

B&R

第41回日本バイオロロジー学会年会

プログラム・抄録集

会期：2018年6月16日(土)・17日(日)

年会長：松本 健郎 (名古屋大学 大学院工学研究科)

会場：名古屋大学 IB 電子情報館



第41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：2018年6月16日（土），17日（日）

年会長：松本 健郎

名古屋大学 大学院工学研究科

会 場：名古屋大学 IB 電子情報館

日本バイオレオロジー学会年会のあゆみ

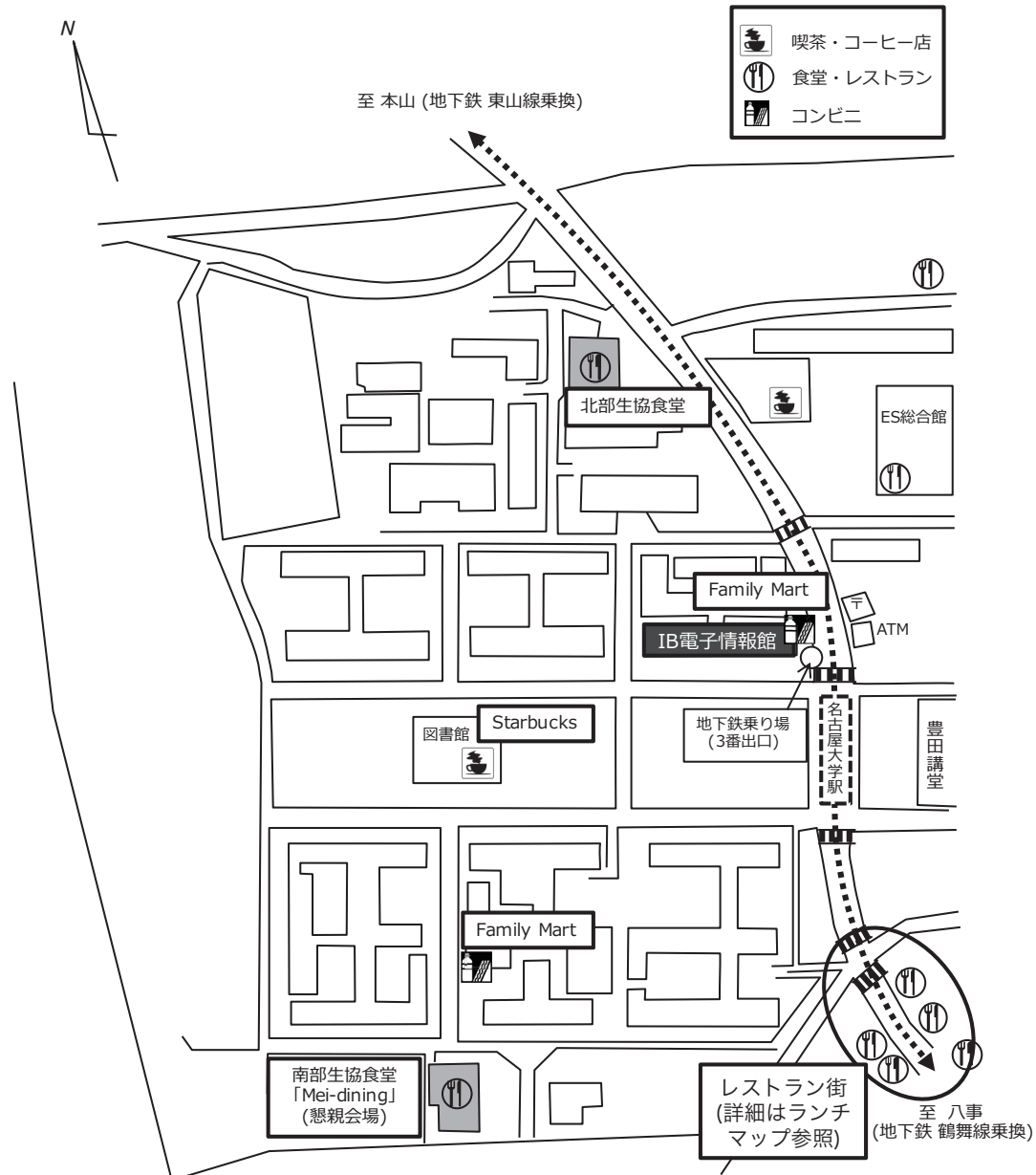
回	年会長	所属	会場	会期
1	深田 栄一	理化学研究所	東京慈恵会医科大学 高木会館講堂	1978/6/19
2	岡 小天	国立循環器病センター	国立循環器病センター 講堂	1979/6/30~7/1
3	東 健彦	信州大学	信州大学医学部第一講義堂	1980/6/28~29
4	谷口 興一	東京医科歯科大学	東京医科歯科大学 5 号館	1981/6/20~21
5	梶谷 文彦	川崎医科大学	川崎医科大学 現代医学教育博物館	1982/6/26~27
6	稲垣 義明	千葉大学	千葉県文化会館 小ホール	1983/6/18~19
7	神谷 瞭	北海道大学	北海道自治会館 自治ホール	1984/6/16~17
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	東京女子医大学 弥生記念講堂	1993/6/16~17
17	松信 八十男	清和大学	エーザイホール	1994/6/17~18
18	貝原 学	帝京大学	TEPCO 地球館	1995/6/15~16
19	辻 隆之	国立循環器病センター	千里ライフサイエンスセンター	1996/6/6~7
20	増田 善昭	千葉大学	千葉大学けやき会館	1997/6/5~6
21	前田 信治	愛媛大学	エスポワール愛媛文教會館	1998/6/11~13
22	貝原 真	理化学研究所	理化学研究所 鈴木梅太郎記念ホール	1999/6/10~11
23	辻岡 克彦	川崎医科大学	倉敷公民館	2000/6/8~9
24	谷下 一夫	慶應義塾大学	慶應義塾大学 創想館マルチメディアルーム	2001/6/7~8
25	大橋 俊夫	信州大学	信州大学旭会館大会議室	2002/6/6~7
26	西成 勝好	大阪市立大学	大阪市立大学学術情報総合センター	2003/6/5~6
27	内村 功	東京医科歯科大学	東京医科歯科大学 特別講堂	2004/6/10~11
28	佐藤 正明	東北大学	東北大学マルチメディア教育研究棟	2005/7/7~8
29	丸山 徹	九州大学	九州大学医学部 コラボステーション	2006/6/12~13
30	佐々木 直樹	北海道大学	北海道大学 学術交流会館	2007/6/14~15
31	安藤讓二	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	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
41	松本 健郎	名古屋大学	名古屋大学IB電子情報館	2018/6/16~17

会場案内

会 場： 名古屋大学 IB 電子情報館 中棟 1F

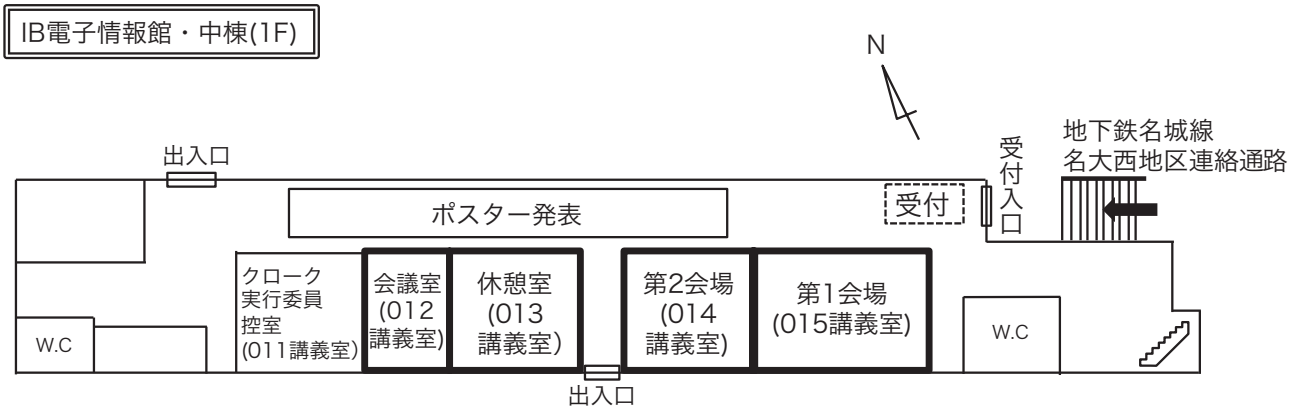
住 所： 〒464-8603 名古屋市千種区不老町

連絡先： BRNagoya18@lab-ml.web.nitech.ac.jp



JR 名古屋駅-(徒歩3分)→地下鉄名古屋駅-(地下鉄東山線・藤が丘方面)→本山駅(8 駅目, 15 分)-(地下鉄名城線・八事方面)→名古屋大学駅(1 駅目, 2 分)
3 番出口方向名大西地区連絡通路出てすぐ

会場内配置（1階）



- | | |
|----------------------|------------------------------|
| ・ 受付 | IB 館入口 |
| ・ クローク | 011 講義室 (兼 実行委員控室) |
| ・ 口頭発表セッション | 第1会場(015 講義室), 第2会場(014 講義室) |
| ・ 学会奨励賞応募講演 | 第1会場 |
| ・ ポスター発表 | 廊 下 |
| ・ バイオレオロジー・リサーチフォーラム | 第1会場 |
| ・ 総会, 表彰 | 第1会場 |
| ・ 岡小天賞/論文賞・受賞講演 | 第1会場 |
| ・ 閉会挨拶 | 第1会場 |
| ・ 休憩室 | 013 講義室 |
| ・ 各種会議 | 会議室 (012 講義室) |
| ・ 懇親会 | 南部生協食堂「Mei-dining」(P. 2 参照) |

《名大構内での昼食のご案内》

北部生協食堂	土曜日 11:00~14:00	日曜日 閉店
北部生協購買	土曜日 10:00~14:30	日曜日 閉店
IB 館地下 Family Mart	土曜日 07:00~23:00	日曜日 07:00~23:00
南部生協食堂	土曜日 11:00~14:00	日曜日 閉店
南部 Family Mart	土曜日 07:00~23:00	日曜日 07:00~23:00
Starbucks (図書館)	土曜日 09:00~18:00	日曜日 09:00~18:00

名大構外の飲食店（日曜営業）は P. 2 地図 レストラン街方面に多数ございます。
詳細は受付近くのランチマップをご覧ください。

参加者の皆様へ

参加登録用紙

- 参加受付は 2018 年 6 月 16 日（土）8:15 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（不課税）
非会員	15,000 円（消費税込）
学 生	3,000 円（学生会員 不課税，非会員 消費税込）

- 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。
- 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）。
- 会場での wifi は eduroam をご利用いただけます。
- 年会参加者の方は会員、非会員を問わず会期中、年会ホームページより抄録集（電子版 B&R, 第 32 巻 2 号）を閲覧いただけます。閲覧パスワードは会場でご覧ください。年会ホームページ <http://www.biorheology.jp/nenkai/41/>

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： 2018 年 6 月 16 日（土）18:20～20:00

場 所： 名古屋大学 南部食堂「Mei-dining」

参加費： 会員・非会員 4,000 円，学生 2,000 円（いずれも消費税込）

※ 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

- オーガナイズドセッション, 学会奨励賞セッションでの講演時間は 15 分(発表 10 分, 質疑応答 5 分)です (例年より若干長くなっておりますのでご注意ください) .

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

- ポスターサイズは A0 (W 841 mm × H 1,189 mm) です。
- ポスター貼付用の画鋏は会場で用意しています。
- ポスター掲示は 6 月 16 日(土) 8:30~12:00 に行ってください。
- 6 月 16 日 (土) 12:45~13:45 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。
- ポスターの撤去は 6 月 17 日 (日) 13:50~16:00 に行ってください。

タイムテーブル

6月16日 (土)

第1会場 (015講義室)	第2会場 (014講義室)	ポスター
9:15~10:00 OS3 血液レオロジーと微小循環 (1)	9:15~10:00 OS7 食品およびソフトマターのレオロジー (1)	8:30~12:00 掲示
10:05~10:50 OS3 血液レオロジーと微小循環 (2)	10:05~11:05 OS7 食品およびソフトマターのレオロジー (2)	
11:10~12:10 A1 学会奨励賞応募講演		
12:10~14:00 昼食・ポスタービューイング		コアタイム 12:45~13:45
14:15~15:30 OS4 細胞・分子のメカノバイオロジー	14:00~15:00 OS6 生体物質の構造形成と機能発現・制御	
	15:05~16:05 OS1 血管内治療, OS8 レオロジー一般, その他	
16:15~18:00 バイオレオロジー・リサーチフォーラム		
18:20~20:00 懇親会		

会議予定

・電子版B&R 編集委員会

8:30~ 9:00 IB 館012 講義室

6月17日 (日)

第1会場 (015講義室)	第2会場 (014講義室)	ポスター
10:40~11:25 OS2 循環器系ダイナミクスと疾患 (1)	10:40~11:25 OS5 ティッシュエンジニアリング・人工臓器 (1)	13:50~16:00 撤去
11:30~12:15 OS2 循環器系ダイナミクスと疾患 (2)	11:30~12:30 OS5 ティッシュエンジニアリング・人工臓器 (2)	
12:30~13:50 昼食・ポスタービューイング		
14:00~15:00 総会・表彰		
15:00~16:00 岡小天賞・受賞講演		
16:00~16:30 論文賞・受賞講演		
16:30~16:35 閉会挨拶		

会議予定

・JBR 打ち合わせ会議

8:50~ 9:20 IB 館012 講義室

・理事会・評議会合同会議

9:30~10:30 IB 館012 講義室

プログラム 6月16日（土）

第1会場

9:15~10:00 OS3 血液レオロジーと微小循環 (1)

座長：佐伯壮一（大阪市大）

- OS3-1 マイクロチャネル内血液流れ中の血小板模擬粒子の分布—円管と矩形管の違い—
○瀧ノ内希陸（関西大），小野澤天紀，関 淳二，板野智昭，関 眞佐子（関西大，大阪大）
- OS3-2 硬化及び軟化赤血球サスペンション流れ中の血小板模擬粒子の流路内分布
○小野澤天紀（関西大），瀧ノ内希陸，福本 翼，関 淳二，板野智昭，関 眞佐子（関西大，大阪大）
- OS3-3 鳥類赤血球の流動挙動の観察と血漿層厚さの計測
○中村匡徳（名古屋工大），森石達也，杉田修啓

10:05~10:50 OS3 血液レオロジーと微小循環 (2)

座長：関 眞佐子（関西大，大阪大）

- OS3-4 内皮細胞への血小板粘着に対するADP濃度とずり応力の影響
石垣杏樹（東京都市大），田島泰希，小林千尋，平田孝道，永野秀明，白鳥 英，○島野健仁郎
- OS3-5 観察点移動機構を有する血液細胞流動撮影装置の構築とその妥当性検証
○池田直生（芝浦工大），井上雅喬，箱崎雅也，五十嵐公輔，渡邊宣夫
- OS3-6 3次元血流速マイクロ断層可視化法（OCDV）を用いた表皮直下の毛細血管血流速の基礎的検討
○古川大介（大阪市大），佐伯壮一，原 祐輔

11:10~12:10 A1 学会奨励賞応募講演

座長：工藤 奨（九州大）

- A1-1 プリオン病の予防または治療に向けたアミロイド凝集の抑制および分解促進の挙動解析と配列依存性
○柴立郁美（山口東京理科大），静間隆文，森井尚之（東京医歯大），木下 岬（大阪大），李 映昊，橋本慎二（山口東京理科大），佐伯政俊
- A1-2 米粉・大豆タンパク質混合系の熱的・力学的挙動
○永井紘太（兵庫県立大），吉村美紀
- A1-3 Microrheological characterization on the phase-separation of mixed carrageenan gels
○Lester Geonzon（東京海洋大），Rommel Bacabac（University of San Carlos），Shingo Matsukawa（東京海洋大）
- A1-4 FRETイメージングを用いたMC3T3-E1細胞内張力のダイナミクスの計測
○王 軍鋒（名古屋大），杉田修啓（名古屋工大），道上達男（東京大），坪井貴司，北口哲也（東京工大），松本健郎（名古屋大）

14:15~15:30 OS4 細胞・分子のメカノバイオロジー

座長：大橋 俊朗（北海道大）

- OS4-1 赤血球の変形性指標：せん断流れ場における特性応力
○橋本成広（工学院大）
- OS4-2 PKC α トランスロケーションと細胞間結合の関係
崔 中華（九州大），Alireza Karimi，○世良俊博，工藤 奨
- OS4-3 内皮細胞一次繊毛の可視化および力学特性計測技術の開発
○松尾智史（北海道大），玉井克志，蔡 昊男，大橋俊朗

OS4-4 傾斜構造のコラーゲン基質を用いた細胞遊走評価

○福島修一郎（大阪大），松井 翼，出口真次

OS4-5 血管内皮細胞のMMPおよびeNOS 産生に対する超高壁せん断応力の影響

○坂元尚哉（首都大東京），大山侑樹，中村匡徳（名古屋工大），木村直行（自治医大）

16:15~18:00 バイオレオロジー・リサーチフォーラム

司 会： 松本 健郎（名古屋大）

テーマ： 「発生現象とバイオメカニクス」

1. 脳の発生からみる上皮組織の折りたたみと管形成の力学制御
鈴木 誠（基礎生物学研究所）
2. 発生過程における手足の3D形態形成のバイオメカニクス
鈴木 孝幸（名古屋大）

第2会場

9:15~10:00 OS7 食品およびソフトマターのレオロジー (1)

座長：金田 勇（酪農学園大）

OS7-1 食品多糖類溶液のレオロジー、トライボロジーおよび食感の相関解析

○前田和寛（三栄源エフ・エフ・アイ），合田 喬，中馬 誠

OS7-2 シカ肉加工品の栄養と物性

○吉村美紀（兵庫県立大），平川あさき

OS7-3 画像テクスチャ解析を用いた嚥下音からの炭酸圧推定

○柴田暁秀（大阪大），白石勝人，池上 聡（三栄源エフ・エフ・アイ），中馬 誠，東森 充（大阪大）

10:05~11:05 OS7 食品およびソフトマターのレオロジー (2)

座長：吉村美紀（兵庫県立大）

OS7-4 保存日数の異なる α -アミラーゼ製剤添加パンの物理的特性と食塊の性状

○高橋智子（神奈川工科大），勝瀬梨沙，吉田美咲，佐保田哲子（ピュラトスジャパン）

OS7-5 硬さの異なる寒天マイクロゲルオイルサスペンションの流動特性

○金田 勇（酪農学園大），宮前仁美

OS7-6 食品用3Dプリンタの開発

関 順一（東京電機大），清水純平，○武政 誠

OS7-7 アガロースゲルにおける網目構造の経時変化

○松川真吾（東京海洋大），孔 徳美（華東師範大），Descallar Faith Bernadette（東京海洋大），趙 秋華（華東師範大）

14:00~15:00 OS6 生体物質の構造形成と機能発現・制御

座長：土橋 敏明（群馬大）

OS6-1 粒子追跡マイクロレオロジーによるゼラチンのゲル化過程

○榎 靖幸（九州大），安中雅彦

OS6-2 講演中止

OS6-3 コラーゲン水溶液の相挙動に関する研究

杉山晃一（北海道大），○古澤和也（福井工大）

OS6-4 ポリ乳酸裁断化超薄膜分散液の粘性率測定と評価

○江口和也（東海大）， Isala Dueramae, 砂見雄太, 岡村陽介, 喜多理王

15:05~16:05 OS1 血管内治療, OS8 レオロジー一般, その他

座長：島野健仁郎（東京都市大）

OS1-1 血管内治療を要する動脈硬化重症例におけるプラスマローゲンの血漿濃度および赤血球膜含量の解析

○丸山 徹（九州大）， 野田裕剛, 横山 拓, 吉田千春, 出石さと子, 入江 圭, 森山祥平, 深田光敬, 有田武史, 小田代敬太, 馬渡志郎（レオロジー機能食品研）， 藤野武彦, 赤司浩一（九州大）

OS1-2 磁気共鳴流体力学解析による流量計測に与える脳動脈瘤の影響

水野 崇（名古屋大）， ○磯田治夫, 泉 孝嗣, 田嶋駿亮, 塚田哲也, 櫻井康雄, 小森芳秋（シーメンスヘルスケア）， 長縄慎二（名古屋大）

OS8-1 循環型透析シミュレーターにおける穿刺およびカテーテル操作の再現性について

○廣浦 学（ニプロ）， 廣田 徹（グッドマン）， 富永祐太（ニプロ）， 向井純平, 正木涼子, 直木洋介, 川口 晃, 増田利明

OS8-2 ラット落下実験時の胸部応答に対する胸郭粘弾性特性の影響

○伊藤大輔（名古屋大）， 一杉正仁（滋賀医大）

プログラム 6月17日（日）

第1会場

10:40~11:25 OS2 循環器系ダイナミクスと疾患 (1)

座長：丸山 徹（九州大）

OS2-1 血小板と凝固系の混合血栓の成長におよぼす抗トロンビン薬と抗 Xa 薬の差異のシミュレーションによる定量予測

○綾部健吾（東海大）， 後藤信一（東海大, 慶應大）， 田村典子（東海大）， 後藤信哉

OS2-2 CFD, 形態学及び臨床情報に基づく多変量解析による未破裂脳動脈瘤破裂予測

○大野 宏（東京理科大, 慈恵医大）， 高尾洋之（慈恵医大）， 鈴木貴士, 藤村宗一郎（東京理科大, 慈恵医大）， 内山祐也, 田中和俊, 石橋敏寛（慈恵医大）， 福留功二（東京理科大）， 山本 誠, 村山雄一（慈恵医大）

OS2-3 講演中止

11:30~12:15 OS2 循環器系ダイナミクスと疾患 (2)

座長：後藤信哉（東海大）

OS2-4 脳動脈瘤モデルラットを使用した病変局所の動きのライブイメージング解析の試み

○青木友浩（国循研セ）， 宮田 悠（国循研セ, 滋賀医大）， 清水寛平（国循研セ, 京都市大）

OS2-5 インピーダンス・スペクトロスコーピー法による赤血球の溶血分析

○Tran Anh Kiet（千葉大）， 李 建平, 川嶋大介, 武居昌宏

OS2-6 Estimation of stress-strain relationships of the fibrous cap in carotid artery using various types of hyperelastic models

○Subraya Krishna Bhat（九州工大）， Hiroshi Yamada, Noriyuki Sakata（福岡大）

14:00~15:00 **総会・表彰**（岡小天賞, 論文賞, 学会奨励賞, 優秀ポスター賞）

15:00~16:00 **岡小天賞・受賞講演**

座長：梶谷 文彦（川崎医大）

脳動脈瘤とバイオレオロジー

氏家 弘（東京労災病院 脳神経外科顧問, ブルースカイ松井病院 脳神経外科部長）

16:00~16:30 **論文賞・受賞講演**

座長：山田 宏（九州工大）

光干渉断層装置を用いたコネクタとチューブ接続部に生じる血栓の可視化手法の開発
松橋 祐輝（早稲田大）

16:30~16:35 **閉会挨拶**

第2会場

10:40~11:25 **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）

- OS5-1 ヒト血液を用いた血液適合性比較試験を実現するための小型拍動回路の開発
○保延慶紀（早稲田大），松橋祐輝，鮫島啓，頼卓然，熊谷直紀，青山祐介，梅津光生，岩崎清隆
- OS5-2 弁形状の違いがバイオバルブ僧帽弁の流体力学的機能におよぼす影響
○田地川 勉（関西大），藤岡達也，巽英介（国循研セ），中山泰秀
- OS5-3 矩形断面流路をもつインペラの出口角と断面積が遠心血液ポンプの血液適合性に与える影響
○西田正浩（産総研），後藤大輝（横浜国大），迫田大輔（産総研），小阪 亮，山根隆志，丸山 修，百武 徹（横浜国大），山本好弘（泉工医科工業），桑名克之

11:30~12:30 **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（産総研）

- OS5-4 塞栓コイルの3次元留置形態と血栓形成の関係性に関する研究
○松橋祐輝（早稲田大），青山祐介，鮫島 啓，熊谷直紀，頼 卓然，保延慶紀，梅津光生，岩崎清隆
- OS5-5 脱細胞化組織を用いたヒツジ膝前十字靭帯再建後の膝関節安定性に関する研究
○江 虹暁（早稲田大），伊藤匡史，奥田慶也，岡村昭慶，八木優大，岡崎 賢，梅津光生，岩崎清隆
- OS5-6 ヒト全血における動圧浮上遠心血液ポンプ内のプラズマスキミング現象
○近藤和樹（産総研），迫田大輔，小阪亮，西田正浩，丸山 修
- OS5-7 MEMS 技術による小型血栓センサの新規開発
○森田伸友（産総研），迫田大輔，近藤和樹，小阪 亮，岩崎 渉，丸山 修

ポスター発表（6月16日（土），17日（日））

掲 示 6月16日 8:30~12:00

コアタイム 6月16日 12:45~13:45

撤 去 6月17日 13:50~16:00

《食品のレオロジー》

- P-01 米粉・大豆タンパク質混合系麺とゲルの力学的特性
○永井紘太（兵庫県立大），吉村美紀
- P-02 小麦麺の性状と構造に及ぼす保蔵期間の影響
○細田捺希（兵庫県立大），吉村美紀
- P-03 畳み込みニューラルネットワークを用いたゲル状食品のテクスチャ推定システム
○西 慶一郎（大阪大），柴田暁秀，池上 聡（三栄源エフ・エフ・アイ），中馬 誠，東森 充（大阪大）

《高分子のレオロジー》

- P-04 モデルペプチドを用いたアミロイド線維の形成を制御するための環境因子とアミノ酸配列の解明
○佐伯政俊（山口東京理科大），柴立郁美，座安瑞希，静間隆文，大嶋伸明，穂本光弘
- P-05 ポリ乳酸裁断化超薄膜分散液のレオロジー特性の評価
○江口和也（東海大），Isala Dueramae，砂見雄太，岡村陽介，喜多理王
- P-06 Viscoelastic behavior of physically crosslinked-hydrogel and Interpenetrating polymer network hydrogel
○I. Dueramae（東海大），F. Tanaka（京都大），N. Shinyashiki（東海大），S. Yagihara，R. Kita
- P-07 Rheological properties in solution of wormlike micelle composed of lysophosphatidylcholine and phosphatidylcholine mixture
○Zhen Li（東京海洋大），Paphawee Nantarajit，Shingo Matsukawa

《血液のレオロジー》

- P-08 フィブリンゲル形成過程に与えるトロンビン濃度の影響
○為我井大輔（群馬大），土橋敏明，外山吉治
- P-09 パック赤血球/血漿接触系におけるゲル形成ダイナミクス
○篠田啓貴（群馬大），倉沢隆太，外山吉治，山本隆夫，土橋敏明，小川哲史（高崎総合医療セ）
- P-10 血液凝固モデルとしての血漿/塩化カルシウム水溶液接触系におけるゲル化ダイナミクス
○川端彬嗣（群馬大），倉沢隆太，青柳貴彦，篠田啓貴，外山吉治，山本隆夫，土橋敏明，小川哲史（高崎総合医療セ）
- P-11 血栓形成メカニズムの解明を目指した材料付着血小板の微構造観察
○中山正光（慶應大），長谷部光泉（慶應大，東海大），前川駿人（慶應大），尾藤健太，三浦慶介，松本知博（東海大），鈴木哲也（慶應大）
- P-12 血流停滞による血栓形成現象を再現できる模擬血液開発の試み
○廣野 充（関西大），矢野良輔，田地川 勉
- P-13 脳血栓回収デバイスの経時的な拡張径の評価法の開発：異なる力学的特性を有する血栓モデルを用いた検討

- 頼 卓然 (早稲田大), 松橋祐輝, 鮫島 啓, 熊谷直紀, 保延慶紀, 梅津光生, 石井 暁 (京都大), 岩崎清隆 (早稲田大)
- P-14 レオロジスペクトロメータによる低せん断速度域における血液粘度の挙動計測
○山川義和 (トリプル・アイ), 岡田洋二, 平野太一 (東京大), 酒井啓司
- P-15 衝突流における赤血球の変形とヘモグロビン漏出
○和田 悠 (名古屋工大), 杉田修啓, 中村匡徳
- P-16 電気回路を利用した血压反射波の抽出: 要素数の検討
○岡村法宜 (愛媛県立医療技術大)

《細胞・組織のレオロジー》

- P-17 圧縮刺激が核内クロマチンに与える影響の評価に関する基礎的研究
○森 尚輝 (名古屋大), 王 軍峰, 前田英次郎, 村瀬晃平, 松本健郎
- P-18 隣接細胞の損傷による PKC α 活性化と細胞骨格の関係
○小野瀬孝一 (九州大), 世良俊博, 工藤 奨
- P-19 すり鉢形状の培養基板面が細胞に与える影響の観察
○金森宗一郎 (名古屋大), 前田英次郎, 村瀬晃平, 松本健郎
- P-20 細胞膜流動性に及ぼす細胞接着基板剛性の影響
○黒柳 要 (名古屋大), 前田英次郎, 村瀬晃平, 松本健郎
- P-21 B16 メラノーマ細胞の転移悪性度による粘弾性特性の違い
○小野大地 (名古屋工大), 杉田修啓, 中村匡徳
- P-22 アフリカツメガエル新鮮原腸胚内部の構造観察と力学環境の推定
○丹下祥之 (名古屋大), 安東頼子, 前田英次郎, 村瀬晃平, 上野直人 (基生研), 松本健郎 (名古屋大)
- P-23 粒子散布法によるアフリカツメガエル尾芽胚のかたさ計測
○角田 涼 (名古屋大), 安東頼子, 前田英次郎, 村瀬晃平, 上野直人 (基生研), 松本健郎 (名古屋大)
- P-24 Measurement of microscopic deformation of the rabbit thoracic aorta during tensile test
○Yong Fan (名古屋大), Junfeng Wang, Eijiro Maeda, Kohei Murase, Takeo Matsumoto

(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

受賞講演

- ・ 岡小天賞
- ・ 論文賞

脳動脈瘤とバイオレオロジー

氏家 弘^{*、**}

*東京労災病院 脳神経外科顧問 [〒143-0013 東京都大田区大森南 4-13-32]

**ブルースカイ松井病院 脳神経外科部長

この 50 年間にバイオレオロジーが脳神経外科に与えた大きな影響は、くも膜下出血の原因である脳動脈瘤の研究である。脳動脈瘤とバイオレオロジーの接点は、流れの可視化実験と血管壁の構造の研究から始まる。1970 年代はまだ顕微鏡を用いた病理組織検査がもっともはなやかな時代であった。1970 年 Roach、1972 年 Ferguson、1975 年 Stehbens がガラス管モデルをもちいて脳動脈瘤内の流れの可視化実験を行った。そして日本では 1970 年林らと半田らのグループが一緒になって血管壁の力学的性質の研究を始めた。1974 年 Liesch らがレーザードップラーを用いた速度分布の測定に成功し、1987 年脳動脈瘤内の速度分布の測定結果を報告した。流れの可視化は、定常流から拍動流へと、使用する流体はニュートン流体から血液に近い非ニュートン流体へと、そしてモ

デルは rigid からより血管壁に近い elastic model へと発展していき、21 世紀以降現在では流れの可視化を computer simulation で出来るだけ人間の生理状態に近い状態で行う時代になっている。

一方 1979 年橋本らがラット脳動脈に動脈瘤を実験的に誘発させることに成功した。このモデルを用いることによって、1980 年代は脳動脈瘤の発生、成長そして破裂のメカニズム解明への挑戦が盛んにはじまった。脳動脈瘤は生体内の組織であるため、常に生成、修復というダイナミックなメカニズムにさらされている。そして現在では生体組織内のダイナミックな remodeling の過程が青木らによって解き明かされようとしている。

受賞講演では、脳動脈瘤研究の過去、現在を振り返り、残された課題に対する解答を仮説として提示したい。

光干渉断層装置を用いたコネクタとチューブ接続部に生じる血栓の可視化手法の開発

松橋祐輝*, 鮫島啓*, 山本祥宜*, 梅津光生*, 岩崎清隆*

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

1. 緒言

血液と接触する医療機器の例として, 補助人工心臓, 人工心肺回路や人工透析回路が挙げられる. これらのデバイスでは, 血液を循環させるチューブをコネクタを用いて接続する. この接続部に生ずる段差部では, 血栓が形成されやすいことが知られているが, その解決のためのデザインの確立には至っていない. 血栓形成過程を経時的に可視化する手法の確立により, 血栓形成と飛散の要因を定量的に捉え, 血栓形成を抑制, または, できた血栓を飛びにくくする医療機器の設計に寄与できると考えた. そこで, 本研究では中心波長 1330 nm の光干渉断層装置を用いてコネクタとチューブ接続部に形成される血栓を非侵襲に可視化する手法を開発し, 血栓形成の要因を流れの観点から分析した.

2. 実験方法

本研究は早稲田大学の動物実験審査委員会の承認を得て実施した(2015-A095). 血液濾過器に用いられることを想定した外径 7 mm のコネクタと内径 6 mm のチューブとの接続部に生じる段差部を観察部位とした. コネクタとチューブをローラポンプを駆動源とした大気非接触, 内部容量 50 mL の一巡閉鎖回路に組み込み, 循環流量 100 mL/min でブタ鮮血と接触させた. 血液循環中に光干渉断層装置を用いて非侵襲にコネクタ流入部とチューブと, コネクタ流出部とチューブのそれぞれの接続部に形成される血栓を 10 分間隔で 50 分間, 撮像した. 7 frame/s で撮像した光干渉断層画像の連続する 7 枚のフレーム間の差分画像からシグナル強度の時間変化量を指標として血栓を検出した.

また, グリセリンを用いて血液と粘度を合わせた生理食塩水(43wt%)を回路内に循環し, 粒子画像流速計測法によりコネクタとチューブ接続部の局所的な流れ場の可視化を実施した.

3. 実験結果

コネクタ流入部とチューブとの接続部に血液循環中に光干渉断層装置を用いて非侵襲に血栓の形成過程を可視化した結果, コネクタ流出部とチューブとの接続部では循環時間の経過と共に血栓形成面積が増加してした. 一方で, コネクタ流入

部とチューブとの接続部では血栓形成面積が増加と減少を繰り返していた. これは小さな血栓ができては剥がれるという現象を明示していると考えられた. 血液循環終了後にコネクタ流出部とチューブとの接続部では $0.637 \pm 0.306 \text{ mm}^2$ の血栓が形成され, コネクタ流入部とチューブとの接続部では $0.012 \pm 0.011 \text{ mm}^2$ の血栓が形成され, コネクタ流出部の方がコネクタ流入部と比較して有意に多くの血栓が形成されることがわかった($p < 0.01$).

4. 考察

血液循環終了直前に検出した血栓形成面積と血液循環後に血液を除去し, 生理食塩水を充填した状態で光干渉断層装置を用いて撮像した血栓形成面積を比較した結果, コネクタ流入部とチューブとの接続部に形成された血栓は $0.012 \pm 0.011 \text{ mm}^2$ と $0.009 \pm 0.008 \text{ mm}^2$ ($p = 0.62$)であり, コネクタ流出部とチューブとの接続部では 0.637 ± 0.306 と $0.646 \pm 0.311 \text{ mm}^2$ ($p = 0.96$)であった. このことから, 開発した手法では循環する赤血球の存在下でも精度良く血栓を検出できることがわかった.

また, 流れの剥離域が血栓形成に影響を及ぼしていると共に, コネクタ流出部とチューブとの接続部では流れの再付着が血栓の成長に影響を及ぼしていることが示唆された.

5. 結言

光干渉断層装置を用いて血液循環下に非侵襲に血栓を可視化する手法を開発できた. この手法はコネクタとチューブ接続部に生じる血栓の形成, 成長の定量分析の実現と要因の解明に有用であると考えられた.

謝 辞

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

文 献

- 1) Matsuhashi, Y., Sameshima, K., Yamamoto, Y., Mitsuo, M., Iwasaki, K. : Real-time visualization of thrombus formation at the interface between connectors and tubes in medical devices by using optical coherence tomography, PLoS ONE, 12(12), e0188729. doi: 10.1371/journal.pone.0188729, 2017

要旨

バイオロロジー・リサーチフォーラム
「発生現象とバイオメカニクス」

脳の発生からみる上皮組織の折りたたみと管形成の力学制御

鈴木誠*, 井上康博**, 上野直人*

* 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]

** 京都大学 ウイルス・再生医科学研究所

1. 緒言

ヒトを含む動物は胚発生の初期に大規模な形態変化を起こす。この過程では細胞から組織にいたる複数の階層で機械的な性質が変化すると考えられるが、その詳細は十分に明らかにされていない。神経管 (脳の原基) は脊椎動物の上皮変形のモデルの 1 つであり、神経前駆細胞からなる平坦な上皮シートが主に細胞の自律的な変形により屈曲することで、頭尾軸に沿った管構造が形成される¹⁾。過去の研究は複数の細胞運動が管形成の適切な進行に必要であることを実験的に示してきたが、それを力学的な側面から理解する試みはこれまで不十分であった。

2. 実験方法

アフリカツメガエルを用いた実験は「自然科学研究機構動物実験規程」に従い自然科学研究機構動物実験委員会により承認された計画に沿って行った。アフリカツメガエル胚は、ホルモン注射により性成熟を誘発した親個体から受精卵を採取し目的の発生段階まで飼育することにより得た。ライブイメージングは、人工合成した mRNA を顕微注入法で胚に導入し産生された蛍光タンパク質の蛍光を横河電機製共焦点スキャナユニット CSU-X1 で計測することにより行った。画像解析と統計解析には ImageJ と R ソフトウェア、数値シミュレーションには C 言語を用いた。

3. 実験結果

細胞の頂端面に着目したライブイメージング解析により、神経管の形成過程において細胞内のカルシウムイオン (Ca^{2+}) 濃度の一過的な上昇が頂端面の収縮運動を引き起こすこと、それが隣接する細胞で同調的に行われる場合と非同調的に行われる場合が存在することを明らかにした²⁾。この 2 種類の細胞動態が上皮シートの屈曲に寄与する様式を検討する目的で、2 次元セルバーテックスモデルによるシミュレーション解析を行った。その結果、頂端面の収縮は頻度に依存せず常に屈曲を促進する一方で、収縮運動の同調性が低いほどより効果的な屈曲が引き起こされた。更に、この結果が実際の胚で起こる現象と一致することが統計学的な検証により示された。

また 3 次元セルバーテックスモデルを用いたシミュレーション解析により、細胞運動が上皮シート屈曲と神経管の形状に与える力学的影響を検討した³⁾。その結果、頂端面の収縮は上皮シートの屈曲方向の決定において、また、並行して起こる頂底軸に沿った細胞の伸長はシートの屈曲変形の促進において、必要であることが明らかになった。更に、管の最終形状の決定には細胞伸長が果たす力学的作用が重要であることが示され、同じことが実際の胚を用いた検証により確認された。

4. 考察

本研究から細胞運動には、管構造の形成において力学的制御の役割があることが示唆された。頂端面の収縮ならびに細胞の伸長は細胞の力学的な性質を変化させることで、上皮シート屈曲に影響することが示唆された。今後、本予想を押し込み試験などにより検証する予定である。

5. 結言

上皮性器官の形成に寄与する細胞動態とその制御機構を複数明らかにし、またそれらが上皮細胞シートの折りたたみに寄与する際の力学制御機構を提唱することができた。

謝 辞

本研究は、文部科学省の科学研究費助成事業「新学術領域研究 (課題番号 15H05865)」の支援を受け行われた。

文 献

- 1) Suzuki, M., Morita, H. and Ueno, N.: Molecular mechanisms of cell shape changes that contribute to vertebrate neural tube closure. *Dev. Growth Differ.*, **54**, 266-276, 2012.
- 2) Suzuki, M., Sato, M., Koyama, H., Hara, Y., Hayashi, K., Yasue, N., Imamura, H., Fujimori, T., Nagai, T., Campbell, R. E. and Ueno, N.: Distinct intracellular Ca^{2+} dynamics regulate apical constriction and differentially contribute to neural tube closure. *Development*, **144**, 1307-1316.
- 3) Inoue, Y., Suzuki, M., Watanabe, T., Yasue, N., Tateo, I., Adachi, T. and Ueno, N.: Mechanical roles of apical constriction, cell elongation, and cell migration during neural tube formation in *Xenopus*. *Biomech. Model. Mechanobiol.*, **15**, 1733-1746, 2016.

