントを留置し、短縮・ねじり複合負荷を作用する解析プロセスを構築し、ステントの破断の有無およびステントを介して血管に生じる応力を解析することを目的とした。

## 2. 方法

Micro-CTを用いて外径6mm、長さ40mmの自己拡張型ステントを撮影し、CADを用いてステントをモデル化した。ステントの段階的な自己拡張を実現するため、ステントモデルの外側に径7mm長さ12.5mmの筒を4つ配置し、ステントの径を可変できるようにモデル化した。血管モデルは内径4mm、厚さ1mm、長さ46.36mmとして作成し、長さ60mmまで引っ張り、初期ひずみを与えた。Ni-Ti合金製ステントの材料は弾性率62GPa、ポアソン比0.33とした。血管モデルは超弾性材料であるMooney-Rivlinとして定義した。

まず、ステントの外側の筒を中心方向に変位させ、ステントの外径を2mmまで圧縮する解析を行った。次に、4つの筒をステント端部から順に拡張し、ステントへの径方向の拘束を解除し、血管モデル内にステントを留置する解析を行った。最後に、浅大腿動脈の変形を模擬するため、長軸方向15%短縮、0.3deg/mmのねじりの複合負荷をステントが留置された血管モデルに繰り返し作用した<sup>2)</sup>(Fig.1)。解析はADINA9.2(NewtonWorks Corporation)を使用した。



Fig.1 Strain and stress analysis of a self-expandable stent and artery deployed with the device.

## 3. 結果

ねじり短縮複合負荷を作用させた1サイクルにおけるステントの各節点に生じるひずみの振幅と平均ひずみを求め、ステントの破断耐久性を予測するためのConstant-Life疲労線図を作成した。すべての点が疲労限度線の下に位置し、破断が生じる可能性が低いことがわかった。血管モデルに生じる応力の振幅を求めたところ、拡張されたステントのエッジ部と接する血管部位において応力振幅が高いことがわかった。

## 4. 考察

浅大腿動脈ではステント破断を抑制するステントの開発が求められる。本研究で構築した手法により浅大腿動脈に用いるステントの破断の予測に有用と考えられた。臨床ではステントが留置された浅大腿動脈の遠位部で再狭窄が生じた報告があり<sup>3)</sup>、血管に生じる高い応力振幅は再狭窄の原因になり得ると考えられた。

## 5. 結言

有限要素法を用いてステントを血管モデルに留置し、ステントを留置した血管モデルにねじり短縮複合負荷を作用する解析プロセスを構築した。ステントの破断の有無を検証でき、設計段階での検証に用いる手法として有用と考えられた。ステントエッジ部と接する血管部位に高い応力振幅が生じることがわかり、再狭窄の原因となり得ると考えられた。

## 謝辞

本研究は、厚生労働省革新的医薬品・医療機器・再生医療製品等実用化促進事業のご支援を得て行った。ここに関係者諸氏に厚くお礼申し上げる。

## 文献

- 1) O. Lida, et al., Catheter Cardiovasc Interv 78(4), 2011, pp.611-617.
- 2) CP. Cheng, et al., JVIR 17(6), 2006, pp.979-987.
- 3) D. Karnabatidis, et al., Cardiovasc Intervent Radiol 34(6), 2011, pp.1172-1181.

# 粒子画像流速計測法を用いた医療機器の接続部の流れ場が 血栓形成に及ぼす影響の検討

○松橋祐輝\*, 鮫島啓\*, 梅津光生\*, 岩崎清隆\*\*

\*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 早稲田大学 TWIns]

\*\*早稲田大学先進理工学研究科 共同先端生命医科学専攻

## 1. 緒言

体外で血液を循環する ECMO 回路や人工透析回路は患者の治療の貢献に寄与している。しかし、これらのデバイスでは血液を循環するチューブとコネクタの接続部に生ずる段差で血栓が形成されやすいことが知られている。本研究では、粒子画像流速計測法を用いて、先端形状の異なるコネクタとチューブ接続部の流れ場を可視化し、流れ場が血栓の形成と成長に及ぼす影響を明らかにすることとした。

## 2. 実験方法

観察部位は内径 6 mm の流路を有した直方体のシリコンモデルにポリウレタン製コネクタを接続した部位とした。コネクタは内径 6 mm, 外径 8 mm で先端の段差が 1 mm のテーパ無コネクタと、同一径で端部から内側に 30° のテーパ加工を施し、先端の段差が約 100  $\mu\text{m}$  のテーパ有コネクタとした。それぞれのコネクタを接続したモデルをローラポンプ、弾性コンプライアンスチューブ、抵抗器で構成した空気非接触の一巡閉鎖回路に組込んだ。生理食塩水とグリセリンにより粘度を  $4.80 \pm 0.02 \text{ mPa}\cdot\text{s}$  (37 °C) に調整した作動流体に粒子径 15  $\mu\text{m}$  の蛍光粒子を混ぜ 100 mL/min で循環した。回路内部圧力は平均 70 mmHg に設定した。シリコン製流路モデルとコネクタとの接続部に Nd:YAG レーザを照射し、カットオフ周波数 550 nm の光学フィルタを通して、高速度カメラでピクセルサイズ 0.025 mm, 400 frame/sec で撮像した。各コネクタの流入部と流出部をそれぞれ撮像した。

