



第45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: 2022年6月4日(土)・5日(日)

年会長: 喜多 理王 (東海大学)

会 場: 東海大学湘南キャンパス(平塚市)



日本バイオレオロジー学会

<http://www.biorheology.jp>

日バイレオ誌 (B & R, 電子版) 第36巻 第2号

J. Jpn. Soc. Biorheol. 36(2) (2022)

第45回
日本バイオレオロジー学会年会
プログラム・抄録集



主催：（特非）日本バイオレオロジー学会

会 期：2022年6月4日（土）, 5日（日）

年会長：喜多 理王

（東海大学マイクロ・ナノ研究開発センター

/理学部物理学科）

会 場：東海大学湘南キャンパス

日本バイオレオロジー学会年会のあゆみ

回	年会長	所属	会場	会期
1	深田 栄一	理化学研究所	東京慈恵会医科大学 高木会館講堂	1978/6/19
2	岡 小天	国立循環器病センター	国立循環器病センター 講堂	1979/6/30~7/1
3	東 健彦	信州大学	信州大学医学部第一講義堂	1980/6/28~29
4	谷口 興一	東京医科歯科大学	東京医科歯科大学 5 号館	1981/6/20~21
5	梶谷 文彦	川崎医科大学	川崎医科大学 現代医学教育博物館	1982/6/26~27
6	稲垣 義明	千葉大学	千葉県文化会館 小ホール	1983/6/18~19
7	神谷 瞭	北海道大学	北海道自治会館 自治ホール	1984/6/16~17
8	浅野 牧茂	国立公衆衛生院	国立公衆衛生院 講堂	1985/6/15~16
9	志賀 健	愛媛大学	愛媛県医師会館 ホール	1986/6/11~13
10	磯貝 行秀	東京慈恵会医科大学	東京慈恵会医科大学 高木会館講堂	1987/6/13~16
11	松田 保	金沢大学	金沢大学医学部十全講堂	1988/6/2~4
12	大島 宣雄	筑波大学	筑波大学大学会館国際会議室	1989/7/5~7
13	峰下 雄	帝塚山短期大学	奈良県新公会堂	1990/6/21~23
14	品川 嘉也	日本医科大学	日本医科大学 大講堂	1991/6/20~22
15	平川千里	岐阜大学	岐阜市文化センター	1992/6/25~27
16	菅原 基晃	東京女子医科大学	東京女子医科大学 弥生記念講堂	1993/6/16~17
17	松信 八十男	清和大学	エーザイホール	1994/6/17~18
18	貝原 学	帝京大学	TEPCO 地球館	1995/6/15~16
19	辻 隆之	国立循環器病センター	千里ライフサイエンスセンター	1996/6/6~7
20	増田 善昭	千葉大学	千葉大学けやき会館	1997/6/5~6
21	前田 信治	愛媛大学	エスポワール愛媛文教會館	1998/6/11~13
22	貝原 真	理化学研究所	理化学研究所 鈴木梅太郎記念ホール	1999/6/10~11
23	辻岡 克彦	川崎医科大学	倉敷公民館	2000/6/8~9
24	谷下 一夫	慶應義塾大学	慶應義塾大学 創想館マルチメディアルーム	2001/6/7~8
25	大橋 俊夫	信州大学	信州大学旭会館大会議室	2002/6/6~7
26	西成 勝好	大阪市立大学	大阪市立大学学術情報総合センター	2003/6/5~6
27	内村 功	東京医科歯科大学	東京医科歯科大学 特別講堂	2004/6/10~11
28	佐藤 正明	東北大学	東北大学マルチメディア教育研究棟	2005/7/7~8
29	丸山 徹	九州大学	九州大学医学部 コラボステーション	2006/6/12~13
30	佐々木 直樹	北海道大学	北海道大学 学術交流会館	2007/6/14~15
31	安藤譲二	東京大学	東京大学理学部小柴ホール	2008/6/5~6
32	土橋 敏明	群馬大学	桐生市民文化会館	2009/6/4~5
33	氏家 弘	東京労災病院	理化学研究所 鈴木梅太郎記念ホール	2010/6/3~4
34	関 眞佐子	関西大学	関西大学100 周年記念会館	2011/6/3~4
35	佐藤 恵美子	新潟県立大学	朱鷺メッセ	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	名古屋大学東山キャンパス	2018/6/16~17
42	山田 宏	九州工業大学	北九州国際会議場	2019/6/1~2
43	金田 勇	酪農学園大学	COVID-19感染拡大の影響により誌上開催	2020/6/17
44	一杉 正仁	滋賀医科大学	COVID-19感染拡大の影響により遠隔開催	2021/7/3~4
45	喜多 理王	東海大学	東海大学湘南キャンパス	2022/6/4~5

実行委員会

年会長 喜多 理王

委員 大友 麻子 岡村 陽介 木村 啓志 佐々木 海渡 新屋敷 直木 高橋 俊

槌谷 和義 中川 草 福田 篤 八木原 晋 安田 佳代

オーガナイザー

OS1 血管内治療：島野 健仁郎，長谷部 光泉，庄島 正明，深作 和明

OS2 循環系ダイナミクスと疾患：丸山 徹，後藤 信哉，山田 宏，大島 まり

OS3 血液レオロジーと微小循環：中村 匡徳，関 眞佐子，田地川 勉，望月 精一

OS4 細胞・分子のメカノバイオロジー：工藤 奨，大橋 俊朗，青木 友浩，松本 健郎

OS5 ティッシュエンジニアリング・人工臓器：西田 正浩，岩崎 清隆

OS6 生体物質の構造形成と機能発現・制御：喜多 理王，吉場一真，四方 俊幸，藤井 修治

OS7 食品およびソフトマターのレオロジー：金田 勇，高橋 智子，吉村 美紀，船見 孝博

新型コロナウイルス(COVID-19)感染症対策について

発生から3年になり、2022年5月の時点でオミクロン株が主流となっています。随時新たな変異株が報告されており予断を許さない状況です。参加者の皆様には十分な感染対策を実施していただきたく、ご協力をお願い申し上げます。

基本的対策のお願い

- ・ マスク着用（不織布を推奨）
- ・ こまめな手洗い・手指消毒
- ・ 「密」の回避

体がだるい、のどに違和感があるなどの体調変化がある場合は、無理をせず参加を控えてください。発熱、体調不良の方の参加はお断りいたします。発表者の方は事務局までご連絡ください。

年会事務局 当日（緊急）連絡先 電話 0463-58-1211 内線 3238

健康観察記録 兼 同意書 提出のお願い

- ・ 開催日の7日前（5月28日（土））から当日までの健康観察を記録してご提出をお願いします。
（用紙は会員向けEメールにて配信。年会ホームページからも入手できます。）

会場でのお願い

- ・ 検温の実施（主な入口に設置します）
- ・ 消毒用アルコールの使用（各会場に設置します）
- ・ ランチはマスク会食で

懇親会について

- ・ 懇親会は開催しませんのでご了承ください。

対面開催を中止する基準

- ・ 国の5段階レベル分類にて、神奈川県がレベル3となった際は誌上開催とさせていただきます。(2022年5月中旬現在、神奈川県はレベル2)
- ・ 東海大学の基準である「学内警戒レベル」が引き上げられた際は誌上開催とさせていただきます。(2022年5月中旬の警戒レベルと比較して)
- ・ 対面開催を中止する際は速やかにEメールおよび年会ホームページにてお知らせします。

事務局の準備・対策・対応

- ・ 大学基準に則った教室収容人数の遵守
- ・ 換気の徹底、CO₂濃度計の設置 (1,000 ppm 以下)
- ・ ワクチン接種状況アンケートの実施
- ・ 参加者記録および健康観察記録の一定期間保管
- ・ 予備マスクの配備
- ・ 施設や設備等の会場係によるアルコール消毒
- ・ 近隣病院リストの完備
- ・ 病院へ移動するための自動車(タクシーなど)を手配する体制の完備

参 考

- ・ 内閣官房 新型コロナウイルス感染対策
<https://corona.go.jp/>
- ・ 厚生労働省 新型コロナウイルス感染症について
https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/0000164708_00001.html
- ・ NHK レベル判断のための指標リスト
<https://www3.nhk.or.jp/news/special/coronavirus/level/>
- ・ 東海大学 学内警戒レベル
<https://www.u-tokai.ac.jp/news-notice/52605/>
- ・ 東海大学 学内警戒レベル対応表
<https://www.u-tokai.ac.jp/news-notice/52599/>

会場アクセス案内



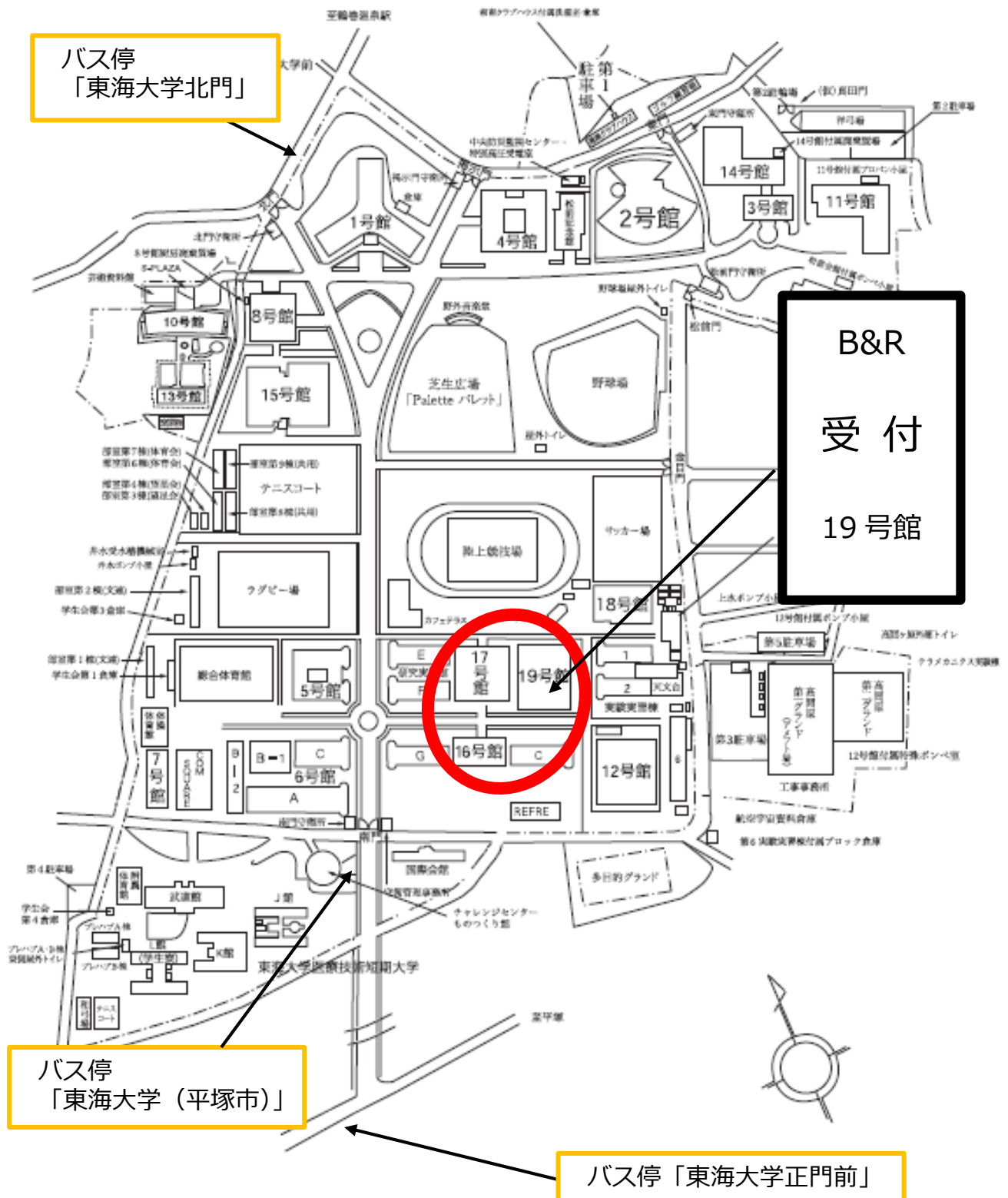
会 場： 東海大学湘南キャンパス

住 所： 〒259-1292 神奈川県平塚市北金目4丁目1-1

Google Map: <https://goo.gl/maps/8bJztRMgdbBatYgQ9>

神奈川中央交通（バス）時刻表検索 <https://www.kanachu.co.jp/dia/index.html>

キャンパスマップ



会 場： 19号館（受付）、17号館（ポスター会場）、16号館（講演会場）

会場配置 16号館, 17号館, 19号館



19号館 3階

受付、クローク、休憩スペース

17号館 2階

ポスター会場

16号館 5階

開会式、講演会場、総会会場

16号館 3階

休憩スペース

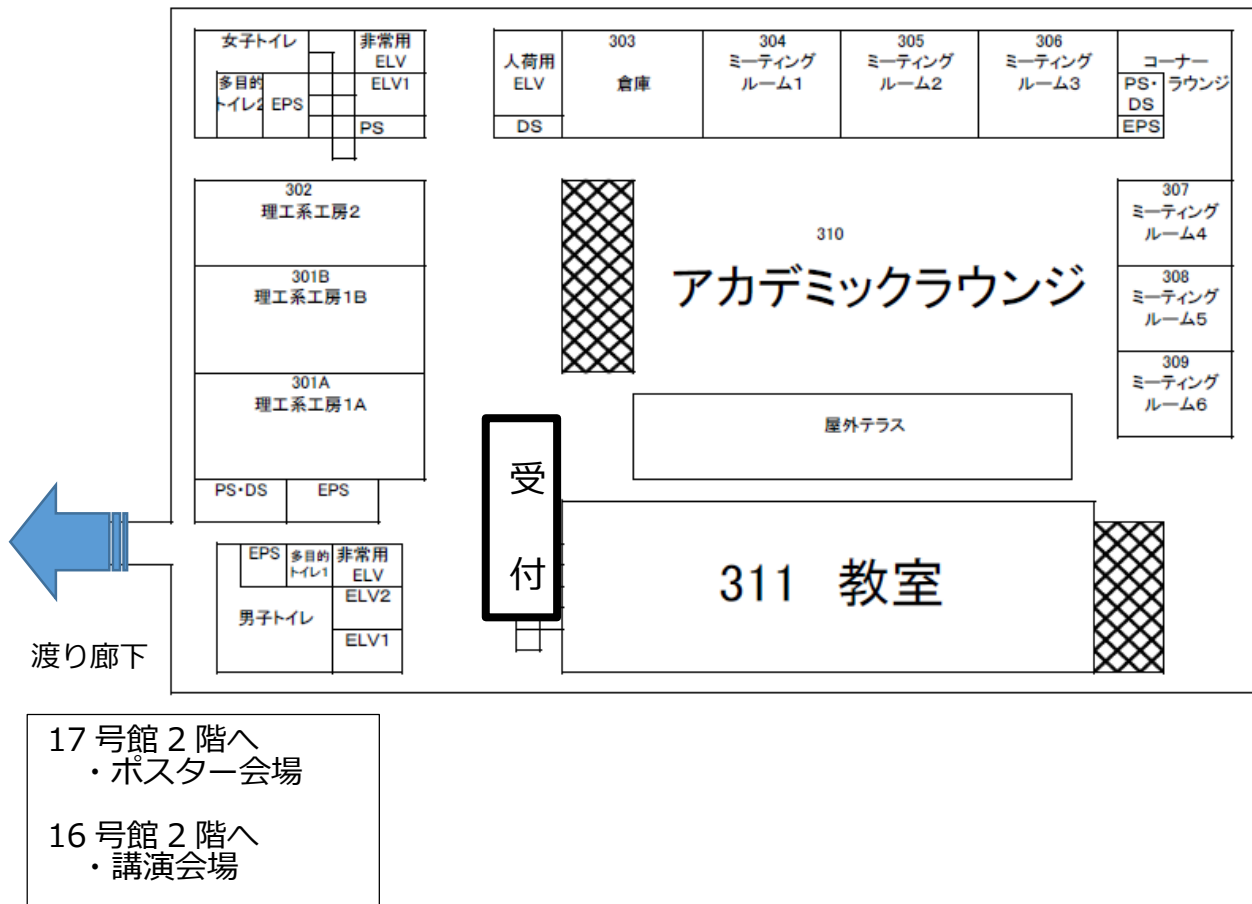
16号館 2階

休憩スペース

16号館 1階

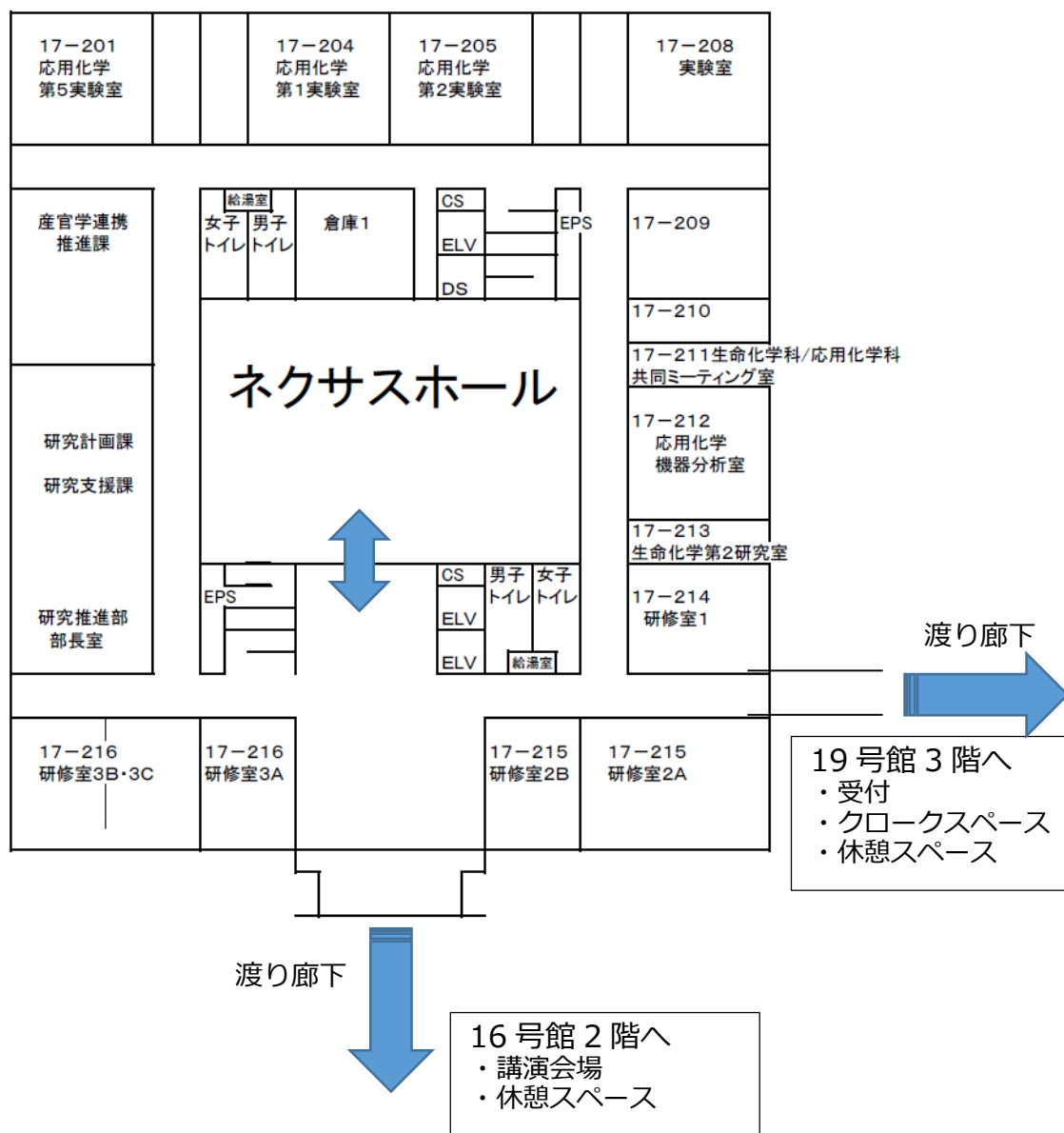
休憩スペース

会場内配置 19 号館 3 階



- ・受付 19-311 教室
- ・クローク 19-311 教室
- ・休憩スペース アカデミックラウンジ
- ・スタッフ控室 19-311 教室

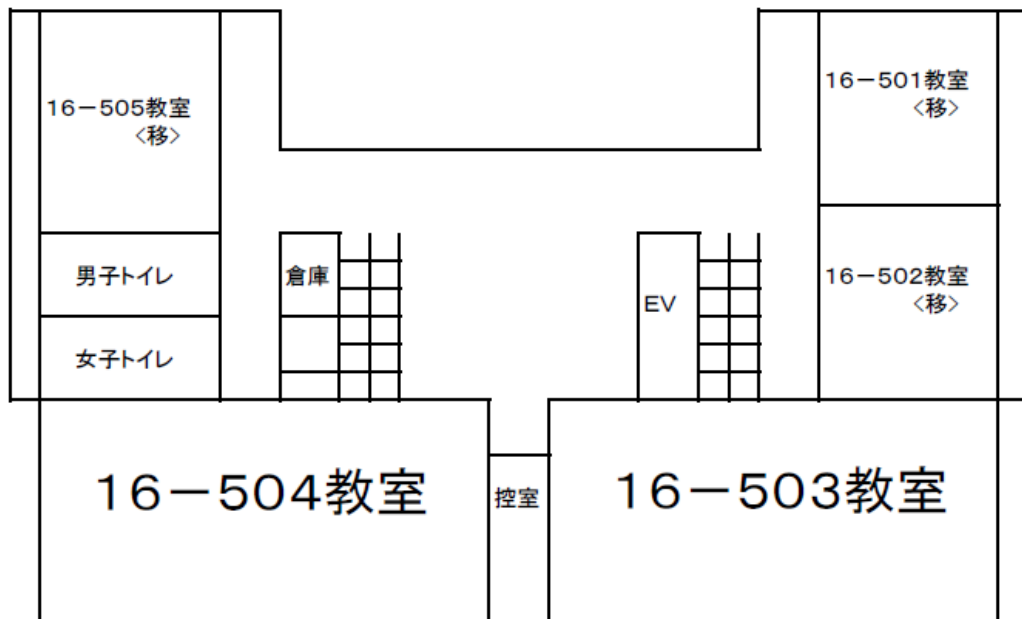
会場内配置 17号館 2階



・ポスター会場

ネクススホール

会場内配置 16号館 5階



- ・開会式 16-503 教室
- ・講演会場 1 16-503 教室
- ・講演会場 2 16-504 教室

会場内配置 16号館 3階 (図は省略)

- ・休憩スペース 16-304 教室、16-306 教室

会場内配置 16号館 2階 (図は省略)

- ・休憩スペース 16-202 教室

会場内配置 16号館 1階 (図は省略)

- ・休憩スペース 16-102 教室

参加の皆様へ

参加登録用紙

参加受付は 2022 年 6 月 4 日 (土) 9:30 からです.

参加登録用紙を年会ホームページにてダウンロード・記入・印刷して当日お持ちください.

年会ホームページ <http://www.biorheology.jp/nenkai/45/>

受付にてお弁当引換券をお受け取り下さい.

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. 当日登録の方は、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).

- ・ 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プログラム・抄録集を閲覧いただけます。

年会ホームページ <http://www.biorheology.jp/nenkai/45/>

- ・ 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。

発表に関する注意事項

講演時間

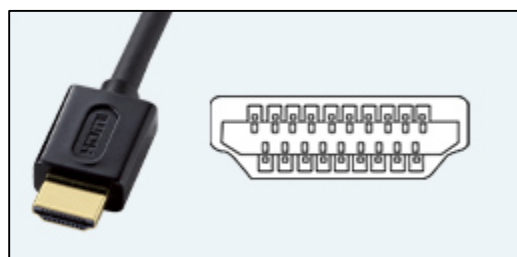
- ・ オーガナイズドセッション, 学会奨励賞セッションでの講演時間は15 分（発表10 分, 質疑応答5 分）です.

座長の方へ

- ・ ご担当セッション開始10 分前までに会場内前方の次座長席にお着きください.
- ・ 会場進行係はありますが, 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.
- ・ 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.
- ・ （フラッシュプレゼンを除く）
- ・ プロジェクターとの接続は, HDMIコネクタ（タイプAコネクタ）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4日(土) 9:30~10:50 に行ってください.
- ・ 6月4日(土) 13:30からフラッシュプレゼンテーションで口頭発表をしてください.
- ・ 6月5日(日) 11:30~12:30 をコアタイムとしますので, 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5日(日) 16:30 までに行ってください.

フラッシュプレゼンテーションの要領

- ・ 発表の持ち時間は3分です.
- ・ 質疑応答はありません.
- ・ タイトル・発表者などの表紙情報を含め要約を2~4ページで準備してください.
- ・ 発表用のファイル形式はMS Power PointまたはPDFとさせていただきます.
- ・ ランチタイムに会場のPC (Windows) へファイルをコピーしてください.
- ・ ご発表の1演題前に教卓・教壇の傍で待機してください.
- ・ スライドめくり操作は会場係が行います.

タイムテーブル

2022年6月4日(土)

【受け付け・クローク】 19号館3階 9:30~18:00

16号館503教室	16号館504教室	ポスターセッション ネクサスホール
		9:30~10:50 ポスター掲示
10:50~11:00 開会式		
11:00~ OS1 血管内治療 OS2 循環器系ダイナミクスと疾患	11:00~ OS5 ティッシュエンジニアリング・人工臓器 OS6 生体物質の構造形成と機能発現・制御	
ランチ(12:30~13:30)		
13:30~ フラッシュプレゼンテーション		←
14:30~ S0 口頭発表(学会奨励賞応募)		
15:00~ OS4 細胞・分子のメカノバイオロジー		

9:30~18:00 19号館3階 アカデミックラウンジ 飲み物とお菓子を用意

<会議>・eB&R 会議 6/4(土) 9:00 ~ 9:30 16号館202教室

・JBR 会議 6/4(土) 9:30 ~ 10:00 16号館202教室

・理事会・評議員会合同会議 6/4(土) 10:00 ~ 10:50 16号館202教室

2022年6月5日(日)

【受け付け・クローク】 19号館3階 8:00~17:00

16号館503教室	16号館504教室	ポスターセッション ネクサスホール
9:00~ OS3 血液レオロジーと微小循環	9:00~ OS7 食品およびソフトマターのレオロジー OS8 レオロジー一般、その他	
→	→	11:30~ ポスターコアタイム
ランチ(12:30~13:30)		
13:30~ 総会・表彰式		
14:30~ 岡小天賞受賞講演		
15:30~ 論文賞受賞講演		
16:00~ 閉会の辞		16:00~16:30 ポスター撤収

8:00~17:00 19号館3階 アカデミックラウンジ 飲み物とお菓子を用意

プログラム 6月4日(土)

16号館 503教室

11:00~12:30 OS1 血管内治療

OS2 循環器系ダイナミクスと疾患

座長：山田宏（九州工大），丸山徹（九州大）

OS1-1 CFD解析を用いた脳動脈瘤壁の菲薄領域と血行動態の関連性の調査

○増田和範(東京理大, 慈恵医大), 高尾洋之, 藤村宗一郎, 蠣崎 昭太, 内川隼杜, 葛西智基, 角南昭太, 湯澤和也, 石橋敏寛, 福留功二, 山本誠, 村山雄一

OS1-2 脳動脈瘤におけるコイル塞栓術後の再開通因子に関する調査

○内川隼杜（東京理大, 慈恵医大）, 高尾 洋之, 藤村宗一郎, 角南昭太, 葛西智基, 湯澤和也, 増田和範, 石橋敏寛, 福留功二, 山本誠, 村山雄一

OS2-1 脳動脈瘤内血流解析における出口境界条件の比較～異なる部位に形成された脳動脈瘤での検討～

○牧野成晃（東京都市大）, 島野健仁郎, 白鳥英, 永野秀明

OS2-2 解離した胸部大動脈の拡張期と収縮期における隔壁の形状に関する有限要素解析

○山田宏（九州工大）, 小川凌司

OS2-3 深層学習を用いた磁気共鳴流体解析のノイズ低減

○中島美来（名古屋大）, 礪田治夫, 平野祥之

OS2-4 糖尿病性合併症は抗酸化作用で予防できるか

○仲本博（野崎徳洲会病院）

13:30~14:10 ポスター発表者によるフラッシュプレゼンテーション

1. 大豆タンパク質・大豆多糖類混合系の動的粘弾性と構造観察

○吉村美紀（兵庫県立大）, 小幡琴音, 島田良子

2. 小麦粉・レジスタントスターチ混合系の物性, 構造およびレジスタントスターチ量

○島田良子（兵庫県立大）, 玉田真友美, 香椎霞, 吉村美紀

3. 改良された界面移動描像によるゲル化ダイナミックスの解析

○ポストラド マイケル（群馬大）, 古澤和也, 土橋敏明, 山本隆夫

4. 敵対的生成ネットワークを用いた食感データの生成

○島田勇輝（東京電機大）, 武政誠

5. 新規異方性材料としてのナノファイバー分散体の創製と物性
○横瀬颯人(東海大), 市原直弥, 岡村陽介
6. 多価カルボン酸水溶液中でのキトサン溶液のゲル成長ダイナミクス
○安田陽太(群馬大), 吉場一真, 山本隆夫
7. 多様な食感の3Dプリントに向けた光造形フード3Dプリンター開発
○古屋佳叡(東京電機大), 武政誠
8. 血漿のゲル化における律速過程とダイナミクス
○鶴本明日香(群馬大), ポストラドマイケル, 山本隆夫
9. ポリ-L-乳酸超薄膜の特異的な機械的性質 ~結晶化速度の膜厚依存性との関係~
○石山泰成(東海大), 藤木啓太, 張宏, 岡村陽介, 佐々木海渡, 喜多理王, 新屋敷直木
10. 脳脊髄液流動を想定した開放系空間における脂質膜上のアミロイドβ凝集の単分子観察
○飯田茜(山形大), 並河英紀
11. 静水圧及び圧縮歪みの複合刺激に対する細胞膜流動性の変化
○張珉箕(東京大), 牛田多加志, 古川克子

14:30~15:00 S0 口頭発表(学会奨励賞応募)

座長: 喜多理王(東海大), 古澤和也(福井工大)

- S0-1 未変性アルブミンナノ粒子の創製と新規DDS担体への応用
○青木拓斗(東海大), 張宏, 岡村陽介
- S0-2 腸骨静脈ステントの圧縮負荷に対する長期的耐久性を評価する加速耐久試験装置の開発に関する研究
○中村亮太(早稲田大), 村上慶輔, 北場紀香, 陸洪澤, 朱曉冬, 岩崎清隆

15:00~17:00 OS4 細胞・分子のメカノバイオロジー

座長: 藤井修治(東洋大), 工藤奨(九州大)

- OS4-1 細胞変形時におけるYAP移動現象
肖博元, 大兼健史, 佐々木沙織, 世良俊博, ○工藤奨(九州大)
- OS4-2 高浸透圧刺激による尿細管細胞内Ca²⁺濃度変化と上皮間葉転換
○坂元尚哉(都立大), 鈴木敦詞, 宮野 貴士
- OS4-3 壁せん断応力-法線方向動圧組み合わせ環境が血管内皮細胞に及ぼす影響
○高橋幸慈(都立大), 沢崎薫, 中村匡徳, 木村直行, 川人宏次, 坂元尚哉
- OS4-4 タンパク質凝集体を用いた細胞核内ダイナミクス計測
○藤井修治(東洋大)

