日本バイオレオロジー学会誌（B＆R，電子版） 第３４巻 第２号，２０２０年６月１７日発行（年３回発行）
Journal of Japanese Society of Biorheology ONLINE ISSN: 2186-5663

第 43 回日本バイオレオロジー学会年会

抄録集

会　期：2020 年 5 月 30 日（土）・31 日（日）
年会長：金田　勇（酪農学園大学　農食環境学群）
会　場：酪農学園大学
（COVID-19 感染拡大により現地開催は取り止め誌上開催）

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３４巻第２号
J. Jpn. Soc. Biorheol. 34(2) (2020)

第 43 回
日本バイオレオロジー学会年会
抄録集

主催：（特非）日本バイオレオロジー学会

会　期：2020 年 5 月 30 日（土），31 日（日）

年会長：金田　勇

（酪農学園大学　農食環境学群）

会　場：酪農学園大学

（COVID-19 感染拡大の影響で現地開催を取りやめ誌上開催）

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	東京慈恵会医大学 高木会館講堂	1987/6/13～16
11	松田 保	金沢大学	金沢大学医学部十全講堂	1988/6/2～4
12	大島 宣雄	筑波大学	筑波大学大学会館国際会議室	1989/7/5～7
13	峰下 雄	帝塚山短期大学	奈良県新公会堂	1990/6/21～23
14	品川 嘉也	日本医科大学	日本医科大学 大講堂	1991/6/20～22
15	平川千里	岐阜大学	岐阜市文化センター	1992/6/25～27
16	菅原 基晃	東京女子医科大学	東京女子医大学 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舘	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	川﨑祐宣記念講堂	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	

実行委員会

年会長　金田　勇

委員　　大橋 俊朗，藤井 修治，岩崎 智仁，渥美 達也，安斉 俊久

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，大島 まり，山田　宏

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

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，岩﨑 清隆

OS6　生体物質の構造形成と機能発現・制御：　喜多 理王，土橋 敏明，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

要旨

OS1

血管内治療

第43回日本バイオレオロジー学会年会 抄録集

血管内治療を要する冠動脈疾患例における血漿中および赤血球膜における脂肪酸プロファイルの解析

○丸山徹*，辰元良麻**，二見崇太郎**，森山祥平**，入江圭**，横山拓**，深田光敬**，
櫨山青蘭***，馬渡志郎***，藤野武彦***，赤司浩一**

*九州大学 健康支援センター [〒819-0395 福岡県福岡市元岡 744]
**九州大学 医学研究院 血液腫瘍心血管内科学
***レオロジー機能食品研究所

１．緒言

血中の脂肪酸は過剰になると中性脂肪として脂肪組織に取り込まれ，慢性炎症を惹起して血管内皮機能を低下させる．また細胞中の過剰な脂肪酸は脂肪毒性という細胞障害を惹起し，これに対して飽和脂肪酸は促進的に，不飽和脂肪酸は抑制的に作用するので脂肪酸組成は重要である．一昨年の本会で動脈硬化症例におけるプラスマローゲンを含むリン脂質組成の結果を発表した．そこで今回血管内治療を要した冠動脈疾患例における血中および赤血球膜中の脂肪酸組成を検討した．

２．実験方法

経皮的冠動脈インターベンションを行った冠動脈疾患例（疾患群: n = 30）と，これと年齢をマッチさせた対照群（n = 38）で同意の下に末梢血採血し，血液生化学検査およびHPLCによる脂肪酸組成を解析した．血液透析・癌・認知症の症例は除外した．以上はヘルシンキ宣言に準拠し，被験者の人権やプライバシーに配慮して行った．

３．実験結果

対照群に喫煙者はなく疾患群は全例禁煙後であった．疾患群における血管内治療は全例合併症なく待機的に行なわれた．疾患群では高血圧・糖尿病・脂質異常の動脈硬化危険因子を最低一つは有しており薬物治療が行われていた．また従来の危険因子（高血圧，糖尿病，脂質異常，肥満，喫煙）以外に残余リスク低減のために疾患群で多価不飽和脂肪酸製剤を内服していた．疾患群の拡張期血圧は対照群より低く（p = 0.003），血清総コレステロール値（p < 0.001）とLDLコレステロール値（p < 0.001）も低かった．両群合わせたロジスティック解析で血管内治療に有意に関連したのはHbA1cの上昇（糖尿病のコントロール不良状態）と血清アルブミン濃度の低下（低栄養状態）であった．

血漿および赤血球膜中のリン脂質は予めフォスフォリパーゼ A1 処理でエステル型リン脂質を水解後，得られたエーテル型リン脂質をHPLC解析して脂肪酸組成を検討した．赤血球膜中の多価不飽和脂肪酸であるEPA（2.20 ± 1.32% vs 1.42 ± 0.48%, p = 0.007）とEPA/AA比（0.13 ± 0.08 vs 0.08 ± 0.03, p = 0.014）は疾患群で高かった．

また疾患群で赤血球膜中のオレイン酸（14.27 ± 0.93% vs 13.46 ± 0.72%, p < 0.001）が有意に高くステアリン酸（17.01 ± 0.98% vs 17.49 ± 0.62%, p = 0.017）は有意に低く血漿中も同様であった[1)]．

４．考察

一価不飽和脂肪酸であるオレイン酸は脂肪酸結合蛋白に結合後炎症反応を惹起する[2)]．飽和脂肪酸であるステアリン酸は オレイン酸と血管内皮細胞内で競合する[3)]．赤血球膜中の EPA 濃度および EPA/AA 比は残余リスクの指標となりこれらの上昇は動脈硬化に対して抑制的に作用する．これらが対照群より疾患群で高かったのは，多価不飽和脂肪酸製剤を内服している影響が考えられた．

５．結言

薬物療法を行っても血管内治療を要する冠動脈疾患例では血漿および赤血球膜の脂肪酸組成が変化している．これらは動脈硬化に促進的に作用する可能性もあるが，治療的な介入効果も認められる意味で，残余リスクのコントロールは動脈硬化の進行抑制に重要であると考えられた．

６．COI なし.

謝 辞

吉村よし子氏と長尾佳苗氏の研究協力に深謝する．

文 献

1) Arita, T., et al.: Erythrocyte membrane and plasma fatty acids composition in patients with coronary heart disease requiring percutaneous angioplasty. Cardiol. Angiol, **9**, 21-30, 2020.
2) Brinkmann, CR., et al.: Protein-fatty acid complexes: biochemistry, biophysics and function. FEBS J, **280**, 1733-1749, 2013.
3) Harvey, KA., et al.: Oleic acid inhibits stearic acid-induced inhibition of cell growth and proinflammatory responses in human aortic endothelial cells. J. Lipid Res, **51**, 3470-3480, 2010.

第43回日本バイオレオロジー学会年会　抄録集

脳動脈瘤破裂前後の形状変化が破裂因子の特定に及ぼす影響

山中悠真*，高尾洋之 **,***,****，藤村宗一郎 **,***，内山祐也 **,***，大野宏 **,***，石井匠 **,***，
奥平拓真**,***，石橋敏寛 ****，福留功二 *，山本誠 *，村山雄一 ****
*東京理科大学　工学部　機械工学科　［〒125-8585　東京都葛飾区新宿 6-3-1］
**東京慈恵会医科大学　総合医科学研究センター　先端医療情報技術研究部
***東京理科大学大学院　工学研究科　機械工学専攻
****東京慈恵会医科大学　脳神経外科

１．緒言

脳動脈瘤の破裂には，血行力学的因子が関与していると報告されており，近年，数値流体力学（CFD：Computational Fluid Dynamics）を用いた血流解析による調査が行われている．先行研究において，破裂前の画像を用いた研究と破裂後の画像を用いた研究が混在している．しかし，脳動脈瘤の破裂前後において血管形状が変化する可能性があり，CFD 解析結果に影響を与えることが考えられる．本研究では，未破裂脳動脈瘤と破裂前の破裂脳動脈瘤，及び破裂後の破裂脳動脈瘤の画像に対しそれぞれ CFD 解析を行う．CFD 解析結果から統計学的手法によって破裂因子とされるパラメータを同定し，破裂前後の画像の違いが同定されるパラメータに及ぼす影響を調査することを目的とする．

２．解析手法

経過観察中に破裂し，かつ破裂前後で同一の撮像手法による三次元画像が存在する症例を破裂症例，2 年以上経過観察されている症例を未破裂症例とした（内頚動脈：33（破裂：3，未破裂：30），中大脳動脈：25（破裂：2，未破裂：23），前大脳動脈：27（破裂：2，未破裂：25），脳底動脈：15（破裂：1，未破裂：14））．脳動脈瘤形状を評価する形態学的パラメータ及び脳動脈瘤を含む脳血管系における血行動態を評価する血行力学的パラメータを CFD 解析の結果より調査した．破裂前の破裂症例群と未破裂症例群間（PRE），及び破裂後の破裂症例群と未破裂症例群間（POST）に分類し，それぞれ Mann-Whitney の U 検定を行い，P 値（P_{PRE}，P_{POST}）が 0.05 より小さいパラメータを破裂因子として同定した．

３．結果及び考察

無次元化壁面せん断応力の空間的最小値（*NWSSmin*，$P_{PRE}=0.04$，$P_{POST}=0.01$），振動せん断指数の空間的最大値（*OSImax*，$P_{PRE}=0.01$，$P_{POST}=0.01$），脳動脈瘤の最大高さ（*Hmax*，$P_{PRE}=0.03$，$P_{POST}<0.01$）は PRE，POST 双方で統計学的な有意差を示した．一方，壁面せん断応力の空間的最小値（*WSSmin*，$P_{PRE}=0.05$，$P_{POST}=0.02$），振動せん断指数の空間的平均値（*OSIave*，$P_{PRE}=0.19$，$P_{POST}=0.04$），脳動脈瘤の体積（*V*，$P_{PRE}=0.08$，$P_{POST}<0.01$），脳動脈瘤のアスペクト比（*AR*，$P_{PRE}=0.09$，$P_{POST}<0.01$）は POST でのみ有意差を示した．脳動脈瘤破裂の影響による形態学的パラメータの変化が血行力学的パラメータに影響を与えることにより，破裂前の画像を用いた場合とは異なるパラメータが破裂因子として同定されたと考えられる．

PRE，POST 双方で有意差を示した *NWSSmin*，*OSImax*，*Hmax* に着目し，破裂症例における各パラメータの破裂前後間における変化率を評価した．*NWSSmin* は破裂を原因とした瘤形状の複雑化による血流の停滞（図 1 (A) 参照）や血管攣縮による血流流速の増加（図 1 (B) 参照）のため，変化率が-82～165 %となり，脳動脈瘤の破裂による値の変動が大きくなる．*OSImax* は変化率が±10 %程度と上記 2 パラメータと比較して，破裂による変動は小さいが，観測地点が変化する場合がある（図 1 (C) 赤線領域参照）．*Hmax* は U 検定において値が大きいほど破裂する傾向があり，破裂症例について 8 症例中 7 症例が破裂後に増大した（最大変化率 69.2 %）．従って，破裂後の画像を用いた場合，破裂因子として過大評価される可能性がある．

４．結言

破裂症例として破裂後の画像を用いて破裂因子の特定を行う場合，破裂前の画像を用いた場合とは異なるパラメータが破裂因子として同定される可能性がある．また，脳動脈瘤の破裂による形状変化が血行動態に影響を与えるため，破裂前後間においてパラメータの数値が変動する．

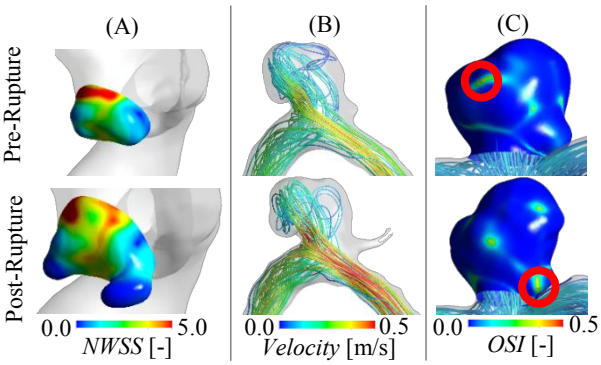


Fig. 1　Ruptured illustrative cases. (A) High positive Change of *NWSS*, (B) Change of Streamline, (C) Location of *OSImax*

要旨

OS2

循環器系ダイナミクスと疾患

冠動脈マルチスケール血流解析による FFR 推定精度の検証

高木麗弥*，中本将彦**，芳川裕亮***，斎藤成達***，
氏原嘉洋*，杉田修啓*，中村匡徳*
*名古屋工業大学　大学院工学研究科　電気・機械工学専攻 [〒466-8555　名古屋市昭和区御器所町]
イービーエム株式会社，*京都大学医学部付属病院

１．緒言

心筋血流予備量比（FFR）は，冠動脈狭窄の重症度評価指標で，最大充血時の狭窄遠位部圧を冠動脈起始部圧で除した値で定義される．近年，HeartFlow 社を初めとして，数値流体計算（CFD）を用いて FFR を非侵襲的に推定する試みがなされている．Yoshikawa ら [1]は，Murray の法則 [2]に基づいて血管末端部の血管径の 3 乗比から血流量を分配し，出口部の流量を予め定めて CFD を行った．しかし，これは末端部血管径に基づいて流量を決める方法であるため，途中に狭窄があり本来流量が減る症例であっても，正常な血管と同じ血流量が流れるという問題があった．そこで本研究では，Lo ら [3]に倣って，末梢血管部を 0 次元モデルで表現することで圧力を条件とするマルチスケール CFD 解析により FFR を推定して，精度を検討した．