## 3. 実験結果

流量はローラポンプの影響で脈動流であるため、最大流量時と最小流量時の流速を算出した(図 1)。いずれの接続部においても流れの剥離が観察された。また、テーパ無コネクタの流出部では拡大管形状の影響により、コネクタとチューブとの接続端部から約 1.5 mm の位置に流れの再付着点が観察された。

## 4. 考察

光干渉断層装置を用いて、生体外で血栓を観察

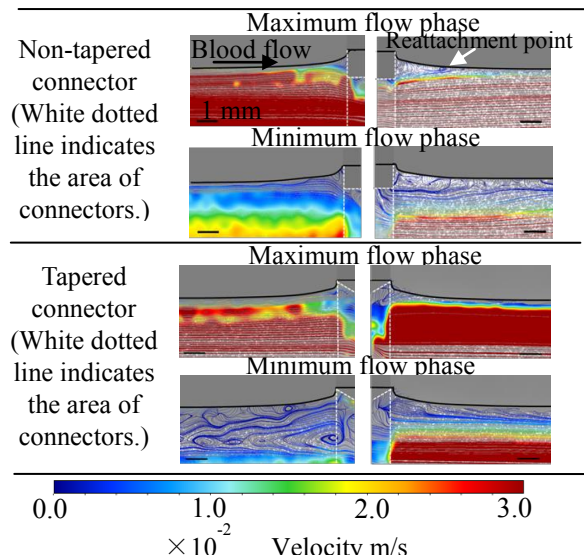


Fig.1 Visualization of blood flow using PIV. Streams of Non-tapered connector and Tapered connector.

した先行研究<sup>1)</sup>と流れ場を比較した結果、流れの剥離領域で血栓が生じていることがわかった。また、テーパ無コネクタの流出部では流れの再付着点の影響により血栓成長が抑制されることがわかった。

## 5. 結言

本研究で、流れの剥離領域は血栓の成長に影響を及ぼし、流れの再付着点は血栓の成長を抑制することがわかった。この知見を深めることで、コネクタとチューブ接続部の流れ場を制御し血栓の形成を抑制する、あるいは、飛散を抑制する安定化を実現するコネクタの設計指針の取得に貢献でき得ると考えられた。

## 謝辞

本研究は AMED の医薬品等規制調和・評価研究事業における「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。ここに関係者諸氏に厚くお礼申し上げる。

## 文献

- 1) 松橋祐輝, 梅津光生, 岩崎清隆, コネクタ形状の違いが血栓形成に与える影響の検討, 第 39 回バイオロロジー学会抄録集, 2016

## 赤血球軸集中現象の顕微計測 —変形性の影響—

○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 大阪府吹田市千里山西 3-3-35]

\*\*関西大学 システム理工学部 [〒564-8680 大阪府吹田市千里山西 3-3-35]

## 1. 緒言

微小血管内の血液流れにおいて赤血球は血管中心軸付近に多く分布することが知られている(軸集中)<sup>1)</sup>. この現象は赤血球のもつ高い変形性に起因すると推測されるが, 定量的に評価した研究は数少ない. 本研究では, 正常赤血球およびグルタルアルデヒド(GA)溶液により硬化された赤血球サスペンションを微小円管に流し, 下流断面における赤血球の断面内分布を精密に計測することで, 赤血球の軸集中現象に及ぼす変形性の影響を定量的に調べた.

## 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, 正常赤血球(intact RBC)を得た. 赤血球の変形能を低下させるために, 正常赤血球をグルタルアルデヒド(GA)溶液(400-10,000 ppm)に浸漬し硬化赤血球(GA RBC)を作製した. これらの赤血球をデキストラン40(10wt%), ウシ血清アルブミン(1wt%)を含んだリン酸緩衝生理食塩水(PBS)に浮遊させ作動流体とした.

内径 $50\mu\text{m}$ のガラス円管(管長 $L=10, 50, 100\text{mm}$ )に, シリンジポンプを用いて作動流体を一定流量(レイノルズ数 $\sim 0.1$ , 壁せん断速度 $\sim 1000\text{s}^{-1}$ )で流した. 図1に示すように, 円管を水槽内で水平に支持し, 管出口の正面から, 超長作動距離対物レンズを備えた高速度カメラによって管内流れ中の赤血球を観察・撮影した(2000fps). 得られた画像から画像処理ソフトImageJを用いて赤血球の中心位置を求め, 赤血球の断面内分布を得た.