発生過程における手足の3D形態形成のバイオメカニクス

鈴木孝幸*, 河村和輝**, 小野真**, 鈴木誠***, 松本健郎****,
上野直人***, 森下喜弘*****

*名古屋大学大学院生命農学研究科[〒464-8601 名古屋市千種区不老町]
名古屋大学大学院理学研究科*基礎生物学研究所****名古屋大学大学院工学研究科
*****理化学研究所生命機能科学研究センター

1. 緒言

私たちヒトを含む脊椎動物の体の形は発生中に上皮組織と上皮組織直下の未分化な間充織によって3次元の形態として形作られ、その後内部に骨格のパターンが形成されることで特徴付けられる。したがって骨格パターンが形成される前の発生段階において、上皮組織と上皮組織直下の未分化な間充織の相互作用による器官全体の3次元の形態形成過程を理解することは脊椎動物の形態そのものを理解するために最も重要である。しかしながら、多くの脊椎動物の器官形成が当てはまるように、細胞数が非常に多く厚みのある巨視的な器官全体の形態形成過程を全細胞の挙動の観察により直接理解する事は未だに出来ない。

近年我々はニワトリ胚肢芽（しが：手足の原器）をモデルとして用い、もはや共焦点顕微鏡では解析出来ない大きな器官の全体の形態変化の様子を定量的に解析する手法を開発した1)。さらにこの手法を用いてニワトリ胚後肢の発生における形態変化を解析した結果、肢芽が伸長する時には肢芽全体の内部の細胞集団がそれぞれの領域で肩から指先の方向にあたる遠近軸方向に沿って異方性を持って変形するため、私たちの手足は全体として一方向に伸長するということが明らかとなった2)。今回我々はさらに、この肢芽全体の細胞群が一方向に沿って伸長するメカニズムの一つに、肢芽全体にかかるメカニカルストレスが寄与している可能性を示唆する結果を得た。

2. 実験方法

ニワトリ胚を用いた実験は名古屋大学における動物実験等に関する取扱規程にしたがった（名古屋大学理学研究科承認番号9号）。ニワトリ有精卵（ヤマギシ孵卵場）をインキュベートし、Hamburger&Hamiltonのステージ表に従って胚を採取した。凍結切片における1リン酸化ミオシン軽鎖を認識する抗体(CST3671)による蛍光抗体染色を行い、オリンパスFV1000共焦点顕微鏡を用いて局在を観察した。肢芽の上皮組織をディスペーゼを用いて単離した後、上皮組織にガラスキャピラリーの先を通し、引っ張り試験機を用いて肢芽上皮組織のヤング率を測定した。

3. 実験結果

蛍光色素(DiI, DiO)を用いて12時間における肢芽内部の細胞集団の相対的な位置関係を取得し、そのデータを元に肢芽全体の変形パターンをベイズ推定を用いて推定した。その後、肢芽内部の各領域における成長率と変形の異方性（どの方向にどれだけバイアスして伸長したか）の2つの特徴量を定量的に抽出した。

ミオシンの抗体染色を行った結果、肢芽の上皮組織に特異的なシグナルが検出された。次に、引っ張り試験機を用いて肢芽の上皮組織を伸展させ続けた結果、肢芽の上皮組織がアクティブに引っ張り返すという予備的知見を得た。

4. 考察

我々の開発した手法により明らかになる、単位時間当たりに特徴的な変化をする領域を我々はモルフォジェネティックホットスポットと命名した1, 2)。肢芽の場合、肢芽内部の細胞集団は全体にわたって遠近軸方向に異方性を持って変形することが分かった。この肢芽全体の遠近軸に沿った変形を起こす要因として、肢芽の上皮組織のミオシンを介した力の関与が示唆された。

5. 結言

本研究により、マクロレベルにおける形態形成過程のかなめとなる領域や、その細胞集団の挙動の特徴量をシステムチックに見つける方法が確立された。

謝 辞

引っ張り試験機の使い方をご指導して頂いた名古屋大学大学院工学研究科の王博士に感謝致します。

文 献

- 1) Morishita, Y. and Suzuki, T. Bayesian inference of whole-organ deformation dynamics from limited space-time point data. *J. Theor. Biol.*, **357**, 74-85, 2014
- 2) Morishita, Y., Kuroiwa, A., and Suzuki, T. Quantitative analysis of tissue deformation dynamics reveals three characteristic growth modes and globally-aligned anisotropic tissue deformation during chick limb development. *Development*, **142**, 1672-1683, 2015

要旨

6月16日（土）

第1会場

OS3

血液レオロジーと微小循環

OS3-1

マイクロチャネル内血液流れ中の血小板模擬粒子の分布 —円管と矩形管の違い—

瀧ノ内希陸*, 小野澤天紀*, 関淳二**, 板野智昭**, 関眞佐子**, ***

* 関西大学大学院 理工学研究科 [〒564-0073 大阪府吹田市山手町 3-3-35]

** 関西大学 システム理工学部, *** 大阪大学大学院基礎工学研究科

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付近に多く存在することが知られている¹⁾. この現象は Near-Wall Excess (NWE) と呼ばれ, 止血や血管壁の修復などの血小板の働きに極めて重要である. 血小板模擬粒子を混入させた赤血球サスペンションを矩形管流路に流した *In vitro* 実験では, 粒子は流路壁に沿って一様に多く分布するのではなく, 流路断面の四隅付近に多く集まること(図 2(b)参照)²⁾. このことは, 矩形管流路では計測する高さによって NWE の程度が異なることを示している. そこで本研究では, これまで計測が困難であった, 生体血管の形状に近い円管流路を用いて, 赤血球サスペンション中に浮遊させた蛍光粒子(血小板模擬粒子)の断面内分布を計測した.

2. 実験方法

ウシ血清アルブミン, デキストラン 40 を添加したリン酸緩衝生理食塩水に様々な体積分率(ヘマトクリット Hct)でヒト赤血球を浮遊させ, これに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 0.1% 程度加えた. これを, 内径 $50\mu\text{m}$ の PFA 製微小円管流路にシリンジポンプで一定の流量 ($0.79\mu\text{l}/\text{min}$, 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 - 高速カメラシステムにより蛍光観察を行った. 流路中央 ($z=25\mu\text{m}$) から様々な高さ (z) で撮影した画像を画像処理ソフト 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. これを z 方向に重ね合わせることで, 流路断面における 2 次元分布を求めた.

3. 実験結果と考察

Hct=20% の場合に, 円管中心軸を通る 2 つの断面(水平方向, 鉛直方向)で得られた粒子分布を図 1 に示した. ただし, 円管中心軸を図の原点としている. 棒グラフは水平方向 (y), 折れ線グラフは鉛直方向 (z) の分布である. 分解能の違いから水平方向では $2\mu\text{m}$ 毎, 鉛直方向では $4\mu\text{m}$ 毎の計測となっている. 水平方向と鉛直方向ではほぼ同様の粒子分布をしていることが分かり, 粒子が流路壁付近に集中する顕著な NWE が見られる.

次に, 流路断面全体にわたる粒子の 2 次元分布を図 2(a) に示した. 図 2(b) で示した矩形管では四隅付近で粒子分布が高いのに対し, 円管では管壁付近の全周に沿ってほぼ一様に粒子分布が高くなっていることが示された.

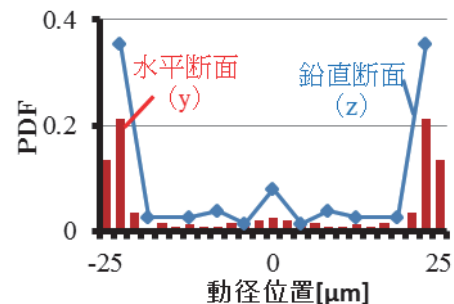


図 1 中心軸を通る断面の粒子分布 (Hct=20%)

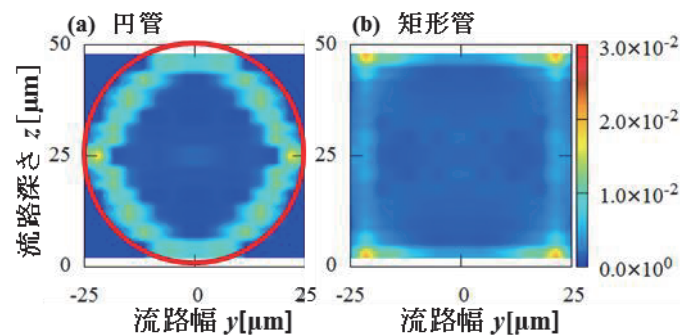


図 2 血小板模擬粒子の断面内分布 (Hct=20%)

4. 結言

円管流路において血小板模擬粒子は管壁付近に多く分布し, 管壁に沿ってほぼ一様な分布となっていることが示された.

謝 辞

本研究の一部は JSPS 科研費 17H03176, 関西大学 ORDIST グループ研究費および高度化推進研究費の助成を受けたものである.

文 献

- 1) Tangelder G.J., Teirlinck H.C., Slaaf D.W. and Reneman R.S, *American Journal of Physiology*, **248**, 1985, pp. H313-H323.
- 2) Noso, R., Kimura, T., Sakamoto, K., Sugihara-Seki, M., and Seki, J., *Nihon Reorogi Gakkaishi*, **43**, 2015, pp. 99-104.

OS3-2

硬化及び軟化赤血球サスペンション流れ中の 血小板模擬粒子の流路内分布

小野澤天紀*, 瀧ノ内希陸*, 福本翼**, 関淳二**, 板野智昭**, 関眞佐子****

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

関西大学 システム理工学部, *大阪大学大学院 基礎工学研究科

1. 緒言

ヒトの血液は全体の体積の約 40% を占める赤血球と約 1% の血小板と白血球が浮遊するサスペンションである。微小血管内血液流れにおいて血小板は血管壁付近に多く分布する (Near-Wall Excess, NWE) ことが知られている^{1,2)}。この現象は赤血球がその高い変形性に起因して管中央付近に多く分布する傾向があるため、血小板が管中央付近から排除されることで引き起こされると推測されている。本研究ではそのことを確かめる目的で薬品によって変形性を様々な程度に変化させた赤血球のサスペンションを微小管流路に流し、その中に浮遊させた血小板模擬粒子(蛍光粒子)の流路断面内分布を計測することで赤血球の変形能が血小板模擬粒子の NWE に及ぼす影響を調べた。

2. 実験方法

硬化赤血球は、ヒト赤血球を濃度 40 - 2,000 ppm のグルタルアルデヒド (GA) 溶液中に 1 時間室温で浸漬することにより作成した。同様に、軟化赤血球は濃度 600ppm の過酸化水素水(H₂O₂)に浸漬することで作成した³⁾。正常赤血球あるいは変形性を変化させた赤血球のサスペンション (体積分率 Hct=20%) に模擬血小板としてポリスチレン製蛍光粒子(粒子径 2.9 μ m)を浮遊させた。これを、一辺が 50 μ m の正方形断面をもつ PDMS 製人工微小流路にシリンジポンプを用いて一定の流量 (1.0 μ l/min, 壁剪断速度 \sim 1000s⁻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。流路入口から 15mm の位置で流路底面から様々な高さ(z)で撮影した画像を画像解析ソフト Image J を用いて解析することによって流路幅方向(y)の粒子分布を得た。

3. 実験結果と考察

Fig. 1 は、種々の変形性をもつ赤血球のサスペンションに対して、流路底面から z = 1.9 μ m の高さで得られた粒子分布である。ただし、流路中央(y = 0)に関して対称化を行っている。Fig. 1 よりいずれの場合も流路中央付近の粒子割合が低く、流路壁付近の粒子割合が高くなり NWE 傾向が表れてい

る。H₂O₂により軟化させた赤血球中の粒子分布は正常赤血球の場合と大きな差は見られないが、GA濃度が高く(>400ppm)変形性が低い赤血球の場合は正常赤血球に比べ流路中央部の粒子割合が高く、流路壁付近の粒子割合が低いことが分かる。先行研究により、正常赤血球は流路中央に近寄る傾向があるのに対し、高濃度の GA で処理した赤血球は流路断面ではほぼ一様な分布に近づくことが示されている⁴⁾。このことから、赤血球の変形性が低下すると粒子が流路中央部から排除されにくくなるため、NWE の程度が弱くなることが推測される。

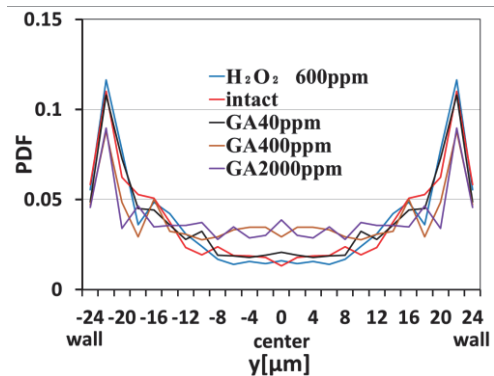


Fig. 1 Lateral distributions of platelet-sized particles in suspensions of RBCs with various degrees of stiffness.

4. 結言

血小板の NWE 現象は赤血球の変形能によって引き起こされ、赤血球の変形性が低下すると NWE 傾向が小さくなることが確認された。

本研究の一部は JSPS 科研費 17H03176, 関西大学 ORDIST グループ研究費および高度化推進研究費の助成を受けたものである。

文 献

- 1) Tangelder, G.J., Teirlinck, H.C., Slaaf, D.W., and Reneman, R.S., *Am. J. Physiol.*, **248**, H313-H323, 1985.
- 2) Noso, R., Kimura, T., Sakamoto, K., Sugihara-Seki, M., and Seki, J., *Nihon Reorogi Gakkaishi*, **43**, 99-104, 2015.
- 3) Sinha, A., Chu, T. T. T., Dao, M., Chandramohanadas, R.: *Scientific Reports*, **5**, 09768, 2015.
- 4) Sasaki, T., Seki, J., Itano, T. and Sugihara-Seki, M., *Biorheology* in press, 2018.

OS3-3

鳥類赤血球の流動挙動の観察と血漿層厚さの計測

中村匡徳*, 森石達也*, 杉田修啓*

* 名古屋工業大学 大学院工学研究科 電気・機械工学専攻 [〒466-8555 名古屋市昭和区御器所]

1. 緒言

血液は液体である血漿中に、有形成分である血球が浮遊する懸濁液である。血球のほぼ全てを占める赤血球は、流れのせん断により血管壁側から血管中央部に移動し、血管壁付近は赤血球がほぼ存在しない血漿層が形成される。摩擦を減らすことで血液は抵抗を減じていると考えられている。

鳥類は哺乳類と比べて血圧が高い。この要因の1つとして、血液抵抗が考えられる。鳥類の赤血球は有核であることから、有核の赤血球は軸集中しづらく、結果として、血漿層が形成されづらいと考えた。そこで、本研究では、鳥類赤血球の流動挙動を観察し、血漿層の厚さについて計測した。

2. 実験方法

ニワトリから血液を採取し、PBS(-)にて洗浄後、ヘマトクリット (以下、Hct) が 20% となるように PBS(-) で希釈した。得られた赤血球の写真を Fig. 1 に示す。図より核を有することがわかる。哺乳類の代表例として、ラットについても、同様に Hct が 20% の血液サンプルを用意した。

内径 1 mm のフッ素樹脂の PFA チューブ (1029-51, ケニス) に血液サンプルをシリンジポンプにより流した。倒立型顕微鏡 (IX-71, Olympus) に 40 倍の水浸対物レンズ (LUMPLFLN40XW, Olympus) を用いて、流動する赤血球を観察した。光源には紫外光 (UFLS-501, U-TECHNOLOGY) を用いた。記録には高速度ビデオカメラ (FASTCAM Mini AX200, Photron) を用い、フレームレートを 500 fps、解像度を 1024 × 512 pixels に設定した。実験は室温で行った。画像上にて輝度値を解析することで血漿層を計測した。

ハーゲンポアズイユ流れを仮定して、流路のせん断速度が 1, 10, 40, 60, 100 s⁻¹ となるように流量を決定した。

3. 結果と考察

せん断速度に対する血漿層の厚さの変化を Fig. 2 に示す。ニワトリとラットいずれにおいても、血漿層の存在が確認できた。これは、有核赤血球においても、無核赤血球で見られる軸集中現象¹⁾が発生することを示している。また、Fig. 2 に示されるように、両種において、せん断速度の増加に伴って、血漿層が厚くなる傾向があった。40 s⁻¹ 以

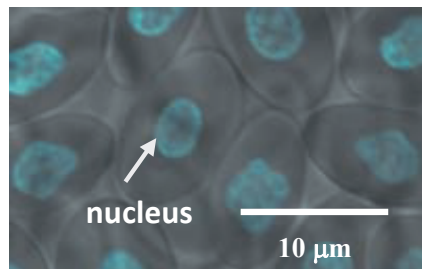


Fig. 1 Red blood cells of a chicken

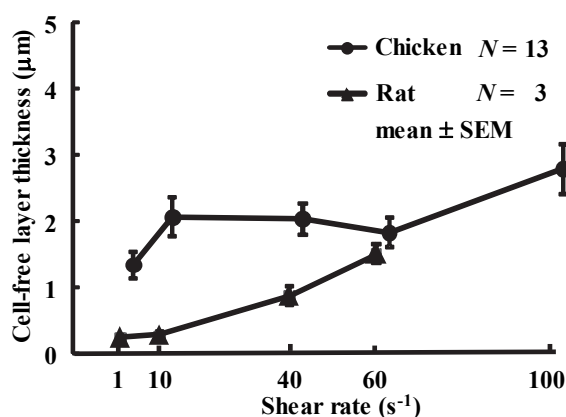


Fig. 2 A comparison of a cell-free layer thickness

between chickens and rats at various shear rates.

下のせん断速度領域では、ニワトリの血漿層の方が厚かったが、せん断速度 40 s⁻¹ にて、ほぼ同じ厚さとなった。血液サンプル量の問題から、これより大きいせん断速度領域での血漿層厚さは計測できなかったが、血漿層厚さの増加傾向に鑑みると、微小血管内でのせん断速度である 100 s⁻¹ 付近では、ラットの赤血球の血漿層の方がより厚くなる可能性がある。

4. 結言

有核の赤血球においても血漿層が形成されることが確認された。

謝 辞

本研究は、科研費 (挑戦的萌芽研究 16K12867) から補助を受けた。

文 献

1) 前田信治, 日本生理学雑誌, 66, 328, 2004.

OS3-4

内皮細胞への血小板粘着に対するADP濃度とずり応力の影響

石垣杏樹*, 田島泰希*, 小林千尋**, 平田孝道**, 永野秀明*, 白鳥英*, 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

脳動脈瘤コイル塞栓術施術時など、低ずり応力下での血栓形成の速度は、血小板粘着の度合いに大きく依存すると考えられる。著者らは、低ずり応力下の血栓形成について基礎データを収集するために、無損傷の内皮細胞に粘着する血小板数をカウントする *in vitro* 実験を行ってきた¹⁾。本報では、ADP濃度および血流ずり速度の変化に対する粘着血小板数の挙動について報告する。

2. 実験方法

幅5 mm, 高さ0.8 mm, 長さ48.2 mmの μ -slideの流路底面にブタ大動脈内皮細胞を播種し、ブタ全血の灌流に用いた。2頭の異なるブタ（個体A, B）から採取した全血にACD-A液を添加したものをを用い、ADP濃度とずり速度の組み合わせを変化させて1条件当たり30分の灌流を行った。続いて、生理食塩水による洗浄とエタノール固定を施し、SEMによる観察を100カ所で行い、粘着血小板数の平均値を算出した。本実験は東京都市大学動物実験規程に準拠して実施された。

3. 実験結果

実験条件と、 $900\mu\text{m}^2$ 当たりの粘着血小板数平均値を95%信頼区間と共にTable 1に示す。Fig.1には、測定条件のプロットと血小板粘着数、および $900\mu\text{m}^2$ 当たり粘着血小板数0, 3, 5, 10, 20の等値線を示す。等値線形状を外挿により予測して描いた部分は破線で表わしている。血小板数0の等値線は、ずり速度に対する粘着血小板数の変化率がゼロになる点の集合と仮定して描いたが、挙動が不明な縦軸近くには描いていない。

4. 考察

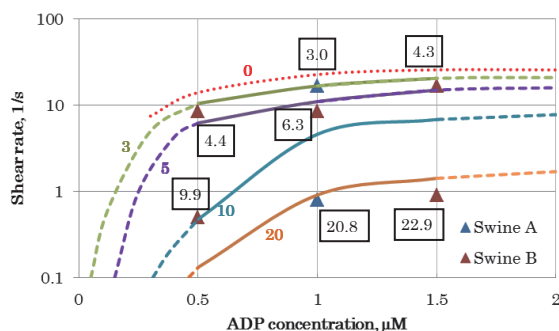
同条件のCase 1と7を比較すると、ブタ個体差による粘着血小板数の違いはわずかであった。粘着血小板数は、ADP濃度に対して単調増加し、ずり速度に対しては単調減少する。しかし、ADP濃度が上昇しても、 $1\mu\text{M}$ 以降では粘着血小板数はほとんど増加しない。また、粘着血小板数0の等値線の右端はずり速度のおおよそ 26 s^{-1} に対応し、いかなるADP濃度においてもこれ以上のずり速度では血小板粘着は起こらないと考えられる。脳動脈瘤内で塞栓術が成功するか否かを判断する上で、このずり速度値は一つの目安たりえる。

5. 結言

本実験結果より、ADP濃度とずり速度に対する粘着血小板数の変化を表わすマップを作成した。血小板が内皮細胞に粘着することのできない限界のずり速度がおおよそ 26 s^{-1} であることが示唆された。

Table 1 Numbers of adherent platelets with 95% CIs

Swine	Case	ADP conc. [μM]	Shear rate [$1/\text{s}$]	Platelets per $900\mu\text{m}^2$
A	1	0	0	2.6 ± 0.4
	2	0	0.5	2.9 ± 0.8
	3	0	14.1	0.3 ± 0.1
	4	1	0	30.1 ± 2.7
	5	1	0.8	20.8 ± 3.1
	6	1	16.8	3.0 ± 1.4
B	7	0	0	2.9 ± 0.9
	8	0.5	0	23.6 ± 3.3
	9	0.5	0.5	9.9 ± 2.6
	10	0.5	8.5	4.4 ± 1.1
	11	1	8.4	6.3 ± 1.4
	12	1.5	0	31.0 ± 3.8
	13	1.5	0.9	22.9 ± 3.1
	14	1.5	16.8	4.3 ± 0.9

Figure 1 Plots of the cases with the measured platelet numbers per $900\mu\text{m}^2$ and contours of the adherent platelet number.

文献

- Ogawa, Y. et al.: *In vitro* measurement of platelet adhesion to intact endothelial cells under low shear conditions. *Biorheol.*, **54**, 51-65, 2018.

OS3-5

観察点移動機構を有する 血液細胞流動撮影装置の構築とその妥当性検証

池田 直生，井上 雅喬，箱崎 雅也，五十嵐 公輔，渡邊 宣夫
芝浦工業大学 大学院 システム理工学専攻

[〒337-8570 埼玉県さいたま市見沼区深作 307

芝浦工業大学大宮キャンパス 6号館 102 教室]

1. 緒言

フィルタ法¹⁾やマイクロチャンネル法など²⁾、赤血球変形能測定方法はそれぞれの利点がある。従来の測定法よりも更に精密評価を可能にするためには、個々の赤血球を制御されたせん断応力環境下で直接可視化評価する方法を構築する事が必要であると我々は考えた。これを可能にするためのアイデアが流れ場を逆回転円板間に挟む機構である。この機構の採用で、流れの中央が対物レンズと相対的に動きが関係を実現でき細胞のモニタリングが理論上可能になる。なお、本研究では、場所によらず一様なせん断応力が発生可能になるように、上記の並行平板機構を、円錐-円板（コーン&カップ）機構を用いて実現する。このアイデアで、我々はこれまでに、装置を試作し、それを用いて、流れの中で高せん断に起因した赤血球損傷過程を撮影する事に成功した³⁾。しかしながら、遠心力の作業により細胞が半径外側に移動してしまう事と定点撮影のみ可能な装置機構の限界が課題として挙げられた。そこで本研究は、既存の試作機に対し、更に移動機構を付加する形に改良し、その妥当性を評価する事を目的とした。

2 試作装置の妥当性評価実験

単純せん断流れを発生可能にするためにはカップ・コーン間の軸設定は大変重要である。このためカップ・コーン部の軸の垂直度および軸ブレを計測し、これにより表面の揺らぎや軸の傾きを評価した。



Fig. 1: コーンの寸法精度評価実験風景

Fig1 は製作したコーン部の側面に対して鉛直方向（写真で上下方向）にダイヤルゲージのニードルを接触させながら移動させる事で表面の揺らぎと軸の傾きを評価している風景である。同様に、カップに対しても、その内径側面にダイヤルゲージを接触させて計測した。また、カップ部自体を回転させながらダ

イヤルゲージの値の変化を計測することにより、コーン内部のブレも計測した。また、ダイヤルゲージ自体を Z 軸方向に移動させることで軸の垂直度を計測した。

3. 検証結果

Table 1. 軸ぶれ計測結果

Deyph Z[mm]	Average	
	X[mm]	Y[mm]
0[mm]	0	0
15[mm]	0.004	0.006
25[mm]	0.007	0.008

Table1 はコーン各部の垂直度および中心からの半径方向のずれを示す。同様にいずれの測定も垂直方向の精度は 1/100[mm] 以内に収まった。加えて表面の揺らぎはほぼゼロであった。

4. 考察

計測した軸ぶれ測定値から判断し、製作した装置は、我々が必要とする精度を十分に満たしたと判断する。年会では、この装置を用いた赤血球流動可視化実験結果も紹介する予定である。

5. 結言

観察点移動機構を有するせん断流れ発生装置を試作し、設計どおりの寸法精度を確かめた。更に、これを用いて流れの可視化実験等を行い、総合的に装置の妥当性を検証した上で、血液細胞の変形流動挙動解明に役立てる。

謝 辞

本学大宮校舎ワークショップ技術員鳴嶋一男氏よりせん断装置の設計製作工程において精力的にサポート頂いた。本研究は科学研究費助成事業 基盤 C 課題番号 17K01370 により助成頂いた。

文 献

- (1) S. Chien, Red cell deformability and its relevance to blood flow, *Ann. Rev. Physiol.* 1987. 49:177-192
- (2) 田地川 勉: 可視化による赤血球変形能の定量評価 — 形状回復時定数を使った個々の血球の粘弾性特性の測定 — 可視化情報学会誌 34 巻 (2014) 134 号 p. 16-21
- (3) N. Watanabe, T. Shimada, M. Hakozaiki, R. Hara. Visualized erythrocyte's transit process into abnormality induced by supra-physiological shear stress. *Int J Artif Organs* (投稿中)

OS3-6

3次元血流速マイクロ断層可視化法 (OCDV) を用いた 表皮直下の毛細血管血流速の基礎的検討

古川 大介*, 佐伯 壮一*, 原 祐輔*

* 大阪市立大学大学院 工学研究科 機械物理系専攻 [〒558-8585 大阪府大阪市住吉区杉本 3-3-138]

1. 緒言

加齢や紫外線照射によって進行するシワや肌の弛みなどの皮膚の老化現象は、皮膚組織における代謝機能の低下に関連しており、組織や細胞への組織液の循環システムは、スキンケアやアンチエイジングの重要な評価指標である。皮膚組織は表皮・真皮・皮下組織の主に3層から構成され、毛細血管は表皮直下の乳頭層から真皮上層の乳頭下層に掛けて、皮膚表面から500 μm 程度の深さに走行している。微小血流動や漏出する組織液の流動特性は、代謝機能と共に皮膚粘弾性特性をも変化させるため、シワ発生などのスキンメカニクスの解明には微小循環血流を非侵襲に定量計測する必要がある。近年、Optical Coherence Tomography (OCT) が開発され、5 μm 程度の空間分解能にて生体組織内部の形態分布を非侵襲 *in vivo* 断層可視化している⁽¹⁾。更に、OCT 干渉信号におけるドップラー変調量を解析し、赤血球などの流動を可視化する Doppler OCT が開発されている。しかし、定量的な毛細血管血流速の評価には至ってはならず、更にスキンメカニクスとの関連性について検討されていない。本研究では、OCT 干渉信号における位相変化を検出する隣接自己相関法を導入し、高精度にドップラー変調量を断層計測する Optical Coherence Doppler Velocigraphy (OCDV) を構築し、ヒト爪郭を計測対象とし、皮膚表層部の形態分布と3次元毛細血管配向および流速分布のマイクロ断層可視化を行う。

2. 実験方法

図1に本装置の概略図を示す。本システムは、低コヒーレンス干渉計(Time-Domain OCT)である。光源には、中心波長1317 nm、半値幅100 nmのSLD広帯域光源を用いた。参照アーム側の光学系システムには、高速光路走査と分散補償を可能とするRSODシステムを用い、対物アーム側には、2軸ガルバノミラーを用いてビームを走査し、3次元可視化を可能とした。計測箇所は、ヒト前腕屈側部を対象とし、得られる干渉信号に対しOCDVアルゴリズムを適用した。OCDVアルゴリズムとは、隣接する干渉信号に対しヒルベルト変換を施し解析信号を求め、隣接自己相関法より、流動すなわち赤血球の移動によって発生するドップラー

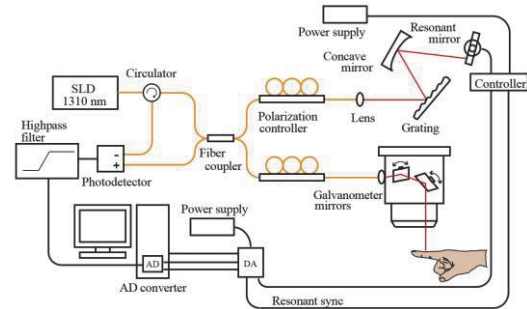


Fig.1 Optical Coherence Doppler Velocigraphy (OCDV) system with single-pass Rapid Scanning Optical Delay line (RSOD)

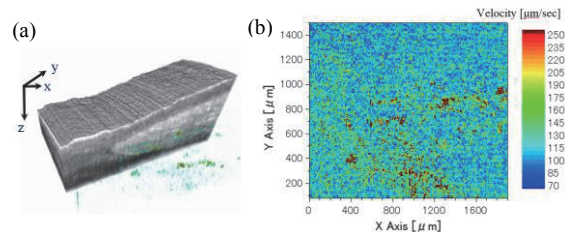


Fig.2 Example of OCDV images; (a) *in vivo* 3D tomographic image of morphological structure and blood velocity inside nail fold, (b) 2D (x-y) Maximum Intensity (Velocity) Projection Image (MIP)

変調量を位相差として求め、位相差から赤血球の流速分布を断層検出する手法である。

3. 実験結果および考察

OCDV システムをヒト爪郭に対し適用し、3次元形態分布および血流速分布を取得した。取得した3次元血流速分布に対し、最大(流速)値投影法(MIP)を適用し、3次元血流速分布すなわち血管配向を確認することが出来た。これらより、表皮下における毛細血管血流速を *in vivo* マイクロ断層可視化でき、スキンメカニクスの解明に有効であることが示唆された。

4. 結言

本研究では、Optical Coherence Doppler Velocigraphy (OCDV) を構築し、ヒト爪郭の組織形態分布および毛細血管血流速分布を3次元マイクロ断層可視化可能であることを確認した。

文 献

- 1) Joseph M. Schmitt: IEEE Journal of selected topics in quantum electronics, Vol.5, No.4, 1205-1215, 1999

要旨

6月16日（土）

第1会場

A1

学会奨励賞応募講演

プリオン病の予防または治療に向けたアミロイド凝集の抑制および分解促進の挙動解析と配列依存性

柴立郁美*, 静間隆文*, 森井尚之**, 木下岬***, 李 映昊***, 橋本 慎二*, 佐伯政俊*

*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]

**東京医科歯科大学 教養

***大阪大学 蛋白質研究所

1. 緒言

アルツハイマー病や牛海綿状脳症などで見られるアミロイド性の自己集積体の形成機構とその防止法の解明は、病気の分子論的理解において不可欠である。我々は、これまでの研究において、タンパク質工学的発想と固相合成法による系統的な変異体有機合成からアミロイド集積体のアミノ酸残基レベルでの構造的法則性を明らかにし、プリオンのアミロイド集積構造の中核となる領域 (CRAP) を導き出した[1-3]。さらに、プリオンのアミロイド形成の中核の構造を基に、アミロイドの形成を防止するペプチドを設計したペプチド BPAP は、特にβシートの両端付近に位置する疎水性残基の相互作用により、CRAP に結合し、アミロイドの形成を抑制していることが示唆された。そこで、本研究ではプリオン病の予防または治療に向けたアミロイド凝集の抑制および分解促進の挙動解析から BPAP の配列の依存性を解明することを目的とした。

2. 実験方法

はじめに、プリオンの凝集核である CRAP ペプチド線維について、他のアミロイド性タンパク質の分解に効果がある赤外自由電子レーザー (FEL) を、波長 6.17 μm で照射しアミロイド分解能を検証した。

次に、以前調製に成功した BPAP はプリオンのアミロイドを形成する核領域 (CRAP) の集積体形成を防止するために、CRAP のアミノ酸配列を基に、凝集に深く関わっているアミノ酸残基を親水性残基に置換したペプチドであるが、Fmoc 固相合成法により化学合成した。BPAP が CRAP の凝集抑制効果を調べるために、繊維形成済み CRAP に対してモル比 1:1 で BPAP、比較対象として BPAP の変異体 N2-13R をそれぞれ添加し、蛍光測定を行った。

また、BPAP と CRAP の分子間相互作用を解析するため線維形成前の CRAP に BPAP を添加後、添加等温滴定型熱量計 (ITC) による測定を行った。

3. 実験結果

CRAP 線維に FEL を照射後、チオフラビン T 蛍光アッセイを行ったところ、照射前の蛍光強度と比較して、線維化前の蛍光強度にまで減少した。

BPAP が CRAP に対する凝集抑制効果を調べた結果、N2-13R について添加直後は抑制していたが、300min 後に抑制効果を維持できなくなったのに対し、BPAP は 400min 後まで抑制効果を維持していた。

さらに、添加等温滴定型熱量計による BPAP と CRAP の分子間相互作用解析では、 ΔH が小さく弱い相互作用が働いている結果になった。

4. 考察

CRAP 線維にβシートの水素結合を破壊する波長 6.17 μm で照射することにより、βシートの集合体であるアミロイド構造が崩壊したと考えられる。

BPAP が CRAP に対する凝集抑制効果では、BPAP、N2-13R ともに効果はあったが、その抑制時間に差が生じたことからアミノ酸配列の法則性に基づいた BPAP の設計の妥当性を支持している。

5. 結言

CRAP 線維の崩壊および抑制には、FEL 照射や帽子ペプチド BPAP の添加が効果的である。特に、プリオンの凝集核のアミロイド形成を抑制するためには、BPAP の配列が妥当である。

文 献

- 1) Saiki, M., Honda, S., Kawasaki, K., Zhou, D., Kaito, A., Konakahara, T., and Morii H.: Higher-order Molecular Packing in Amyloid-like Fibrils Constructed with Linear Arrangements of Hydrophobic and Hydrogen-bonding Side-chains. *J. Mol. Biol.*, **348**, 983-998, 2005.
- 2) Saiki, M., Konakahara, T., and Morii H.: Interaction-based evaluation of the propensity for amyloid formation with cross- β structure. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **343**, 1262-1271, 2006.
- 3) 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.

A1-2

米粉・大豆タンパク質混合系の熱的・力学的挙動

永井紘太*, 吉村美紀*

*兵庫県立大学 環境人間学研究科

1. 緒言

米粉は製粉技術の進展により、微粉碎で損傷澱粉率の低いものが開発され、新規用途が広がっている。大豆タンパク質は、増粘性、保水性、ゲル化性、乳化性などの機能を持つことから、加工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や咀嚼・嚥下機能の低下した高齢者のための介護食の食品素材として発展している。

本研究では米粉と大豆タンパク質の混合系を用いて、混合比率を変化させたときの、米粉の糊化における大豆タンパク質の影響を熱的・力学的挙動から検討した。

2. 実験方法

(1) 実験試料

米粉 (RF と示す) (兵庫県産うるち米, 前原製粉), 大豆タンパク質 (SPI と示す) (粉末状大豆タンパクニューフジプロ-SEH, 不二製油) を試料として用いた。

(2) 米粉・大豆タンパク質混合系の熱的特性

測定には示差走査熱量測定計 DSC-6100 型 (セイコーインスツルメンツ) を用いた。RF と SPI の混合系総濃度が 20w/w% となるよう蒸留水と混合し、混合割合を RF : SPI = 10 : 0 ~ 0 : 10 とした。温度範囲は 20 ~ 140°C, 昇温速度は 2°C/min とし、リファレンスにはイオン交換水を用いた。混合系試料を 50mg 精秤し、銀製密閉容器 (70 μ L) に入れ密封しサンプルとした。得られた DSC 曲線より、第 1 吸熱ピーク (M1 と示す) と第 2 吸熱ピーク (M2 と示す) のピーク開始温度 (T_{o1} ・ T_{o2}), ピーク温度 (T_{p1} ・ T_{p2}), ピーク終了温度 (T_{c1} ・ T_{c2}) を求め、 T_o と T_c を直線で結んだ直線と DSC 曲線に囲まれた部分の面積であるエンタルピー ($\Delta H1$ ・ $\Delta H2$) 量を求めた。サンプルに含まれる米粉重量で除し、米粉 1mg あたりのエンタルピーとして示した。

(3) 米粉単独系 (RF) の米粉濃度による熱的特性

RF の濃度を 2~60w/w% の 9 段階に調製し、DSC 測定の場合は (2) と同様とした。

(4) 圧縮測定

RF と SPI の混合系総濃度を 16.7w/w% とし、総量が 100g になるよう RF : SPI = 10 : 0 ~ 0 : 10 の 11 段階に調製したゲルを作成し、クリープメーター (RE2-3305B, 山電) で定速圧縮測定を行った。測

定には直径 40mm の円柱形プランジャーを用い、最大荷重 20N, 圧縮速度 1.0mm/s で、試料の高さの 70% を圧縮し、応力-歪曲線の線形性領域から初期弾性率、歪 0.6 のときの圧縮応力を求めた。

3. 実験結果

RF・SPI 混合系の熱的特性では、RF : SPI の混合比率が 10 : 0 ~ 3 : 7 で吸熱ピークが出現し、8 : 2 の時、 T_{o1} = 52.6°C, T_{p1} = 63.8°C, T_{c1} = 73.7°C を示し、エンタルピーが $\Delta H1$ = 11.6mJ/mg と最も大きい値を示した。SPI 単独系では、ピークが出現しなかった。RF 単独系では、M1, M2 の 2 つの吸熱ピークが出現し、10w/w% 以上では濃度が高くなるにつれ T_{c1} , T_{c2} の温度上昇がみられ、吸熱ピーク (M1, M2) の高温側がすそを引いた形となり、50w/w% 以上では、M1 の吸熱ピークが分離し、糊化エンタルピーが小さくなった。RF・SPI 混合系の圧縮測定では、初期弾性率は RF : SPI = 10 : 0 ~ 5 : 5 までは差がなく、4 : 6 から大きく上昇した。圧縮応力は RF : SPI = 10 : 0 ~ 6 : 4 まではわずかに増加し、6 : 4 ~ 3 : 7 まで一度低下し、3 : 7 ~ 0 : 10 では著しく上昇する傾向を示した。

4. 考察

RF・SPI 混合系では、DSC 測定において混合比率 10 : 0 ~ 3 : 7 はピークが観察されたことから、RF の糊化が起こっていると推察した。RF : SPI = 6 : 4 より SPI の割合が増加すると、エンタルピーが小さくなったことより、糊化が不十分になると考えられた。SPI の吸水性が高く、RF の糊化に必要な水分が不足することが推察された。RF 単独系の熱的特性から、RF 濃度が 50w/w% 以上では、RF 中の澱粉の糊化が不十分となり、RF 単独系の水分が少ないことが要因と考えられた。以上より RF・SPI 混合系において、RF : SPI = 6 : 4 より SPI の割合が高くなると、RF の割合が減少するにもかかわらず、RF の糊化に必要な水分が不足し、糊化が不十分になると推察した。

5. 結言

RF・SPI 混合系では混合比率が 8 : 2 において、糊化エンタルピーが最大となることから、米粉の糊化が十分に行われる濃度であると推察し、この混合比率による米粉と大豆タンパク質の混合系食品が期待される。

A1-3

Microrheological characterization on the phase-separation of mixed carrageenan gels

○Lester Geonzon¹, Rommel Bacabac², and Shingo Matsukawa¹

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

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

1. Introduction

The gelation mechanism of mixed KC and IC gels whether it takes a phase separated of IC-rich (soft gel) and KC-rich (hard gel) or interpenetrated network is still unclear. Because of the importance in industries, mixture solutions of KC and IC have been extensively studied using different methods. Here, the gelation mechanism of mixed KC and IC was investigated using multiple particle tracking.

2. Experimental Method

Sodium-type κ - and ι - carrageenan powder was kindly supplied by Mitsubishi-Chemical Foods Corporation (Tokyo, Japan). All samples were dialyzed against NaCl solution and subsequently against deionized water, to obtain Na⁺ type carrageenan solutions. Samples were prepared by separately diluting dialyzed carrageenan and KCl solutions and heated for 30 min at 70 °C under vigorous stirring. The prepared solutions were mixed using vortex to obtain 1.5% w/w carrageenan with 10 mM KCl and heated at 90 °C for 20 min. Fluorescently labelled 0.1 μ m probe particles (Green, ThermoScientific) were added at a concentration of \sim 0.0075% (v/w) at 90 °C and stirred for another 5 min to assure homogenous dispersion. Mixture of KC and IC was prepared at different volume fraction of IC. Movies of the diffusing particles were recorded at a frame rate of 7.5 frames per second for 110 seconds. In cooling experiments, particle tracking was performed at different sample temperatures from 50 °C to 10 °C. In storage experiments, hot solutions of carrageenan were cooled down from 50 °C to 5 °C at a rate of 1 °C/min in a temperature-controlled incubator to form a gel. The gelled sample was stored at 5 °C prior to experiment and particle tracking was performed at 5 °C. Particle tracking was implemented in Mathematica 10 (Wolfram Research, Inc., USA).

3. Results and Discussion

The temperature dependence of the ensemble-averaged mean square displacement (MSD) of particles embedded in mixed KC and IC solutions showed a two-step decrease during cooling. The onset of the decrease is close to the observed decrease in pure KC and IC solutions. This trend of decreasing particle mobility with decreasing temperature is consistent with the observation of increasing viscoelastic modulus of the carrageenan solutions. The results suggest that IC and KC chains forms aggregates independently. The decrease in MSD with decreasing temperature is due to the steric hindrance created by the formation of clusters of IC and KC chain aggregates. In pure carrageenan solutions, IC gels formed weak

entanglement among clusters of IC chain that allowed diffusion of particles through crevices of the entangled clusters while KC gels rapidly formed thick aggregates of interconnected clusters that confined the particles. Meanwhile, in mixed solutions of KC and IC, the presence of IC clusters decreased the mobility of KC chains at low temperature thus slowed the formation of stable clusters of KC.

With storage time, a broad distribution of MSD was observed for the mixed gels. This suggests that an inhomogeneous solution was formed. The degree of heterogeneity in the mixed gels is reflected in the corresponding van Hove distribution of particle displacement at arbitrary lag time. It was found that the shape of the distribution deviates significantly from the Gaussian distribution. A bimodal Gaussian form with a broad and narrow Gaussian width fit well on the distribution and used to estimate the fractions of mobile and immobile particles at each mixing ratios. As the volume fraction of IC was decreased, the number of mobile particles decreased consequently. This implies that the presence of mobile particles was due to the existence of IC-rich domains that allowed diffusion of particles and the immobile particles was due to the confinement of particles in KC-rich domains. The results suggest that clusters of KC and IC further rearrange and continue to diffuse and bind on the existing clusters to form a stable network as shown in graphical representation in Figure 1.