２．方法

冠動脈疾患の疑いがあり，カテーテルによる FFR 測定を行った 23 名 31 症例を対象とした．CT 画像から構築した主冠動脈の各血管末端部から毛細血管部までの血流を，流体力学の電気回路アナロジーによりオームの法則に基づく 0 次元モデルで表現した．0 次元モデルの抵抗を Olfsen[4]のモデルにより求めた．主冠動脈の流れは CFD により空間的に 3 次元解析した．0 次元モデルと CFD を組み合わせて反復し，冠動脈血流を計算した．CFD には SCRYU-Tetra ver14（Cradle）を用いた．安静時の冠動脈流入量を入口血管直径から推定し，最大充血時の血流量は安静時の 3 倍になるとして冠動脈流入量を決定した [1]．血管最大拡張を表現するため，流れ抵抗 R_i を一律 70%減らした [3]．冠動脈入口部の圧力が 100 mmHg となるように CFD により得られる圧力を補正した後，FFR を求めた．

３．結果および考察

狭窄を有する血管において，Yoshikawa ら [1]の方法で決定される流量に比べ，本計算で得られた流量の方が小さくなった症例は 31 症例中 26 症例で 83.9%であった．流量を比較すると，Yoshikawa ら [1]の方法で決定される流量に比べ，本計算で得られた流量は平均で 10.3%減少した．このことは，0 次元モデルを用いる方法の方が，狭窄によって流量が減少するという生体内現象について高い表現能を有することを示している．

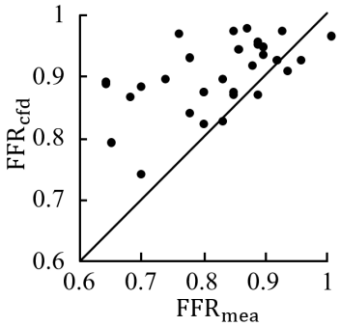


Fig. 1　A plot of FFR obtained by the present analysis against FFR clinically measured

臨床で測定した FFR に対して，計算の結果得られた FFR の推定値をプロットしたものを Fig. 1 に示す．図中の実線は両者が等しいことを表す．FFR 推定値は FFR 測定値に対して正に相関したが，FFR 測定値よりも大きくなる傾向にあった．ROC（Receiver Operating Characteristic）曲線の AUC は 0.793 であった．Yoshikawa ら [1]の方法で今回の解析と同じ症例群に対して FFR 推定を行った結果，AUC は 0.741 であった．本研究と Yoshikawa ら [1]の方法の相違点は，各血管を流れる流量の決定法である．今回解析した症例群に対しては，0 次元モデルを用いることで，狭窄の存在に応じた血流量が対象血管に流れた結果，精度が向上したと考えられる．一方，本手法での感度は 15.4%であり，臨床応用するにあたってはさらなる改善が必要である．本稿では詳しく述べていないが，血管最大拡張による入口流量増加率や抵抗減少率など予め定めなければならないパラメータが多くあり，今後，これらの最適化が必要となる．

謝　辞

科研費 基盤研究(C) 19K08488 の支援を受けた．

文　献

1）Yoshikawa Y et al, Int. J. Cardiovasc. Imaging, 36, 337-346, 2020
2）Murray CD et al, PNAS, 12, 299-304, 1926
3）Lo EWC et al, Fluids, 4, 60, 2019
4）Olufsen MS et al, Ann. Biomed. Eng., 28, 1281-1299, 2000

SHG 計測による細胞膜損傷分析の試み

和田悠*，氏原嘉洋*，杉田修啓*，中村匡徳*
＊ 名古屋工業大学　電気・機械工学専攻 [〒466-8555　愛知県名古屋市昭和区御器所町]

１．緒言

第二高調波発生（SHG, Second Harmonic Generation）光現象を利用した SHG 計測により，細胞膜の損傷に伴う細胞膜構造変化を可視化できる可能性が示されている [1]．しかし，電気刺激の印加形式によって，どのように SHG 輝度値が変化するのかは明らかではない．もし，SHG 輝度値が膜の構造状態を反映しているのであれば，輝度値の変化傾向から膜がどの程度，また，どのように損傷していくのかを評価できる可能性がある．

そこで，本研究では，電気刺激の印加形式を変えた場合に生じる SHG 輝度値変化を調べ，SHG 計測による細胞膜の損傷評価の可能性を検討した．

２．方法

試料には実験直前に調整したリポソームを用いた．電気刺激装置（SEN-3401，日本光電）を用いて電気パルスを継続的に印加し，電気穿孔法によってリポソームに損傷を与えた．多光子励起レーザ走査型顕微鏡（FV1200MPE，Olympus）を用いて電気パルス印加中のリポソーム膜の SHG 撮影画像の輝度値を計測した．撮影には 60 倍の水浸対物レンズ（LUMPLFLN60XW, Olympus）を用いた．950 nm のレーザを照射し，ダイクロイックミラー（FV10-MT475/IR，Olympus）を介して 475±10 nm の光を検出した．各リポソーム膜の電極陽極側部分の SHG 輝度値の平均値を評価指標とした．電気パルスはパルス間隔 900 ms, パルス継続時間を 100 ms に固定し，電圧 V を 10.0–11.7 V/cm，14.7–20.0 V/cm，23.3–26.7 V/cm の 3 条件に設定した．

３．結果と考察

14.7–20.0 V/cm としたときの電気パルス印加時のリポソーム SHG 画像例を Fig. 1 に示す．(a)は電気刺激前，(b)は刺激後を表す．図より印加に伴って SHG 輝度値が低下することがわかる．

電気パルスの印加回数と膜の SHG 輝度値の関係の例を Fig. 2 に示す．Fig. 2 に示されるように，SHG 輝度値の変化は(a)急激に低下するもの，(b)右下がりに線形的に減少するもの，(c)輝度が 1 度低下してから回復するもの，(d)ほぼ変化しないものの 4 つのパターンに大別できることがわかった．

Fig. 2 に示したパターンの存在数を各電圧条件にて数えた結果を Fig. 3 に示す．(b)と(c)のパターンは全体的に少なかった．印加電圧が低い時，(d)のパターンが多く見られた．これは，電圧が低く，膜損傷が生じなかったためであると考えられる．電圧条件が高いほど(a)のパターンが多かった．Zimermann ら [2]を参考にすると，これは印加された電気エネルギが膜に蓄えられ，臨界値を超えたことで損傷が生じた結果であると考えられる．このような SHG 輝度の変化傾向の差異は，電圧条件によって膜の損傷形式が変化することを示している．以上より，SHG 計測が細胞膜の損傷形態や傾向を把握する上で有効である可能性が示唆された．

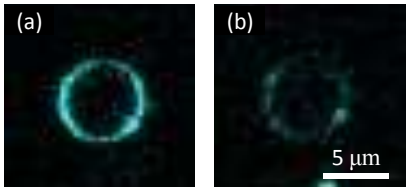


Fig. 1　Snapshots of SHG signal from a liposome. (a) before and (b) after electric stimulation

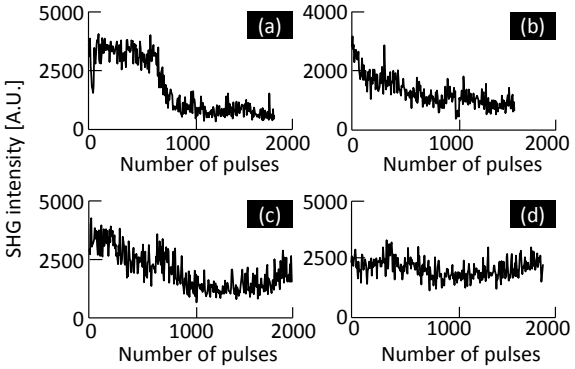


Fig. 2　Changes in SHG intensity against the number of electric pulses imposed on liposomes

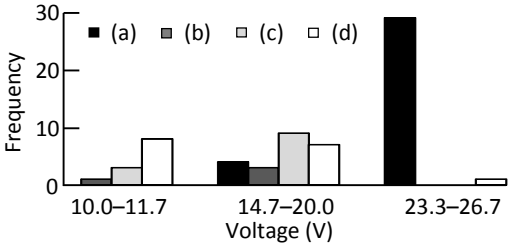


Fig. 3　A comparison of the number of cases (a)-(d) defined in Fig. 2 for different voltage conditions

文　献

1) Moen et al. Biophys J, 106, 37-40, 2014.
2) Zimmerman et al. Biophys J, 14, 881-899, 1983.

B16 メラノーマ細胞の転移能と細胞全体の圧縮特性の関係

小野大地*，氏原嘉洋*，杉田修啓*，中村匡徳*
名古屋工業大学　大学院工学研究科　電気・機械工学専攻
[〒466-8555　愛知県名古屋市昭和区御器所町]

１．緒言

がん細胞が転移する際には，細胞自身の大きさよりも狭い血管壁の隙間を通過する[1]. このとき，がん細胞は細胞全体が大きく変形すると考えられることから，転移能の高さと細胞の力学的特性には相関がある可能性がある.

アクチンフィラメント（AF）は細胞の力学的特性を担う構造体である[2]. がん細胞は，正常細胞よりも AF が未発達でヤング率が低いことが報告されている[3]. しかしながら，転移能の高さと AF の発達度，細胞の力学的特性の関係については，十分な知見が得られていない.

そこで本研究では，転移能が異なるがん細胞の圧縮試験を行い，転移能による細胞全体の圧縮特性の違いを調べた．さらに，AF を破壊したがん細胞の圧縮特性を比較し，転移能の異なるがん細胞における AF の圧縮特性への寄与を検討した.

２．実験方法

マウスメラノーマ細胞である低転移性の B16-F1 細胞と高転移性の B16-F10 細胞を用いた. 無処理の細胞（F1 群，F10 群）と Cytochalasin D によって AF を脱重合させた細胞（F1+CD 群，F10+CD 群）を用意し，圧縮試験を行った．圧縮試験には，研究室で作製した細胞力学試験装置[4]を利用した．細胞の把持と圧縮は，バネ定数の異なる 2 本のガラスマイクロプレートを三次元電動マニピュレータ（EMM2，NARISHIGE）で操作することによって行った．圧縮試験中の様子は，倒立型顕微鏡（IX73，OLYMPUS）を用いて観察し，荷重とひずみを計測した．得られた荷重－ひずみ曲線から Hyperelastic Tatara モデル[5]を用いてヤング率を算出した.

３．実験結果および考察

F10 群のヤング率は，F1 群よりも有意に低かった（Fig. 1）．このことから，転移能が高いほど，細胞全体のヤング率が低い可能性が示唆された. がん細胞の転移において，微小な隙間を通過する際には，がん細胞は全体的に圧縮されると推測される．細胞全体の圧縮に対するヤング率が低い細胞は，隙間を通過しやすいと考えられることから，ヤング率が低いことは転移に有利である可能性がある.

F1+CD 群のヤング率は, F1 群よりも有意に低かった（Fig. 1）．すなわち，低転移性のがん細胞の圧縮特性に AF が大きく寄与していることがわかった．一方，F10+CD 群のヤング率は，F10 群と同程度であったことから，高転移性のがん細胞の圧縮特性には, AF の寄与が小さいことが示唆された. さらに，F1+CD 群のヤング率は，F10 群および F10+CD 群と良く一致していた．したがって，F1 群と F10 群の圧縮特性の差は, AF の発達度に起因する可能性が高いことがわかった.

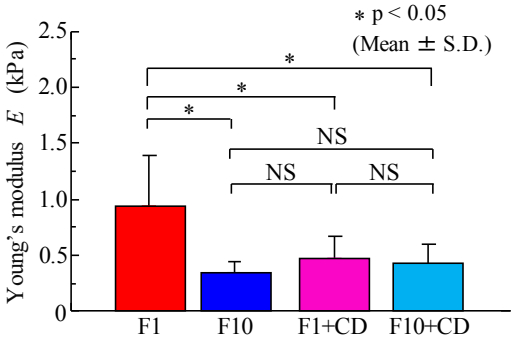


Fig. 1　Comparison of Young's modulus.

４．結言

低転移性の B16-F1 細胞は，高転移性の B16-F10 細胞よりもヤング率が高く，この差は AF の発達度の違いに因ることが示唆された．高転移性のがん細胞は，AF が発達していないために，細胞全体の圧縮に対するヤング率が低い可能性がある.

謝　辞

本研究の一部は, JSPS 科研費 (17H04740, 18K12055) の助成を受けた．ここに記して謝意を表する.

文　献

1) Friedl P, et al., Curr Opin Cell Biol, 23(1):55-64, 2011.
2) Ujihara Y, et al., J Mech Behav Biomed Mater, 14:192-198, 2012.
3) Li QS, et al., Biochem Biophys Res Commun, 374(4):609-613, 2008.
4) Hashimoto K, et al., Sci Rep, 8(1):12337, 2018.
5) Tatara Y, J Eng Mater Technol, 113:285-291, 1991.