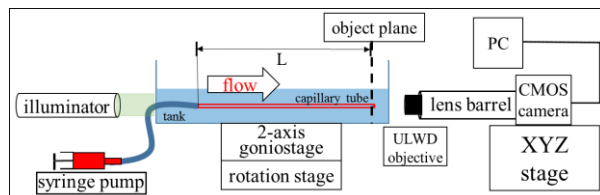
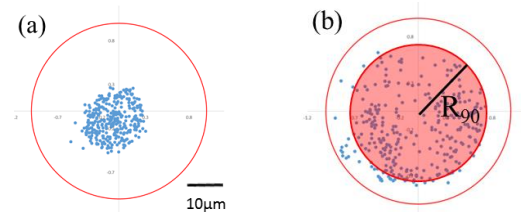
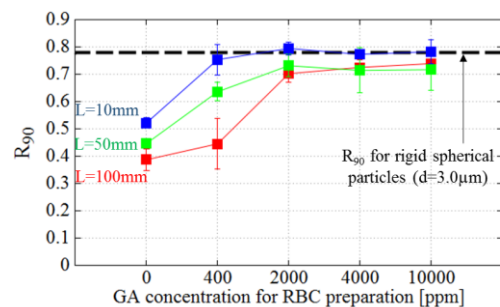


図1 実験装置概略図

## 3. 実験結果及び考察

実験結果の一例として, 管入り口から100mm下流におけるintact RBCとGA 10000ppm RBCの断面内分布を図2に示す. 図の各点が赤血球の中心位置を表す. (a)の正常赤血球は流路中心軸付近に集まり, 強い軸集中を示した. 一方, (b)に示す10000ppmのGA溶液に浸漬した硬化赤血球は軸集中を示さず, 断面内に広く分散することが確認された.

図2 赤血球の断面内分布 ( $L=100\text{mm}$ )  
(a) intact RBC, (b)GA 10000ppm RBC図3 各種赤血球の軸集中度 ( $R_{90}$ )

赤血球の軸集中の程度を評価するため, 観察された赤血球総数の90%を含む円領域の半径を求め(図2(b)), 円管半径で規格化した値を $R_{90}$ と定義した. 図3に, 3種の管長 ( $L=10, 50, 100\text{mm}$ ) に対する $R_{90}$ のGA濃度依存性を示す. 比較のため, 直径 $3.0\mu\text{m}$ の剛体球粒子で得られた一様分布に対する $R_{90}$ の値を破線で描いた.  $L=10\text{mm}$ ではintact RBCを除いて軸集中の傾向は見られず, ほぼ一様な分布を示した.  $L=100\text{mm}$ ではintact RBCとGA 400ppm RBCは $R_{90}<0.5$ となり強い軸集中が確認された. 一方, それ以上のGA濃度での硬化赤血球では $R_{90}$ が破線の値に近づき, 軸集中を示さないことが分かった.

## 4. 結言

微小円管内流れにおける赤血球の断面内分布を新しい手法を用いて高分解能で計測することができた. その結果, 正常赤血球は強い軸集中を示したのに対し, 硬化赤血球は硬化に用いた試薬の濃度の上昇に伴って軸集中の程度が弱まった. これらの結果は赤血球の軸集中現象は赤血球の変形性に起因し, その程度は変形性の増大とともに強くなることを示している.

## 文献

- 1) Goldsmith, H.L.: Red cell motions and wall interactions in tube flow. Fed. Proc., 30, 1578-1590, 1971.



# 要旨

ポスターセッション

(優秀ポスター賞応募ナシ)

# Gelation study of NiPAM monomer induced by UV photopolymerization

○Isala Dueramae\*, Fumihiko Tanaka\*\*, Naoki Shinyashiki\*\*\*, Shin Yagihara\*\*\*, Rio Kita\*,\*\*\*

\*Micro/Nano Technology Center, Tokai University [〒259-1292 Kanagawa, Hiratsuka-shi, Kitakaname]

\*\*Department of polymer chemistry, Graduate School of Engineering, Kyoto University [〒668-8501 Kyoto]

\*\*\*Department of Physics, Tokai University [〒259-1292 Kanagawa, Hiratsuka-shi, Kitakaname]

## 1. Introduction

Poly(*N*-isopropylacrylamide) p(NiPAM) has been appearing in the literature with increasing frequency as homopolymers and as constituents of copolymers, gels, microgels and surface layers. This interest is driven by the famous lower critical solution temperature (LCST) behavior, first described by Heskins and Guillet [1]. Hydrogels are interested materials in biomedical field because their characteristic are similar with living tissues, capable to retain large amounts of water, or biological fluids, both soft and rubbery consistence, high biocompatibility and so on.

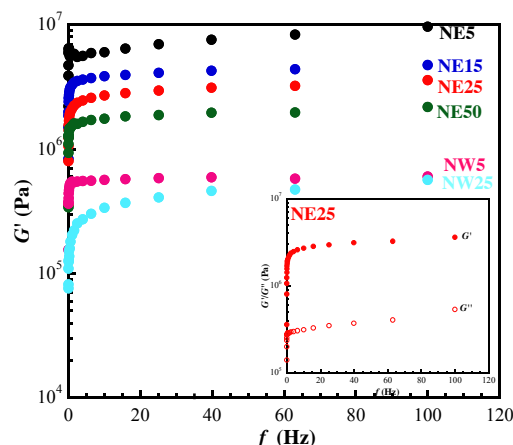
Therefore, p(NiPAM) hydrogels are prepared with different mole ratio of monomer and crosslinker by photopolymerization. Gel formation and viscoelastic property of hydrogels are investigated.