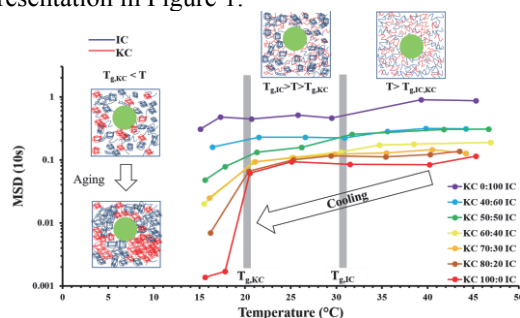


Figure 1. Temperature dependence of mean square displacement.

4. Conclusion

A separable mobile and immobile populations of particles was observed in the mixed gels. This is consistent with the proposed gelation mechanism of a local phase separation into IC-rich and KC-rich domains. By varying the volume fractions of KC and IC in the solution, a phase transition from a bi-continuous to a sea-island network structure is likely to occur.

Acknowledgement

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

A1-4

FRET イメージングを用いた MC3T3-E1 細胞内張力のダイナミクスの計測

王 軍鋒*, 杉田修啓**, 道上達男***, 坪井貴司***, 北口哲也****, 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 名古屋市千種区不老町]

名古屋工業大学, *東京大学, ****東京工業大学

1. 緒言

剥離して丸まった細胞をディッシュなどの基板に播種すると、細胞が基板に接着して大きく伸展することが知られている。この過程において、細胞内のストレスファイバ (SF) が張力を出して細胞形態を再構築していると考えられる。しかし、この張力の大きさや変化などの詳細は明らかでない。そこで我々は、Meng と Sachs が開発した FRET (Förster resonance energy transfer) 張力センサ Actinin-sstFRET¹⁾ を参考に、より汎用性のあるプローブ Actinin-sstFRET-GR を開発し、骨芽細胞様細胞 MC3T3-E1 の基板接着後 3 時間までの細胞内張力変化を調べた²⁾。その結果、細胞下部の張力は細胞面積の増加とともに減少するのに対し、上部の張力は一旦減少し、その後、増加するなど、細胞内張力が時空間的に複雑に変化することを示す幾つかの知見を得た。しかし、基板接着後 3 時間以降の変化や、SF 単体の変化は不明であった。そこで今回は、画像解析方法を改良し、個々の SF の変化を観察できるようにするとともに、基板播種後 3 時間以降の細胞内張力のダイナミクスを計測した。

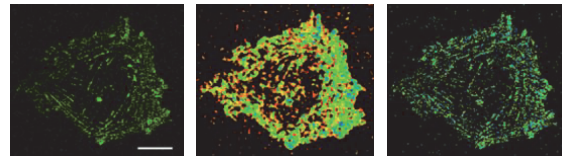
2. 実験方法

センサを発現した MC3T3-E1 細胞をガラス基板に播種し、インキュベータ内で 2.5 時間静置培養後、レーザ走査型顕微鏡 (IX81 + FV1200, オリンパス) 下に設置し、播種後 3 時間から 10 分間隔で、0.4 μm のピッチで断層画像を撮影した。その後、ImageJ で細胞内の FRET ratio (ドナーの蛍光輝度に対するアクセプタの蛍光輝度の比) を計算した。FRET ratio の変化によって張力の変化を推定する。

即ち、FRET ratio が増加すると、張力が減少し、ratio が減少すると、張力が増加すると推定できる。Fig. 1 に従来法と新しい方法の概要を示す。Z_i は細胞底部のドナー輝度値が最大である層を指す。

3. 実験結果と考察

従来法と新しい方法で得られた FRET ratio 像をアクチンの走行を示す Donor 像とともに Fig. 2 に示す。従来法の ratio 像では線維構造は観察されないのに対し、新しい方法では、SF の部分のみの FRET ratio が得られ、SF が本来の形に見える。また、個々の SF の FRET ratio の播種後 3 時間以降の変化を解析したところ、よく移動する SF の張力が小さく、消失していく SF の張力が小さくなる傾向が見られた。今後は細胞上部の SF にも着目して解析を進める予定である。



Donor FRET (Previous) FRET (New)

Fig.2 Donor (actin) and FRET ratio images processed using previous and new methods at the bottom of an MC3T3-E1 cell at 8 h after plating. Bar = 20 μm .

謝辞

本研究の一部は、科研費 (15H05860, 15H02209), ならびに AMED-CREST (JP17gm0810005) の支援によって行われた。ここに記して謝意を表する。

文献

- 1) Meng and Sachs: J Cell Sci **124** (2011), 261–269.
- 2) Wang et al.: J Biomech Sci & Eng **11** (2016), Paper No. 16-00504.

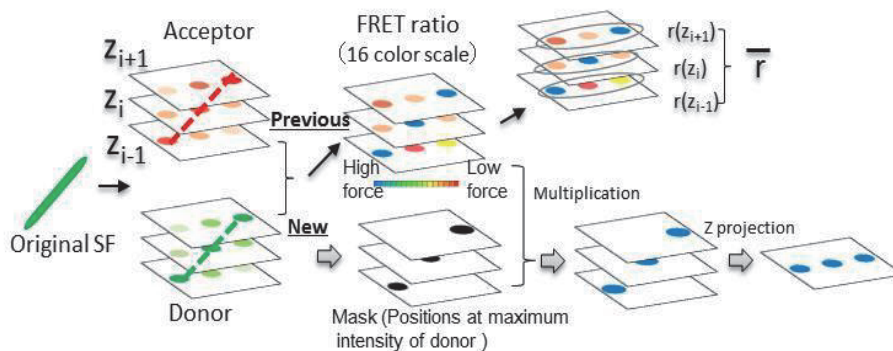


Fig.1 Image processing procedure.

要旨

6月16日（土）

第1会場

OS4

細胞・分子のメカノバイオリオロジー

OS4-1

赤血球の変形性指標：せん断流れ場における特性応力

橋本成広*

* 工学院大学 機械工学科 [〒163-8677 東京都新宿区西新宿 1-24-2]

1. 緒言

赤血球は、毛細血管を通過する際には、パラシュート型に変形する。他方、せん断流れ場においては、赤血球は、回転し、両凹円盤形からラグビーボール形に変形する。

赤血球は、骨髄で産生されてから、血管内を循環している間に、徐々に、比重の増加とともに、変形性が変わる¹⁾。また、膜の損傷などによっても変形性が変わる²⁾。

本研究では、*in vitro*において、せん断流れ中での変形を計測し、赤血球の比重ごとに、せん断応力に対する変形応答性を評価した。

2. 実験方法

密度 $1.05 \times 10^3 \text{ kg/m}^3$ 付近の液体をセパレータとして、遠心分離法によって、赤血球を比重の高い集団（上位 10%）と低い集団（下位 10%）に分類した³⁾。逆回転レオスコープ（逆回転平行円盤間クエット流装置）において、せん断流れ場における赤血球の変形を観察した³⁾。レイノルズ数の低い流れにおいて、浮遊赤血球に $0.6 \sim 6 \text{ Pa}$ のせん断応力 τ を加えるために、粘性係数 0.2 Pa s のデキストラン水溶液を溶媒として用いた。赤血球が変形したラグビーボール形状において、位相差顕微鏡画像から楕円の長軸長 y と短軸長 x を求め、式 (1) を用いて変形率 R を算出した。せん断応力 τ と変形率 R との関係を表す式 (2) のような指数関数で近似した。 τ_0 (特性応力) は R_0 (変形率飽和値) の 63% に到達するときのせん断応力に対応する⁴⁾。

$$R = (y-x)/(y+x) \quad (1)$$

$$R = R_0(1 - \exp(-\tau/\tau_0)) \quad (2)$$

3. 実験結果

各せん断応力場における変形率は、平均値に対して 10% 程度の標準偏差の範囲で、ばらつきが見られた。変形率飽和値 R_0 は、密度の低い赤血球においては、0.43、密度の高い赤血球においては、0.36 であった。また、特性応力 τ_0 は、密度の低い赤血球においては、1.8 Pa、密度の高い赤血球においては、2.0 Pa であった。

4. 考察

ロータリーポンプ型人工心臓内のローターとケーシングの間では、赤血球は、クエット型流れ場に曝される。他方、円管内の流れでは、流速分布と赤血球の変形性に応じて、軸移動によって、赤血球は、せん断応力の小さい中心付近に集まる。特性応力が低い方が、軸移動しやすいと考えられる。

解析の結果から、比重の小さい赤血球は、流体中において、比重の大きい赤血球よりも、せん断応力に応じた変形が大きい（変形率飽和値が大きい）だけでなく、より低いせん断応力に応答して変形する（特性応力が低い）ことがわかった。特性応力が低い赤血球は、変形しやすく、狭い場所を容易にすり抜けられると考えられる。

5. 結言

逆回転レオスコープでのせん断流れ場における赤血球の変形観察から、赤血球変形性指標として、変形率飽和値以外にも、特性応力が有効であることを見出した。

利益相反

開示すべき利益相反はない。

文 献

- 1) Hashimoto, S., Otani, H., Imamura, H., et al.: Effect of aging on deformability of erythrocytes in shear flow. *Journal of Systemics Cybernetics and Informatics*, **3**(1), 90-93, 2005.
- 2) Hashimoto, S.: Detect of sublethal damage with cyclic deformation of erythrocyte in shear flow. *Journal of Systemics Cybernetics and Informatics*, **12**(3), 41-46, 2014.
- 3) 橋本成広: 生体計測工学入門, コロナ社, 2000, pp. 134-138.
- 4) 橋本成広: 生体機械工学入門, コロナ社, 2013, pp. 104-105.

OS4-2

PKC α トランスロケーションと細胞間結合の関係

崔 中華*, Alireza Karimi**, 世良 俊博***, 工藤 奨***

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

**JSPS International Research Fellow, 九州大学

***九州大学大学院工学研究院機械工学部門

1. 緒言

PKC α (protein kinase C α) は遊走など様々な細胞活動に関係がある細胞内タンパク質であり, 活性化すると細胞膜に局在 (トランスロケーション) する¹⁾. 従来研究によると, 細胞間結合を切断すると PKC α は特に細胞間結合の切断方向に局在し, その後細胞は局在した方向に遊走した²⁾. この PKC α トランスロケーションの原因として, 細胞間結合の切断に起因する細胞の力学環境の変化が考えられる. 実際, マイクロピペットによって力学刺激を細胞に直接与えると, 刺激領域に PKC α が局在したことから, PKC α トランスロケーションと力学刺激の関係が考えられる³⁾. 本研究は, ポリアクリルアミドゲル (PAA ゲル) 上にウシ大動脈由来血管内皮細胞 (BAECs) を培養し, 細胞間結合切断時の PKC α トランスロケーションと PAA ゲルのひずみの関係を調べた.

2. 実験方法

従来研究⁴⁾を参考に最終濃度 5 % のアクリルアミド溶液と 0.05 % のビスアクリルアミド溶液を用いて PAA ゲルを作成した. PAA ゲルマーカースとして 0.2 μm の蛍光粒子 (Thermo Fisher) を PAA ゲルに混合した.

PKC α 観察のための PKC α -GFP を遺伝子導入した BAECs を PAA ゲルに 100 % コンフルエントになるように培養した. マイクロピペットによって単一細胞を損傷させ細胞間結合を切断しようとしたが, 細胞だけではなく PAA ゲルも変形した. そこで, 本研究では 6 分間のレーザー照射 (波長: 405 nm, $3 \times 3 \mu\text{m}^2$) によって単一細胞を損傷させ細胞間結合を切断した. 細胞間結合切断前後の蛍光粒子を共焦点顕微鏡で観察し, 相互関連法によって粒子追跡を行い PAA ゲルのひずみを求めた⁵⁾. また, 細胞間結合切断前後の PKC α -GFP も観察した.

3. 実験結果

レーザーによって単一細胞を損傷させ細胞間結合を切断させると, 損傷細胞の方へ PKC α がトランスロケーションした. また, 細胞間結合の切断により PAA ゲルには損傷細胞膜周辺に最大 8 % のひ

ずみが発生し, PKC α が局在した領域のひずみは大きかった. また, GAP 結合を阻害すると, 細胞間結合を切断しても損傷細胞の方へ PKC α は局在せず, 損傷細胞膜周辺の PAA ゲルのひずみも小さかった.

4. 考察

細胞間には細胞間結合による張力が働いている⁶⁾. 細胞間結合の切断によって PAA ゲルにひずみが発生し, 細胞はそれを力学刺激として感知し PKC α が局在すると考えられる. また, GAP 結合を阻害すると, 細胞間結合が弱まり細胞間張力が弱くなり PKC α の局在が抑制されたと思われる.

5. 結言

細胞間結合を切断すると, PKC α が切断領域に局在し, またその領域のひずみが大きかった. 細胞は細胞間結合の切断による力学刺激を感知し, その結果 PKC α トランスロケーションが引き起こされていることが示唆された.

文 献

- 1) Newton, A.C., Protein Kinase C: Structural and Spatial Regulation by Phosphorylation, Cofactors, and Macromolecular Interactions, *Chem. Rev.*, **101**, 2353–2364, 2001.
- 2) Arai, M., Shimada, T., Kora, C., Nakashima, K., Sera, T. and Kudo, S.: Biphasic and directed translocation of protein kinase C α inside cultured endothelial cells before migration. *Biochem. Biophys. Rep.*, **12**, 91–97, 2017.
- 3) Arai, M., Sera, T., Hasegawa, T. and Kudo, S.: Spatial and temporal translocation of PKC α in single endothelial cell in response to mechanical stimulus. *Exp. Cell. Res.*, accepted.
- 4) Hur, S. S., Zhao, Y., Li, Y.-S., Botvinick, E. and Chien, S.: Live Cells Exert 3-Dimensional Traction Forces on Their Substrata. *Cell. Mol. Bioeng.*, **2**, 425–436, 2009.
- 5) Tseng, Q., Duchemin-Pelletier, E., Deshiere, A., Balland, M., Guillou, H., Filhol, O. and Théry, M.: Spatial organization of the extracellular matrix regulates cell–cell junction positioning. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **109**, 1506–1511, 2012.
- 6) Maruthamuthu, V., Sabass, B., Schwarz, U. S. and Gardel, M. L.: Cell-ECM traction force modulates endogenous tension at cell-cell contacts. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **108**, 4708–4713, 2011.

OS4-3

内皮細胞一次繊毛の可視化および力学特性計測技術の開発

○松尾智史*, 玉井克志*, 蔡昊男*, 大橋俊朗**

*北海道大学大学院 工学院 [〒060-0808 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

1. 緒言

一次繊毛は多くの細胞上に存在する微小構造体であり, 流れに対するメカノセンサであることが指摘されている. 例えば, Praetorius⁽¹⁾らはイヌ腎臓尿細管上皮細胞 (MDCK) の一次繊毛において, 細胞外からの流れ刺激による Ca^{2+} の濃度上昇を報告した. 一次繊毛のメカノセンサとしての機能を考える場合, 力学特性を詳細に把握することは重要である. Battle⁽²⁾らは光ピンセットにより一次繊毛の曲げ剛性を計測した. しかしこれらの方法では, 一次繊毛の正確な力学特性を求める上で, 基底部が固定されておらず細胞膜の変形による測定誤差を排除できないなどの問題点があった.

そこで本研究では, まず一次繊毛の可視化を試みた後, 単離した一次繊毛を微小流路内で捕捉して流れ負荷により力学特性評価を行う MEMS デバイスの開発を目指した.

2. 実験方法

一次繊毛の観察および単離実験では, ウシ大動脈内皮細胞 (BAEC) および MDCK を用いて, 発生率や形状の観察に加え, Acetylated α tubulin 抗体を用いて免疫蛍光染色による観察を行った.

MEMS デバイスでは, 一次繊毛の力学特性評価は 2 段階に分かれており, 試料懸濁液流による一次繊毛のソーティングおよび捕捉を行った後, 流れ負荷を加える測定流に切り替えて生じる変形から力学特性を推定する. MEMS デバイスの有効性を確認するため, 第一段階として流路にカーボンナノチューブを流してデバイスの有効性の確認を行った.

3. 実験結果

2 種類の細胞に Acetylated α tubulin で免疫蛍光染色を行った結果, BAEC の一次繊毛の発生率は約 1%, 長さは約 2.5 μm であり. MDCK の一次繊毛の発生率は約 20%, 長さは平均 1.5 μm であった (図 1(a), (b)). 本実験の染色条件では, 他の細胞内小器官も染色されたが, 一次繊毛との輝度の差が明らかなたため識別は可能であった.

図 1(c)では, 流路幅がすべて 5 μm である 4 又流路上方に長さ約 6 μm のカーボンナノチューブが捕捉されている. 捕捉の確認後, 測定流による流れ負荷を行いカーボンナノチューブの屈曲を観察することができた (図 1(d)).

4. 考察

一次繊毛の可視化において, 明瞭に染色されることが確認された. より詳細な結果を得るために発現率の改善を行う必要がある. 作製した MEMS デバイスにより, 一次繊毛の力学特性を計測することができる可能性を示すことができた.

5. 結言

本研究では一次繊毛の蛍光観察を行った後, 力学特性計測用の MEMS デバイスの有効性を確認した.

謝 辞

本研究の一部は科学研究費補助金基盤研究(B) (課題番号: 18H03508) の補助を受けた.

文 献

- 1) Praetorius, H.A. and Spring, K.R.: Bending the MDCK cell primary cilium increases intracellular calcium. *The Journal of Membrane Biology*, 184, 71-79, 2001.
- 2) Battle, C., Ott, C.M., Burnette, D.T., Lippincott-Schwartz, J. and Schmidt, C. F.: Intracellular and extracellular forces drive primary cilia movement. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(5), 1410-1415, 2015.

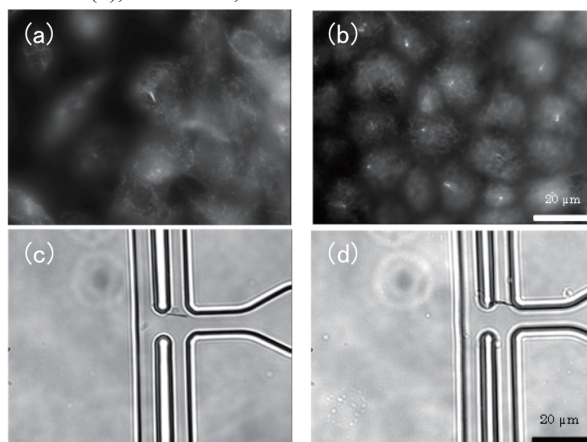


Fig. 1 Fluorescence images of primary cilia with Acetylated α tubulin in (a) BAEC and (b) MDCK. (c) A carbon nanotube trapped in the four-forked channel and (d) its bending caused by test flow loading.

OS4-4

傾斜構造のコラーゲン基質を用いた細胞遊走評価

福島修一郎, 松井翼, 出口真次

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

1. 緒言

細胞外基質の硬さは, 周囲に存在する化学物質の濃度勾配 (走化性) などと同様に方向性のある細胞遊走に影響を及ぼすことが知られている⁽¹⁾. 培養系の細胞外基質の硬さを変化させる従来の方法では, 構成物質の密度や添加する架橋剤の濃度の勾配によって硬さが徐々に変化する傾斜構造を実現している. しかし, これらの基質の微視的な構造は構成物質の組成が異なっているため, 細胞が感受している硬さの実態がどのようなものは不明である. そこで本研究では, 新たな傾斜構造基質となるコラーゲングルを作製した.

2. 実験方法

傾斜構造基質は, pH が異なる 2 種類のコラーゲン溶液を接触させてゲル化することで作製した. 水冷した細胞培養用の I 型コラーゲン溶液 (Corning), リン酸緩衝液, 水酸化ナトリウム水溶液, 滅菌水を混和して pH 6 と pH 8 の 2 種類の溶液を調整した. なお, 水酸化ナトリウム水溶液および滅菌水の添加量を変化させたときの pH を測定して, コラーゲンの終濃度を一定にして所定の pH するための混和条件をあらかじめ決定した. コラーゲン溶液をゲル化させる際には, 流路両端から pH 6 と pH 8 の混和溶液を注入して中央で接触させて 37°C で 30 分間インキュベートした. その後, 培養液に置換して全体を中性にした.

作製したコラーゲン基質の構造を観測するために第 2 高調波発生光 (SHG 光) を用いた. 使用した SHG 顕微鏡は多光子顕微鏡システム (MPM200-2, THROLABS) の光源に中心波長 800 nm, 繰り返し周波数 75 MHz, パルス幅 100 fs の Ti:sapphire レーザー (TSUNAMI, Spectra Physics) を用いて構築した. 励起光は 20 倍の対物レンズ (XLUMPLFLN, OLIMPUS) を用いて試料に集光させ, 発生した後方散乱 SHG 光を検出して画像化した.

3. 実験結果および考察

図 1 に pH が異なるコラーゲン溶液の接触部のゲルの SHG 画像を示す. 図の左側から pH 8 の混和溶液を, 右側から pH 6 の混和溶液を注入してゲル

化させた. コラーゲン線維は左側 (pH 8) では細く密に, 右側 (pH 6) では太く疎に分布しており, 傾斜構造が確認できた. 混和溶液調整時のコラーゲン密度は等しいため, ゲル化後の全体のコラーゲン密度は一定とみなすことができるが, 細胞スケールの線維構造を徐々に変化している. pH を変えて作製した均質なコラーゲングルの構造を検討した報告⁽²⁾と同様の線維構造となっており, この均質なゲルの材料特性の測定結果から推測すると, ゲル化時点の pH が高いほど, 線維密度が高く硬いゲルになっていると考えられる. 本研究の方法で作製したゲルは流路内に密封されてために材料特性の直接測定は困難であるが, SHG 光強度と材料特性の相関から局所的な材料特性を推定できる可能性があるため今後検討する.

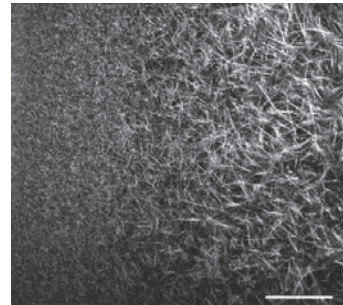


Fig. 1 SHG image of graded collagen gel.

Scale bar = 100 μ m

4. 結言

ゲル化過程における pH 勾配を利用して傾斜構造をもつコラーゲン基質の作製法を開発した. 本手法で作製したゲルはコラーゲン以外の添加物がなく, 巨視的な密度は均一であるため, 基質の材料特性を細胞がどのように感受しているかを検討するうえで有用である.

文 献

- 1) Lo, C. M. Wang, H. B., Dembo, M. and Wang, Y. L.: Cell movement is guided by the rigidity of the substrate. *Biophys. J.*, **79**, 144-152, 2000.
- 2) Raub, C. B., Unruh, J., Suresh, V., Krasieva, T., Lindmo, T., Gratton, E., Tromberg, B. J. and George, S. C.: Image correlation spectroscopy of multiphoton images correlates with collagen mechanical properties. *Biophys. J.*, **15**, 2361-2373, 2008.

OS4-5

血管内皮細胞のMMPおよびeNOS 産生に対する超高壁せん断応力の影響

○坂元 尚哉*, 大山 侑樹*, 中村 匡徳**, 木村 直行***

*首都大学東京 システムデザイン学部 機械システム工学科 [〒192-0397 東京都八王子市南大沢 1-1]

**名古屋工業大学 電気・機械工学科

***自治医科大学附属さいたま医療センター 心臓血管外科

1. 緒言

血管内皮細胞 (以下, 内皮細胞) は血流に伴って作用する壁せん断応力の大きさに応じ形状や機能を変化させ, 血管の生理・病理に深く関与すると考えられている. 動脈において壁せん断応力の生理的平均値は約 2Pa 程度であり, この値から大きく異なる環境は血管内皮細胞の異常な機能変化を引き起こし, 病理へ関与することが示唆されている. 例えば二尖弁や大動脈弁狭窄症では, 弁口面積の減少により上行大動脈に 10Pa 以上の非常に高い壁せん断応力が作用すると報告されており, 大動脈弁狭窄症は動脈壁の脆弱化により生じる大動脈拡大を伴うことが知られている. 動脈壁は壁分解と再構築 (リモデリング) によりその形状が維持されており, 常に高い壁せん断応力が壁リモデリング機能に変化を与え, 動脈壁脆弱化を引き起こす可能性が考えられる.

内皮細胞は細胞外基質分解酵素 MMP (Matrix metalloprotease) や, MMP 活性および炎症反応等に関わる NO (Nitric oxide) を産生し, 動脈壁リモデリングに深く関与する. 我々は大動脈弁狭窄症に伴う非常に高い壁せん断応力環境が, 内皮細胞のリモデリング機能を変化させ大動脈拡大を引き起こすという仮説を立てた. 本研究では壁せん断応力を内皮細胞に負荷し, 動脈拡大の初期形成への関与が考えられる MMP-2, -9 および NO 産生を評価した.

2. 実験方法

本研究ではウシ大動脈由来血管内皮細胞 (JCRB 細胞バンク) を実験に用いた. コラーゲンコーティングを予め施したディッシュ内でコンフルエントに達した内皮細胞に対して, 2, 10, 20 または 40Pa の壁せん断応力を 24 時間負荷した. 細胞を無血清培養液で 8 時間培養した後, 培養液中の MMP-2, -9 をゼラチンザイモグラフィ法で検出した. また本研究では NO 産生指標として内皮型 NO 合成酵素 eNOS 発現量をウェスタンブロッティング法により検出した.

3. 実験結果・考察

我々の過去の報告同様に²⁾, 本研究においても全ての実験条件において細胞の剥離は見られなかった. ゼラチンザイモグラフィにより内皮細胞の MMP-2 および MMP-9 産生が確認された. 壁せん断応力の増加に従って MMP-2 産生量の減少傾向が確認された. MMP-9 においても 2Pa に比べ 10Pa の壁せん断応力により減少傾向が見られた. 20Pa および 40Pa 環境下では MMP-9 は検出できなかった. ウェスタンブロッティングの結果において, eNOS 発現量は 2Pa の壁せん断応力負荷により静置培養に比べ増加し, 20Pa 以上では減少傾向が見られた.

MMP-2/-9 産生変化において仮説を支持するような傾向は本研究では見られなかった. 一方で, 2Pa 程度までのせん断応力に対して内皮細胞の eNOS 産生はせん断応力の大きさ依存的に増加することが報告されているが³⁾, 本研究により, さらに高い壁せん断応力環境は内皮細胞の eNOS 産生を減少させることが示唆された. この結果は大動脈弁疾患患者において報告されている eNOS 発現の減少傾向と一致している⁴⁾. 今後, 内皮細胞の NO 産生低下と大動脈拡大との関係をさらに検討する予定である.

謝 辞

本研究の一部は科学研究費補助金 (15K01304, 18K08770) の援助の下, 行われた. 記して謝意を表す.

文 献

- 1) Kimura N, et al, *J Thorac Cardiovasc Surg*, **153**, 52-62, 2017.
- 2) 坂元ら, 日本バイオレオロジー学会誌, **2**, 50, 2017.
- 3) Rouleau L, et al, *J Biomech Eng*, **132**, 071015, 2010.
- 4) Aicher D, et al, *Ann Thorac Surg*, **83**, 1290-1294, 2007.

要旨

6月16日（土）

第2会場

OS7

食品およびソフトマターのレオロジー

OS7-1

食品多糖類溶液のレオロジー、トライボロジーおよび食感の相関解析

○前田和寛*, 合田喬*, 中馬誠*

* 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、食品開発において、喉ごし、飲み応え等といった食感（テクスチャー）が重要な要素の一つになっており、特にビール、ゼリー飲料等の飲料やスープ等の液状食品では食感は商品開発の鍵となっている。また、食感は商品の嗜好性に影響するだけでなく、介護食における重要な要素となる嚥下のしやすさとも密接な関係があると考えられている¹⁾。近年、高齢化の進行に伴い、とろみ調整食品などの嚥下調整食の需要の高まりが見られており、これらの製品を開発する上でも、食感や嚥下性と相関する物理パラメーターの抽出は重要な課題の一つであると考えられる。

本研究では、とろみ調整食品により粘度調整したとろみ液について、レオロジー特性、トライボロジー特性および食感を評価することで、とろみ液間での特徴の差異がどこに現れるのか考察し、食感を特徴付ける物理パラメーターが抽出することを目的とした。

2. 実験方法

本研究において増粘多糖類分散液として、増粘多糖類で構成されるとろみ調整食品により粘度調整したとろみ液を試料とした。とろみ調整食品としてデンプン系 1 種、デンプンと増粘多糖類の併用系 1 種、およびキサントガム系 2 種を用い、イオン交換水を溶媒としてとろみ液を調製した。試料を E 型回転粘度計を用いてずり速度 50 s^{-1} における粘度を測定し、学会分類 2013（とろみ）²⁾ の 3 段階のうち「中間のとろみ」に分類される約 $200 \text{ mPa} \cdot \text{s}$ の粘度となるように調整し、これらの試料について、物理特性の差異を明らかにするため、レオロジー測定（定常流粘性、動的粘弾性）およびトライボロジー測定を行った。なお、トライボロジー測定には、回転部の治具としてガラスボールを、接触部の治具としてポリジメチルシロキサン（PDMS）を用い、すべり速度を変化させたときの摩擦係数を測定した。また、「まとまりやすさ」、「べたつきやすさ」、「飲み込みやすさ」、「ざらつき」の食感について Visual analog scale 法で官能評価した。

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、被験者の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

とろみ液のレオロジー測定において、デンプン系とろみ調整食品を使用した試料は他タイプのとろみ調整食品を使用したものと明確な違いが見られた。特に、定常流粘度のずり速度依存性に大きな違いが見られた。また、トライボロジー測定においては、治具の押し付け圧が 0.3 N 以下のときに、試料間の差異が大きくなる傾向が見られた。

また、食感との相関を解析したところ、レオロジー測定から「まとまりやすさ」と相関するパラメーターが抽出できる可能性が示唆された。一方、トライボロジー測定からは、「ざらつき」、「べたつきやすさ」と相関するパラメーターが抽出できる可能性が示唆された。

4. 考察

今回、レオロジー測定のパラメーターが「まとまりやすさ」との相関を示したのは、嚥下時における変形のしやすさを反映したものと推察された。一方、トライボロジーと相関が見られた部分に関しては、物理現象との関連は今後解析が必要と考えられる。

5. 結言

本研究により、レオロジー特性のみならず、トライボロジー特性がとろみ液の食感の差異に反映されている可能性が示唆された。今後、レオロジー測定と組み合わせることで、より幅広い食感を評価しうることが期待される。

文 献

- 1) Nishinari, K.: Texture and rheology in food and health. Food Sci. Technol. Res., 15, 99-106, 2009.
- 2) 日本摂食嚥下リハ学会 HP ホームページ：http://www.jsdr.or.jp/doc/doc_manual1.html 『嚥下調整食学会分類 2013』

OS7-2

シカ肉加工品の栄養と物性

吉村美紀*, 平川あさき*

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

1. 緒言

近年, 全国的にシカ肉を使った加工食品, ジビエ料理が広まっている. シカ肉の栄養面では, 他種畜肉と比較し脂質量が少なく, たんぱく質と鉄分を多く含むことが報告されている¹⁾. 脂質代謝に関与するアミノ酸誘導体であるカルニチンは, 牛肉, 豚肉, 鶏肉より多く含まれている²⁾. 一方で, シカ肉は, 硬くて臭いイメージが強く³⁾, 食品としての付加価値を高めることが課題である.

本研究では, シカ肉加工品を用いて, 栄養と物性について検討し, 他種畜産加工品と比較した.

2. 実験方法

(1) 実験試料: ミートローフ (A シカ肉 100%, B シカ肉 60%+豚肉, C1 シカ肉 40%+豚肉+ベーコン, C2 シカ肉 40%+豚肉), D シカ肉ジャーキー, E シカ肉粉末

(2) 破断測定: ミートローフは 2 cm 角の立方体に切り揃えた. クリープメータ (レオナー RE2-3305B, 山電) を使用し破断歪, 破断応力を求めた. 直径 5 mm の円柱形プランジャーを用い, 圧縮速度 1.0 mm/sec, 90% 圧縮とした.

(3) 表面色測定: 測色計 (ND-300A, 日本電色工業) を使用し, L 値, a 値, b 値を求めた.

(4) カルニチン量測定: 高速液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析計 (LC-MS/MS) を用いた. L-カルニチン, アセチルカルニチン, ヘキサノイルカルニチン, ミリストイルカルニチン, パルミトイルカルニチン量を求めた.

(5) 栄養成分比較: 原料となるシカ肉については推定年齢別, 雌雄別に分け, シカ肉加工品は市販の畜産加工品との比較で, 100g 中のエネルギー, たんぱく質, 脂質, 炭水化物量を求めた.

3. 実験結果

(1) 破断測定: シカ肉 100% のミートローフは, 有意に破断歪, 破断応力が高くなり, シカ肉含有量が低いミートローフは破断応力が低く軟らかくなる傾向を示した. シカ肉ジャーキーおよびシカ肉粉末は測定不可であった.

(2) 表面色測定: シカ肉 100% のミートローフは, シカ肉 60% および 40% ミートローフと比較し, 有意に L 値と b 値は低く, a 値は高く, 暗く赤みが強くなった. シカ肉含有量が低く豚肉を加えたミートローフは, L 値と b 値が高く, a 値は低くなり明るく赤みが弱くなった. シカ肉ジャーキーは L 値が有意に低く, 暗めの色となった. シカ肉粉末は b 値が有意に高く, 黄色みが強くなった.

フは, L 値と b 値が高く, a 値は低くなり明るく赤みが弱くなった. シカ肉ジャーキーは L 値が有意に低く, 暗めの色となった. シカ肉粉末は b 値が有意に高く, 黄色みが強くなった.

(3) カルニチン量測定: シカ肉 100% ミートローフはシカ肉 60% および 40% ミートローフより, カルニチン量が多い傾向を示した. シカ肉ジャーキーとシカ肉粉末は, ミートローフよりカルニチン量が多い傾向を示し, シカ肉粉末のミリストイルカルニチン, パルミトイルカルニチンは有意に高くなった.

(4) 栄養成分比較: 原料となるシカ肉の栄養成分は, いずれも個体差が少なく, シカ肉 100g あたりエネルギーは 90kcal, たんぱく質は約 20g, 脂質 1g 未満を示した. シカ肉加工品では, 畜産加工品より脂質が低くエネルギーが低い特徴がみられた.

4. 考察

シカ肉 100% と比べ, シカ肉含有量が低いミートローフは, 破断応力が低く, L 値と b 値が高く, a 値は低くなり, 軟らかく明るく赤みが弱くなり, 豚肉を加えることで食味改善が期待された. 一方で, カルニチン量は, シカ肉 100% ミートローフで多く含まれる傾向を示した. シカ肉ジャーキーとシカ肉粉末は乾燥品であり, 成分濃縮が予想され, L-カルニチン, アセチルカルニチン, ヘキサノイルカルニチンにおいてミートローフより多い傾向であったが有意差は認められなかった. シカ肉粉末では, 乾燥時に親水性の L-カルニチンが損失し, 疎水性のミリストイルカルニチン, パルミトイルカルニチンは濃縮されたことが推察された. シカ肉加工品では, 原料のシカ肉の脂質量が低いことから, 畜産加工品と比較しエネルギーが低くなることが推察された.

5. 結言

シカ肉加工品は, 脂質が少なくエネルギーが低く, カルニチンを多く含むが, 他種材料の添加で, 硬さ, 色の食味が改善されることが期待された.

文 献

- 1) 岡本匡代ら: 野生エゾシカ肉の栄養特性について, 栄養・食糧誌, **57**, 147-152, 2004.
- 2) 山下麻美ら: LC-MS/MS を用いたシカ肉に含まれる遊離およびアシルカルニチン含有量の測定, 食科工誌, **59**, 637-642, 2012.
- 3) 吉村美紀ら: 天然シカ肉加工品の物性および嗜好性に及ぼす多穀類添加の影響, 食科工誌, **58**, 517-524, 2011.

OS7-3

画像テクスチャ解析を用いた嚥下音からの炭酸圧推定

柴田暁秀*, 白石勝人*, 池上聡**, 中馬誠**, 東森充*

* 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

ヒトが飲食物を嚥下する際(Fig.1(a)), 咽頭部にて嚥下音が発生するが, その特性は飲食物の物性に依存する. 本稿では, 咽頭部の物理現象を嚥下音で捉え, スペクトログラムに対する画像テクスチャ解析により, 飲料の炭酸圧を推定する問題について考察する.

2. 実験試料と被験者

実験試料は, 水, 弱炭酸水, 強炭酸水, の3種類とした. 各試料の炭酸圧は, 弱炭酸水が $1.72[\text{kg}/\text{cm}^2]$, 強炭酸水が $3.58[\text{kg}/\text{cm}^2]$ とした. 試料の温度は 5°C とした. 被験者は, 平均年齢31歳の6名の健常者とした.

3. 嚥下音測定

被験者は, 静穏環境下で椅子に腰掛け, 背筋を伸ばした状態で, 咽喉マイク(有限会社南豆無線電機製)を甲状軟骨部に装着し, 試料15[g]を一旦口に含み, 一回で全量を嚥下した. マイクで測定した嚥下音信号をICレコーダーに嚥下音波形(Fig.1(b))として保存した. サンプル周波数は $44.1[\text{kHz}]$ とした. 被験者ごとに, 各試料の嚥下音測定を二回ずつ測定した.

4. 画像テクスチャ解析を用いた炭酸圧推定

嚥下音波形に対し短時間フーリエ変換(STFT)を行い, スペクトログラムを取得した. Fig.2にスペクトログラム例を示す. 窓関数はブラックマン窓を用い, 窓幅は $256[\text{plot}]$ ($5.80[\text{ms}]$)で与える. はじめに, スペクトログラムを $1[\text{kHz}]$ ごとに5分割し, $2\sim 5[\text{kHz}]$ の3枚の画像に対し空間濃度レベル依存法¹⁾を用いて, 画像テクスチャ特徴量を算出した(特徴量数 $m = 240$). 次に, 特徴量間での高い相関関係を除去するために主成分分析を施し, 特徴量ベクトルの次元を圧縮した主成分ベクトルを算出した(固有値1以上の主成分数, $l = 10$). 続いて, 特徴量主成分と炭酸圧との重回帰モデルを作成した. Fig.3に, 実際の炭酸圧値と推定値の関係を示す ($R^2 = 0.53$). 3者の間には, それぞれ有意差 ($P < 0.05$) が存在することが確認できた.

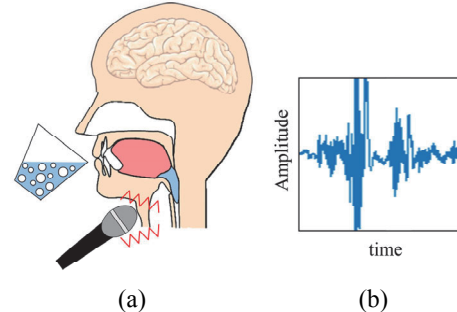


Fig. 1 Swallowing sound measurement.

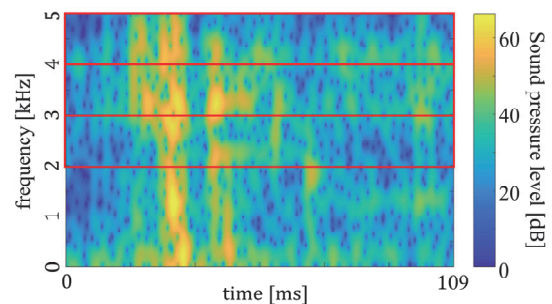


Fig. 2 Spectrogram obtained by STFT.

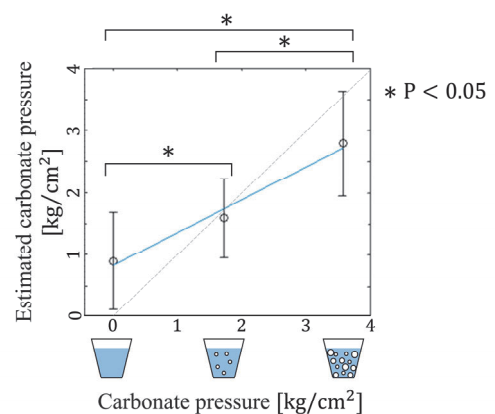


Fig. 3 Estimation Result.

5. 結言

本稿では, 嚥下音のスペクトログラムに対する画像テクスチャ解析により, 飲料の炭酸圧を推定できる可能性を示唆した.

文献

- 1) Haralick, R.M. et al.: Textural Features for Image Classification, IEEE Trans. on Systems, Man and Cybernetics, SMC-3, 610-621, 1973.