皮膚表面の圧迫による前腕橈側皮静脈の閉塞挙動に及ぼす静脈の除荷形状と内圧の影響に関する有限要素解析

山田　宏*，霜出秀平*
*九州工業大学　大学院生命体工学研究科 [〒808-0196 北九州市若松区ひびきの 2-4]

１．緒言

体表面の圧迫により皮膚の毛細血管等の微小な血管の血流が妨げられる．そのため，微小な血管網の血流評価や毛細血管の閉塞に関する有限要素解析によって，体表面に作用する外力と血流の停滞や血管閉塞の関係が調べられてきた．

Linder-Ganz と Gefen はラット後肢の実験と有限要素解析を実行し，解析では毛細血管を有する骨格筋モデルを作成し，圧縮・せん断の影響を調べた [1]．Yamada らは皮膚内に毛細血管を有するヒト仙骨部の有限要素解析を実行して，体表面圧と毛細血管の閉塞の関係を調べた [2]．

著者らは体表面の圧迫による血管断面形状の変化を明らかにするため，対象として前腕の橈側皮静脈を選び，皮膚表面を超音波診断装置のプローブに押し付け，超音波画像計測とプローブの押込み力の測定を行うとともに，測定部の有限要素解析を行って，プローブの押込み量と静脈の変形との関係を調べた [3,4]．

本研究では，皮膚，皮下組織，骨格筋の 3 層からなるモデルにおいて，皮下組織内の静脈の除荷形状と内圧を変化させ，前腕の表面を超音波プローブで押さえる 3 次元有限要素解析を実行し，押込み力と静脈の変形の関係を調べた．

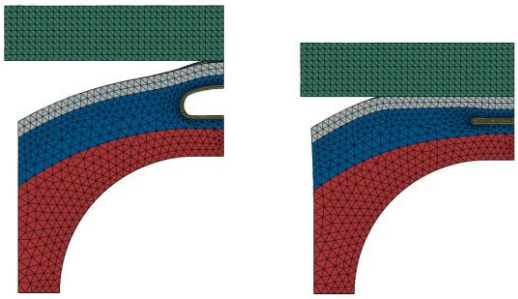
２．方法

既報の３次元有限要素モデル [4]において，静脈の除荷形状をより扁平な形状にしたモデルを作成し，静脈の内腔面に 2.67 kPa(20 mmHg)と 1.33 kPa (10 mmHg)の圧力を負荷した．

静脈は血圧を下げると容易に変形するため，静脈の内腔の高さを 2 mm から 1 mm にした除荷形状とした．静脈の壁厚 0.25 mm と静脈壁の中間位置の周長は変わらないようにした．皮膚は非圧縮等方超弾性の neo Hooke 体とし，ヤング率を 80 kPa に変更した [5]．その他の材料特性は既報のモデルと同じである [2,4]．負荷条件として，まず，静脈圧を負荷した．次に，プローブを鉛直下向きに変位させ，静脈を変形させた．なお，有限要素解析には Abaqus 2019 (SIMULIA)を用いた．

３．結果と考察

図 1 に静脈圧を負荷したときの軟組織の形状と，さらにプローブを押しつけて静脈が閉塞したときの形状を示す．内圧 2.67 kPa を負荷した静脈内腔の高さは 2.0 mm で，測定値より明らかに小さかった [4]．また，静脈圧の違いによる静脈を閉塞する力の差は 0.3 N であった．また，除荷形状の扁平化は閉塞に必要な力を低下させる傾向にあった．



(a)　(b)

Fig. 1 Deformations of the soft tissue layers with a cephalic vein. (a) The vein is subjected to a pressure of 2.67 kPa. (b) The skin surface was compressed by an ultrasonic probe until the vein is closed.

４．結言

静脈の除荷形状は静脈圧とともに，静脈の圧迫による閉塞挙動に影響を及ぼすことが予測された．

謝　辞

JSPS 科研費 JP17K06058 の助成に謝意を表す．

文　献

1) Linder-Ganz, E. and Gefen, A.: Ann. Biomed. Eng, **35**, 2095-2107, 2007.
2) Yamada, H., Inoue, Y., Shimokawa, Y. and Sakata, K.: Med. Biol. Eng. Comput., **55**, 79-88, 2017.
3) 霜出秀平，大峯啓志，田中マキ子，山田宏：皮膚の圧迫とずれによる前腕橈側皮静脈の内腔形状の変化に関する超音波画像解析，日本バイオレオロジー学会誌（電子版），**33**, 107, 2019.
4) 霜出秀平，大峯啓志，田中マキ子，山田宏：皮膚表面の圧迫による前腕橈側皮静脈の閉塞挙動の解析．日本機械学会 M&M2019 材料力学カンファレンス講演論文集，OS0806, 2019.
5) 前野隆司，小林一三，山崎信寿：日本機械学会論文集（C編），**63**, 881-888, 1997.

要旨

OS3

血液レオロジーと微小循環

血液透析回路を循環する赤血球の変形能と溶血に関する生体外模擬実験

郡慎平*，田中季里*，畑中由佳*，入野啓司**，田地川勉***
＊ 藍野大学　臨床工学科 [〒567-0012　大阪府茨木市東太田 4-5-4]
**関西大学大学院　理工学研究科
***関西大学　システム理工学部

１．緒言

赤血球は高い変形能力により毛細血管内を容易に流れるが，変形能が低くなると末梢血管での血流が滞り，これは高血圧症などにつながる[1)]．現在，高齢化に伴い血液透析を行う患者は増加傾向にあるが，血液透析は血液を体外に長時間さらすことになり，医療現場ではその中で溶血が確認されている[2)]．このような血液透析による赤血球損傷の背景から，我々は溶血と同様に赤血球変形能低下も引き起こされている可能性があると考えた．

本研究では，血液透析による赤血球変形能の変化を単軸引張試験から評価することを試みた．

２．実験方法

図 1 に循環回路の概略図を示す．市販の透析装置にダイアライザを取り付け透析回路に接続する．本実験では，フラスコ内の血液を 37 ℃に保った．ダイアライザは APS-08SA（旭化成メディカル（株））を使用し，血液は Tennesee Blood Service（保存液 ACD-A 液）から購入したものを用いた．図 1 において，フラスコ内の血液は血液ポンプで送液され，抗凝固薬であるヘパリン（1000 単位／mL）注入後，静脈チャンバ，ダイアライザと動脈チャンバを通り，フラスコ内に入ることで回路内を循環する．このとき流量を 200 ml/min とした．採血は，1 時間毎で行い，それぞれで溶血度（吸光度）と変形能（単軸引張による形状回復時定数[3,4)]）の測定を行った．

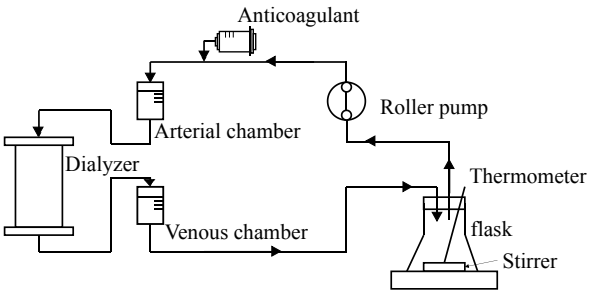


Fig.1　Schematic diagram of hemodialysis circuit.

３．実験結果

引張実験による時定数測定結果を図 2 に示す．

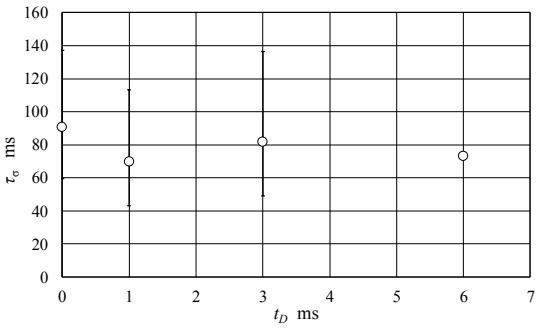


Fig.2　Relationship between time constants of RBCs' recovering process and hemodialysis time.

４．考察

図 2 から，透析時間が経過しても時定数が変化しないことから，血液透析を行うことによって赤血球の変形能力が低下しないことが分かった．一方，採液された血液から溶血は生じていることがわかっており，このことから，主に透析装置内のローラーポンプによるチューブ圧閉時に瞬間的に赤血球が破壊されて溶血が生じていると考えられる．

５．結言

本研究では，透析装置内で循環する赤血球の変形能力の変化についての評価を行った．その結果，血液透析による溶血は確認されたが，血液流量 200 ml/min の場合，赤血球形状回復変形能に変化は見られなかった．

謝　辞

本研究は，科学研究費補助金（若手研究 B 16K21515）の助成を受けたものである．

文　献

1） 本間研一：標準生理学 第 9 版，pp. 544，2019.
2） 篠田俊雄，峰島三千男，本間崇：臨床工学技士のための透析医療，学研メディカル秀潤社，pp. 214-219，2017.
3）郡慎平，加藤陽介，田地川勉，山本恭史，板東潔：単軸引張によるヒト赤血球の変形能の測定 -見かけのヤング率と形状回復時定数の関係-，生体医工学，Vol. 53 (1)，pp. 1-7, 2015.
4）Y.C.Fung : Biomechanics-Mechanical Properties of Living Tissues Second Edition- , Springer , pp.41-48，2010.

浸透圧差によるヒト赤血球の膨張・溶血挙動
ー吸光特性を利用したヘモグロビン浸出挙動の計測ー

大友涼子*，米田悠希**，板東潔*
＊ 関西大学システム理工学部　機械工学科 [〒564-8680　大阪府吹田市山手町 3-3-35]
**関西大学大学院　理工学研究科

１．緒言

赤血球は，健常な状態では両凹円盤形を有するが，周囲の溶液との浸透圧差により膨張・収縮変形する．特に膨張が進むと膜が破損して溶血に至る場合もあるため，浸透圧差抵抗性は赤血球の脆弱性の指標とされ，古くから研究されてきた [1].

本研究では赤血球に浸透圧の低い低張液を加え，膨張変形する様子を観察する．膨張後に溶血に至るまでの現象の詳細を明らかにすることを目指し，観察結果から赤血球の体積変化を求めると同時に，吸光特性を利用してヘモグロビン量の経時変化を計測し，両者の関係について調べた．

２．実験方法

関西大学先端科学技術推進機構研究倫理委員会の承認と本人の合意のもとで，実験関係者から採血を行った．得られた血液から赤血球を取り出し，MAP 液で希釈したものをサンプルとした．サンプル 10μL を顕微鏡のステージに設置し，0.1wt%NaCl 水溶液 50μL を加える．赤血球が膨張する様子を，凹部の形状変化が観察できる方向からカメラで撮影し，軸対称の仮定を用いて 2 次元画像から体積を見積もった．さらに，吸光度と媒質の厚さおよび濃度の関係を表す Lambert-Beer の法則に基づき，実験画像の輝度値を利用して各時刻における赤血球内部のヘモグロビン (Hb) 量の変化を求めた [2].

３．実験結果および考察

図 1 上段に赤血球の膨張・溶血過程の実験結果を示す．図 1 からは赤血球の凹部が徐々に膨らんでいく様子が観察でき，両凹円盤形から球形となる形状変化が推察された．赤血球内部は周囲よりも暗く写っているが，これは Hb の吸光によるものである．最終的に t = 110 s では赤血球の色が薄くなっていることから，Hb が外部に浸出し，溶血したことがわかる．図 1 の画像から赤血球の体積変化を調べた結果，体積は t = 40 s で最大となり，直後に 20%程度減少したが，その後は一定の体積を保ちながら溶血したことがわかった．

赤血球内外の輝度値をもとに求めた Hb 量の可視化図を図 1 下段に示した．Hb 量が多いほど赤色に近くなるように表した．これらの結果から赤血球内部の Hb 量 M の変化を求めた結果を図 2 に示す．M_0 は低張液を加える前（t = 0 s）の Hb 量であり，本結果では 156 pg であった．文献値の 30～35 pg[3]よりも大きく算出されたが，概ね同程度のオーダーの値が得られた．Hb 量は体積が最大となる t = 40 s よりも時間が経過した t =70 s あたりから大きく減少しており，赤血球の膨張終了と Hb の浸出開始には時間差があることが示唆された．

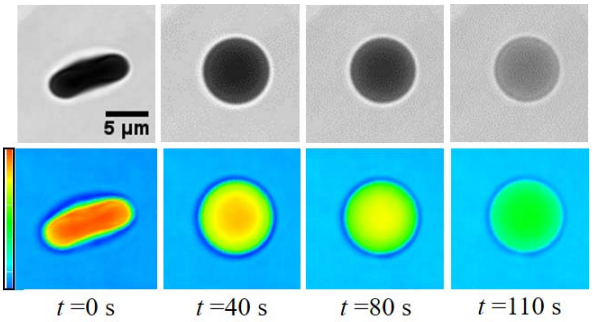


図 1 赤血球の膨張・溶血過程の観察結果（上段），および Hb 量変化の可視化図（下段）

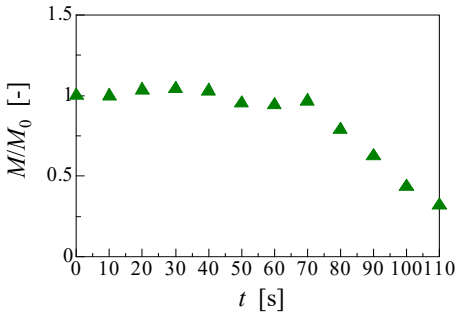


図 2 赤血球内部の Hb 量の経時変化

４．結言

低張環境下での赤血球の膨張・溶血挙動を実験により調べた．赤血球の体積変化および内部の Hb 量変化から，赤血球の膨張終了と Hb の浸出開始には時間差があることが示唆された．

文　献

1) Canham, P. B. and Parkinson, D. R., Can. J. Physiol. Pharm., 48, 369- 376, 1970.
2) 関裕子ら，日本機械学会第 24 回バイオエンジニアリング講演会，2012, pp. 1-2.
3) 菅原基晃, 前田信治:血液のレオロジーと血流, コロナ社，2003, pp. 2.