## 2. Experimental method

p(NiPAM) hydrogels were synthesized in ethanol and deionized (DI) water containing 1 M of NiPAM monomer in the presence of different contents of crosslinker (1/5 – 1/100 mole of NiPAM) with constant amount of photoinitiator. Samples were polymerized by UV irradiator for 0-300 min under the controlled condition. After polymerization, the hydrogels were purified before testing.

## 3. Results

Fig. 1 shows the frequency dependence of the storage and loss modulus (inset) of pNiPAM at different mole ratio of monomer and crosslinker. When abbreviation of N, E, W and number are replaced as NiPAM, preparation in ethanol, preparation in deionized water and mole ratio of monomer to crosslinker. All samples, both  $G'$  and  $G''$  increase with increase in the oscillation frequency, and  $G'$  is higher than  $G''$  (see inset of Fig.1), reflecting an elastic-like behavior. The  $G'$  significantly increase with increase of crosslinker.



**Fig.1** Viscoelastic property as a function of frequency.

## 4. Discussion

An increase in crosslinker content influences the crosslinking point density in the hydrogels, network of gel become denser resulting in the strong chain entanglements, which enhances the  $G'$  of hydrogels. The prepared hydrogels in DI water show lower  $G'$  than in ethanol because the porous structure have presented in the former samples.

## 5. Conclusion

Poly(*N*-isopropylacrylamide) hydrogels were UV polymerized, which is an environmental friendly alternative to conventional polymerization techniques. Hydrogels show higher mechanical property by preparation in ethanol. The storage modulus significantly enhanced with increase of crosslinker contents.

## Acknowledgments

This work was partly supported by MEXT-Supported Program for the Strategic Research Foundation at Private Universities (2014-2018), MEXT KAKENHI #26103529 and #24350122 and Kanagawa Industrial Technology Center, Kanagawa.

## References

- 1) Heskins, M. Guillet, J.E. J. Macromol. Sci., Part A: Pure Appl. Chem. 2, 1441-1455, 1968.

# 食肉および魚肉の物性・咀嚼性に及ぼす食品品質改良剤と加熱の影響

○畦西克己\*、永井紘太\*\*、吉村美紀\*\*

\*大阪大学歯学部附属病院 栄養管理室 [〒565-0871 大阪府吹田市山田丘 1-8]

\*\*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)

## 1. 緒言

病院や介護施設などの食事に使用されている魚肉は硬く、パサツキが強い食材が多く、食べにくいのが現状である。咀嚼障害のある高齢者が、このような食材を簡単に軟らかくすることが重要であり、在宅でも容易に使用できることが必要である。

市販食肉・魚肉品質改良剤製剤(スベラカーゼミート)の原材料であるパパインおよび炭酸水素ナトリウムの働きにより、食肉および魚肉の筋原線維蛋白質を軟化させることを試みた。また、一般家庭や病院などで使用されている普通鍋と圧力鍋を用いて、加熱条件の違いによる食肉および魚肉の物性への影響について比較検討し、若年者と高齢者による嗜好性および筋電図による咀嚼性との関連についても比較検討を行なった。

## 2. 実験方法

試料は食肉および魚肉を蒸留水または 3%食品品質改良剤溶液に 15 時間浸漬し、食肉は普通鍋で 10 分間、圧力鍋で 8 分間加熱し、魚肉は普通鍋および圧力鍋とも 5 分間加熱を行った。試料の浸漬前後の重量、加熱調理後の重量より、重量増加率および重量減少率を算出した。レオメーターを用い、貫入応力、硬さ、凝集性、付着性を求めた。また、5 段階採点法で、8 項目について、若年者と高齢者を対象に官能評価を行った。筋電図は若年者を対象とし、舌骨上筋群(開口筋)と咬筋(閉口筋)を測定し、咀嚼開始から第一嚥下までと第一嚥下以降についての解析を行った。

本研究は、「兵庫県立大学研究倫理指針」、「本学部研究倫理委員会規定」および「人を対象にした研究に関する倫理規定」に則り、本学部の研究倫理委員会に倫理審査を申請し承認された(承認番号 066 および 113)。

## 3. 実験結果

1. 食肉および魚肉の軟化処理試料は軟化未処理試料と比較して、重量減少率が低く、貫入応力および貫入エネルギーが小さいことが分かった。

2. 官能評価では、若年者および高齢者とも、軟化処理した食肉および魚肉は軟らかく、まとまりやすく、噛みやすく、飲み込みやすく、おいしいという回答を得た。
3. 筋電図測定では、軟化処理した食肉および魚肉は咀嚼開始から第一嚥下まで、咀嚼回数が減少し、咀嚼時間および咀嚼活動時間が短縮し、咀嚼活動量も低下した。また、第一嚥下以降は、食肉および魚肉において、まとまりがよい軟化処理試料が咀嚼時間の短縮が認められた。
4. 加熱方法の比較では、食肉において、圧力鍋加熱試料は普通鍋加熱試料より、重量減少率が大きく、貫入応力および貫入エネルギーが小さく、テクスチャー特性の硬さは軟らかいことが分かった。
5. 魚肉は加熱方法による軟化は認められなかった。
6. 食肉の圧力鍋加熱・軟化未処理試料では、凝集性の著しい低下を示し、魚肉では付着性の著しい低下が認められた。