座長：土橋敏明（群馬大），大橋俊朗（北海道大）

OS4-5 骨細胞スフェロイドの機械的挙動に対する骨分化誘導剤の影響

○キム ジョンヒョン（名古屋大），安達泰治，松本健郎

OS4-6 人工細胞創出を目指したマイクロドロップレットの作製と力学特性評価

根本凌汰，Lee Sungkil，末原大輝，○大橋俊朗（北海道大）

OS4-7 第 XI 因子と血小板膜糖蛋白 GPIIb および von Willebrand 因子の 3 体複合体の結合構造予測

○中山正光（東海大），後藤信一，斉藤宏伸，後藤信哉

OS4-8 T リンパ球様株 Jurkat 細胞に対するパルス電磁場の効果

○土橋敏明（群馬大），小林雄一郎，山本隆夫，秋山珠璃，田中進，綿貫敬介，伊達宗宏，深田栄一

16 号館 504 教室

11:00~12:00 OS5 ティッシュエンジニアリング・人工臓器

OS6 生体物質の構造形成と機能発現・制御

座長：古澤和也（福井工大），松平崇（奈良県立医大）

OS5-1 MRI 対応型拍動循環システムを用いた大動脈二尖弁と上行大動脈血流の評価

○服部薫（早稲田大），高田淳平，峰田紫帆，濱田紘平，岩崎清隆

OS6-1 ヘモグロビンを四分岐 PEG で分子間架橋した超分子ゲルの合成とレオロジー特性

○松平崇（奈良県立医大），酒井宏水

OS6-2 多管構造を持つコラーゲンゲルを使用した再生筋組織構築技術の開発とレオロジー特性評価

○古澤和也（福井工大），宮下凌也，河端祐樹，天津瑠奈

OS6-3 コラーゲンの多管構造ゲル形成における懸濁コロイド粒子の挙動

山崎涼平，○槇靖幸（九州大），安中雅彦

プログラム 6月5日(日)

16号館503教室

9:00~10:30 OS3 血液レオロジーと微小循環

座長：関眞佐子（関西大），田村典子（新潟医療福祉大）

OS3-1 広帯域誘電分光法を用いたVWFの複雑な分子ダイナミクスの解明

○斉藤宏伸（東海大），中山正光，後藤信哉

OS3-2 ラットの動脈血および静脈血によるコラーゲン繊維上の血小板血栓の成長

○田村典子（新潟医療福祉大），阿部拓也，藤井豊

OS3-3 Syllectometryを用いた低濃度フィブリノゲン領域における赤血球凝集能の測定

○田中理禎（芝浦工大），渡邊宣夫，樋口誠

OS3-4 末梢循環における血漿層出現機序解明のための基礎研究

○木梨宏祐（芝浦工大），柴田政廣，渡邊宣夫

OS3-5 希少細胞捕捉用流路中の球形粒子の挙動の数値解析

○加瀬篤志（富山大），辻野紘大，山田朱音，寺林賢司，大永崇

OS3-6 微小正方形管内流れに浮遊する赤血球の管断面内分布

○関眞佐子（関西大，大阪大），田中沙織，佐井一総，板野智昭

13:30~14:30 総会・表彰式

14:30~15:30 岡小天賞受賞講演

座長：後藤信哉（東海大），工藤奨（九州大）

赤血球の変形能と血液レオロジー — 臨床への応用と今後の展望 —

○丸山徹（九州大），稗田道成，藤野武彦

15:30~16:00 論文賞受賞講演

座長：大橋俊朗（北海道大），一杉正仁（滋賀医科大）

有限要素法を用いた半周性石灰化病変冠動脈モデルにおけるカッティングバルーンの拡張解析

○朱曉冬（早稲田大），岩崎清隆

16 号館 504 教室

9:00~11:30 OS7 食品およびソフトマターのレオロジー

OS8 レオロジー一般、その他

座長：武政誠（東京電機大）、高橋智子（神奈川工科大）、槇靖幸（九州大）

OS7-1 多糖類溶液の伸長レオロジーとトライボロジー

○中馬誠（三栄源エフ・エフ・アイ株）、船見孝博

OS7-2 糖を添加したゼラチンゲルのレオロジー

○槇靖幸（九州大）、黒岩勇、江口允崇、安中雅彦

OS7-3 餡子の降伏と流動挙動の可視化

○田中里歩（東洋大）、藤井修治

OS7-4 深層学習式食感分析に必須となる食感ビッグデータ構築に向けた食品圧縮試験の自動化

大村翔太郎、○武政誠（東京電機大）

OS7-5 サルナシ果汁の凝乳活性とモデルチーズの調製

○兼子ささら（酪農学園大）、枡原孝志、金田勇

OS7-6 流動下の粘弾性測定法の流体状米飯・餅による検証

○菜嶋健司（大菜技研）

OS7-7 高齢者が安全に喫食できるソース付加パンの力学的特性と咀嚼・嚥下

○高橋智子（神奈川工科大）

OS7-8 咀嚼・嚥下困難者のためのテクスチャーコントロール

Zhang Ke, ○西成勝好（湖北工業大）、Fang Yapeng, Dou Zuilin

OS8-1 複雑な管形状による多数の固体粒子を含む非ニュートン流体の数値流体解析

○川俣柊介（東海大）、川本裕樹、奈良祥太郎、野原徹雄、高橋俊、大林茂

17号館ネクススホール

11:30~12:30 ポスター発表コアタイム

要旨

岡小天賞受賞講演

赤血球の変形能と血液レオロジー — 臨床への応用と今後の展望 —

丸山 徹*, 稗田道成**, 藤野武彦***

*九州大学[〒812-8582 福岡市東区馬出 3-1-1]名誉教授, **同血液腫瘍心血管内科助教,
***レオロジー機能食品研究所[〒811-2501 福岡県粕屋郡久山町久原 2241-1]代表取締役

1. 緒言

ヒトの赤血球は、約 120 日の生涯で心臓を起点に血管内を約 17 万回循環する。その間浸透圧ストレス、酸化ストレス、機械的ストレスなどのストレスに晒される。核や細胞内小器官のない赤血球の細胞修復は不十分で、ダメージは蓄積して行く。

老化赤血球は、ATP 含量が低く、Gardos channel の発現により細胞内に Ca^{2+} が流入し、 K^{+} と水が流出し脱水傾向となる。また赤血球膜は流動性が低下してホスファチジルセリンが表在化し変形能は低下する。ダメージが蓄積した老化赤血球はやがて脾臓で捕捉されマクロファージに貪食される。

2. 赤血球の変形能

赤血球は自身の直径より狭い毛細血管を通過するため変形する必要がある。この赤血球の変形し易さを赤血球の変形能という。ひと頃「血液サラサラドロドロ」という健康用語が流行ったが、血球細胞の大部分を占める赤血球の変形能もこの「血液サラサラドロドロ」に大いに貢献している。実際、血管径 300 μm 以下ではポアズイユの法則は成り立たずみかけの血液粘度は径の減少と共に低下する (σ 効果)。これはずり応力による赤血球の変形が相対的な辺縁血漿層の厚みを増すことによる。すなわち赤血球の変形能は微小循環の最大の規定因子であり、赤血球の形状(表面積/体積比)、内部環境、膜の性状がこれを制御している。

赤血球の変形能はさまざまな疾患の診断や治療法の選択、治療効果の判定、予後の予測に重要であるが、赤血球の変形能を臨床検査に応用するには高い感度、定量性、再現性と安全性や経済性、迅速性が求められる。このため全ての条件を満たす臨床検査への応用には至っていない。

3. 変形能の測定法

赤血球の変形能には物理量としての定義はなく測定単位も測定法に依存する。赤血球の変形能を科学的に定量化するには大きく分けて三つの方法がある。

第一は個々の赤血球を解析対象とする micro pipette 法や optical tweezer 法である。赤血球膜に関連した変形能を評価できるが様々な加齢段

階にある赤血球の集団としての情報は得にくい。第二は赤血球集団に回転流動をかける rheometer や ektacytometry である。高粘度条件での楕円変形を解析する点で生理的限界はあるが優れた定量性と再現性が特徴である。第三は人工流路を用いて赤血球浮遊液の通過性(ろ過能)を評価するろ過法である。生理的測定法ではあるが人工流路の標準化や規格化という問題を今後に残している。

4. 血管内溶血とエリプトーシス

赤血球は過度に傷害されると変形能が大きく低下して寿命を待たずに溶血する。溶血は ADP, arginase, Hb を血管内に放出するので、Hb は NO を捕捉し、arginase は L-arginine を分解し、ADP は血小板を活性化する。これにより血管内皮機能は障害され血管は攣縮して血栓傾向をきたす。このため生体はエリプトーシスを誘導して血管内溶血を回避する。エリプトーシスは赤血球自殺死で体細胞のアポトーシスに相当し、老化赤血球と似た処理過程を経て行われる。しかし過度のエリプトーシスは貧血を招き、エリプトーシスは様々な要因でコントロールされていると予想される。

5. 結言

赤血球はその生理機能である変形能により微小循環を規定しており、変形能の測定は臨床的にも重要であるが、全ての条件を満たす理想的な測定法はなく、さまざまな測定法を発展改良している現状である。慢性的な溶血は内皮機能障害・血管攣縮・血小板の活性化を起こし血栓形成につながる。このためエリプトーシスを誘導して溶血を回避する生体メカニズムが予想され今後の研究の進展が期待される。

謝 辞

発表に関連する研究は一部経産省戦略的基盤技術高度化支援事業補助金によるものでありここに深謝する。

文 献

- 1) Maruyama, T., Fukata, M. and Fujino, T.: Physiological and pathophysiological significance of erythrocyte senescence, density, and deformability. J Biorheol, **34**, 61-70, 2020.

要旨

論文賞受賞講演

有限要素法を用いた半周性石灰化病変冠動脈モデルにおける カッティングバルーンの拡張解析

朱 暁冬*, 岩崎 清隆**

*早稲田大学 理工学術院 総合研究所 [〒162-8480 東京都新宿区若松町 2-2]

**早稲田大学 創造理工学部 総合機械工学科

1. 緒言

高度石灰化した狭窄冠動脈において高分子製のバルーンの外側に金属製のブレードを付けた“カッティングバルーン”という医療機器を拡張し、硬い石灰化部を破壊する治療技術があるが、どのような病変で効果を発揮するかは明確になっていない。そこで、石灰化病変部位の幾何的特徴をモデル化し、カッティングバルーンモデルを用いて冠動脈の半周性石灰化モデルを内側から拡張する有限要素解析を行い、応力集中部位とその大きさを明らかにし、バルーン拡張径とブレードの向きが石灰化部および正常血管側への応力に及ぼす影響を検討した。

2. 方法

まず、バルーンモデルの外側から圧縮機器を用いて径を小さくすることで、折り畳み形状を構築した。次に、ブレードとパットモデルを長軸方向にバルーンモデルの折り込まれている表面に取り付けた。長さが10mmであるバルーンの拡張径2.0mm, 2.25mm, 2.5mm, 2.75mm と 3.0mm の5個のカッティングバルーンモデルを構築した。

石灰化狭窄冠動脈モデル内においてバルーンの内表面に圧力負荷を0~12atmまで作用させ、5個のカッティングバルーンの拡張解析を行った。ブレードの向きは半周性石灰化モデル側にブレード1枚を置く場合(Type1)と2枚を置く場合(Type2)を実施した(図1)。石灰化モデルおよび正常血管側モデルに生じる最大引張主応力を解析した。臨床では一般的に正常血管内径とバルーン拡張径の比は1:1で選択することが多いが、その根拠は明確ではない。本研究では、正常血管の内径と比較して小さな拡張径のバルーンを選択した際に病変部、正常血管側に作用する最大主応力を解析し、効果的かつ安全なバルーン径の選択について検討した。



図1. 半周性石灰化モデル内における拡張解析

3. 結果

半周性石灰化モデルの両端部、および、正常血管モデルと石灰化モデルとの境界部近傍において応力集中が起きた。選択するバルーンの拡張径が大きいほど、応力の最大値が高くなることが分かった。また、Type1とType2を比較すると、Type2の方が石灰化モデルに生じる応力最大値がそれぞれ1.38倍, 1.54倍, 1.44倍, 1.42倍と1.43倍高く、かつ、正常血管側モデルに生じる応力最大値がそれぞれ2.01倍, 2.33倍, 2.16倍, 1.89倍と1.65倍低いことが明らかとなった。

4. 考察

バルーン拡張径の大きい方が石灰化病変を破壊する効果があると同時に正常血管側に損傷を与えるリスクが高くなる。ブレード2枚が石灰化モデル側にあたる場合のほうが石灰化病変部を拡張することと血管損傷リスクを低減することができると考えられた。さらに、この場合、血管内径より拡張径が0.25mmと0.5mm小さいカッティングバルーンでも最大主応力の観点から評価すると石灰化病変部位の拡張効果があり、合わせて、正常血管と石灰化部の境界部に生じる応力が小さく血管損傷のリスクが低減すること考えられた。

5. 結言

有限要素法を用いて石灰化狭窄冠動脈モデル内においてカッティングバルーンの拡張解析を実施した。正常血管径と比較して0.25mm又は0.5mm小さい直径のカッティングバルーンを選択すると、石灰化部に作用する最大主応力を高値に保ちつつ、正常血管側に生じる応力を顕著に低減でき、血管損傷のリスクを小さくできると考えられた。本研究から、カッティングバルーンをより効果的で安全に使用する指針を得ることができた。

謝 辞

本研究は、厚生労働省革新的医療機器等国際標準獲得推進事業のご支援を得て行った。ここに関係者諸氏に厚くお礼申し上げる。

要旨

6月4日(土)

16号館 503 教室

OS1

血管内治療

OS2

循環器系ダイナミクスと疾患

CFD 解析を用いた脳動脈瘤壁の菲薄領域と血行動態の関連性の調査

増田和範^{**}, 高尾 洋之^{***,****}, 藤村 宗一郎^{**,*}, 嶋崎 昭太^{****}, 内川 隼杜^{**}, 葛西 智基^{**}

角南 昭太^{**}, 湯澤 和也^{**}, 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

^{***}東京理科大学 工学部 機械工学科 ^{****}東京慈恵会医科大学 脳神経外科

^{*****}厚木市立病院 脳神経外科

1. 緒言

脳動脈瘤の瘤壁が薄い菲薄領域は、外科的治療時にデバイス等によって刺激することで破裂する可能性が高い。菲薄領域を術前に把握することで術中破裂のリスクを減らして安全な治療が可能となるが、既存の画像診断装置等では菲薄領域の特定は困難である。近年、数値流体力学 (CFD : computational fluid dynamics) を用いて、菲薄領域と血行動態との関連性の調査が行われているが、菲薄領域とされる箇所は専門医によって定性的に判別されたものであり、定量的な判別には至っていない。本研究では、脳動脈瘤に対して CFD 解析を行い、菲薄領域を定量的に評価することで、菲薄領域と血行動態の関連性を調査することを目的とする。

2. 手法

本研究では、開頭クリッピング術が施された脳動脈瘤 55 症例 (MCA:36 症例, ACA:19 症例) を解析対象とした。これらの症例に対して CFD 解析を行い、脳動脈瘤壁面における無次元化圧力差 (PD : pressure difference), 壁面せん断応力 (WSS : wall shear stress), WSS の発散 (WSSD : wall shear stress divergence) を評価した。各パラメータの 90 パーセンタイル以上の値を示す領域を High 領域, 10 パーセンタイル以下の値を示す領域を Low 領域と定義した。本研究では, HighPD 領域, HighWSS 領域, LowWSS 領域, HighWSSD 領域の 4 領域と, これらの領域 2 種類を組み合わせた 6 領域の計 10 領域を関心領域 (RoI : region of interest) として定義した。また, RGB 値を用いて赤みの程度を表す cR 値 (comprehensive red value) を式(1)で定義し, 術中画像の各ピクセルにおける cR 値を算出した。

$$cR = \left\{ 255 - \frac{1}{2}(G + B) \right\} \times \frac{R}{255} \quad (1)$$

瘤全体の cR 値の平均値以上の cR 値を持つ領域を菲薄領域と定義した。最後に, RoI の面積に対する RoI 中の菲薄領域の面積の割合を一致率として算出した。

3. 結果及び考察

全 55 症例における各 RoI の平均一致率と代表症例として Case1 の一致率を表 1 に示す。また, 図 1 に, 術中画像と CFD の結果を示す。コンター図中の実線で囲まれた領域は, それぞれ菲薄領域と RoI を示す。1 種

類のパラメータのみで定義した RoI における平均一致率は, HighPD 領域, HighWSSD 領域, HighWSS 領域, LowWSS 領域の順に高かった。最も高い一致率を示した HighPD 領域では, 血流の衝突により壁面垂直方向にかかる力が大きくなるため, 瘤壁が菲薄化した可能性がある (図 1(a)(b)(c)参照)。次に, HighWSSD 領域では, 血流による壁面に沿った引張り力により瘤壁が菲薄化したと考えられる (図 1(a)(b)(d)参照)。また, 表 1 より 2 種類のパラメータを組み合わせで定義した RoI の平均一致率は, いずれの場合においても HighPD 領域の平均一致率を下回っていた。しかし, 一致率の高い HighPD 領域だけでは評価できていない菲薄領域も存在することが確認でき, その領域は HighWSSD 領域に含まれていた (図 1(d)破線部参照)。

4. 結言

HighPD 領域, HighWSSD 領域, HighWSS 領域, LowWSS 領域の順に平均一致率が高く, これらのパラメータが菲薄化に関与していることが示唆された。また, HighPD 領域と HighWSSD 領域を同時に考慮することで, 単一のパラメータでは特定できない菲薄領域を特定できる可能性がある。

Table 1 Match Rate

RoI	Mean (±SD) [%]	Case1 [%]
HighPD	60.6(±21.4)	97.7
HighWSS	51.8(±21.8)	79.6
LowWSS	40.9(±28.5)	41.3
HighWSSD	52.5(±20.2)	86.1
HighPD or HighWSS	56.8(±18.8)	88.5
HighPD or HighWSSD	56.9(±18.7)	89.4
HighWSS or LowWSS	48.0(±17.2)	52.3
HighWSS or HighWSSD	52.9(±18.0)	82.4
LowWSS or HighPD	53.6(±15.9)	66.7
LowWSS or HighWSSD	47.5(±14.9)	62.4

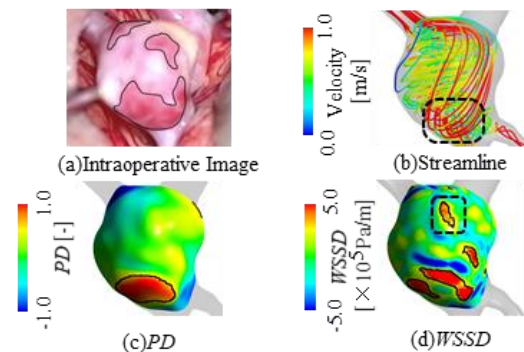


Fig.1 Operative Image and Results of CFD (Case1)

脳動脈瘤におけるコイル塞栓術後の再開通因子に関する調査

内川 隼杜^{*,**}, 高尾 洋之^{***,****}, 藤村 宗一郎^{***}, 角南 昭太^{***}, 葛西 智基^{***},
湯澤 和也^{***}, 増田 和範^{***}, 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

東京理科大学 工学部 機械工学科 *東京慈恵会医科大学 脳神経外科

1. 緒言

未破裂脳動脈瘤に対する脳血管内治療の一種であるコイル塞栓術において、術後の再開通が問題となっている。先行研究では、再開通にはコイル充填率 (VER : Volume Embolization Ratio) が主に関与していると報告されている。しかし、 VER が同程度であっても安定に推移した症例と再開通を認めた症例とが混在している。また、血行動態や形態的な要因も、 VER に加えて再開通に関与する可能性がある。このため、本研究では、コイル塞栓術により治療された脳動脈瘤で、 VER が同程度の症例に着目する。数値流体力学 (CFD: computational fluid dynamics) による血流解析を実施し、再開通に関与する血行力学的及び形態的な因子を明らかにすることを目的とする。

2. 手法

コイル塞栓術により治療された脳動脈瘤のうち、大きさが 5~10 mm かつ術後 1 年以上の経過観察が行われ、 VER が 15~20% であった再開通 (Recanalized) 7 症例 (ICA:1, MCA:3, ACA:3), 安定 (Stable) 18 症例 (ICA:6, MCA:3, ACA:9) の計 25 症例を解析対象とした。なお、コイル塞栓術後に再開通を認め、再手術が行われた症例を再開通症例と定義し、コイル塞栓術後に 1 年以上再開通を認めず安定に推移した症例を安定症例と定義した。コイル留置後の脳動脈瘤として、先行研究で報告されている仮想コイル技術によりコイル形状を再現した。計 25 症例に対して CFD 解析を行い、形態学的パラメータ 3 種類、血行力学的パラメータ 34 種類を算出し、Mann-Whitney の U 検定を用いて再開通症例群と安定症例群間で 2 群間比較を行い、再開通因子の調査を行った。さらに、医療用画像を用い、術直後および 1 年後の経過観察時におけるコイル形状を再構成し、コイル形状の変化とネック面における血行動態の関連について調査を行った。

3. 結果及び考察

再開通・安定症例群間の 2 群間比較において統計学的有意差を示した各パラメータ、及び VER について、平均値並びに p 値を表 1 に示す。血行力学的パラメータでは、脳動脈瘤内へ流入する流れのうち、ネック面における面垂直方向の流速 (NV_{neck})、血液流入面積と

ネック面面積の比 (inflow area ratio: IAR) に統計学的有意差が認められた。一方、形態学的パラメータは統計学的有意差を示さなかった。再開通症例では、 NV_{neck} が高く、 IAR が低くなる傾向にあり、コイル留置後の脳動脈瘤において、速い血流が集中的に脳動脈瘤内に流入していることを示している。代表症例における NV_{neck} と、術直後および 1 年後経過観察時に取得したコイルの形状を図 1 に示す。再開通症例は、安定症例と比較して脳動脈瘤内に流入する血流速度が速く、血流衝突が集中的に生じる位置と 1 年後経過観察時のコイルが潰れていった位置が一致していた (図 1(A)(C)丸線部参照)。これらのことから、再開通症例では脳動脈瘤内に流入する速い血流がネック部のコイルの一部に集中して衝突することで、コイルに大きな負荷が生じ、再開通が誘発された可能性が考えられる。以上より、再開通因子について調査する際は、 VER だけでなく CFD 解析を用いて得られる血行力学的パラメータも合わせて評価する必要があると考えられる。

4. 結言

脳動脈瘤の再開通には、 VER だけでなく脳動脈瘤内に流入する血流速度および流れの集中度が関与していると示唆された。これら血行力学的因子を考慮することで再開通を予測出来るようになる可能性がある。

Table 1 Results of Mann-Whitney U Test

Parameters	Mean ($\pm$ SD)		p -value
	Recanalized	Stable	
VER [%]	16.7($\pm$ 0.29)	17.8($\pm$ 1.43)	0.11
IAR [-]	0.32($\pm$ 0.04)	0.41($\pm$ 0.07)	<0.01*
NV_{neck} [-]	0.93($\pm$ 0.11)	0.82($\pm$ 0.14)	0.04*

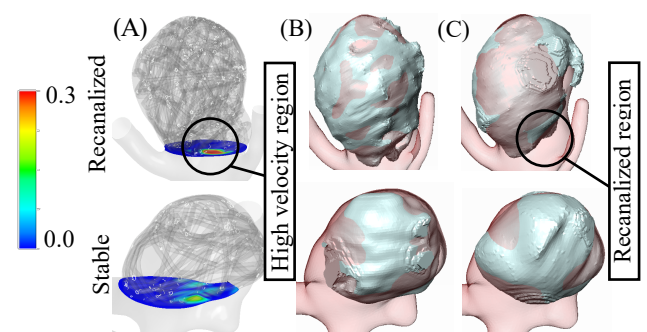


Fig.1 (A) NV_{neck} (B, C) Coil Mass from DSA Image at Immediately after Embolization and Over a-Year Follow-up

脳動脈瘤内血流解析における出口境界条件の比較 ～異なる部位に形成された脳動脈瘤での検討～

牧野成晃*, 島野健仁郎**, 白鳥英**, 永野秀明**

* 東京都市大学大学院 総合理工学研究科 機械専攻 [〒158-8547 東京都世田谷区玉堤 1-28-1]

**東京都市大学 機械システム工学科

1. 緒言

血管の分岐部で形成された脳動脈瘤を対象とした血流解析には、様々な出口境界条件(Outlet BC)が用いられている。主に、出口圧力を 0Pa とする Zero Pressure, 出口流量比を出口血管径の n 乗比とする Power Law が多くの解析で用いられ、さらに、末梢血管圧力を基に出口圧力を決める Windkessel Model も一部で用いられているが、これらの Outlet BCs が瘤内の血行動態に与える影響に関する検討は少ない。そこで、本研究では様々な Outlet BC を与えて血流解析を行い、瘤内の壁面せん断応力(WSS)にどの程度差異を及ぼすか検討した。

2. 解析方法

本研究では、中大脳動脈(CaseA), 内頸動脈(CaseB), 脳底動脈(CaseC)と、形成部位の異なる 3 つの脳動脈瘤を対象に解析を行った。全ての脳動脈瘤は血管の分岐部で形成されており、血管の分岐数がそれぞれ異なる。解析には ANSYS Fluent v19.2 を使用し、流入条件には Hagen-Poiseuille 流れを与え、定常解析を行った。Outlet BC には、Zero Pressure (ZP), Power Law (PL), Windkessel Model (WM) をそれぞれ与え、PL に関しては、指数 n を 2.0~4.0 の 0.5 刻みで与えた。なお、ヒト由来情報の使用に関しては提供元病院にて承認を得ている。

3. 解析結果

Outlet BC は分岐での流量比を決定し、結果的に瘤内への流入量および瘤内 WSS 分布に影響を及ぼす。Table.1 に各 Outlet BC で定常解析を行った際の瘤内 WSS の最大値(Max), 最小値(Min)と平均値(Ave)をモデルごとに示す。なお、PL の横に記すのは指数 n の値である。

各モデルにおいて、流量比に大きな差異が見られた PL020 と PL040 を比較する。Case A では、Max_WSS で 0.28Pa, Min_WSS で 0.02Pa, Ave_WSS で 0.33Pa, Case B において、Max_WSS で 0.67Pa, Min_WSS で 0.07Pa, Ave_WSS で 0.29Pa, Case C においては、Max_WSS で 2.65Pa, Min_WSS で 0.00Pa, Ave_WSS で 0.24Pa の差異がそれぞれ見られた。

Table.1 WSSs calculated with various outlet BCs

Model	WSS [Pa]	Boudary Condition						
		ZP	WM	PL020	PL025	PL030	PL035	PL040
Case A	Max_WSS	5.10	5.04	4.83	4.89	5.04	5.11	5.11
	Min_WSS	0.03	0.03	0.05	0.04	0.03	0.03	0.03
	Ave_WSS	0.53	0.61	0.80	0.70	0.61	0.54	0.47
Case B	Max_WSS	10.78	10.94	11.01	10.83	10.65	10.50	10.34
	Min_WSS	0.08	0.05	0.02	0.06	0.09	0.10	0.09
	Ave_WSS	2.74	2.77	2.82	2.74	2.69	2.61	2.53
Case C	Max_WSS	8.58	9.05	6.97	8.09	9.00	9.53	9.62
	Min_WSS	0.02	0.02	0.01	0.01	0.02	0.02	0.01
	Ave_WSS	1.59	1.59	1.43	1.51	1.59	1.64	1.67

4. 考察

血行動態と破裂の関連性について Meng らは、高 WSS は壁細胞、低 WSS は炎症細胞を介した破裂経路を誘発すると述べている¹⁾。本研究ではどのモデルにおいても病理的な高 WSS は見られず、Outlet BC の違いによる Max_WSS の差異にも著しく大きい差異は算出されなかったことから、高 WSS に着目した破裂予測に影響する可能性は低いと考える。一方、CaseB において、各 Outlet BC の Min_WSS の平均値(0.07Pa)を基準とした場合、PL020 は 32.1%, PL040 は 130.9%であり、98.8%の無視できない差異が見られた。これは、低 WSS に着目した破裂判断に影響を及ぼす可能性があることを示唆する。また、CaseA において、各 Outlet BC の Ave_WSS の平均値(0.61Pa)を基準とした場合、PL020 は 130.8%, PL040 は 77.8%であり、53.0%の差異と比較的大きい。これは、瘤内での residence time の差異が大きいことが示唆される。

5. 結言

複数の出口境界条件を与え瘤内の WSS 値を比較した結果、全てのモデルではないが、最小 WSS と平均 WSS に無視できない差異が見られ出口境界条件の選定の重要性が示唆された。今後の展望として、拍動を考慮した非定常解析での検討を進めていく。

文 献

- 1) Meng, H., et al. High WSS or low WSS? Complex interactions of hemodynamics with intracranial aneurysm initiation, growth, and rupture: toward a unifying hypothesis. AJNR Am. J. Neuroradiol. 35, 1254-1262 (2014).

解離した胸部大動脈の拡張期と収縮期における 隔壁の形状に関する有限要素解析

山田宏*, 小川凌司*

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

1. 緒言

大動脈解離では内膜の裂け目から血液が流入し、中膜の円周方向と管軸方向に裂け目が広がる。中膜が円周方向に大きく裂けると隔壁は偽腔側に膨らむ傾向があるが、隔壁の CT 画像の短軸断面形状は様々である^{1,2)}。隔壁の形状は真腔と偽腔の間の血圧差にも依存し、大動脈弓終端の CT 画像例では拡張期で真腔側に、収縮期で偽腔側にやや膨らんでいた¹⁾。Rolf-Pissarczyk らは真腔と偽腔の圧力を拡張期で 9.6 kPa と 10 kPa、収縮期で 16 kPa と 15.6 kPa として 3 次元有限要素解析を行った結果、隔壁は拡張期でほぼ真っすぐで、収縮期で偽腔側に膨らんだ³⁾。これに対し、本研究では著者の既報をふまえて円板状の有限要素モデルを作成し、上述の真腔と偽腔の圧での隔壁形状を調べた⁴⁾。

2. 方法

解離した胸部大動脈壁を Fig. 1 のように除荷状態で内径約 18 mm の真腔を囲む壁厚 2.3 mm の円板状の血管壁と楕円板状に膨隆した偽腔自由壁からなるようにモデル化し、真腔と偽腔の間の血圧差が隔壁の形状に及ぼす影響について、Abaqus/Standard 2021 (SIMULIA)を用いて有限要素解析を実行し、調べた。

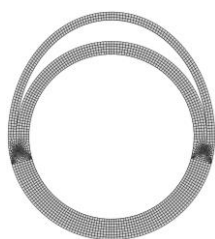


Fig. 1 A finite element model with a false-lumen expansion.

Fig. 1 において、解離は除荷状態で壁厚の約 6 割の位置とし、中心角 190° の範囲に渡り、偽腔は最大で 2.4 mm だけ広がっているものと仮定した。また、壁の変形特性は Yamada らの 67 歳男性の解離した大動脈試験片の単軸引張条件下での応力-ひずみ関係に合わせた等方非圧縮の超弾性モデルで表した⁵⁾。境界条件として、最初に管軸方向伸び

1.1 に相当する強制変位を管軸方向の一面に与え、次に文献と同様に血圧を与えた⁴⁾。

3. 結果と考察

Fig. 2 の左右に拡張期と収縮期における大動脈の形状の計算結果を順に示す。拡張期では隔壁が真腔側に大きく膨らんで真腔が著しく狭まって偽腔が広がり、収縮期では隔壁が偽腔側に膨らんで偽腔が狭まっている。前述の Rolf-Pissarczyk らの解析で隔壁の移動が小さかったのは円周方向の解離範囲が小さかったためと考えられ、本研究でも中心角 160° の場合に同様に傾向を得た³⁾。真腔と偽腔の圧が 12.8 kPa のときは隔壁は概ね真っすぐで、真腔と偽腔の圧が等しければ解離が円周方向に進むと隔壁は偽腔側に膨らむ⁴⁾。心周期での隔壁の形状決定因子のほか、Wang らは隔壁の座屈を隔壁の形状決定因子に挙げ、CT 画像の症例を再現している²⁾。

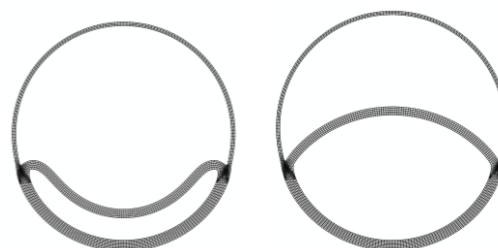


Fig. 2 Deformed models at diastole (left) and systole (right).