要旨

OS4

細胞・分子のメカノバイオロジー

ATP枯渇条件における細胞核内DNAのライブイメージング

福手淳平*，牧功一郎**，安達泰治**
*京都大学 大学院生命科学研究科 [〒606-8501　京都市左京区吉田近衛町]
**京都大学 ウイルス・再生医科学研究所

１．緒言

分化，増殖などの様々な細胞活動は，特定の遺伝子群が選択的に発現することにより実現される．選択的な遺伝子発現において，細胞核内で３次元的に折りたたまれたゲノムDNAの立体構造変化が鍵となることが示唆されているが，その制御メカニズムについては未解明の点が多い [1]．本研究では，ゲノムDNAの３次元構造変化を誘導する要因の一つとして，核内で発生する力に注目した．まず，核内における力の発生源としてDNA上のモータータンパク質をとりあげ，その力発生に不可欠なATPを枯渇させた際の核内DNAのライブイメージングを行った [2]．

２．実験方法

ガラスボトムディッシュにマウス頭蓋骨由来骨芽細胞様細胞株 MC3T3-E1 を播種した．Hoechst33342 を用いて核内DNAを染色し，共焦点レーザー顕微鏡FV1200(Olympus)により 15 秒間隔で３次元ライブイメージングを行った．撮影開始から５分後に，アジ化ナトリウムと 2-デオキシグルコースを含んだPBS溶液を添加し，ATP加水分解と ATP産生の阻害を行い，その後 10 分間撮影を行った．

３．実験結果

ATP枯渇前後のXZ断面図の比較から，ATP枯渇により核の高さが減少することが明らかになった(図 1(a))．さらに，核内におけるDNAの分布の変化を探るため，取得した３次元画像に対して，Z 軸方向の合計輝度を求め，ATP枯渇前後の合計輝度の差を算出した(図 1(b))．その結果，ATP枯渇により，複数のDNA凝集塊が放射状に移動すること(図 1(c))，および，核辺縁部においてもDNAの分布に変化が生じることが明らかとなった (図 1(d))．

４．考察

ATP枯渇により核内DNAの分布が変化したことから，DNA上のモータータンパク質の活性が，核内DNAの分布に重要な役割を果たしている可能性が示唆された．今後はモータータンパク質に特異的な阻害剤を用いることで，モータータンパク質が発生する力が核内DNAの分布に及ぼす効果を明らかにすることを目指す．

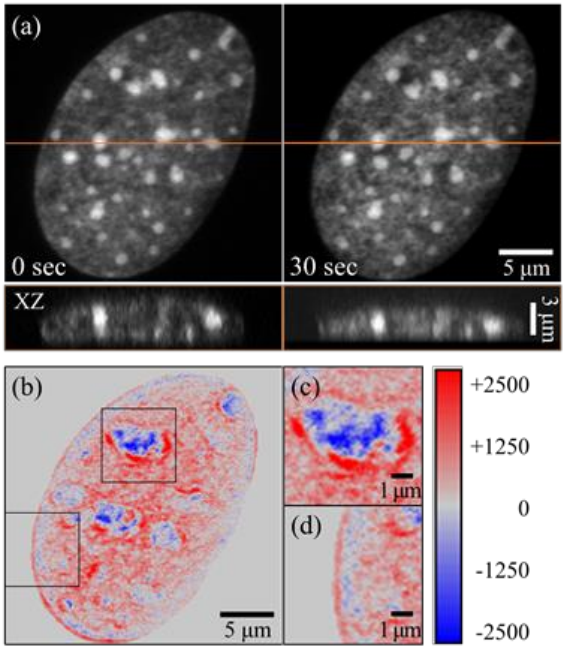


Fig.1 (a) Distributions of nuclear DNA before (left) and 30 second after (right) ATP depletion. (b) Heat map of intensity difference upon ATP depletion. (c, d) Magnified image of (b)

５．結言

本研究では，ATP枯渇条件下における核内DNAの３次元ライブイメージングを行った．その結果，ATP枯渇により核の形状と核内DNAの分布の両者に変化が現れることが明らかになった．

謝　辞

本研究の一部はAMED-CREST（メカノバイオロジー）の援助を受けた．ここに記して，謝意を表す．

文　献

1) Szabo, Q., Bantignies, F. & Cavalli, G.: Principles of genome folding into topologically associating domains. Sci. Adv. **5**: eaaw1668, 2019.
2) Visvanathan, A. *et al.*: Modulation of higher order chromatin conformation in mammalian cell nuclei can be mediated by polyamines and divalent cations. PLoS One **8**: e67689, 2013.

血流下で特異的に VWF-GPIbα 相互作用を阻害する抗血小板薬の探索

中山正光*，後藤信一*，平山令明**，後藤信哉*
*東海大学大学院医学研究科代謝疾患研究センター [〒259-1143 神奈川県伊勢原市下糟屋 143]
**東海大学先進生命科学研究所 [〒259-1207 神奈川県平塚市北金目 3 丁目 32-15]

１．緒言

アスピリンやクロピドグレルなどの既存抗血小板薬は高い血小板阻害効果を持つため，強力に血栓イベントを抑制する．しかし，副作用としての出血イベントが問題となっている．動脈硬化による血管狭窄などの高ずり応力下のみで抗血小板効果を発揮する新薬が実現すれば，出血イベントを大きく減らすことが可能になる．血小板の接着には血管壁のマトリックス：von Willebrand 因子（VWF）と，血小板の膜糖蛋白受容体：GPIbα の相互作用が必須の役割を演じる．

本研究では，分子動力学計算により VWF-GPIbα の相互作用について計算を行い，低分子化合物を *in silico* スクリーニングした．探索した化合物の抗血小板効果を *in vitro* で評価した．

２．実験方法

高性能コンピュータを用いて，VWF-GPIbα の結合構造の予測を行った．GPIbα が血流から受ける流体力を外力とした力学モデルを組み込み，スクリーニングモデルを作成した．VWF-GPIbα 間に生成する一過性の空隙の内，相互作用に重要と考えられる一つの空隙内の構造化学的特徴を表現する pharmacophore を求めた（図 1）．pharmacophore の条件を十分満足する（重心のずれが 0.7 Å 以下）化合物を抽出した．抽出された化合物群と VWF-GPIbα 複合体構造との結合性を，プログラム ASEDock を用いたドッキング計算により求めた．評価関数 GBVI/WSA_dG を用いて，親和性の高い化合物を選定した．

選定した化合物の抗血小板効果についてフローチャンバーシステムを用いた *in vitro* 試験から評価した．健常成人より全血を採取し，抗トロンビン薬 Argatroban を 100 μM で抗凝固処理をした．血小板オルガネラである濃染顆粒を蛍光標識した．コラーゲンを固相した

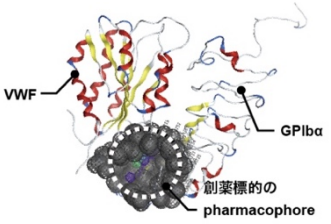


図 1　対象とした VWF-GPIbα計算モデル

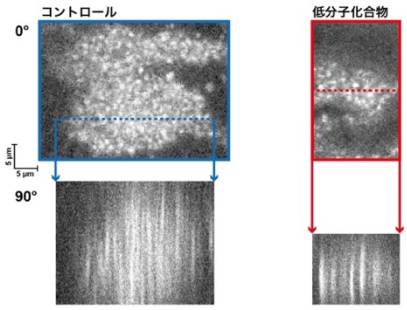


図 2　4 分間血液灌流後の血栓形成の様子

カバーガラスをフローチャンバーシステムに組み付け，スクリーニングされた試薬を 10 mM を添加した全血をずり応力 3000 s^{-1} の条件で 4 分間灌流し，灌流後の血栓を三次元観察した．サンプル数は 5 とし，計測した数値データは平均値±標準偏差で表した．

３．実験結果

スクリーニングされた化合物を添加した全血をフローチャンバーで 4 分間灌流し，その後の血栓を共焦点レーザー顕微鏡で観察した．化合物を添加していないコントロールの 0°と 90°の面積は 256.1±88.2 μm，198.1±55.7 μm だったのに対し，化合物を添加した系では 70.9±22.2 μm, 85.3±16.9 μm と血栓の大きさが小さくなった（図 2）．

４．考察

スクリーニングした化合物の抗血小板効果を *in vitro* で評価した．ある低分子化合物において，4 分間の血液灌流で血栓サイズの減少が認められた．

本研究では初期の血栓サイズを評価するため灌流時間を 4 分としているが，その後のイベントは評価できていない．使用機器はすべて 2%アルブミン溶液でブロックしているが，チューブ内などで非特異的反応が起きている可能性がある．特定の領域を観察しているため，その他の領域におけるイベントは評価できていない．血栓形成を精緻に評価できる *in vitro* の系も確立する必要がある．

５．結言

外力が加わった VWF-GPIb α の相互作用を阻害する低分子化合物を *in silico* スクリーニングし，抗血小板効果を *in vitro* で評価した．

間質流に誘起されるグリオーマ幹細胞の浸潤メカニズムの検討

須藤 亮*, **，池上 直希**，長南 友太**，山下 忠紘*, **
*慶應義塾大学理工学部システムデザイン工学科　[〒223-8522　神奈川県横浜市港北区日吉 3-14-1]
**慶應義塾大学大学院理工学研究科総合デザイン工学専攻

1．緒言

グリオーマは脳腫瘍の一種であるが，中でもグリオブラストーマは特に悪性度が高く，新たな治療法の開発が期待されている．グリオーマの浸潤プロセスには様々な環境因子が関連しているが，我々は間質流がグリオーマ幹細胞の浸潤を促進する現象を見出している．しかし，グリオーマ幹細胞が間質流に応答し，浸潤を促進するメカニズムについては明らかになっていない．そこで，本研究では，間質流に誘起されるグリオーマ幹細胞の浸潤プロセスを解析し，そのメカニズムについて検討することを目的とした．

2．実験方法

本研究では，*Ink4a/Arf* 欠損マウスから分離した神経幹細胞にがん遺伝子 Ras および GFP を遺伝子導入することによって人工的に作製されたグリオーマ幹細胞を用いた [1]．図 1 に示すマイクロ流体デバイスを用いることで，グリオーマ幹細胞を間質流の下で培養した．マイクロ流路に培養液リザーバーを接続し，培養液の液面差（ΔZ_0）によってコラーゲンゲル（1.5 mg/ml）を透過する間質流を調整した．培養液は，DMEM/F-12 に 20 ng/ml EGF, 20 ng/ml bFGF, 2% B27 without vitamin A, 200 ng/ml heparan sulfate を添加したものを使用した．また，細胞の Ca^{2+}応答を調べるために Ca^{2+}検出蛍光プローブ Rhod-3 AM を用いた．

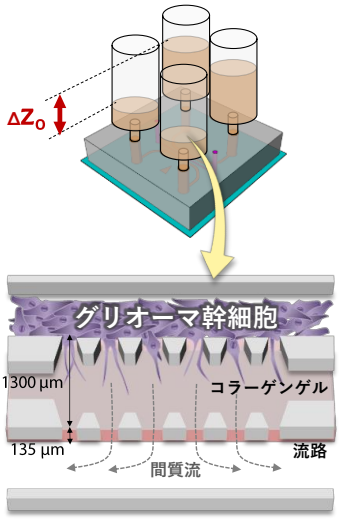


図 1 マイクロ流体デバイスを用いた培養

3．実験結果および考察

まず初めに，グリオーマ幹細胞に 2 種類の間質流（2.3 μm/s, 8.6 μm/s）を負荷し，それぞれの条件における浸潤プロセスを位相差顕微鏡によって培養 5 日目まで観察した．浸潤距離を定量的に評価すると，間質流 8.6 μm/s において，静置培養（static）や間質流 2.3 μm/s に比べて有意に浸潤距離が大きくなることがわかった（図 2）．この結果は，腫瘍近傍の速い間質流を模擬した条件 8.6 μm/s において浸潤能力が促進されることを示している．次に，間質流への応答機構としてグリオーマ幹細胞の Ca^{2+}応答に着目した．間質流負荷前後の Rhod-3 AM の蛍光強度の変化を調べると，Ca^{2+}が一時的に活性化する様子が観察された．

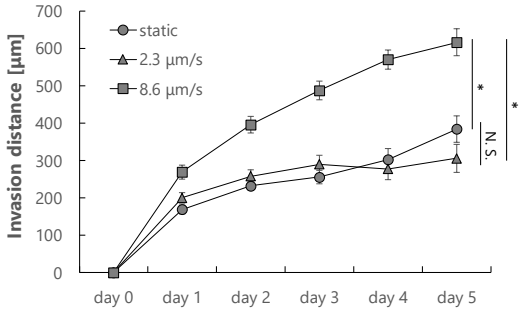


図 2 グリオーマ幹細胞の浸潤距離

4．結言

本研究では，腫瘍近傍を模擬した間質流 8.6 μm/s の条件でグリオーマ幹細胞の浸潤距離が促進されることを明らかにした．さらに，間質流に誘起される浸潤機構に Ca^{2+}応答が関与している可能性を示した．

謝　辞

本研究は，AMED-PRIME（JP19gm5810026）の助成を受けたものである．

文　献

1) Sampetrean, O., Saga, I., Nakanishi, M., Sugihara, E., Fukaya, R., Onishi, N., Osuka, S., Akahata, M., Kai, K., Sugimoto, H., Hirao, A., and Saya, H.: Invasion precedes tumor mass formation in a malignant brain tumor model of genetically modified neural stem cells. Neoplasia, **13**, 784-791, 2011.