## 4. 考察

食品品質改良剤の成分であるパパインが食肉および魚肉のタンパク質を分解し、炭酸水素ナトリウムが食肉および魚肉の保水性を大きくすることから、重量が増加し、軟化したと考えられた。そのため、軟化処理された食肉および魚肉は軟化未処理のものよりも、軟らかく、食べやすくなった。また、加熱調理方法の比較では、圧力鍋加熱は食肉の軟化が認められたが、魚肉の軟化は加熱調理方法の違いによる影響が小さいことが考えられた。圧力鍋による加熱は食肉ではバラつき、魚肉ではパサつきが大きくなった。

## 5. 結言

咀嚼機能が低下した高齢者にミキサー食やきざみ食の代わりに市販食品品質改良剤を用いて、軟らかくした食肉や魚肉料理を病院や要介護施設で提供するだけでなく、在宅の普及においても期待ができると考えられる。

### 謝辞

最後に、研究にご協力いただきました関係者各位、対象者の方々に心よりお礼申し上げます。

## 7-ketocholesterol は p38MAPK 経路を介して 白血球の血管内皮への接着を亢進する

○谷 真理子\*、大坂 瑞子\*\*、齋 裕美\*\*、鎌田 悠子\*\*、出牛 三千代\*\*、吉田 雅幸\*\*

\*東京医歯大院 医歯学総研科・血管代謝探索講座[〒113-8510 東京都文京区湯島 1-5-45]

\*\*東京医歯大院 医歯学総研科・先進倫理医科学分野

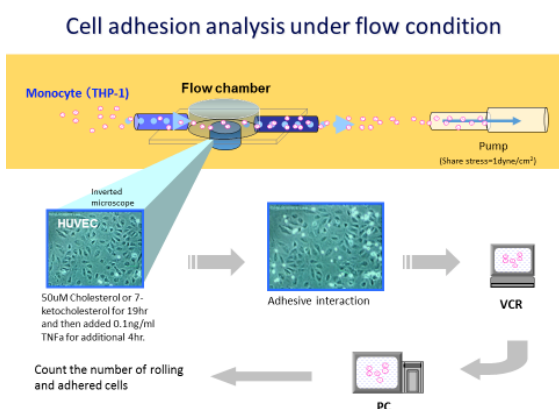
### 1. 緒言

近年、加工品を頻食する食習慣に伴い、動物性加工食品に含まれる酸化コレステロールの摂取量が増加している。

アテローム性動脈硬化巣において、食事由来の酸化コレステロールが多く検出されていること<sup>1),2)</sup>が明らかとなってきたことから、本研究では、食事由来の酸化コレステロールの一種である 7-ketocholesterol に着目し、動脈硬化の初期段階である血管炎症惹起作用について検討を行った。

### 2. 実験方法

ヒト臍帯静脈内皮細胞(HUVEC)に 0.1 ng/mL TNF $\alpha$  と 7-ketocholesterol あるいは対照としての cholesterol を添加し、ヒト骨髄単球性白血病細胞株(THP-1)を用いて、定常層流(1dyn/cm<sup>2</sup>)存在下における生理的細胞接着実験を行った(下図参照)。また、HUVEC に接着実験と同様の処理を行い、HUVEC 表面に発現する細胞接着分子の発現レベルをウェスタンブロット法で測定した。



### 3. 実験結果・考察

層流下で接着実験を行ったところ、HUVEC への THP-1 の接着は、cholesterol 添加 ( $13.1 \pm 0.54$  cells/CPF) に対し、7-ketocholesterol 添加 ( $18.9 \pm 0.35$  cells/CPF) において有意に増加した ( $p < 0.01$ )。HUVEC における細胞接着分子の発現 (E-selectin、ICAM-1、VCAM-1) は、Chol 添加では変化が認められなかったが、7-ketocholesterol 添加によって増加し

た。特に、E-selectin の発現が顕著に増加していた。細胞接着分子の発現上昇機序を検討するため、MAPキナーゼの活性化をウェスタンブロット法で確認すると、JNK の活性には変化は認められなかったが、p38MAPK のリン酸化が 7-ketocholesterol 添加によって亢進していた。p38MAPK 阻害剤(SB203580)を用いて同様の接着実験を行ったところ、7-ketocholesterol による接着亢進作用は阻害され、接着分子の発現も抑制された。

### 4. 結言

7-ketocholesterol は、p38MAPK の活性化を介して ICAM-1、VCAM-1、E-selectin の発現を増加し、単球の血管内皮に対する接着を亢進することが示唆された。

### 謝辞

本研究の一部は三島海雲記念財団学術研究助成金および科学研究費助成事業(学術研究助成基金助成金)(若手研究(B), 15K16202)によるもので、ここに謝意を表します。

### 文献

- 1) Staprans I, Pan XM, Rapp JH, et al., Oxidized Cholesterol in the Diet Accelerates the Development of Aortic Atherosclerosis in Cholesterol-Fed Rabbits. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 18, 977-983, 1998.
- 2) Sato K, Nakano K, Katsuki S et al., Dietary Cholesterol Oxidation Products Accelerate Plaque Destabilization and Rupture Associated with Monocyte Infiltration/Activation via the MCP-1-CCR2 Pathway in Mouse Brachiocephalic Arteries: Therapeutic Effects of Ezetimibe. *J Atheroscler Thromb.* 19, 986-998, 2012.