4. 結言

拡張期と収縮期における真腔と偽腔の血圧を文献に基づいて適用して円板状の解離した大動脈の有限要素解析を行った。拡張期では真腔の幅が顕著に減少し、収縮期では偽腔側にやや膨らみ、拡張期に大きな形状変化が生じることを示唆した。

文 献

- 1) Ganten, M. K., et al.: Eur. J. Radiol., **72**, 146-153, 2009.
- 2) Wang, L., et al.: Biomech. Model. Mechanobiol., **16**, 139-149, 2017.
- 3) Rolf-Pissarczyk, M., et al.: Comput. Methods Appl. Mech. Eng., **373**, 113511, 2021.
- 4) 小川凌司, 山田宏, 関岡清次: 日本機械学会第 32 回バイオフィロンティア講演会講演予稿集, 2B21, 2022.
- 5) Yamada, H., et al.: J. Biomech., **48**, 3267-3273, 2015.

深層学習を用いた磁気共鳴流体解析のノイズ低減

中島 美来¹ 磯田 治夫^{2,1} 平野 祥之¹

1 名古屋大学大学院医学系研究科 総合保健学専攻 2 名古屋大学脳とこころの研究センター

1. 緒言

ヒトの血流動態の情報を得る方法には計算流体解析 (computational fluid dynamics, CFD)、磁気共鳴流体解析 (magnetic resonance fluid dynamics, MRFD) などがある¹⁾。MRFDは、4D Flow MR imaging (MRI)²⁾ と3D time of flight MR angiography (3D TOF MRA) のデータをヒトから直接短時間に収集でき、CFD と同様な血流情報が得られるが³⁾、4D Flow MRI に由来するノイズが含まれるため、解析結果の3次元速度ベクトル場の精度が低下する。本研究の目的は、深層学習を用いた人工知能を用いてMRFD 解析結果のノイズを低減し、CFD 解析結果に匹敵する精度を持つ結果に変換することである。

2. 方法

本研究は本学の生命倫理審査委員会の承認を得た。教師データ作成の対象は、本学と関連2施設で4D Flow MRI が撮像され、CFD 解析が実施された脳動脈瘤を持つ患者23名とし、CFD 解析で得られた3次元速度ベクトルデータを、正解データとした。MRFD を模倣したノイズを加えるために、正解データの3次元ベクトルデータから位相画像と強度画像を作成し、高速フーリエ変換を用いてk空間上でガウス分布ノイズを加え⁴⁾、入力データとした。反転を用いてデータ増強を行い、教師データセットとして合計9972個のデータを作成した。深層学習モデルの構造は、ノイズ除去モデルであるWin5-RB⁵⁾の構造を利用した。深層学習モデルの学習後に、学習に用いていない患者5名のCFD 解析・MRFD 解析データを用いて、予測精度を検討するために定性評価および定量評価を行った。定量評価の評価指標は、CFD 解析結果を基準として、血流速度ベクトルの角度類似指数 (Angle Similarity Index, ASI)⁶⁾・血流速度ベクトルの強度類似指数 (Magnitude Similarity Index, MSI)⁶⁾とした。

3. 結果

ベクトル図では、モデルによる予測データで速度ベクトルの乱れの改善が見られ (図1)、流線図では瘤内

の流線のつながりが良好であった (図2)。ASI・MSI も予測データで向上した。

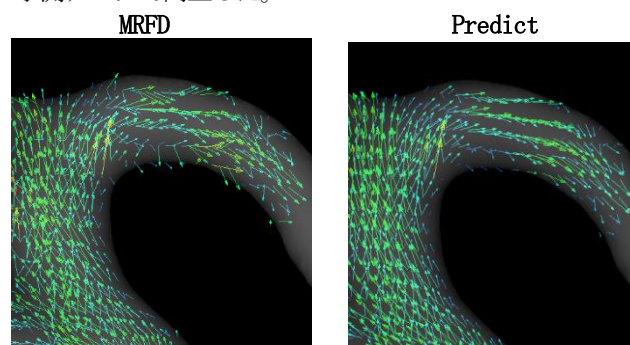


図1 MRFD 解析を用いた精度検証 3次元速度ベクトル図

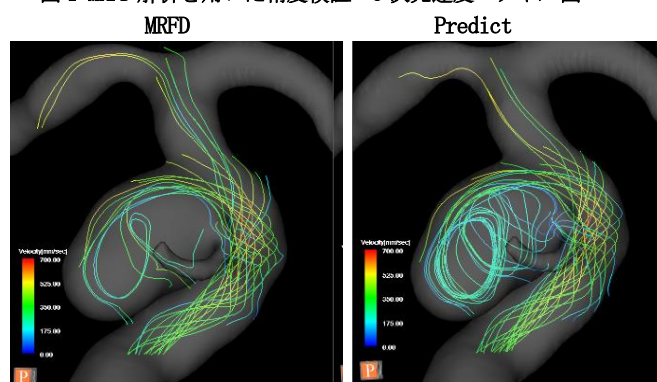


図2 MRFD 解析を用いた精度検証 流線図

表1 MRFD 解析結果を用いた精度検証

		Case01	Case02	Case03	Case04	Case05
ASI	MRFD	0.71	0.80	0.82	0.71	0.73
	Predict	0.74	0.83	0.83	0.75	0.76
MSI	MRFD	0.85	0.88	0.83	0.85	0.84
	Predict	0.86	0.88	0.84	0.86	0.85

4. 考察

定性的・定量的にノイズが低減されたことから、今回作成した深層学習モデルは、4D Flow MRI 由来のノイズを低減できたと考えられた。

5. 結言

4D Flow MRI 由来の3次元速度ベクトルのノイズを低減する深層学習モデルを開発した。

文献

- 1) Isoda H, et al. Neuroradiology 2010; 52: 913-20.
- 2) Markl M, et al. J Magn Reson Imaging 2003; 17: 499-506.
- 3) Isoda H, et al. Neuroradiology 2010; 52: 921-8
- 4) Ferdian E, et al. Frontiers in Physics 2020; 8: 138
- 5) Liu P, et al. arXiv e-prints arXiv:1707.05414 (2017)
- 6) J Biomech Eng 2014; 136:4.

糖尿病性合併症は抗酸化作用で予防できるか

仲本 博

野崎徳州会病院 附属研究所 病理研究部 〒574-0074 大阪府大東市谷川 2 丁目 10-50

1. 緒言

糖尿病は、日本人の生活水準の向上と食生活の欧米化にともない、増加し続け今や5～6人に1人が糖尿病および糖尿病予備軍とされるに至っている。糖尿病は、血糖コントロール治療を行っても合併症を伴う事が多く、糖尿病性腎症は、透析導入の第一の原因となっている。腎不全の最初の兆候は、蛋白尿であるが、これを防ぐ有効な薬は数少なく、降圧剤のARB、ACE阻害剤などが知られているだけである。糖尿病における高血糖の際には、酸化ストレスが亢進しており、血管内皮が障害を受け、結果として組織障害が生じる。酸化ストレスを軽減させれば、理論上これらの障害が抑制される。

本研究では、抗酸化作用の強い漢方薬(1)が、腎症に有効であるかどうか検討する。ビタミンCやEの抗酸化作用は、実用的治療法に至っていない。我が国の医療では、西洋医学の薬剤だけでなく、漢方薬も用いられている。漢方薬によってROSを抑制することで合併症を防ぐことが出来れば、抗酸化作用を利用した糖尿病合併症対策として新規性があるだけでなく、画期的である。

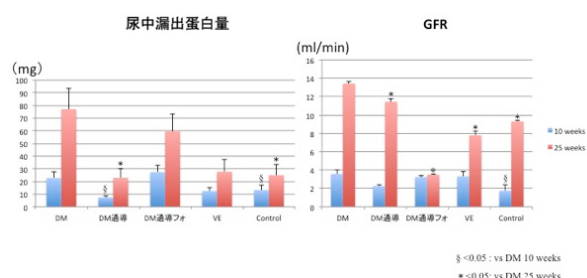
2. 実験方法

ラットにSTZ(ストレプトゾトシン、55mg/kg)を腹腔内注射し、糖尿病を誘発した。さらに、糖尿病ラットに対して漢方薬である通導散、通導散と血糖降下剤であるフォシーガ、強力な抗酸化剤であるVEを投与した群を設け、薬剤の投与のないコントロール群と単に糖尿病である群を合わせ計5群(各群5匹ずつ)を用いた。これらの薬剤を糖尿病ラットに投与し、コントロール群、糖尿病群と比較することで、合併症への効果を検討する。指標としては、1日蛋白漏出量と糸球体濾過量を用い、10週と25週で測定した。糖尿病では早期には、過剰濾過という現象が生じるが、やがて低下に転ずるとされる。また、尿中への蛋白漏出は異常であり、腎不全の兆候である。抗酸化力は、BAP、d-ROMで評価する。薬剤は、餌に混ぜ、体重比でヒトに対する1日投与量の5倍に設定した。餌と水は、好きなだけ食べ飲めるようにした。

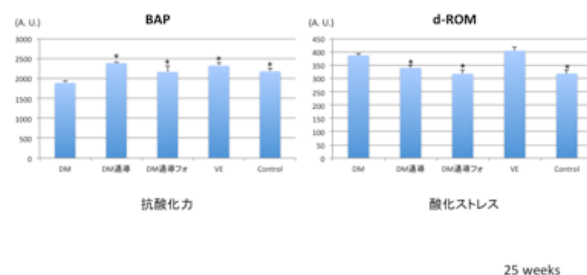
3. 実験結果と考察

尿中蛋白漏出量については、抗酸化作用のある通導散とビタミンEでは、糖尿病群と比して、有意に抑制されていた。

GFR(糸球体濾過率)についても同様の結果であった。通導散とビタミンEでは、糖尿病群と比して、有意に抑制されていた。なお、通導散にフォシーガを投与した群では、コントロールよりもGFRを抑制していた。



抗酸化力は、通導散、通導散にフォシーガ、ビタミンEのいずれの群でも糖尿病群と比して増加していた。酸化ストレスは、通導散、通導散にフォシーガの群で有意に低下していた。



4. 結言

漢方製剤である通導散によって蛋白漏出量が抑制され、GFRも抑制され、抗酸化力は増加し、酸化ストレスは減少した。このことは、合併症抑制の効果があ

文 献

- 1) Sato N, Li W, Takemoto H, Takeuchi M, Nakamura A, Tokura E, Akahane C, Ueno K, Komatsu K, Kuriyama N, Onoda T, Higai K, Koike K. Comprehensive evaluation of antioxidant effects of Japanese Kampo medicines led to identification of Tsudosan formulation as a potent antioxidant agent. J Nat Med. 2019 Jan;73(1):163-172.

要旨

6月4日(土)

16号館 503 教室

SO

学会奨励賞応募講演

未変性アルブミンナノ粒子の創製と新規 DDS 担体への応用

青木 拓斗¹, 張 宏², 岡村 陽介^{1,2}

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

² 東海大学 マイクロ・ナノ研究開発センター

1. 緒言

ドラッグデリバリーシステム(DDS)は、薬剤担体の標的指向性により特異的に患部へ薬剤を送達する技術であり、薬剤使用量や副作用の軽減など患者への治療リスクを減少させる治療法である。

他方、アルブミンは血漿中に最も多く含まれるタンパク質であり、優れた生体適合性や生分解性から DDS 担体材料として注目されている。しかし、従来のアルブミン粒子は、加熱処理や有機溶剤の使用などの不可逆的な変性工程^{1), 2), 3)}を経て調製するため、生体適合性の低下が懸念される。

そこで、アルブミンに対し必要最小限の化学修飾を行い、それらの架橋反応により粒子化させることで、未変性のアルブミンからなるナノ粒子を調製する方法を提案する。さらに、ナノ粒子の形状を敢えて異型に設計し、標的界面との多点相互作用による接着性の向上を図る。本研究では、未変性アルブミン異型ナノ粒子の調製法を確立する共に、新規 DDS 担体への応用を目指す。

2. 実験方法

Succinimidyl 3-(2-pyridylthio)propionate (SPDP, 50 mg) を Dimethyl sulfoxide (DMSO, 200 μ L) に溶解させた後、ヒト血清アルブミン(HSA)水溶液(100 mg/mL, 15 mL)に添加した。得られた溶液を攪拌(r.t., 20 min)し、HSA にピリジルジスルフィド基を導入した(PD-HSA)。半量の PD-HSA 溶液(50 mg/mL, 10 mL)に D,L-Dithiothreitol (DTT)水溶液(1 M, 200 μ L)を滴下した後、攪拌(r.t., 10 min)し、ピリジルジスルフィド基を還元しチオール基とした(SH-HSA)。PD-HSA 溶液及び SH-HSA 溶液を等モル(50 mg/mL, 10 mL)になるように混合した後、加熱攪拌(60°C, pH4.9)し、HSA ナノ粒子を調製した。

紫外可視分光光度計(UV-Vis, UV-2600, 株式会社島津製作所社製)及び動的光散乱法(DLS, ELSZ-2000, 大塚電子社製)を用いて、各加熱攪拌時間における粒子分散液の濁度並びに粒子径を測定した。続いて、遠心分離機(CT15RE, HITACHI 社製)を用いて、粒子分散液を遠心精製(15000 rpm, 30 min, 4°C, 3 times)した後、走査型電子顕微鏡(FE-SEM, S-4800, HITACHI 社製)にて HSA ナノ粒子を観察した。最後に、円偏光二色性分散計(J-820, 日本分光社製)を用いて、得られた HSA ナノ粒子の CD スペクトル測定し、CD スペクトルの値から HSA ナノ粒子の α -ヘリックス含有量を算出した。

3. 実験結果

PD-HSA 及び SH-HSA の混合液を加熱攪拌したところ、徐々に白濁した。各攪拌時間の濁度及び粒子径は、攪拌時間の経過に伴い上昇した。続いて、混合液(濁度: 1.9)を遠心精製し、粒子径を測定したところ、粒子径は 255.0 ± 126.1 nm となった。また、電顕像から HSA ナノ粒子の形状は異型を示した(Fig. 1a)。HSA ナノ粒子の CD スペクトルは、未処理のアルブミン溶液と同様の波形を示し、 α -ヘリックス含有量においても $60.9 \pm 5.5\%$ と文献値(67.0%)⁴⁾と類似した値になった(Fig. 1b)。

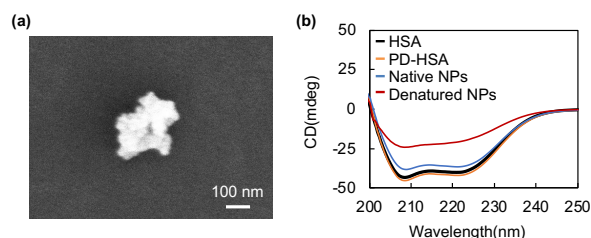


Fig. 1 Characterization of HSA nanoparticles. (a) FE-SEM image of HSA nanoparticles; (b) CD spectra of each HSA solution and nanoparticles.

4. 考察

PD-HSA 及び SH-HSA をアルブミンの等電点(pH4.8)付近で加熱攪拌することにより、アルブミンの負電荷の反発が抑制され、チオール-ジスルフィド交換反応が進行したと考える。また、化学修飾した官能基を介して HSA 間が架橋されたため、アルブミンの高次構造を維持した状態でナノ粒子が得られたと考える。

5. 結言

チオール-ジスルフィド交換反応を用いた HSA ナノ粒子の調製方法を確立し、未変性のアルブミンからなる異形ナノ粒子の創製に成功した。

謝 辞

CD スペクトル測定に関して、東海大学理学部化学科 岩岡 道夫教授、荒井堅太講師にご助言、ご指導を賜った。記して謝意を表する。

文 献

- 1) He, X.M., and Carter, D.C., *Nature*, **358**, 209 (1992).
- 2) Kramer, P.A. *J. Pharm. Sci.* **63**, 1646 (1974).
- 3) Takeoka, S. *et al. Biomacromolecules* **2**, 1192 (2001).
- 4) Chen, Y.H., *et al., Biochemistry*, **11**, 4120 (1972).

腸骨静脈ステントの圧縮負荷に対する長期的耐久性を 評価する加速耐久試験装置の開発に関する研究

中村亮太*, 村上 慶輔*, 北場紀香**, 陸洪澤*, 朱曉冬***, 岩崎清隆* * * * *

*早稲田大学大学院 創造理工学研究科 総合機械工学専攻 [〒162-0056 東京都新宿区若松町 2-2]

**早稲田大学大学院 先進理工学研究科 生命理工学専攻

***早稲田大学理工学術院総合研究所

****早稲田大学大学院 先進理工学研究科 共同先端生命医科学専攻

1. 緒言

腸骨静脈圧迫症候群の治療法の一つとして腸骨静脈ステント留置術があるが、本邦で承認されているステントはなく、適応外使用が行われている。また、腸骨静脈では、ステント破断や再狭窄が報告されており、その原因の一つとして、腰椎と動脈の間の静脈への動脈からの繰り返し圧縮負荷が挙げられる¹⁾。ステントを適用可能な圧縮率の範囲はわかっておらず、腸骨静脈ステントの耐久性の観点から、や適用可能な範囲を評価できる試験システムの構築が重要となる。そこで本研究では腸骨静脈ステントの耐久性評価に向けた圧縮負荷型加速耐久試験装置を開発することを目的とした。

2. 実験方法

圧縮負荷型加速耐久試験装置は、ボイスコイルモータ、遠赤外線ヒータ、腸骨静脈モデル、動脈モデル、腰椎モデルで構成し、繰り返し圧縮負荷をステントに作用する生体内力学負荷環境を模した試験装置を構築した。ボイスコイルモータは正弦波駆動させた。図1に圧縮負荷型加速耐久試験装置図を示す。周波数を変えて試験システムのモータを駆動し、共振が起きず、可能な限り高い周波数を調べた。そして、駆動周波数を34Hzと決定し、ステントを1本留置し、試験装置の溶液内温度及び圧力をそれぞれ生体内温度及び圧力として $37\pm 2^{\circ}\text{C}$ 、 $4\pm 2\text{mmHg}$ ^{2),3)}と定め、1週間(約198日相当)の試験を行った。ステントの観察にはハイスピードカメラを用いた。また、ステント破断の発生を評価するため、静脈モデル及びステントからの反力を測定する実験装置とした。

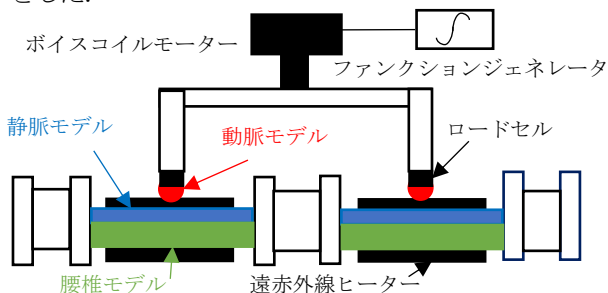


図1. 圧縮負荷型加速耐久試験装置

3. 実験結果

試験中における静脈モデル内温度・圧力は要求仕様の $37\pm 2^{\circ}\text{C}$ 、 $4\pm 2\text{mmHg}$ を満たした。198日間相当の試験期間ではステント破断は起こらず、ロードセル計測した反力に変化はなかった(図2)。

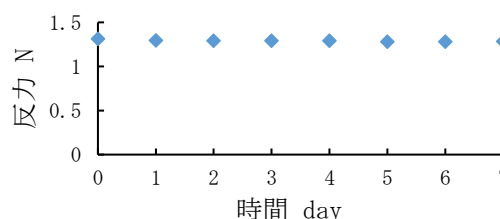


図2. 反力の測定結果

4. 考察

試験中における静脈モデル内温度・圧力は、試験の要求仕様を満たすことができた。ステントの反力を計測でき、今後ステントの10年相当(約4.5ヵ月)の耐久性評価を行う耐久試験システムを構築できた。

5. 結言

腸骨静脈ステントの耐久性を評価する圧縮負荷型加速耐久試験装置を開発した。34Hzで駆動でき、体内植込み型ステントの性能評価として承認申請に求められる10年相当の試験期間で、試験を実施していく。

謝 辞

本研究は厚生労働省革新的医療機器等国際標準獲得推進事業のご支援を得て行った。

文 献

- 1) Takuya Shida, et al., Investigation of adverse events associated with an off-label use of arterial stents and CE-marked iliac vein stents in the iliac vein: insights into developing a better iliac vein stent, Journal of Artificial Organs, 21, pp.254-260, 2018
- 2) Renato.V, et al., Right atrial pressure using ultrasounds, An old issue revisited with new methods, Journal of Clinical Medicine Research, 8, pp.569-574, 2016
- 3) Abdulaziz.A, et al., Central venous pressure from common iliac vein reflects right atrial pressure, Canadian Journal of Anaesthesia, 45, pp.798-801, 1998

要旨

6月4日(土)
16号館 503 教室

OS4

細胞・分子のメカノバイオロジー

細胞変形時における YAP 移動現象

肖 博元*, 大兼 健史*, 佐々木 沙織**, 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

YAP (yes-associated protein) は Hippo 経路の中心的な役割を果たし, 器官のサイズを制御することが知られている. また, YAP は Hippo 経路とは独立して機械刺激に応答し細胞質から細胞核へ移動することも知られている¹⁾. 力学変化を感知するメカノセンサーの一つアクチン骨格の関連が考えられているが, 力学刺激時に YAP の核への移動経路の詳細は不明である. 本研究では, 力学刺激時の YAP 移動現象に関して, 実験および数値解析をおこない比較検討をおこなった.

2. 実験方法

YAP 可視化・遺伝子導入

細胞内の YAP を可視化するために, pEGFP-C3-hYAP1 (17843, addgene) を使用した. 形質転換のため大腸菌 DH5α (9057, TaKaRa) に導入し, 大量培養をおこない濃度 1 μg/μl のプラスミド溶液を抽出した. 遺伝子導入によりプラスミドを胎児ラット皮膚角化細胞 (Fetal Rat Skin Keratinocyte: FRSK) 細胞に導入した. 遺伝子導入試薬として Hily Max (Dojindo) を使用し, 比率は導入剤 : DNA = 2 : 1 で行った.

細胞間接着剥離による変形誘導

先端径 4 μm となるよう熱処理したガラスピペットをマニピュレータに取り付け, 観察対象に隣接する細胞を損傷することで細胞変形を誘導した. 倒立顕微鏡 (ECLIPSE TE2000-S, NIKON) を使用し, 隣接細胞損傷後 10 分間蛍光観察を行なった. 画像は iQ3 (Andor) により露光時間 100 ms で PC に記録し, ImageJ (NIH) を用いて細胞内の蛍光強度を解析した.

生化学反応シミュレーション

生化学反応シミュレーションに, 細胞のモデリングとシミュレーションのため Virtual Cell (VCell) を用いた. VCell はコネチカット大学により開発された細胞シミュレータであり <https://vcell.org/> から無料でダウンロード可能である.

生化学反応モデル

生化学反応モデルは, Scott et al. のモデルを参考にした²⁾. 局所的な機械的刺激を再現するために, 局所的に細胞膜に存在する FAK の活性化を起こ

した. 活性化した FAK は細胞質に移行し, 細胞質の活性化した FAK によって, 細胞質に存在する RhoA の活性化を促進する. 活性化した RhoA は細胞膜に局在し, ROCK と mDia の活性化を促進する. 活性化した ROCK はミオシンと LIMK の活性化を促進する. 活性化した LIMK は Cofilin の活性化を抑制する. 活性化した mDia はアクチンの重合を促進する. 活性化した Cofilin はアクチンの重合を抑制する. 重合したアクチンは, 核膜に存在する LaminA の活性化を促進する. 重合したアクチンと活性化したミオシンは YAP の脱リン酸化を促進し, 核膜複合体を開口する. 開口した核膜複合体を通して, 脱リン酸化した YAP が核内に移行する.

3. 結果および考察

隣接細胞を損傷すると, 隣接細胞近傍の細胞質内の YAP-GFP 輝度は減少し, 隣接細胞から離れた細胞質内の YAP-GFP 輝度の上昇が観察された. また, 細胞核内の YAP-GFP 輝度が上昇し, 細胞内で不均一な分布が観察された.

FAK を固定した数値計算では, 細胞内の流動を考慮しない場合, 細胞質内の YAP は細胞質全体で様な濃度分布となった. 変形が生じた際に細胞内流動が生じると仮定し, 移流項を組み込んだ場合, 隣接細胞と離れた側の YAP 濃度上昇が観察され, 細胞変形による細胞質流動の存在が示唆された.

謝 辞

本研究の一部は公益財団法人高橋産業経済研究財団の助成を受けたものです.

文 献

- 1) Elosegui-Artola, A. et al.: Force Triggers YAP Nuclear Entry by Regulating Transport across Nuclear Pores. *Cell*, **171**, 1397-1410, 2017.
- 2) Scott, K.M., Fraley, I.S., and Rangamani, P.: A spatial model of YAP/TAZ signaling reveals how stiffness, dimensionality, and shape contribute to emergent outcomes. *PNAS*, **118**, e2021571118, 2021.

高浸透圧刺激による尿細管細胞内 Ca^{2+} 濃度変化と上皮間葉転換

坂元 尚哉*, 鈴木 敦詞*, 宮野 貴士*

*東京都立大学 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]

1. 緒言

腎臓病の病態進行において、コラーゲンなどの細胞外基質の過剰な蓄積を伴う腎線維化が知られている⁽¹⁾。腎線維化の進展に重要な役割を果たす現象として、尿細管上皮細胞が間葉系細胞へと分化する上皮間葉移行 (Epithelial-Mesenchymal Transition: EMT) が挙げられる⁽²⁾。EMT はサイトカインなど生化学的要因だけでなく、壁せん断応力や基質伸展刺激といった細胞形状変化を伴う物理的要因によっても誘導される^(3,4)。尿細管上皮細胞は尿生成のために様々なレベルの浸透圧にさらされており、高浸透圧環境下の細胞では、細胞内の水分流出に伴う細胞形状変化や細胞内構造変化など物理的要因がもたらされ、その結果として機能変化が引き起こされる可能性が考えられる。しかし、高浸透圧刺激が尿細管上皮細胞の EMT に与える影響について詳細は明らかになっていない。

浸透圧刺激に対する細胞応答の一つとしてカルシウムイオン (Ca^{2+}) 依存性の情報伝達経路が挙げられ、 Ca^{2+} 流入によって EMT が誘導される可能性が示されている⁽⁵⁾。そのため、尿細管上皮細胞において、高浸透圧刺激によって Ca^{2+} チャネルの活性化を引き起こされ、それに伴う細胞内への Ca^{2+} 流入がトリガーとなって、EMT 等の細胞機能に変化が生じる可能性が考えられる。

そこで、本研究では、高浸透圧刺激による尿細管上皮細胞内 Ca^{2+} 動態ならび EMT に及ぼす影響を調べた。

2. 実験方法

ラット尿細管上皮細胞 (NRK-52E, JCRB 細胞バンク) を実験に用いた。 Ca^{2+} 蛍光指示薬 Fluo-4AM (DOJINDO) を予め取り込ませた細胞に対して、顕微鏡ステージ上で浸透圧調節物質マニトールを 200 mM 含む高浸透圧刺激用培養液を与え、5 秒間隔でタイムラップス撮影を行った。得られた細胞内 Ca^{2+} 蛍光画像から画像解析ソフト ImageJ を用いて輝度を測定した。また EMT 評価として、上皮細胞マーカーである E-カドヘリンの免疫蛍光染色を施した細胞の顕微鏡観察を行った。

3. 実験結果・考察

尿細管上皮細胞に高浸透圧刺激を加えた結果、約 1.4 倍の有意な蛍光輝度上昇が認められた。高浸透圧刺激による Ca^{2+} の細胞内流入が生じたことを意味する。また、高浸透圧にさらした細胞では細胞間接着部での E-カドヘリン発現の消失が確認され、高浸透圧刺激が尿細管上皮細胞の EMT を誘導すると考えられた。浸透圧刺激感受性 Ca^{2+} チャネルの一つ Transient Receptor Potential Vanilloid 4 (TRPV4) の阻害薬 HC-067047 で予め処理した細胞に対して同様に高浸透圧刺激を加えたところ、 Ca^{2+} 細胞内流入および E-カドヘリン消失が生じなかった。高浸透圧刺激は Ca^{2+} チャネル TRPV4 の活性化を介して、細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇を引き起こし、尿細管上皮細胞の EMT 誘導に関与する可能性が示唆された。

4. 結言

高浸透圧刺激を負荷した尿細管上皮細胞において、細胞内 Ca^{2+} 濃度の上昇および EMT 誘導を確認した。浸透圧刺激誘導性 TRPV4 チャネルの活性化を介した細胞外 Ca^{2+} の流入が、尿細管上皮細胞の EMT を誘発するメカニズムの一つであることを示す結果が得られた。

謝 辞

本研究の一部は科学研究費補助金 (18H03521, 18K19934) および東京都高度研究 (R2-2) の援助の下、行われた。記して謝意を表す。

文 献

- 1) Eddy, et al, Adv. Chronic. Kidney. Dis., **6**, 353-365, 2005.
- 2) LeBleu, et al.: Nat. Med., **19**, 1047-1053, 2013.
- 3) Kunnen, et al.: Cell. Mol. Life Sci., **74**, 2283-2298, 2017.
- 4) Sato, et al.: J. Clin. Invest., **112**, 1486-1494, 2003.
- 5) Azimi, et al.: Endocr. Relat. Cancer, **23**, R517-R525, 2016.

壁せん断応力-法線方向動圧組み合わせ環境が 血管内皮細胞に及ぼす影響

高橋幸慈*1, 沢崎薫*1, 中村匡徳*2, 木村直行*3, 川人宏次*4, 坂元尚哉*1

*1 東京都立大学 機械システム工学科 [〒192-0397 東京都八王子市南大沢 1-1]

*2 名古屋工業大学

*3 自治医科大学さいたま医療センター

*4 自治医科大学

1. 緒言

大動脈二尖弁では弁口面積の減少により流速の上昇した血流が上行大動脈壁に衝突する⁽¹⁾。大動脈二尖弁は大動脈拡張・解離を伴うことが知られており⁽²⁾、大動脈二尖弁に伴う異常な血行力学環境との関係が示唆されているが、その詳細は明らかになっていない。

血管壁内膜に単層で存在する血管内皮細胞は、自身に作用する力学刺激に応じて機能や形態を変化させ、血管の恒常性維持において重要な役割を果たしており、内皮細胞の損傷や剥離は血管疾患に関与する⁽³⁾。我々はこれまでに上行大動脈壁への衝突流を再現した培養細胞実験において、細胞培養面の接線方向に作用する壁せん断応力と法線方向の動圧が共に上昇する領域でのみ内皮細胞の剥離や細胞間接着分子 PECAM-1 の発現低下が生じることを報告している⁽⁴⁾⁽⁵⁾。しかし、この現象が壁せん断応力と動圧の組み合わせ環境もしくはいずれか単独の刺激によって引き起こされているのか不明である。

本研究では、壁せん断応力と動圧それぞれが異なる領域で上昇するフローチャンバを新たに作製し、内皮細胞に対する壁せん断応力と動圧の組み合わせ環境の影響を検討した。細胞応答として、内皮細胞の剥離、また細胞間接着分子 PECAM-1 及び VE-cadherin の発現変化を調べた。

2. 実験方法

ヒト大動脈内皮細胞に対して傾斜した衝突噴流を負荷し、壁せん断応力と動圧が異なる領域での上昇するフローチャンバを用いた。チャンバ内の壁せん断応力及び動圧を数値流体解析により求め求めた。比較として、垂直に衝突噴流を負荷し壁せん断応力と動圧が共に上昇する組み合わせ環境を細胞に負荷した。2 時間の刺激負荷後、細胞核、細胞間接着分子 PECAM-1 及び VE-cadherin を蛍光観察し、画像解析ソフト ImageJ を用いて細胞密度及び細胞間接着分子の蛍光輝度を定量した。

3. 実験結果・考察

傾斜衝突噴流に伴い、最大約 16 Pa の壁せん断応力と最大約 77 Pa の動圧がそれぞれ単独で作用する領域において、内皮細胞の剥離と PECAM-1 及び VE-cadherin の発現低下は確認されなかった。細胞密度と PECAM-1 蛍光輝度に対して壁せん断応力と動圧を変数とした重回帰分析を行った結果、有意な関係は認められなかった。比較として行った垂直衝突噴流負荷による最大約 17 Pa の壁せん断応力と最大約 68 Pa の動圧の組み合わせ環境下では、細胞の剥離と PECAM-1 の発現低下が確認された。

以上の結果から、壁せん断応力と動圧の組み合わせ環境が細胞の剥離や PECAM-1 の発現低下に関与する可能性が示唆された。今後は、細胞-細胞間接着と密接に関与するアクチン細胞骨格に対する壁せん断応力と動圧の組み合わせ環境の影響を検討する予定である。

4. 結言

血管内皮細胞に対して壁せん断応力と動圧それぞれが単独で作用する環境を負荷した結果、組み合わせ環境で確認されていた細胞の剥離や細胞間接着分子の発現変化は認められなかった。細胞の剥離と細胞間接着分子の発現低下には壁せん断応力と動圧の組み合わせ環境が影響している可能性が示唆された。

文 献

- 1) Kimura, et al, *J Thorac Cardiovasc Surg.*, Vol. 153, No. 4, 52-62, 2017.
- 2) Yossefi, et al, *J Thorac Cardiovasc Surg.*, Vol. 153, No. 1, 8-20, 2017.
- 3) Kavanagh, et al, *Pharmacol Ther.*, Vol. 102, No. 1, 1-15, 2004.
- 4) 堀江ら, 第 31 回バイオエンジニアリング講演会, 2018.
- 5) 沢崎ら, 生体医工学, 第 Annual58 巻, 第 Proc 号, 574-575, 2020.