要旨

OS5

ティッシュエンジニアリング・人工臓器

バイオシートを使ったバタフライ型人工房室弁の開発（シート形状の工夫による性能評価の試み）

関戸耀太*，中山泰秀**，田地川勉***
＊ 関西大学大学院 理工学研究科 [〒564-8680　大阪府吹田市山手町 3-3-35]
**バイオチューブ株式会社
***関西大学 システム理工学部

１．緒言

我々は，生体外組織形成術を用いて人工心臓弁(バイオバルブ)を開発してきた [1]．房室弁形状のバイオバルブ [2]も開発したが，構造が複雑なため移植難易度が高く実用化には至っていない．

そこで本研究では，簡易型人工房室弁の開発を目標とし，僧帽弁用の人工弁輪を模したステントに，生体内組織形成術より作製したバイオシート(以下，BS)をステント上に縫い付けることで，機械弁の Butterfly バルブを模した生体弁を作製した．本報告では，縫い付けるシート形状が弁機能におよぼす影響について調べた．

２．実験方法

生体外模擬実験回路を Fig.1 に示す．実験条件は既報 [2]と同じであるため，説明は割愛する．生体内組織形成術による BS の作製には約 1～2 ヶ月要するため，BS に対して形状パラメータを変化させ，実験・評価することは効率が悪い．そこでポリウレタンシート(以下 PS)を用いて，BS を模擬した実験モデルを作製した．Fig.2 に示すように，ステントに PS を外科用糸で直線的に縫い付け，これを Butterfly 型モデルとした．この弁は流れの動圧を受けることで，弁葉が曲げ変形を起こし開口する．そこで実験パラメータとして，PS の厚み h_{PS}=100~300μm（BS と同程度の曲げ剛性 h_{PS}=150μm），弁輪長軸方向を基準として弁葉縫い付け角度θ=0，90deg.，ステントからの弁葉のはみ出し量 e=0~3mm について影響を調べた．なお，各モデルで，PS はサンプル数 n=3，BS は n=1 に対し実験した．

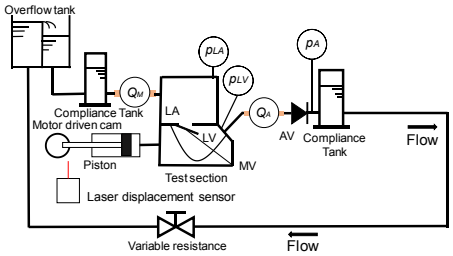
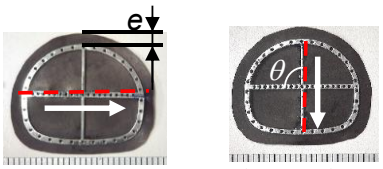


Fig. 1　Schematic diagram of experimental apparatus.



(a) θ= 0deg.　(b) θ= 90deg.

Fig. 2　Modeled valve for Butterfly type.

実験では，左心房圧と左心室圧を血圧トランスデューサで，僧帽弁位流量を超音波流量計で測定し，ISO5840 の定義 [3]に従い僧帽弁位における平均圧較差 Δp，有効開口面積 EOA，逆流率 Rf を求めた．なお本弁に要求される性能は，ISO5840 の要求値 [3]を外挿し Rf≦15%，Δp≦28mmHg，EOA≧0.8cm^2 とした．

３．実験結果と考察

弁葉部分に PS，BS（厚み h_{BS}=360±60μm）を用いた Butterfly 型モデル弁の EOA，Δp，Rf と h_{PS}，h_{BS} の関係を Fig. 3 に示す．

今回の PS を使った実験モデルと実機である BS を使った弁を比較すると，同じ曲げ剛性のモデルであれば，ほぼ同等の弁機能であったことから，曲げ剛性を一致させる事で実験モデルとして成立することが分かった．また，h_{PS}=200μm 以上で ISO5840 の要求値を満たすことが確認できた．一方で h_{PS}=100μm では Rf が高く ISO の要求値を満足できていないが，これは弁葉の剛性不足により，拡張期に弁葉が左心房側に入り込むことで隙間が生じたためと考えられる．縫い付け角度θの違いが，Δp，EOA，Rf に影響しており，PS，BS の両者ともにθ= 90deg.のとき弁開口特性であるΔp, EOA が向上，一方で弁閉鎖性能である Rf が低下した．これは肺静脈，心房，房室弁，心室の相対的な配置の影響で，Fig. 2(b)中の上側（肺静脈）から入った流れが，僧坊弁通過時に遠心力の影響で図の下側に偏るため，θ= 0 deg.に比べ 90 deg.の方が 2 枚の弁葉が均等に開口したためと考えられる．

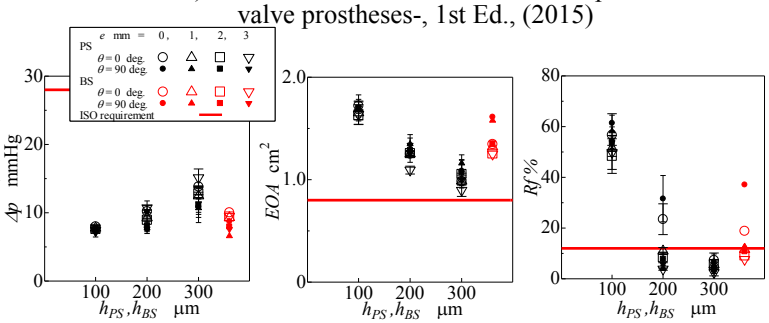


Fig. 3　Valvular performance of Butterfly type.

文　献

1) 林田他，CIRCULATION Up-To-Date, 2, pp. 57-61, (2007).
2) 藤岡他，機講論, No.174-1, M417, (2017).
3) ISO5840-1: Cardiovascular implants -Cardiac valve prostheses-, 1st Ed., (2015)

走査型触覚顕微鏡による 表面形状・弾性率・接着性の同時イメージング

森脇健司*，春田峰雪**，尾股定夫***
*弘前大学　機械科学科 [〒036-8561　青森県弘前市文京町 3 番地]
**株式会社インエクス
***Over Science & Technology Lab.

１．緒言

細胞の接着は遊走や分化，増殖等の機能に関わる基本的な現象で，接着強さは培養基板や培地等の周囲環境によって変化する．接着特性の評価には光ピンセットやマイクロピラープレート，原子間力顕微鏡（AFM）が利用されているが [1]．粘着性分布を簡便かつ定量的に計測するのは難しい．一方，我々は生体組織の表面形状と弾性率をマイクロレベルでマッピングする走査型触覚顕微鏡（SHM）の開発を行っており，主に血管組織を中心に微視的な弾性構造を観察してきた [2]．また，SHM プローブが試料から脱離する際の信号変化に着目することで試料表面の接着性（タック）を定量的に評価できることを示した [3]．

本研究では，細胞の接着性分布を評価するための基礎的検討として，シリコーンゲルの SHM 計測を行い表面形状・弾性率・接着特性の同時計測の可否について検討した．

２．実験方法

低接着シリコーンゲル（TSE3450, TANAC Co., Ltd.）表面に剃刀で溝を掘り，高接着シリコーンゲル（TSE3062）を溝に流し込むことで接着性パタニングサンプルを作製した．既報 [3]に示す要領で試料表面の SHM 観察を行った．SHM は各測定点で試料の押込みと脱離を行い，各点の接触高さ情報から表面形状像，振動針押込み時の周波数変化情報から弾性率分布像が，脱離時と押込み時の周波数変化に要した時間差情報から接着性分布像が得られる．先端直径約 50 μm のプローブを用い，測定点間ピッチ 0.2 mm で 40×2 mm^2 の領域の計測を行った．

３．実験結果

図 1 に SHM 計測結果を示す. 高接着シリコーンゲルを流し込んだ領域は，周囲の低接着シリコーンゲル領域に比べ，表面形状像では低く，また，低い弾性率で高い接着性を有する領域として観察された．これらの特性は試料作製時の想定と一致していた．

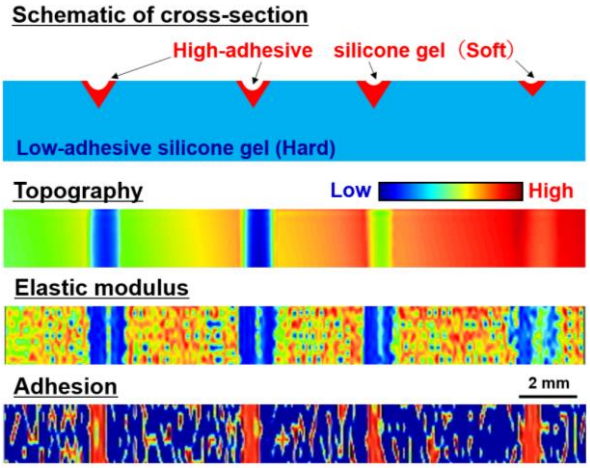


Fig. 1 Schematic cross-section of silicone gel sample and the images obtained by SHM measurement.

４．結言

SHM 計測によって，シリコーンゲル試料の表面形状・弾性率・接着性の同時イメージングが可能であった．今後，生体分子をコートした SHM プローブによる細胞観察を通し，ターゲット細胞の検出やその弾性率変化計測の実現可能性を検討する予定である．

謝　辞

本研究は，中谷医工計測技術振興財団の技術開発研究助成（奨励研究）の支援を受けた．ここに謝意を記す．

文　献

1) Kim, H. et al.: Quantitative Measurements of Intercellular Adhesion between a Macrophage and Cancer Cells using a Cup-attached AFM Chip. Colloids Surf. B Biointerfaces, **155**, 366-372, 2017.
2) Moriwaki, T. et al.: Variations in Local Elastic Modulus along the Length of the Aorta as Observed by Use of a Scanning Haptic Microscope (SHM). J. Artif. Organs, **14**, 276-283, 2011.
3) Moriwaki, T. et al.: Development of a microscopic adhesive evaluation method using a scanning haptic microscope. Sens. Actuators A Phys., **303**, 111692, 2020.

矩形断面流路をもつインペラの出口角と断面積が遠心血液ポンプの諸特性に与える影響

西田正浩*，小椋長征**，迫田大輔**，小阪亮**，山根隆志**
丸山修**，百武徹**，山本好宏**，桑名克之**
＊ 産業技術総合研究所 [〒305-8564　茨城県つくば市並木 1-2-1]
横浜国立大学大学院，*泉工医科工業株式会社

１．緒言

遠心血液ポンプは，心疾患患者の外科的治療の一つである開心手術における体外循環に用いられる．しかしながら，現状では，急性心不全に伴う経皮的心肺補助や右心補助などのさまざまな長期使用での用途が期待されている．遠心血液ポンプの長期使用には，ポンプ性能と溶血特性の向上は重要な課題である．本研究では，矩形断面流路をもつインペラを有する遠心血液ポンプの設計指針を得るために，流路の出口角と断面積に着目し，それらがポンプ性能と溶血特性に与える影響について，実験および数値解析により評価した．

２．実験方法

矩形断面をもつ 4 本の直線流路をもつモノピボットポンプのインペラ流路を基準とした．まず、直線流路を曲線流路にして出口角が異なる 4 種類の流路について比較した．次に、直線流路のまま断面積または本数を変えて流路の総断面積が異なる 3 種類の流路について比較した．

実験では，まず、血液との接液面ができるだけサポート面にならないように３Ｄプリンタの部品を成形し、これに切削加工した部品を組み合わせてインペラを作製した。次に、模擬循環回路を用いてポンプの圧力流量特性およびインペラの離昇特性を計測した．作動流体には液温 37℃にて粘度 3 cP の 46wt%グリセリン水溶液を用いた。さらに、in vitro 溶血試験を行った。作動流体には液温 37℃のウシ屠殺血を用い、ポンプ駆動後の血漿の遊離ヘモグロビン濃度を計測し溶血指数を求めた。

数値流体力学解析では，有限体積法に基づく市販ソフトウエアを用いた。作動流体は血液をニュートン流体に近似し, 比重 1.05、粘度 3cP とした。乱流モデルには k-εモデル、解析には非定常解析であるスライディングメッシュ法を用いた。流速とせん断応力を求め、溶血指数と相関するポンプ内の血液損傷係数を算出した．

溶血試験と解析のポンプの駆動条件は，体外循環を想定した流量 4 L/min, 揚程 200 mmHg とした．

３．実験結果および考察

インペラの流路の出口角が小さくなると，圧力流量特性は若干低下したが、顕著ではなかった．これは，流速分布から求まる流線の流路の出口付近での流出角の変化が顕著ではなかったことに対応した．また，溶血指数に有意差はみられなかった．これは，血液損傷係数の向上が若干であったことに一致し、流路の出口付近に生じる高せん断域の減少と，圧力流量特性の低下によるインペラの回転数の若干の増加によるせん断の増加が相殺されたからであると考えられた。一方，出口角が小さくなると，インペラ前面隙間に流れが回り込みにくくなり，インペラは離昇しにくくなった．

インペラの流路の総断面積が大きくなると，圧力流量特性の右下がりは緩和された。溶血指数は低下した．これは、体外循環条件におけるインペラの回転数が減少したことと、流路内の流速が小さくなり、流路の出口付近に生じる高せん断域が減少したからであると考えられた。一方、総断面積が大きくなると，インペラ前面隙間に流れが回り込みやすくなり，インペラが離昇する可能性があらわれた．

４．結論

矩形断面流路をもつインペラを有する遠心血液ポンプにおいて，流路の出口角が小さくなると，溶血特性はそれほど変わらないが、インペラは離昇しにくくなった．また，インペラの総断面積が大きくなると、溶血特性は向上するが、インペラが離昇する可能性があらわれた．

謝　辞

本研究では，３Ｄプリンタ成形においては，茨城県産業技術イノベーションセンターの中川裕光氏に，切削加工においては, 産業技術総合研究所の芦田極氏に、また、動物血採取においては、茨城県中央食肉公社の高安仁文氏にそれぞれご協力いただいた．ここに謝意を表する。

要旨

OS6

生体物質の構造形成と機能発現・制御

蛋白質凝集体を利用した細胞核内ダイナミクスの抽出

藤井 修治*，マイケル エルバウム**
＊ 北海道大学大学院　工学研究院　応用物理学部門　[〒060-8628 北海道札幌市北区北 13 条西 8 丁目]
**ワイツマン科学研究所

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 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。

本研究では、生体プローブとして蛋白質会合体を用いた。蛋白質会合体により核内部を可視化し構造体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

生体プローブとして用いる蛋白質には染色体との相互作用が無いと考えられるフェリチンを用いた。フェリチンは鉄結合性蛋白質の一種であり、24 個のサブユニットにより構成される外径 12nm の籠のような球状自己会合体を形成する。細胞内では鉄と結合することにより細胞内に鉄を保存する役割を果たしている。

この蛋白質に緑色蛍光蛋白質を導入し細胞に投与することにより細胞核内部を可視化した。図 1 は、HeLa 細胞の核を同蛋白質によって可視化した一例である。核内の暗い領域は核小体や核内構造体である。これらの構造体内部では染色体や核内構造体が高密度に詰まっているため、フェリチンの自己会合体が入り込むことができない。この写真から、核内構造体の運動を追跡することができる。実験では、動画を撮影し画像相関分光法により、各内部の運動情報の抽出を試みた。画像相関分光法では、取得した画像をフーリエ変換し、フーリエ係数の時間発展を解析することにより自己相関関数を求めた。

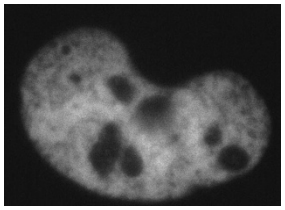


図 1.　HeLa 細胞の核内を可視化した一例.