OS7-4

保存日数の異なる α -アミラーゼ製剤添加パンの物理的特性と食塊の性状

高橋智子*, 勝瀬梨沙*, 吉田美咲*, 佐保田哲子**

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

**ピュラトスジャパン (株) 〒150-0001 東京都渋谷区神宮前 2-2-22

1. 緒言

多くの市販食パンの消費期限は製造後 5 日となっている。ここでは、基本パン、ショートニング添加パン、 α -アミラーゼ製剤添加パンについて、1 日保存試料と 5 日保存試料の物理的特性、および食べやすさに関わる食塊の力学的特性を中心に比較検討した。

2. 実験方法

測定パン試料は強力小麦粉 (日清カメリア)、砂糖、食塩、ドライイーストを材料としたものを A 試料とし、ショートニングを対粉あたり 5% 添加したものを B 試料、B 試料に α -アミラーゼ製剤 (耐熱性 α -アミラーゼ 0.1%、小麦粉 99.9%、ピュラトスジャパン (株)) を対粉あたり 0.5% 添加したものを C 試料として、ホームベーカリー (SD - BH103, パナソニック) により焼成したパン試料のクラム部分とした。焼成したパン 20°C 恒温器中 24 時間保存したものを 1 日保存試料とした。飽和蒸気圧下 (相対湿度 75.5 \pm 0.2%) に 5 日間保存したものを 5 日保存試料とした。菜種法を用いて比容積を測定した。また、パンクラム部分の含水率を常圧乾燥法により測定した。力学的特性として、テクスチャー特性 (圧縮速度 10mm/sec、圧縮率 40%、80%) と、破断特性 (圧縮速度 0.5mm/sec、圧縮率 90%、前歯で噛み切るときを想定し、前歯の形を模したくさび型のプランジャーによる 1 回圧縮) を測定した。また、 β -アミラーゼ・プルラーゼ法 (BAP 法) により 1 日保存試料と 5 日保存試料の糊化度を測定した。食塊の力学的特性として、咀嚼回数 5 回ごとのパン食塊のテクスチャー特性、食塊の表面摩擦を測定した。また、嚥下直前のパン咀嚼食塊のテクスチャー特性、唾液含有率の測定をおこなった。食べやすさの検討については、嚥下直前

までの咀嚼筋電位を測定した。本研究は神奈川県立工科大学、ヒトを対象とした実験研究に関する倫理審査委員会の許可を得たものである。

3. 実験結果および考察

テクスチャー特性測定結果より、圧縮率 80% において 1 日保存試料、5 日保存試料いずれも A 試料が最も硬く、C 試料が最も軟らかいことが認められた。破断特性測定より初期弾性率は、1 日保存試料では有意差が認められなかったが、5 日保存試料で α -アミラーゼ添加試料である C 試料が有意に小さいことが認められた。糊化度は、1 日保存試料、5 日保存試料ともに、C 試料が AB 試料に比べて糊化度が顕著に高く、また、C 試料の 1 日保存試料、5 日保存試料間での糊化度の差は小さいことが分かった。いずれの試料も 5 日保存試料の食塊の硬さは 1 日保存試料に比べ硬く、ことに、A 試料においてその傾向は顕著であった。一方、 α -アミラーゼ添加試料である C 試料の 5 日保存試料の食塊の硬さは、各咀嚼回数において軟らかい傾向を示した。また、5 回咀嚼食塊の表面摩擦は、5 日間保存試料において C 試料の初期摩擦荷重が小さい傾向にあることが分かった。パン試料の咀嚼開始から嚥下直前までの咀嚼回数は、C 試料が他の試料より少ない咀嚼回数であることが示された。嚥下直前のパン食塊のテクスチャー特性は、3 種の試料間に有意差は認められなかった。嚥下直前の食塊に含まれる唾液含有率は、1 日保存試料では差が認められなかったが、5 日保存試料で C 試料の唾液含有率量が他の試料に比べ小さいことが示された。咀嚼筋電位測定において、5 日保存試料で α -アミラーゼ添加試料である C 試料が他の試料に比べ、嚥下までの咀嚼筋総筋活動量が有意に少ないことが認められた。

OS7-5

硬さの異なる寒天マイクロゲルオイルサスペンションの流動特性

金田 勇*, 宮前仁美*

* 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

我々は寒天熱水溶液を油中に分散させ、W/O エマルションを作成し、それを冷却することで寒天マイクロゲルオイルサスペンションの調製に成功した。これを利用して様々な低脂肪食品の開発が可能になると期待され、現在鋭意研究中である。本報告では寒天マイクロゲルオイルサスペンション自体の流動特性を定量的に評価し、マイクロゲルの体積分率やマイクロゲル自体の剛性率がサスペンションの流動特性にどのような影響を及ぼすかを調べた。

2. 実験方法

1) 寒天マイクロゲルオイルサスペンションの調製：エルカ酸シヨ糖エステル (ER-190；三菱化学フーズ) を溶解した流動パラフィンを連続相として、ここに寒天 (Agar: 和光純薬) の熱水溶液を添加して 60°C に保ちながら超音波分散機を用いて W/O 型エマルションを調製した。この W/O 型エマルションを冷却して内水相を寒天によりゲル化させ、寒天マイクロゲルオイルサスペンションを得た。得られたオイルサスペンションは高速遠心分離機により一旦濃縮された後に所定の流動パラフィンで再希釈することで寒天マイクロゲルの体積分率 (ϕ) が 0.6 ~ 0.77 のオイルサスペンションを調製した。また寒天マイクロゲルの剛性率の違いによる流動挙動の変化を調べるために、寒天濃度が 1.5, 2.0, および 2.5% の 3 水準でそれぞれオイルサスペンションを調製して実験に供した。

2) レオロジー測定：歪制御型レオメータ (ARES:TA インストルメント) にコーンプレート型フィクスチャーを装着し、30°C において動的弾性率の周波数依存性を測定した。

3. 実験結果および考察

本最近、Bohlin の協同性流動理論を拡張した weak-gel model が提案されている¹⁾。このモデルは複素弾性率の周波数依存性を (1) 式により解析し、配位数 (z) とゲル強度 (A_f) の 2 つのパラメータで複雑流体の流動挙動を定量的に表すというアイデアである。

$$G^*(\omega) = A_f \omega^{1/z} \quad (1)$$

配位数 (z) は複雑流体の内部の「柔らかい構造」の立体的 (幾何学的) 特性を数値化したものであり、ゲル強度 (A_f) はその強度を示す。

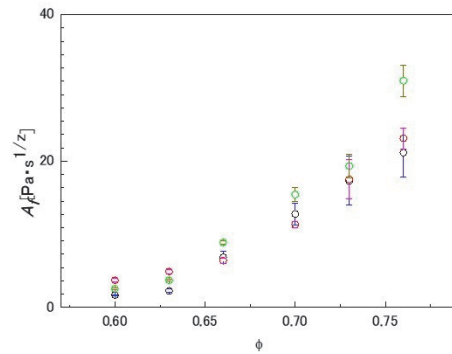


Fig.1 Volume fraction dependence of A_f for agar microgel oil-suspension. Green, red, and blue symbols denote agar concentration is 2.5, 2.0, and 1.5 wt%, respectively.

Fig. 1 に寒天濃度の異なる寒天マイクロゲルオイルサスペンションのゲル強度の体積分率依存性の結果を示す。体積分率が 0.65 程度まではマイクロゲルの硬さによらず A_f は体積分率上昇とともに緩やかに上昇したが、マイクロゲル粒子が random closed packing 状態に達したと考えられる 0.75 を上回ると A_f は寒天濃度依存的に上昇した、この結果は密に充填したマイクロゲルに変形を与えた際に発生する内部応力はマイクロゲル粒子の硬さに依存する状況を定量的に示しえたことを意味する。

4. 結言

寒天マイクロゲルオイルサスペンションの流動特性を weak-gel model で定量的に解析することに成功した。今後このマイクロゲルサスペンションを配合した低脂肪食品の流動特性解析にも本研究の成果を活用できると期待できる。

謝 辞

この研究は旗影会研究助成金を受けたものである。

1) Gabriele, D., de Cindio, B., D'Antona, P. A weak gel model for foods. Rheol Acta, 2001; 40: 120-127.

OS7-6

食品用 3D プリンタの開発

関順一, 清水純平, 武政誠

東京電機大 理工学部 理工学科 生命科学系
〒350-0394 埼玉県比企郡鳩山町石坂 東京電機大学
e-mail: takemasa@physics.soft-matter.org

1. 緒言

食は栄養摂取という最も基本的な側面だけでなく、おいしい食を作り、また食べて楽しむという文化の基盤にもなっている。近年は、ライフスタイルの多様化により、調理時間を短縮しつつ安価に利用できる食として、冷凍食品の消費が伸びており、またおいしさも向上している。この改良は、多種多様な多糖類などの食品添加剤を組み合わせることで実現している。別の観点では、天然高分子から構成される食品の高次構造、及び力学特性を制御する、バイオレオロジー分野の技術の集大成であると言える。近未来には食のレオロジー特性の制御等を発展させて、望んだタイミングで、望んだ食感を、必要な量だけ用意することができる時代が来ると考えられる。我々は、食のパーソナライズ化を具現化し、安全でおいしい食をその場で実現するために、意図した食感の食をその場で印刷できる 3D プリンタ実現の検討を始めた。

3D プリンタのうちプラスチック材料（特に熱可塑性樹脂）を利用した装置は普及段階に入っており、食品用としてもチョコレートや飴など一部の材料については専用の 3D プリンタが市販されている。他の食材を自由に利用したり、それらを組み合わせた食感を制御したりするには程遠いのが現状である。本研究で我々は食感を制御することが可能な、食品 3D プリンタの実現に向けて要素技術の検討と、各要素の条件検討を行った。

2. 実験

食品を出力する 3D プリンタでは、ペースト状の食品をフードインクとして利用し、CAD 上で設計したとおりに、ペースト状食品を配置することで造形を行う。フードインクの押し出しは、パルスモーターで制御したシリンジポンプ（ペーストエクストルーダー）を利用した。

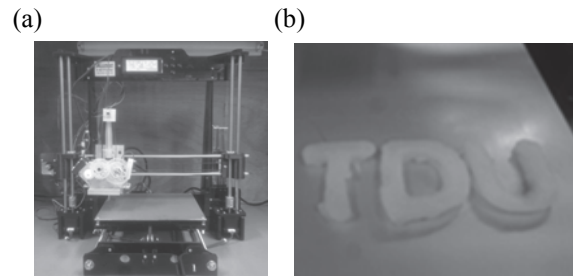


図 1 (a)作成した 3D プリンタ及びペーストエクストルーダーの全体像と、(b)開発したフードインクで出力を行った例

市販のペースト状食材を複数利用して試作したところ、高速かつ空間分解能の高い造形を実現するためには、フードインクのレオロジー特性にも様々な要請があることがわかった。3 大栄養素である、炭水化物、タンパク質、脂質のうち、特に前者 2 種について検討を始め、それらを対象にフードインクの開発を行った。例えば、食品用増粘多糖類であるキサンタンガム、市販のたこ焼粉、市販のポテト粉などを用いて前述のペーストエクストルーダーから押し出し可能な条件検討を行い、造形時の空間分解能などについて最適化した。材料同士の結着や、押し出し後の形状保持などの特性には粘弾性特性の制御が必要であった。増粘多糖類を混合することやペーストエクストルーダーの改良により、ポテト澱粉など炭水化物を主成分としたフードインクについては比較的空間分解能の高い造形が可能となった。ペーストエクストルーダーの先端径にも依存するが、 $\phi 1.0\text{mm}$ 程度の造形が可能となった。

3. 結言

ペーストエクストルーダーを用いた食品用 3D プリンタの作成と、炭水化物主体のフードインクの開発に成功し、造形精度 1mm オーダーを達成した。今後は味、安全性を考慮した材料を選定したうえで、複数材料を同時に（または交互に）出力することで、食感を設計、再現することを目指している。

アガロースゲルにおける網目構造の経時変化

○松川真吾¹、孔徳美²、Descallar Faith Bernadette¹、趙秋華²¹東京海洋大学海洋生命科学部、²華東師範大学分子化学工学院

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^[1].

Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy is a powerful tool to elucidate the network dynamics and changes of gels. In this research, the pulsed-field-gradient stimulated spin-echo (PFGSTE) ¹H NMR method is used to determine the change of the network structure and aging behavior of agarose solutions in different storage conditions. Electrophoresis technique on the other hand is widely used in separation of DNA into different molecular sizes. In this study, the change in the electrophoretic distance with increasing storage time is being measured.

2. Materials and Methods

2w/w% Agarose gels were prepared using a purified, low EEO type agarose (A2929, Sigma-Aldrich) dispersed in D₂O and stirred at high temperature. Pullulan which is a maltotriose trimer made up of α-(1 → 6)-linked (1 → 4)-α-d-triglucosides is used as a probe molecule in the agarose gel. NaN₃ (Sigma Aldrich) was also added to solutions to prevent bacterial growth.

PGSTE ¹H NMR method was done 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 D relating to the viscosity and the local interspatial environment of the medium. Equation below is used to calculate the D of pullulan where I is the intensity; gyromagnetic radius γ, gradient strength g, diffusion coefficient D, gradient pulse length δ, and Δ as diffusion time.

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

Agarose gels stored for electrophoresis experiments are prepared in same manner in H₂O solution without the addition of dendrimer. Electrophoresis of 20bp DNA ladder (Dye Plus) was done with a running time of 30mins at 194V.

3. Results and Discussion

Figure 1 shows the single-component diffusion coefficient of P-200 Pullulan 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 pullulan to diffuse faster in the gel network.

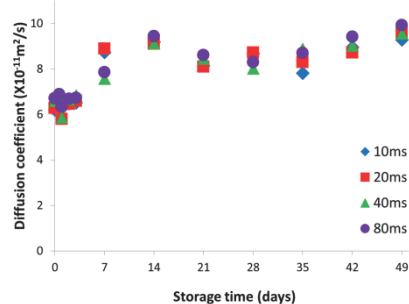


Figure 1. Storage time dependences of diffusion coefficient of P200-Pullulan at various diffusion times.

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.

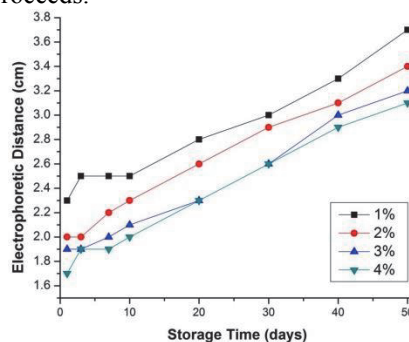


Figure 2. Storage Time dependences of electrophoretic distance at different concentrations of agarose.

5. Conclusion

The diffusion coefficient of pullulan has been studied using the PGSTE ¹H 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 ¹H NMR, Carbohydrate Research, 365, 38-45.

要旨

6月16日（土）

第2会場

OS6

生体物質の構造形成と機能発現・制御

OS6-1

粒子追跡マイクロレオロジーによるゼラチンのゲル化過程

槇靖幸*, 安中雅彦*

* 九州大学大学院理学研究院化学部門 [〒819-0395 福岡県福岡市西区元岡 744]

1. 緒言

生体組織や食品は一般に多成分多相系であり、種々の空間スケールにおいて不均一なゲル状物質である。通常のレオロジー測定では物体のマクロな力学的応答が調べられるが、これに対して、不均一系における局所的な力学的応答を調べる実験手法はマイクロレオロジーと呼ばれる。その一つである粒子追跡マイクロレオロジー (particle tracking microrheology, PTM) は、物質中に分散させた多数のトレーサー粒子のブラウン運動から物質の力学的性質を計測する手法である。個々の粒子の軌跡の情報が得られるため、粒子変位の統計的な振る舞いから空間的な不均一性を議論することができる。また、測定のための駆動力が微小に保たれるため、ゲル化点近傍のような壊れやすい系に対しても物質の構造に影響を与えることなく、常に線形応答の測定が可能である。本発表では、PTM 測定によりゼラチンのゲル化過程の測定を行った結果について報告する。

2. 実験方法

魚由来ゼラチン (新田ゼラチン FGL250TS) を脱イオン水で溶解した溶液 (5-15wt%) に、直径 600 μm のポリスチレン粒子を添加したものを調製した。ポリスチレン粒子の濃度は約 0.0006% である。溶液を封入したスライドガラスをヒーター上で 40°C に加熱した後、倒立顕微鏡上のステージ (25°C) へ移すことで急冷し、適当な時間間隔で動画撮影を行った。画像解析により粒子変位の時間変化を計測し、アンサンブル平均二乗変位 (MSD) と変位分布関数 (van Hove 自己相関関数) を計算した。

3. 実験結果

粒子の変位は平面上に投影されたものであることを考慮すると、均一なニュートン流体中での粒子のブラウン運動では、

$$\langle r^2 \rangle = 4D\tau \quad (1)$$

の関係がある。ここで、 $\langle r^2 \rangle$ は MSD、 D は拡散係数、 τ は遅延時間であり、拡散係数 D は Stokes-Einstein の関係式

$$D = kT / (6\pi\eta a) \quad (2)$$

に従う。ただし、 k 、 T 、 η 、 a はそれぞれ Boltzmann 定数、絶対温度、粘度、粒子半径である。

ゼラチン濃度 10 wt% の試料において求められた MSD を、Fig. 1 に示す。急冷後 10 分、30 分、70 分の MSD の両対数プロットは傾きがほぼ 1 の直線であり、式 (1) に従うことを示している。直線の下方へのシフトは拡散係数の減少を表し、粘度の増加に対応している。これに対し、急冷後 1105 分の MSD の挙動はこれらとは大きく異なっており、遅延時間が 0.1 から 5 秒の領域では MSD の傾きがほぼ 0 となった。これは固体的な応答を表しており、ゲル網目の形成による粒子のブラウン運動への影響が反映されていると考えられる。

同試料の変位分布関数は、均一なニュートン流体中ではガウス分布になる。急冷後 10 分の変位分布関数はガウス分布に従ったが、1105 分ではガウス分布からのずれが生じた。より詳細な実験と解析の結果は、当日報告する予定である。

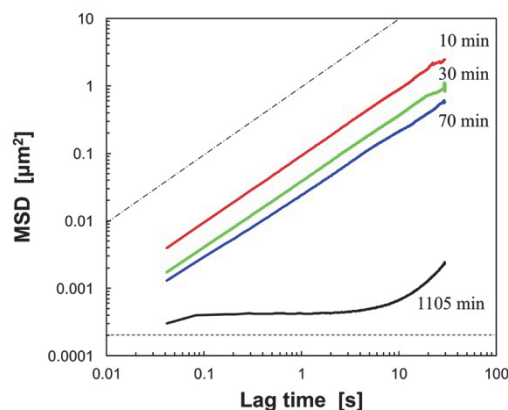


Fig. 1. Ensemble-averaged mean-square displacements (MSD) versus lag time of polystyrene latex in 10 wt% gelatin solution obtained 10 min (red), 30 min (green), 70 min (blue), and 1105 min (black) after the quench. The dotted line with a slope of 0 and the dashed-dotted line with a slope of 1 are shown as a guide.

謝 辞

本研究は JSPS 科研費 15K20906 の助成を受けて実施された。

OS6-3

コラーゲン水溶液の相挙動に関する研究

杉山晃一*，古澤和也**

* 北海道大学 大学院 生命科学院

** 福井工業大学 環境・食品科学科 [〒910-8505 福井県福井市学園3丁目6-1]

1. 緒言

コラーゲンは動物の体にもっとも多く含まれるたんぱく質の一つであり、細胞の足場としての役割や、体の形を作る役割をもつ構造たんぱく質である。コラーゲンは動物の表皮や尾などから抽出することが可能である。市販されているコラーゲンは pH3 程度の酸性水溶液として販売されている。コラーゲン水溶液の pH を低温条件化で中和して中性にした後に、37℃で加熱すると、コラーゲン分子同士の会合が誘導され、最終的にコラーゲン水溶液がゲル化する。このようにして調整されたコラーゲングルは生体内環境に近い条件での細胞培養のための足場素材として広く利用されている。コラーゲングルを用いた細胞培養方法は生命科学における常套手段となっているにもかかわらず、コラーゲン水溶液の相挙動については不明な点も数多く残されており、さらに相図も決定されていない。そこで本研究では、コラーゲン水溶液の相挙動にコラーゲン水溶液の pH とイオン強度が及ぼす影響を調査し、このことによってコラーゲン水溶液の相図を決定することを目的とした研究を行った。

2. 実験方法

実験にはウシ真皮由来コラーゲン水溶液（IPC-50, KOKEN co. Ltd.）を使用した。コラーゲン濃度は 5.0 mg/mL で、pH は 3.0 であり、溶媒は 1 mM HCl である。コラーゲン水溶液の塩濃度を制御するために pH 3.0 の 1 M NaCl 水溶液を調製した。また、コラーゲン水溶液の pH を中和するための塩基性水溶液として 1 M NaOH 水溶液を調製した。それぞれの水溶液を 1.5 mL コニカルチューブに 1.0 mL ずつ入れ、アルミブロック高温槽で 4℃に保った。コラーゲン水溶液、1 mM HCl 水溶液、1 M NaCl 水溶液、1 M NaOH 水溶液、そして MilliQ 水を様々な割合で混合し、ボルテックスミキサーで攪拌した後で、24 時間 20℃に保った。このとき、コラーゲンの終濃度は 0.5 mg/mL から 4.5 mg/mL の範囲に調整し、混合物のイオン強度は 8.0 mM、16.0 mM そして 25.0 mM になるように調整した。混合物の濁度を目視で確認することで、相分離が起

っているかどうかを確認した。最後に、混合物の pH を、マイクロ pH 電極（TouPH 電極、HORIBA 製）を用いた pH 測定により決定した。

3. 実験結果

イオン強度が 8 mM、16 mM、および 25 mM の条件下でのコラーゲン水溶液の相図を決定することができた。コラーゲン濃度が 0.5 mg/mL の条件では pH とイオン強度に依らずに、相分離は起こらなかった。また、コラーゲン濃度が 0.5 mg/mL よりも高くても、pH が 5.0 よりも低い条件では相分離は起こらなかった。pH が 5.0 よりも高くなり中性から弱塩基性の pH の範囲となると、コラーゲン水溶液が白濁し相分離することがわかった。相分離が始まる pH は、pH 5.04 から pH 5.11 の範囲に収まっており、このことは実験の範囲内においてイオン強度に依らない結果であった。相分離が起こるコラーゲン濃度はイオン強度 8.0 mM ではコラーゲン濃度が 1.5 mg/mL 以上の濃度となったが、イオン強度が 16 mM と 25 mM の条件では 1.0 mg/mL のコラーゲン水溶液でも相分離が起こることがわかった。各条件において pH を一定以上に上げると、再溶解することがわかった。再溶解する pH はコラーゲン濃度が 2.0 mg/mL よりも低いときにはコラーゲン濃度の低下とともに低い pH となり、2.0 mg/mL 以上のコラーゲン濃度ではほぼ同じ pH となることがわかった。

4. 考察

実験により、限られたイオン強度の条件化ではあるがコラーゲン水溶液の相図を決定することができた。コラーゲン水溶液の相挙動に及ぼす物理化学的因子としては pH が最も大きいことがわかる。これは、コラーゲン分子の表面電荷が pH によって変化し、コラーゲン分子間の相互作用が代わることに起因している。一方で、イオン強度やコラーゲン濃度も、コラーゲン水溶液の相挙動に有意な影響を及ぼすことがわかった。今回得られた相図に基づいてコラーゲングルが調製されることで、再現性の良い実験結果が細胞生物学などの研究領域において得られるようになると期待される。

OS6-4

ポリ乳酸裁断化超薄膜分散液の粘性率測定と評価

江口和也*, Isala Dueramae**, 砂見雄太***, 岡村陽介**, ****, 喜多理王**, *****

*東海大学大学院 総合理工学研究科 総合理工学専攻

[〒259-1292 神奈川県平塚市北金目 4-1-1]

学東海大学マイクロ・ナノ研究開発センター, *東海大学 工学部 機械工学科,

****東海大学 工学部 応用科学科, *****東海大学 理学部 物理学科

1. 緒言

高分子超薄膜は厚さが 100nm 以下で面サイズが数百 μm 程度に裁断化したマイクロな膜は簡便な操作で界面上にパッチワーク状のマクロな膜を形成する。裁断化超薄膜が微細な空間内への貼り付けや微細な空間にマクロな膜の再形成に利用できることを示す。高分子裁断化超薄膜の分散液の特異的な性質は新規材料としての期待される一方で、実際にパッチワークを形成するために必要な流動特裁については系統的な研究がなされていない。本研究では、回転粘度計を用いてポリ乳酸裁断化超薄膜の流動特性を明らかにすることを目的とする。

2. 実験方法

分散質がポリ乳酸, 分散媒を超純水とした分散液を Brookfield 社製回転粘度計 DV2T-LV を使用して粘性率測定を行った。回転速度は 0.1~200rpm の範囲で測定温度は 25°C である。

3. 実験結果

図 1 の左縦軸にずり応力 τ , 右縦軸はみかけ粘度 μ_{app} としたずり速度 D 依存性を示した。見かけ粘性率のずり速度依存性から、分散液は低いずり速度に対しては高粘性体であるが、速いずり速度に対しては低粘性体として振る舞うことが分かる。一方でずり応力はずり速度の増加に伴って増加した。

4. 考察

図 1 の黒の点線はハーシェル・バークレイ方程式 $\tau = \tau_0 + \mu D^n$ を用いてフィッティングした結果である。ここで τ_0 , μ , n はそれぞれ応力の降伏値, 塑性粘性率, 粘性指数である。降伏値と粘性指数はそれぞれ $\tau_0 = 0.50$ [Pa], $n = 1.46$ と得られ, 分散液は降伏値を持つダイラタント流体であることが分かった 1)。これはポリ乳酸裁断化超薄膜分散液が, 通常の高濃度分散系と同様に移送できることを示唆している。またポリ乳酸裁断化超薄膜のアスペクト比が高いという特異的な形状によって, 球状粒子より多くの分散媒を包含

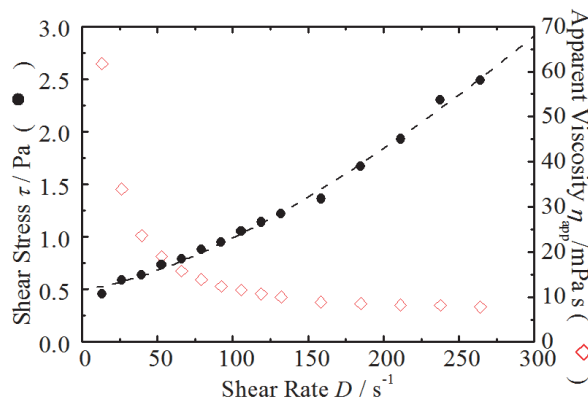


図 1. ずり応力(左軸: ●)およびみかけ粘性率(右軸: ◇)のずり速度依存性。

しやすいことが示唆された。発表では低濃度側のポリ乳酸裁断化超薄膜分散液の流動特性を系統的に測定した結果から裁断化高分子超薄膜からなる分散液の特異的な性質を明らかにし, 流動特性を系統的に検討していく。

5. 結言

ポリ乳酸裁断化超薄膜分散液の粘性率測定から, 分散液は降伏値を持つダイラタント流体であることが分かった。またポリ乳酸裁断化超薄膜のアスペクト比が高いという特異的な形状より, 球状粒子より多くの分散媒を包含しやすいことが示唆された。

文 献

- 1) 後藤廉平, 平井西夫, 花井哲也: レオロジーとその応用, 共立出版, 1962, pp. 218-219.

要旨

6月16日（土）

第2会場

OS1

血管内治療

OS8

レオロジー一般, その他

OS1-1

血管内治療を要する動脈硬化重症例における プラスマローゲンの血漿濃度および赤血球膜含量の解析

○丸山徹*, 野田裕剛**, 横山拓**, 吉田千春**, 出石さと子**, 入江圭**, 森山祥平**, 深田光敬**, 有田武史**, 小田代敬太**, 馬渡志郎***, 藤野武彦***, 赤司浩一**

*九州大学 健康支援センター [〒816-8580 福岡県春日市春日公園 6-1]

**九州大学 医学研究院病態修復内科学

***レオロジー機能食品研究所

1. 緒言

動脈硬化は血球細胞や血管内皮における酸化ストレスが慢性炎症を誘発し, これが血小板・マクロファージ・血管平滑筋など種々の細胞群の病的な集積と増殖反応を惹起することによる. 生活改善や薬物療法による包括的管理を行う一方で血管内治療も行われる. 古典的な動脈硬化危険因子(高血圧・糖尿病・脂質異常・喫煙)の是正以外に残余リスクの改善を目的に多価不飽和脂肪酸も広く使用されるため, 今回, 内因性抗酸化物質であるプラスマローゲンを動脈硬化重症例で解析した.

2. 実験方法

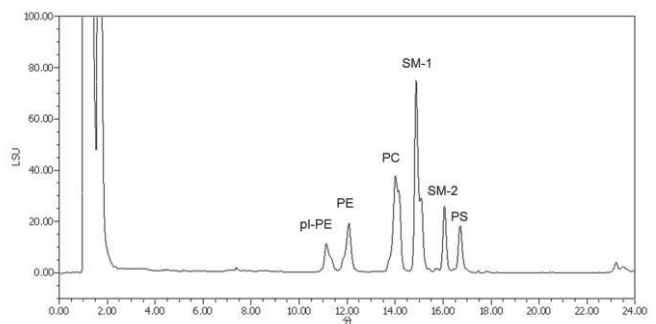
血管内治療(冠動脈インターベンション・胸腹部動脈瘤ステントグラフト挿入術・末梢動脈インターベンション)を行った動脈硬化重症例(疾患群: n = 20)と年齢をマッチさせた対照群(n = 20)を同意の下に採血し血液生化学検査および HPLC によるリン脂質解析を行った. 血液透析・癌・認知症の症例は除外した. 以上はヘルシンキ宣言に準拠し, 被験者の人権やプライバシーに配慮して行った.

3. 実験結果

疾患群・対照群ともに喫煙者はいなかった. 疾患群における血管内治療(冠動脈インターベンション 13 例・胸腹部動脈瘤ステントグラフト挿入術 4 例・末梢動脈インターベンション 3 例)は予定通り待機的に合併症なく行われた. 疾患群は高血圧・糖尿病・脂質異常の動脈硬化危険因子を最低一つは有しており薬物治療が行われていた. その結果, 疾患群の拡張期血圧は対照群より低く($p = 0.033$), 血清総コレステロール値($p = 0.001$)と LDL コレステロール値($p < 0.001$)も低かった.

血漿プラスマローゲン濃度は微量であるため, 予めフォスホリパーゼ A1 処理を行い HPLC 解析を行った. その結果, 両群のエタノラミン型プラスマローゲンは疾患群で有意に低く(3.61 ± 1.00 vs. 4.15 ± 0.94 mg/dl $p = 0.036$), コリン型プラスマローゲンも同様(3.57 ± 0.85 vs. 4.25 ± 0.58 mg/dl $p = 0.004$)であった.

次いで赤血球膜リン脂質の HPLC 解析を行ったところ, 下図のようにエタノラミン型プラスマローゲン(pI-PE)はフォスファチジルエタノラミン(PE)とは別の明瞭なピークを形成した. HPLC のピークエリアを相対的含量とした場合, 赤血球膜エタノラミン型プラスマローゲン含量は疾患群で対照群より有意な減少($7.66 \pm 0.91\%$ vs. $8.46 \pm 1.09\%$ $p = 0.017$)を認めた.



4. 考察

プラスマローゲンはビニルエーテル結合を有する内因性抗酸化物質とされ, 動脈硬化重症例でプラスマローゲンが減少することは動脈硬化において酸化ストレスが亢進することに矛盾しない.

5. 結言

内科的薬物療法を行ってもさらに血管内治療を要する動脈硬化重症例では血漿プラスマローゲン濃度および赤血球膜プラスマローゲン含量が低下する.

謝 辞

長尾佳苗氏と栢山青蘭氏の研究協力に深謝する.

文 献

- 1) Noda, H., Moriyama, S., Irie, K., Fujita, K., Yokoyama, T., Fukata, M., Arita, T., Odashiro, K., Maruyama, T., Mawatari, S., Fujino, T. and Akashi, K.: Plasma and erythrocyte membrane plasmalogen diminished in severe atherosclerotic patients undergoing endovascular therapy. *Membrane*, **42**, 242-249, 2017.

磁気共鳴流体力学解析による流量計測に与える脳動脈瘤の影響

水野崇^{*, **}, 礒田治夫^{***, ****}, 泉孝嗣^{*****}, 田嶋駿亮^{*}, 塚田哲也^{*****}, 櫻井康雄^{**},
小森芳秋^{*****}, 長縄慎二^{*****, ***}

*名古屋大学大学院医学系研究科医療技術学専攻医用量子科学分野

[〒461-8673 名古屋市東区大幸南一丁目1番20号]

**名古屋大学医学部附属病院医療技術部放射線部門

***名古屋大学脳とこころの研究センター

****名古屋大学大学院医学系研究科医療技術学専攻医用量子科学講座

*****名古屋大学大学院医学系研究科総合医学専攻脳神経病態制御学講座脳神経外科学分野

*****シーメンスヘルスケア株式会社

*****名古屋大学大学院医学系研究科総合医学専攻高次医用科学講座量子医学分野

1. 緒言

血流動態を解析する手法として3次元シネ位相コントラスト磁気共鳴法を用いた磁気共鳴流体力学(MR fluid dynamics, MRFD)解析があり、これにより1心拍間の平均体積流量(time averaged volume flow rate, TAVFR)が測定できる。脳動脈瘤の上流と下流のTAVFRは一定であると期待されるが、我々の初期検討ではMRFD解析の脳動脈下流のTAVFRは過小評価される。このため、動脈瘤の存在が、MRFDを用いた体積流量計測に影響を与えると考えた。本研究の目的は、内頸動脈瘤のフローダイバーター(flow diverter, FD)治療後に動脈瘤下流のMRFDによる体積流量計測値の低下が改善されるか否かを確かめ、また、MRFDの体積流量計測値低下に脳動脈瘤の及ぼす因子を探ることである。

2. 方法

本研究は本学生命倫理審査委員会の承認を得た。また、全ての患者からインフォームドコンセントを得た。C3からC4領域の内頸動脈に大型動脈瘤を持つ患者10名に対してFD留置前に3T MR装置を用いてMR撮影を行なった。FD留置後、10名のうち7名に再びMR撮像を行なった。血流解析ソフトを用いて動脈瘤側と健常側の頭部血管のMRFD解析を行なった。内頸動脈錐体部またはC5領域(母血管流入領域)に動脈瘤の上流領域として1つ、内頸動脈C2領域、C1領域、中大脳動脈M1近位領域、M1遠位領域に動脈瘤の下流領域としての4つの解析領域を定め、各領域からTAVFRを取得した。また、各解析領域のTAVFRを母血管流入領域のTAVFRで正規化した(Normalized TAVFR)。次にFD留置前のMRFD解析結果から母血管流入領域とC2領域のTAVFRの差(TAVFR Difference)を算出した。そして、動脈瘤内の流線とTAVFR Differenceの大きさの関係を定性的に検討した。その後、動

脈瘤のアスペクト比、横径・頸部径比、頸部径・母血管径比、動脈瘤内の平均流速、動脈瘤への流入流速と流入流量を算出し、これらとTAVFR Differenceの相関関係を定量的に検討した。

3. 結果

FD留置前、動脈瘤側のTAVFRは健常側より低かった。また、FD留置前、動脈瘤側C2領域のNormalized TAVFRは健常側C2領域に比べて低かったが、FD留置後、これらの値は同程度になった。TAVFR Differenceが大きい症例では動脈瘤内に流線が渦を形成する傾向にあった。また、TAVFR Differenceは頸部径・母血管径比、動脈瘤内の平均流速、流入流量と正の相関があった。一方で、アスペクト比、横径・頸部径比と負の相関があった。

4. 考察

動脈瘤側のTAVFRは健常側より低かった。これは、動脈瘤側の母血管狭窄により動脈瘤側の血管抵抗が上昇したためと考えられた。FD留置によって動脈瘤側C2領域のNormalized TAVFRは改善した。FDは動脈瘤へ入り込む血流を減少させる。このことから動脈瘤に入り込む血流が動脈瘤側C2のTAVFRの測定に影響を与え、過小評価の原因になったと考えられた。動脈瘤内に渦流があり、その渦流の速度が速いほど、または動脈瘤を經由する血流量が多いほど動脈瘤の頸部で血流が乱れやすくなり、動脈瘤の下流の血流が乱れ、TAVFRを低下させたと考えられた。

5. 結言

MRFD解析による動脈瘤の下流のTAVFRは上流のTAVFRに比べて過小評価され、FD治療後に改善したことから、動脈瘤の存在が下流のTAVFR計測の過小評価の原因と考えられた。また、過小評価は「動脈瘤内の渦流の速度」と「動脈瘤を通過して母血管へ流れる流量」に依存すると考えられた。

OS8-1

循環型透析シミュレーターにおける穿刺および カテーテル操作の再現性について

廣浦学*, 廣田徹**, 富永祐太*, 向井純平*, 正木涼子*, 直木洋介*, 川口晃*, 増田利明*

* ニプロ株式会社 医療研修施設 [〒525-0055 滋賀県草津市野路町 3023 番地]

**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]

1. 緒言

日本は人口の高齢化を迎え、さらに食生活の欧米化による糖尿病などの生活習慣病が増え、糖尿病性腎症を対象とした慢性透析療法と死亡患者数が増加しつつある。

透析患者や治療機器の製品が年々増えるにつれて、医療従事者の穿刺や透析装置接続、カテーテル治療の off the job training が必要とされ、透析シミュレーターの開発は急務である。

当研究開発グループは実際の皮膚・血管への穿刺や透析機器接続、カテーテル操作感を再現したシミュレーター開発を目的として、循環・腕型の透析シミュレーターと疑似血液を開発し、血圧再現、穿刺、透析機器接続、バルーン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

■循環型の右腕モデルの作製

初めに腕型を模擬した模型を作製した。このとき、穿刺部の皮膚モデルとして弾性がヒトに近い疑似皮膚を採用し、血管モデルとしては市販のゴムチューブあるいは穿刺による水漏れし難い構造に工夫したチューブモデルを作製した。血管内の循環システムについては、循環ポンプと樹脂製チューブを血管モデルに接続した構成した。

■カテーテル操作のシミュレーションに必要な疑似血液の開発と血圧再現

穿刺部位への針の挿入は大きな抵抗はなかったが、血管モデル内での基材とカテーテル間での大きな摩擦抵抗が生じることから挿入困難であるため、潤滑性を付与する疑似血液を開発した。さらに鮮やかな赤色（血管モデルへの色素沈着がほとんどない）を再現するために、疑似血液に赤色色素を添加することで赤色溶液とした。

この疑似血液を循環型の透析シミュレーターの血管内を循環させたときの血圧を測定した（血圧再現確認）。

■循環・腕型の透析シミュレーターにおける穿刺、透析器機器接続、バルーンカテーテル操作のシミュレーション

初めに、疑似血液を循環させた透析シミュレーターの疑似皮膚へ穿刺した際の抵抗感を医療従事者が確認する。さらに穿刺針の挿入抵抗を数値化するために、穿刺抵抗測定装置を用いる。次いで、透析機器（Nipro 製）を接続するシミュレーションを行う。機器取り外し後、シースを留置し、そこへカテーテル（NSE PTA, Goodman 製）を挿入し、血管モデル内での拡張と抜去操作を行う。

3. 実験結果と考察

本研究における大きな課題として、（1）穿刺部の疑似皮膚・血管モデルの検討、（2）潤滑性と液粘性を付与し且つ赤色の疑似血液を開発することであった。課題1は様々な材質の検討によって、ヒト皮膚の触感に近い疑似皮膚を選定した。課題2は、昨年我々が学会発表した疑似血液を用い、いくつかの色素を添加検討することで、疑似血液を調製した。この疑似血液をシミュレーターに循環させたとき、50mmHgの血圧を再現した。

疑似皮膚への穿刺感覚の再現については、数値化されたデータに基づき、生体に近い再現性を得ることが出来るかどうかを検討している。穿刺による疑似皮膚や血管モデルの損傷は不可逆であったが、様々な検討によって、何回もの穿刺が可能な材質や血管構造に改良できたと考えられる。

シミュレーターへの透析機器接続に関しては、問題なくシミュレーションすることができた。血管モデルへのカテーテルの挿入において、開発した疑似血液の導入によって挿入抵抗を低減したシミュレーションを行うことができた。

4. 結言

疑似皮膚・血管（シャント）への穿刺や透析機器接続、カテーテル操作感を再現した透析シミュレーターを開発することで、医療従事者の off the job training に活用できることが期待される。

OS8-2

ラット落下実験時の胸部応答に対する胸郭粘弾性特性の影響

伊藤大輔*, 一杉正仁**

* 名古屋大学 大学院工学研究科 [〒464-8603 名古屋市千種区不老町]

** 滋賀医科大学 社会医学講座法医学部門

1. 緒言

自動車の前面衝突におけるシートベルト着用乗員の受傷部位別（重症）では胸部の割合が最も多い。特に、高齢者では胸郭の骨折が発生しやすく、胸部保護は乗員保護における重要な課題である。

胸部傷害に大きな影響を及ぼす胸部衝撃応答特性は死体を用いた実験によって評価されてきたが、一般に献体となるのは高齢者が多く、若年者の特性との比較が困難であった。そこで、筆者らは胸部に加速度が発生する状況を *in vivo* 動物モデルで再現できる実験系（ラット落下試験）を構築し、胸部の粘弾性特性を考慮した力学応答を評価してきた⁽¹⁾。本報では、加齢による骨の弾性・粘性特性変化が胸部応答に及ぼす影響を実験と力学モデルを用いて検討した。

2. 実験、解析方法

Fig. 1 に試験装置の概略図を示す。垂直方向に配置したガイドレール上のテーブルを自由落下させ、下方に設置したダンパーに衝突させる。落下高さやダンパーの設定を調整することで発生させる加速度を変化させることが可能である⁽¹⁾。本実験では、負荷加速度を最大 500 m/s^2 と設定した。

本実験ではラット（Wistar 種）を2匹使用した。使用したラットの月齢と体重は4カ月、190g、20ヶ月、930gである。なお、Wistar 種の平均寿命が2年7ヶ月であることから⁽²⁾、後者のラットは比較的高齢として位置づけられる。ラットの胸部応答を評価するために、深麻酔下で脊柱付近に加速度計を取り付けた。なお、本研究は獨協医科大学実験動物委員会の許諾を得て行われたものである。

加齢による胸部応答の変化を定量的に表すために、Fig. 2 に示す簡易胸部力学モデル⁽³⁾を導入し、その材料定数の加齢による変化を評価する。力学

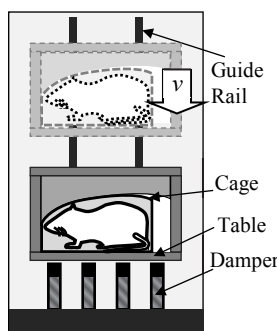


Fig. 1 Drop test with a rat

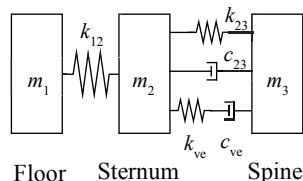


Fig. 2 A simplified chest model

モデルの Floor 部に対して強制変位を与えた際の Spine 部の加速度をラット実験での加速度時刻歴に近づけるように材料定数を同定した。材料定数の探索には遺伝的アルゴリズムを使用し、実験とシミュレーションの時刻歴データの一貫度を定量化する CORA (CORrelation and Analysis)⁽⁴⁾ 値を最大化するように最適化計算をおこなった。

3. 解析結果とまとめ

Table 1 に材料定数の同定結果を示す。数値は若年ラットに対する高齢ラットの比率として表している。これを見ると、固体的な性質を表す Voigt モデル部分 (k_{23} と c_{23}) に関しては加齢により定数が大きくなっている一方、流体的な性質を表す Maxwell モデル部分 (k_{ve} と c_{ve}) に関しては定数が小さくなっていることが分かる。

肋骨の皮質骨の材料特性に関しては、加齢により弾性係数は増加、粘弾性定数は減少することが示されており⁽⁵⁾、そのような特性変化が本分析結果に反映されていると考えられる。しかしながら、材料特性自体の変化は本実験で得られた比率よりも小さい。この差は加齢による胸郭形状の変化、肋骨皮質骨厚さの変化や内臓の特性変化などが原因として考えられ、その原因解明には有限要素解析等を用いた詳細な分析が必要となる。

本研究は JSPS (MEXT) 科研費 24590864 の助成を受けて行われた。

Table 1 Material parameters (the ratio of the elderly rat's parameters to the young's ones.)

	k_{23}	c_{23}	k_{ve}	c_{ve}
Ratio (Elderly/Young)	5.42	4.27	0.477	0.0670

文 献

- 1) 伊藤大輔ら: ラット落下実験による胸部応答評価と人体有限要素モデルとの比較, 日本交通科学学会誌, **14**, 15-21, 2014.
- 2) Snyder, D.J. et al.: Life span, morphology, and pathology of diet-restricted germ-free and conventional lobund-Wistar rats. *J. of Gerontology: Biological Sci.*, **45**, B52-58, 1990.
- 3) Lobdell, T.E.: Impact response of the human thorax, In *Human impact response: measurement and simulation*, Plenum Press, 1973.
- 4) Gehre, C., Gades, H. and Wernicke, P.: Objective rating of signals using test and simulation responses, *Proceedings of 21st ESV conference*, 2009, No. 09-0407.
- 5) Isaksson, H. et al.: Rabbit cortical bone tissue increases its elastic stiffness but becomes less viscoelastic with age. *Bone*, **47**, 1030-1038, 2010.