タンパク質凝集体を用いた細胞核内ダイナミクス計測

藤井 修治

東洋大学 食環境科学科 [〒374-0193 群馬県邑楽郡板倉町泉野 1-1-1]

1. 緒言

細胞核内部は、蛋白質、染色体 DNA、そして RNA などが密に詰まった濃密な環境にあり、それが転写や DNA 複製を効率的に進めるために重要な役割を果たすと考えられている。濃密な環境下では、分子の運動は込み合い効果によって強く影響されるため、拡散挙動も強く制限されると考えられるが、実際にはほとんどの分子が核内部を自由に移動でき、さらには染色体 DNA のような巨大分子も活発に運動するなど、そのダイナミクスは不明である。細胞内部のダイナミクスを調べる際に、コロイド粒子を細胞内部に注入しその運動を追跡する方法が一般的に用いられる。しかし細胞外から異物を注入するため、細胞に対するダメージが大きく、より“自然”なダイナミクスを調べるには、生体プローブを用いる必要がある。生体プローブとして蛋白質会合体を用い、その運動を追跡することにより、細胞核内部のダイナミクスに関する情報を抽出することを目的とした。

2. 実験方法

生体プローブには、鉄結合性タンパク質であるフェリチンと蛍光タンパク質 (YFP) の結合体を用いた。細胞にフェリチンと YFP の遺伝子配列を持つプラスミド DNA を投与し 6 時間、または、24 時間培養した。培養後、光学顕微鏡下で細胞核を観察した。

3. 実験結果と考察

細胞核内部にフェリチンの会合体を発現させ、その運動を追跡した結果を図 1 に示す。DNA 投与後 6 時間(赤)と 24 時間(黄)の会合体の平均自乗変位を時間で除した見かけの拡散係数を図 1 に示した。会合体の平均サイズは、大小それぞれ 0.64、1.48 μm である。会合体の

拡散挙動は、平均自乗変位が時間に対し劣線形的に増大する遅い拡散がみられ、時間経過とともに通常の拡散挙動(ブラウン運動)へと変化する。この挙動は会合体のサイズに依らず、同様の挙動が見られた。拡散係数は、粒径にも依存する。図 1 に示した平均自乗変位を時間で除した見かけの拡散係数に、さらにタンパク質会合体の平均粒径をかけると、これら二つの曲線は一致する。この一致は、見かけの拡散係数が粒径にのみ依存しており、核質中にある会合体の拡散挙動が、実際には同じ微視的粘弾性特性を反映したものであることを示している。これにより、フェリチンの会合体を用いることで、細胞核内部のダイナミクスを調べる事が可能であることがわかった。

4. 結言

フェリチンを利用した生体プローブを開発することにより、細胞核内部の動的特性を調べることが可能となった。

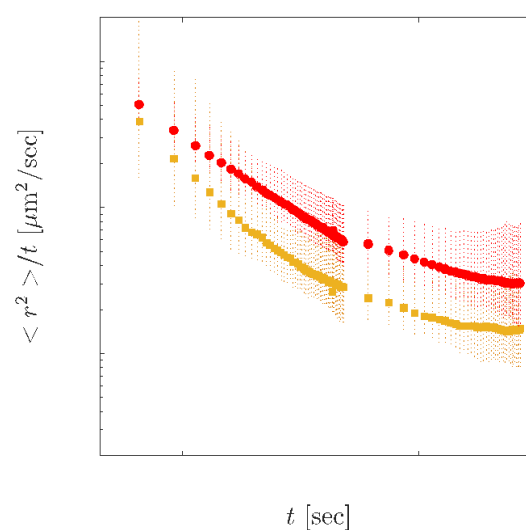


図 1. 平均自乗変位を時間で除した見かけ上の拡散係数。

骨細胞スフェロイドの機械的挙動に対する 骨分化誘導剤の影響

キム ジョンヒョン*, 安達 泰治**, 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 バイオメカニクス研究室
[〒464-8603 名古屋市千種区不老町]

** 京都大学 ウイルス・再生医科学研究所 バイオメカニクス分野

1. 緒言

生体の構造と機能を再現するツールとして様々な臓器を対象としたオルガノイド(organoids)の3次元培養モデル研究が活発に行われている。先行研究において、我々はマウス前駆骨芽細胞およびヒト間葉系幹細胞由来3次元骨細胞スフェロイド(spheroid)モデルを作製した[1-2]。これらの骨細胞スフェロイドは従来の2次元培養モデルに比べ Sost などの骨細胞マーカー遺伝子発現量が短期間で数 10~数 100 倍に上昇した。本研究では、化学刺激である骨分化誘導剤による骨細胞スフェロイドの機械的挙動に対する影響を調べた。

2. 実験方法

本研究では、ヒト間葉系幹細胞(human mesenchymal stem cells) (RIKEN BRC)を DMEM low glucose (Gibco)に 10% ウシ胎児血清 (Biowest)と 1% 抗生物質(ナカライテスク)入りの培地に加え、37°C, 5% CO₂の環境で培養した。分化誘導培地として DMEM high glucose (Gibco)に 10 µM β-glycerophosphate (Sigma), 50 µM ascorbic acid (和光純薬), 及び 100 nM dexamethasone (ナカライテスク)を加え使用した。先行研究[1-2]を参考に、低接着 96 ウェルプレート (ThermoFisher)を使用し、2500 cells/well で細胞播種して、スフェロイドを作製した。この研究は、名古屋大学大学院工学研究科倫理委員会によって承認(21-11)されたものである。

3. 実験結果

骨分化誘導剤がスフェロイドの大きさの変化に及ぼす影響を観察した。培養開始後7日までスフェロイドの大きさは時間とともに小さくなったが、その程度は分化誘導剤入りの場合に強かった。また、2つのスフェロイドを隣接させ、その融合過程を観察したところ、分化誘導剤入りの方が融合が遅かった。一方、コラーゲンゲルに包埋することでスフェロイドは解け、内部の細胞がコラーゲン基質に

分散するが、分化誘導剤によりその速度が低下した。

4. 考察

これらの実験から分化誘導剤の添加によりスフェロイドの挙動が変化することが明らかになった。その理由として、分化誘導剤によりスフェロイド表面に形成される細胞骨格 actin filaments(F-actin)が原因として考えられる。超解像画像から得られた F-actin 染色結果から分化誘導剤添加により F-actin がスフェロイドの表面でしっかりと締まるように形成されており、分化誘導剤無しのスフェロイドには F-actin が緩く形成されていた。この強く形成される表面の F-actin によりスフェロイドはより小さくなり、この F-actin がバリアとなり、細胞がスフェロイド内で閉じ込められた結果、融合・分散速度が遅くなったと考えられる。

5. 結言

本研究では、化学刺激である骨分化誘導剤により骨細胞スフェロイドの挙動に対する影響を調べた。3次元培養モデルの外表面に形成される F-actin を介してこの挙動が変化する可能性が示唆された。この成果は、細胞間接着力が強い他の細胞により形成される3次元培養モデルの in vitro・in vivo における挙動の理解にも適用可能かも知れない。

謝 辞

本研究は科研費(21H04533, 20K20181)ならびに名古屋医工計測技術振興財団の支援を受けた。

文 献

- 1) Kim, J., H., Kigami, and T. Adachi: Characterization of self-organized osteocytic spheroids using mouse osteoblast-like cells, J. Biomech. Sci. Eng., **15**, 20-00227, 2020.
- 2) Kim, J., and T. Adachi: Cell-fate decision of mesenchymal stem cells toward osteocyte differentiation is committed by spheroid culture, Sci. Rep., **11**, 13204, 2021.

人工細胞創出を目指したマイクロドロップレットの作製と力学特性評価

根本 凌汰*, Lee Sungkil**, 末原 大輝**, 大橋 俊朗***

*北海道大学工学部 [〒060-8628 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

***北海道大学大学院工学院

1. 緒言

全ての多細胞生物は、細胞同士が互いに接着しあって様々な組織や臓器を構成している。細胞同士が互いに接着する場合、細胞間には力が発生している。この細胞間力は細胞集団の機能や生理において重要な役割を果たすことが示唆されている。例えば、細胞遊走は腫瘍の転移や傷の治癒などにおいて見られる現象であり、細胞同士はお互いは力を及ぼし合いながら遊走をしている。細胞間力は細胞生理を理解する上で非常に重要であるが、計測・制御の困難さから十分な研究が行われていない。そこで我々は、生細胞内に配置された磁気ビーズ内包人工細胞を外部磁場により駆動させることで細胞間力を任意に計測・制御できる実験系を考案している。本研究では、人工細胞の創出を目指してマイクロドロップレットを作製し、マイクロピペット吸引法により力学特性を評価した。

2. 実験方法

マイクロドロップレットの作製方法を以下に示す。界面活性剤として DSPE-PEG(2000)-biotin, 界面活性剤の溶媒として超純水, オイルとして Fluorinert FC-70 を用いた。DSPE-PEG(2000)-biotin パウダーを 1mg に対し、純水を 1.66 ml の割合で混合して 0.2 mMol/ml の濃度の溶液を作製した。作製した DSPE-PEG(2000)-biotin 溶液(以降 DSPE-PEG 溶液)とシリンジフィルターによるろ過を済ませた FC-70 を 1:0.15 の比率で混合した。マイクロピペット吸引法とは細胞のヤング率を計測する方法の 1 つで、ガラス製のマイクロピペットをドロップレットの表面に軽く接触させ、ピペット内に陰圧を付加した際の細胞の変形量からヤング率を算出するものである。マイクロマニピュレータを用いてマイクロピペット先端をマイクロドロップレット表面に軽く接触させ微小吸引圧により補足した後、圧力ヘッドにて吸引圧力を負荷した。取得した画像から吸引変形量を画像処理ソフトを用いて計測しマイクロドロップレットのヤング率を算出した。

3. 実験結果

作製したマイクロドロップレットとピペット吸引の様子を図 1 に示す。吸引圧力を 0.0 mmH₂O (0

kPa) から 20 mmH₂O (0.2 kPa) まで負荷すると、マイクロドロップレットの一部が徐々にピペット内に吸い込まれていく様子が観察された。吸引圧力-吸引変形量の関係から得られたヤング率は 2.7 ± 1.4 kPa となった。

4. 考察

一般的に動物細胞は 0.1~10 kPa 程度のヤング率を有することが知られている。すなわち、本研究で作製したマイクロドロップレットは動物細胞程度のヤング率を有するため、細胞間力計測に利用できることが示された。

5. 結言

本研究では、細胞間の力学環境を解明するために人工細胞の創出および導入を目指してマイクロドロップレット溶液混合により作製し力学特性評価を試みた。作製された DSPE-PEG(2000)-biotin を用いたマイクロドロップレットのヤング率は 2.7 ± 1.4 kPa となった。

謝 辞

本研究の一部は、科研費国際共同研究強化(B)(19KK0276)の援助を受けた。

文 献

- 1) Theret D.P., Levesque M.J., Sato M., Nerem R.M., Wheeler L.T., 1988. The application of a homogeneous half-space model in the analysis of endothelial cell micropipette measurements. *Journal of Biomechanical Engineering*, 110, 190-199.

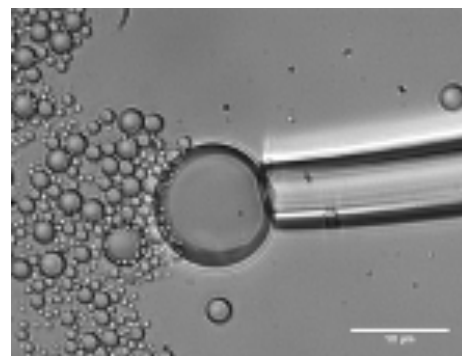


図 1 作製したマイクロドロップレットとピペット吸引の様子。スケールは 10 μ m。

第 XI 因子と血小板膜糖蛋白 GPIb α および von Willebrand 因子の 3 体複合体の結合構造予測

中山正光*, 後藤信一*, 斉藤宏伸*, 後藤信哉*

* 東海大学医学研究科代謝疾患研究センター [〒259-1193 神奈川県伊勢原市下糟屋 143]

1. 緒言

血液凝固第 XI 因子(FXI) は血小板膜糖蛋白の GPIb α と相互作用することが生物学的実験より明らかである。FXI は血流下の血小板接着に重要な GPIb α と VWF との相互作用が示唆されるが、GPIb α と VWF の結合構造が、GPIb α への FXI の結合の影響を受けるか否かについては未知である。そこで、本研究では分子動力学計算を用いて FXI の GPIb α との結合により、GPIb α と VWF の結合構造が変化について検証することを目的とする。

2. 実験方法

初期構造として GPIb α -VWF は先行研究から妥当性検証済みの構造(図 1A), FXI は結晶構造¹(図 1B)を用いた。GPIb α 、VWF、FXI の三体の安定構造は明らかではないため、特に相互作用が示唆されている FXI の SER248、ARG250、LYS252、LYS253 を GPIb α の酸性アミノ酸を対象に、それぞれ 16 Å 以内になるように配置した(図 1C)。水分子を周囲 15 Å の領域に配置し、すべての原子の座標と速度ベクトルを 2×10^{-15} 秒毎に予測計算した。原子に作用する力として CHARMM-36 力場を用いた。分子動力学計算のプログラムとして Nano Scale Molecular Dynamics (NAMD) を用いて計算を実行した。

3. 実験結果

9×10^7 ステップの計算を行い、三体の安定構造について計 9 モデルを予測した。全ての初期構造において FXI は VWF と相互作用している GPIb α と相互作用した(図 2 上)。いずれの初期構造においても、計算時間中における GPIb α と VWF の平均二乗偏差(RMSD)は GPIb α と FXI よりも小さかった(図 2 下)。また、タンパク質間に生じる非共有結合エネルギーについては GPIb α と VWF 間(赤)は GPIb α と FXI 間(灰)よりも負に大きかった。一方、GPIb α と VWF の間に形成される Salt bridge は FXI の相互作用によって変化した。

4. 考察

非共有結合エネルギー、Salt bridge の結果より GPIb α と VWF は FXI の相互作用によって影響を受けると考えられる。

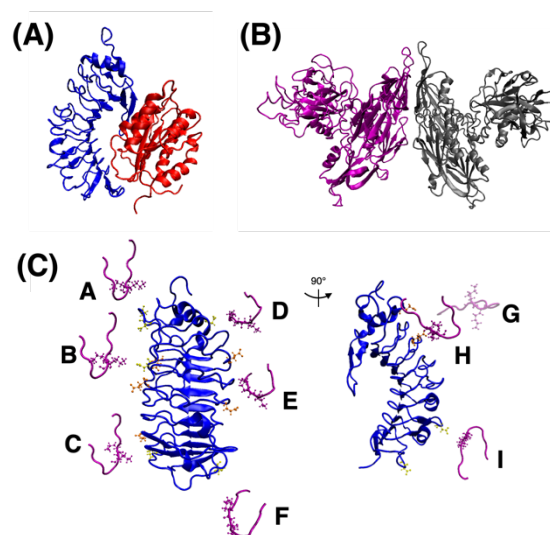


図 1 計算に使用したモデルおよび初期配置

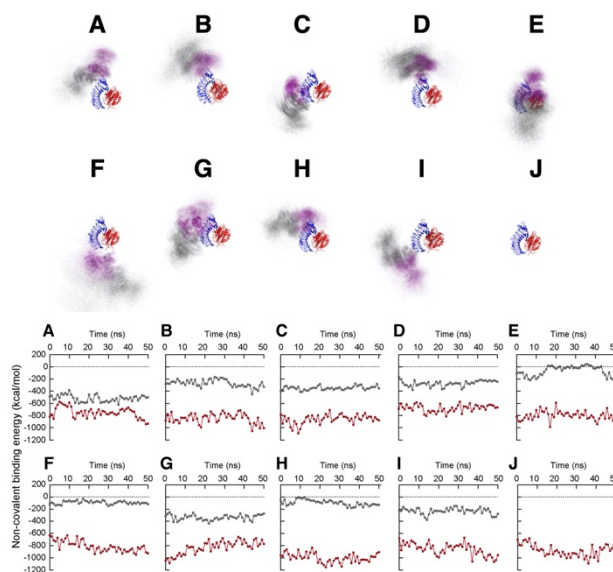


図 2 MD 計算結果重ね合わせと非共有結合エネルギーの時間変化

5. 結言

分子動力学計算を用いた安定構造予測から FXI の GPIb α への結合により、GPIb α と VWF の結合構造の細部のみが変化した。

文 献

- 1) Papagrigoriou, E., et al.: Crystal structure of the factor XI zymogen reveals a pathway for transactivation. Nat. Struct. Mol. Biol. 13, 557-558, 2006.

T リンパ球様株 Jurkat 細胞に対するパルス電磁場の効果

土橋敏明*, 小林雄一郎*, 山本隆夫*, 秋山珠璃**, 田中進**,

綿貫敬介***, 伊達宗宏***, 深田栄一****

*群馬大学 [〒376-8515 桐生市天神町 1-5-1]

高崎健康福祉大学, * (株) リオン, ****小林理研

1. 緒言

細胞の性質は細胞足場や電磁場・力学的環境等により変化する。パルス電磁場刺激は体外から生体内に微弱な電流を誘起する非侵襲的な方法であり、骨折治療などに広く臨床応用されている。そのメカニズムは複雑で、イオンチャネル、アデノシン受容体、サイトカインなど様々な伝達経路による細胞内反応の促進や阻害が報告されている¹⁾。最適刺激条件を見出すためには、培養インキュベーター内にそれぞれ電磁場の異なる場を設定し、継代数の同じ細胞を同時に培養することにより、電磁場の影響を調べることが必要である。本研究では、このような実験が可能な新しく開発された装置を用い、「レクチンに刺激されると低い磁束密度では増殖促進し、高い磁束密度では増殖抑制する」²⁾ことが報告されているリンパ球の培養における磁束密度依存性を調べた。

2. 実験方法

(株) リオンから提供して頂いたパルス電磁場 (PEMF) 発生装置を使用した。この装置では、巻き数の異なる6つのコイルを直列に繋ぐことにより、一回の実験で6種類の磁束密度 B の影響について同時に調べることができる。パルス磁場の繰返し周期 100 ms, パルス幅 25 μ s, 均一磁場の範囲は磁場発生用コイルの中心から直径 50 mm の円, 上下の磁場発生用コイルの間隔 17 mm とした。試料としてヒト白血病 T 細胞株 (Jurkat; ECACC) を使用した。細胞密度 5.0×10^5 cells/mL, 3.5 cm 浮遊系細胞用シャーレを用いた。2.5 mg/mL となるように蒸留水に溶解したコンカナバリン A (Con A; 富士フィルム和光純薬) 14 μ L を、培養開始 30 分後の各シャーレに添加した。その後、37 $^{\circ}$ C で 24 h, CO₂ インキュベーター (MCO-170AICUV-PJ; Panasonic) 中で培養した。細胞数は Cell Counting Kit-8 (DOJINDO) の測定より求めた。Jurkat 細胞の機能の指標として、Human IL-2 ELISA Kit II (BD Opt EIA) を用いて培養上清中の IL-2 産生を調べた。

3. 結果と考察

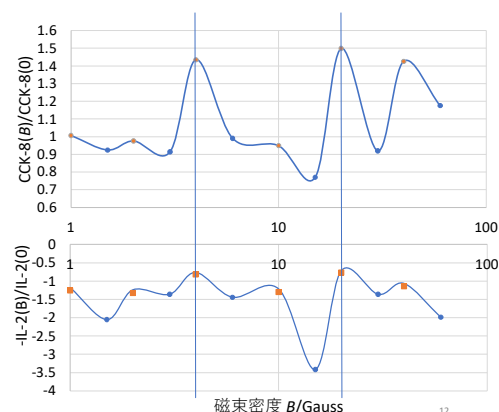


図1 規格化された Jurkat 細胞の細胞数と培養上清中の IL-2 量 (-1 を掛けてある) の関係

Con A で刺激した Jurkat 細胞の細胞数の磁束密度依存性は文献 2) の「低い磁束密度では増殖促進し、高い磁束密度では増殖抑制する」という単純な挙動とは異なる複雑な磁束密度依存性を示し、また、細胞上清中の IL-2 量の磁束密度依存性と逆の傾向を示すことを示した (図 1)。この結果は、PEMF が受容体の発現に作用してより多くの受容体の発現が誘導され、より多くの培養上清中の IL-2 が結合することによりフリーの IL-2 が減少したと仮定すると説明できる。

文 献

- 1) Jing, D. et al.: Pulsed electromagnetic fields promote osteogenesis and osseointegration of porous titanium implants in bone defect repair through a Wnt/ β -catenin signaling-associated mechanism. *Sci. Rep.*, **6** :32045. doi: 10.1038/srep32045, 2016.
- 2) Cadossi, R. et al.: The effects of low frequency pulsing electromagnetic fields on the response of human lymphocytes to lectins: Changes at different values of induced electrical tension., *J. Electroanal. Chem.*, **253**, 315-322, 1988.

要旨

6月4日(土)

16号館 504 教室

OS5

ティッシュエンジニアリング・

人工臓器

OS6

生体物質の構造形成と機能発現・

制御

MRI 対応型拍動循環システムを用いた大動脈二尖弁と上行大動脈血流の評価

服部 薫*, 高田淳平**, 峰田紫帆**, 濱田紘平**, 岩崎清隆**

*早稲田大学 医療レギュラトリーサイエンス研究所 [〒162-0056 東京都新宿区若松町 2-2]

**早稲田大学 先進理工学研究科 生命理工学専攻

1. 緒言

大動脈二尖弁 (Bicuspid aortic valve: BAV) は血行力学的要因から上行大動脈瘤の合併が多い。BAV 形態は瘤径拡大における主要関連因子であるが、希少型を含む多様な弁形態により、BAV 形態が上行大動脈血流に及ぼす影響を臨床的に解明することは困難であった。¹⁾

2. 実験方法

(1) 大動脈二尖弁モデルの作製²⁾

弁尖作製用テンプレート、弁尖縫合用ガイドを開発し、ウシ心膜と下行大動脈を用いて非対称型、対称型 BAV モデルを作製した。非対称型 BAV は右-左冠尖癒合型 (R/L 型)、右-無冠尖癒合型 (R/N 型)、左-無冠尖癒合型 (L/N 型) に分類した。

(2) MRI 対応型拍動循環システムの開発²⁾

空気圧駆動式弾性左室モデル、大動脈弁モデル、大動脈弓部モデル、大動脈コンプライアンスタンク、末梢血管抵抗ユニット、左室前負荷タンク、高分子性僧帽弁から成る MRI 対応型拍動循環回路を開発した。拍動流条件は心拍出量 5L/分、心拍数 70 回/分、収縮期比率 35 %とし、左室収縮期圧 150 mmHg、平均大動脈圧 100 mmHg を目標とした。

(3) 4D-flow MRI を用いた上行大動脈血流評価

各弁形態における大動脈弁流出路ジェットおよび二次性回旋流の特性を4D-flow MRI で評価した。

3. 実験結果

(1) 大動脈弁流出路ジェット (図 1)

非対称型 BAV では小弁尖の方向へ偏位した高偏位性ジェットを認め、R/L 型では上行大動脈の大彎側、R/N 型では近位弓部、L/N 型では近位上行大動脈の左前方にジェットの衝突が観察された。対称型 BAV は非対称型に比べてジェットの偏位性が低く、大動脈への衝突は観察されなかった。

(2) 二次性回旋流

非対称型 BAV では流速と循環の大きな二次性回旋流が収縮期を中心に観察された。対称型 BAV では非生理的な二次性回旋流は観察されなかった。

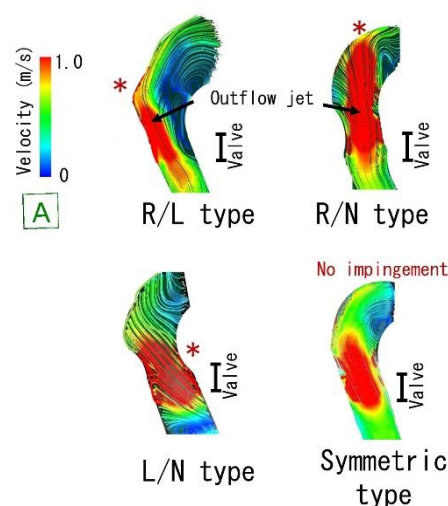


Fig. 1 Aortic valvular outflow jets
Asterisks, the aortic wall locations where the aortic valvular outflow jet impinges

4. 考察

非対称型 BAV では小弁尖の方向に偏位したジェットを大動脈弁流出路に認め、ジェットの衝突に伴う流れの剥離により、流速と循環の大きな二次性回旋流が観察された。対称型 BAV はジェットの衝突を引き起こさず、非対称型は対称型と比べて上行大動脈拡大リスクがより高いと推察された。

5. 結言

BAV に伴う上行大動脈瘤において、非対称型弁形態は瘤径拡大の主要危険因子と考えられた。

文 献

- 1) Mahadevia, R., Barker, A., Schnell, S., Entezari, P., Kansal, P., Fedak, P.W., Malaisrie, S.C., McCarthy, P., Collins, J., Carr, J. and Markl, M. Bicuspid aortic cusp fusion morphology alters aortic three-dimensional outflow patterns, wall shear stress, and expression of aortopathy. *Circulation*, **129**, 673-682, 2014
- 2) Hattori, K., Nakama, N., Takada, J., Nishimura, G., Moriwaki, R., Kawasaki, E., Nagao, M., Goto, Y., Niinami, H. and Iwasaki, K. Bicuspid aortic valve morphology and aortic valvular outflow jets: an experimental analysis using an MRI-compatible pulsatile flow circulation system. *Sci Rep*, **11**, 2066.doi:10.1038/s41598-021-81845-w, 2021.

ヘモグロビンを四分岐PEGで分子間架橋した超分子ゲルの合成とレオロジー特性

○松平 崇, 酒井 宏水

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

1. 緒言

近年, タンパク質の特異的相互作用を利用した, 繰り返し単位を持つ会合体, いわゆる超分子ポリマーの研究が盛んに行われている. ヘモグロビン(Hb)は酸素輸送に関わるヘムタンパク質であり, 安定な $\alpha_2\beta_2$ 四量体構造を形成している. 水溶液中でHbは $[\alpha_2\beta_2 \rightleftharpoons 2\alpha\beta]$ の解離平衡状態にあるが, 2つのLys-82(β)を低分子架橋剤で選択的に結合した $\beta\beta$ 架橋Hb(XLHb)では, $\alpha_2\beta_2$ 四量体構造が固定され, $\alpha\beta$ サブユニットへの解離が抑制される¹⁾.

私たちはこれまでに, HbのCys-83(β)を直鎖PEGで分子間架橋することで, $\alpha\beta$ サブユニット間相互作用により会合した, 鎖状の繰り返し構造を持つ超分子ポリマー(Hb-PEG)_n の合成に成功した^{2), 3)}. さらに, Hbの代わりにXLHbを用いれば, 共有結合で固定された鎖状の化学架橋ポリマー(XLHb-PEG)_n も合成できることを確認した³⁾.

本研究では, 直鎖PEGの代わりに四分岐PEGを用いてHbを分子間架橋することで, $\alpha\beta$ サブユニット間相互作用を利用した網目状の会合体, 超分子ゲルを合成した. また, XLHbを用いて同じ網目構造の化学架橋ゲルを合成した. そして両者を比較し, Hbの $\beta\beta$ 架橋の有無がゲルのレオロジー特性に与える影響を明らかにした.

2. 実験方法

ヒトHbを $\beta\beta$ 架橋¹⁾してXLHbを合成した. 濃度3 mMのHbまたはXLHbのリン酸緩衝溶液(pH 7.4)に, 末端にマレイミド基を有する分子量10 kDaの四分岐PEGを, モル比が2:1になるように加え, 超分子ゲルHb-PEG-gelと化学架橋ゲルXLHb-PEG-gelを得た. レオメータMCR 301 (Anton Paar)を使用し, ゲルの動的粘弾性測定を行った. 治具は直径50 mm, 角度1°のコンプレートをを用いた.

3. 実験結果と考察

動的粘弾性測定の結果, Hb-PEG-gelでは貯蔵弾性率 G' と損失弾性率 G'' が, 角周波数 $\omega = 0.492$ rad/s (緩和時間 $\tau = 13$ sec)で交差した(Figure 1, left). この結果は, Hb-PEG-gelが緩和時間より遅い変形では粘性体として, 速い変形では弾性体としてふるまうことを表している. 一方, XLHb-PEG-gelでは全

域で $G' > G''$ となり, 変形速度によらず弾性成分が支配的であった(Figure 1, right).

変形速度に依存した粘弾性を示すHb-PEG-gelの特性は, 網目構造を形成している $\alpha\beta$ サブユニット間相互作用の可逆性に起因する. すなわち, 遅い変形によりゲルに長時間の歪みがかかると, $\alpha_2\beta_2$ 四量体構造の解離平衡を介した $\alpha\beta$ サブユニットの交換反応が進行して歪みが解消され, バネの復元力が消失したと考えられる. XLHb-PEG-gelでは $\alpha\beta$ サブユニット間に永続的な共有結合が形成されているため, 前述のような交換反応は起こらず, 弾性体としてふるまう. 本研究の結果は, Hbを構成成分とするゲルのレオロジー特性を, $\beta\beta$ 架橋の導入量により制御できる可能性を示唆している.

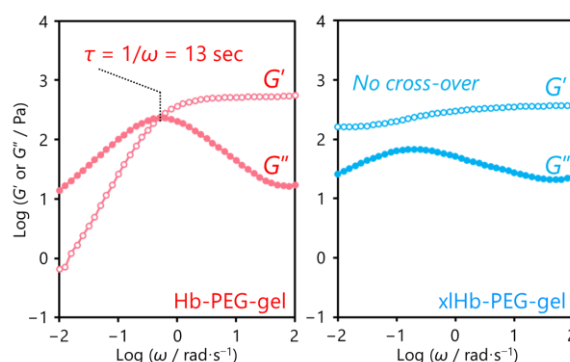


Figure 1 Storage modulus G' and loss modulus G'' of Hb-PEG-gel (left) and XLHb-PEG-gel (right) as a function of angular frequency ω , at 25 °C, 1% strain.

謝 辞

本研究は, 科学研究費補助金 (基盤研究(C) 21K12688) の助成を受けて進められた.