３．実験結果・考察

図 2 に、画像相関分光法により求めた核内構造体の自己相関関数を示す。

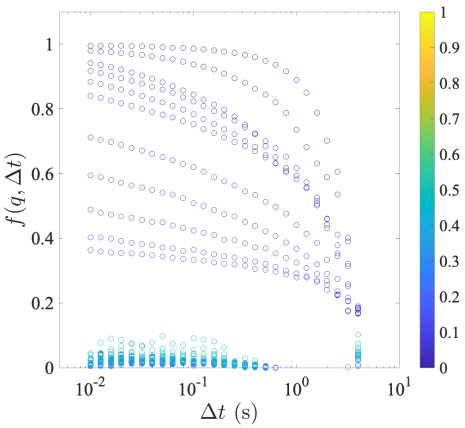


図 2. 核内構造体の自己相関関数.

図右のカラーバーは図中のシンボルに対応し、それぞれのデータは各波数における自己相関関数を表している。自己相関関数に減衰が見られる波数領域はおよそ 0.5 - 6 μm の実空間スケールに対応しており、これらは核内構造体の大きさと対応することから、画像相関分光法が細胞核内のダイナミクスを抽出するのに適していることがわかる。さらに自己相関関数から平均自乗変位を求めたところ、異常拡散挙動が見られた。

画像相関分光法によりダイナミクスに関する情報を抽出することができた一方、核内構造体の運動に関する不均一性の空間分布は評価できない。今後は、粒子追跡法と組み合わせ、より詳細なダイナミクスに関する情報の抽出法を考案する必要がある。

粒子追跡法による多管構造コラーゲンゲル形成過程の観察

米本純太*，槇 靖幸*，安中雅彦*，古澤和也**
＊ 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]
**福井工業大学 環境情報学部 環境・食品科学科

１．緒言

粒子追跡法は，物質の局所的なダイナミクスを測定するマイクロレオロジー的手法の１つで，対象物質に分散させた微粒子を顕微鏡下で観察し，その運動から粒子近傍の局所的な力学的性質を調べる手法である．ソフトマターのレオロジー的性質のマイクロメートルオーダーの空間的な不均一性を評価できるのに加え [1]，系の外部から力を加えず非接触で測定できるといった特徴を持つ．

動物の主要な構造タンパク質であるコラーゲンのゲルは，細胞培養足場などに広く用いられている．多くの場合，コラーゲンゲルの調製は，コラーゲンの酸性溶液に中性の緩衝液を混和し，中和することで行われる．一方，透析膜を隔ててコラーゲンの酸性溶液と中性のリン酸緩衝液を接触させると（透析法），境界面から徐々に中和に伴うゲル化が生じ，同時に多数の微細な管状構造が中和の進行する方向に沿って伸びるように形成されることが報告されている [2]．この多管構造コラーゲンゲルは，その特徴的な構造を利用した新しい三次元細胞培養足場などへの応用が期待されている．

本研究では，粒子追跡法により多管構造コラーゲンゲル形成過程の観察を行う．透析法による多管構造コラーゲンゲルの形成では，マイクロメートルオーダーで不均一な構造が形成されることに加え，透析の途中で外部から力を加えたり，試料を取り出したりするのが難しいため，通常のレオロジー測定で評価を行うことは困難であるが，粒子追跡法は，上述の特徴により，このような場合でもゲルの形成過程におけるレオロジー的性質の変化を調べることが可能であると考えられる．

２．実験方法

ガラスボトムディッシュの底面とシリコーンゴムのスペーサーで構成された 5 mm×5 mm×1 mm の窪みに，蛍光ポリスチレン微粒子（直径 500 nm）を約 0.0004 wt%添加したウシ皮由来コラーゲン酸性溶液（$c_p = 1 \sim 5$ mg/cm^3, pH 3.0）を満たし，上面に透析膜をかぶせて固定した．透析膜の上からリン酸緩衝液（pH 6.0 ~ 8.0, $I = 73$ mM）を 4.2 cm^3 注ぎ，倒立顕微鏡で下面から観察した．

ゲルの構造観察には共焦点レーザー走査型顕微鏡を利用し，蛍光免疫染色したコラーゲンを試料として用いた．粒子追跡法実験では，蛍光顕微鏡に取り付けた CMOS カメラで動画を撮影し，画像解析ソフトウェア Image J を使用して微粒子の重心座標の変化を計測した．

３．実験結果

微粒子を含む $c_p = 5$ mg/cm^3 コラーゲン溶液と pH 7.4 のリン酸緩衝液を用いて透析法で得られた多管構造ゲルの共焦点顕微鏡像を Fig. 1 に示す．ほぼ全ての微粒子がゲル相に取り込まれており，管の内部に微粒子はほとんど存在しなかった．粒子追跡法によるゲルの構造形成の観察結果の詳細は当日報告する予定である．

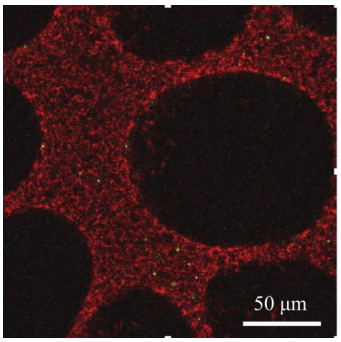


Fig. 1. Cross-sectional image of a multi-channel gel of collagen (red) containing microbeads (green) observed with a confocal laser scanning microscope.

謝　辞

本研究は JSPS 科研費 18K05519 の助成を受けて実施された．

文　献

1) Maki, Y. and Annaka M.: Gelation of fish gelatin studied by multi-particle tracking method. Food Hydrocolloids, **101**, 105525, 2020.
2) Furusawa, K., Sato, S., Masumoto, J., Hanazaki, Y., Maki, Y., Dobashi, T., Yamamoto, T., Fukui, A. and Sasaki, N.: Studies on the formation mechanism and the structure of the anisotropic collagen gel prepared by dialysis-induced anisotropic gelation, Biomacromolecules, **13**, 29-39, 2012.

細胞足場素材の力学的性質と細胞外基質成分が筋芽細胞の分化と組織形態形成に及ぼす影響

古澤和也*
＊ 福井工業大学　環境情報学部　環境食品応用化学科 [〒910-8505　福井県福井市学園 3-6-1]

１．緒言

細胞培養によって、動物の筋組織を再構築する様々な組織工学的技術が古くより開発されている。細胞と生体材料を組み併せて生体組織を構築する際には、生体材料に接着するかどうか、その上で増殖するかどうか、さらに目的の組織をつくる細胞へと分化するかどうかが重要な検討課題となる。これらの生体材料上での細胞の挙動は、その生体材料の力学特性や、どのような生化学的成分でつくられているかによって大きく変化する。これまでに、細胞足場素材の力学特性が筋芽細胞の分化挙動と組織形態に与える影響 [1] や、細胞外基質の構成成分が筋芽細胞の分化に及ぼす影響 [2] については系統的な研究が行われている。しかし、この二つの効果の組み合わせが筋芽細胞の分化と組織形態形成に及ぼす影響については明らかになっていない。そこで本研究では、筋芽細胞の分化と再生組織の形態形成に、細胞足場素材の力学的性質と細胞外基質成分が与える影響について明らかにする。

２．実験方法

方法 1：コラーゲン水溶液（IPC-50, 高研）をリン酸緩衝液中に透析することで多管構造を持つコラーゲンゲル（MCCG）を調製し、これに対して C2C12 を播種することで、再生筋組織を構築した。この時、MCCG を化学架橋剤であるゲニピンで架橋したものとそうでないものを用いた。

方法 2：10×PBS(-)とコラーゲン水溶液（5 mg/mL IPC-50）を 4 ºC で 1 : 9 の割合で混合して中性コラーゲン水溶液を調製した。C2C12 を中性コラーゲン水溶液中に懸濁して 3.0×10^6 cells/mL の細胞密度の細胞懸濁液を得た。これを、シリコンゴムの型に流し込み、37 ºC でコラーゲン水溶液をゲル化することで再生筋組織を構築した。また、コラーゲン水溶液をマトリゲルに変えた方法でも、同様にして再生筋組織を構築した。

３．結果と考察

ゲニピン架橋した MCCG 上では細胞が培養初日より細胞が伸長して良く接着していた。一方で、ゲニピン架橋無しの MCCG 上では、細胞の形態が丸く仮足を伸ばしていなかった。培養 7 日目では、ゲニピン架橋した MCCG 上では C2C12 が良く増加しており、ゲル全体を覆っていたが、ゲニピン架橋されていない MCCG 上では、ほとんど細胞が増殖していなかった。以上より、一定以上の力学特性が筋芽細胞の接着と増殖を向上させるために必要であることが分かった。

コラーゲンゲル及びマトリゲルを用いて C2C12 を三次元培養することにより構築した再生筋組織では、培養開始二日後において、コラーゲンゲル中では C2C12 が丸い形態をとっていることに対して、マトリゲル中では細胞が紡錘状に伸長し網目状の形態を創り出していることが分かった。素材の違いによる力学特性の違いが影響していることも考慮する必要があるが、細胞外基質成分の違いも組織中の細胞の形態に影響を与えることが示唆された。

５．結言

再生筋組織をつくる際にコラーゲンゲルを使用する場合、一定以上の弾性率でないと、筋芽細胞の接着が悪くなり、さらに増殖がほとんど進まないことが分かった。細胞外基質成分の違いが三次元再生筋組織中の筋芽細胞の形態に影響を及ぼすことが示唆された。

謝　辞

本研究は JSPS 科研費（19H05336 および 19K12793）と、金井学園特別研究費の助成を受けて遂行した。

文　献

1) A.J. Engler, M.A. Griffin, S. Sen, C.G. Bönnemann, H.L. Sweeney, D.E. Discher, *J. Cell. Biol.*, **166**, 877-887, 2004.
2) M. Öcalan, S.L. Goodman, U.K. Stephen, K. von der Mark, *Dev. Biol.*, **125**, 158-167, 1988,

海綿骨・骨梁の粘弾性特性-----緻密骨との比較

佐々木直樹　酪農学園大学[〒069-8501 江別市文京台緑町 582]

緒言

骨は構造上、緻密骨と海綿骨に二分できる。基本的には、殆どの骨が両者により形作られている。例えば、大腿骨のような長管骨では、強い力を支えるべき骨幹部が緻密骨、複雑な力がかかる関節部が海綿骨から成る。また、長管骨の成長時には、海綿骨が骨形成・成長の最前線となる。

我々は、先に、海綿骨と骨梁の応力緩和測定を行い、海綿骨の力学特性の材料特性と構造特性への分離を試みた。海綿骨と骨梁の弾性率の差に、海綿骨分岐部のパケット構造が関わっていることが結論された。ここでは、海綿骨と骨梁の粘弾性特性について、緻密骨と比較しながら議論する。

実験

骨試料として、18 か月のウシ大腿骨を用いた。緻密骨、海綿骨とも矩形状に成型した試料に対し、3 点ベンド法により、緩和弾性率を測定した。測定は 37°C リンゲル液中で行った。緻密骨については

$$E(t) = E_0 \sum_{i=1}^{2} A_i \exp\left[-\left(\frac{t}{\tau_i} \right)^{\beta_i} \right] \qquad (1)$$

の形の実験式が提案され、構造・組織との対応が説明されている[1]。これは変形一般化マックスウェルモデルとみなすことができるが、その意味で実験式として海綿骨に適用することに問題はない。ただし、緻密骨で行われた、各項の骨組織への帰属は海綿骨では自明ではない。ここでは上式に対しデータをフィッティングして得られたパラメータを比較することにした。

結果と考察

海綿骨・骨梁でも緻密骨と同様速い緩和(i=1)と遅い緩和(i=2)の和として表すことができた。Table は海綿骨、骨梁、緻密骨の応力緩和を実験式(1)で解析した結果の各パラメータの値である。海綿骨で初期弾性率 E_0 が小さいのは、矩形試料を連続体とみなし計算したためである。骨梁の初期弾性率については、Bini 等の同様の測定結果に非常に近い値である[2]。海綿骨、骨梁では、速い緩和の緩和時間 τ_1 は緻密骨より有意に小さく、緩和時間分布の指標となる値 β_1 が有意に大きくなっており、緩和時間分布が狭くなっている。遅い緩和については、海綿骨では緩和時間 τ_2 およびその分布は緻密骨と違いはないが、骨梁では τ_2 の値が、海綿骨・緻密骨よりも一桁小さい。Raznikov 等は、海綿骨・骨梁ラメラー中で、collagen 線維が緻密骨に比べ規則的に配列している部分が多いことを見出している[3]。特に緩和時間分布の違いは、こうした構造を反映していると思われる。

文献

1) Iyo, T. *et al*. *J. Biomech*. **37**, 1433-1437(2004).
2) Bini, F. *et al*. *J. Biomech*. **35**, 1515-1519(2002).
3) Reznikov, N. *et al*. *Bone* **71**, 189-195(2015).
4) Shirakawa, H. *et al*. *J. Biomech*. **46**, 696-701 (2013).