要旨

6月17日（日）

第1会場

OS2

循環器系ダイナミクスと疾患

OS2-1

血小板と凝固系の混合血栓の成長におよぼす抗トロンビン薬と抗 Xa 薬の差異のシミュレーションによる定量予測

綾部健吾*, 後藤信一*, **, 田村典子*, 後藤信哉*

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

** 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]

*

1. 背景

経口抗凝固薬として抗トロンビン薬、抗 Xa 薬が承認され臨床現場で使用されている。トロンビンはフィブリノーゲンをフィブリンに変換するとともに血小板の PAR-1 受容体刺激を介して血小板細胞を活性化する。Xa は活性化血小板膜上でプロトロンビンをトロンビンに変換するプロトロンビナーゼ複合体の中心となる。臨床的には抗凝固薬として一括されても、生体内における血栓の成長阻害効果は両者において異なる可能性がある。実証的生物学的研究により妥当性を担保した流体と化学反応の連成シミュレーション計算にて、抗トロンビン薬と抗 Xa 薬の血栓の成長におよぼす差異を予測計算した。

2. 実験方法

血管壁近傍の血小板を濃度で表現し、血管壁損傷部位に接着した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。¹ 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。

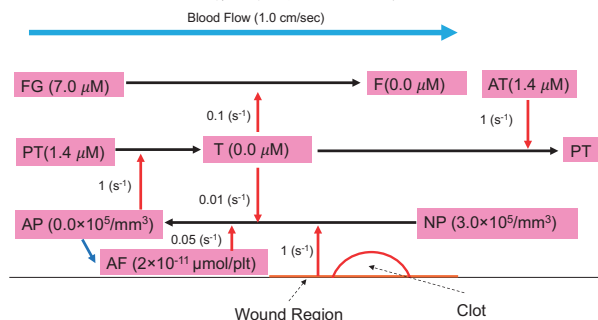


図 1. モデル

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す。矢印の左に記載された数値は活性化された酵素反応のコントロール条件での速度を示す。

抗トロンビン薬の作用としてフィブリノーゲンからフィブリンへの転換速度と、トロンビンによる血小板活性化速度を低下させた。抗 Xa 薬の作用として活性化血小板上でのトロンビン産生速度を低下させた。対象

領域内の血小板のうち 30%以上が活性化されている領域を血栓と定義した。

3. 実験結果

トロンビン、Xa の機能をコントロールの 10%に低下させると単位時間あたりの血小板血栓のサイズは共に 30.5% 阻害された。各々の条件における血栓の縦横比は共に 0.028 となりコントロールの 0.056 とは異なった。Xa の機能を 30, 50%阻害したときには血栓の大きさはコントロールと差を認めなかった。トロンビン機能を 30, 50%阻害したときには血栓のサイズはコントロールに比較して 15.5%, 26.4%阻害された。抗トロンビン薬、抗 Xa 薬中断時にはトロンビン機能、Xa 機能が急速に亢進する。トロンビン機能が 2 倍に増加すると血小板血栓は 1.14 倍に増加した。Xa 機能を 2 倍に増加させても血小板血栓の大きさはコントロールと差がなく影響を受けなかった。

4. 考察

抗トロンビン薬、抗 Xa 薬とも抗凝固薬である。しかし、トロンビン機能阻害時と Xa 機能阻害時の血栓成長速度抑制効果には差異を認めた。抗トロンビン薬の効果が容量依存的であるのに対して Xa 阻害と血栓成長阻害の関係は非線型的であった。計測した単位時間あたりの血小板形成速度は心筋梗塞、脳梗塞などの発症リスクと相関すると想定される。形成される血栓のトポロジックな解析により、抗トロンビン薬と抗 Xa 薬の血栓イベントと出血イベントに及ぼす差異の予測モデル作成を期待できる。

5. 結語

抗凝固薬と一括される抗トロンビン薬と抗 Xa 薬の血栓形成抑制効果には差異があることが示唆された。

6. 文献

1. Goto S TN, Ayabe K, Kato E, Hasebe T, Takagi S, Kawamura Y, and Goto S. A method and preliminary results of in silico computer simulation for the formation of mix thrombi with platelet and fibrin. *J Biorheol.* 2017;31:30-34.

OS2-2

CFD, 形態学及び臨床情報に基づく多変量解析による 未破裂脳動脈瘤破裂予測

○大野宏^{*,**}, 高尾洋之^{***,****,***}, 鈴木貴士^{**}, 藤村宗一郎^{*,**}, 内山祐也^{*,**},

田中和俊^{*,**}, 石橋敏寛^{***}, 福留功二^{****}, 山本誠^{****}, 村山雄一^{***}

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

**東京慈恵会医科大学 総合医科学研究センター先端医療情報技術研究部

[〒105-8471 東京都港区西新橋 3-25-8]

***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]

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

1. 緒言

脳動脈瘤は破裂することで、くも膜下出血を引き起こす。しかしながら、脳動脈瘤の破裂要因については未だ明らかにされていない。

本研究では、数値流体力学(CFD: Computational Fluid Dynamics)を用いた血流解析により、血行力学的パラメータを算出した。また、3次元データから脳動脈瘤形態学的パラメータを計測した。さらにデータベースから患者個人の臨床情報を得た。統計学的多変量解析を行い、未破裂脳動脈瘤の破裂リスクを示す指標の探索を目的とした。

2. 解析方法

本研究では、ICA (Internal Carotid Artery)に発生した脳動脈瘤計 66 症例 (破裂: 6, 未破裂: 60)及び MCA (Middle Cerebral Artery)に発生した脳動脈瘤計 50 症例 (破裂: 7, 未破裂: 43)について破裂リスクの比較検討を行った。血行力学的パラメータを得るため、CFD 解析を行った。形態学的パラメータは、STL (stereolithography)データから解析を行った。患者個人の臨床情報は、データベースから抽出した。上述の各々のパラメータについて多変量ロジスティック回帰分析を用い、未破裂脳動脈瘤の破裂リスクを示す回帰式 (RRP : Rupture Risk Parameter)を作成した。また、破裂・未破裂症例を判別する閾値を ROC 解析により算出した。

3. 解析結果

ICA 脳動脈瘤の破裂リスクを示す RRP_{ICA} は、 OSI (Oscillatory Shear Index)と WSS (Wall Shear Stress)を、MCA 脳動脈瘤の破裂リスクを示す RRP_{MCA} は、 WSS と AR (Aspect Ratio)を回帰式中に含んだ (式(1),(2)参照)。 RRP_{ICA} と RRP_{MCA} は、共に破裂・未破裂症例間で統計学的な有意差を示した ($P < 0.01$: マン・ホイットニーの U 検定)。

$$RRP_{ICA} = \frac{1}{1 + \exp(28.7 - 65.3 OSI + 1060WSS)} \quad (1)$$

$$RRP_{MCA} = \frac{1}{1 + \exp(8.49 - 4.13 WSS - 5.06 AR)} \quad (2)$$

また ROC 解析より、 RRP_{ICA} の閾値は 0.091(感度: 100%, 特異度: 90.0%), RRP_{MCA} の閾値は 0.144(感度: 71.4%, 特異度: 76.7%)であった。

4. 考察

得られた回帰式より、ICA 脳動脈瘤では、 OSI の増加および WSS の減少により RRP_{ICA} が高くなり、破裂リスクが上昇することが示された。血管壁に加わる OSI の増加や WSS の減少が血管の内皮を変性させ、瘤壁を薄くすることで破裂に関わると報告されており⁽¹⁾、同様の傾向を示した。一方、MCA 脳動脈瘤では、瘤内平均 WSS および AR の増加により RRP_{MCA} が高くなり、破裂リスクが高まることが示された。MCA などの血管分岐部に発生する脳動脈瘤の多くが、血流衝突部位付近に発生する (図 1 参照)。血流衝突と高 WSS が脳動脈瘤の破裂に関与しているとの報告があり⁽²⁾、同様の傾向を示した。

RRP_{ICA} 並びに RRP_{MCA} に対する ROC 解析より導出された閾値を用いることで脳動脈瘤の破裂を予測できる可能性がある。

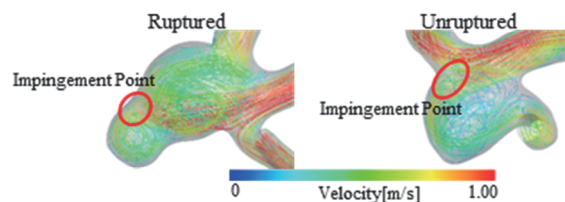


Fig. 1 Hemodynamic Difference between Ruptured and Unruptured Aneurysm

5. 結言

脳動脈瘤の血行力学的パラメータ、及び形態学的パラメータを考慮することで脳動脈瘤の破裂を予測できる可能性がある。

文献

- 1) AM. Malek, et al.: Hemodynamic shear stress and its role in atherosclerosis. JAMA, **282**(21), 2035-2042, 1999.
- 2) Castro MA, et al.: Hemodynamic patterns of anterior communicating artery aneurysms: a possible association with rupture. AJNR Am J Neuroradiol, **30**(2), 297-302, 2009.

OS2-3

末梢動脈硬化症 PAD 治療のための逆行性静脈灌流に関連した
内皮細胞酵素系の検討

小山 富康*

* 北海道大学名誉教授 [〒060-0012 北海道札幌市北区北 12 条西 6 丁目]

1. 緒言

PAD は現在でも治療困難な疾患である。下肢の動脈系が緩徐に侵され遂には切断に至ることが多い。笹嶋らは患足の下肢静脈に、未だ侵されていない末梢動脈を、逆行性につないで、酸素化した動脈血を供給する術式を工夫施術している。しかし、意外なことにこの方法について、国外では「静脈側から逆行流入させた血液は、動脈へ抜けていくだけで、下肢組織への酸素供給の役割を果たすことはできないと考える医療関係者が少なくないようである。ところが、実際の人体の末梢動脈では、その使命の確実な達成を測ってか、5 層からなる厚手の細動脈壁が形成されているという。それでもなお障害を受けやすい実情を理解してもらう必要があるのでこの原稿を準備した。

2. 実験方法

2.1 X 線照射実験

北海道大学動物実験の指針に基づいて施行された。7 週齢のウイスターラット 60 頭を用いた。

本研究では麻酔したラットを、径 8 mm の入射用窓のついた鉛箱に収め、X 線照射強度は 2 Gy/min として、胸部を TOSHIBA KXC18 により、180 kV 10 分間 X 線照射した後、腹腔内ネブタール麻酔下に左心室筋を切り出し、厚さ 8 μ m に薄切した。アルカリフォスファターゼ (=AP) の青色呈色を動脈性毛細血管の指標とし、dipeptidylpeptidase IV (=DPPIV) により赤色に呈色する細小血管を静脈性毛細血管の指標として、分布密度を顕微鏡下に計数した。

動物の X 線照射はペントバルビタール 40 mg/kg 腹腔内注射による麻酔後、鉛板で保定して照射窓を通してラット胸部に 1 回だけ照射した。

定法によって青染色された毛細血管を AP 陽性の細動脈性、赤色染色された血管を DPPIV 陽性の細静脈性血管として計数した。

2.2 Control 群実験

22°C、湿度 20% の恒温室内に飼育された 8 週齢ウイスターラットを対象動物として本実験を行った。

動物福祉の面に十分配慮した。倫理規定に準拠し、北海道大学の倫理委員会、あるいはこれに準ずる機関の承認を得て行った。エーテル麻酔下に、断頭開胸して速やかに心臓を切り出し、生理的食塩水中で洗浄し、液体窒素中に投入して凍結薄片を切り出し、ガラス板上に置き、AP、DPP4 反応活性液を滴下してそれぞれの酵素活性液を滴下して呈色反応させた。

3. 実験結果 (\pm SD 値省略)

えられた数値は以下の通りであった。

	BW (g)	LVW (mg)	Number of three Arteriol. (/mm ²)	Capillary Intermed. Ven. (mm ²)	Total		
Control	181	429	438	173	1451	2062	
1h after X-irradiation	180	409	316	165	1422	1903	
1 wk after X-ray irradiation	Control	255	519	388	251	1356	
1 wk	253	524	140 (p<0.01)	231	1365	1736	
3 wk after X-ray irradiation	Control	260	531	289	210	1578	2077
3 wk	258	593	138 (p<0.025)	200	1349	1687	

4. 考察

心筋組織切片に認められる AP 反応性微小血管の AP は 1, 3 週後に有意に減弱した。この酵素は亜鉛を含有して生体内に広く分布し、種々の重要な酵素反応に参加している。土地の亜鉛含有量の少ない地方では人も家畜も筋肉は白化して生存できないという。ウイスターラットでも毛細血管の動脈性部位に分布しており、内皮細胞に含まれて重要な呼吸代謝上の機能を担っているとみられる。

X 線照射は心筋の微小血管系の代謝に変調を起こすとみられる。亜鉛を含む酵素系の活性が失われ、動脈小血管系が破壊され易いと推察される。

5. 結語

PAD の患足では亜鉛を活性中心とする酵素系に、血管系の酵素の、活性低下が起きていると推察する。

OS2-4

脳動脈瘤モデルラットを使用した病変局所の動きの ライブイメージング解析の試み

青木友浩*, 宮田悠***, 清水寛平****

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

** 滋賀医科大学脳神経外科

*** 京都大学大学院医学研究科脳神経外科学

1. 緒言

クモ膜下出血の原因疾患である脳動脈瘤は、血流による力学的ストレス負荷依存的疾患であると認識されている。しかし、数値流体解析を用いたシミュレーションによる知見は蓄積されている一方で、具体的にどのような力学的要素がどのように負荷されているかの、*in vivo* での知見には乏しい。また、現在報告されている4D CT angiography等による解析では時空間分解能が不足していることも明らかである。よって、今回我々はモデル動物に誘発した脳動脈瘤病変を標的としたライブイメージング解析手法の確立を試みた。

2. 実験方法

本研究内容については、動物実験ガイドラインに準拠したものであり実験を実施した京都大学大学院医学研究科及び国立循環器病研究センターに設置された動物実験委員会の承認を得ている。

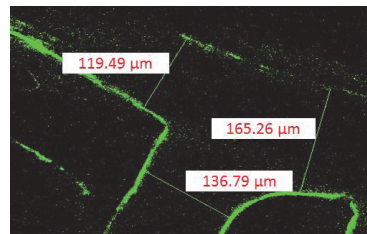
血管形態を可視化するために内皮特異的蛍光たんぱく質 GFP 発現ラット (W-Tg(Tek-GFP)1Soh, National BioResource Project-Rat at Kyoto University, Stock Number #0604)を用いる。一部の個体では、全身麻酔下に片側頸動脈結紮と全身的高血圧負荷により脳動脈瘤を対側脳血管分岐部（前大脳動脈-嗅動脈分岐部）に誘発させる。ライブイメージング解析では、全身麻酔下で気管切開、硬口蓋削除、前頭蓋底削除等により脳動脈瘤の誘発される脳血管分岐部を手術的に露出させる。そして、露出された部位を標的とし多光子共焦点レーザー顕微鏡システムで内皮細胞の GFP 発現を可視化しそれを血管内腔の形態として、ライブイメージング解析を行う。

3. 実験結果

本ライブイメージング解析手法において、ラットの頭蓋内の直径 100 μ m 程度の血管形態を明瞭に可視化できることを確認した (図)。そして、片側総頸動脈結紮に伴い対側の脳血管分岐部（前大脳動脈-嗅動脈分岐部）の血流増加に伴う血管拡張を検出することで、本ライブイメージング解析がきち

んと生理的な血管反応を検出可能であることを確認した。引き続きモデルラットに誘発した脳動脈瘤病変のライブイメージング解析を行ったところ、脳動脈瘤頸部では壁運動が大きく対照的に頂部ではほとんど動きがないという、病変部内ではヘテロな壁変動状態である事を明確とした。

↓ 脳血管分岐部のイメージング画像の一例



4. 考察

本ライブイメージング解析の結果は、数値流体力学解析での脳動脈瘤病変内でのヘテロなずり応力状態であるという結果と合致するものである。本イメージング解析結果で脳動脈瘤壁の部位ごとの変動情報から実際の病変部での血行力学的負荷の状況を明らかとできる可能性がある。

一方で、検出系のフレームレートの向上の必要性やより大きな脳動脈瘤病変が誘発できるラットシステムへの変更などの課題も明確とできた。

5. 結言

ラットモデルの脳動脈瘤病変を標的としたライブイメージング解析系の確立を試みた。病変内でのヘテロな壁運動という興味深い知見を得るとともにさらなる改良のための課題点を明確とした。

謝 辞

本研究に際し顕微鏡システムの利用をご了承いただいた京都大学大学院医学研究科次世代免疫制御を目指す創薬医学融合拠点（成宮周拠点長）および遺伝子改変ラットを提供いただいたナショナルバイオリソースプロジェクトラット（京都大学）に深謝します。

OS2-5

インピーダンス・スペクトロスコピー法による 赤血球の溶血分析

Tran Anh Kiet*, 李建平*, 川嶋大介*, 武居昌宏*

* 千葉大学大学院融合理工学府 [〒263-8522 千葉県千葉市稲毛区弥生町 1-33]

1. 緒言

溶血は、細胞膜の損傷により赤血球 (RBC) からヘモグロビン (Hb) および代謝物や酵素などの細胞内成分が、周囲の細胞外液へ放出する現象である[1]。溶血は、採血した血液サンプルの信頼性を失わせる主要な原因であるため、溶血の検出は重大な課題である。従来、溶血の検出は、目視検査や溶血試薬により血漿中の Hb 濃度を推定することで実施されてきたが、結果の再現性や血液試料への侵襲性が問題となっている[2]。

そこで、本研究では、非侵襲で再現性のある溶血の検出法として電気インピーダンス・スペクトロスコピー(EIS)法を提案し、溶血によるインピーダンスの影響を調査する。

2. 実験方法

実験装置は、インピーダンスアナライザー (IM758, Hioki E.E Corp., Japan)、テストフィクスチャ (16092A, Hewlett-Packard E.E Corporation, Japan)とキューベットからなる。血液試料には、ウシ血液試料 (Shibaura Zouki K.K., Japan)の遠心分離によって調製した RBC を用いた。室温(24 °C)環境下において、印加周波数は、100 kHz–100 MHz で 20 s 毎に計測した。

3. 実験結果と考察

ヘマトクリット値(HCT)および溶血によるRBC減少によるナイキスト線図の変化を Fig.1 に示す。ナイキスト線図には2つの半円が見られ、HCT が減少することでRBC が減少する場合、半円の直径が減少するが、逆に、溶血によるRBCの減少では、2つの半円の直径が増大する。ナイキスト線図より、第2の半円のピークを示す点の実部 Z' とヘモグロビン濃度 (Hb) を線形フィッティングすると、 $Z' = 0.7932Hb + 15.788$ が得られ、高い相関性(相関係数 $R^2=0.9978$)を示した。

4. 結言

本研究は、溶血によるRBC変化とナイキスト線図によるインピーダンス変化の関係を実験により調査した。溶血によるRBCの変化は、インピーダンスに大きく影響した。ナイキスト線図上の第2半円のピーク点における実部 Z' とヘモグロビン濃度 Hb は高い相関性を示した。

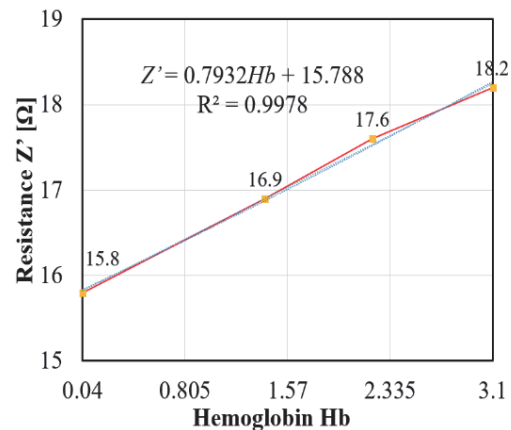
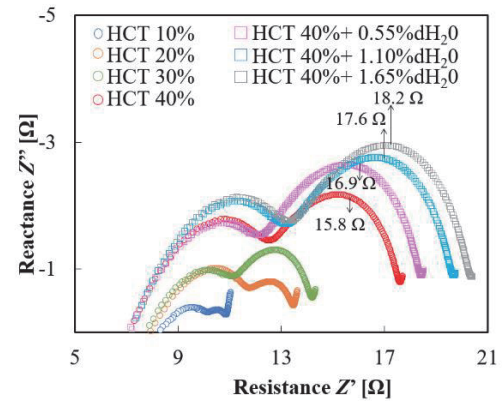


Fig.1 Nyquist plot of RBC hemolysis, and relationship between resistances Z' with hemoglobin Hb .

謝 辞

本研究は、日本学術振興会(JP16H02312)による支援を得ました。

文 献

- 1) Jacob Hs, Ingbar Sh, Jandl Jh. Oxidative hemolysis and erythrocyte metabolism in hereditary actalasia. The journal of clinical investigation. 1965 Jul 1; 44(7):1187-99
- 2) Simon Tl, Alverson DC, AuBuchon J, Cooper ES. Practice parameter for the use of red blood cell transfusion: developed by the Red Blood Cell Administration Practice Guideline Development Task Force of the College of American Pathologists. Archives of pathology & laboratory medicine. 1998 Feb 1; 122(2):130

OS2-6

Estimation of Stress-Strain Relationships of the Fibrous Cap in Carotid Artery Using Various Types of Hyperelastic Models

Subraya Krishna Bhat*, Hiroshi Yamada*, Noriyuki Sakata**

* Department of Biological Functions Engineering, Kyushu Institute of Technology [2-4 Hibikino, Wakamatsu-ku, Kitakyushu 808-0196, Japan]

** Fukuoka University

1. Introduction

Rupture of the fibrous cap is a serious concern in atherosclerotic plaques. Hyperelastic models have been proposed to reproduce the mechanical behaviour of the atherosclerotic arteries. Model selection plays an important role in accurate description of their mechanical response. The purpose of this study is to estimate the stress-strain relationship of the fibrous cap using Holzapfel-Gasser-Ogden (HGO) model^{1), 2)} and Ogden model, which was used by Yamada et al.³⁾, and further compare and analyze their results.

2. Methodology

HGO model is expressed by the strain energy density function

$$W = C_{10}(\bar{I}_1 - 3) + \frac{1}{D} \left(\frac{(J)^2 - 1}{2} - \ln J \right) + \frac{k_1}{2k_2} \sum_{\alpha=1}^N \{ \exp[k_2 \langle \bar{E}_\alpha \rangle^2] - 1 \}, \quad (1)$$

$$\bar{E}_\alpha = \kappa(\bar{I}_1 - 3) + (1 - 3\kappa)(\bar{I}_{4(\alpha\alpha)} - 1), \quad (2)$$

Here C_{10} , D , k_1 , k_2 and κ are material constants, α is the number of families of fibers ($N \leq 3$), \bar{I}_1 is the first deviatoric strain invariant of the right Cauchy-Green deformation tensor, $\bar{I}_{4(\alpha\alpha)} = J^{-2/3} \times \lambda^2$ where λ is the stretch along the fiber direction²⁾. Ogden model is given by

$$W = \sum_{i=1}^n \frac{\mu_i}{\alpha_i} (\lambda_1^{\alpha_i} + \lambda_2^{\alpha_i} + \lambda_3^{\alpha_i} - 3) + \frac{H}{2} (J^2 - 1), \quad (3)$$

where λ_i ($i = 1, 2, 3$) are principal stretches, J is the volume ratio, α_i and μ_i are material constants and H is the hydrostatic pressure.

Assuming the material to be incompressible and isotropic, the uniaxial relationships between nominal stress and stretch are derived as

$$\tau_1 = 2(\lambda^1 - \lambda^{-2}) \left[C_{10} + (2k_1/3) \times (\lambda^2 + 2\lambda^{-1} - 3) \times \exp \left\{ k_2 \left(\frac{\lambda^2 + 2\lambda^{-1} - 3}{3} \right)^2 \right\} \right] \quad (4)$$

$$\tau_1 = \mu_i (\lambda_1^{(\alpha_i-1)} - \lambda_1^{(-\alpha_i/2-1)}) \quad (5)$$

for HGO and Ogden models, respectively. Material constants were evaluated by curve-fitting to the experimental results³⁾ using the software Igor Pro 6.0 (WaveMetrics, Inc.).

3. Results and Discussions

Fig.1 shows that the HGO model results are in good agreement with all the experimental curves in the range 0-200 kPa. Further, although HGO model contains three parameter compared to Ogden model with two, it was observed that, HGO model can accurately describe the response of fibrous caps up to 0-800 kPa.

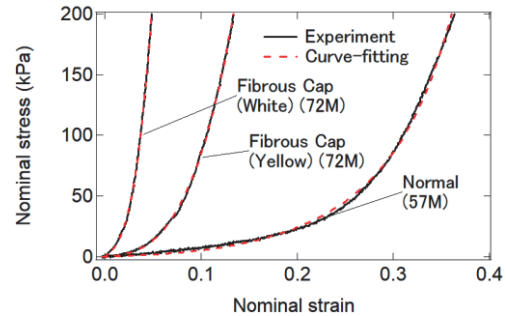


Fig.1 Nominal stress-strain curves for different fibrous caps and a normal region in carotid arteries.

4. Conclusions

It was found that the isotropic HGO model could accurately describe the given uniaxial stress-strain curves in the stress ranges from 0-200 kPa to 0-800 kPa for fibrous caps, while in the range of 0-200 kPa for a normal region. Ogden model showed a similar accuracy in the range of 0-200 kPa but less in the range of 0-400 kPa and higher.

References

- 1) Holzapfel, G. A., Gasser, T. C. and Ogden, R. W.: A New Constitutive Framework for Arterial Wall Mechanics and a Comparative Study of Material Models. *J. of Elasticity*, **61** (1), 1-48, 2000.
- 2) Holzapfel-Gasser-Ogden form, Anisotropic strain energy potentials, *Abaqus 6.14 documentation*, p. 22.5.3-4.
- 3) Yamada, H., Monir, H. E., Sakata, N., Morita, Y. and Nakashima, Y.: Mechanical characterization of the elastic properties of atheromatous plaques in the human carotid artery and thoracic artery. *Proc. of ATEM '15*, p. 252, 2015.

要旨

6月17日（日）

第2会場

OS5

ティッシュエンジニアリング

・人工臓器

OS5-1

ヒト血液を用いた血液適合性比較試験を 実現するための小型拍動回路の開発

保延慶紀*, 松橋祐輝*, 鮫島啓*, 頼卓然*, 熊谷直紀*, 青山祐介*, 梅津光生*, 岩崎清隆*

*早稲田大学 TWIns

[〒162-8480 東京都新宿区若松町 2-2 東京女子医科大学・早稲田大学連携先端生命医科学研究教育施設]

1. 緒言

動物や臨床での評価が困難な場合の評価法として医療機器の実使用環境を模擬した *in vitro* 抗血栓性試験法の開発への期待が国際的に高まっている。動物血液の血小板・血液凝固に関する因子の測定キットはほとんどなくヒト血液を用いることができれば材料や薬の血液凝固活性および抑制のメカニズムを評価することが可能となると考えられる。本研究ではヒト血液を用いて血液適合性比較評価試験を実現するための小型拍動回路の開発を行った。

2. 実験方法

回路は内部容量 12 mL の小型拍動ポンプ、高分子製流入・出弁、大動脈圧調整用弾性チューブ、末梢抵抗、左房圧調整用弾性チューブからなる内部容量 95 mL の一巡閉鎖回路とした (Fig.1)。製作した回路を用いて、ヒト血液を用いた血小板活性と血液凝固活性の経時的な変化を検討した。試験中に回路から血液をサンプリングのために抜くと回路内の圧力が低下することを抑制するため、内部圧力調整要素を回路に組み込んだ。そして構築した試験回路の有用性を評価するために、ヒト血液を用いて動的環境で試験可能な空気混入型の回転によるだけの簡便な回路である Chandler-Loop との比較評価試験を行った。小型拍動回路の血液量、回路内表面積、平均流速と同値となるような Chandler-Loop を比較対象とした。

3. 実験結果

6 回の比較試験を行った結果、血小板活性度のマーカーである PF4 はどちらの回路でも 3 時間まで経時的に増加した。小容量拍動回路では 1

時間後により大きく上昇し、3 時間後はどちらの回路とも同程度となることがわかった。また、凝固活性度のマーカーである TAT は小型拍動回路で 1 時間後、2 時間後、3 時間後ともに大きくなることがわかった。

4. 考察

血流状態が拍動流であったことが 1 時間後までの PF4 の増加に大きく影響し、血小板が空気と接触していることが徐々に PF4 を増加させているのではないかと考えた。また、小型拍動回路において TAT が大きくなったのは定常流よりも拍動流においてより血液凝固第 VII 因子が活性化することによって血液凝固第 II a 因子がより生成したからではないかと考えた。

5. 結言

生体内の血流・圧力環境を模擬した空気非接触で、かつ、ヒト鮮血を用いて比較試験を実施可能な超小型拍動循環回路を開発した。開発した試験法は、血流条件が血液凝固因子の経時的な変化に及ぼす影響の分析に有用であることが示唆された。

文献

- 1) Andreas Koster, Alterations in Coagulation After Implantation of a Pulsatile Novacor LVAD and the Axial Flow MicroMed DeBakey LVAD, 2000, pp. 533 to 537

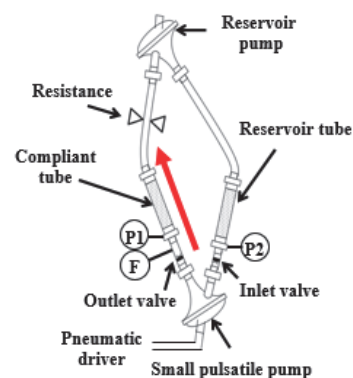


Fig. 1 Schematic drawing of the test circuit

OS5-2

弁形状の違いがバイオバルブ僧帽弁の流体力学的機能におよぼす影響

田地川勉*, 藤岡達也*, 巽英介**, 中山泰秀**

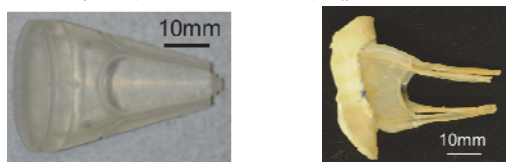
*関西大学システム理工学部 機械工学科 [〒564-8680 大阪府吹田市山手町 3-3-35]

**国立循環器病研究センター研究所 人工臓器部

1. 緒言

我々は生体内組織形成術を用いて、自己/自家組織でできた人工弁(以下バイオバルブ)を開発している。これまでFig.1に示す3Dプリンタ作製した光硬化性アクリル製の楕円錐形状鋳型(底部 34×17mm, 高さ 45mm)をやぎの皮下に約 1 か月埋入し僧帽弁形状バイオバルブの作製に成功した。

そこで本研究では、僧帽弁用バイオバルブの形状最適化を目的として、生体外で弁機能を評価する左心シミュレータを開発し、バイオバルブ形状を模擬したモデル房室弁を使い性能を評価した。



(a) Mold (b) Fabricated valve cusp

Fig.1 Mitral biovalve.

2. 実験方法

僧帽弁では、腱索と乳頭筋を介した心室壁との連続性が開閉挙動や弁機能に影響することから、左心室形状を模したシリコン製サックをピストン式駆動装置で拡張収縮させることで心筋壁の動きを模し、これに血管の弾性や末梢抵抗を模した循環回路を繋げることで左心シミュレータを構築した。サック心尖部に乳頭筋として直径 4mm のアクリル製突起を 2 本設け、これにモデル弁の腱索を外科用糸で縛り固定した。

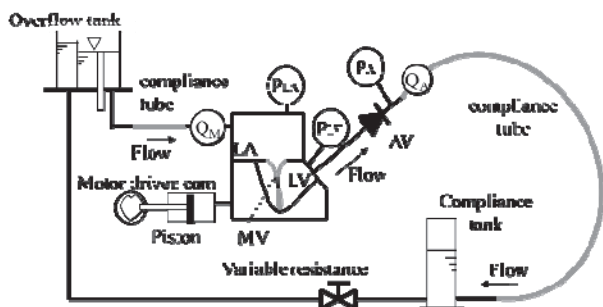


Fig. 2 Schematic diagram of left heart system simulator.

僧帽弁用バイオバルブの形状最適化にあたり、バイオバルブと共に、それとヤング率がほぼ等しい厚さ 100μm のポリウレタン製シートで作ったモデルも使い、弁尖形状の違いが性能に与える影響を調べた。図 1 に示した鋳型にあわせて弁輪径 34×17mm のモデル

僧帽弁(図2)を作製し、弁の形態パラメータ(図3)として後尖長さ $L_C=11\sim 17\text{mm}$ 、腱索長さ $L_{CT}=22\sim 43\text{mm}$ 、腱索固定位置 $L_P=30\sim 45\text{mm}$ を変化させた。なお前尖長さは解剖学的知見より $L_C+7\text{mm}$ に設定した。



Fig. 2 Modeled valve. Fig. 3 Shape parameters

3. 実験結果

左心シミュレータを用い、大動脈圧 p_A 、大動脈流量 Q_A 、心拍周期 T をヒトの心拍条件になる様に調整し、僧帽弁機能を評価するために左心室圧 p_{LV} 、左心房圧 p_{LA} 、僧帽弁位流量 Q_M を測定した。

後尖長さと腱索長さの和に対する乳頭筋固定位置高さの比と逆流率 R_f (逆流率=前方流量) の関係を図 4 に示す。弁尖が長いほど逆流率が低く、腱索長さや乳頭筋固定位置の違いによる影響を受けにくかった。これは弁尖が長いほど閉鎖位の弁尖同士の接触面積が大きくなるためと考えられる。後尖が最も長い $L_C=17\text{mm}$ のデータに対して、最小二乗法で近似線を引き、逆流率が 10% を下回る範囲を調べると、 $(L_C+L_{CT})/L_P < 1.28$ であった。

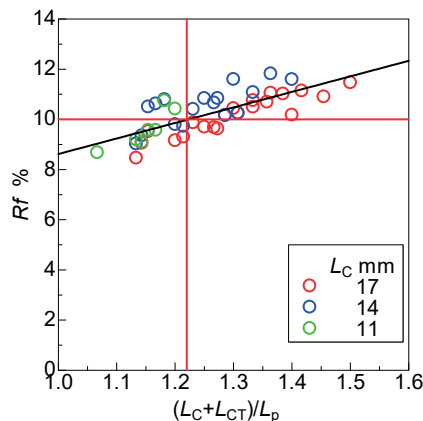


Fig. 4 Influence of valve length and papillary muscle fixation position on regurgitation volume.