文 献

- 1) White, F. L. and Olsen, K. W.: Effects of crosslinking on the thermal stability of hemoglobin. I. The use of bis(3,5-dibromosalicyl) fumarate. Arch. Biochem. Biophys., **258**(1), 51–57, 1987.
- 2) Matsuhira, T. and Sakai, H.: Entropy-driven supramolecular ring-opening polymerization of a cyclic hemoglobin monomer for constructing a hemoglobin-PEG alternating polymer with structural regularity. Biomacromolecules, **22**(5), 1944–1954, 2021.
- 3) Matsuhira, T., Yamamoto, K. and Sakai, H.: Ring-opening polymerization of hemoglobin. Biomacromolecules, **20**(4), 1592–1602, 2019.

多管構造を持つコラーゲンゲルを使用した 再生筋組織構築技術の開発とレオロジー特性評価

古澤和也 宮下凌也 河端祐樹 天津瑠奈

福井工業大学 環境食品応用化学科 [〒910-8505 福井県福井市学園3丁目6-1]

1. 緒言

筋芽細胞とハイドロゲルを組み合わせる人工的に筋組織を構築する技術は、古くより進められており、近年は、やわらかいロボットのアクチュエーターや培養肉など、従来の再生医療や医薬品開発以外の分野において再生筋組織への注目が集まっている。実際の骨格筋の組織形態を再現する技術は、ソフトロボットの運動制御や食肉の食感を再現するための有力な方法論の確立につながる。

我々の研究グループでは、コラーゲン水溶液をリン酸緩衝液中に透析することでレンコンの孔の様に一定方向に伸長した微小流路構造を持つコラーゲンゲル（マルチチャネルコラーゲンゲル（MCCG））を調製する技術を開発してきた。MCCGの微小流路構造は骨格筋の細胞外基質の組織形態を良く再現している。MCCGの微小流路構造に骨格筋由来の筋芽細胞を充填し、これを骨格筋細胞へと分化させることができれば、骨格筋の組織形態を再現した再生筋組織を作ることができる。そこで本研究では、MCCGを使用した再生筋組織の構築技術を開発し、さらにそのレオロジー特性明らかにすることを目的とする。発表では、マウスおよびニワトリ由来の筋芽細胞を使用して構築した再生筋組織の組織形態や、レオロジー特性について報告する。

2. 実験方法

ウシ真皮由来コラーゲン水溶液（IPC-50, 高研）をシリコンゴム製の型に充填し、これをリン酸緩衝液中に漬けることで8 mm×8 mm×1 mmの厚さのMCCGを調製した。0.5 mMのゲニピン水溶液中にて37℃で2日間インキュベートすることでMCCGの化学架橋を行った。化学架橋されたMCCGの両端を使い捨てメスで切除することで、MCCGの多管構造を開放した。リン酸緩衝液で4回洗浄した。本研究では、マウス由来筋芽細胞様細胞（C2C12）とニワトリ由来骨格筋筋芽細胞（CMB）を筋芽細胞として使用した。それぞれの筋芽細胞を増殖培地中で90%コンフルエントまで培養し、定法に従って細胞懸濁液とした。細胞懸濁液を前処理済みの

MCCGの流路構造内腔にマイクロピペットを使用して数回繰り返し流通させることで、筋芽細胞を播種した。構築した再生組織を筋分化培地中で培養することにより再生筋組織を構築した。構築した再生筋組織の組織形態を蛍光顕微鏡により観察した。また、再生筋組織の弾性率を自作の押し込み試験機を使用したフォースカーブ測定により決定した。

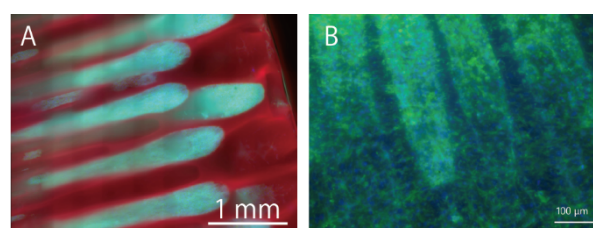


Figure 1 Engineered skeletal muscle tissues constructed by culturing C2C12 (A) and CMB (B) using MCCG.

3. 結果と考察

図 1A-B に構築した再生筋組織の蛍光顕微鏡像が示されている。C2C12およびCMBは、ともにMCCGの流路構造内腔に定着し筋芽細胞の細胞塊を形成していた。特にC2C12を使用した場合、筋芽細胞塊をつくる筋芽細胞の融合が顕著に観察され、筋管細胞へと融合していること、またそれぞれの細胞が流路構造の伸長方向と同じ方向に配向していることがわかった。一方で、CMBでは骨格筋ミオシンの発現は認められたものの筋管細胞への分化は明確ではなかった。この結果の違いは、細胞種の違いによって筋分化誘導の最適条件がことなるためであると考えている。したがって、筋分化誘導の最適条件を見つけることで、より実際の骨格筋に近い再生筋組織を構築することが可能となると期待している。

謝 辞

本研究は科研費補助金（基盤研究（C）19K12793, 新学術領域研究（領域名：ソフトロボット学）19H05336, 21H00332）および福井工業大学特別研究費の助成を得て遂行した。

コラーゲンの多管構造ゲル形成における 懸濁コロイド粒子の挙動

山崎涼平*, 榎靖幸*, 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

細胞培養足場として広く用いられているコラーゲングルは、通常、コラーゲン酸性溶液に中性緩衝液を均一に混合して調製する。一方、コラーゲン酸性溶液を中性緩衝液に対して透析すると、コラーゲン溶液の相分離に起因する、直径数百 μm の微細な管が多数配列した特徴的な構造を持つコラーゲングル（コラーゲン多管構造ゲル）が形成されることが報告された¹⁾。この多管構造ゲルは、生体模倣的な三次元細胞培養足場材料としての応用が期待されている。最近、コロイド粒子を懸濁させたコラーゲン溶液を用いて多管構造ゲルを調製し、その形成過程における粒子の運動を解析することで、ゲル化における局所的なレオロジーが研究された²⁾。この研究では、管を構成する希薄相と連続相となる濃厚相（ゲル相）の両方に粒子が存在したため、両相のレオロジー的特性をそれぞれ評価することができた。一般的に、コロイド粒子を懸濁した溶液が相分離して多相系を形成する際、粒子がどの相により多く局在するかは、粒子の特性に依存すると考えられるが、それを予め知ることは難しい。本研究では、コラーゲン多管構造ゲル形成において、懸濁された粒子の挙動が、粒子径や粒子表面特性にどのように依存するかを明らかにすることを目的とする。

2. 実験方法

コロイド粒子として、表面に COOH 基を持つ蛍光ポリスチレン粒子（直径 0.5 μm , 1 μm ）と、この粒子を基にして、表面に分子量 5.5×10^3 のポリエチレングリコール (PEG) をグラフトさせた PEG 修飾粒子と、表面にウシ血清アルブミン (BSA) を吸着させた BSA 被覆粒子、さらに表面に NH₂ 基を持つ蛍光ポリスチレン粒子（直径 1 μm ）を用いた。コラーゲン試料として、蛍光免疫染色により標識したウシ皮由来アテロコラーゲンの酸性溶液（pH3、濃度 5 mg/mL）を用いた。コラーゲン多管構造ゲルは以下のように調製した。蛍光ポリスチレン粒子を濃度 $2 \times 10^{-4} \sim 2 \times 10^{-3}$ wt% の範囲で懸濁したコラーゲン酸性溶液をガラスボトムディッシュとシリコーン

ゴムを用いて作成した試料チャンバーに添加し、透析膜を隔ててリン酸緩衝液（pH 7.4、73 mM）と接触させることで多管構造ゲルを形成させた。ゲルの構造形成の過程とその際のコロイド粒子の挙動は Carl Zeiss LSM880 共焦点レーザー顕微鏡 (CLSM) を用いて観察した。

3. 結果と考察

Fig. 1 に 1 μm の蛍光ポリスチレン粒子を添加したコラーゲン多管構造ゲル断面の CLSM 像を示す。赤色はコラーゲンを表しており、コラーゲンの濃厚領域（ゲル）が連続相を構成し、その中に希薄相による管構造が形成されていることがわかる。緑色の輝点は蛍光ポリスチレン粒子を表す。COOH 基表面粒子、BSA 被覆粒子、NH₂ 表面粒子では、粒子は濃厚相（ゲル相）に局在していた (Fig. 1 (a)(c)(d)) が、PEG 修飾粒子は濃厚相と希薄相の両方に存在していた (Fig. 1 (b))。このことは、多管構造ゲル中の粒子の局在において、表面特性が重要な因子となることを意味している。

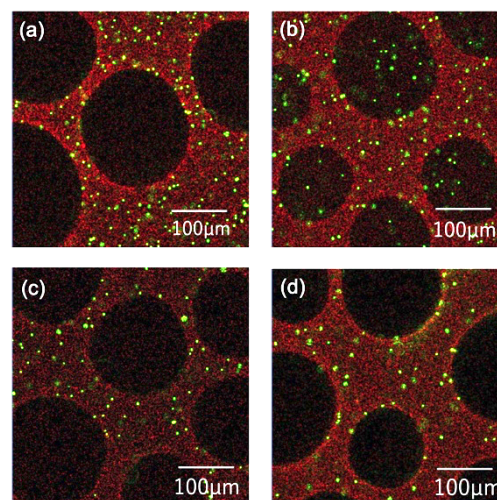


Fig. 1. コラーゲン多管構造ゲル中の蛍光ポリスチレン粒子の局在 (a) COOH 表面, (b) PEG 修飾, (c) BSA 被覆, (d) NH₂ 表面

文 献

- 1) Furusawa, K. et al., *Biomacromolecules*, **13**, 29-39, 2012.
- 2) Yonemoto, J. et al., *Biomacromolecules*, **22**, 3819-3826, 2021.

要旨

6月5日(日)

16号館 503 教室

OS3

血液レオロジーと微小循環

広帯域誘電分光法を用いた VWF の複雑な分子ダイナミクスの 説明

斉藤宏伸*, 中山正光*, 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]

1. 緒言

von Willebrand 因子 (VWF) は分子量 50 万~1 千万¹⁾ の血漿蛋白である. VWF は血栓形成に重要な役割を果たす. 血管内皮細胞が器質的, 機能的に傷害されると VWF が血管側に発現する. 血管壁近傍を流れる血小板の膜糖蛋白受容体 GPIb α が VWF と結合し, 血管壁に血小板がトラップされる. VWF は血栓形成の開始に重要な役割を演じる.

ナノメートルスケールの VWF の形状は顕微鏡観察では解析困難である. VWF と周辺の水分子の運動のマルチスケール解析を目指す. 一過性に出現する創薬標的などを同定できれば, 現状治療が困難である血栓性血小板減少性紫斑病 (thrombotic thrombocytopenic purpura : TTP) の改善に貢献できる.

2. 実験方法

測定試料として VWF (Gift from Dr. Soejima at 化血研) を用いた. HEPES バッファにて終濃度 0.27mg/ml とした. 誘電率計測には LCR メータ (NF 回路ブロック, ZM2376) と独自電極を使用した. 電極へ VWF 溶液を滴下させ, 滴下直後から乾燥するまでの誘電率の経時変化を計測した. 測定環境は室温 ($32.0 \pm 2^\circ\text{C}$) とした.

3. 実験結果

Fig. 1 に複素誘電率の実数部 (上図) と虚数部 (下図) の周波数依存性を示した. 凡例は VWF 溶液を滴下直後 (0 分) から, 10, 30, 60, 90 分までの乾燥における経時変化を示す. VWF 濃度が希薄な滴下直後 (0 分) では実数部, 虚数部ともに溶媒の影響を反映した高い誘電率を示した. だが経過時間によって 1MHz 付近の誘電率は増加していき, カーブフィット解析により 60 分経過時までは 1MHz 付近に緩和過程を検出した. その後は溶媒の乾燥に伴って誘電率が 100 倍以下に激減し, 緩和過程の検出が困難となった.

4. 考察

本研究では終濃度 0.27mg/ml とした VWF 溶液の乾燥過程における複素誘電率を計測した. 計測の結果は乾燥に従って VWF に由来する誘電緩和によって 1MHz 帯の誘電率の上昇が見られた. また乾燥が極度に進む 90 分以降では誘電率が 100 倍以下

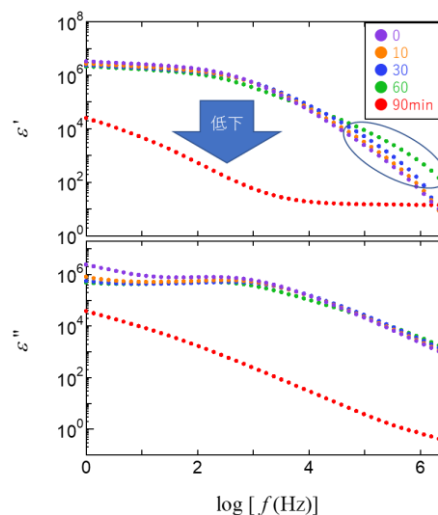


Fig.1. Dielectric relaxation curves of drying process for VWF solutions.

に激減し, VWF 由来の誘電緩和を観測することが困難となった.

Fig. 2. はこの結果を解釈するモデル図を示す. 通常タンパク質周辺の水分子は自

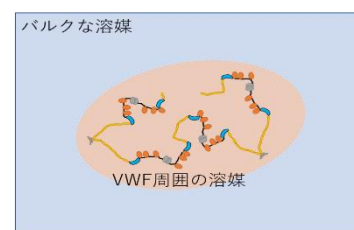


Fig.2. Schematic diagram of VWF solution model.

由水に比べて蒸発しにくいいため VWF から離れた水分子 (図中青の領域) から蒸発していき VWF 周辺の水分子は最後に蒸発すると考えられる. また, VWF の多量体はナノオーダーに及ぶ非常に巨大な分子なため立体構造を保持するために多量の溶媒を抱え込み, 90 分後の誘電率の減少から最終的にそれらも蒸発したと考える.

5. 結言

VWF 溶液の乾燥過程における誘電率の計測から VWF に由来する可能性が高い誘電緩和過程が検出された. また, この緩和過程の要因は非常に複雑であるが, 乾燥による濃縮に従って検出できることから VWF 由来の緩和であると考えられる.

文 献

- 1) Springer, T. A.: von Willebrand factor, Jedi knight of the bloodstream. *Blood, Am. J. Hematol.* **124**(9), 1412-1425, 2014.

ラットの動脈血および静脈血による コラーゲン繊維上の血小板血栓の成長

田村典子*, 阿部拓也**, 藤井豊**

* 新潟医療福祉大学 健康科学部, 健康栄養学科 [〒950-3198 新潟県新潟市埴田島見町 1398 番地]

**新潟医療福祉大学 医療技術学部, 臨床技術学科

1. 緒言

一般的に動脈血は酸素濃度が高く、静脈血は各器官を通過する過程で不要物を含んでいる。また、血流速度は動脈の方が速い。血管内皮細胞に起因しない動脈血および静脈血の血球・血液成分による血栓形成の影響については未だに明らかにされていない。

本研究ではラットの頸部より採血した動脈血および静脈血により、血流条件下で形成されるコラーゲン繊維上の血小板血栓形成への影響を検討した。

2. 実験方法

12-16 週齢のラット (♂) より、イソフルランによる呼吸麻酔下で、頸動脈、および頸静脈からそれぞれ 5mL ずつ採血を行った。採血した血液は終濃度 10U/mL の低分子量ヘパリンにより抗凝固処理を行い、血小板は濃染顆粒を染めるメパクリンにて特異的に蛍光標識をした。ガラスプレートに、ウシのアキレス腱由来 I 型コラーゲン繊維を固相化した平行平板チャンバーに、動脈血流に相当する 1500 s^{-1} の血流速度で血液を灌流した。倒立蛍光顕微鏡により、コラーゲン繊維上に形成される血小板血栓の成長過程を経時的に観察した。血小板血栓の観察データは、画像解析ソフト ImageJ にて、コラーゲン繊維上の血小板の被覆率、個々の血小板の面積および density を計測した。本実験は新潟医療福祉大学の動物実験委員会の承認を得て行われた。

3. 実験結果および考察

	PO ₂ (mmHg)	SO ₂ (%)	PCO ₂ (mmHg)
動脈血 (n=5)	120.4±18.2	96.4±2.5	47.0±5.0
静脈血 (n=8)	47.3±8.3	78.0±3.4	54.0±8.5

動脈血および静脈血による、コラーゲン繊維上の血小板血栓はそれぞれ経時的に成長が認められた。血液灌流 1, 2, 3, 5 分後のコラーゲン繊維上の血小板被覆率(mean±SD)は、動脈血ではそれぞれ、12.9±8.4, 25.5±8.5, 32.4±10.9, 39.8±18.2(%)であり、静脈血では9.3±7.8, 22.4±4.1, 26.1±6.7, 39.6±11.2(%)と顕著な差は認められなかった(図1)。一方、血小板被覆率の成長が直線域にある血液灌流 2 分後の個々の血小板血栓の

平均面積は、動脈血では $457.8 \pm 171.4 \mu\text{m}^2$ 、静脈血では $271.3 \pm 113.9 \mu\text{m}^2$ ($p=0.0109$) であった。静脈血では $200 \mu\text{m}^2$ 以下の血栓が 50%以上を占め、動脈血では $500 \mu\text{m}^2$ 以上の血栓が、30%以上を占めた(図2)。また血小板血栓の density による血栓の高さ方向の成長は、動脈血栓、静脈血栓はそれぞれ 18.3 ± 6.2 , 12.6 ± 3.5 であった。($p=0.022$)

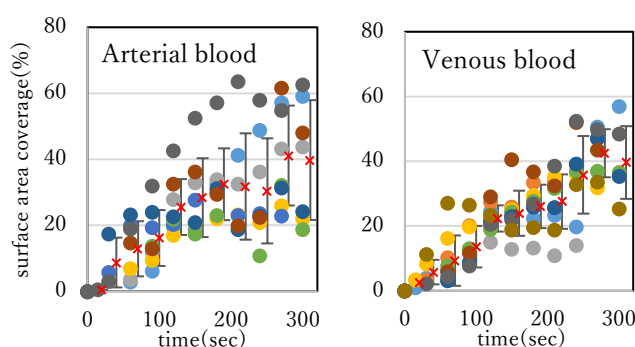


図1 コラーゲン繊維上に形成された動脈血、静脈血による血小板血栓の成長

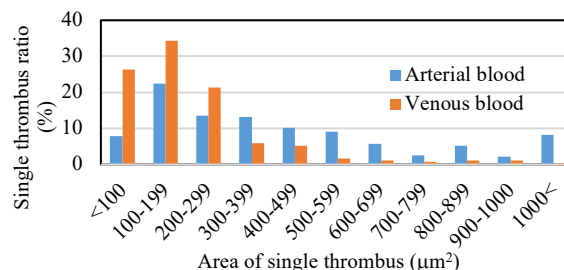


図2 コラーゲン繊維上に形成された単一血小板血栓の面積分布

4. 考察

動脈血では血液灌流から 2 分後以降に血液流路の上流で凝固が認められることがあった。そのため流れてくる単一血小板数の減少に伴い、血小板被覆率の SD は大きく、有意差も認められなかった。一方、血液灌流 2 分後の個々の単一血小板血栓では、血栓の面積および density から動脈血による血栓の体積に顕著な増大が認められた。血漿成分の違いによる影響は不明であるが、血中酸素による血栓形成への影響は大きいと考えられる。

5. 結言

動脈血では、コラーゲン繊維上に形成される血小板血栓の成長が静脈血よりも増大した。

Syllectometry を用いた低濃度フィブリノゲン領域における 赤血球凝集能の測定

田中理禎*, 渡邊宣夫*, 樋口誠**, ***

*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 大学院 機能制御システム専攻

***日本光電工業株式会社 荻野記念研究所 [〒359-0037 埼玉県所沢市くすのき台 1-1-6]

1. 緒言

重度外傷や産科危機的出血では、血中のフィブリノゲン (Fbg) 濃度が 150 mg/dL 以下となると凝固障害を引き起こし、止血困難となるため、Fbg 濃度の増減の把握は重要である。従来の Fbg 検査では、トロンビン試薬を添加した際の血液凝固時間を測定するが、我々は、試薬を必要としない、より安価で簡便な Fbg 推定手法として赤血球凝集能の測定に着目した。赤血球凝集能は、高濃度の血中 Fbg 下では顕著に上昇することから、Fbg 濃度の推定に有効であると考えられるが¹⁾、止血に支障をきたす低濃度の血中 Fbg と赤血球凝集能との関係は不明である。そこで本研究では、赤血球凝集の進行に伴う透過光強度変化 (Syllectogram:SGM²⁾) を測定する手法である Syllectometry を用いて、低濃度 Fbg 血における赤血球凝集能と Fbg 濃度の関係の調査を行った。

2. 実験方法

本研究は本学の生命工学研究倫理審査委員会にて承認の下実施した。同意を得た健康人男女6名から3.2%クエン酸ナトリウム入り採血管および、血清分離剤入り採血管を用いて、医師の協力のもと、静脈血 20 mL を採取した。それらを遠心分離し、抗凝固処理した血液から Buffy coat を除去した後、赤血球と血漿を採取し、血清分離剤入り採血管からは血清を得た。採取した血清に血漿と同様の濃度になるよう 3.2%クエン酸ナトリウムを添加した後、血漿の割合が 1.000, 0.750, 0.500, 0.250, 0.125 の5条件となるよう血漿と血清を混合し、それらに血球を加えてヘマトクリット値 (Hct) 20%の低濃度 Fbg 血液試料を作製した。全自動血球計数・赤血球沈降速度測定装置 (MEK-1305, 日本光電) の Syllectometry 機能を用いて、作製した試料に対し、10 秒間の SGM を取得した。SGM の一般的な解析パラメータである Aggregation Index (AI) を算出し、別途測定した血漿 Fbg 濃度と比較した。また、作製した試料を Hct0.2%となるよう調整し、37℃下で10分間静置した後、倒立顕微鏡を用いて血球画像を取得し、AI および Fbg 濃度と比較した。

3. 実験結果と考察

全ての試料に対し、測定した AI と Fbg 濃度との相関図を図1に示す。試料の Fbg 濃度は 28.4~348 mg/dL で分布しており、Fbg 濃度が低値であるほど AI は低くなる傾向を示した ($r = 0.898$, $n = 27$)。凝固障害をきたすとされている 150 mg/dL 以下でも Fbg 濃度に対する AI の比例的な変化が認められた。また、顕微鏡画像においても、Fbg 濃度が低値になるほど、赤血球凝集塊 (図中白丸) は小さく、数も少なくなる傾向が認められた。また、AI 以外の解析パラメータの中で、AMP, SA と Fbg 濃度の関係は AI と同様の傾向を示した。

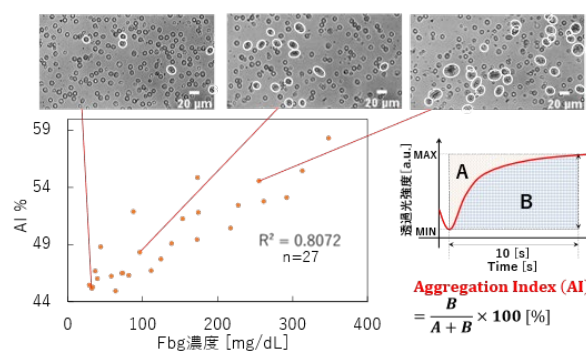


図1 Fbg 濃度と AI の関係および凝集画像

しかしながら、赤血球凝集能は Hct によっても変動することから、今後は Hct による各解析パラメータへの影響調査が必要であると考えられる。

4. 結言

凝固障害をきたす低濃度から正常値の Fbg 濃度と Syllectometry にて測定した赤血球凝集パラメータ AI との間に強い正の相関関係が認められたことから、本手法を用いて低濃度の Fbg 濃度を推定できる可能性がある。

文 献

- 1) 前田信治: 赤血球集合現象:赤血球間の高分子架橋と赤血球表面間の静電反発, 日本バイオレオロジー学会誌, 5, 152-158, 1991
- 2) Zijlstra W. G.: Syllectometry, a new method for studying rouleaux formation of red blood cells. Acta Physiol Pharmacol Neerl., 7, 153-154, 1958

末梢循環における血漿層出現機序解明のための基礎研究

木梨宏祐*, 柴田政廣**, 渡邊宣夫**

*芝浦工業大学大学院 理工学研究科 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]

**芝浦工業大学 システム理工学部 生命科学科

1. 緒言

末梢循環では赤血球の軸集中に起因し、壁面近傍に血漿層が形成されることがある。血管径を変化させ流量調節を行う細動脈において、この血漿層は円滑な血液流動を保つなどの役割があると予想される¹⁾。血漿層出現機序解明に向けて行われた *in vitro* 実験では血漿層幅と血液の相対粘度との関係が報告されている。その一方で *in vivo* 実験においては微小循環研究の困難さから血管径 100 [μm] 付近の血漿層幅の情報は十分でない。そこで本研究では、血漿層を計測するために血流停滞前後の赤血球層幅の差分を利用する方法を提案する。

2. 実験方法

本研究は芝浦工業大学動物実験委員会の承認を得ている(承認番号: 動承 21011 号)。実験には wistar 系ラット(♂, 5-7wks, 211 ± 27 [g]) を合計 7 匹使用した。麻酔にはイソフルランを使用した。また、動脈圧測定のため頸動脈カニューレーションを行い、平均動脈圧 60 [mmHg] 未満の動物はすべて除外した。観察対象である Cremaster 筋を露出し、チャンバーに固定した後、生理的状态を維持するため Krebs-Ringer 液で満たした。観察は通常時とパップペリン (10^{-4}M) を筋表面に数滴局所投与した疑似運動時の 2 条件で行った。血漿層幅の計測では血流の停滞により、赤血球が血管内に一様に分布し、赤血球層幅が血管内径と等しくなることを利用した。この赤血球層幅と非圧迫時の赤血球層幅の差分より血漿層幅を算出した。

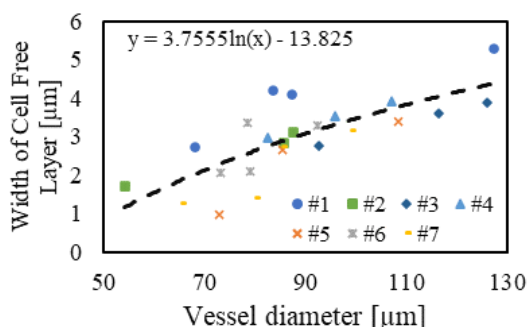


Fig. 1 Cell Free Layer width in arterioles

3. 実験結果

図 1 に示す通常時の血漿層幅は、血管径とともに増大した。図 2 に示すパップペリン投与前後の血漿層幅は、対応のある t 検定を行った結果、投与後の疑似運動条件において有意な増大が確認された ($p < 0.05$)。

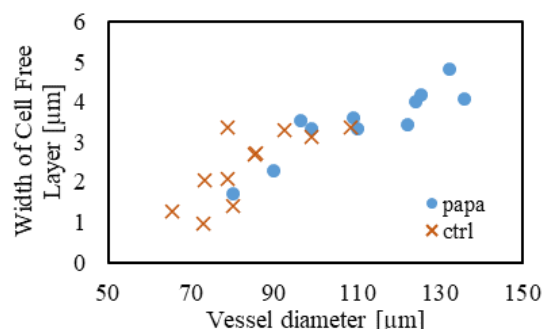


Fig. 2 Comparison of Cell Free Layer width before and after papaverine administration

4. 考察

図 1 よりいくつかの先行研究に類似した結果が見られた。図 2 より血管が拡張された疑似運動時の血漿層は通常時と比較し、有意な増大が見られた。これは図 1 の結果より予測されるものであった。また同血管径となったデータを比較すると図 1 では血漿層幅に最大 2.1 [μm] の差があることに対し、図 2 では大きな差異は見られなかった。これより今回加味しなかったデータである流速が血漿層幅に少なくない影響を与えた可能性が考えられる。また、手技に関して、一時的ではあるが血流を停滞させ非生理的状态となったことによる影響も考えられる。そのため流速を加味した計測や一時的な血流停滞が血管径に与える影響を調査する必要がある。

5. 結言

本研究は血管圧迫による血流停滞前後の赤血球層幅の差分から血漿層幅を導出する方法の有用性を示した。

文 献

- 1) Sriram, K., Intaglietta, M. and Tartakovsky, D. M.: Non-Newtonian Flow of Blood in Arterioles: Consequences for Wall Shear Stress Measurements. *Microcirculation*, **21**, 628-639, 2014.

希少細胞捕捉用流路中の球形粒子の挙動の数値解析

加瀬篤志*, 辻野紘大**, 山田朱音**, 寺林賢司*, 大永崇***

*富山大学 学術研究部工学系 [〒930-8555 富山県富山市五福 3190]

**富山大学大学院 理工学教育部

***富山県産業技術研究開発センター

1. 緒言

血中をごくわずかに流れる希少細胞を血液検査により捉える手段の確立が望まれている。特に、がんの早期発見や予後の治療効果の確認のために、血中循環腫瘍細胞 (CTC: Circulating Tumor Cell) を捕捉する手法への関心が高まっている。大永らの捕捉用チップでは、検出する希少細胞において特異的に発現するタンパク質と反応する抗体を流路にコーティングすることで、抗原抗体反応により壁面に希少細胞を選択的に捉える¹⁾。本手法でより効率的に希少細胞を捕捉するためには、流路形状を検討する必要がある。そこで我々は壁面せん断応力分布の観点から、直径 $100\mu\text{m}$ の円に内接する正方形断面を持つポストを対角線が主流と並行になる向きで、ポスト中心間が $150\mu\text{m}$ になるように配置した新型形状を提案した²⁾。本報告では、提案した新型形状に対し、細胞を想定した球形粒子の挙動を考慮した CFD の結果について述べる。

2. 計算方法

液中に懸濁している細胞を、周囲の流体との密度差のない剛体球形粒子として模擬し、埋め込み境界法により、粒子と周囲流体との相互作用を考慮した CFD を実施した。粒子は流路壁面との接触が起きたと判定するとその場で静止するようにした。今回は図 1 のように計算領域内に一個の粒子がある状態を検討する。

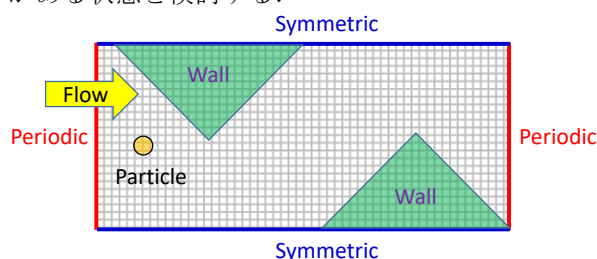


Fig.1 Calculation conditions.

計算領域は粒子径 $10\mu\text{m}$ を 1 として $22 \times 10 \times 10$ の直方体で表現し、 $110 \times 50 \times 50$ の一様格子で分割した。また図 1 の上下の境界面には対称条件、紙面手前と奥の面には滑りなし条件、左右の境界面には実際の流路での値に換算すると約 2mL/hour に相当する流れを起こす圧力差と周期境界条件を与

えた。ここで、ポストの存在する場所の要素を速度ゼロとすることで流路形状を模擬した。

3. 結果と考察

粒子の初期配置のみを変化させて計算し、粒子の重心位置の軌跡を並べると図 2 のようになった。粒子が壁面と接触した箇所には赤丸を示している。図 2 より、早々に壁面と接触するケースと、中々接触しないケースが確認された。これは実際の CTC 捕捉実験でも見受けられた現象であり、本計算の粒子挙動は細胞挙動の模擬として妥当であると考えられる。一方、壁面に接触しない限りは抗原抗体反応が起きないことから、捕捉率向上のためには粒子の初期配置に寄らず壁面と接触しやすい流路形状の検討が必要と考えられる。また中々接触しないケースにおいても、粒子が次第に壁面に接近している様子が見受けられる。これは粒子を考慮しない場合の流れ場では説明困難な現象であり、学術的にも興味深い点である。



Fig.2 Trajectory of the particle's center of gravity.

4. 結言

細胞を剛体球形粒子で表現し、四角柱のポストを有する新型流路を模擬した計算領域に対して CFD を実施した。その結果、細胞の初期配置次第では、壁面との接触が中々起きないケースがあることが分かった。またその場合でも、徐々に壁面に粒子が接近する傾向を示すことが分かった。

文 献

- 1) Takashi Ohnaga, et al.: Highly efficient capture of cancer cells expressing EGFR by microfluidic methods based on antigen-antibody association, *Scientific Reports*, **8**, 12005, 2018.
- 2) 辻野紘大他: CTC(血中循環腫瘍細胞)捕捉用流路内における挙動の解析, 日本機械学会北陸信越支部学生会第 50 回学生員卒業研究発表会, C55, 2021.