Table I
Relaxation parameters determined by fitting relaxation modulus data to eq(1).

	cancellous bone	trabecula	compact bone[4]
sample size	15	15	8
E_0 (GPa)	0.579 ±0.005	1.04 ±0.03	14.8 ±0.5
A_1	0.113 ±0.001	0.156 ±0.008	0.12 ±0.01
τ_1 (s)	16.7 ±0.3	24.3 ±0.9	117 ±24
β_1	0.404 ±0.002	0.375 ±0.009	0.27 ±0.05
τ_2 ($\times 10^6$ s)	9.2 ±0.2	0.70 ±0.02	14 ±5
β_2	0.305 ±0.003	0.285 ±0.005	0.49 ±0.03

血液凝固因子との接触による血漿の凝固ダイナミクス－血小板の効果

篠田啓貴*，川端彬嗣*，為我井大輔*，吉場一真*，山本隆夫*，土橋敏明*，
外山吉治**，田中進**

*群馬大学理工学府 [〒376-8515　桐生市天神町 1-5-1]
**高崎健康福祉大学

１．緒言

血漿と血液凝固因子の接触界面からのゲルの成長のダイナミクスから，血漿のゲル化能だけでなく，凝固因子の易動度，凝固因子の発生し易さ，フィブリノゲンの凝固因子感受性などの情報が得られる [1]．この系において，血液凝固因子として組織因子及び赤血球を用いた場合，それぞれ外因系血液凝固と内因系血液凝固のモデルとして考えることができる．一方，血小板は生体内凝固において重要な働きを果たすことが知られており，上記の接触ゲル化モデルにおける役割を調べることは興味深い．本研究では，血小板濃度の異なる血漿と組織因子または赤血球を接触させたときのゲル成長挙動を調べ，血小板の効果を明らかにすることを試みた．

２．実験

健康な 20 代男性から採取したクエン酸抗凝固血液を遠心分離し，バッフィーコートを除いた後，無血小板血漿(PFP)，多血小板血漿(PRP)および赤血球を得た．外因系血液凝固モデルとして，塩化カルシウム添加血漿(PFP or PRP)に組織因子を固定したプラスチック板(トロンボダイナミクスアッセイキット, Hemacore) [2]を挿入したものを用いた(Case 1)．血小板濃度は 0～3.1 x 10^5 個/μL，カルシウムイオン濃度は文献に倣って 20 mM とした [2]．組織因子固定面と血漿との接触界面から白濁ゲル層が成長するのが観察された．血漿と組織因子との接触後の血漿の様子をインターバル撮影し，画像解析ソフトにより写真画像を gray value の空間分布に変換し，gray value がキンク状に変化した位置を凝固フロントとし，界面から凝固フロントまでの距離 X の時間 t に対する依存性を測定した．内因系血液凝固モデルとして，ポリメチルメタクリレート製光学セルにパック赤血球を入れた後，塩化カルシウム添加血漿(PFP or PRP)を重層し，2500 rpm，5 秒の遠心をすることにより界面を平坦にしたものを用いた(Case 2)．血小板濃度は 0～2.8 x10^5 個/μL，カルシウムイオン濃度は 3.5 mM とした．パック赤血球との接触界面からの血漿の白濁ゲル層の成長を Case 1 と同様にして観察及び解析した．なお，本研究は高崎健康福祉大学研究倫理委員会の承認を得て行った．

３．結果と考察

Case1 では，組織因子塗布面からの血漿の凝固ダイナミクスは，ラグタイムの後，ゲル幅Xが$\sqrt{t}$に比例する過程からなり，血漿中の血小板濃度依存性は観察されなかった．一方， Case2 では，Figure 1 に模式的に示されるように，ラグタイムの後，パック赤血球表面から形成されるゲル幅Xは血小板濃度小では時間に比例し，血小板濃度大では，最初時間に比例し，次に，$\sqrt{t}$に比例する過程からなることがわかった．血漿の凝固における一連の過程は多くの凝固因子が関わる複雑なカスケード反応により進行するが，エネルギー律速過程と拡散律速過程がシリアルに進行する場合，律速過程は初期過程では最も遅いエネルギー律速過程($X \propto t$)に支配され，後期過程では最も遅い拡散律速過程($X \propto \sqrt{t}$)に支配されると考えられる．Case 1 と 2 の違いは，凝固開始のトリガーとなるトロンビンの生成速度に依存する 2 つの過程のクロスオーバー時間の違いによると考えられる．

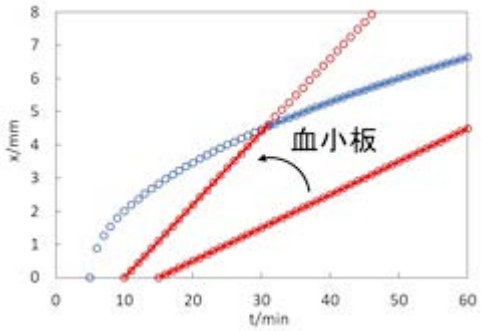


Figure 1　Plots of coagulant layer thickness X vs time t in Case 2. Red and blue symbols denote reaction-limited and diffusion-limited processes, respectively and closed symbols are practically observed.

文　献

1) Shida, N., Kurasawa, R., Maki, Y., Toyama, Y., Dobashi, T., Yamamoto, T., Soft Matter, 12, 9471-9476 (2016).
2) Zhalyalov, A. S., Panteleev, M. A., Gracheva, M. A., Ataullakhanov, F. I. and Shibeko, A. M., PLoS One, 12, e0180668 (2017).

裁断化 PLLA ナノシート水分散液のレオロジー特性

高橋学[1], 小松育実[2], 神田裕美[3] 江口和也[4], 砂見雄太[2,5], 岡村陽介[3,5], 喜多理王[1,5], 新屋敷直木[1], 八木原晋[1]
[1] 東海大学理学部物理学科, [2] 東海大学工学部機械工学科, [3] 東海大学工学部応用化学科,
[4] 東海大学大学院総合理工学研究科総合理工学専攻, [5] 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

高分子ナノシート（厚さ 100nm 以下）は高い柔軟性を示す[1]．これを裁断化した裁断化高分子ナノシートを水に分散させ，火傷した皮膚や傷ついた臓器に滴下し，乾燥させることで創傷被覆材として用いる研究が行われている．先行研究では，裁断化 PLLA ナノシートの水分散液(ポリ乳酸裁断化超薄膜水分散液)のレオロジー特性を調べた[2]．ポリ乳酸裁断化超薄膜水分散はシニング流体であることが分かり，界面コーティング剤としての基礎的な知見が得られた．本研究は，ポリ乳酸裁断化超薄膜水分散がシニング流体であることの再現性を確認し，ナノシートの膜厚と膜の面積の影響を解析することを目的とする．

2．実験方法

ポリ乳酸(PLLA)を原料としたナノシートを μ-coater を用いて作成し，ポリ乳酸ナノシートをホモジナイザー (NS11) で裁断化した．ポリ乳酸裁断化超薄膜の膜厚，膜の面積は白色干渉顕微鏡 (BW-S507) で測定した．回転粘度計(DV2T-LV) を用いて，ポリ乳酸裁断化超薄膜水分散液の粘度を測定した．温度 25.0 ℃，濃度は 0.08wt.%～1.70wt.% の 0.1wt% 刻みで変化させ，ずり速度を 0.040～264s^{-1} の範囲で段階的に増加させた．μ-coater を用いて作成したナノシートの 1 回目の実験結果を (a)，2 回目の実験結果を (b) とする．

3．結果及び考察

表 1 に白色干渉顕微鏡で測定したポリ乳酸裁断化超薄膜の膜厚と膜の面積を示す．図 1 は縦軸に粘度，横軸にずり速度を示す．(a)では，粘度が急激に減少するシェアシニングが起きなかった．(b)では，0.60wt.%～1.70wt.% の濃度域においてシェアシニングが起きた．0.10wt.%～0.50wt.% の濃度域ではシェアシニングは起こらなかった．(a)では全濃度域でシェアシニングが起こらなかったが，先行研究と(b)では高濃度域においてシェアシニングが顕著に起きた．先行研究と本研究の (a), (b) の測定条件は同じであり，膜厚と膜の面積が異なる．先行研究と(a)では膜厚が 12 nm 小さく，膜の面積 0.007 mm^2 小さい．先行研究と(b)では，膜厚が 1 nm 大きく，膜の面積は 0.004 mm^2 大きいことが分かる．すなわち，膜厚がポリ乳酸裁断化超薄膜水分散液の流動現象に影響を与えているのではないかと考えられる．今後の展望として，ポリ乳酸裁断化超薄膜水分散液の流動現象の膜厚依存性について調べる．

表 1．ポリ乳酸裁断化超薄膜の膜厚と膜の面積

	先行研究	(a)	(b)
膜厚 (nm)	58 ± 21	46 ± 28	59 ± 20
膜の面積 (mm^2)	0.055	0.048 ± 0.022	0.059 ± 0.028

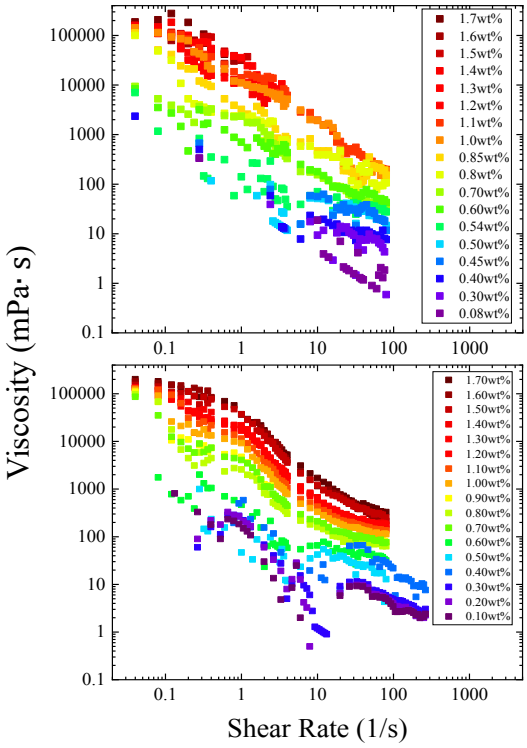


図 1．ポリ乳酸裁断化超薄膜水分散液の粘度
上図→(a)　下図→(b)

文　献

1) 岡村陽介，「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」，高分子論文集，(2013).
2) 江口和也，日本バイオレオロジー学会誌，第 32 巻 第 3 号, 2018 年 10 月 18 日 P138.

混合流体分離デバイスを用いた環状オリゴ糖の熱泳動 1

竹前廣大[1], 村岸優太[2], 木村啓志[2,3], 喜多理王[1,3], 新屋敷直木[1,3], 八木原晋[1]
東海大学理学部物理学科[1], 東海大学工学部機械工学科[2]
東海大学マイクロ・ナノ研究開発センター[3]
[〒259-1292 神奈川県平塚市北金目 4-1-1]

1. 緒言

ルードヴィッヒ-ソレー効果とは, 混合流体に安定な温度勾配を与えることで物質輸送が起こり, 濃度勾配が形成される現象である. ソレー効果により起こる濃度勾配の向きや大きさの指標であるソレー係数S_Tは, レーザー干渉法(TDFRS 法)や, OBD(Optical Beam Deflection)法といった光学的手法を用いた測定が一般的である. 一方我々は, 光学的な手法を使用しないソレー係数S_Tの測定が可能な, 混合流体分離デバイスを試作した[1]. 混合流体分離デバイスはマイクロ流体デバイスに温度差を付与することで, 流路内でソレー効果を発生させ, デバイスの流出口を二つ設けることで, 濃度勾配が形成された溶液層の回収を可能とする. 本発表では混合流体分離デバイスの機能評価およびソレー効果の基礎研究として, 環状オリゴ糖であるメチル-β-シクロデキストリン(MβCD)を用いた水溶液(MβCD/water)の分離実験を行った.

2. 実験方法

図 1 に混合流体分離デバイスの概略図を示す. 上部と下部の熱源(ペルチェ素子)にステンレス板を接触させ, 流路幅は 1 mm, 流路高を 0.45 mm, 流路長を 170 mm とし, 2 つの流出口は温度勾配の上側と下側の溶液層をそれぞれ回収できる構造とした. 溶質にメチル化度 55 %の MβCD(M1356, 東京化成), 溶媒に超純水を用いて 1.0 wt.%に調製した. 流量は 17.6~352 μL/min であり, その時の温度差付与時間は 5.0~0.25 min である. 回収した溶液の密度を密度計(DMA5000 M, Anton paar)で測定し濃度を算出した. 濃度差 Δc は回収した上層部の溶液の濃度と下層部の溶液の濃度の差とした.