## ゼラチンゲルの破壊エネルギー測定

○武田怜\*, 槇靖幸\*, 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

食品のおいしさは主にテクスチャー(食感)とフレーバー(味・香り)により決まると考えられている<sup>1)</sup>。固体状食品において、食感は大変形・破壊のレオロジーと関連しており、味や香りの放出は咀嚼による破壊に伴って誘起されると考えられるので、食品の破壊現象はおいしさと深く関わっていると考えられる。

食品のレオロジー的性質のモデルとして、ゲル状食品がよく用いられており、その破壊のレオロジー特性の評価として、引張または圧縮試験で試料が破断するときの応力である破断応力の測定が行われる。しかし、試料表面の小さい傷や試料内部の僅かな気泡など、サイズや量が制御困難な力学的欠陥の影響で、破断応力の測定は再現性良く行うことが非常に困難である<sup>2)</sup>。このため破断応力は、破壊現象を系統的に調べ、ゲル状食品における破壊の機構を調べる際の指標としては不向きであると考えられる。

欠陥のサイズなどの形状的な因子から独立な物質特性として材料の破壊現象を定量化する方法として、試料に決められたサイズの巨視的亀裂を導入した後、荷重を加え、亀裂進展に要するエネルギーを評価する方法(引裂試験)が知られている<sup>3)-5)</sup>。定量的な指標としては、単位面積の破断面形成に要する仕事である破壊エネルギーが用いられる<sup>3)-5)</sup>。本研究では、ゲル状食品の破壊の定量的評価の指標に破壊エネルギーを用いる可能性について検討するため、ゼラチンゲルの破壊エネルギー測定を行った。

## 2. 実験方法

試料として、豚皮由来酸処理ゼラチン(250 Bloom)を用いた。アクリル製の治具とシリコンシートで構成される型にゼラチン水溶液(5-12 wt%)を注ぎ、3°Cで20時間静置してゲルを調製した。ゲルのサイズは幅 $L = 10$  cm, 高さ $H_0 = 1$  cm, 厚さ $b = 5$  mmである。引張試験機(EZ-Test, Shimadzu)を用いて引張試験および引裂試験を行った。引裂試験ではゲルに初期亀裂 $x_0 = 5$  cmを入れた。引張試験からずり弾性率 $\mu$ と伸長比 $\lambda$ における弾性エネルギー密度 $W(\lambda)$ を、引裂試験から亀裂進展開始点における伸長比 $\lambda_c$ を求め、破壊エネルギー $G$ を $G = H_0 W(\lambda_c)/2$ により求めた<sup>3)-5)</sup>。

## 3. 結果と考察

6 wt%ゼラチンゲルの引裂試験における亀裂進展過程と、伸長比 $\lambda$ に対する亀裂長 $x$ を図1に示す。亀裂進展過程を再現性良く観察可能であった。

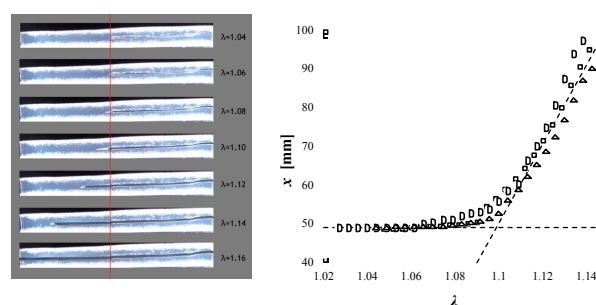


Fig. 1: Crack propagation (left) and the plot of crack length  $x$  versus stretch  $\lambda$  (right) of a gelatin gel (6 wt%). Critical stretch  $\lambda_c$  was estimated from an intersection of lines.

破壊エネルギー $G$ とずり弾性率 $\mu$ はゼラチン濃度とともに増加した。ゲルは破壊の前に大変形を生じるため、微小変形領域の力学特性である $\mu$ と破壊現象の指標である $G$ は本来独立な量であると考えられるが、 $G$ と $\mu$ はほぼ比例するという結果が得られた。濃度の異なるゲルにおける $G$ と $\mu$ の比例関係が、ゼラチンに特徴的なものか、ゲル状食品一般に成り立つものかは、今後の研究の課題である。

## 5. 結言

引裂試験によりゼラチンゲルの破壊現象を再現性良く調べることが可能だった。このため、破壊エネルギーはゲル状食品の破壊現象の定量的な指標として利用できる可能性がある。

## 文献

- 1) 西成勝好: 食品のテクスチャーとフレーバーリリース(I), 調科誌, 48, 57-69, 2015.
- 2) 西成勝好ら: ゲル状食品の動的粘弾性簡易迅速測定装置, 日食工誌, 27, 227-233, 2980.
- 3) 田中良巳: ゲルの破壊解析, 「ゲルテクノロジーハンドブック」, 中野義夫監修, エヌ・ティー・エス, 2014, pp. 285-291.
- 4) Rivlin, R. S. and Thomas, A. G.: Rupture of rubber. I. characteristic energy for tearing, J. Polym. Sci., 10, 291-318, 1953.
- 5) Baumberger, T. et al.: Fracture of a biopolymer gel as a viscoplastic disentanglement process, Eur. Phys. J. E, 21, 81-89, 2006.