微小正方形管内流れに浮遊する赤血球の管断面内分布

関眞佐子^{*, **}, 田中沙織^{*}, 佐井一総^{*}, 板野智昭^{*}

^{*}関西大学 物理・応用物理学科 [〒564-8680 大阪府吹田市山手町 3-3-35]

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

1. 緒言

管内層流に浮遊する粒子は、流速がある程度大きい場合、慣性による揚力を受けて下流の管断面内の特定の位置を通過するようになる (Segre-Silberberg(SS)効果). 浮遊粒子が変形性をもつ場合や媒質が粘弾性流体の場合には、変形性や粘弾性による揚力もはたらくため、管断面内の粒子の通過位置(集中位置)は、粒子の大きさや流速だけでなく、粒子や媒質の物性によっても変化する. この性質を利用して、SS 効果を細胞や血球などの浮遊粒子の分離に応用するマイクロ流体デバイスの研究が現在盛んに行われている.

本研究では、正方形断面をもつ微小管に、赤血球や剛体粒子を様々な媒質に浮遊させて流し、下流断面における粒子分布を計測する. 流速を変化させた場合の粒子分布の変化より慣性の影響を調べるとともに、赤血球と剛体粒子の分布の比較や、媒質としてニュートン流体や高分子水溶液、血漿を用いた場合の比較を行って、浮遊粒子の変形性や媒質のレオロジー特性の影響を調べる.

2. 実験方法

本研究は、関西大学倫理委員会の承認のもと実施した. 赤血球と血漿は、ヒト全血から遠心分離により得た. 浮遊粒子として、ヒト赤血球、ポリスチレン製粒子(直径 $5\mu\text{m}$), 媒質として血漿、デキストラン水溶液(PSB にデキストラン 40 (5wt%)とウシ血清アルブミン(1wt%)を添加した溶液)またはグリセリン水溶液(グリセリンと純水の 1:3 混合液)を用いた. 浮遊粒子を体積分率 0.005%程度で媒質に浮遊させた溶液を、シリンジポンプにより、幅 $50\mu\text{m}$ 、長さ 5-600mm の正方形管に流した. 管出口付近を下流正面から、対物レンズをつけた高速度カメラで撮影し、画像処理ソフトにより浮遊粒子の位置を計測して管断面内の粒子分布を得た.

3. 実験結果と考察

実験結果の例として、図 1 は血漿中の赤血球の分布を示す. 管長 $L=50, 100, 300\text{mm}$ の正方形管に対し、 $Re=0.1-5$ の範囲で流速を変化させた場合の結果である. 流速の小さな低 Re 数($=0.1$)の場合、(a)に示す上流($L=50\text{mm}$)の断面で比較的広く分散

した赤血球は、(c)に示す下流($L=300\text{mm}$)の断面では中心軸付近に集まっていることが分かる. これは主に赤血球の変形性に起因するもので、軸集中と呼ばれる現象である. 一方、最も流速が大きな $Re=5$ の場合、慣性の影響により(a)に示す上流断面で既に環状に集まり、(c)に示す下流断面では対角線上の 4 点(対角平衡点)への集中が見られる. $Re=0.5, 1$ の分布は、流速の増加に伴って $Re=0.1$ の分布から $Re=5$ の分布へと変化する過程を示す.

Segre & Silberberg は、SS 効果の最初の報告として、円管内流れ中の剛体粒子が下流断面で円環状(SS 環)に集まることを示した. 図 1 に見られる環状分布は SS 環に相当する. 正方形管内流れでは方位角方向の対称性がないために、粒子は最終的には離散点に集まる. $Re=5$ の場合のように、粒子が一旦環状に集まった後に、離散的な安定平衡点に移動するという 2 段階の過程を経るのは矩形管内流れの SS 効果の特徴である. また、赤血球が対角平衡点に集中する場合と同様の条件で剛体粒子を流すと断面各辺の中央付近の 4 点(面心平衡点)に粒子集中が見られることから、対角平衡点への集中は主に赤血球の変形性によるものと考えられる.

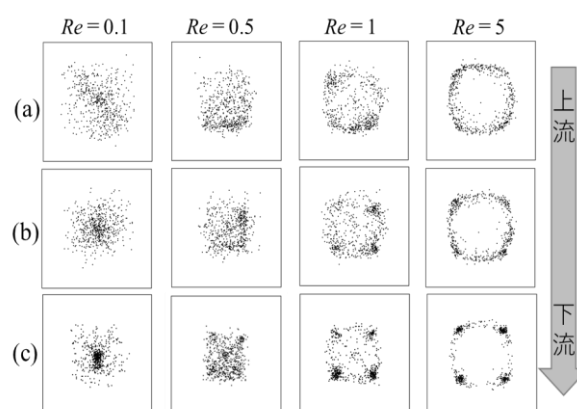


Fig. 1 Distributions of RBCs suspended in plasma for the tube length = 50mm (a), 100mm (b), and $L= 300\text{mm}$ (c).

4. 結言

微小正方形管内流れにおいて赤血球や剛体粒子の管断面内分布を計測した結果、赤血球の変形性や媒質の粘弾性の影響が示された.

謝辞 本研究の一部は科研費 20H02072 の支援を受けた.

要旨

6月5日(日)

16号館 504 教室

OS7

食品およびソフトマターの

レオロジー

OS8

レオロジー一般、その他

多糖類溶液の伸長レオロジーとトライボロジー

中馬誠*, 船見孝博*

* 三栄源エフ・エフ・アイ株式会社 [〒568-8588 大阪府豊中市三和町 1-1-11]

1. 緒言

食品業界では、増粘、ゲル化、安定化、分散などの目的で多糖類が使用されており、多糖類の添加により食品の物理的特性が変化し、食感が変化する。多糖類の物理的特性は、多くの場合、せん断応力とひずみで表されるせん断レオロジーによって定量化することができる。しかし、近年の技術の発展に伴い、伸長レオロジーやトライボロジーによる高分子流体の理解が進んでいる。

本研究では、キサンタンガム(XG)とローカストビーンガム(LBG)水溶液の人工唾液の存在下または非存在下での物理的特性を伸長レオロジーおよびトライボロジー測定により調査し、これらの物理的特性に対する多糖類の分子特性や唾液成分(塩類およびムチン)の影響を知ることを目的とした。

2. 実験方法

50 s⁻¹の定常ずり粘度が同等になるように調製した5対のXGおよびLBGの水溶液について、人工唾液の存在下および非存在下における伸長レオロジーおよびトライボロジーの物理的特性を調べた。伸長粘度は、キャピラリーブレークアップ伸長レオメーター(CaBER1, Thermo Scientific)を用い、直径4 mmの円盤プランジャーを用いて1 mmのギャップに試料をセットし、50 msで最終ギャップ4 mmまで引き上げた時のフィラメントの収縮挙動から算出した。摩擦係数は、直径6 mm、平均表面粗さ0.4・mの3つのポリジメチルシロキサン基板と直径12.7 mm、平均表面粗さ0.5・mのすりガラス球型治具を装着したレオメーター(MCR-302, Anton Paar)を用いて測定した。伸長粘度、摩擦係数測定ともに測定温度は25℃であった。

3. 実験結果

XG溶液の伸長粘度は、伸長流動開始直後に上昇し、LBG溶液の伸長粘度は、フィラメントの破断直前に上昇した。また、XG溶液では人工唾液の添加量の増加に伴い伸長粘度が減少し、LBG溶液では増加する傾向が見られた。いずれの場合も、唾液中のムチンの影響は小さかった。XG溶液の潤滑性は、ほとんどのすべり速度領域においてLBG溶液よりも大きかった。また、人工唾液を添加すると各試料溶液の摩擦係数は低下したがXG溶液のほうが顕著だった。

4. 考察

本研究の伸長粘度測定試験では、試料溶液を瞬時に引き上げた後にプランジャーを停止させる。伸長直後においては、試料の固体的な性質の影響を強く反映するため、XG溶液は、LBG溶液よりも高い伸長粘度を示すと考えられる。一方、XG分子はその骨格構造と静電反発により伸長した剛直なコンフォメーションをとるのに対し、LBG分子は静電反発のない柔軟でランダムなコイルコンフォメーションをとるため¹⁾、硬くて伸びたXG分子は、破断直前の伸びきった状態においてひずみ硬化が起こりにくいと考えられる。また、人工唾液中の塩類や陽イオンは、XG分子の水和を抑制し、分子の収縮を促進することで、隣接する分子との機械的相互作用を弱め、粘度を低下させることができると推察される。

同等のせん断粘度で摩擦係数を比較した場合、LBG溶液はXG溶液よりも大きい。この結果はLBGが膜を形成しにくく、治具の基材同士を接着させやすいことを示している。人工唾液を加えた多糖類溶液の境界潤滑領域における摩擦係数の低下は、人工唾液中の陽イオンと多糖類との相互作用に起因するため²⁾、静電的に中性の多糖類であるLBGよりも酸性の多糖類であるXGの方がより顕著になったと思われる。

5. 結言

伸長粘度およびトライボロジー測定によって得られる多糖類溶液の物理的特性は、せん断レオロジーだけでは予測できない事象を考察するための重要な情報となりうるということが明らかになった。

文 献

- 1) Launay, B., Cuvelier, G. and Martinez-Reyes, S.: Viscosity of locust bean, guar and xanthan gum solutions in the Newtonian domain: A critical examination of the $\log(\eta_{sp})/\log c[\eta]_0$ master curves. Carbohydrate Polymers, 34(4), 385–395, 1997.
- 2) Macakova, L., Yakubov, G. E., Plunkett, M. A. and Stokes, J. R.: Influence of ionic strength on the tribological properties of pre-adsorbed salivary films. Tribology International, 44(9), 956–962, 2011.

糖を添加したゼラチンゲルのレオロジー

槇靖幸*, 黒岩勇*, 江口允崇*, 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

ゼラチンにスクロースなどの糖を添加すると、ゲル化温度および融解温度が上昇し、弾性率が增加することは古くから知られている¹⁾。以前の研究で、我々はゼラチンゲルの弾性率の時間発展(エイジング)が糖の添加により速くなること、その弾性率の増加は円二色性測定により定量されるゼラチンの秩序構造(ヘリックス構造)の量と相関があることを示した²⁾。本研究では、スクロースと、人工甘味料の一つでスクロースのヒドロキシ基のうち3つが塩素に置換されたスクラロースを含むゼラチンゲルの動的粘弾性と円二色性の測定に基づいて、糖の添加によるゼラチンゲルの物性変化の機序について検討した。

2. 実験方法

スクロースまたはスクラロース水溶液を溶媒とする5 wt%ゼラチン溶液を試料に用いた。スクロース濃度は20, 30, 40 wt%, スクラロース濃度は5, 10, 20 wt%とした。動的粘弾性測定にはレオメータ(Rheologia A300, Elquest)を用いた。試料を55°Cで15分保持後、測定温度へ急冷し、ゲル化に伴う貯蔵弾性率 G' の経時変化を24時間測定した。円二色性測定は広島大学放射光科学研究センター(HiSOR) BL12に設置された放射光真空紫外円二色性分散計を用いた。60°Cで保持された試料を測定温度へ急冷し、波長221 nmにおける楕円率 θ の経時変化を6.5時間測定した。コラーゲン水溶液の楕円率を参照データとして、ゼラチンのゲル化におけるヘリックス形成率を算出した。

3. 結果と考察

様々な温度で動的粘弾性測定を行い、ゲル化に伴う G' の立ち上がりの有無の境界の温度をゲル化温度 T_{gel} とした。スクロースを添加した場合、 T_{gel} は糖濃度とともに上昇したが、スクラロースを添加した場合には T_{gel} は下降した。

Fig. 1とFig. 2はそれぞれ、スクロースとスクラロースを添加したゼラチンのゲル化に伴う G' の経時変化である。ゲル化後の緩やかな G' の増加

(エイジング)は、スクロース濃度とともに速くなり、スクラロース濃度とともに遅くなった。その結果、ゲル化24時間後のゼラチンの G' はスクロースの添加した場合は糖濃度とともに増大し、スクラロースを添加した場合には減少した。

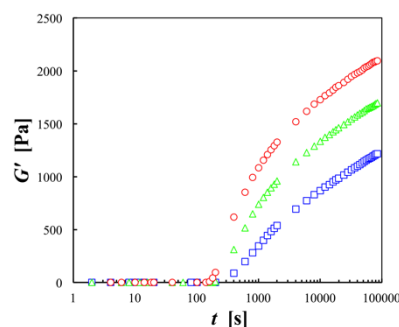


Fig. 1. Time evolution of G' for gelatin gels containing sucrose at 0 wt% ($\square$), 20 wt% ($\triangle$) and 30 wt% ($\circ$) measured at 20 °C.

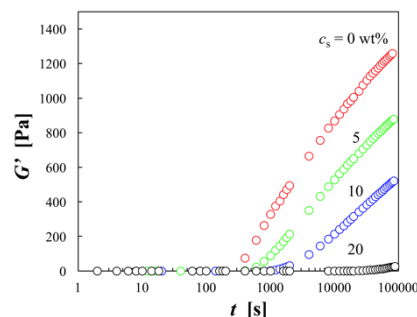


Fig. 2. Time evolution of G' for gelatin gels containing sucralose at 20 °C. The sugar concentration c_s = 0 wt% ($\circ$), 5 wt% ($\circ$), 10 wt% ($\circ$) and 20 wt% ($\circ$).

ゲル化に伴うヘリックス形成率の経時変化は、スクロースの添加により速くなり、スクラロースの添加により遅くなった。従って、スクロースはゼラチン分子のヘリックス形成を促進し、スクラロースは抑制することが明らかとなった。

文 献

- 1) Oakenful, D. and Scott, A.: Food Hydrocolloids, **1**, 163-175, 1986.
- 2) Maki Y., Watabe, S., Dobashi, T. and Matsuo, K.: J. Biorheol., **28**, 38-44, 2014.

餡子の降伏と流動挙動の可視化

田中 里歩, 藤井 修治

東洋大学 食環境科学科 [〒374-0193 群馬県邑楽郡板倉町泉野 1-1-1]

1. 緒言

餡子は茹でた小豆をすり潰してできた直径50-60 μm 程度のデンプン粒子の高密度凝集体である。和菓子に見られるように、餡子は形を維持する固体的性質と、変形により容易に流動する液体的性質を同時に示す。これはマヨネーズなどの粒子凝集系に見られる挙動と同じである。従来、粒子凝集系に見られる固体的挙動は粒子同士が互いの運動を阻害するCage効果により発現し、変形によりCageが壊れ個々の粒子がバラバラに動き出すことにより流動が発現すると解釈されてきた。餡子の力学挙動もCage効果により説明できるなら、餡子が固体から液体へと転移する際、その流動挙動は個々のデンプン粒子の動きやすさにより決まると考えられる。

本研究の目的は、餡子の流動挙動をデンプン粒子の運動をもとに明らかにすることである。レオメーターにより餡子を変形させて固体から液体へと徐々に状態を変化させると同時に、顕微鏡観察によりデンプン粒子の運動を解析し、餡子の降伏・流動挙動を考察する。

2. 実験方法

試料には遠藤製餡(株)のこし餡と蒸留水を72:28の比率で混合したものを用いた。応力制御型レオメーター(Anton Paar MCR-302)を用い、周波数を1Hzに固定し、振動振幅を制御した振動せん断を餡子に与えた。この時の餡子の流動挙動を顕微鏡により観察し、デンプン粒子の変位挙動を解析した。

3. 実験結果と考察

動的粘弾性の歪振幅依存性と、PIV解析により求めた振動下での粒子の移動量と方向を図1にまとめた。小振幅では $G' > G''$ であるが、振幅5%で交差、15%で $G'' > G'$ のままそれぞれ一定値

に落ち着いた。図中の小さな矢印は移動方向、色は移動距離の大きさを示している。振動振幅が小さいとき(1%)、デンプン粒子は集団ごと振動方向に対して垂直に移動し、振動ひずみが大きくなるにつれて(15%, 40%)集団ごと横方向へ移動し、最終的に液体状態へと転移する。この状態は非線形領域であるにも関わらず、Cageの破壊は見られなかったため、餡子の降伏挙動はCage効果と無関係であることが示唆される。また、振幅15%で動的粘弾性が一定値になる際、餡子粒子はクラスターを形成し振動方向に大きく移動し始めることがわかった。大振幅では餡子がスリップしていることが示唆される。

4. 結言

餡子の流動挙動をデンプン粒子の運動をもとに調べた。餡子の降伏はCage効果の破壊を示さず、クラスターのまま固体から液体的状態へと変化することがわかった。

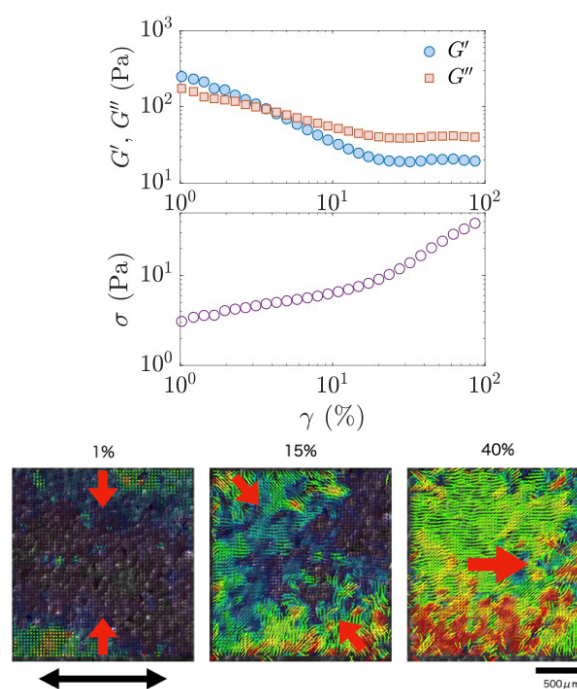


図1. 動的粘弾性と餡子粒子の変位挙動

深層学習式食感分析に必須となる 食感ビッグデータ構築に向けた食品圧縮試験の自動化

大村翔太郎, [○]武政 誠

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

1. 背景 ヒトが感じるおいしさは、におい、味、食感などに影響されるが、なかでも食感はおいしさの6割強を占めているといわれている¹。

食感を定量評価するためには、一般に圧縮試験機を用いて、歯や舌を模した器具により、圧縮距離に応じた圧縮力を数値化し、解析するテクスチャプロファイルアナリシス(TPA)が主流である。一方、食感の多様性により、TPAには様々な問題が指摘されており、必ずしもヒトの感覚を反映することが困難であることも知られている。

我々は、TPAに代わる新しい食感分析法として、深層学習に基づいた分析法開発に取り組んでいる。ここで問題となるのが、食感の試験回数である。

深層学習では、大量のデータ数が一般に必要な。例えば、画像の分類を深層学習で行う際には、学習に利用する画像数を増加させるほど判別精度が増加し、3億枚の画像を利用してもまだ画像数の増加により性能が向上すると報告されている²。この規模に匹敵する、いわゆるビッグデータは、食品圧縮試験では構築されていない。

我々は、過去に数百～2千回程度の食品圧縮試験を手動で実施し、食感分析においても深層学習が効果的であることを示してきた³。一方、2千回程度ではまだ不十分であることは明白である。食品圧縮試験自体は、比較的簡単な操作であり、また装置は普及しているものの、1研究室で測定回数で1万を超えるような食感ビッグデータを構築する試み自体、報告はないようである。

2. 目的

深層学習により食感解析を行う基盤として、今後食感ビッグデータを構築するために必須となる、食感測定を自動化したシステム構築を行う。

3. 実験方法

食品を運搬台に載せて多数セットしておき、この運搬台をロボットアームにより、テクスチャアナライザに自動で運搬し、コンピュータ制御で食品圧縮試験を実施し、その後圧縮後の食品と運搬台を分離してそれぞれ回収する。これを1サイクルとして、次のサンプル圧縮へと入るシステム

とした。前述の、食品運搬台を多数キューにストックしておく「サンプルラック」は現在300個までセット可能なサイズで設計した。ロボットアームは、5～7軸のアームを利用し、またアーム先端に取り付けたエンドイフェクタには、サクシジョンカップをセットした。食品運搬台はPLAを利用した3Dプリントにより作製し、サクシジョンカップで吸引可能な構造とした。また、吸引時などでトラブルが発生した際も、次のサンプル圧縮に支障のないよう、一連の工程に安全装置として機能するセンサーや圧縮空気をを用いたサンプル除去機構を追加することで、連続測定回数を増加させた。

4. 結果と考察

自動化された食品圧縮試験では測定一回に140秒要する。24時間フルに稼働すれば、1日あたり617回の食品圧縮試験を実施し、テクスチャプロファイル取得可能である。前述のサンプルラックのサイズの制限もあり、現在は500回/日の測定が可能となっている。ロボットアームの可動域内には、さらにサンプルラックを追加したり、テクスチャアナライザを追加することで、最大2倍程度の測定レート向上が可能である。

システム上では、僅かな変更でこれらの拡張も可能であり、食品ビッグデータ構築に向けて、本自動測定系が機能し始めた段階である。

謝 辞

本研究の一部は、ムーンショット農林水産研究開発事業(MS508)によって実施された。

文 献

- 1) 勝田啓子, “新食感事典”, 西成勝好, 中沢文子, 勝田啓子, 戸田準編, (1999). サイエンスフォーラム, 東京, p.20
- 2) C Sun, A Shrivastava, S Singh, A Gupta, Revisiting Unreasonable Effectiveness of Data in Deep Learning Era, (2017), Google Research Carnegie Mellon University
- 3) 吉田駿介: 機械学習による食感分析, 人工知能学会全国大会論文集, 34, 1-2, 202

サルナシ果汁の凝乳活性とモデルチーズの調製

○兼子 ささら, 栃原 孝志, 金田 勇

酪農学園大学 酪農学研究科 食品栄養科学専攻 [〒069-8501 北海道江別市文京台緑町 582]

1. 緒言

近年キウイ, 生姜等の植物の凝乳酵素の研究が行われている¹⁾. 中でもカゼインを強く分解するプロテアーゼが存在している²⁾ サルナシという植物の果実に注目し, サルナシによるチーズ製造の可能性を検討している. 本研究ではサルナシ凝乳活性の調査とモデルチーズの調製を行った.

2. 実験方法

サルナシ果実に蒸留水を同量加えポリトロン処理, および超音波処理後遠心分離を行い, その上清液をサルナシ果汁とした. 果汁処理はすべて低温にて操作. タンパク質は Bradford 法にて定量した. ミルクサンプルは 11% スキムミルク, 高温短時間殺菌乳 (HTST 乳) を共に最終濃度 1mM になるよう CaCl_2 を添加し調製した. レオロジー測定はレオメーター (MCR501) を用い 35 °C のミルクサンプル 12mL に 5% レネット 120 μL , サルナシ果汁 240 μL 添加後, 動的弾性率の時間発展を測定した. モデルチーズは 35°C の HTST 乳 100mL に 10% クエン酸 2mL 添加し静置後 1M CaCl_2 100 μL 添加しレネット 1mL サルナシ果汁 2mL をそれぞれ添加後カットし遠心し調製した.

3. 実験結果

図 1 はスキムミルク系での複素弾性率の時間発展である. 凝乳活性は凝固剤添加後 30 分経過時の複素弾性率 (G^*_{30}) とした. レネット 1 mg/mL を 1U とし, サルナシタンパク質濃度で規格化するとレネットに比べ約 614 倍の活性を持つことがわかった. 図 2 は HTST 乳の複素弾性率の時間発展であるが, ここでもサルナシはレネットの約 120 倍の活性が確認された. 図 3 にモデルチーズの外観を示す. モデルチーズの歩留まり率と水分量を測定したところ, サルナシモデルチーズはそれぞれ 12.2% と 50.8% でレネットモデルチーズが 16.9% と 37.1% となった. サルナシモデルチーズの方が歩留まりが悪いという結果となったが図 3 より実際にカードを形成していることからサルナシでのチーズ製造は可能だと考えられた.

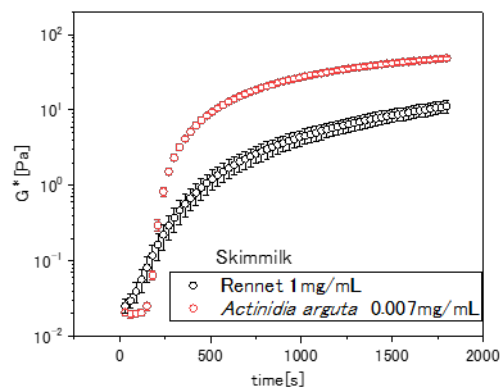


Fig.1 Time evolution of the complex modulus for SM samples added coagulants

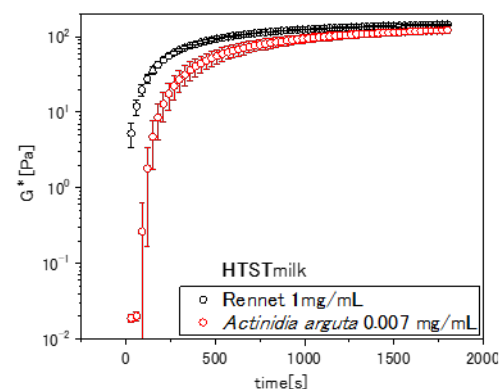


Fig.2 Time evolution of the complex modulus for HTST samples added coagulants



Fig.3 *Actinidia arguta* (left) rennet (right) model cheese

文 献

- 1) Miguel A. et al., (2013), Comparison of the milk-clotting properties of three plant extracts, Food Chemistry, 141(3), 1902-1907.
- 2) Miyazaki S. et al., (2019), Purification and Biochemical Characterization of Cysteine Protease from Baby Kiwi (*Actinidia arguta*), The Open Biochemistry Journal, 13, 54-63

流動下の粘弾性測定法の流体状米飯・餅による検証

菜嶋健司

(株) 大菜技研 [〒305-0047 つくば市千現 2-1-6]

1. 緒言

レオロジー測定による食感の数値化は、重要な研究課題であり続けている。しかし、力刺激を感じる感覚を、力学測定であるレオロジーに置き換えるだけのこと、と簡単に済ませることはできないようである。これは、レオロジー測定に取りこぼしがあったからだと考える。

食感を生み出すとき、食べ物は必ず変形や流動を伴っている。一方、レオロジー測定の動的粘弾性測定は元に戻る変形のみを与えて測定している。この違いを無くすこと、即ち、粘弾性測定の振動に定常流動を加えた測定法が課題解決に繋がると考えられる。この『流動下の粘弾性』測定法の有効性を検証するために、米飯、餅を用いてその差異が見いだせるか調べた。

2. 実験方法

粘度等の一次物理量は、試料の濃度や温度が影響するので、食感の特徴を直接比較する物理量には不向きである。そこで、流動下の粘弾性で得られる測定値を同時に得られる参照値と比較することで、特徴を抽出する指標化を行った。ここでは、以下の3つの指標が評価の対象とした。

Gr' 、 Gr'' (貯蔵・損失弾性率の、流動下での測定値を流動0での測定値で除した値)、

De (粘度を同一剪断流動下での複素粘度の絶対値で除した値)

使用した試料は、米飯、および、市販の切り餅で、適宜、水の添加、加熱、練りや攪拌により流体とした。上記指標の濃度依存性が大きくないかを調べるため水の添加量を変えたものも測定した。測定は、角周波数 2.5~40 rad/s、及び、重畳する剪断速度 0、及び、2 倍間隔の 6 点で行った。

3. 実験結果

今回の試料は、測定値の剪断速度依存性が、剪断速度ではなく、剪断速度/測定周波数に依存すると判断できる結果を示したので、図はこれを横軸としている。また、 Gr' 、 Gr'' は共に、剪断速度 0 で 1 に漸近し、 De については、ニュートン流体では 1 となる指標である。

米飯、餅とも定常流粘度は、特に低剪断速度領域で時間経過や流動履歴が影響したと思われる顕著な変動が観測された。これに対し、米飯の幾つ

かの Gr' の測定結果 (Fig. 1) に示すように、経時変化、濃度変化とも変動が小さい。試料固有の特徴を捉える手法として有望である。

Fig. 2 は、 Gr' 、 Gr'' を米飯と餅で比較したものであるが、高重畳剪断速度での影響が餅で比較的小さいという結果を示している。

同様に Fig. 3 は De の比較結果である。 De の低重畳剪断速度域は図には示さないが周波数依存性が大きく、試料の流体構造の微妙な変化が反映されていると想像している。これに対し、高速側は周波数依存性が減少し、 De 値は餅の方が小さくなる。これらの値は食感解明への貢献が期待される。

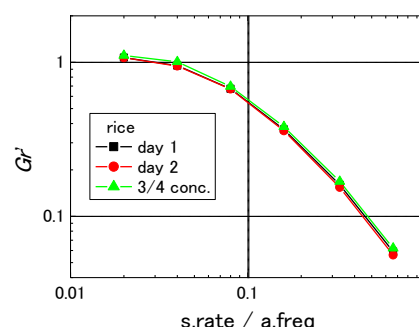
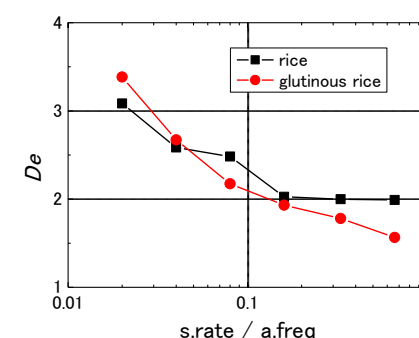
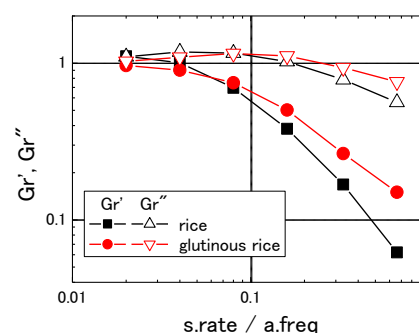


Fig.1 Gr' variation of 'rice samples' in various condition. ($\omega=20$ rad/s, $\gamma=0.1$; the same below)



Figs.2, 3 Comparisons of 'rice' and 'glutinous rice' samples on Gr' , Gr'' and De .