4. 結言

モデル僧帽弁について、弁形状の違いが弁機能におよぼす影響を調べた結果、弁尖が長いほど逆流率が小さく、腱索長さや乳頭筋固定位置の許容範囲が広いことがわかった。

OS5-3

**矩形断面流路をもつインペラの出口角と断面積が
遠心血液ポンプの血液適合性に与える影響**

西田正浩*, 後藤大輝**, 迫田大輔*, 小阪亮*, 山根隆志*

丸山修*, 百武徹**, 山本好宏***, 桑名克之***

* 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***

1. 緒言

遠心血液ポンプは、心疾患患者の外科的治療の一つである開心手術における体外循環に用いられる。しかしながら、現状では、急性心不全に伴う経皮的心肺補助や右心補助などのさまざまな長期使用での用途が期待されている。遠心血液ポンプの長期使用には、低溶血性や抗血栓性などの血液適合性の向上が重要な課題となる。本研究では、矩形断面流路をもつインペラを有する遠心血液ポンプの流路の出口角および断面積に着目し、それらがポンプの血液適合性に与える影響を数値解析および実験により評価し、インペラの形状を最適化するための指針を得ることを目的とした。

2. 方法

矩形断面をもつ4本の直線流路で、出口角が異なる4種類のインペラ（C4_22.5, C4_45, C4_67.5 および N4）を比較した。次に、N4、6本の直線流路のインペラ（N6）および流路1本当たりの断面積が1.5倍で4本の直線流路のインペラ（W4）を比較した。

数値流体力学解析には、有限体積法に基づく市販ソフトウェアを用いた。作動流体は血液をニュートン流体に近似し、比重1.05、粘度3 cPとした。乱流モデルには $k-\varepsilon$ モデル、解析には非定常解析であるスライディングメッシュ法を用いた。解析条件は、体外循環を想定した入口流量4 L/min、ポンプ揚程200 mmHgの条件を中心に、入口流量とインペラの回転数を設定した。ポンプ揚程、溶血量と関連するポンプ内の血液損傷係数、および血栓性と関連する軸受付近の壁せん断応力が5 Pa以下のよどみ部の表面積を算出した。

実験では、模擬循環回路を用いてポンプの圧力流量特性を計測した。作動流体には液温37°Cにて粘度3.0 cPの46 wt%グリセリン水溶液を用いた。また *in vitro* 溶血試験を行った。作動流体には液温37°Cのウシ保存血を用いた。実験条件は、流量4 L/min、揚程200 mmHgとした。血漿の遊離ヘモグロビン濃度を計測し溶血指数を求めた。

3. 結果および考察

インペラの流路の出口角が小さくなると、血液損傷係数は低くなった。これは、出口付近に生じる高せん断域が減少したためであると考えられた。体外循環条件においては、出口角が小さくても、圧力流量特性はほぼ同じであったため、インペラ回転数の差により溶血量に差が生じたわけではなかった。その一方で、出口角が小さくなると、洗浄孔流量が減少し、軸受付近のよどみ部の表面積が増えたため、抗血栓性の低下が予測された。

ところが、実際の溶血試験では、出口角が小さくなると、溶血指数は高くなった。3Dプリンタでインペラを作製したため、出口角が小さくなると、血液と接触する流路の表面積が増えるため、材料の表面粗さに影響したことが考えられた。

次に、インペラの流路の本数または断面積が増えると、血液損傷係数は低くなった。これは、圧力流量特性の右下がりや緩和され、体外循環条件におけるインペラの回転数が小さくなったことと、インペラの流路内の流速が減少し、出口付近に生じる高せん断域が減少したことが原因として考えられた。その一方で、流路の本数または断面積が増えると、洗浄孔流量が増加し、軸受付近のよどみ部の表面積が減ったため、抗血栓性の向上が予測された。ただし、軸受付近の攪拌を促すインペラの裏羽根の数にも依存した。

4. 結言

矩形断面流路をもつインペラを有する遠心血液ポンプにおいて、流路の出口角が小さくなると、溶血特性が向上する一方、抗血栓性は低下すると考えられた。また、インペラの流路の本数または断面積が増えると、溶血特性、抗血栓性ともに向上すると考えられた。

謝 辞

本研究では、茨城県工業技術センター青木邦知氏に3Dプリンタ成形に関して、産業技術総合研究所芦田極氏に切削加工に関して、それぞれご協力いただいた。

OS5-4

塞栓コイルの 3 次元留置形態と血栓形成の関係性に関する研究

松橋祐輝*, 青山祐介*, 鮫島啓*, 熊谷直紀*, 頼卓然*, 保延慶紀*, 梅津光生*, 岩崎清隆*

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

1. 緒言

末梢血管塞栓術は、金属製のコイルを血管内に留置し血流を遮断、血栓化させることで腫瘍の壊死や出血部位の止血、動脈瘤の破裂予防をする治療法である。血流の遮断のためには病変部位に複数本のコイルの留置を行うが、より少ない本数での血流の遮断の実現により、患者や医療従事者の負担軽減につながるだけでなく、医療費削減にもつながる。本研究では、設計の異なる 2 種類のコイルを用いて塞栓コイル(以下コイル)の 3 次元留置形態が留置後の血流量、コイル前後の圧較差に及ぼす影響を明らかにすることとした。

2. 実験方法

2.1 本試験に用いた塞栓コイル

本研究に用いた 2 種類のコイル A, B はいずれもプラチナ製であり、コイル A は血管の塞栓率向上を期待して、血液に触れると膨潤し体積が増加する高分子製ハイドロゲルがコイル内部に搭載された製品である。プライマリコイル径はコイル A が 0.38 mm であり、コイル B が 0.30 mm である。

2.2 塞栓コイル性能評価試験

性能評価試験は平均流量 300 ± 10 mL/min, 大動脈圧 $120/80(100) \pm 2$ mmHg の拍動環境を創出可能な循環回路¹⁾の末梢部を分岐させ、下腸間膜動脈を想定したコイル留置のための内径 3.2 mm の流路を設置した回路とした。なお、コイル留置部の流量は 80 ± 2 mL/min とした²⁾。本回路にグリセリン水溶液(粘度 4 mPa·s)を循環して試験を行った。

留置したコイルの本数は留置後の体積塞栓率が同程度となるようにコイル A は 4 本, コイル B は 3 本とした。留置前後のコイル前後の圧較差およびコイル留置部の流量変化を測定した(n=3)。

3. 実験結果

コイル前後の圧較差とコイル留置部の流量の関係を計測した結果(図 1), いずれのコイルも留置本数が増加すると圧較差は増加し, 流量は減少することがわかった。また, コイル A の方が, コイル B と比較してすべてのコイルを留置した際の流量が約 10 mL/min 大きいことが分かった。

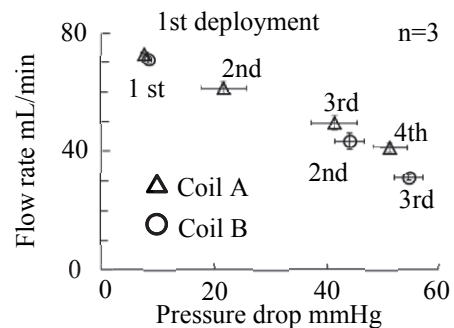


図 1 コイル留置後のコイル前後の圧較差と流量の関係

留置形態は、コイル A の方がコイル B と比較して留置領域が全体に広がっている様子が観察された。

4. 考察

2 種類のコイル間で留置後の流量が異なった要因として留置密度に影響を及ぼすと考えられるコイルの曲げ剛性に注目した。有限要素解析を用いて 2 種類のコイルの曲げ剛性を計算した結果、コイル A の方がコイル B と比較して曲げ剛性が約 15 倍高いことがわかった。この曲げ剛性の違いが局所的な留置密度の差を生じさせ、コイル内部の隙間流路の大きさに影響を及ぼし、その結果、コイル留置後の流量に差が生じたと考えられた。そして、隙間流路が小さいコイル B の方がコイル A と比較して血栓が形成し易い可能性が示唆された。

5. 結言

設計の異なる 2 種類のコイルの性能比較試験を実施した結果、曲げ剛性の高いコイルの方がコイル留置後に残存する流量が大きいことが分かった。今後の展望として、血液を用いたコイル性能比較試験を実施し、コイル留置前後の圧較差や血液流量がコイルの血栓形成能に及ぼす影響を明らかにしていく。

文 献

- 1) 松橋祐輝, 鮫島啓, 前田真宏, 梅津光生, 岩崎清隆: 拍動循環可能な小容量抗血栓性試験回路の開発, 第 40 回バイオレオロジー学会誌, 2017
- 2) Ahmet S, et al: Doppler waveforms and blood flow parameters of the superior and inferior mesenteric arteries in patients having behcet disease with and without gastrointestinal symptoms, J Ultrasound Med, 22, 449-457, 2003

OS5-5

脱細胞化組織を用いたヒツジ膝前十字靭帯再建後の膝関節安定性に関する研究

江虹暁*, 伊藤匡史, 奥田慶也, 岡村昭慶, 八木優大, 岡崎賢, 梅津光生, 岩崎清隆**

* 早稲田大学 生命理工専攻 [〒162-0056 東京都新宿区若松町 2-2]

**東京女子医科大学 整形外科

1. 緒言

膝前十字靭帯は大腿骨及び脛骨をつなぎ、膝関節安定性を保つ靭帯の一つである。この靭帯はよく急激な方向転換やジャンプの着地等により断裂することがある。断裂した靭帯は自然治癒することができないため、治療を施さなければならない。主要な治療法として温存療法と手術療法がある。温存療法により日常生活レベルまで回復できるが、スポーツ復帰を望んでいる患者に対して不十分である。手術療法として膝前十字靭帯再建術を施す。一般に自家腱を採取し治療を行うが、侵襲性が高く再断裂時に再建組織が不足という課題が存在する。これらを解決するために本研究では生体内で自己細胞が入り、自己組織化が期待できる動物由来脱細胞化組織を開発している。生体内反応を伴う脱細胞化組織を用いた再建後の膝関節安定性の変化を明らかにすることが重要である。

2. 実験方法

本研究では、脱細胞化組織を用いたヒツジ膝前十字靭帯再建術後の膝関節の前後移動量を計測し、生体内反応が膝関節安定性に及ぼす影響について検証することを目的とした。本実験では脱細胞化ウシ腱を用いたヒツジ膝前十字靭帯再建術を行い、術後 13 週及び 52 週で犠牲死させ、大腿骨及び脛骨は再建組織から 10cm の位置で切断し膝関節を採取した。採取後 24 時間以内に膝関節が 5 自由度を有する固定治具にエポキシ樹脂及びネジを用いて固定した組織を引張方向と平行に試験装置に固定し、膝関節屈曲角度 60°, 90°において脛骨前後方向に 50N を 4 回負荷し最大変位量を測定した (各 n=7)。

3. 実験結果

脱細胞化ウシ腱を用いて再建術後 13 週及び 52 週の膝関節の前後移動量は、60°では 10.8±1.5mm 及び 5.3±2.0mm, 90°では 8.7±1.9mm 及び 4.3±1.1mm となり、術後 13 週と比較して 52 週で有意に膝関節の安定性が増すことが明らかとなった。また、ヒツジ自家アキレス腱を用いた再建後 52 週の膝

関節前後移動量は、60°では 5.4±2.3mm, 90°では 3.5±1.5mm であり。脱細胞化組織は術後 52 週においてヒツジ自家腱と同程度の膝関節安定性を有することが明らかとなり、再建組織として有用であると考えられた。

4. 考察

膝前十字靭帯再建術後においてヒトの膝関節に膝固定装具を装着し、力学的負担がかからないように膝関節を保護する。また、筋力訓練、膝関節可動域トレーニング等により機能訓練を行い、膝関節を徐々に回復させるが、ヒツジに対して膝前十字靭帯再建術後ヒツジ膝関節に適用する装具がなく、術後のリハビリテーションがなしで自然に治癒することになった。その結果、術後早期に再建組織に力学的負荷が作用することで再建組織が伸び、膝関節の安定性に影響を与えたことが明らかになった。

実際の臨床手術後にリハビリテーションが行われているため、脱細胞化腱を用いた膝前十字靭帯再建術後の膝関節の安定性はより高くなることが示唆している。

5. 結言

脱細胞化ウシ腱を用いたヒツジ膝前十字靭帯再建における膝関節の前後安定性は、術後 13 週と比較して 52 週で有意に増し、生体内で組織が強化されることが明らかとなった。脱細胞化ウシ腱は、ヒツジ自家アキレス腱と同程度の膝関節安定性を確保でき、自家腱の採取を必要とせず、均質な太い組織を提供できる新たな再建組織となると考えられた。

文 献

- 1) Kondo, E. Yasuda, K. Katsura, R. Hayashi, R. Kotani, Y. and Tohyama, H.: Biomechanical and histological evaluations of the doubled semitendinosus tendon autograft after anterior cruciate ligament reconstruction in sheep. The American Journal of Sports Medicine, Vol.40, No.2, 315-324, 2012

OS5-6

ヒト全血における動圧浮上遠心血液ポンプ内の プラズマスキミング現象

近藤和樹*, 迫田大輔*, 小阪亮*, 西田正浩*, 丸山修*

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

1. 緒言

当研究グループで開発中の動圧浮上遠心血液ポンプの動圧軸受部において、Fig.1 に示す様に動圧溝の「Ridge」部の軸受隙間を狭くすることで、Ridge 部の赤血球密度 (ヘマトクリット: HCT [%]) が減少する、プラズマスキミング現象を発見した (Murashige et al, *Artif Organs* 40(9), 2016)。本現象の追及は、高せん断域における血球細胞レベルの流動制御法の開発を可能にし、革新的血液適合性の獲得につながると考えられる。本研究では、ヒト全血の HCT と、プラズマスキミング効率 E [%] の関係を報告する。

2. 実験方法

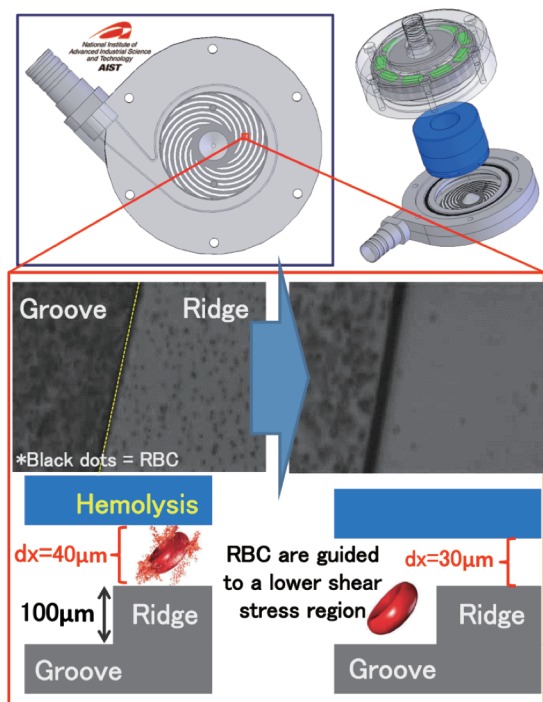


Fig.1 Plasma-skimming effect in a hydro-dynamically levitated blood pump

E を次の式(1)で定義した。

$$E = (\text{回路内 HCT} - \text{Ridge 部 HCT}) / (\text{回路内 HCT}) \times 100 \quad (1)$$

動圧浮上遠心血液ポンプ、塩化ビニルチューブおよびリザーバパックからなる模擬回路を構成した。回路を日本赤十字社で購入したヒト全血で満たし、4000rpm、5L/min で循環した。高速カメラを用いてポンプ底面の赤血球の動態を 15,000fps、シャッタ

ースピード 1/900,000sec、倍率 300 倍 (キーエンス社標準) で撮影した。回路内 HCT は、回路から採血して自動血球分析装置により計測した。Ridge 部 HCT は以下の式(2)により求めた。

$$\text{Ridge 部 HCT} = (Q \times \text{MCV}) / (dx \times \sigma) \times 100 \quad (2)$$

ここで、Q は画像中の Ridge 部の赤血球占有率 ($0 \leq Q \leq 1$)、MCV は平均赤血球体積で自動血球分析装置から求めた。σ は赤血球断面積で赤血球形状モデル (D. Sakota et al, *J Biomed Opt* 15(16), 2010) より算出した。dx は Fig.1 に示す Ridge 部の軸受隙間であり、回転数および血液粘性によって変動する。4000 rpm における dx と粘性の関係について、別途同一回路を使用して様々な粘性に調整したグリセリン水溶液を循環させる実験を行い、レーザー変位計により求めておいた。回路 HCT 測定と同時に、回転粘度計を用いて粘性を計測し、その値から dx を算出して式(2)に代入した。

3. 実験結果および考察

回路内 HCT と E の関係を Fig.2 に示す。回路内 HCT=10~35% で E=95% 以上を示し、HCT>30% で減少傾向があることが認められたが、それでも 90% 以上となった。これより、動圧浮上遠心血液ポンプでは生理的な HCT 値でもプラズマスキミング現象が起きていることが示唆された。

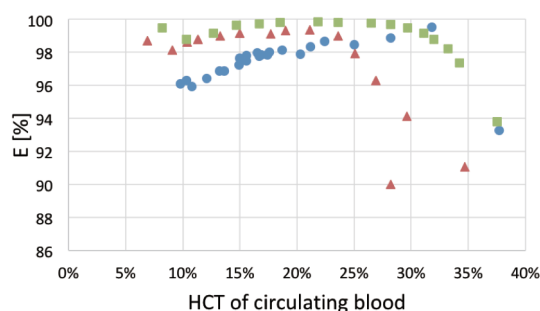


Fig.2 Change of skimming efficiency according to HCT (n=3)

4. 結言

動圧浮上遠心血液ポンプ内のプラズマスキミング現象は生理的 HCT の範囲でも 90% 以上の効率で生じることを明らかにし、本現象に着目したこれまでに無い新たな人工心臓開発の可能性が示唆された。

OS5-7

MEMS 技術による小型血栓センサの新規開発

森田伸友*, 迫田大輔**, 近藤和樹**, 小阪亮**, 岩崎渉*, 丸山修**,
*産業技術総合研究所 製造技術研究部門 [〒841-0052 佐賀県鳥栖市宿町 807-1]
**産業技術総合研究所 健康工学研究部門

1. 緒言

体外補助循環回路中の様々な場所に生じうる血栓を形成の初期段階から早期に発見し、血栓の体内への侵入を未然に防ぐための血栓監視手法が求められている。これまでに、血栓と血液の光学特性の違いを利用して遠心血液ポンプに生じる血栓を光学的に監視する手法の有効性が示されてきたが^{1),2)}、これらの手法はハイパースペクトルカメラや大型の光学系などの大掛かりな装置が必要であり、よりシンプルな装置で、かつ高い血栓検出感度を有する血栓監視手法が求められている。本研究では半導体製造技術を基盤とした微細加工技術である MEMS (Micro Electro Mechanical Systems) 製造技術によって、光学部品を高密度に配置したわずか 3 mm 角、厚さ 1.2 mm の小型血栓センサチップを新規開発し、血栓検出を試みた。

2. 実験方法

図 1 に試作した小型血栓センサを示す。3 mm 角、厚さ 1.2 mm の小型センサチップには 3 波長の LED (525 nm, 660 nm, 855 nm, 以下それぞれ、G 光, R 光, IR 光), PD (photodiode), 及び増幅回路が内蔵されている。各 LED を 1 秒ごとに順次点灯させ、各波長における血液からの散乱光強度を PD で計測する。これにより各波長に対する血液の光学特性を得ることで血栓の検出を目指す。模擬循環回路をリザーバー、動圧浮上型血液遠心ポンプ³⁾、恒温槽、チューブ及びコネクタ類で構成し、3.2%クエン酸ナトリウム水溶液で抗凝固したブタ血液 500ml をポンプ回転数 2880rpm (一定) にて循環させ血栓形成試験を行った。2% 塩化カルシウム水溶液を試験開始後 1 分間で 6.7ml, その後 990 秒間、流量 55.6 μ l/min (総量 0.92ml) にて連続的に添加することで活性化全血凝固時間を調節した。初期血液流量が 1 L/min となるよう回路内抵抗を調整し、血液流量が 0.8 L/min を下回った時点でヘパリン 20,000 units を添加し実験を終了した。

3. 実験結果

血液流量及び小型血栓センサによって得た各波長の出力比を図 2 に示す。実験の経過に伴い、IR 光と R 光の比 (IR/R) は上昇、R 光と G 光の比 (R/G) はやや上昇後低下、G 光と IR 光の比 (G/IR) は低下というそれぞれ異なった挙動を示した。また試験終了後の血液遠心ポンプのインペラ内部を

閉塞するように血栓が形成されていることを目視により確認した。

4. 結言

MEMS 製造技術によって光学的な血栓検出を目指した小型血栓センサを新規開発した。血栓試験を実施し、小型血栓センサの出力比の変化を見ることで本センサによる血栓監視の可能性が示唆された。

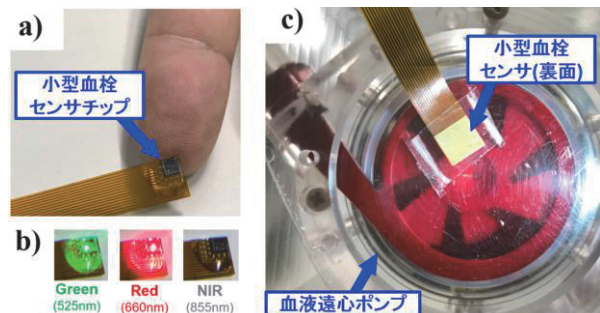


図 1 小型血栓センサチップ. a)外観写真. b)各 LED 点灯時. c)血液遠心ポンプ貼付時

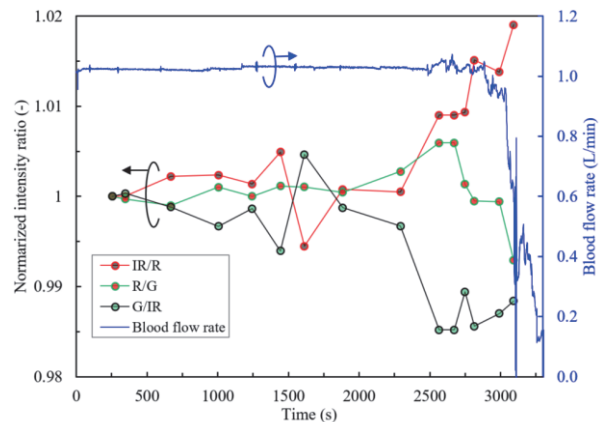


図 2 血栓試験時の小型血栓センサ出力比(左軸)及び血液流量(右軸).

謝 辞

本センサの一部は、北九州学術研究都市共同研究開発センター「第 8 回ユニーク・自作チップ・コンテスト in ひびきの」にて試作された。本研究の一部は科研費(16K01444)によって行われた。ここに厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) D. Sakota et al.: Artificial Organs, 38, (9), 733-40.
- 2) D. Sakota et al.: Biomedical Optics Exp., 9, (1),190-201.
- 3) R. Kosaka et al.; Artificial organs 37 (9), 778-785.

要旨

ポスター発表

P-01

米粉・大豆タンパク質混合系麺とゲルの力学的特性

永井紘太*, 吉村美紀*

*兵庫県立大学 環境人間学研究科

1. 緒言

食品ハイドロコロイドとして加工食品に用いられ、栄養価・機能性の高い米粉と大豆タンパク質に着目し、米粉の糊化における大豆タンパク質の影響を力学的・熱的特性から検討してきた。近年、米粉をパンや麺などの新規用途に加工することが可能となり、新たな形状で主食として用いる製品の開発が進められている。本研究では米粉と大豆タンパク質を用いた麺およびゲルの調製方法を検討し、力学的特性について米粉を小麦粉に置換した試料と比較検討した。

2. 実験方法

(1) 実験試料

米粉 (RF と示す) (兵庫県産うるち米, 前原製粉), 大豆タンパク質 (SPI と示す) (粉末状大豆タンパクニューフジプロ-SEH, 不二製油) 小麦粉 (WF と示す) (中力小麦粉 雪, 日清製粉) を試料として用いた。

(2) 混合麺の調製および測定方法

米粉の一部を加熱糊化させた米粉糊を混合し、麺を調製した。米粉・大豆タンパク質麺 (RS と示す) は RF:SPI=8:2 で、小麦粉・大豆タンパク質麺 (WS と示す) は WF:SPI=8:2 の割合で生地を作成し、厚さ 2mm, 幅 7mm, 長さ 20cm の麺帯に成形し、加熱前試料とした。この試料を用いて、水分含有率測定、表面色測定を行った。水分含有率測定は赤外線水分計 (FD-600, ケツト科学) を用い、加熱前試料 5.00g を 105°C, 60 分間の条件で赤外線加熱乾燥法により測定した。表面色測定は測色計 (ND-300A, 日本電色工業) を用いて、明度および色度を測定した。ステンレス鋼製鍋 (直径 27cm, 容量 5L) にイオン交換水 1L を入れ、加熱前試料 50g を沸騰水中で 3 分 30 秒間加熱後、流水にて 30 秒間水冷し、表面の水分を拭き取ったものを加熱後試料とし、圧縮測定とゆで汁の透過率測定を行った。圧縮測定はクリープメーター (RE2-3305B, 山電) を用い、定速圧縮測定を行った。縦 1mm×横 10mm の楔状プランジャーを用い、最大荷重 20N, 圧縮速度 1.0mm/s で、試料の高さの 95% を圧縮した。ゆで汁の透過率は、紫外可視分光光度計 (IUV-124, アズワン) を用いて測定した。加熱前試料を凍結乾燥機 (FDU-1200, EYELA) にて 24 時間凍結乾燥した試料を用いて、電子顕微鏡によるネットワーク構造観察を行った。

(3) 混合ゲルの調製および測定方法

米粉・大豆タンパク質混合ゲル (RS ゲル) と小麦粉・大豆タンパク質混合ゲル (WS ゲル) は、それぞれ総濃度が 16.7w/w%, 総量が 100g になるよう調製した。攪拌機を用いて常温で 30 分間攪拌・膨潤した各試料を、オイルバス (KSK kato) を用いて 95±5°C になるまで 20 分間加熱攪拌後、設定温度を 100°C にし、95±5°C で 30 分間加熱攪拌した。これを直径 30mm×高さ 20mm のガラスリングに流し、25°C で 1 時間静置後、10°C で 18 時間冷却した混合ゲルを圧縮測定用試料とした。クリープメーターを用い、調製 0, 1, 3 日後の試料を直径 40mm の円柱形プランジャー、最大荷重 20N, 圧縮速度 1.0mm/s で、70% 圧縮とした。

3. 実験結果

加熱前試料では、RS と WS の水分含有率がほぼ同程度で、WS は黄味がかかった色を示した。加熱後試料の圧縮測定では、圧縮応力、圧縮エネルギーとも RS は WS より有意に低値を示し、ゆで汁の透過率測定では、RS=4.5%, WS=74.8% を示した。乾燥試料の構造観察では、RS は WS と比べ、粗い構造を示した。ゲルの圧縮測定では、調製 0 日および 3 日試料で、圧縮応力、圧縮エネルギーともに WS ゲルが有意に高値を示し、硬くなることが推察された。また、RS ゲルの圧縮応力、圧縮エネルギーは調製 0 日から調製 1 日後で低下し、調製 3 日後では増加した。WS ゲルでは、調製 0 日から調製 1 日後で圧縮応力、圧縮エネルギーが低下し、調製 3 日後では硬さの変化は少なかった。

4. 考察

RS は WS より軟らかく、ゆで汁の透過率が低く、電子顕微鏡観察から粗い構造であることより、麺のネットワーク形成が不十分であり、麺表面がゆで汁に煮溶けることが考えられた。ゲルの貯蔵による硬さの変化は RS ゲルの方が安定していた。

5. 結言

米粉と大豆タンパク質の混合割合が 8:2 での麺およびゲルを調製し、米粉試料は小麦粉試料より軟らかくなる結果を示し、硬さをコントロールした食品への展開が期待できる。一方、煮溶けが生じる点については、改善が必要と考えられた。

P-02

小麦麵の性状と構造に及ぼす保蔵期間の影響

細田捺希*, 吉村美紀*

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

1. 緒言

兵庫県播州地区で製造された手延べそうめんは全国的に有名で、広く親しまれている。手延べそうめんは、梅雨期に保蔵されることにより、油くささがなくなり独特の風味となり、硬く弾力のある食感となる。本研究では、保蔵期間の異なる手延べそうめんを用いて、保蔵期間の長さが手延べそうめんの性状と構造に及ぼす影響を検討した。

2. 実験方法

(1) 試料

試料は、保蔵期間の異なる手延べそうめん（0ヶ月、6ヶ月、12ヶ月、24ヶ月）を用い、これを乾麺試料とした。乾麺試料150gを1.5Lの水95~100℃で1分30秒間ゆで、ざるで10回湯切りし、流水で1分間冷却し、ざるで10回水切りしたものをゆで後試料とした。

(2) ゆで時の吸水率

乾麺試料を用い、乾麺試料とゆで後試料の重量を測定し次式により吸水率を求めた。吸水率 (%) = (ゆで後試料重量(g) - 乾麺試料重量(g)) / 乾麺試料重量(g) × 100

(3) ゆで汁の吸光度

紫外可視分光光度計 (アズワン(株) sefi IUV-1240) を用いて、攪拌し分散状態のゆで汁の吸光度を測定し、これを麵の煮溶け程度の指標と示した。

(4) 走査型電子顕微鏡観察

走査電子顕微鏡 (日本電子(株)製 CM-5000) を用いて、高真空モード、加圧電圧 10 kV で観察した。試料は乾麺試料を NeoCoater (MP-19010NCR) を用いて 1 分間金蒸着後、試料表面の観察を行った。

(5) 官能評価

5 段階採点法による官能評価を行った。パネルは、説明し同意を得た学生 20 名 (平均年齢 21.2 ± 0.81 歳) とし、評価項目は分析型 6 項目と嗜好型 3 項目とした。こしは「適当に硬く粘りがあって、柔らかいがプツンと切れにくいこと」と説明した。

3. 実験結果

ゆで時の吸水率は有意差が認められなかったが、保蔵期間が長くなるほど吸水率が高くなる傾向がみられた。ゆで汁の吸光度測定において、他の試料と比較し、24ヶ月保蔵した試料の吸光度は最も低値を示したことから、煮溶けが少ないと推察した。走査型電子顕微鏡観察では、保蔵期間が長くなるほどグルテンが伸びる傾向がみられた。官能評価の結果、つや (識別) の項目において、0, 6ヶ月保蔵した試料と比較し、12, 24ヶ月保蔵した試料は有意につやがないと評価された。また、なめらかさ (識別) の項目において、0, 6, 12ヶ月保蔵した試料と比較し、24ヶ月保蔵した試料は有意になめらかでないとして評価された。硬さ (識別) の項目において、保蔵期間が長くなるほど、硬い傾向が見られた。こし (識別および嗜好) の項目において、保蔵期間による評価にばらつきがみられた。総合的な好ましき (おいしさ) の項目において、他の試料と比較し、24ヶ月保蔵した試料は好まれない傾向を示した。

4. 考察

官能評価の結果、つや (識別) の項目において、0, 6ヶ月保蔵した試料と比較し、12, 24ヶ月保蔵した試料は有意につやがないと評価された。また、なめらかさ (識別) の項目において、0, 6, 12ヶ月保蔵した試料と比較し、24ヶ月保蔵した試料は有意になめらかでないとして評価され、硬くなる傾向がみられた。これらは、麵の煮溶けが少ないこととグルテンの伸びと関連すると推察した。また、つやがなく、なめらかでなく、硬いと評価された 24ヶ月保蔵した試料は、総合的に好まれなかった。先行研究では、硬く弾力のあるそうめんが好まれているが、本研究では異なる結果となった。これは、硬さよりなめらかさを好む嗜好の変化も考えられた。

5. 結言

24ヶ月保蔵した試料はつやがなく、なめらかでなく、硬い傾向であると評価され、総合的に好まれない結果となった。その理由として、保蔵による麵の煮溶けの減少、グルテンの伸び、硬さよりなめらかさを好むという嗜好の変化が考えられた。

P-03

畳み込みニューラルネットワークを用いた ゲル状食品のテクスチャ推定システム

○西 慶一郎*, 柴田 暁秀*, 池上 聡**, 中馬 誠**, 東森 充*

*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

食品産業において、美味しさを数値化する科学技術とその応用展開が注目されている。著者らのグループでは、食品の圧縮、破断試験により得た圧力分布データからテクスチャ（食感）を推定する手法¹⁾の開発に取り組んでいる。本研究は、畳み込みニューラルネットワーク（CNN）を用いて、多様なテクスチャを高精度に推定する手法について考察する。

2. テクスチャ推定システム

【官能評価値の取得 (Fig. 1(a))】素材の異なる複数種類のゲル状食品に対して、官能評価値を準備する。官能評価値 n_i は、実際に、ヒトが試食する官能評価試験により、テクスチャ評価項目 i ごとに取得する。

【人工咀嚼装置を用いた圧力分布測定 (Fig. 1(b))】土台、圧縮用プレート、圧力分布センサからなる人工咀嚼装置を使用する。この装置により、圧縮・破断する際の圧力分布を計測し、時系列画像として保存する。

【CNNを用いたテクスチャ推定モデルの構築 (Fig. 1(c))】時系列圧力分布画像から複数枚を抽出、結合することでCNNへの入力画像を作成する。続いて、訓練データを用いて、入力画像から、官能評価値 n_i と推定値 \hat{n}_i の誤差が小さくなるよう誤差逆伝播法によるネットワークの学習を行い、CNNモデルを作成する。

3. 実験結果

実験試料として、23種類の訓練データ用食品と、8種類のテストデータ用食品を用いた。官能評価値 n_i を収集後、各種類6個ずつ、計186個の圧力分布データを得た。このうち、訓練データには、4種類の回転操作（0°, 90°, 180°, 270°）を加え、データを増やした。Fig.2上図は、CNNを用いて「もちもち感」を推定した値 \hat{n}_1 と官能評価値 n_1 との関係を示す。また、経験則により圧力分布画像から156個の特徴量（圧力値のばらつき、検出面積、など）を抽出し、テクスチャを推定した。Fig.2下図に、両手法について官能評価値とテストデータの推定値との平均二乗誤差（MSE）を示す。全てのテクスチャ項目で、CNNを用いた方が、MSEが小さいことが分かる。

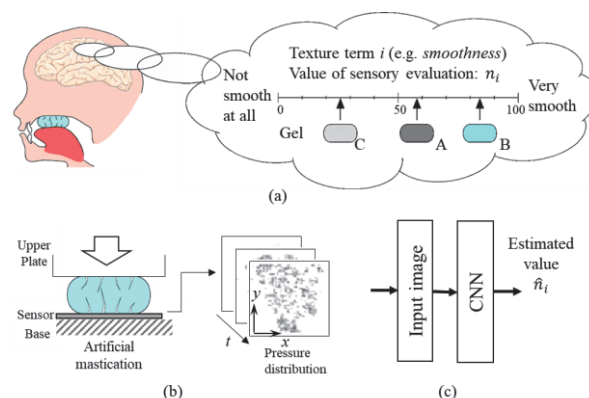


Fig. 1: The overview of the proposed method.

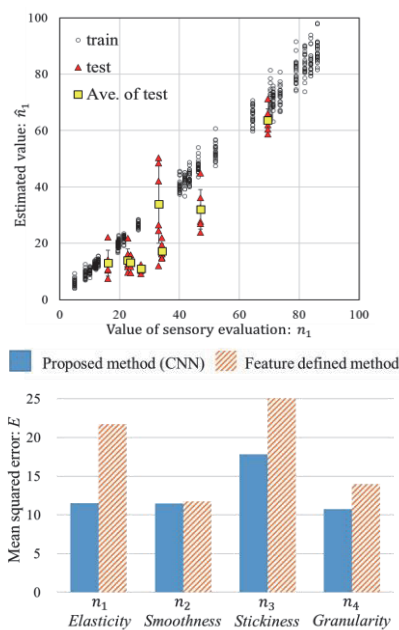


Fig. 2: Estimation result

4. 結言

本研究では、ゲル状食品を対象とし、圧縮・破断過程の圧力分布画像から、CNNを用いてテクスチャ値を推定する手法を提案した。今後は、推定精度を向上に向け、入力画像情報、CNN構造を検討する予定である。

文献

1) T.Yamamoto et al. : “Pressure Distribution-Based Texture Sensing Using a Simple Artificial Mastication System,” EMBC2014, pp.864—869.

P-04

モデルペプチドを用いたアミロイド線維の形成を制御するための環境因子とアミノ酸配列の解明

佐伯政俊, 柴立郁美, 座安瑞希, 静間隆文, 大嶋伸明, 穂本光弘
山口東理大工 [〒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って形成されるアミロイド線維はアミロイドーシスと密接に関係する。アミロイド線維は β シートの集合であり, タンパク質の種類が異なっても幅が約 10 nm で共通している。しかし, 以前我々は, アミロイドの形成性が知られているバルナーゼ M1 モジュール: AQVINTFDGVADYLQTYHKLPDNY (BM24) の C 端 3 残基が欠損したペプチド (BM21) では, 幅 20 nm を有することを発見した¹⁻³⁾。本研究では, アミロイド線維の構造制御を目指して, BM24 の C 端の 3 残基の有無で線維の形態に影響があることに着目し, アルコールや界面活性剤の添加による環境下やプラズマ照射条件下における線維状態の変化観察を行った。

2. 実験方法

BM24 と BM21 を Fmoc 固相合成法により化学合成した。合成されたタンパク質やペプチドは HPLC によって精製を行った。精製ペプチドは pH7.5 および pH8.5 Tris-HCl 緩衝液に溶解し, 1 週間静置後アミロイドに特異的に結合する蛍光試薬チオフラビン T 色素を用いて蛍光測定を行い, アミロイド様線維の形成の確認を行った。その後幅の違いが構造崩壊に与える影響について調べるため, プラズマ照射条件下における線維状態の変化観察を行った。さらに, 疎水性相互作用や水素結合の破壊を目的としたドデシル硫酸ナトリウム (SDS), 2,2,2-トリフルオロエタノール (TFE), グアニジン塩酸塩 (GdmCl) を添加し, 経時的な構造変化を変性剤添加後の蛍光強度の増減により評価した。

3. 実験結果

プラズマ照射条件下における線維状態のチオフラビン T 色素を用いた蛍光測定では, BM24, BM21 ともに照射直後の蛍光強度は減少したが, 5 日間静置後の蛍光測定は, それぞれのコントロールと同程度の強度であった。

次に TFE を添加した場合, BM24, BM21 ともに添加した直後は蛍光強度の減少が見られたが, BM21 では 24 時間後に上昇が見られた。また, SDS を添

加した場合には, BM24, BM21 ともに添加した直後蛍光強度の減少が見られたが, 6 時間後にはほぼ添加前の状態まで上昇し, 24 時間後に再び減少が見られた。さらに GdmCl を添加した場合, BM24, BM21 ともに時間が経過する毎に減少が見られたが, BM24 の 24 時間後の蛍光強度で急激な減少が見られた。

4. 考察

プラズマ照射により β シートの集合形成が阻害されアミロイドの崩壊効果は一時的には効果があったと考えられる。

アルコールや界面活性剤の添加によるアミロイド性集合体の構造安定性の評価では, BM24, BM21 ともにアルコールの影響は受けているが, BM21 のほうが 24 時間後に上昇が見られたことから再度経時的に集合体が形成されていると考えられる。一方で, 界面活性剤については両者ともに SDS に対する構造安定性は高いと考えられる。変性剤については BM21 のほうが変性剤の影響を受けにくく, 構造安定性は高いと考えられる。

5. 結言

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

文 献

- 1) Saiki, M., Shiba, K., and Okumura, M.: Structural Stability of Amyloid Fibrils Depends on the Existence of the Peripheral Sequence near the Core Cross- β Region. *FEBS Letters*, **589**, 3541-3547, 2015.
- 2) Saiki, M. and Akimoto, M.: Evaluation of the structural stability of amyloid fibrils by dynamic light scattering. *Journal of Biorheology*, **29**, 24-27, 2015.
- 3) Saiki, M., Honda, S., Kawasaki, K., Zhou, D., Kaito, A., Konakahara, T., and Morii H.: Higher-order Molecular Packing in Amyloid-like Fibrils Constructed with Linear Arrangements of Hydrophobic and Hydrogen-bonding Side-chains. *J. Mol. Biol.*, **348**, 983-998, 2005.

P-05

ポリ乳酸裁断化超薄膜分散液のレオロジー特性の評価

江口和也*, Isala Dueramae**, 砂見雄太**、***, 岡村陽介**, ****, 喜多理王**, *****

*東海大学大学院 総合理工学研究科 総合理工学専攻

[〒259-1292 神奈川県平塚市北金目 4-1-1]

学東海大学マイクロ・ナノ研究開発センター, *東海大学 工学部 機械工学科,

****東海大学 工学部 応用科学科, *****東海大学 理学部 物理学科

1. 緒言

裁断化超薄膜懸濁液は、通常のコロイド粒子を分散媒とした懸濁液に比べて極端に高いアスペクト比を有するために特異的なレオロジー特性がみられることが期待される。このような性質から新規材料としての期待をされる一方で、レオロジー的特性については系統的な研究がなされていない。本研究では、回転粘度計を用いてポリ乳酸裁断化超薄膜のレオロジー特性を明らかにすることを目的とする。

2. 実験方法

分散質がポリ乳酸、分散媒を超純水とした分散液を Brookfield 社製回転粘度計 DV2T-LV を使用して粘性率測定を行った。回転速度は 0.1~200rpm の範囲で測定温度は 25°C である。

3. 実験結果

図 1 の左縦軸にずり応力 τ 、右縦軸はみかけ粘度 μ_{app} としたずり速度 D 依存性を示した。見かけ粘性率のずり速度依存性から、分散液は低いずり速度に対しては高粘性体であるが、速いずり速度に対しては低粘性体として振る舞うことが分かる。一方でずり応力はずり速度の増加に伴って増加した。

4. 考察

図 1 の黒の点線はハーシェル・バークレイ方程式 $\tau = \tau_0 + \mu D^n$ を用いてフィッティングした結果である。ここで τ_0 、 μ 、 n はそれぞれ応力の降伏値、塑性粘性率、粘性指数である。降伏値と粘性指数はそれぞれ $\tau_0 = 0.50$ [Pa], $n = 1.46$ と得られ、分散液は降伏値を持つダイラタント流体であることが分かった。これはポリ乳酸裁断化超薄膜分散液が、通常の高濃度分散系と同様に移送できることを示唆している。またポリ乳酸裁断化超薄膜のアスペクト比が高いという特異的な形状によって、球状粒子より多くの分散媒を包含しやすいことが示唆された。発表では低濃度側のポリ乳酸裁断化超薄膜分散液の流動特性を系統的に測定した結果から、裁断化高分子超薄膜からなる分散液の特異的な性質をアインシュタイン粘度式の拡張型モデルか

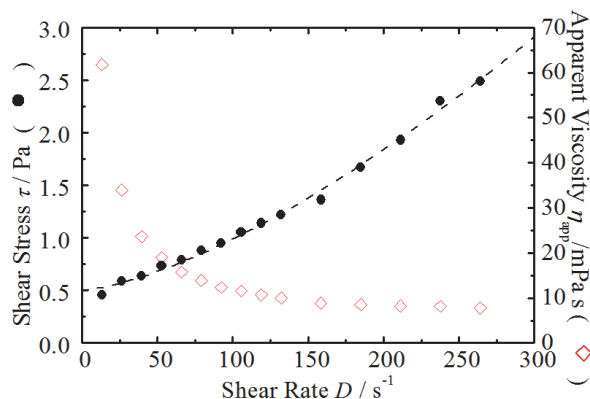


図 1. ずり応力(左軸: ●)およびみかけ粘性率(右軸: ◇)のずり速度依存性。

ら分散質の形状因子や実行体積に関するパラメータについて議論する 1, 2).

5. 結言

ポリ乳酸裁断化超薄膜分散液の粘性率測定から、分散液は降伏値を持つダイラタント流体であることが分かった。またポリ乳酸裁断化超薄膜のアスペクト比が高いという特異的な形状より、球状粒子より多くの分散媒を包含しやすいことが示唆された。

文 献

- 1) 後藤廉平, 平井西夫, 花井哲也: レオロジーとその応用, 共立出版, 1962, pp. 207-212.
- 2) Mueller, S., Llewellyn, E. W., and Mader, H. M.: The rheology of suspensions of solid particles. Proceedings of the Royal Society A. Mathematical, Physical and Engineering Sciences, **466**, 1201-1228, 2010.

P-06

Viscoelastic Behavior of Physically Crosslinked-Hydrogel and Interpenetrating Polymer Network Hydrogel

I. Dueramae*, F. Tanaka**, N. Shinyashiki***, S. Yagihara***, R. Kita***

*Micro/Nano Technology Center, Tokai University, Kitakaname, Hiratsuka, Kanagawa 259-1292

**Department of polymer chemistry, Graduate School of Engineering, Kyoto University, Kyoto 668-8501

***Department of Physics, Tokai University, Kitakaname, Hiratsuka, Kanagawa 259-1292.

1. 緒言

An interpenetrating polymer network (IPN) is performed to overcome the shortcoming of single network hydrogel, such as poor mechanical properties for using in aqueous medium. IPN was formed by swelling chitosan hydrogel into solution, containing the different ratio of *N*-isopropylacrylamide monomer and crosslinker with fixed amount of photo-initiator to reach equilibrium state. The swollen hydrogel was polymerized by UV irradiation.

2. 実験方法

To study viscoelastic behavior of the polymer network, the hydrogels were subjected to a shear stress applied by a rheometer (TA instrument ARESG2 Model), equipped with 25 mm parallel plates. Dynamic experiments were performed within a frequency range of 0.01 to 100 rad/s using a strain amplitude of 0.1% (linear viscoelastic response) at temperature range of 30 to 80°C.

3. 実験結果

Fig. 1 shows the influence of temperature on the viscoelastic behavior of chitosan, comparing with IPN hydrogels. As the temperature increased, the slope of G' in chitosan increased. The difference between G' and G'' at low frequency became smaller as temperature increased from 30 to 80°C. The crossover frequency was found at $T = 80^\circ\text{C}$ for chitosan hydrogel. On the other hand G' and G'' of IPN show almost less sensitive along temperature and time and no crossover of G' and G'' .