# シングルニードル透析の流動特性が溶質除去に及ぼす影響

○小川武人\*, 藤原千尋\*\*, 望月精一\*

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

\*\*岡山大学病院 臨床工学部

## 1. 緒言

血液透析は、通常 2 本の穿刺針を用いて行われるが、シングルニードル透析では 1 本の穿刺針で血液透析を行う。そのため、シングルニードル透析では、Y 字コネクタを用い、脱血と返血を交互に行う。

連続して脱血と返血を行う通常の透析と、脱血と返血を交互に繰り返すシングルニードル透析とでは、透析器内での流動状態および内部濾過が大きく異なる。そのため、血液透析において異なる溶質除去特性を有する可能性がある。

そこで本研究では、小分子量、中分子量物質の溶質除去および、大分子量物質としてアルブミンの漏出について通常の透析 (DND) とシングルニードル透析 (SND) で比較検討した。

## 2. 実験方法

血液透析器には、APS-15SA (旭化成メディカル) と KF-12 (川澄化学)、溶質として、水系でビタミン B2 (VB2, 分子量 376) とリゾチーム (Lys, 分子量 14,000) を用いた。また、牛血液を用いて、アルブミンの漏出について検討した。

血流量は、SND における設定血流量を 200 mL/min とし、そのときの実血流量 (水系ではおよそ 140 mL/min, 牛血液系ではおよそ 100 mL/min) に設定して DND でもクリアランスを測定した。アルブミン漏出量の測定では、SND と DND のいずれも設定血流量を 200 mL/min とした。

SND と DND の比較には *t* 検定を用い、 $p < 0.05$  を有意とした。

## 3. 実験結果

2 種類の透析器をもちいて VB2 と Lys のクリアランスを比較した結果、SND と DND の間に有意差は見られなかった (図 1)。ただし、実血流量に差があったため、総括物質移動面積係数 KoA で比較したところ、APS-15SA を用い、VB2 の場合に DND で、Lys の場合に SND で KoA が高い傾向にあった。

シングルニードル透析と通常透析でアルブミン漏出に有意な差は見られなかった (図 2)。

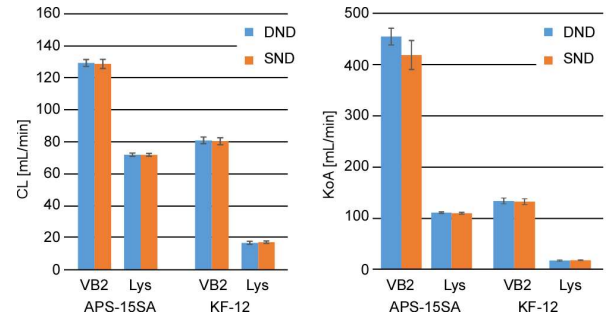


Fig. 1 Clearance and KoA.

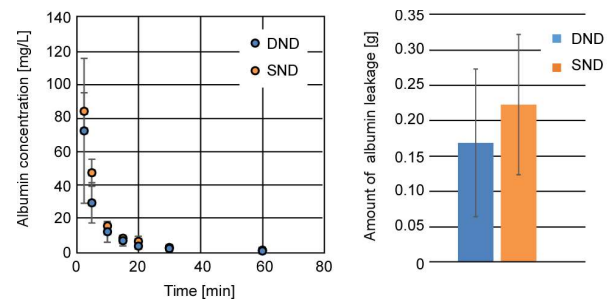


Fig. 2 Albumin leakage.

## 4. 考察

SND は脱血と返血を交互に繰り返すため、同じ設定血流量であっても、実際の血流量が DND のおよそ半分に減少するため、クリアランスが低下する。今回、実血流量を同程度とした実験では、両者のクリアランスに違いがみられなかったことから、SND と DND の流動特性による違いは小さいと予想される。ただし、KoA の違いは流動特性の違いによる境膜抵抗や透析器内濃度分布、あるいは内部濾過が原因の可能性もある。

なお、アルブミン漏出について、今回は SND で極端な濾過あるいは漏出は見られなかったが、濾過およびアルブミン漏出については、除水の影響も大きいと予想され、今後、これらの検討も必要である。

## 5. 結言

シングルニードル透析の流動特性が物質除去に与える影響は小さいと予想される。

# 透析器における内部濾過流量にファウリングが及ぼす影響

○山本健一郎\*, 峰島三千男\*\*

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

\*\*東京女子医科大学 臨床工学科

## 1. 緒言

内部濾過促進型血液透析では, 積極的に内部濾過を発生させることにより, 透析でありながら大分子も高効率に除去できる. その反面, 膜へのタンパク附着による性能低下(ファウリング)が生じやすく, 内部濾過量や溶質除去性能の経時減少が懸念される. 安全かつ効率的に内部濾過促進型血液透析を施行するためには, ファウリングが内部濾過および除去性能に及ぼす影響を把握することが重要である. そこで本研究では, 3 種類のダイアライザについて, ファウリングが内部濾過流量および除去性能の経時減少に及ぼす影響を定量的に評価した.