高齢者が安全に喫食できるソース付加パンの力学的特性と咀嚼・嚥下

高橋智子

神奈川工科大学 (非) [〒243 -0292 神奈川県厚木市下荻野 1030]
健康医療科学部管理栄養学科

1. 緒言

多孔質食品であるパンは、唾液を吸収しやすいために窒息の原因食品として、餅、米飯と並んで上位に位置づけられている。そのため、唾液の質、量が変化する傾向にある高齢者は、パンなどの多孔質性食品をお茶、牛乳などの液状食品に浸しながら喫食することがある。近年、咀嚼、嚥下機能が低下した高齢者が、口中において食塊形成しやすく、誤嚥の危険性を低減させるために、予め水分を含ませたパンが冷凍流通により販売され利用されている。本研究では、多孔質であるために食べにくいとされているパンに異なる力学的特性を有するソースを浸漬付加することが、パンの力学的特性、および食べやすさに与える影響について検討した。

2. 実験方法

パンクラムに蒸留水、増粘剤添加溶液、増粘剤添加溶液の容量 50%を植物油、乳化剤に置き変えた植物油乳化溶液、および植物油のみを浸漬させたパン試料を調製した。浸漬に用いた溶液の流動特性、浸漬パン試料の吸水率、1回圧縮後の離水率、破断特性、テクスチャー特性、咀嚼・嚥下筋電位測定、および官能評価を行った。

本研究は神奈川工科大学人倫理審査委員会の許可を得て施行された。

3. 実験結果

浸漬溶液の流動特性は蒸留水、植物油はいずれもニュートン流体であった。増粘剤添加溶液、植物油乳化溶液の粘性率は蒸留水、植物油よりも大きく、植物油乳化溶液の流動性指数は増粘剤溶液よりも大きなものとなった。吸水率は蒸留水試料が最も大きく、植物油試料が最も少ない。離水率は蒸留水試料が最も大きく、増粘剤溶液試料、植物油乳化溶液試料は少なかった。圧縮率 25%にお

ける応力、テクスチャー特性の硬さはいずれも植物油試料が大きく、蒸留水試料は小さいことが示された。増粘剤添加溶液試料の付着性は最も大きいものとなった。筋電位測定の結果、咀嚼回数は蒸留水試料が最も少なかったが、咀嚼筋活動時間、筋活動量は植物油乳化溶液試料が小さいものとなった。咽頭音、嚥下時筋電位測定結果より、蒸留水試料は咀嚼開始直後に分離された蒸留水を嚥下していることがわかった。官能評価の結果、蒸留水試料は口中で浸漬液が分離しやすく、まとまりにくいと評価された。一方、植物油乳化溶液試料はまとまりやすく、飲み込みやすいと評価された。

4. 考察

以上の結果より、乳化溶液をパンに浸漬させて喫食することで、咀嚼しやすく、また、咀嚼中に蒸留水付加資料のように付加液やパン食塊を嚥下し誤嚥する危険性も少なく、安全に喫食できるであろうことが示唆された。

謝 辞

本研究は 2020 年度エリザベス・アーノルド富士財団による学術研究助成金により行われた。

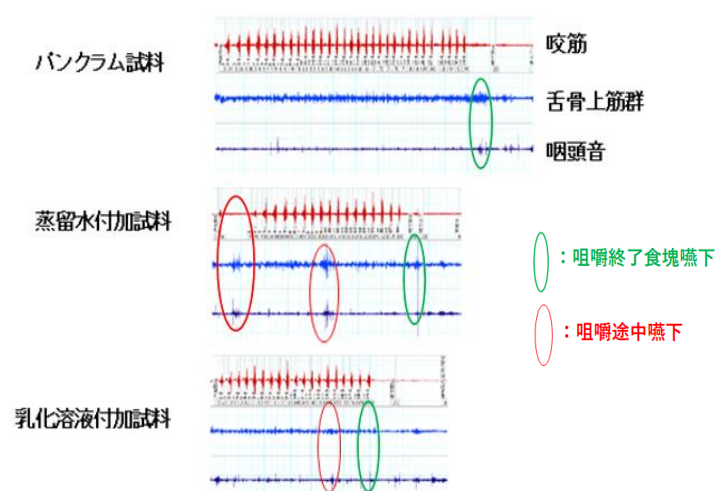


図 咀嚼・嚥下時筋電位測定

咀嚼・嚥下困難者のためのテクスチャーコントロール

Zhang Ke*, 西成勝好*, Fang Yapeng**, Dou Zuilin***

* 湖北工業大学 食品生物工学科 [Wuchang, Wuhan 430068 P.R. China]

** 上海交通大学 食品科学工学科, *** 中山大学附属第三医院

1. 緒言

高齢化の進展に伴い、咀嚼・嚥下困難者数は増加し、重要な問題となっている。特に、高齢者における死因では誤嚥性肺炎が最も重要なものとなっている。誤嚥の防止に関しては、増粘剤による粘度増加が有効であることが報告されてきたが、過度の増粘は嗜好性を損ない、無理に摂取させるとかえって危険となり、あるいは摂食意欲を損ない、脱水症状に陥るなどの問題が起こる。

誤嚥防止のための増粘剤として澱粉系のものは唾液のアミラーゼの作用により瞬間的に粘度低下が起こるため、非澱粉系多糖類が有望視されている^{1, 2)}。キサンタンガム及びグアーガム溶液の場合、低ずり速度で高粘性を示した溶液が誤嚥の確率が低い事が示されたが、その後の凝集性に関する再検討の結果、伸長粘度測定により評価される凝集性を考慮することの重要性が指摘された³⁾。

本講演では食品のテクスチャー改変のために広く使用されてきたマイクロゲルについて⁴⁾、誤嚥防止のための使用に関して述べる。マイクロゲルはゲル形成能のある多糖類や蛋白質などをゲル化の過程でせん断により生成させるか、または油相中にゲル化しない条件で分散させ、温度などのパラメータ変化により生成させるなど方法が知られている。ゲル形成能のある高分子溶液をチューブ中を蠕動移送の過程でゲル化させ、安価に大量に作成する方法により調製し、そのレオロジー特性、トライボロジー特性を評価し、医師の監督下で治療の一環としての診察におけるビデオフルオグラフィによる観察とを合わせて検討した結果を報告する。

2. 実験方法

寒天分散液のチューブ中での蠕動移送の過程でゲル化させ、安価に大量に作成する方法により、マイクロゲルを調製し、そのレオロジー特性、トライボロジー特性を評価し、医師の監督下で治療の一環としての診察におけるビデオフルオグラフィ(VF)による観察とを合わせて検討した。VFについては、中山大学附属第三医院の倫理委員会により承認されている。

3. 実験結果と考察

降伏応力は凝集性と関係しており、誤嚥に関連した重要なレオロジー特性である³⁾。寒天マイクロゲル及びキサンタンガム分散液の降伏応力はいずれも濃度の増加に伴い増加した。

定常ずり粘性測定、微小変形振動測定による評価では、寒天マイクロゲルは比較的低濃度でキサンタンガムと同程度の粘性、粘弾性を示した。

本研究による結果は各種症状(高齢、頭頸部癌、パーキンソン病、脳卒中)により引き起こされる誤嚥の重症度(PAS, Penetration-Aspiration Scale)が粘度増加に伴い減少するという報告と合致するものと考えられる。

5. 結言

今回、新しい方法で調整した寒天のマイクロゲルは誤嚥防止のための増粘剤(いわゆるトロミ剤)として有望であると期待される。

謝 辞

広州研究プロジェクト 2016010105005、中国科学プロジェクト 2017YFD0400200、中国自然科学財団 31671811 & 31701555、上海科学技術委員会 8JC1410801

文 献

- 1) Nishinari, K., Takemasa, M., Su, L., Michiwaki, Y., Mizunuma, H. & Ogoshi, H.: Effect of shear thinning on aspiration-Toward making solutions for judging the risk of aspiration. *Food Hydrocoll.*, **25**, 1737-1743, 2011.
- 2) Ortega, O., Bolivar-Prados, M., Arreola, V., Nascimento, W. V., Tomsen, N., Gallegos, C., Brito-de La Fuente, E., & Clavé, P.: Therapeutic effect, rheological properties and alpha-amylase resistance of a new mixed starch and xanthan gum thickener on four different phenotypes of patients with oropharyngeal dysphagia. *Nutrients*, **12**(6), 1873, 2020.
- 3) Nishinari, K., Turcanu, M., Nakauma, M., & Fang, Y.: Role of fluid cohesiveness in safe swallowing. *Npj Sci. Food*, **3**, 1-13, 2019.
- 4) Norton, I. T., Smith, C. G., Frith, W. J., & Foster, T. J.: The production, properties and utilisation of fluid gels. In *Hydrocolloids 2: Fundamentals and Applications in Food, Biology, and Medicine*, K. Nishinari Ed., Elsevier, 2000, pp. 219-227.

複雑な管形状による多数の固体粒子を含む 非ニュートン流体の数値流体解析

川俣柊介*, 川本裕樹**, 奈良祥太郎***, 野原徹雄**, 高橋俊**, 大林茂****,
東海大学大学院 工学研究科 機械工学専攻 [〒259-1292 神奈川県平塚市北金目 4-1-1]

** 東海大学 工学部 機械システム工学科

*** 東海大学大学院 総合理工学研究科 総合理工学専攻

**** 東北大学 流体科学研究所

1. 緒言

ニュートン流体と違ってせん断速度により粘度が変化する非ニュートン性流体は、層流であっても強い非線形挙動を示す場合がある。これまで我々は弱い非ニュートン流体の流れ場に多数の粒子を混入させた数値流体解析を実施して流れ場の特性を調べてきた¹⁾。本研究では実験データを基に流量を制御する数値モデルを適用して、複雑な管形状内部における流れ場を再現すべく数値流体解析を行った。その際に複雑な形状の管内で発生する非ニュートン特性の影響に着目し、実験データとの定量的な一致に基づく提案手法の有効性と、管内に生じる特徴的な流れ場を明らかにした。

2. 解析方法と計算条件

実験の流れ場を再現するための数値モデルを検討した。図1と表1にそれぞれ計算領域、各格子での計算条件を示した。計算領域のZ方向上下の境界に実験で計測された圧力差を与え、計算領域上下境界には速度の周期境界条件を適用した。流体の密度は実験と同様の 1010 kg/m^3 とした。支配方程式は3次元の連続の式及び非圧縮性 Navier-Stokes 方程式である。格子は完全等間隔直交格子を用い離散化に有限差分法を用いた。非ニュートン流体の粘度は見かけ粘度 $15.5\text{ Pa}\cdot\text{s}$ ⁰、粘度指数を0.16としてべき乗則モデルによって計算された。計算を安定させるため、粘度に対して上下限值を設定し、質量流量の補正モデルを導入した。この補正モデルを導入する事で計算された質量流量と実験値の差からバルクの見かけ粘度が自動的に補正される。管直径と管長はそれぞれ $11\times 10^{-3}\text{ m}$ と $33.75\times 10^{-3}\text{ m}$ として埋め込み境界法によって定義されている。

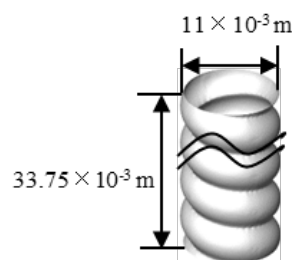


Fig. 1 Shape of corrugated tube

3. 実験結果

図2は圧力差と質量流量の特性の関係を示しており、この結果から本解析手法は格子に依存することなく、実験の流量と圧力差を再現することが確認された。

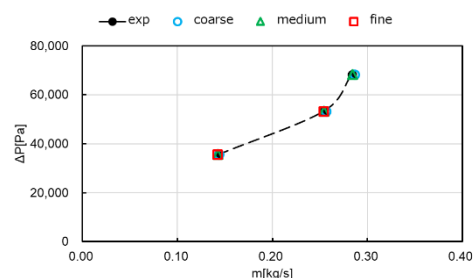


Fig.2 Comparison between experimental and numerical values with different grid resolution

4. 結言

管内の非ニュートン流の実験で得られた流量と圧力差を再現する手法を構築し、この手法が格子に依存しないことを明らかにした。今後は固体粒子間の相互作用と複雑な管形状の影響を調べる。

文 献

- 1) Kawamata, S., Kawamoto, Y., Nara, S., Nohara, T., Takahashi, S., and Obayashi, S., Proc International Conference on Flow Dynamics 2021, (2021).

Table 1 Grid resolution

	Grid size [m]	Number of grids
Coarse	0.500×10^{-3}	$29\times 29\times 68=57,188$
Medium	0.250×10^{-3}	$54\times 54\times 135=393,660$
Fine	0.125×10^{-3}	$104\times 104\times 270=2,920,320$

要旨

ポスター発表

大豆タンパク質・大豆多糖類混合系の動的粘弾性と構造観察

吉村美紀*, 小幡琴音*, 島田良子*

* 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

大豆タンパク質は、血中コレステロール低下作用、低栄養改善など、栄養学的・生理学的に優れたタンパク質である。ゲル化力、結着力、乳化力といった機能があることから食肉加工品や水産練り製品、豆腐関連製品など様々な加工食品に利用されている。大豆多糖類は水溶性食物繊維であり、タンパク質の安定化や調理麺や寿司などの加工米飯の結着力防止目的で利用されている。これらは食品ハイドロコロイドとして、それぞれ異なる特性を有し、用途に合わせて使用されるが、混合により異なった性質を示すことが示されている。

本研究では、粒子径の異なる大豆タンパク質と水溶性食物繊維である大豆多糖類を混合し、動的粘弾性と構造観察から大豆タンパク質のゲル化に及ぼす大豆多糖類の影響を検討した。

2. 実験方法

1) 試料：粉末状大豆タンパク質 (Soy Protein Isolate : SPI と示す) (不二製油 (株)) フジプロ E (E と示す)、ニューフジプロ SE (SE)、粉末状大豆タンパク質ニューフジプロ SEH (SEH) の3種を用いた。大豆多糖類 (Soy Polysaccharide : SPS と示す) は水溶性大豆多糖類ソヤファイブ-S-DA100 (不二製油 (株)) を用いた。

2) 粒子径測定：レーザー回折散乱式粒子径・粒度分布測定装置 ((株) 島津製作所, SALD-2300) を用いた。粒子径基準は体積基準とし、大豆タンパク質 (E, SE, SEH) の粒子屈折率は 1.45、大豆多糖類 (SPS) の粒子屈折率は 1.55 とした。分散媒には蒸留水を用いた。粒子径分布幅はスパンを評価指標として用いた。スパン = $(d_{90} - d_{10}) / d_{50}$ 、 d_{10} , d_{50} , d_{90} は、粒子径分布の積算値が 10%, 50%, 90% に相当する粒子径を示す。

3) pH 測定：SPI : SPS = 9 : 1 の混合系 (総多糖類濃度 16.7%) の pH を測定した。

4) 圧縮貫入測定：SPI (E) と SPS 混合ゲル (総多糖類濃度 16.7%) を用いて、クリープメーター ((株) 山電, RE2-3305B) で最大荷重 20N、貫入速度 1.0mm/sec、試料の高さの 70% 圧縮とした。

5) 示差走査熱量測定 (DSC) : 20% SPI (E) ギルと 20% SPS ギルは DSC-6100 型 (セイコーインスツルメンツ) にて、温度範囲は 20~140℃、昇温速度は

2℃/min とした。リファレンスにはイオン交換水を用いた。

6) 動的粘弾性測定：レオログラフゾル (東洋精機製作所) を使用した。セルに試料を約 1.5 ml 挿入し、周波数 0.3, 1, 3, 10 Hz の4段階、振幅 $\pm 50 \mu\text{m}$ で測定を行った。

7) 構造観察：SPI : SPS = 9 : 1 混合系を共焦点レーザー走査顕微鏡 (OLYMPUS (株), FV3000 倒立 IX83) を使用し、40 倍対物レンズを装着し、赤色レーザー光 (640nm) で励起した。

3. 実験結果

1) 粒子径測定：E, SE, SEH の平均粒子径 MV は 63.4 μm , 47.6 μm , 32.1 μm 、スパンは 1.65, 2.11, 2.98 を示した。

2) pH 測定：SPI : SPS = 9 : 1 の混合系では、E は 6.05, SE は 6.69, SEH は 6.98 を示した。

3) 圧縮貫入測定：SPI : SPS = 10 : 0 は破断点が見られたが、SPS 混合によりゲル強度が減少した。

4) 示差走査熱量測定 (DSC) : SPI (E) 及び SPS 単独系は吸熱・発熱ピークは見られなかった。

5) 動的粘弾性測定：いずれの SPI も SPS 混合比率の増加により G' が低下し、 $\tan \delta$ が増加し粘性的要素が高くなった。SPS 混合による SPI のゲル化の障害が示唆された。 $\tan \delta$ は $E > SE > SEH$ となった。

6) 構造観察：相分離状態が観察された。SPI (SEH) はタンパク質のつながりが見られたが、SPI (E) はつながりが少なく、相分離をより起こしやすいことが示唆された。この結果は、動的粘弾性測定で SPI (E) が SPS 混合により粘性的要素が高くなることと関連性があると考えられた。

4. 考察

SPI は加熱されたタンパク質であり、タンパク質分子の球状状態がほぐれて相互作用は起こりやすく、加熱・冷却により SPI ゲルを形成した。SPS 混合により、ゲル強度は低下し、粘性的要素が高くなり、相分離がみられ、ゲル形成の障害が示唆された。SPI (E) でその傾向が強く、SPI の pH、粒子径が影響する可能性が考えられた。

5. 結言

SPI のゲル化は SPS 混合により障害され、相分離が観察された。SPI (E) でその傾向が強かった。

小麦粉・レジスタントスターチ混合系の物性、構造およびレジスタントスターチ量

島田良子*, 玉田真友美*, 香椎霞*, 吉村美紀*

* 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

レジスタントスターチ (resistant starch : RS と示す) は、「健常人の小腸管腔内において消化吸収されることのないデンプンおよびデンプンの部分分解物の総称」と定義されており、食物繊維と同様に、適量を習慣的に摂取することにより、生活習慣病予防に寄与する機能性成分として注目されている。また、1日のエネルギー摂取量比率の高い炭水化物(主食)にRSを添加することで、食物繊維摂取量を増加させることが可能であると考えられ、パンへのRS添加を検討してきた¹⁾。

本研究では、麺類のモデルとして特性の異なるRSを混合した小麦粉水分散ゲル(RS混合系ゲル)を調製し、物性・構造およびRS量を検討した。

2. 実験方法

- 1) 試料:小麦粉は、薄力粉、強力粉(日清フーズ㈱)を1:1で混合した。RSは、ハイアミロースコーンスターチ(HACS)、リン酸架橋タピオカデンプン(XLTS)、高置換ヒドロキシプロピル化リン酸架橋タピオカデンプン(HHTS)、低置換ヒドロキシプロピル化リン酸架橋タピオカデンプン(LHTS)を用いた。
- 2) 試料調製:小麦粉・RSにイオン交換水を加え、混合系総濃度16.7w/w%とした。小麦粉のみをコントロールとし、小麦粉のうち5%をRSに置換したものをRS混合系ゲルとした。常温で30分間攪拌後、オイルバスで90℃~95℃、30分間加熱・攪拌を保持した。ガラスリング容器に流し入れ常温で1時間放冷後、10℃で18時間冷却し試料ゲルとした。
- 3) 圧縮測定:クリープメーター(RE2-3305B, ㈱山電)、直径40mmプランジャーを用い、最大荷重20N、圧縮速度1.0mm/sec、試料の70%を1回圧縮した。破断点がない試料ゲルがあったため、歪0.5の応力、エネルギーを求めた。
- 4) テクスチャー測定:クリープメーター、直径20mmプランジャーで、最大荷重20N、圧縮速度1.0mm/sec、試料の50%を2回圧縮した。
- 5) 構造観察:走査型顕微鏡(SEM; JCM-5000, 日本電子㈱)、偏光顕微鏡(エクリプス LV100N-TP-12, ㈱ニコン)を用いた。

- 6) RS量:試料を-80℃で凍結後に凍結乾燥させ、Megazyme社のRS ASSAY KIT (AOAC Method 2002.02)を用いて測定を行った。

3. 実験結果

- 1) 圧縮測定:HHTS, LHTSは弾性的な圧縮曲線を示した。初期弾性率は、HHTSとLHTSが他の試料ゲルよりも有意に低値を示した。歪0.5の応力、エネルギーともにRS混合系ゲルで低下し、HHTSで最も低値を示した。
- 2) テクスチャー測定:硬さではRS混合系ゲルがコントロールよりも有意に軟らかく、HHTSが最も軟らかかった。付着性は、XLTS, HHTSがControlよりも低く、HHTSはHACS, LHTSよりも低値を示した。凝集性は有意差がなかった。
- 3) 構造観察:SEM観察においてHACSとXLTSではデンプン粒が観察された。偏光顕微鏡観察では、HACSでは偏光十字が観察されたが、XLTSではデンプン粒に亀裂が生じ偏光十字が変形している様子が観察された。
- 4) RS量:HACSで他のゲルよりも有意に増加した。LHTSはコントロールよりも有意に増加した。

4. 考察

RS混合系ゲルはグルテン量が少ないため軟らかく、HHTSは保水性が高いため、他のRSよりも軟らかいゲルとなったと推察された。HACSは加熱後も偏光十字が観察されたことから、デンプンが糊化していないためRSが最も残存したと推察された。

水分量の多い小麦粉水分散系においてRSを残存させるためには、HACSを混合することが最も有効であるが、HACSを混合すると軟らかくなってしまうため、麺類としてコシを付与するにはグルテンを添加する等の工夫が必要であると推察された。

5. 結言

RS混合系ゲルは混合するRSによって物性が異なり、HACS混合系はRSが多く残存した。

文 献

- 1) Shimada, R., Yoshimura, M.: J Biorheol 35, 10-17, 2021.

改良された界面移動描像によるゲル化ダイナミックスの解析

ポストラド マイケル*, 古澤和也**, 土橋敏明*, 山本隆夫*

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

**福井工業大学 環境情報学部 [〒910-8505 福井県福井市学園 3 丁目 6 番 1 号]

1. 緒言

DNA, カードラン等高分子鎖の溶液を入れた容器を半透膜で封印し, 高分子鎖を架橋する金属イオンの溶液に浸漬すると, イオン溶液と高分子溶液の境界面である半透膜からゲルが形成されていくことが知られている^{1,2)}. Fig.1 に示すような矩形容器の場合, ゲル厚 X と浸漬時間 t の間には

$$X = \sqrt{2Kt} \quad (1)$$

という関係が成り立つことが知られている. ゲル成長係数 K は, ゲル内におけるイオンの拡散係数 D , イオン濃度 ρ_s , ゲル化に必要なイオン量 ρ_G の関数である. (1)式は界面移動(Moving Boundary(MB))描像に基づく理論により導出され, ゲル厚と浸漬時間の関係については実験結果をよく説明している. 一方, 導出された K の関数形については必ずしもシミュレーションや実験結果を満足に説明できていない. 本研究では, 従来の MB 描像を改良し実験結果をよく説明する K の関数形を導出した.

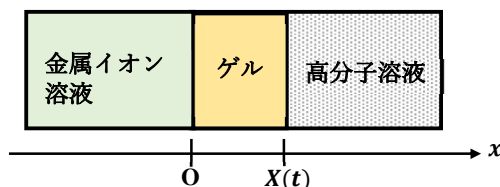


Fig.1 矩形容器によるゲル化

2. 理論

今回報告する改良された MB 描像ではゲル中のイオン流の定常性という仮定¹⁾を外すことに成功した. ゲル中のイオン濃度を $\rho(x,t)$ として, $X(t)$ は以下の連立方程式の解として求まる.

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} = D \frac{\partial^2 \rho}{\partial x^2} \quad (2)$$

(2)式の境界条件: $\rho(0,t) = \rho_s$, $\rho(X,t) = 0$

$$\frac{dX}{dt} = -\frac{1}{\rho_G} D \left. \frac{\partial \rho(x,t)}{\partial x} \right|_{x=X} \quad (3)$$

(3)式の初期条件: $X(0) = 0$

上式の解は(1)式と同じであるが K は次式となる.

$$\rho_s = 2\rho_G \sqrt{\frac{K}{2D}} e^{\frac{K}{2D}} \int_0^{\sqrt{\frac{K}{2D}}} e^{-s^2} ds \quad (4)$$

3. シミュレーション・実験結果との比較

(4)式の妥当性を Monte Carlo シミュレーションで確認したものを Fig.2 に示す.

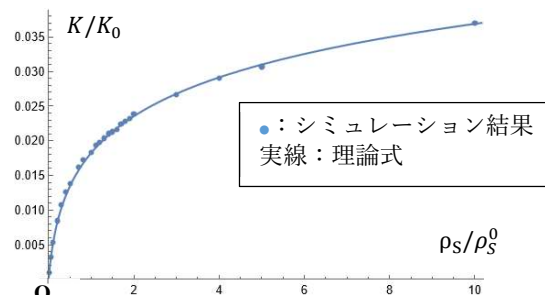


Fig.2 シミュレーションで求めた成長係数
シミュレーション結果は理論式上によくのっている。
 K_0 , ρ_s^0 はシミュレーションで適当に定めた一定値.

実験で設定できるパラメータは ρ_s で, 測定できるパラメータは K である. CoCl_2 溶液に DNA 溶液を浸漬しゲル化させた場合の成長係数と CoCl_2 溶液濃度の関係³⁾を(4)式でフィットしたものを Fig.3 にしめす. ここでは, 円筒型容器に封入した場合でも成長係数は(4)式で表記できるとした. これらより, 測定可能量から D と ρ_G というゲル化を特徴付けているパラメータが求まることがわかる.

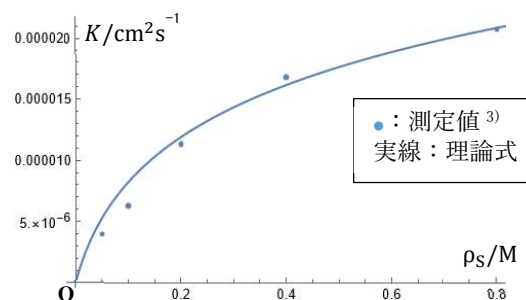


Fig.3 CoCl_2 溶液による DNA ゲル成長の成長係数
実験データを理論式(4)でフィットすることで, $\rho_G = 0.0268 \text{ mol/L}$, $D = 4.31 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ が求まる.

4. 結言

定常流仮説を外した改良された界面移動描像を用いることで液液接触のゲル化ダイナミックスを詳しく解析できることを示した.

文 献

- 1) Nobe, M., Dobashi, T. and Yamamoto, T.: Langmuir, **21**, 8155-8160, 2005.
- 2) Dobashi, T. and Yamamoto, T.: gels, **4**, 59, 2018.
- 3) Furusawa, K., Minamisawa, Y., Dobashi, T. and Yamamoto, T.: J. Phys. Chem. B, **111**, 14423-14430, 2007.

敵対的生成ネットワークを用いた食感データの生成

島田勇輝, 武政誠

東京電機大学大学院 理工学研究科 生命理工学専攻 [〒350-0394 埼玉県比企郡鳩山町石坂]

1. 緒言

食感を定量化する方法としてテクスチャープロファイルアナリシス(以下 TPA と記す)が頻繁に採用される¹⁾。TPA は食品を圧縮した際の力の時間依存性(テクスチャープロファイル:TP)を記録し、解析する手法である。TPA では評価及び利用する特徴を人為的に選択する必要があり、実際の食感を反映しないことがあった。この問題の解決策として機械学習を導入することで、従来法では解析が困難であった食品の解析や分類に効果を発揮すると考えられる可能性が示唆された²⁾。食感分析への機械学習導入の次のステップとして敵対的生成ネットワーク(Generative Adversarial Networks:GAN)を適用した。GAN は学習データの特徴を学習することにより学習したデータの特徴を持った実在しないデータを生成する技術である。GAN により TP の模造に成功すれば機械学習で解析するデータの補強が可能になり食感分析機械学習の精度向上につながると期待される。

2. 目的

食感分析へ GAN を導入する初期段階として、食品圧縮試験中に破断しない TP を模した仮想 TP を学習に使用し、安定して生成データを出力できる学習条件を探索する。

3. 実験方法

Tensorflow を使用し、学習に使用するニューラルネットワーク(NN)を作成した。作成した NN で出力した生成データを学習条件ごとに比較し、学習条件の探索を行った。学習には圧縮試験中に破断しない食品の TP を模した仮想 TP を使用した。仮想 TP は 1 ファイル中に N ポイント分の力(N=15,30,60,120)を含み、グラフの傾きが一度大きく変化する。N=30 のみ複数回傾き変化する仮想 TP を二種追加し、合計で六種類の仮想 TP を用意した。生成データの類似度チェックには、生成されたデータ(力, F_{GAN})と元となる仮想データ(力, F)を基に $RSS = \sum \{(F - F_{GAN})/F\}^2 / N$ で算出した(規格化残差二乗和:以下 RSS)。RSS を基にスクリーニングを行い、RSS が小さくなる学習条件を探索した。

4. 実験結果

用意した仮想 TP 全ての学習において RSS が小さく(<0.01)、目視では学習データと区別のつかない生成データを出力する NN や学習条件を探索し

た。ポイント数 N や仮想 TP のグラフ形状によって低 RSS の生成データを出力するのに必要な仮想 TP ファイル数が増加した。ポイント数 N の大きさで比較すると N=15 では 200 ファイルで低 RSS データを安定して生成できたが、N=120 では安定して低 RSS データを出力するには 800 ファイルが必要だった。またポイント数が同じでグラフ形状が異なる仮想 TP で比較すると、傾きが複数回大きく変化する仮想 TP の方が低 RSS データを生成するために必要な仮想 TP ファイル数は増加する傾向が見られた。

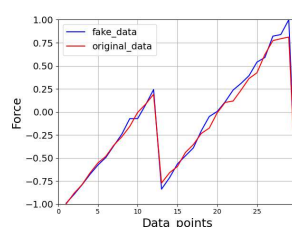


図1 GAN による生成データ(N=30)と学習に用いた元仮想 TP の比較。

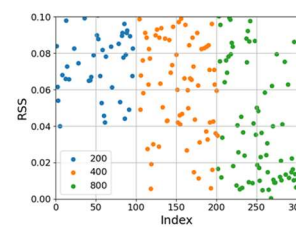


図2 GAN による生成データと元仮想 TP の類似度を RSS により定量化した。学習に利用したファイル数の影響を異なる色で示す。

5. 考察

仮想 TP 1 ファイル中に含まれるポイント数 N が大きくなると学習の難易度が増加するため低 RSS データを生成するために必要な仮想 TP ファイル数が増加したと考えられる。また仮想 TP の傾きが大きく変化する低 RSS データを生成するのに必要な仮想 TP ファイル数が増加するため、ポイント数 N 以外にグラフ形状も学習難易度に影響すると考えられる。

6. 結言

仮想 TP を用いた学習において安定して生成データを出力する学習条件を探索することに成功した。このことから食感分析へ GAN を導入可能であると考えられる可能性が示唆された

文 献

- 1) 西成勝好：食品の物理的性質と測定における諸問題, 日本家政学会誌, 64, 811-822, 2013
- 2) 吉田駿介：機械学習による食感分析, 人工知能学会全国大会論文集, 34, 1-2, 2020

新規異方性材料としてのナノファイバー分散体の創製と物性

横瀬颯人*, 市原直弥*, 岡村陽介*,**

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

**東海大学マイクロ・ナノ研究開発センター

1. 緒言

異方性材料とは方向ごとに機械的特性が異なる材料であり, 等方性材料と比較してユニークな物理的特性を発現する. 他方, 電界紡糸法によって調製される高分子ナノファイバーは, 極細径に由来する高い比表面積, 柔軟性, アスペクト比などを有する材料であり, 環境や医療分野にて活用されている¹⁾. 本研究では, 新規異方性材料として, 水に安定に懸濁するポリ乳酸(PLA)からなるナノファイバー分散体の創製法を提案し, 新たに発現するユニークな特性を引き出す.

2. 実験方法

N,N-ジメチルホルムアミド(NaH_2PO_4 飽和)²⁾を溶媒として 22 wt.% PLA 溶液を調製した. アルミホイルをターゲットとして PLA 溶液を電界紡糸(20 kV, 0.1 mL/h, 30 min, NANON-03, メック社製)し, ナノファイバーを得た. 次いで, 20 %(v/v) エタノール水溶液でファイバーを剥離・回収し, ハサミで裁断してから同水溶液中で浸漬(r. t., 20 h)させ³⁾, 水冷下にて超高速万能ホモジナイザー(ヒスコトロン NS-51, マイクロテック・ニチオン社製)により粉碎攪拌(冷却水温 27°C, 25000 rpm, 10 min)した. 得られた分散液を遠心分離(3750 rpm, 20 min, 3 times)した後に, ウシ血清アルブミン水溶液(BSA, 10 mg/mL)中に浸漬させた(r. t., 20 h). 最後に, 遠心分離(3750 rpm, 30 min, 3 times)により未吸着の BSA を除去した後, 分散媒を水置換した. ファイバー分散体は, 走査型電子顕微鏡(JSM-7100F, 日本電子社製)にて撮像し, 繊維長を実測した.

3. 実験結果

電界紡糸した PLA ナノファイバー(繊維径: 434 ± 142 nm)を 20 %(v/v) エタノール水溶液に浸漬後, 同水溶液中で粉碎攪拌(27°C, 25000 rpm, 10 min)したところ, ナノファイバーは微細に裁断され, 水溶液中で安定に分散していた(Fig. 1a). 得られたファイバー分散体を電顕観察したところ, 棒状の短繊維となり, 繊維長は $17.2 \pm 9.6 \mu\text{m}$ であった(Fig. 1b). また, BSA を吸着させることによってナノフ

アイバーの表面親水性が向上し, 水置換しても安定に分散していた. 他方, 粉碎攪拌時のエタノール濃度を 10%(v/v)以下とすると, ファイバーの分散性は顕著に低下した. また, 粉碎攪拌時に氷冷(4°C)すると, 分散性は低下することも判明した.