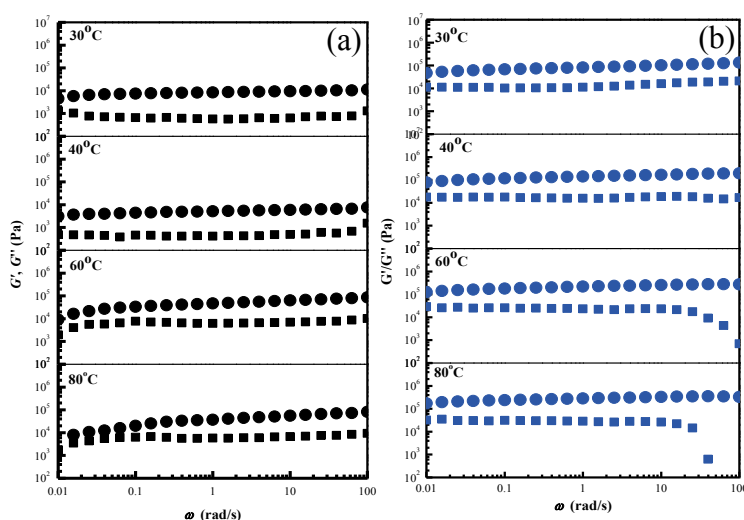


Fig. 1. Frequency dependence of storage (G') and loss (G'') modulus at different temperature of (a) chitosan and (b) IPN hydrogels.

4. 考察

From the results, it is indicated that the network structure of chitosan becomes viscous state at the longer time deformation, due to a disruption of the physically crosslinked network composed of hydrophobic associations whereas IPN has the stable network with solid-like behavior for whole deformation period.

5. 結言

The deformation of physically crosslinked network structure by applied stress is decreased by inducing the 2nd network to form IPN hydrogels.

謝 辞

This work is supported by MEXT-Supported Program for the Strategic Research Foundation at Private Universities (2014-2018) and MEXTKAKENHI #26103529 and #24350122.

P-07

Rheological properties in solutions of wormlike micelle composed of lysophosphatidylcholine and phosphatidylcholine mixture

○Zhen Li, Paphawee Nantarajit, Shingo Matsukawa

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

1. Introduction

Phosphatidylcholine (PC) is the major component found in egg yolk lecithin which is in a group of phospholipids. LPC is a derivative of PC which enhances the hydrophilicity of the molecule. Wormlike micelle is characterized by long flexible chains like polymers. The aqueous solution of mixture LPC and PC was able to form an elongated self-assembly by heat induced process.

2. Methods

The viscosity of LPC/PC solutions were measured by falling ball method, and the stress-controlled rheometer were used for viscoelastic measurements.

3. Results and discussions

The higher LPC ratio became transparent gel-like fluids at specified temperature after cooling, resulting by a disruption of PC forming lamellar structures and the formation of wormlike micelle through co-micellization of LPC and PC which enhanced the viscosity of the mixture solution.

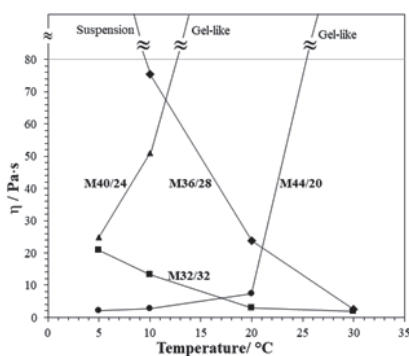


Fig. 1 Viscosity of 64 mM LPC/PC mixture solutions with different mixing ratios (32/32, 36/28, 40/24 and 44/20 mM) at different storage temperatures.

The LPC/PC mixture solutions exhibited

elastic behavior ($G' > G''$) at high LPC ratio in all temperature. At specified mixing ratio with suitable temperature, the LPC/PC mixture solution behave as viscoelastic material due to the entanglement of wormlike micelle which adhered to the Maxwell model.

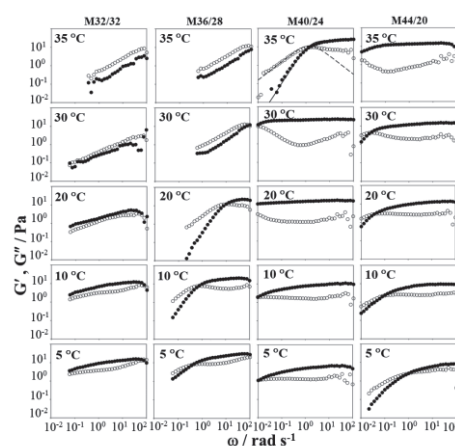


Fig. 2 The storage modulus (G' , filled symbols) loss modulus (G'' , open symbols) as a function of angular frequency (ω) of 64 mM LPC/PC mixture solutions with different mixing ratios (32/32, 36/28, 40/24 and 44/20) at different temperatures.

4. Conclusion

The solutions at appropriate composition ratios of LPC and PC at specific temperatures, the wormlike micelles could be formed and changed in the rheological properties including viscosity and viscoelasticity.

Reference

- 1) Cates ME, Candau SJ. Statics and dynamics of worm-like surfactant micelles. *J Phys Condens Matter*. 1990,6869-6893.
- 2) Acharya DP, Varade D, Aramaki K. Effect of temperature on the rheology of wormlike micelles in a mixed surfactant system. *J Colloid Interface Sci*, 315,330-336,2007.

P-08

フィブリンゲル形成に与えるトロンビン濃度の影響

為我井大輔*, 土橋敏明*, 外山吉治*

* 群馬大学大学院 分子科学部門 [〒376-8515 群馬県桐生市天神町 1 丁目 5-1]

1. 緒言

血液凝固因子の 1 つであるフィブリノゲンは、フィブリノペプチド A, B をそれぞれ含む A α 鎖 (分子量 68000), B β 鎖 (分子量 55000), および γ 鎖 (分子量 49000) の三本鎖ポリペプチドが相互に連結し、二量体を形成している分子である。酵素トロンビンによるフィブリノペプチド A, B の切断によりフィブリノゲンはフィブリンへと転換する。フィブリンは半分子ごとに重なり分子軸方向に成長したプロトフィブリルを形成する。形成されたプロトフィブリルはラテラル方向への集合とブランピングによりゲルネットワークを形成する¹⁾。フィブリノゲン溶液にトロンビンを加えると白濁ゲルを形成することから、白濁点をゲル化点の指標として用いられることがある。しかしながら、白濁点とゲル化点は必ずしも一致するものではないにもかかわらず、これらを同時に測定した例は見当たらない。本研究では、動的粘弾性と濁度測定を同時に測定できる装置を作製し、フィブリン水溶液のゲル化点と白濁点の同時測定を試みた。さらに、トロンビン濃度がこれらに与える影響について調べた。

2. 実験

主な試料はフィブリノゲン (ウシ由来, Type1-s Sigma-Aldrich), トロンビン (ウシ由来, 和光純薬), 塩化カルシウム (和光純薬) を用いた。粘弾性測定装置は、共軸二重円筒形レオメーター ONRH-1 型 (大塚技研) のトルク測定部分を透明な樹脂に改良したものをを用い、試料を透過するレーザー光強度を測定することにより濁度と動的粘弾性の同時測定を可能にした。測定は目的の濃度に調製したフィブリノゲン水溶液にトロンビンを異なる濃度で加えて 25 °C, 周波数 1 Hz, 変位 1 m rad で行った。貯蔵弾性率 G' が上昇し始める点をゲル化点, 透過光強度が低下し始める点を白濁点とし、両者の関係を調べた。

3. 結果

動的粘弾性と透過光強度の典型的な変化を図に示す。7.5 mg/mL フィブリノゲン水溶液に 50 mM 塩化カルシウムを加えたものに、トロンビンを

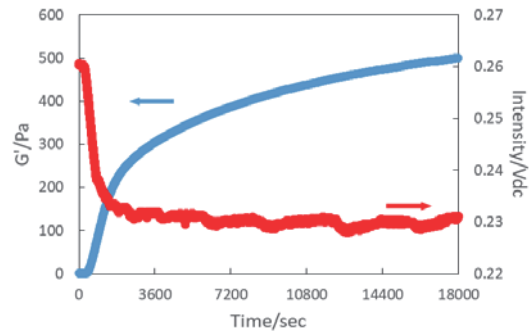


図 貯蔵弾性率と透過光強度の典型的な経時変化

0.05, 0.1, 0.5, 1.0 U/mL の各濃度で添加した。その結果、ゲル化点と白濁点に有意な差が見られ、両者の差はトロンビン濃度が低いほど顕著に現れた。また、 G' の値はトロンビン濃度の増加とともに増大したことから、酵素トロンビンは反応速度だけでなく形成されるゲルの力学特性に影響を与えることが明らかになった。

4. 考察

フィブリノゲンの重合は、第一段階の原線維であるプロトフィブリルの形成と第二段階のプロトフィブリルのラテラル集合とブランピングによるゲルネットワークの形成とステップワイズな過程を経る¹⁾。水溶液の白濁は第二段階のプロトフィブリルのラテラル集合によるものと考えられる。従って、トロンビン濃度が低い場合は、プロトフィブリルの軸方向への進展が抑制され、ラテラル方向への集合が早い段階で生じたものと考えられる。これとは逆に、トロンビン濃度が高い場合は、プロトフィブリルの軸方向への進展が早く、ラテラル方向への集合が抑制された架橋密度の高い比較的均一なゲルネットワークを形成したものと考えられる²⁾。

文 献

- 1) John W. Weisel and Rustem I. Litvinov, Mechanisms of fibrin polymerization and clinical implications, *Blood*, **121**, 1712-1717, 2013.
- 2) Alisa S. Wolberg and Robert A. Campbell, Thrombin Generation, Fibrin Clot Formation and Hemostasis, *Transfus. Apher. Sci.*, **31**, 15-23, 2008.

P-09

パック赤血球/血漿接触系におけるゲル形成ダイナミクス

篠田啓貴*, 倉沢隆太*, 外山吉治*, 山本隆夫**, 土橋敏明*, 小川哲史***

*群馬大学大学院理工学府 分子科学部門、**理工学基盤部門 [〒376-8515 桐生市天神町 1-5-1]

***高崎総合医療センター

1. 緒言

近年、止血・血栓形成における赤血球の果たす役割が再注目されている¹⁾。特に、血流停滞条件下における血栓形成のトリガーとしての可能性が示唆されており、細胞膜上における脂質や酵素²⁾を起点とした血栓形成について調べられている。一方、界面からの血栓形成の *in vitro* 研究は少なく³⁾、特に赤血球膜表面からの血栓形成のダイナミクスについてはほとんど調べられていない。

本研究ではパック赤血球/血漿接触系におけるゲル形成ダイナミクスを調べるために、パック赤血球上に血漿を重層した時のゲル形成挙動を直接観察により調べ、赤血球膜上で起きる現象について考察した。また、接触系の実験を行うに当たって、赤血球の存在により凝固が促進されることを確認するために、混合系についての実験も行った。

2. 実験方法

健康な 20 代男子 4 名から採取したヒト血液を遠心分離し、バッフィーコートを除いた後、血漿 (PFP: Platelet Free Plasma) および赤血球を得た。混合系では、PFP およびヘマトクリット 40% とした PFP と赤血球の懸濁液を用意し、微量の塩化カルシウムを加えてポリプロピレン製マイクロチューブ内で混合した。転倒混和により液体が流動しなくなった時間を凝固時間とした。接触系では、ポリメチルメタクリレート製光学セルにパック赤血球を入れた後、微量の塩化カルシウムを含む PFP を重層し、2500 rpm、5 秒の遠心をするにより界面を平坦にした後界面付近をビデオ撮影した。

3. 実験結果

混合系では、PFP よりも PFP と赤血球の懸濁液の方が凝固速度が大きくなった。すなわち、赤血球の存在により凝固が促進されることを確認した。

Figure 1 はインタクトパック赤血球/血漿接触界面の代表的な写真である。個体によらずインタクト赤血球界面からの白濁層の成長が観察された。

Figure 2 は白濁層の幅 (x) の時間 (t) 変化を示す。血漿中のカルシウムイオン濃度によらず、lag time

の後、 x は時間とともに直線的に増加した。また、傾きはカルシウムイオン濃度にほぼ依存しなかった。



Figure 1 パック赤血球/血漿接触界面の写真

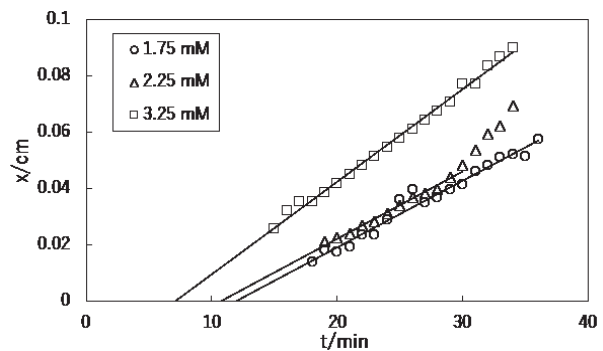


Figure 2 PFP 中の各カルシウムイオン濃度 (図中に示す) における白濁層の幅の経時変化。

4. 考察

白濁層が時間にほぼ比例して成長したことから、この成長の律速は物質拡散ではないことが明らかである。赤血球上で凝固経路が活性化され、赤血球付近における局所的なトロンビンバーストにより部分的な飽和フィブリンが生じていると考えると、白濁層の成長が時間に比例することが説明できる。

本研究は、高崎総合医療センター研究倫理委員会の承認のもとに行われた。

文献

- 1) Litvinov, R. I. and Weisel, J. W., *ISBT Sci Ser*, 12, 176-183, 2017.
- 2) Iwata, H., Kaibara, M., Dohmae, N., Takio, K., Himeno, R. and Kawakami, S., *Biochem Biophys Res Commun*, 316, 65-70, 2004.
- 3) Zhalyalov, A. S., Panteleev, M. A., Gracheva, M. A., Ataulkhanov, F. I. and Shibeko, A. M., *PLoS One*, 12, e0180668, 2017.

P-10

血液凝固モデルとしての血漿/塩化カルシウム水溶液接触系 におけるゲル化ダイナミクス

川端彬嗣*, 倉沢隆太*, 青柳貴彦*, 篠田啓貴*, 外山吉治*, 山本隆夫**, 土橋敏明*, 小川哲史*** *群馬大学理工学府 分子化学部門, **理工学基盤部門 [〒376-8515 群馬県桐生市天神町 1-5-1], ***高崎総合医療センター

1. 緒言

血液の凝固過程は、ゲル科学の観点から、高分子溶液と凝固駆動物質との接触による界面からのゲル形成過程と考えられる。このような接触界面からのゲル化のダイナミクスはゲル層-ゾル層の界面の移動により表現でき、その関数形から複数のパラメータを抽出することができる¹⁾。

血液凝固能の異常を測定するための臨床検査では、クエン酸ナトリウム添加被検血漿、塩化カルシウム水溶液、凝固トリガー物質を *in vitro* 下で混合し、凝固時間を基準値と比較する方法が確立されている。

本研究では、この系の対照系と考えられるクエン酸ナトリウム添加ヒト血漿/塩化カルシウム水溶液接触系における界面からのゲル化のダイナミクスを測定し、抽出できる血液の性質を調べた。

2. 実験方法

血漿/塩化カルシウム水溶液接触系 (Fig.1) でのゲル化ダイナミクスについて、i)セル長(L), ii)体積比(v =塩化カルシウム水溶液体積/血漿体積), iii)カルシウムイオン濃度、クエン酸イオン濃度、に対する依存性を室温(25°C)で調べた。

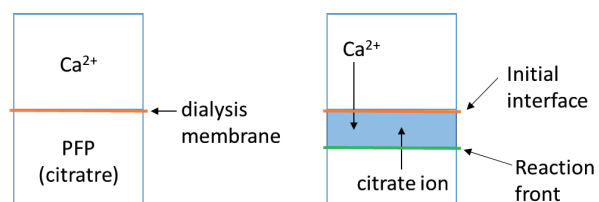


Fig.1 Illustration of gelation from a contact surface between citrated PFP and CaCl_2 aqueous solution.

健康男子のヒト血液(抗凝固剤として 3.2%クエン酸ナトリウム緩衝液が含まれる)を遠心機(CFS-300, Iwaki)により、1600gで15分間遠心し、分画した溶液から試料として用いる血漿(PFP: platelet-free plasma)を得た。

i), iii)については、矩形アクリルセルを血漿で満たし、透析膜で封をし、塩化カルシウム水溶液に浸漬させた。そのうち i) では、長さの異なる 5 種類の矩形セルと 20mM 塩化カルシウム水溶液を

用いた。iii) では、同一の矩形セルを用い、5~20mM 塩化カルシウム水溶液と 11.9~41.9mM クエン酸イオン濃度の血漿を用いた。

ii) については、矩形セルを血漿で満たし、透析膜で封をし、底のない矩形セルを重ねた。その上に 8.6mM 塩化カルシウム水溶液を 4 種類の体積比(v =塩化カルシウム水溶液体積/血漿体積)となるように重層した。

i)~iii) ではゲル化の様子をカメラでインターバル撮影し、ゲル層-ゾル層の界面の移動を追跡した。このとき、ゲル幅を $x(\text{cm})$ 、経過時間を $t(\text{s})$ とした。

3. 結果と考察

i) では、 x と t を x/L 、 t/L^2 とスケールすることでゲル化のダイナミクスはセル長に依存しなくなることがわかった。ii) では、ゲル幅の時間依存性は初期と後期の二段階の過程からなり、初期過程においては体積比に依存しないことが確認された。i), ii) の初期過程では、ゲル幅の二乗は時間に比例した直線で示され拡散に支配されることがわかった。iii) の結果より、ゲル化のダイナミクスから抽出されるパラメータを以下に示す。

Table1. Calculated Parameter

	VolunteerA	VolunteerB
$\gamma(\text{m}^2/\text{s})$	$(3.5 \pm 0.2) \times 10^{-10}$	$(3.5 \pm 0.3) \times 10^{-10}$
$\beta_0(\text{m}^2/\text{s})$	$(4.5 \pm 0.2) \times 10^{-10}$	$(5.4 \pm 0.3) \times 10^{-10}$
$\rho_c^0(\text{mM})$	0.7 ± 1.0	1.9 ± 1.9

Table1 の γ と β_0 は、ゲル中のカルシウムイオンとクエン酸イオンの拡散係数を示し、 ρ_c^0 は単位体積の血漿あたりのゲル化に必要なカルシウムイオンの量を示す。いずれの値も希薄水溶液中の拡散係数の値などから考えて妥当である。被験者による β_0 の違いは、この測定により被験者の血液の性質を抽出できる可能性を示唆する。

本研究は、高崎総合医療センター研究倫理委員会の承認のもとに行なった。

文献

1) N. Shida et al, *Soft Matter*, 12, 9471-9476, 2016.

血栓形成メカニズムの解明を目指した材料付着血小板の微構造観察

中山正光*, 長谷部光泉*, **, 前川駿人*, 尾藤健太*, 三浦慶介*, 松本知博**, 鈴木哲也*

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

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

1. 緒言

血液接触性医療機器はその侵襲性の低さから広く普及しているが、血小板付着による合併症の発生が未だ問題となっている。材料への血小板付着は血中に含まれる細胞接着性タンパク質と血小板膜の表面に存在するレセプターGPIb α , GPIIb/IIIaの結合によって発生する。この結合により血小板内部に活性化シグナルが伝達され、偽足の伸展による形態変化と活性化物質の放出の後、血栓の形成に至る。医用材料と血小板の反応はその境界面で起こるため、抗血栓性材料を開発する上で、材料の表面特性が血小板へ与える影響について明確に解明する必要がある。しかし、抗血栓性を発揮する表面特性については明確ではなく、材料表面における血小板反応も未だ完全に明らかではない。

本研究では、材料上に付着した血小板の微構造観察技術を確立し、その解析を行なった。医用材料上に付着した血小板表面およびその付着境界面におけるレセプターに着目し、材料上における血小板反応の統合的理解を目指した。

2. 実験方法

2.1 試料作製

医用材料として使用実績のあるポリカーボネート(PC)基板を用いた。37°C, 5%CO₂環境下において、基板を濃厚血小板溶液(2.5×10⁵ cells/ μ L)に1時間浸漬させた。固定処理後、抗体を用いてレセプターGPIb α , GPIIb/IIIaに金粒子(10 nm)を標識した。その後、細胞を再固定し、脱水処理を行なった。走査型電子顕微鏡(SEM)で観察する試料は、オスミウムを0.5 nm蒸着した。透過型電子顕微鏡(TEM)で観察する試料は、エポキシ樹脂を用いて試料を包埋し、マイクローム法によって超薄切片を作製した。

2.2 電子顕微鏡を用いたレセプターの解析

作製した試料をSEM, TEMを用いて観察した。血小板は静止期において円盤型の形状を保っているが、活性化に伴い偽足が伸展しする。本研究では、活性化に応じて血小板を分類し、各段階においてGPIb α , GPIIb/IIIaの分布について解析した。

3. 実験結果・考察

GPIb α は活性化初期では、膜表面において一様に金粒子が分布している様子が観察され、内部構造も同様であった。中期では、血小板から偽足の伸展が確認され、本体と偽足の根本部分に金が偏在していた(図1)。

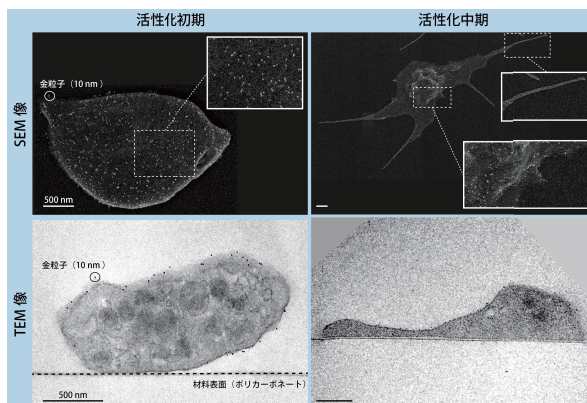


図1 各活性化段階におけるGPIIb/IIIaの分布

GPIIb/IIIaは活性化初期では、凝集した金粒子が全体に分布しており、内部構造は同様であった。中期では、血小板の本体および偽足への分布が集中していた。偽足先端にまで金粒子が偏在しており、その傾向はTEM像からも確認された(図2)。

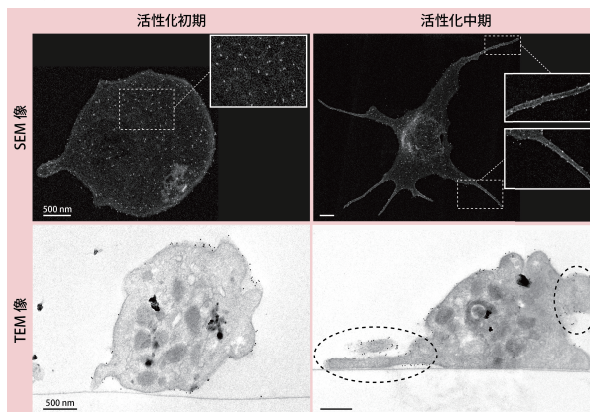


図2 各活性化段階におけるGPIIb/IIIaの分布

4. 結言

本研究を通じて材料上における血小板の各活性化段階におけるレセプター分布を明らかにした。GPIIb/IIIaは、偽足先端への偏在が顕著であり、活性化反応の進行を決定する制御機構になっていることが新たに示唆された。

P-12

血流停滞による血栓形成現象を再現できる 模擬血液開発の試み

廣野充*, 矢野良輔*, 田地川勉**

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

** 関西大学 システム理工学部

1. 緒言

血栓は血管内に形成される血液の凝塊で、白色血栓と赤色血栓に大別される。人工臓器などでは予期せぬ血栓形成は塞栓症など生体的不具合を引き起こす可能性があり、塞栓治療デバイスでは血栓形成の制御が治療にとって重要な課題となる。これまで、これらのデバイスの血栓形成の評価には動物実験や動物血を使った実験が行われてきたが、再現性や入手性の悪さ等の欠点があり、血栓形成模擬モデルの開発が望まれている。

牛乳に塩を加えた過凝集性牛乳は Rennet を加えると凝塊を形成し、これが流れの停滞による血栓形成現象と類似するという報告がある¹⁾が、赤色血栓の形成に重要なずり速度と凝塊形成の関係は不明である。そこで本研究では、凝固に至るまでの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凝固モデルの構築を目指し、成分調整と保存が可能なスキムミルクの利用を試みた。

本報告では、同モデルの凝塊形成前・形成過程の流動挙動を評価した。さらに、比較検討のために、抗凝固処理が施されたヒト血液、抗凝固処理を解いたヒト血液の粘度経時変化についても調べた。

2. 実験方法

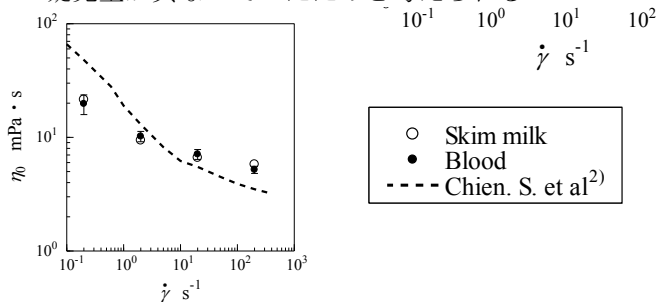
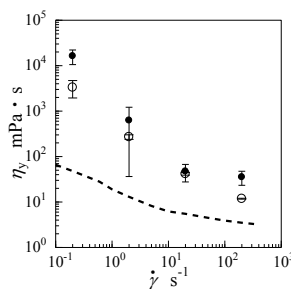
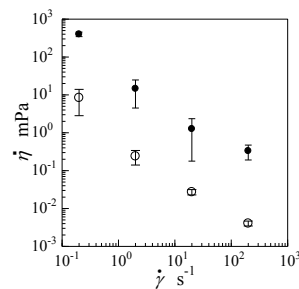
コーンプレート型回転粘度計を使って単純 Couette 流れを作り液温 30°C 一定の下、ずり速度 $\dot{\gamma}=0.2\sim 200\text{s}^{-1}$ でサンプルに 60 分間一定ずり変形を与えた。Skim milk : CaCl₂ : Water = 5 : 9.88 : 29.4[w/w] のスキムミルク溶液とその溶液に 10wt% Rennet 水溶液を 0.533wt% の濃度になるように添加し、凝固を促した。また、比較のため 20 代の健康成人から真空採血管で採血した血液と硫酸プロタミン水溶液で凝固能を戻した血液で同様の実験を行った。なお本研究は、関西大学先端科学技術推進機構の研究倫理委員会承認(認可番号 17.32)の下で実施した。

3. 実験結果および考察

血栓形成前の流動挙動を評価するために、初期粘度 η_0 (測定開始から終了までの平均粘度) を比較した。その結果、Fig.1 のように $\dot{\gamma}$ が小さいほど η_0 が大きくなっており、ヒト血液と同様に Casson 流

体的な流動特性を示すことが確認できた。また、 η_0 がヒト血液とほぼ一致した。

次に血栓形成過程の流動挙動を評価するために、第 1 降伏粘度 η_y (凝固開始後、初めて降伏した時の粘度)、粘度増加速度 $\dot{\eta}$ (粘度が急上昇したときの傾き) を比較した。その結果を Fig.2, Fig.3 に示す。 $\dot{\gamma}$ が低いほど η_y , $\dot{\eta}$ が大きくなった。このことから血液と同様にスキムミルク溶液でも低ずり速度のみ凝塊が形成、成長したと考えられる。また、過凝集性スキムミルクとヒト血液はずり速度を負荷して一定時間経過後急激に粘度が上昇したが、 η_y , $\dot{\eta}$ の値とは一致しなかった。これは形成された凝塊量が異なっていたためと考えられる。

Fig.1 $\dot{\gamma}$ v.s. η_0 Fig.2 $\dot{\gamma}$ v.s. η_y Fig.3 $\dot{\gamma}$ v.s. $\dot{\eta}$

4. 結言

本報告でのスキムミルク溶液の溶液構成比では、ヒト血液の η_0 にほぼ一致したが、 η_y , $\dot{\eta}$ と値が異なったことから過凝集性スキムミルクの構成成分の調整と、凝塊の量のコントロールが必要であると考えられる。

文 献

- 1) Andrew, N. et al., J Artif. Organs, 8(1), pp.56-62, (2005).
- 2) Chien, S. et al., Science, 168, pp.977-979, (1966).

P-13

脳血栓回収デバイスの経時的な拡張径の評価法の開発： 異なる力学的特性を有する血栓モデルを用いた検討

頼卓然*, 松橋祐輝*, 鮫島啓*, 熊谷直紀*, 保延慶紀*, 梅津光生*, 石井暁**, 岩崎清隆*

*早稲田大学 TWIns

[〒162-848 新宿区若松町 2-2 東京女子医科大学・早稲田大学連携先端生命医科学研究教育施設]

**京都大学医学部附属病院 脳神経外科

1. 緒言

心臓で血流停滞により形成された血栓が脳血管を閉塞すると脳梗塞を引き起こし、死亡や一生涯の重度の障害を招く。そこで発症から 8 時間以内の急性期脳梗塞患者に対して、網目状の金属製の血栓回収デバイスで血栓を絡め取り、血流の再開通を図る治療法が開発され、臨床報告で既存の内科的療法を凌ぐ有効性が示された¹⁾。臨床において、デバイス展開から回収開始までの待ち時間が短い方が患者の回復に良いと考えられるが、血栓との相互作用の中でどのくらい待たばデバイスが開ききのかという点に関しては学術的に明らかになっていない。

本研究では、臨床で知られている赤色血栓や白色血栓を踏まえ、異なる力学的特性を有する血栓を作製し、血栓の力学的特性がデバイス展開後の経時的な拡張径に及ぼす影響を検証する評価法を開発した。

2. 実験方法

ブタ鮮血の血小板数を $30 \times 10^4 / \mu\text{L}$, $130 \times 10^4 / \mu\text{L}$ に調節し、温度 37°C 、回転数 1rpm で 60 分回転攪拌して種類の血栓を作製した。圧縮試験を行ったところ、それぞれの血栓の降伏応力は $43.1 \pm 4.82 \text{ kPa}$, $372 \pm 123 \text{ kPa}$, 0.05 ひずみ弾性率は $188 \pm 52.0 \text{ kPa}$, $580 \pm 61.5 \text{ kPa}$ となった。この 2 種類の血栓をシリコンで作製された内径 $\phi 3 \text{ mm}$ 長さ 135 mm の中大脳動脈血管モデルに詰め、血管モデル内は 37°C の PBS で満たした。血栓回収デバイスとして $\phi 3 \text{ mm}$ の中大脳動脈を対象血管とする $\phi 4 \text{ mm} \times 20 \text{ mm}$ の Solitaire 2 (Medtronic 社) を用い、血管モデルに入れて展開させた。その後、血栓がデバイスの真下にくる (Fig.1) ようにモデルを回転調節し、Micro CT を用いて展開後 30s から 300s までの拡張径を経時的に測定した。

3. 実験結果

降伏応力と 0.05 ひずみ弾性率が高い血栓 ($n=6$) は、降伏応力と 0.05 ひずみ弾性率が低い血栓 ($n=6$) と比べて、拡張径が小さかった。二種類の血栓において、展開から 60 秒で拡張径が一定に収束した。(Fig. 2)

4. 考察

デバイス展開後、形状記憶合金製デバイスの拡張応力は拡張径の増加につれて減少していく。一方、血栓は圧縮されてその圧縮応力が増加していく。最終的に血栓回収デバイスの拡張応力と血栓の圧縮応力の釣り合いによって、デバイス拡張径が収束すると考えられ、降伏応力と 0.05 ひずみ弾性率が高い血栓は、低い血栓と比べて拡張径が小さくなることがわかった。

5. 結言

血栓除去デバイスの拡張径をマイクロ CT により経時的に計測したところ、降伏応力と 0.05 ひずみ弾性率が高い血栓は、低い血栓と比べて拡張径が小さいが、いずれの血栓も展開から 60 秒で拡張径が一定に収束することが明らかとなった。したがって、デバイスを展開後に 1 分待たば回収を開始して良いという知見が得られた。

文献

- 1) Berkhemer OA, Stent-Retriever Thrombectomy for Stroke, *NEJM*, 2015

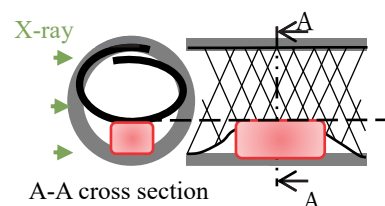


Fig.1 Measurement of diameters of the thrombectomy device using micro-CT

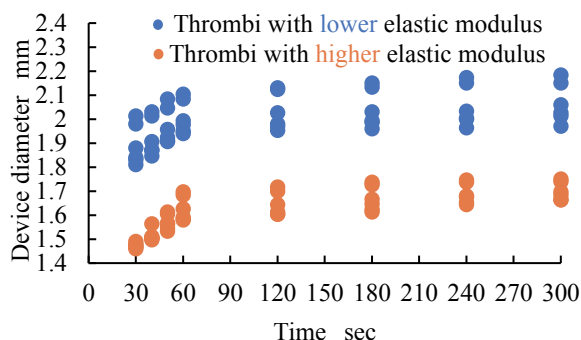


Fig.2 Time-series changes in diameters of the thrombectomy device

P-14

レオロジースペクトロメータによる低せん断速度域における血液粘度の挙動計測

○山川義和*, 岡田洋二*, 平野太一**, 酒井啓司**

* 株式会社トリプル・アイ [〒604-8006 京都市中京区下丸屋町 403 番地 FIS ビル]

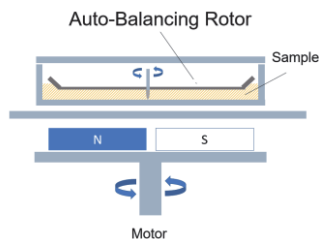
** 東京大学生産技術研究所 [〒153-8505 東京都目黒区駒場 4-6-1]

1. 緒言

人体の血液粘性については、古から様々な研究がなされ、多くの論文等が発表されており、その血流のせん断速度域は40~600 (1/s) 程度であることが知られている。

東京大学生産技術研究所の酒井啓司氏により発明考案された「遠隔電磁駆動方式“EMS 法: Electro Magnetically Spinning Method” (図 1)」を採用した全く新しい粘性解析システムであるレオロジースペクトロメータ(レオスペック®)は、この血流せん断速度よりも更に低い領域まで測定できる。

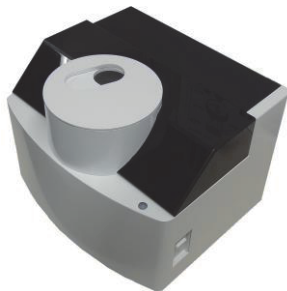
本発表では、このレオスペック®を用いて人の全血を広い速度域にわたって測定し、『血液の柔らかさ(自由度)』などの新たな情報を得るための手法としての可能性を評価した。



【図1】測定原理図

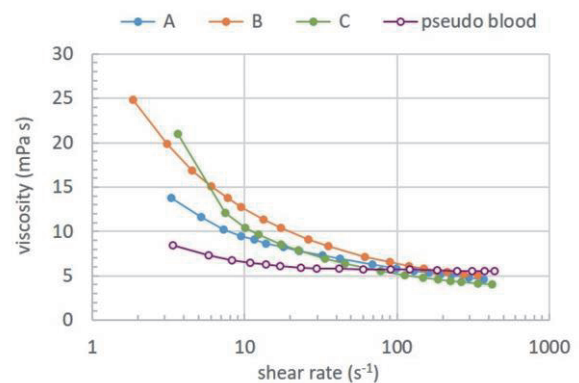
2. 実験方法

EDTA にて抗凝固処理を施した健康な成人男性3名の血液および疑似血液溶液(山科精器(株)製 PB-10W-F)を試料として、EMS 法を採用した粘性解析装置((株)トリプル・アイ製 レオロジースペクトロメータ(図 2))と測定セルに自立型セル(Auto Balancing Rotor(図 1))を使用して約 5~600 (s⁻¹)の範囲でせん断速度を徐々に変化させながら粘度値変化を測定した。測定は保温ユニットで37°Cにて行った。

【図2】(株)トリプル・アイ(<https://www.te-tripleeye.com>)製レオロジースペクトロメータ

3. 実験結果と考察

被験者A, B, Cおよび人工血液を測定した結果を(図 3)に示す。比較的速い血流領域では粘度値に大きな差はみられないが、せん断速度 150 (s⁻¹) 下回ったあたりから粘度値に差がみられはじめ、10 (s⁻¹) 以下では大きく粘度値に差が生じた。一方、比較対象として測定した疑似血液溶液はほぼ変化していない。



【図3】

レオロジースペクトロメータを使用した血液粘度測定は、低せん断速度域における健康な成人男性3名の粘度値の違いが観測できる技術であることが確認できた。

4. 結言

低せん断速度域における粘度値変化は、新たな血液情報として得られる可能性が高まった。血液プロファイルが健康診断等の検診(検査)などで、危険性の早期発見および治療中の経過観察などの応用へつなげる可能性があると考えられる。

文 献

- 1) K. Furukawa, T. Abumiya, K. Sakai, M. Hirano, T. Osanai, H. Shichinohe, N. Nakayama, K. Kazumata, K. Hida, and K. Houkin
J. StrokeCerebrovasc. Dis., Vol. 25, pp. 2762-2769, Nov 2016
- 2) K. Furukawa, T. Abumiya, K. Sakai, M. Hirano, T. Osanai, H. Shichinohe, N. Nakayama, K. Kazumata, T. Aida, and K. Houkin
J. Med. Eng. Technol., Vol. 40, pp. 285-292, Jul 2016
- 3) 平野太一, 美谷周二朗, 酒井啓司
第65回レオロジー討論会講演要旨集, 2017

衝突流における赤血球の変形とヘモグロビン漏出

和田悠*, 杉田修啓*, 中村匡徳*

*名古屋工業大学 大学院工学研究科 電気・機械工学専攻 [〒466-8555 名古屋市昭和区御器所町]

1. 緒言

医療機器を開発する上で溶血の低減は重要な課題である。溶血場所やその要因を特定する方法として、赤血球の変形解析に基づく溶血シミュレータの開発が試みられている。しかし、赤血球の膜破断条件が不明瞭なため、完成には至っていない。赤血球の膜破断の原因として、赤血球の最大変形量、ひずみ速度、局所ひずみ等が考えられる。

本研究ではひずみ速度に関して、赤血球の変形速度が大きいほど多くのヘモグロビンが漏出するという仮説を立て、それについて検討した。

2. 実験方法

2.1 実験概要

十字型で交差部が直交するマイクロ流路を用いた。交差部分において、流路幅は 0.05 mm, 高さは 0.05 mm である。一方から赤血球懸濁液、向かい側から衝突流が流入し、十字管交差部で衝突して赤血球が伸張変形する。赤血球の挙動を顕微鏡 (IX-71, Olympus) でハイスピードカメラ (FASATCAM Mini-AX200, Photron) を介して撮影・記録した。衝突後の赤血球を含む廃液を流量条件毎に回収した。赤血球引張試験終了後、回収した赤血球をスライドガラス上で撮影した。

2.2 赤血球の残留ヘモグロビン量と変形速度の計測

岩本²⁾の方法より、画像の輝度値に基づいて回収した赤血球の残留ヘモグロビン量を推定した。マイクロ流路に流していない赤血球に含まれるヘモグロビン量を Control とし、結果では Control で正規化した残留ヘモグロビン量 ϕ を示す。

十字交差部に進入する際の赤血球の進む方向を y 方向とし、赤血球が撮影範囲内に進入してから交差部中央で変形するまでの赤血球の y 軸長を測定した。その測定値から y 方向ひずみ ε_y を算出した。 t と ε_y に関して、

$$\varepsilon_y = ae^{-\beta t} + b \quad (1)$$

で近似して、式(1)の β を変形速度として評価した。

2.3 実験条件

撮影は 60 倍シリコーン浸対物レンズ (UPLSAP060XS2, Olympus) を用い、撮影速度は 100,000 fps に設定した。赤血球懸濁液と衝突流の流量 Q を $Q = 15, 25, 50, 75, 100 \mu\text{l}/\text{min}$ とした。

3. 結果と考察

流量と赤血球の交差部中央への進入速度との関係を Fig. 1 に示す。流量の増加に伴い、赤血球の進入速度が大きくなるが、飽和傾向にあることがわかる。

変形速度 β と正規化残留ヘモグロビン量 ϕ との関係を Fig. 2 に示す。 β を求める際のサンプル数は $n = 10$, 残留ヘモグロビン量を求める際のサンプル数は $n = 50$ である。Fig. 2 より、 β の増加に伴い、 ϕ は減少傾向にあることがわかる。このことより、ひずみ速度が大きくなると、膜がより破壊され、ヘモグロビン漏出量が多くなることがわかる。

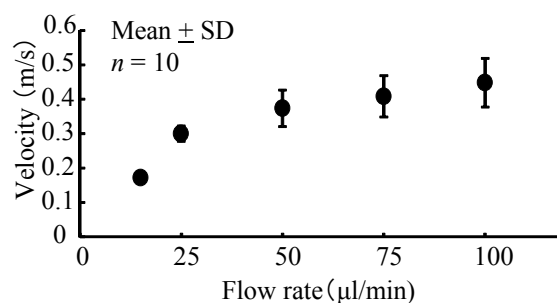
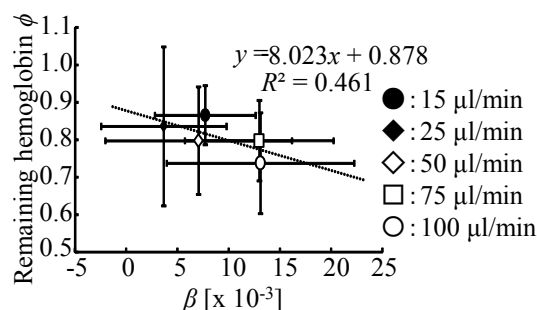


Fig. 1 Velocity of approach is plotted against flow rate

Fig. 2 Remaining hemoglobin is plotted against β

5. 結言

ひずみ速度が大きいほど膜破壊が大きくなり、多くの溶血が生じることが分かった。

謝 辞

本研究は、科学研究費補助金 (挑戦的萌芽研究 16K12867) から補助を受けた。ここに記して感謝する。

文 献

- 1) Nakamura, M et al., International Journal for Numerical Methods in Biomedical Engineering, 30(2014), 42.
- 2) 岩本理沙, 早稲田大学修士論文 (2011)