## 2. 実験方法

APS-15SA, APS-15E, APS-15EX (旭化成メディカル社)の透析器を評価対象とした. 血液側にはヘマトクリット 30%, 総蛋白 6.5 g/dl に調整した牛血液 (2 L), 透析液側にはリン酸緩衝溶液を用いた. 血流量 200 mL/min, 透析液側流量 500 mL/min, みかけの濾過流量 0 mL/min の条件のもと, 240 分間透析を行った. 経時的に血液および透析液出入口における圧力および溶質濃度を測定した. 超音波診断装置 ProSound Alpha7 (アロカ社)を用いて, ダイアライザの長さ方向の血流速度分布を測定することで内部濾過流量の経時変化を測定した(超音波ドップラー法).

## 3. 実験結果

透析器内にもっとも血流量が低下した部分と設定血流量の差として内部濾過流量を求めた. 透析初期 15 分における内部濾過流量は APS-15SA, APS-15E, APS-15EX でそれぞれ, 20 mL/min, 53 mL/min, 59 mL/min であった. 透析終了の 240 分後における内部濾過流量は, それぞれ 11 mL/min, 47 mL/min, 49 mL/min まで経時的に低下した(図 1). 内部濾過促進型である APS-15EX では APS-15E に比して内部濾過量の低下率はやや大きくなったが, その絶対値は高値を維持しており, 大分子である  $\alpha 1$  ミクログロブリンの時間平均クリアランスは 3 種類の透析器の中で最も高値であった(図 2).

## 4. 考察

内部濾過促進によりファウリングも促進される傾向がみられたものの,  $\beta 2$  ミクログロブリンと  $\alpha 1$  ミクログロブリンの時間平均クリアランスは高値を維持できた. このことから, 懸念された膜の細孔閉塞や狭小化の促進による大分子の除去性能低下は軽微であると考えられた.

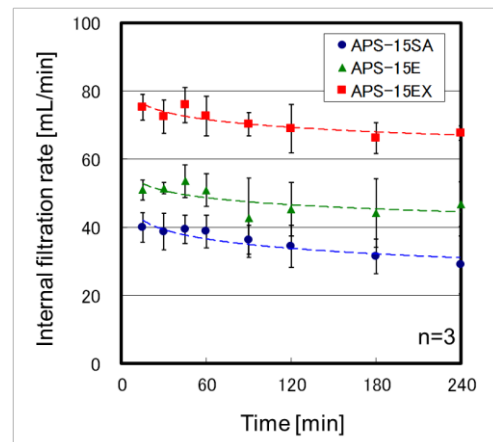


図 1 Time-dependent changes of internal filtration

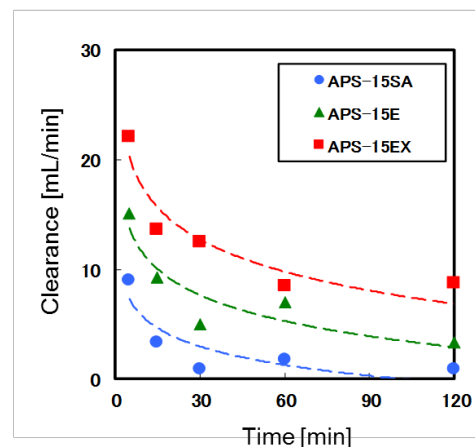


図 2 Time-dependent changes of  $\alpha 1$  microglobulin clearance

## 5. 結言

内部濾過促進型透析器である APS-15EX では, APS-15E に比べてファウリングによる内部濾過量の経時減少はやや大きいものの, 大分子溶質の時間平均クリアランスは高値を維持できた.

## 編集後記

第40回日本バイオレオロジー学会年会の開催にあたり、要旨集としてこの電子版B&R（第31巻 第2号）を作成しました。ご覧の通り、幅広い分野から大変興味深い演題をたくさん出して頂きました。ご参加も含めまして、ご協力頂きました皆様方に心より感謝申し上げます。倉敷での開催は、第5回（年会長：梶谷文彦先生）、第23回（年会長：辻岡克彦先生）に続いて3回目でございます。20年弱の間隔での開催となりますが、昔のままの倉敷の街と新しく変わりつつある街を楽しんで頂ければと思います。

本号の作成にあたっては、年会事務局を担当して頂きました川崎医療福祉大学臨床工学科の教職員の皆様のご協力のおかげです。学会開催準備・運営、ホームページ作成、懇親会のアレンジなど経験豊かな人材がたくさんいて、本当に助かりました。

では、ご参加の皆様が、年会での熱い議論とともに楽しく交流が深められることを祈願しております。

(望月 精一)

---

### 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	望月 精一	茅野 功	立花 博之		

---

### 日本バイオレオロジー学会誌 (B & R, 電子版) 第31巻 第2号

2017年 5月 27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 2017, by Japanese Society of Biorheology

---