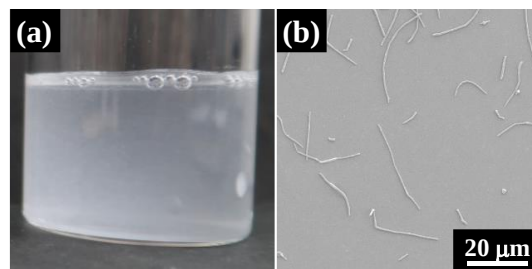


Fig. 1 Macroscopic (a) and SEM (b) images of fragmented PLA nanofibers during homogenization into aqueous solution containing 20 %(v/v) ethanol at the temperature of 25°C.

4. 考察

PLA は水に不溶なポリマーである. 今回, 少なくとも 20%(v/v)エタノール水溶液中で粉碎攪拌すれば, 短繊維化できることを実証した. これは, エタノールが PLA と水の界面自由エネルギーを低下させ, 分散安定性が向上したためと考えられる. また, 粉碎攪拌時の温度も分散安定性を担保する重要なパラメータであることを明らかにした.

5. 結言

粉碎攪拌時の分散媒と温度を制御することで, 水に安定に分散する PLA ナノファイバーの創製法を確立した. 現在, 新規凝集比濁用担体への応用を見据え, 抗原抗体反応による凝集能を検証しており, 当日併せて報告する.

謝 辞

本研究の一部は, 2021 年度東海大学総合研究機構「プロジェクト研究」の助成により行われた.

文 献

- 1) 谷岡明彦 監修: ナノファイバー実用化技術と用途展開の最前線, CMC 出版, 2012, pp. 1-5.
- 2) Zong, X. *et al.*: Structure and process relationship of electrospun bioabsorbable nanofiber membranes. *Polymer*, **43**, 4403-4412, 2002.
- 3) Nair, S. *et al.*: Improving Biocatalytic Activity of Enzyme-Loaded Nanofibers by Dispersing Entangled Nanofiber Structure. *Biomacromolecules*, **8**, 1266-1270, 2007.

多価カルボン酸水溶液中でのキトサン溶液のゲル成長ダイナミクス

安田陽太*, 吉場一真*, 山本隆夫*

* 群馬大院理工 [〒376-8515 群馬県桐生市天神町1丁目5-1]

1. 緒言

キトサンはキチンを脱アセチル化して得られる天然多糖であり、産業的に利用可能なカチオン性高分子である。キトサンは酸性の水溶液に溶解し、溶媒を中和するとゲル化する。近年では、キトサンのゲルネットワークにアニオン性の薬物を保持させ、ドラッグデリバリーシステムに利用する研究が行われている。[1]キトサンの液-液接触によるゲル化では、溶媒に酢酸溶液が用いられてきた。[2]一方で、酢酸とは異なる pH 応答をする酸性溶媒についてゲル成長ダイナミクスがどのように変化するかについては検討が行われていない。本研究では、酢酸よりも緩衝能力の高いマレイン酸とクエン酸をキトサンの溶媒として用い、キトサンゲルの成長ダイナミクスを調査した。

2. 実験方法

リトマスを添加したクエン酸、マレイン酸水溶液にキトサンを溶解し、アクリル製直方セルに溶液を加えた。セル開口部に透析膜をつけ、NaOH 水溶液中にセルを浸漬させた。浸漬後のゲル成長を 25°C にてデジタルカメラによってインターバル撮影を行った。ゲル幅(x)とリトマスの変色層までの幅(y)を撮影された画像から画像解析ソフト Image-J により決定した。

3. 実験結果

クエン酸、マレイン酸溶液中のキトサンゲルの一次元ゲル成長では、リトマスの変色域 ($\text{pH} = 4.5 \sim 8.3$) の酸性側にゲルフロントが存在し、リトマスの変色はゲル層内部で起こった。これらは、酸性条件下でキトサンゲルが形成されることを示している。Fig.1 は 2.0 wt% キトサン-0.1 M マレイン酸溶液を 0.1~0.3 M の NaOH 水溶液にそれぞれ浸漬させたときの 25°C での x^2 、及び y^2 を経過時間(t)に対してプロットした。 x^2 、及び y^2 はいずれも t に対して広い範囲で直線関係が成立し、外液である NaOH 水溶液の濃度増加に伴い x^2 、及び y^2 の傾きが増加した。Fig.2 に $(x-y)^2$ と t の関係をプロットした。 $(x-y)^2$ はほぼ重なり、 $(x-y)^2$ は外液の NaOH 濃度にほとんど依存しないことがわかった。

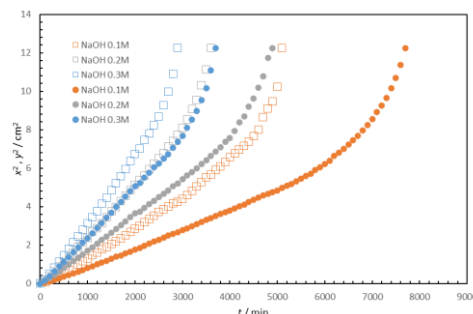


Fig.1 NaOH 水溶液に浸漬させた 0.1 M マレイン酸水溶液中でのキトサンゲルの一次元ゲル成長 (open symbols x^2 , closed symbols y^2)

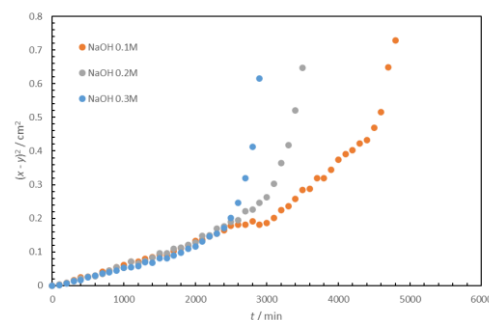


Fig.2 $(x-y)^2$ と t の関係

4. 考察

Fig.1 の結果はゲルフロントから外液との境界にかけてゲル層中の $[\text{H}^+]$ の濃度勾配の時間変化が存在することを示している。溶媒の $[\text{H}^+]$ が一定値まで下がるとキトサンがゲル化するので、ゲル層での $[\text{H}^+]$ の濃度勾配の時間変化がキトサンゲル成長のダイナミクスを支配することを示唆している。Fig.1 の x^2 、及び y^2 はゲル成長初期ではそれぞれ $x^2 = \alpha t$ 、 $y^2 = \beta t$ と表すことができる。 α 、 β は NaOH 濃度に対して増加関数と考えられる。一方で、Fig. 2 から α 、 β は互いに独立ではなく、 $\sqrt{\alpha} - \sqrt{\beta} = c$ (c : NaOH 濃度に関係ない定数) の関係で表され、 $(x-y)^2$ の振る舞いは外液濃度に依存しないことがわかった。

文 献

- 1) A. B. Schnürch, S. Dünnhaupt *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 81, 463-469 (2012)
- 2) I. Rokugawa, N. Tomita, T. Dobashi, T. Yamamoto *Soft Materials*, 12, 36-41 (2014)

多様な食感の 3D プリントに向けた光造形フード 3D プリンター開発

古屋 佳叡、 武政 誠

東京電機大学大学院 理工学研究科 生命理工学専攻 [〒350-0394 埼玉県比企郡鳩山町石坂]

1. 緒言

食品を立体的に設計、製造可能なフード 3D プリンターは新しい食品製造技術として注目されている。食材をフードインクとして、平面形状を造形し、異なる形状の積層を重ねる工程により、複雑な立体形状の造形も可能である。現在は、食材をペースト状のレオロジー特性に調整して、フードインクとして利用する方法が一般的である。一方、この方法では造形速度に限界があり、高精度化、また高速化のために光造形方式¹⁾の造形法が開発され、一部分野では主流となっている。フードプリンターにおいても、レーザーを利用した光造形プリントを可能にできれば、より複雑かつ精密な立体造形を、従来法である FFF¹⁾(Fused Filament Fabrication, or FDM)と比較して、高速かつ高精度に造形可能になると期待される。

2. 実験方法

市販の FFF 式熱可塑性樹脂用の 3D プリンターを SLA-フード 3D プリンターに改造し、本研究で使用した。また、造形条件の違いにより得られる造形物の圧縮特性(食感)を、1 回のレーザー照射による硬化深さ²⁾と関連付けて、圧縮試験により評価した。

3. 実験結果

本研究で開発した SLA 方式のフード 3D プリンターで食品の立体造形に成功した。(図 1)



図 1 SLA フード 3D プリンターによる造形例

レーザー照射強度条件の異なる造形物の圧縮試験結果を図 2 に示す。円板型プランジャー(φ30 mm)、圧縮距離 6 mm、圧縮速度 1 mm/sec の条件で

測定を行った。

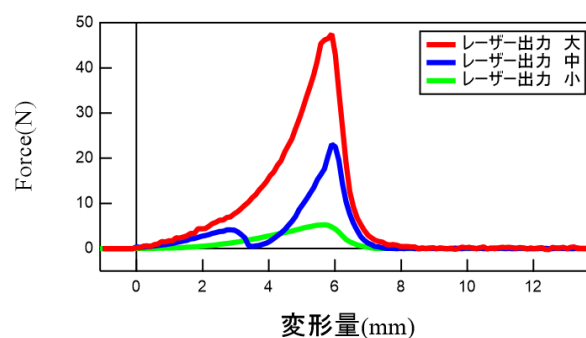


図 2 フード SLA 造形物圧縮測定結果

4. 考察

圧縮試験による硬化深さ測定結果から、レーザー照射強度が高くなるほど、インク硬化度合いは増加する傾向が確認された。レーザー照射により、フードインクを構成するタンパク質が熱変性を起こし、オボアルブミン分子同士が高い架橋密度で網目形状を形成したために、照射総光強度により硬化が増強されたと考えられる。レーザー出力「中」の造形物では、積層した平面形状のズレで複数の圧縮力のピークを有する食品造形に成功しており、レーザー照射強度の制御で、食品の硬さ、食感の一部もコントロール可能だと言える。

5. 結言

レーザー照射による食品の光造形式 3D プリンターを可能にする装置開発に成功し、食品の硬さ、食感も一部制御可能な食品 3D プリントが可能となった。

6. 参考文献

- 1) Mohd Shuaib, *et al.* Sustainable Operations and Computers Volume 2, Pages 57-53, (2021)
- 2) Aaron D Benjamin, *et al.* biomedical physics & engineering express, Express 5, 025035, (2019).

血漿のゲル化における律速過程とダイナミクス

鶴本明日香*, ポストラド マイケル**, 山本隆夫**

*群馬大学 大学院医学系研究科 [〒376-8511 群馬県前橋市昭和町 3 丁目 39-22]

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

1. 緒言

高分子溶液を、それを架橋しゲル化する因子の溶液と Fig.1 に示すように液液接触させると、ゲル化因子が高分子側に拡散流入することで境界面付近からゲルが形成される¹⁾。ゲル厚 X と経過時間 t の関係は、金属イオンで DNA やカードランの高分子溶液を架橋した場合は、 $X \sim \sqrt{t}$ という拡散律速な振る舞いであるが、血漿のゲル化(凝固)では、

①初期過程においては、 $X \sim t$

②後期過程で、 $X \sim \sqrt{t}$

というダイナミクスのクロスオーバーが起こることが分かっている²⁾。このクロスオーバー現象を律速段階の遷移ととらえシミュレーションモデルを作り調べた結果を報告する。

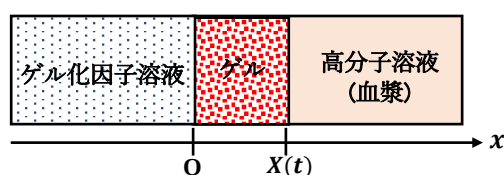


Fig.1 液液接触によるゲル化

2. シミュレーションモデル

血漿は非常に複雑な過程を経て凝固するが、その詳細に立ち入らず現象論を構築する。血漿が凝固する理由は、ゾル状態よりゲル状態の方が自由エネルギーが低くなるからである。このことを表記するために、ゲル化度 ϕ ($\phi > 0$ の場合ゲル、 $\phi < 0$ の場合をゾルと定義)を導入し、自由エネルギーを ϕ の関数、 $f(\phi)$ と書く。Fig.2 に示すように $f(\phi)$ は二重極小型となっていて、ゲル化因子流入前は(a)のように $\phi < 0$ の極小が最小(平衡状態はゾル)、流入後ゲル化因子と高分子が結合し(b)のように $\phi > 0$ の極小が最小(活性化とよぶ。この場合、平衡状態はゲル)へと変化すると考える。

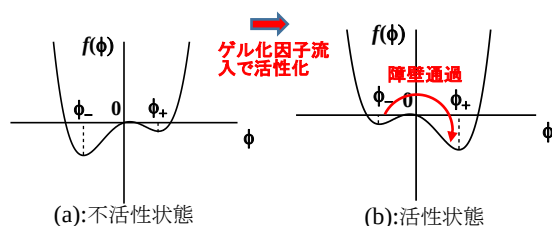


Fig.2 血漿の自由エネルギーの変化

血漿ゲル化は(i)ゲル化因子の拡散流入、(ii)エネルギー障壁を乗り越えることによるゾル状態($\phi_- < 0$)からゲル状態($\phi_+ > 0$)への状態変化、の直列過程から構成されることになる。

ゲル化因子の拡散を拡散方程式で記述し、自由エネルギー $f(\phi)$ を Ising モデルで実装することで、Monte Carlo シミュレーションを行った。

3. シミュレーション結果と考察

シミュレーション結果の一例を Fig.3 に示す。①から②へのクロスオーバー現象が確認できる。初期過程は(ii)のエネルギー障壁越えが律速過程になっている。そのため、その振る舞いはエネルギー障壁の高さ等血漿の自由エネルギーの性質を反映する。一方、後期過程はゲル化因子の拡散が律速となるため、ゲル化因子の運動を反映する。ゲル化ダイナミクスを調べることで、血漿の凝固能(逆に言えば抗凝固能)、血漿凝固過程におけるゲル化因子の振る舞いが分かることになる。

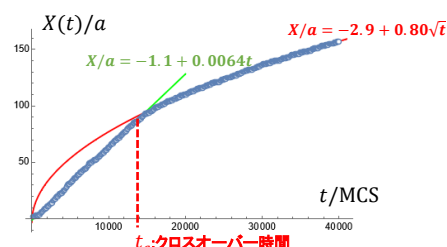


Fig.3 シミュレーション結果の例

ゲル厚 $X(a)$ はシミュレーションで用いた格子モデルの格子間隔)と経過時間(単位は Monte Carlo Step(MCS))の関係を示す。

4. 結言

液液接触による血漿のゲル化ダイナミクスにおけるクロスオーバー現象を説明するモデルを構築し、この現象は律速過程の遷移によるものであることを示した。血漿のゲル化ダイナミクスを測定することで、血漿、ゲル化因子の性質を調べることができることを示した。

文 献

- 1) Dobashi, T. and Yamamoto, T.: gels, 4, 59, 2018.
- 2) Kawabata, A., Yamamoto, T., Shinoda, H., Toyama, Y., Tanaka, S. and Dobashi, D.: gels, 7, 11, 2021.

ポリ-L-乳酸超薄膜の特異的な機械的性質 ～結晶化速度の膜厚依存性との関係～

石山泰成*, 藤木啓太**, 張宏***, 岡村陽介**,*
佐々木海渡*, ***, 喜多理王*, ***, 新屋敷直木*, ***,

* 東海大学大学院理学研究科物理学専攻 ** 東海大学大学院工学研究科応用理化学専攻
*** 東海大学マイクロ・ナノ研究開発センター [〒259-1292 神奈川県平塚市 北金目 4-1-1]

1. 緒言

ポリ-L-乳酸は結晶性高分子でありバルク状態では硬くて脆いが、膜厚を 100nm 付近まで薄くしたポリ-L-乳酸超薄膜は高い柔軟性・接着性など、特異的な性質が発現することが知られている[1]。しかしそのメカニズムについては明らかになっていない。一般に高分子超薄膜では、ガラス転移温度と結晶化速度がバルクな状態の時とは異なるという報告がある[2,3]。また、ガラス転移と結晶化といった現象が機械的性質に与える影響は大きい。本研究の目的は、ポリ-L-乳酸超薄膜に力学的刺激(超薄膜引張試験)、電気的刺激(誘電分光法)、熱的刺激(DSC)を与え、その応答からガラス転移と結晶化を調べることである。さらにポリスチレンやポリ-DL-乳酸の非結晶性高分子超薄膜と比較し、結晶性高分子であるポリ-L-乳酸超薄膜の特異的な性質を明らかにする。

2. 実験方法

ポリ-L-乳酸超薄膜の作製は、Spin coater(MIKASA MS-B150)を用いて、ポリ乳酸(PLLA)クロロホルム溶液を Si 基盤に滴下し、4000rpm で 60 秒間回転させて行なった。超薄膜引張試験は引張試験機(IMADA MH2-500N)を用いて、フリースタANDING状態かつ、大気中(室温)で引張試験を行なった。誘電分光測定には、Alpha-Analyzer(Novocontrol 社)を用い、周波数範囲 10mHz-10MHz、温度範囲 293K-413K で昇温過程のみ測定を行なった。

3. 実験結果及び考察

図1にヤング率の膜厚依存性を示す。非結晶性高分子であるポリスチレン、ポリ-DL-乳酸は膜厚を減少させてもヤング率は変わらず一定であった。しかし結晶性高分子であるポリ-L-乳酸は膜厚が減少とともにヤング率が低下し、柔軟性の発現が確認できた。図2に、誘電分光法によって得られたポリ-L-乳酸超薄膜の緩和強度の温度依存性を示す。緩和強度とは、交流電場の低周波側の誘電率と高周波側の誘電率の差であり、緩和強度の低下は安定した構造である結晶化の形成を示す。よって 333nm と 31nm のポリ-L-乳酸超薄膜は 73°C で結晶化が始まることがわかった。333nm はおよそ 50 分で緩和強度が下がりきったのに対して、31nm

はおよそ 209 分と 4.2 倍の時間を要した。膜厚減少により、結晶化速度が遅くなることがわかった。結晶化速度の低下が、100nm 付近での柔軟性発現に関係があると示唆される。本実験の誘電分光測定では、時間の経過とともに温度も変化させているため結晶化速度を定量的に議論できない。そのため現在等温での誘電分光測定を行っている。

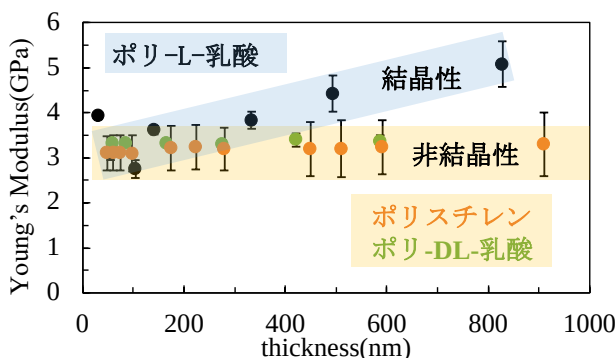


図1 ヤング率の膜厚依存性

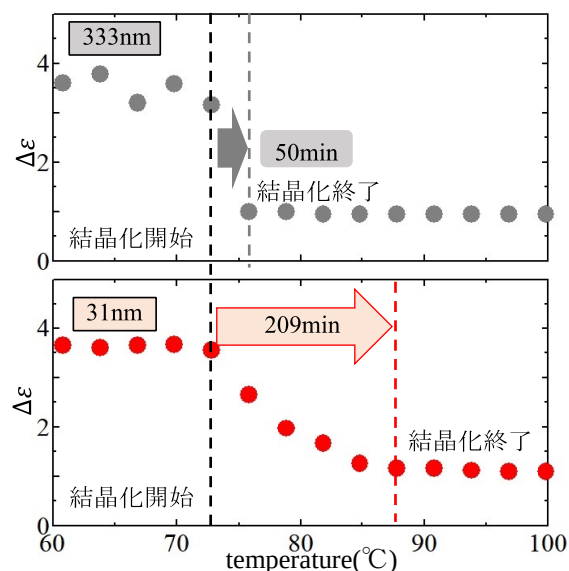


図2 緩和強度の温度依存性

文 献

- 1) 岡村 陽介: 高分子論文集, 「ユニークな特性を発現する高分子超薄膜(ナノシート)の開発とその医療応用」, **70**, 351-359, 2013.
- 2) Koji Fukao.: Nihon Reoroji Gakkaishi, **36**, 73-80, 2008.
- 3) D. E. Martinez-Tong, et al.: Macromolecules, **47**, 2354-2360, 2014.

脳脊髄液流動を想定した開放系空間における 脂質膜上のアミロイドβ凝集の単分子観察

飯田茜*, 並河英紀**

* 山形大学大学院理工学研究科 [〒990-8560 山形県山形市小白川町 1-4-12]

** 山形大学理学部 [〒990-8560 山形県山形市小白川町 1-4-12]

1. 緒言

アルツハイマー病 (AD) は、脳細胞表面にアミロイドβ(Aβ)蛋白質が凝集・蓄積する特徴を有する認知症の一種である。Aβは脳内の間質液 (ISF) の流動下にて凝集することが知られているが、ISFが脳内のAβを除去することで凝集を抑制する一方、*in vitro*の実験では流動が凝集を促進し細胞毒性を高めることも報告されている。これらの相反する効果を持つISFの分子科学的役割の解明は必要不可欠であるが、既報では基質の供給・排斥のない閉鎖系において細胞膜上のAβの凝集挙動が検証されてきた。そこで本研究では、Aβの供給・排斥を伴う開放実験系を構築し、脂質膜上のAβ吸着および凝集挙動の解明を目指した。なかでも細胞毒性が最も強いとされるオリゴマー状態に着目し、Aβの初期凝集に対する開放系の分子科学的寄与を、脂質膜上の拡散と凝集速度から評価した。

2. 実験方法

セルホルダーとマイクロペリスタポンプを用いて、Aβ溶液の連続流通が可能な開放実験系を構築した。DOPC二重膜を製膜後、系内を蛍光標識した5 nMのAβ溶液で満たし、閉鎖系では静置、開放系では1時間で系内の溶液が全量交換される速度でAβ溶液の供給・排斥を行った。脂質膜上のAβ挙動の経時変化は全反射照明蛍光顕微鏡で観察した。

3. 実験結果

はじめに、1分子のAβを定量化するために、Aβ由来の個々の輝点の蛍光強度の経時変化を追跡した。段階的な消光から1分子の蛍光強度を特定し、各輝点の会合数の導出に成功した。脂質膜に吸着したAβの個数を測定したところ、閉鎖系と比較して開放系では2~3倍吸着量が多いことが明らかとなった。また、両条件ともAβ添加6時間後まで吸着量が増加し続け、その後は24時間にかけて平衡状態へと到達した。これらの結果を吸着分子数として解析し直したところ、閉鎖系ではAβ添加10時間で増加が停止し平衡状態に到達したが、開放系では24時間まで増加し続けた。また、蛍光強度分布を比較すると、開放系は閉鎖系よりも凝集速度が速くAβ添加1時間後には2量体以上の

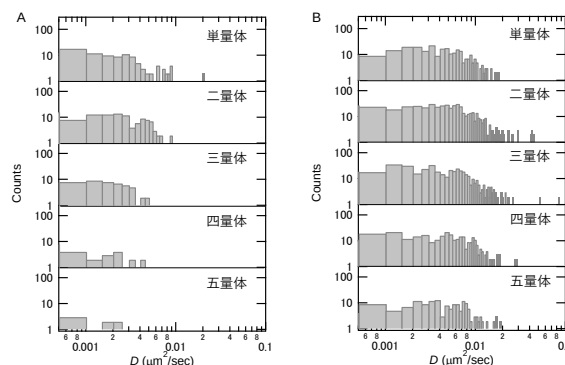


図1. (A) 閉鎖系, (B) 開放系における1時間後のAβの拡散係数分布.

形成が進行していた。そこで次に、各輝点の拡散を追跡し拡散係数を導出した。閉鎖系ではほとんどの輝点の拡散係数が0.01 μm²/s以下であったのに対し、開放系では0.1 μm²/sほどの拡散を有する輝点も存在した(図1)。以上より、開放系は凝集速度が速く、脂質膜上のAβの拡散速度も速いことが明らかとなった。

4. 考察

閉鎖系はAβが脂質膜に吸着するにつれ溶液内濃度が低下する一方、開放系は継続的なAβの供給・排斥により溶液内濃度が一定に保たれる。これらの理由から吸着量が増加し、吸着分子数が閉鎖系では平衡定常状態に、開放系では非平衡定常状態に到達した。開放系では脂質膜上のAβの拡散速度が速く、これが凝集速度の増加に繋がったと考えられる。このように、開放系がAβモノマーおよびオリゴマーの吸着・凝集を促進することが明らかとなった。

5. 結言

本研究より、開放系空間はAβの脂質膜への吸着・凝集を促進し、拡散速度を増加させていることが明らかとなった。この結果より、Aβ凝集の初期の段階から開放系が重要な役割を担っており、ADの機構解明には開放系を考慮する必要性が示唆された。

謝 辞

本研究の一部は、JSPS 科研費 19H02668, 18K19051 の助成を受けたものです。

静水圧及び圧縮歪みの複合刺激に対する細胞膜流動性の変化

張珉箕*, 牛田多加志**, 古川克子*, **

* 東京大学大学院工学系研究科バイオエンジニアリング専攻[〒113-8656 東京都文京区本郷 7-3-1]

** 東京大学大学院工学系研究科機械工学専攻

1. 緒言

細胞膜は細胞内外を分ける膜であり, リン脂質二重層や様々な膜タンパク質によって構成されている. 細胞膜は流動性を持っており, リン脂質に含まれる不飽和脂肪酸の量により流動性が変化することが知られている. 膜流動性は低いオーダーからの力学刺激の負荷により変化し, 膜上の受容体の活性化状態や膜内のシグナル分子の状態を変化させる¹⁾ことが示されてきた. 当研究室の先行研究では, 静水圧負荷により前駆軟骨細胞の膜流動性が低下する現象の可視化を行った. また, 変化した膜の物理状態が不飽和脂肪酸合成に関わるデサチュラーゼ遺伝子の発現を制御し, 発現調節が膜流動性の変化を維持するように行われることを示した²⁾. 当研究では, 関節軟骨内で静水圧や圧縮歪みなどの力学刺激に晒されている軟骨細胞の膜流動性の変化と力学刺激の関係についての検証を行うことを目的とする.

2. 実験方法

まず, マウス前駆軟骨細胞株である ATCD5 をアルジネートゲルに包埋し生体内と同様の 3 次元的环境を再現した. 力学刺激は細胞が生体内で知覚する生理的刺激を負荷した. 生理的刺激は静水圧 (3MPa, 0.3Hz) は圧縮歪み (10%, 0.3Hz) を 6 時間負荷した. 刺激負荷後は PCR によりデサチュラーゼ遺伝子の発現の定量解析を行い, 蛍光プローブを用いて膜流動性を可視化し, 3 次元状態にある細胞の辺縁部の膜流動性状態を定量化した.

3. 実験結果

図 1 ではデサチュラーゼ遺伝子 (Fads1, Scd1) の発現量を刺激前群 (C024h) からの変化として表している. 横軸はコントロール群 (C06h), 静水圧と圧縮歪みの同時負荷群 (HC6h), 静水圧単独負荷群 (H6h), 圧縮歪み単独負荷群 (C6h) である. Fads1 は HC6h において発現量が安定的に低下している (図 1 左赤枠). Scd1 は H6h で低下しているものの (図 1 右赤枠), HC6h (図 1 右緑枠) とは異なることから静水圧に圧縮歪みが加わるとその発現に変化が生じることが見て取れる.

図 2 は膜流動性に応じて強度が変化する蛍光画像 (図 2 左) であり, 細胞辺縁部の蛍光レシオをヒストグラム化したデータ (図 2 右) である. コント

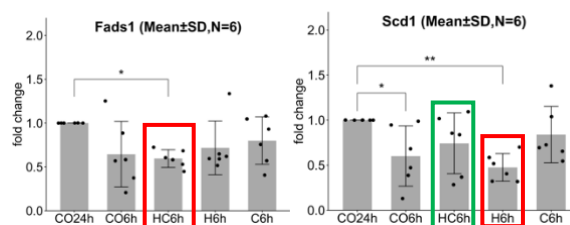


図 1 デサチュラーゼ遺伝子の発現解析

ロール群と刺激負荷群の大まかな傾向が異なるだけでなく, 刺激負荷群内でも異なる膜状態であった.

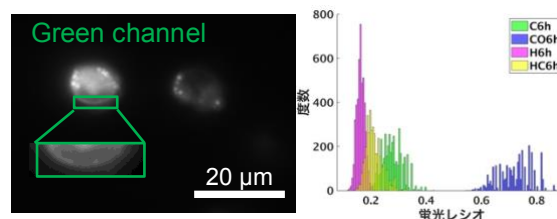


図 2 膜流動性イメージング

4. 考察

今回の研究結果は静水圧と圧縮歪みの同時負荷が特定の膜流動性を誘導し, それにより細胞が特異的な細胞内シグナル伝達を発生させるための状態に移行していることが示唆されている.

5. 結言

膜流動性は複数の不飽和脂肪酸の形成経路によって変化し, 変化によって至る膜状態は膜の物理状態と力学刺激の種類によって異なることが示唆された. また, 複合刺激は静水圧単独, 圧縮単独とは異なる膜状態を誘導する.

文 献

- 1). A. L. Le Roux, X. Quiroga, N. Walani, M. Arroyo, and P. Roca-Cusachs: The plasma membrane as a mechanochemical transducer," *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.*, 374, 1-15, 2019.
- 2). K. Montagne, H. Uchiyama, K. S. Furukawa, and T. Ushida: Hydrostatic pressure decreases membrane fluidity and lipid desaturase expression in chondrocyte progenitor cells, *J. Biomech.*, 47, 354-359, 2014

編集後記

神奈川県平塚市東海大学湘南キャンパスで開催された第 45 回年会に多くの皆様にご参加下さったことに深く感謝致します。一昨年の年会(年会長 金田勇先生)は新型コロナ感染症パンデミックにより誌上開催、昨年の年会(年会長 一杉正仁先生)はオンラインでの開催でした。徐々に通常の生活に戻りつつある中、今回の年会は対面での開催とさせていただきます。

本編集後記は、年会終了後に執筆しております。会員の皆様におかれましては感染症対策等でご不便をおかけしたことと思います。ランチョンセミナーや懇親会は開催できませんでしたが、皆様のご理解とご協力のおかげで無事に年会を終えることができました。重ねて御礼申し上げます。

会議や講義は PC のモニタ越しに行われることに慣れてきた昨今ですが、参加の皆様から「やはり対面でコミュニケーションをとれるのは良いですね」とお声がけいただきました。2 日間という短い時間でしたが、口頭発表やポスター発表そして受賞講演などでバイオレオロジーに関する様々な研究について、会場内外で活発な議論が展開されました。休み時間などは、通路など至る所で研究以外のコミュニケーションが起こるという、当たり前の光景が久しぶりに見られました。学会奨励賞および優秀ポスター賞は、それぞれ 10 名の委員により厳正に審査されました。受賞された皆様おめでとうございます。受賞に届かなかった発表は僅差であったことを申し添えさせていただきます。

最後に、後藤信哉理事長をはじめ理事・評議員・セッションオーガナイザー、そしてスタッフの皆様にお世話になったことに感謝申し上げます。次回の年会は兵庫県立大学 吉村美紀先生が年会長を務められます。姫路市で皆様と再会できること楽しみにしております。

(喜多 理王)

編集委員会

編集委員長	西田 正浩			
編集委員	市川 寿	喜多 理王	坂元 尚哉	庄島 正明
	田地川 勉	一杉 正仁	望月 精一	山田 宏
特別編集委員	喜多 理王			

日本バイオレオロジー学会誌 (B & R , 電子版) 第 36 巻 第 2 号

2022 年 6 月 10 日発行

編集者 西田 正浩

発行者 後藤 信哉

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 2022, by Japanese Society of Biorheology