P-16

電気回路を利用した血圧反射波の抽出：要素数の検討

岡村法宜*

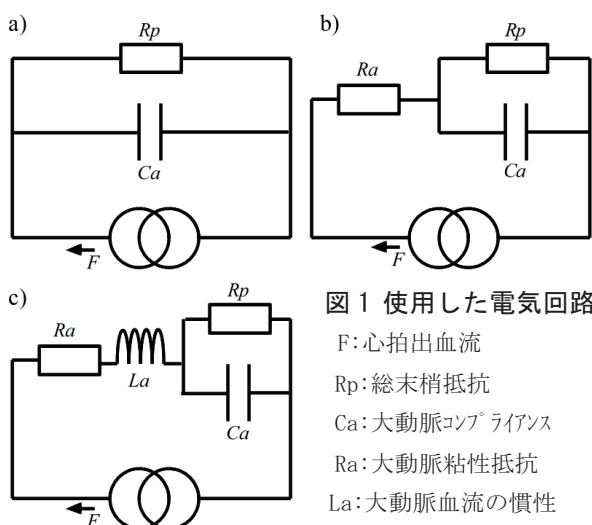
* 愛媛県立医療技術大学 臨床検査学科 [〒791-2101 愛媛県伊予郡砥部町高尾田 543]

1. 緒言

太い動脈の血圧波形と血流波形を電気回路モデルでシミュレーションするとき、末梢側で生じる血圧反射波を正確に再現することは容易でない。受動素子からなる単純な電気回路では、血圧反射波を調整できないため、生体の動脈系に存在しない要素を設定しなければならない。これは流体現象と電気現象の違いにより生ずるものである。そこで、我々は、動脈反射波を再現するための要素を設けていない電気回路で再現された血圧波形は、反射波を含まない血圧波形であると考えた。そこで、実測した血圧波形と単純な電気回路で再現した血圧波形の差分をとることで、反射波が抽出する方法を着想するに至った。今回、反射波が存在しない血圧波形を得るために使用する電気回路の要素数について検討したので報告する。

2. 実験方法

20歳の男子大学生3名を対象とした。超音波診断装置で左室流出路血流と左室流出路を、圧脈波センサで左総頸動脈圧脈波波形を記録した。左室流出路血流と左室流出路径の積を心拍出血流波形とした。また、頸動脈は波形に聴診法で測定した最高血圧と最低血圧を当てはめた波形を総頸動脈血圧波形とした。心拍出血流波形を定電流源とした図1の2~4要素の電気回路に適用し、出力電圧波形の上行脚の傾きと、最低電圧が血圧波形と一致するように電気回路のパラメータを調整した。血圧波形と電圧波形の差分を血圧反射波とした。



3. 実験結果

2要素のWindkesselモデルによって反射波を求めたとき、血圧が負の反射波成分が認められた(図2)。一方、3要素モデル、4要素モデルによって反射波を求めたとき、パラメータが一意的に決定できないものの、負の反射波成分が算出されないようにパラメータを調整することができた。また、3要素モデルと4要素モデルで求めた反射波は、ほぼ等しくなった。

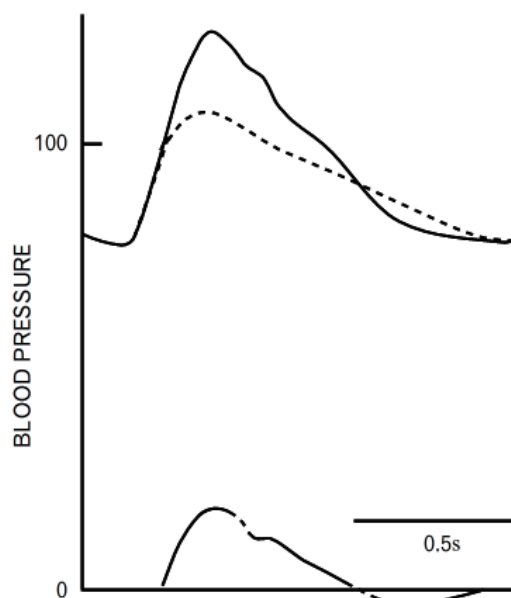


図2 2要素モデルによる血圧反射波

実線：血圧波形

点線：シミュレーション血圧波形

破線：求められた血圧反射波

4. 考察

本法によって血圧反射波を抽出する際に3要素以上の電気回路モデルを用いるのが適切であると考えられる。

5. 結言

本法で、3要素以上の電気回路モデルを用いると、複数のシミュレーション血圧波形が算出されてしまうため、血圧波形を一意的に決定できるように、最適化法の改良が必要である。

P-17

圧縮刺激が核内クロマチンに与える影響の評価に関する基礎的研究

○森尚輝*, 王軍峰*, 前田英次郎*, 村瀬晃平*, 松本健郎*

* 名古屋大学 大学院工学研究科 [〒464-8603 名古屋市千種区不老町]

1. 緒言

細胞核内において、DNA は凝集してクロマチンと呼ばれる状態で存在しており、核内でのクロマチンの状態および配置は細胞機能に大きく影響する可能性がある。一方、細胞の変形により核内の DNA の配置が急速に変化すること^[1]、また、当研究室でも微細流路による圧縮刺激を加えることで DNA 凝集塊の個数が減少することを見出している。そこで、本研究では、圧縮変形中の細胞核内 DNA の動態を観察できる実験系を構築し、圧縮により DNA の凝集状態がどのように変化するか詳細に観察することを目的とした。

2. 方法

2-1. 細胞の圧縮 細胞を圧縮中の動態を観察するため、圧子を取り付けたマニピュレータによってディッシュ上の細胞を押し付ける実験系を考案した (Fig.1)。マウス頭頂骨由来骨芽細胞様細胞株 MC3T3-E1 の核内 DNA を Hoechst33342 により染色し、フィブロネクチンコートをしたガラスボトムディッシュ上に播種した。また、圧子には先端が $\phi 60 \mu\text{m}$ 程度の球状になるよう加工したマイクロガラス管を取り付けたものを用い、細胞一つ一つに変形が確認できてから $5 \mu\text{m}$ の圧縮を加えた。そして、共焦点レーザー顕微鏡システム (IX81+FV1200, Olympus) により、圧縮前、圧縮中、圧縮直後、圧縮 3 分後の 4 条件で、細胞核が全範囲写るように $1 \mu\text{m}$ ごとに撮像を行った。

2-2. 画像処理 画像解析ソフト ImageJ

(NIH) により、得られた MIP 画像から DNA 凝集塊の個数および投影面積を計測した。処理は、(1) バックグラウンドの平滑化、(2) 画像の二値化、(3) ソフト内の粒子解析ツールによる個数および投影面積の計測の手順で行った。

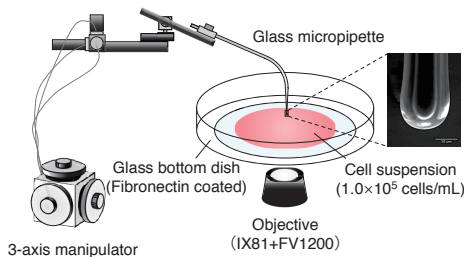


Fig. 1 Schema of cell compressing system.

3. 結果・考察

圧縮中の MIP 画像として、Fig.2 が得られた。圧縮により核が少し拡がり、DNA 凝集塊が消滅していることが確認できる。また、2-2 節で述べた画像処理により DNA 凝集塊の投影面積および個数を定量評価した結果、投影面積に関して有意差は認められなかったが、個数に関しては圧縮前と圧縮 3 分後で有意な減少が見られた (Fig.3)。

以上より、細胞を圧縮することにより核内 DNA 凝集塊の個数が減少すること、また、圧縮前と圧縮 3 分後に有意差が見られたことから、DNA 凝集塊の様態の変化には時間スケールが必要である可能性が示唆された。今後は、圧縮装置の改良、圧縮中の 3 次元的、および時間スケールも加味した観察および定量評価を行う予定である。

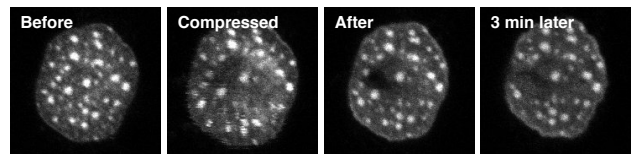


Fig. 2 Change in chromatin morphology in response to compression.

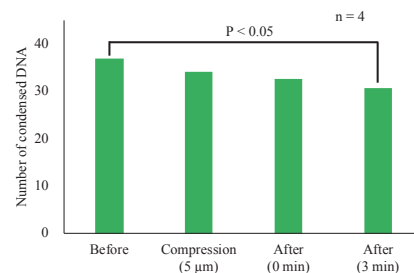


Fig. 3 Quantitative evaluation of change in chromatin morphology after cell compression.

謝辞

本研究の一部は科学研究費補助金 (17K20102) ならびに AMED・革新的先端研究開発支援事業 (JP17gm0810005) の援助のもと行われた。記して謝意を表す。

文献

[1] Nagayama et al. FEBS Letters, 585, 3992-7, 2011.

P-18

隣接細胞の損傷による PKC α 活性化と細胞骨格の関係

小野瀬 孝一*, 世良 俊博**, 工藤 奨**

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

**九州大学大学院 工学研究院 機械工学部門

1. 緒言

プロテインキナーゼ C α (PKC α) は細胞内情報伝達物質の一種であり, 細胞の増殖や遊走に関与している⁽¹⁾. 非活性状態において PKC α は細胞質に均一に存在しているが, 活性状態では細胞膜に局在化する. 先行研究より細胞間結合を切断すると, その結合面で PKC α の局在化が見られた⁽²⁾. 力学刺激により PKC α が刺激位置に局在することから⁽³⁾, 局在化は細胞間結合の切断による力学環境の変化に起因すると考えられる. 一方, 細胞内の物質輸送には微小管が関与し⁽⁴⁾, PKC α の活性化には細胞骨格が重要な役割を持つのではないかと考えた.

本研究では, マイクロマニピュレータを用いて細胞間結合を切断した際の PKC α の応答と, アクチンフィラメント (F-アクチン) および微小管の関係について調査した.

2. 実験方法

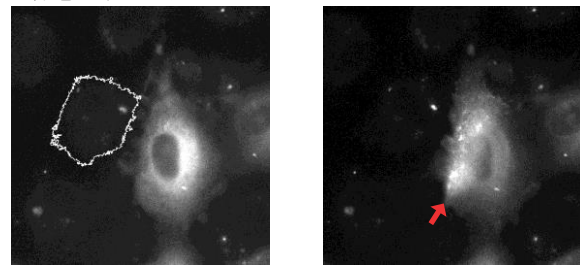
実験にはウシ大動脈由来血管内皮細胞 (東洋紡) を使用した. 細胞内の PKC α を可視化するため, pPKC α -AcGFP プラスミド (Ex:488nm, Em:508nm) を作製し, Hily-MAX (Dojindo) を用いて細胞内に導入した. 細胞骨格が PKC α の活性化に及ぼす影響を調べるため, Cytochalasin D および Jasplakinolide でアクチン重合を, Nocodazole および Paclitaxel でチューブリンの重合をそれぞれ阻害, 安定化させた.

細胞内の力学環境を変化させるために, 熱処理により先端径 4 μ m としたガラスピペットを用いて, 着目した細胞に隣接する単一細胞を損傷させ細胞間結合を切断した. 蛍光観察には倒立蛍光顕微鏡 (ECLIPSE2000-S, NIKON) を用い, 画像統合ソフトウェア Andor iQ3 により画像を取得した. 取得した画像は Image J (NIH) を用いて輝度測定した.

3. 実験結果

Figure 1 に隣接細胞を損傷した時の PKC α の応答を示す. 従来研究⁽³⁾と同様, 細胞間結合の切断により PKC α が活性化され, 損傷細胞側の細胞膜周辺で蛍光輝度が上昇し局在が観察された. アクチン, 微小管の重合を阻害しても, PKC α は活性化

し細胞膜周辺に局在化するが, 蛍光輝度の変化はそれぞれ control の 0.74 倍, 0.84 倍に減少した. 一方, 重合を安定化させた場合は control に対して有意な差はみられなかった.



刺激前 (0s)

刺激後 (90s)

Fig.1 隣接細胞 (白線領域) を損傷した際の PKC α の局在化 (矢印)

4. 考察

アクチン及び微小管の重合を阻害すると, PKC α の細胞膜への局在化が抑制されたことから, 細胞骨格が PKC α の活性化に関与することが明らかになった. F-アクチンは細胞間の結合に関与しており, 細胞間結合の切断による力学環境の変化がアクチン重合の阻害により抑制され, さらに PKC α の活性化も抑制されたものと考えられる. また, 細胞内輸送を担う微小管の重合を阻害すると PKC α の局在化が抑制されたことより, PKC α の細胞膜へのトランスロケーションに微小管が関与していると考えられる.

文 献

- 1) Olga K. et al: Protein kinase Ca: disease regulator and therapeutic target. Trends Pharmacol Sci. 31, 8-14, 2010.
- 2) Arai, M. et al.: Biphasic and directed translocation of protein kinase C α inside cultured endothelial cells before migration. Biochem. Biophys. Rep, 12, 91- 97, 2017.
- 3) Arai, M. et al: Spatial and temporal translocation of PKC α in single endothelial cell in response to mechanical stimulus. Exp. Cell Res, accepted
- 4) 丸山征郎: NAVIGATOR, メディカルビュー社, 37, 40-41, 2001

P-19

すり鉢様形状の培養基板面が細胞に与える影響の観察

金森宗一郎*, 前田英次郎*, 村瀬晃平*, 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]

1. 緒言

細胞接着面の2次元形状⁽¹⁾や、細胞より小さなスケールの形状⁽²⁾が細胞の挙動に与える影響について、これまで多くの研究が行われてきた。一方で、細胞より大きなスケールの3次元形状が細胞に与える影響については分かっていないことも多い。また、骨再生での骨芽細胞など形態形成に関わる細胞の接着面の一部がすり鉢様の円錐内面であることから、培養基板にすり鉢様形状を再現し、その基板上での細胞の挙動観察を行った。

2. 実験方法

細胞培養基板は鋳型に poly(dimethylsiloxane) (PDMS) を流し込むことで作製した。鋳型（米山金型製作所）はステンレス鋼製のものと同アルミニウム合金製のものを使用した。いずれも切削加工により製作されており、底部直径 200~3600 μm 、頂角 60, 90, 120, 150° の円錐形の突出を有する。

細胞核を Hoechst33342 (Invitrogen) で蛍光染色した骨芽細胞様細胞 MC3T3-E1 (理研BRC) を使用した。オールインワン蛍光顕微鏡 (BZ-X710, キーエンス) を用いて経時蛍光観察を行った。

得られた蛍光画像から細胞の遊走速度を算出し円周方向成分と半径方向成分を求めた。

3. 実験結果と考察

鋳型は切削加工で作製されているため、頂点を中心とした同心円状の切削痕を有する。2つの鋳型の算術平均あらさは頂角の増加とともに増加する傾向を示した。アルミ合金製の鋳型はステンレス鋼製の鋳型と比べて傾きが小さい傾向が得られた(図1)。

ステンレス鋼製の鋳型から作製した基板では、頂角と細胞遊走速度の半径方向成分が有意な負の相関を示した(図2(a))。アルミ合金製の鋳型から作製した基板では、頂角と細胞遊走速度の半径方向成分、円周方向成分が有意な正の相関を示したが、傾きは比較的小さかった(図2(b))。

以上の結果から、すり鉢様形状においては同心円状の溝構造が細胞遊走速度の半径方向成分に影響を与える可能性が示唆された。また、表面あらさが小さいすり鉢様形状が細胞遊走に与える影響は小さい可能性が示された。

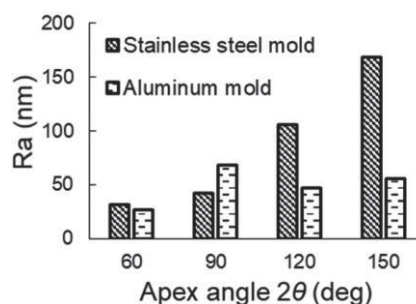
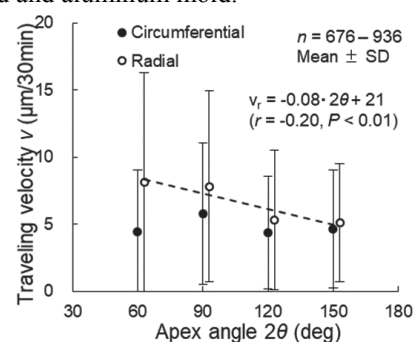
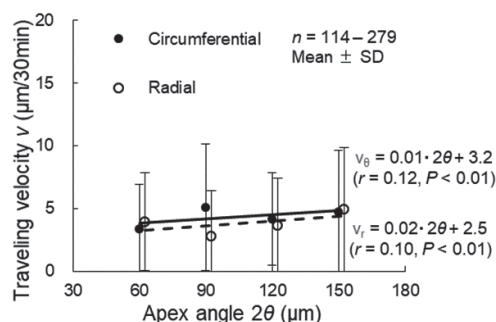


Fig. 1 Arithmetic average roughness (Ra) of stainless steel mold and aluminum mold.



(a) Surface made with stainless steel mold



(b) Surface made with aluminum mold

Fig. 2 Correlation of the apex angle and traveling velocities of cells cultured on the conical inner surface.

謝辞

本研究の一部は科学研究費補助金（15H02209, 15H05860）ならびに日本医療研究開発機構医工連携事業化推進事業（JP17gm0810005）の援助のもと行われた。記して謝意を表す。

文献

- 1) Wan, L. Q., et al.: Micropatterned mammalian cells exhibit phenotype-specific left-right asymmetry, PNAS, 108, 12295–12300, 2011
- 2) Matsugaki, A., et al.: The alignment of MC3T3-E1 osteoblasts on steps of slip traces introduced by dislocation motion, Biomat, 33, 7327–7335, 2012

細胞膜流動性に及ぼす細胞接着基板剛性の影響

黒柳要*, 前田英次郎*, 村瀬晃平*, 松本健郎*

* 名古屋大学 大学院工学研究科 [〒464-8603 名古屋市千種区不老町]

1. 緒言

細胞は細胞膜, 細胞核, アクチンなどから構成され, 周囲の力学環境に応じて細胞の構造や収縮力 (細胞張力) を変化させて力学環境に対して応答していると考えられている. また, 細胞が化学的な刺激を負荷された際の応答にも, 細胞周囲や細胞内の力学環境が影響を及ぼすことが示唆されている⁽¹⁾. 化学物質は細胞膜に存在する受容体と結合するため, 受容体の感度は細胞膜流動性と張力に影響を受けていると考えられる. そこで本研究では, 膜脂質の流動性を膜の力学特性の指標の1つとして取り上げ, 細胞周囲の力学環境が細胞張力の調整を通じて細胞膜流動性に影響を及ぼすという仮説を検証した.

力学環境の操作を行うために, PDMS 製マイクロピラーの高さを 2 μm , 4 μm , 8 μm と設定して細胞接着基板剛性を変化させ, それらが細胞膜の流動性 (拡散係数) に及ぼす影響について FRAP (光褪色後蛍光回復) 法を用いて検討した.

2. 実験方法

2. 1. 試料 成熟日本白色家兎のアキレス腱から単離した腱細胞で継代数 1~4 のものを用いた.

2. 2. FRAP 実験 FRAP 実験は蛍光標識した細胞膜の微小領域内に強い励起光を照射することで領域内の蛍光物質を褪色させ, 領域周辺の蛍光標識脂質が流入することで起こる蛍光強度の回復を測定する方法である. 今回は細胞膜の拡散係数を推定するために用いた. FRAP 実験は共焦点レーザー走査型顕微鏡 (FV1200-IX81, Olympus) を用いて行った. 細胞膜蛍光標識試薬 DiO (タカラバイオ) で標識した腱細胞について, 細胞核を避けて半径 1.6 μm の円領域を選択し, レーザを照射した (Fig.1(a, b)). その後, 細胞全体の蛍光画像を 110 秒間取得した (Fig.1(c, d)). 取得した画像からレーザー照射領域の蛍光輝度の平均値の時間変化を計測した.

2. 3. 解析方法 FRAP で得られたレーザー照射領域の蛍光回復過程の輝度値経時変化データについて, 極座標系拡散方程式を応用した数理モデルを用いて拡散係数を求めた.

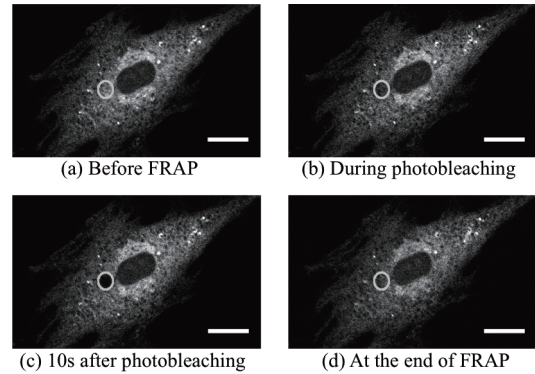


Fig.1 Temporal change of fluorescence intensity of tenocyte subjected to FRAP at representative time points. Bars = 20 μm . While circle indicates the region subjected to photobleaching.

3. 実験結果・考察

FRAP から推定された拡散係数を Table1 に示す. ガラス基板上で培養した control 群に比べマイクロピラー (高さ 2 μm , 4 μm , 8 μm) 培養群は低い拡散係数を示したが, 各群間には有意差は認められなかった. 細胞接着基板の剛性が細胞膜脂質流動性に影響を及ぼす可能性は低いと考えられる.

Table1 Diffusion coefficients D in 4 conditions.

	Control (n = 10)	2 μm (n = 10)	4 μm (n = 15)	8 μm (n = 15)
D ($\mu\text{m}^2/\text{s}$) (mean \pm SD)	0.266 \pm 0.108	0.199 \pm 0.077	0.204 \pm 0.085	0.220 \pm 0.087

4. 結言

日本白色家兎アキレス腱細胞の細胞膜に FRAP 法を適用し, 拡散係数を推定した. 細胞接着基板剛性を変化させても, 拡散係数に有意な変化は認められなかった.

謝 辞

本研究の一部は, 科研費 (16K01346, 17k20102) に依った. 記して謝意を表する.

文 献

1) 前田ら, 日本機械学会第 30 回バイオエンジニアリング講演会講演論文集, 211, 2017

P-21

B16 メラノーマ細胞の転移悪性度による粘弾性特性の違い

小野大地*, 杉田修啓*, 中村匡徳*

*名古屋工業大学 電気・機械工学専攻

1. 緒言

現在のがんのスクリーニング検査では、がんの有無はわかるものの、がんの転移悪性度を評価できない。もし、転移悪性度を評価することができれば、それに応じた治療が可能となり、患者の負担を減らすことができると考えられる。

がん細胞が転移する時、血管壁の微小な隙間を変形しながら通過する。これより、転移性の高いがん細胞ほど変形しやすいと考えられる。Watanabe ら¹⁾は、原子間力顕微鏡により高転移性のがん細胞ほど低剛性であることを示した。しかし、原子間力顕微鏡による計測は時間がかかり、臨床への適用は困難である。

そこで、臨床でのがん転移悪性度評価を目的として、流体場におけるがん細胞の変形解析により、力学的特性を評価することを考えた。本研究では、それを用いて、がん細胞の粘弾性特性の評価により転移能を評価できるかについて検討した。

2. 実験方法

マウスメラノーマ細胞である B16-F1 細胞と B16-F10 細胞を用いた。B16 メラノーマ細胞とはがん化したマウスの色素細胞のことである。マウスから採取したメラノーマ細胞を培養した後、尾静脈注射により別のマウスに投与する。これが肺転移した後、転移巣からがん細胞を採取する。これが B16-F1 細胞である。この操作を 10 回反復することで得られたがん細胞が B16-F10 細胞である。これにより、B16-F10 細胞は B16-F1 細胞よりも選択的に高転移性の細胞群となっている。

マイクロ流路は狭窄部、3 つの入口ポート、及び 1 つの出口ポートから構成される。マイクロ流路中央部に狭窄部を設けた。入口ポートはマイクロ流路の端に設け、三又状となっている。中央の入口ポートから細胞を流入し、その両側の入口ポートから細胞を狭窄部中心に流すためのシーフローを流す。Fig. 1 に示す実験系により、マイクロ流路内の細胞の変形挙動を観察した。

狭窄部から出た細胞は、圧縮力から解放され、徐々に元の形状に回復する。粘弾性力学モデルである Voigt モデルによって、細胞の形状回復過程を表現した。細胞の時間変化による圧縮ひずみは、

$$\varepsilon(t) = \varepsilon_0 \exp(-t/\tau) \quad (1)$$

と表せる。ここで、 τ は形状回復時定数である。

3. 実験結果

ε_0 の平均値は B16-F1 細胞で 0.18 ± 0.05 、B16-F10 細胞で 0.17 ± 0.06 であり、有意差はなかった。 τ の平均値は B16-F1 細胞で $\tau = 61 \pm 19 \mu\text{s}$ 、B16-F10 細胞で $\tau = 89 \pm 33 \mu\text{s}$ であり、B16-F10 細胞の τ の方が有意に大きかった。 ($p < 0.05$, t 検定)

4. 考察

τ は細胞の粘性係数と弾性係数の比であり、粘性係数 μ が大きいほど、また、弾性係数 k が小さいほど大きくなる。 τ は B16-F1 細胞よりも B16-F10 細胞の方が有意に大きかった。これは、B16-F1 細胞に比べ、B16-F10 細胞の方が細胞形状の回復が遅いことを示している。今回のサンプルにおいて B16-F1 細胞と B16-F10 細胞の剛性には差がないとすると、 τ の差には粘性係数が影響しており、B16-F10 細胞の粘性の方が高いことが考えられる。

5. 結言

τ はがん細胞の高転移能ほど大きくなり、形状回復時定数により転移能を評価できる可能性が示唆された。

謝 辞

本研究は、公益財団法人 日東学術振興財団から補助を受けた。ここに記して感謝する。

文 献

- 1) Watanabe T, *et al*, J Cancer Res Clin Oncol, 138, 859-866, 2012.

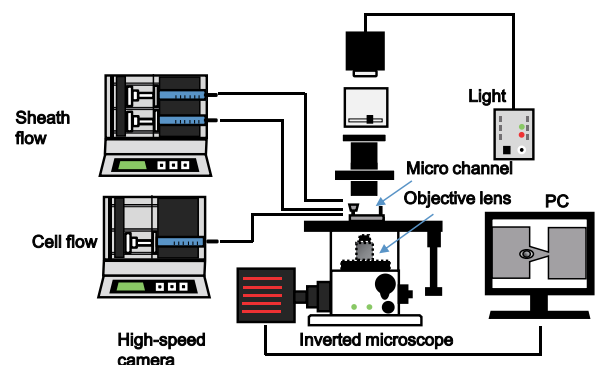


Fig. 1 Schematic drawing of the experimental setup.

P-22

アフリカツメガエル新鮮原腸胚内部の 構造観察と力学環境の推定

丹下祥之*, 安東頼子*, 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 [〒464-8603 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環境の影響を示唆する研究結果が報告されている. 例えば, 8細胞期の巻貝に対し外力を加えることで巻く方向を反対にすることができるという報告¹⁾がある. しかし, 陥入や腔形成など多くの形態形成運動において, 力学的視点からそのメカニズムを明らかにした例は少ない. そこで当研究室では, アフリカツメガエル (*Xenopus laevis*) 胚を対象に, 発生過程における胚内部の応力分布を明らかにする研究を行ってきた. 内藤らは胚表層張力分布を明らかにするため, レーザアブレーションを用いて胚の正中面に沿った部位を穿孔し, その孔形状を解析した²⁾. しかしこの方法では胚内部の力分布の推定は困難である. そこで, 我々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, 昨年の本学会で発表した³⁾. 刺入法とは胚に極細針を刺入・抜去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. この実験のスループットは穿孔形状の観察法に大きく影響されるため, 従来のクライオセクションと断面撮像を別場所で行う観察系を改善し, 実験の短時間化を試みた.

2. 実験方法

2.1 実験対象

原腸胚期 (Stage 10-13) の *Xenopus laevis* 胚を用いた. 原腸胚期では原腸陥入と呼ばれる胚内の形態形成運動が起こり, その間に内胚葉, 中胚葉, 外胚葉の3層が形成される.

2.2 凍結試料連続断面画像の自動撮影装置の構築

実験対象である *Xenopus laevis* 胚は不透明である. そこで内部を顕微鏡観察するために凍結試料をクライオスタット (CM3050S, Leica) で 10 μm 毎に薄切し, 切断毎に断面をデジタルマイクロスコップ (VHX-6000, キーエンス) で撮影する系を構築した (図 1). クライオスタットを連続切断モードに設定し, 切断に合わせて回転するハンドルに近接センサ (EZ-M12, キーエンス) を取付け, これで撮影のタイミングを調整した.

2.3 連続断面画像からの 3次元再構成

連続断面画像から胚の外形と内部構造の1つである胞胚腔の3次元形状を取得した. 断面画像間の微小なずれを画像処理ソフト ImageJ (NIH) のプラグイン StackReg で修正した. 胚の外形は同じく ImageJ のプラグイン 3D Viewer で表示した. 胞胚腔は, ずれを修正した後, 医用画像処理ソフトウェア Mimics (Materialise) に画像を取り込んだ. ソフトウェア内で断面画像一枚ずつの胞胚腔の領域を囲み, 3次元形状を抽出した.

3. 結果と考察

構築した観察系を図 1 に示す. 従来, 手動で1つの胚を撮り終えるのに2時間程度かかっていたが, 今回の撮影の自動化によって30分程に短縮された. また, 近接センサで撮像するタイミングをほぼ一定にしているため, 手動で撮影していた時には数10 μm あった画像間の位置のズレが10数 μm に収まるようになった. したがって, 胚内部の形状を知る上で強力な内部観察のツールを構築できたと言える. また, 刺入法の課題であった観察プロセスの短時間化ができたので, 今後のデータ蓄積に繋げていきたい.

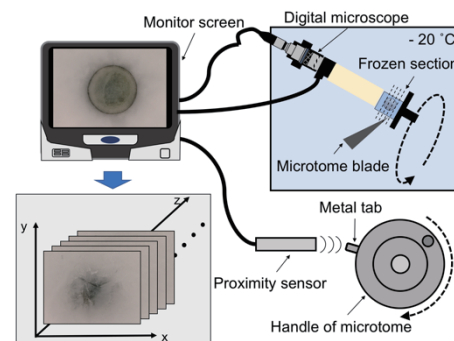


Fig. 1 Setup for continuous recording of cross-sectional images of *Xenopus laevis* embryo in a cryotome.

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. 記して謝意を表する.

文献

- 1) Shibazaki et al., Cur Biol 14, 1462-1467, 2004.
- 2) 内藤ほか, 日本機械学会 2012 年度年次大会講演論文集 J028025, 2012.
- 3) 丹下ほか, 日本バイオレオロジー学会誌 B&R, 第 31 巻 第 2 号, 53, 2017.

P-23

粒子散布法によるアフリカツメガエル尾芽胚のかたさ計測

○角田 涼* 安東 頼子* 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 [〒464-0814 名古屋市千種区不老町]

** 自然科学研究機構 基礎生物学研究所 形態形成研究部門

1. 緒言

発生において受精卵は大変形を伴って形態形成していく。その要因には生化学的な因子と力学的な因子があると言われている。今までは遺伝子など生化学的な因子について多くの研究がなされてきたが、発生における形態変形メカニズムの解明には至っていない。そこで近年力学的因子への注目が集まっているが、力学的な因子が形態形成に対して具体的にどのような影響を与えるかについては不明な点が多い。そこで、我々はアフリカツメガエル (*Xenopus laevis*) 胚を対象とし、発生に伴う胚内部の応力分布の変化の解明を進めている。そこで本研究では、胚切断面上に粒子を散布しその沈み込み量から胚内部の力学特性を計測した。

2. 実験方法

2-1. 寒天包埋

胚を切断し、粒子を散布するには胚を動かないよう固定する必要がある。そのため胚を寒天で固定した。寒天粉末を Steinberg's solution に 2.0w/v% の割合で溶解して 20℃まで冷却してから胚を加えて包埋した。

2-2. 胚切断

寒天で包埋した試料を水槽底面に貼りつけて固定した。切断時に試料上半分を迅速かつ確実に除去できるように、5 mm 立方程度に切り出した発泡スチロール片を試料上部に貼り付けて浮きとした。水槽内を Steinberg's solution で満たし、胚の腹部付近をエンブリオマスタ (EMB-125C, Protech International) の電極で切断した。

2-3. 粒子散布

粒子には直径 100 μ m、組成が Au80 %-Sn20 % と主に金で構成されている半田ボール (LF60, 日鉄住金マイクロメタル) を用いた。300 μ m 間隔で格子状に 49 個並んだ直径 40 μ m の穴に陰圧をかけて把持した。陰圧を解除し、振動を加え粒子を胚切断面上に散布した。

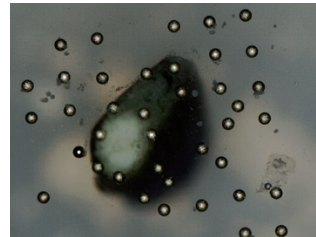
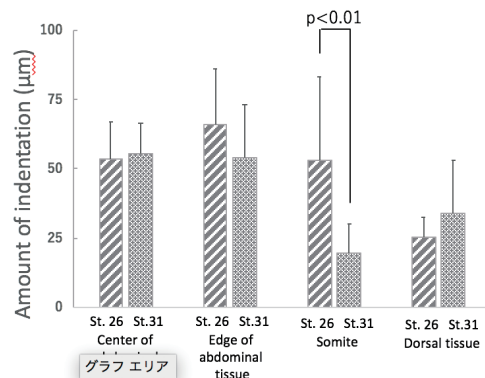
2-4. 沈み込み量計測

粒子頂点の高さと粒子中心から 100 μ m 離れた円上の胚切断面平均高さの差から粒子の沈み込み量を算出した。

3. 実験結果・考察

粒子を胚切断面上に散布した様子を Fig.1 に、粒子の沈み込み量算出結果を Fig.2 に示す。

本実験ではステージ 26 ならびに 31 の胚に対して実験を行なった。本実験から腹部組織よりも背側組織の方が沈み込み量が少ないこと、腹部内側と外縁では沈み込み量に大きな差がないことがわかった。また、筋節ではステージの変化とともに沈み込み量が有意に減少する傾向が見られた。一方、沈み込み量からヘルツの弾性接触理論を元に推定した筋節のヤング率にはステージの変化に伴う有意な変化が見られなかった。これはヘルツの式でヤング率を算出すると沈み込み量に対してヤング率は指数関数的に減少するため、ヤング率に換算した際、標準偏差が大きくなったためと考えられる。

Fig.1 Particles on the section of *Xenopus laevis* tailbud.Fig.2 Amount of indentation of each tissue on the section of *Xenopus laevis* tailbud compared st. 26 with st. 31

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。記して謝辞を表す。

Measurement of microscopic deformation of the rabbit thoracic aorta during tensile test

Yong FAN, Junfeng WANG, Eijiro MAEDA, Kohei MURASE, Takeo MATSUMOTO
Biomech Lab, Dept Mech Systems Eng, Grad Sch Eng, Nagoya Univ
[Furo-cho, Chikusa-ku, Nagoya 466-8603, JAPAN]

1. Introduction

The media of the aorta is mainly made up of smooth muscle cells (SMCs), elastin and collagen fibers, and shows complex mechanical behavior when it is subjected to a physiological loading condition from no load state¹⁻³. In this study, we have performed tensile test of thin-sliced specimens obtained from rabbit thoracic aortas and observed their deformation with a confocal microscope and confirmed that the deformation of the media under circumferential stretch was heterogeneous at a microscopic level.

2. Materials and methods

2.1 Specimen preparation

All animal experiments were approved by the institutional review board for animal care at Nagoya University. Thoracic aortas harvested from male Japanese white rabbits were cut into 200- μm -thick ring-like segments. The SMC nuclei were then stained with Hoechst33342 (Molecular Probes, USA).

2.2 Tensile test and fluorescence imaging

Tensile test was performed on a modified tensile tester (STB-150W-NK, Strex, Japan) under a confocal microscope (IX81+FV1200, Olympus, Japan). Each slice was cut into a rectangular specimen of about 7 mm in the circumferential direction, and was pasted at both sides on custom-made stainless metal pieces through OHP sheets and mounted to the tester. The specimen was then stretched stepwise by about 60 μm repeatedly while monitoring its fluorescent image carefully until deformation of the elastic lamina became noticeable, and this condition was taken as the reference state. The specimen was then stretched stepwise by about 60 μm for about 10 times. Z-stack images of about 1.5 μm interval were taken at each step, and a pan-focus image was obtained from the z-stack images.

2.3 Image analysis

We processed the images by ImageJ and calculated the macroscopic stretch ratio (λ_θ) of the specimen then compared it with specimen's microscopic stretch ratio (λ_θ) and the stretch ratio ($\lambda_{c\theta}$) of the sample nuclei.

3. Result

An example of the image of the elastin and marked sample nuclei is shown in Fig.1. Fig.2 shows the comparison between microscopic and macroscopic stretch ratios of a thin slice. Microscopic stretch ratio was obtained by calculating the change in the horizontal distance between nuclei n and 0. We found that there was wide variation of microscopic stretch ratios depending on positions. However, their mean value almost coincided with the homogeneous line.

4. Discussion

Even in the same SMC layer in the same radial direction, the aortic tissue showed different stretch ratio depending on the circumferential position. These

results indicate that the aortic wall shows combination of stretch and shear deformations during circumferential stretch.

5. Conclusion

We performed the tensile test of thin-sliced specimens of rabbit thoracic aortas and observed the macroscopic and microscopic stretch ratio of the specimen together with the change in the nucleus length during stretch. We confirmed that the deformation of the media of the aorta under circumferential stretch was heterogeneous at a microscopic level.

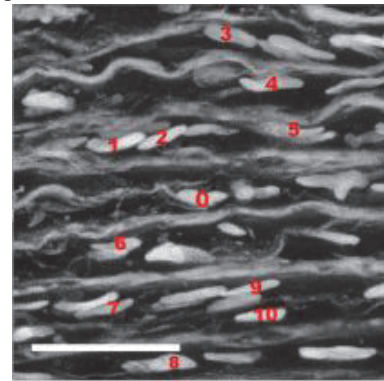


Fig. 1 Photomicrograph of the smooth muscle nuclei and elastic lamina of a rabbit thoracic aorta obtained by a confocal microscope. Circumferential direction is horizontal. Scale bar: 50 μm .

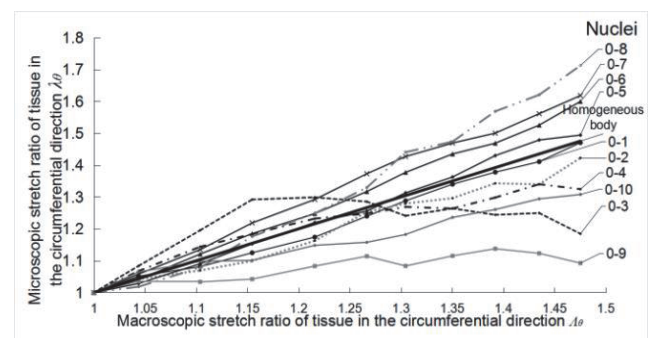


Fig. 2 Comparison between microscopic and macroscopic stretch ratios of a thin slice of rabbit thoracic aorta shown in Fig. 1 in the circumferential direction. See Fig.1 for the number of nuclei.

Acknowledgements

This work was supported in part by KAKENHI (No.15H02209) and AMED-CREST (JP17gm0810005).

References

- [1] Matsumoto et al, J Biomech 37: 807-815 (2004)
- [2] Chow et al, PLoS ONE 8: e81951 (2013)
- [3] Sugita and Matsumoto, Biomech Model Mechanobiol 16: 763-773 (2017)

第41回日本バイオレオロジー学会年会実行委員会

委員長 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）
幹事 前田 英次郎（名古屋大学 大学院工学研究科 機械システム工学専攻）
委員 中村 匡徳（名古屋工業大学 大学院工学研究科 電気・機械工学専攻）
村瀬 晃平（名古屋大学 大学院工学研究科 機械システム工学専攻）
杉田 修啓（名古屋工業大学 大学院工学研究科 電気・機械工学専攻）
安東 頼子（名古屋大学 大学院工学研究科 機械システム工学専攻）
王 軍鋒（名古屋大学 大学院工学研究科 機械システム工学専攻）

***** 共催, 広告等 *****

共催： 名古屋大学 大学院工学研究科

広告： (株) 大菜技研
(株) カネカメディックス

編集後記

ようやく第41回日本バイオレオロジー学会年会の抄録集を仕上げることができました。本年会を開催するにあたり、丸山理事長をはじめとする役員の方、学会事務局の菅原さん、共催頂いた名古屋大学大学院工学研究科、そして実際に講演をお申し込み頂いた方々など実に多くの皆様のご協力を頂きました。実行委員会一同、心より御礼申し上げます。本会の準備中には、懇親会の晩に名古屋で某アイドルグループの「総選挙」が開催されることが決まったために、この晩の宿が取れなくなっていることが判明するなどの波乱もあり、肝を冷やしましたが、何とか開催に漕ぎ着けることができそうです。年会への沢山の方々のご参加を切に願っております。

今後とも日本バイオレオロジー学会ならびに電子版 B&R への温かいご支援をお願い申し上げます。

(松本 健郎)

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	松本 健郎	前田 英次郎		

日本バイオレオロジー学会誌 (B & R, 電子版) 第 32 卷 第 2 号

2018 年 6 月 16 日発行

編集者 山田 宏

発行者 丸山 徹

特定非営利活動法人 日本バイオレオロジー学会・事務局

〒259-1193 神奈川県伊勢原市下糟屋143

東海大学医学部内科学系循環器内科学 後藤教授室内

TEL 0463-93-1121 (内線2227)

FAX 0463-93-6679

E-MAIL office@biorheology.jp

© copyrighted 2018, by Japanese Society of Biorheology