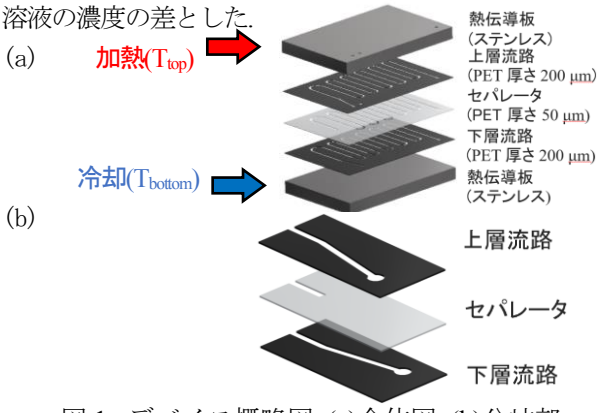


図 1. デバイス概略図 (a)全体図 (b)分岐部

3. 結果と考察

図 2 に混合流体分離デバイスに MβCD/water(1.0 wt.%)を流した時, 得られた濃度差の温度差付与時間依存性を示す. 温度差は $\Delta T = T_{top} - T_{bottom}$ とした. ●と■のプロットはそれぞれ ΔT が正と負, すなわち上側が高温, 下側が高温であることを示す. 温度差付与時間 0.25~3.0 min の範囲では温度差付与時間増加に伴い濃度差が増加し, 生じる濃度差は温度差付与時間 3 min 以降、 飽和した. 温度勾配の向きを反転させても, MβCD が低温側に拡散していることから、流路内で熱拡散現象による物質輸送が起きていることを確認した. 発表では, 得られた濃度差からソレー係数S_Tを算出し, TDFRS 法で得られた MβCD のS_T[2] と比較することで MβCD のソレー係数について議論する.

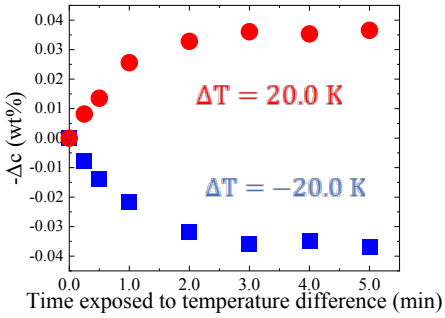


図 2. 混合流体分離デバイスに MβCD/water(1.0 wt.%)を流した時, 得られた濃度差の温度差付与時間依存性. デバイスの平均温度 25.0 ℃

4. 結言

混合流体分離デバイスを用いることで MβCD/water が分離することを確認した. 今後は異なるサンプルを用いることで分離デバイスとしての確立を目指す.

謝　辞

本研究は科研費 K7K021, 向科学技術振興財団, 東海大学連合後援会の支援を受けたものです.

文　献

1) S. Miyamoto, K. Eguchi, R. Kita. H. Kimura, 21st International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences, MicroTAS 2017, 1320-1321, 2020
2) K. Eguchi, D. Niether, S. Wiegand, and R. Kita, European Physical Journal E 39(9), 86, 2016.

要旨

OS7

食品およびソフトマターのレオロジー

モッツアレラチーズの物性に対するホモジナイズの影響

岸岡愛望*，那須田裕子**，岡部尚輝**，大沼正人**，栃原孝志*，○金田　勇*
*酪農大　農食環境学群 [〒069-8501　北海道江別市文京台]
**北大院　工

１．緒言

チーズ製造において，原料乳のホモジナイズ処理はカードの軟化やチーズの品質を劣化させるという報告があるものの，ホモジナイズ処理がなぜチーズの物性に影響を及ぼすかについては解明されていない．そこで本研究ではホモジナイズ処理有り無しの原料乳からモッツアレラチーズを製造し，　その物性を比較することでホモジナイズ処理の影響について考察した．

２．実験方法

酪農大フィールド教育センターで採った牛乳を高温短時間殺菌処理し，ホモジナイズ処理なしのH(-)と，ホモジナイズ処理ありのH(+)に分け，パスタフィラータ法でモッツァレラチーズサンプルを製造した．レオロジー測定：応力制御型レオメーター（MCR501：Anton Paar）で動的弾性率の周波数依存性を25～65℃で測定した．走査型電子顕微鏡（SEM）での観察：モッツァレラチーズサンプルをグルタールアルデヒドで固定して標本を作製し，走査型電子顕微鏡（S-2460N 形：日立ハイテクノロジー）で微細構造を観察した．SAXS 測定：Mo 線源ラボ X 線小角散乱装置（リガク）を用いて測定した。

３．実験結果

Fig.1 は，ω＝1rad/s での複素粘性率（η*）の温度依存性を示す．H(-)は H(+)よりも高い値を示している．そして高温になると H(-)は低下し続け，H(+)は変化が小さくなるといった違いが見られた．また高温域（45℃＜T＜65℃）でのレオロジー特性においては，H(-)は緩和しメルトしたが，H(+)は緩和せずメルトしていないといった大きな違いを観察した．これらの力学特性の違いの原因を探すために，SEM を使用して各モッツァレラチーズサンプルの微細構造の観察を行った．Fig.2 は SEM 画像である．H(-)は粗い構造をしており，糸のような構造も数ヶ所に存在していた．そして H(+)は細かく密となった構造をしていることを観察した．また SAXS プロファイルにおいても H(+)と H(-)では nm レベルでの構造の違いが観察された．

５．結言

乳脂肪の均質化のために定常的に行っているホモジナイズのモッツアレラチーズの物性に対する影響を調べた．ホモジナイズ処理はモッツアレラチーズの特徴であるメルト性を大きく損なうことが明らかになった．この結果は，ホモジナイズ処理は乳脂肪球を機械的に粉砕して均質化するという効果以外にカゼインミセルの構造および機能に対しても何らかの影響があることが示唆された．

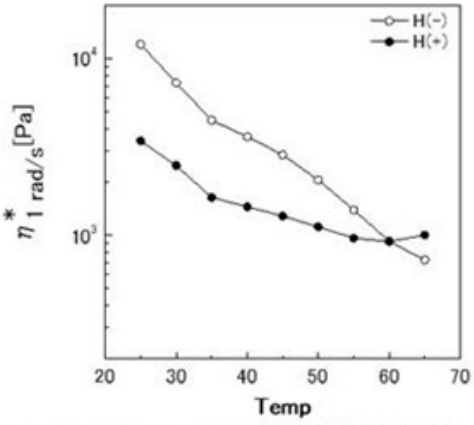


Fig.1　ω=1 rad/sでの複素粘性率（η*）の温度依存性

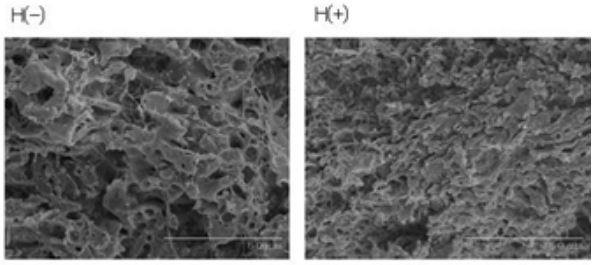


Fig.2 モッツァレラチーズサンプルのSEM画像（倍率:1,000倍）

サワー種添加パンの物理的特性とやわらかさの評価

高橋　智子
神奈川工科大学　管理栄養学科
[〒243-0292　神奈川県厚木市下荻野 1030]

1.　緒言

ヨーロッパ、ロシア、アメリカの一部の地域では、特別な生地種とされているサワー種をパン生地の発酵に用いている[1)]。サワー種には微生物として、パンの膨張に不可欠な酵母菌、および乳酸菌などが存在している。本研究では、サワー種を含まない基本パン試料と、Leouconostoc 属乳酸菌、Lactobacillus 属乳酸菌を含むサワー種添加パン試料、計 3 種類の力学的特性、アミノ酸量、および官能評価を検討した。

２．実験方法

サワー種を含まない基本試料であるパン試料 A、添加するサワー種がデキストランを産生する乳酸菌 Leouconostoc 属であるパン試料 B、デキストランを産生しない乳酸菌 Lactobacillus 属であるパン試料 C とした。材料として強力粉、上白糖、食塩、ショートニング、ドライイーストを用いた。サワー種添加量は本研究では対粉 5%の添加量とした。パン試料の調製は、ホームベーカリー（SD-BH103, Panasonic）を用いた。

3 種類の試料について、比容積、クラム部分の色差測定、水分測定、HPLC によるアミノ酸の定量を行った。圧縮測定により得られる力学的特性は、パン試料全体を圧縮する圧縮試験、および一部を圧縮する貫入試験を行った。やわらかさの官能評価は指で触った時のやわらかさ、および食べた時のやわらかさを若年者により評価した。加えて、健常高齢者により、嗜好型官能評価を行った。官能評価被験者には、本研究の趣旨および意義の説明を十分に口頭と文書にて行い、事前に同意を得た上で研究を行った。なお、本研究は神奈川工科大学、ヒトを対象とした実験研究に関する倫理審査委員会の許可を得たものである。

３．実験結果、および考察

本研究の結果より、デキストランを産生する Leouconostoc 属乳酸菌サワー種添加パン試料の比容積は大きいことがわかった。また、比容積が大きい Leouconostoc 属乳酸菌を含むサワー種を添加パン試料 B は試料全体を圧縮する圧縮測定において、初期弾性率、25%、40%圧縮時の応力が、他の 2 試料に比べ、有意に小さいことが認められた。貫入試験においては、サワー種添加パン試料 B, C は基本パン試料 A に比べ、応力は有意に小さいものとなった。官能評価のやわらかさでは基準パン試料に比べ、サワー種添加試料がやわらかいと評価された。高齢者による官能評価では、27 名中 15 名の健常高齢者パネルは、Leouconostoc 属乳酸菌サワー種添加パン試料が基本試料に比べ、好みであると評価した。その理由として、やわらかい、しっとりしている、風味が良いなどの意見が挙げられた。

参考文献）1)大西博司・他：醸造微生物利用による製パン試験(第 2 報) 新規サワーブレッドの開発、日本醸造協会研究報文、第 96 巻 第 5 号(2001)

Table1 Mechanical properties of bread crumb (×10³N/m²)

	Initial elastic modulus		25% compression stress		40% compression stress	
Bread samples	Compression test	Penetration test	Compression test	Penetration test	Compression test	Penetration test
A	6.42±2.43 [a]	12.27±5.17 [a]	0.91±0.33 [a]	2.11±0.74 [a]	1.32±0.41 [a]	2.73±0.91 [a]
B	4.16±1.94 [b]	8.32±3.16 [b]	0.52±0.24 [b]	1.42±0.33 [b]	0.83±0.32 [b]	1.94±0.42 [b]
C	6.21±2.21 a	7.84±2.55 [b]	0.83±0.32 [a]	1.34±0.42 [b]	1.22±0.42 [a]	1.91±0.52 [b]

Bread sample A: Basic bread, Bread sample B: Basic bread + sour dough including Leuconostoc genus,,
Bread sample C: Basic bread + sour dough including Lactobacillus genus

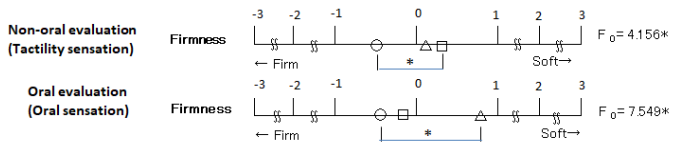


Fig.1 Softness obtained from sensory evaluation

○: bread sample A, △: bread sample B, □: bread sample C

Bread sample A: Basic bread,
Bread sample B: Basic bread + sour dough including Leuconostoc genus,,
Bread sample C: Basic bread + sour dough including Lactobacillus genus

小麦・食物繊維混合系の性状と構造観察

吉村美紀*，大北梨加*，高山裕貴**，原　信岳***
*兵庫県立大学大学院環境人間学研究科［〒670-0092　兵庫県姫路市新在家本町 1-1-12］
**兵庫県立大学大学院物質理学研究科
***兵庫県手延素麺協同組合

１．緒言

予備実験より，小麦粉に食物繊維を混合したゲルは，小麦単独系ゲルと比較し破断応力が有意に高値を示し，硬くなった．また，緩慢冷凍と比較し，急速冷凍は，破断応力が高値を示す傾向にあった．本研究では，予備実験で効果の見られた食物繊維を小麦の手延そうめんに混合し，茹で後に急速冷凍を応用することで，解凍後の手延麺の物性と官能評価及び構造に及ぼす影響を検討した．

２．実験方法

1）試料：兵庫県手延素麺協同組合で製造された小麦粉単独の小麦粉単独麺（コントロール，以下 C とする）と食物繊維（微結晶セルロース）2%を混合した食物繊維混合麺（以下 SA とする）を用いた．各乾麺試料 50g を 95～100℃の沸騰水 0.5L で 1 分 30 秒間茹で，10 回湯切りし，流水で 1 分間冷却し，10 回水切りしたものを茹で後試料（C-B と S-B）とした．茹で後試料を約 50g ずつナイロン製の袋に分け，薄くのばし，密封した．その後，直ちにブラストチラー（オリオン機械㈱製）で-40℃で急速冷凍し，-20℃で 5 日間保存した．ナイロン製袋に常温の水 150ml を入れ，再び密封し，28℃で 3 分間静置し解凍し，10 回水きりし，冷凍・解凍後試料（C-F，SA-F）とした．

2）茹で汁の濁度：分光光度計（アズワン製，IUV1240）で 510nm の吸光度を測定した．

3）重量変化率：茹で後試料と冷凍・解凍後試料重量を乾麺試料重量で除して重量変化率(%)を算出した．

4）破断測定：クリープメーター（RE2-3305B 山電㈱製）を用い，茹で後試料と冷凍・解凍後試料を 2.5×8mm のプランジャーを用いて，圧縮速度 1.0mm/sec で試料の高さの 80%を圧縮した．破断点が見られなかったので，中間点歪率 20%と 50%の圧縮応力，圧縮エネルギーを求めた．

5）走査型電子顕微鏡観察：走査型電子顕微鏡（日本電子㈱製　JCM-5000）を用い，乾麺試料を NeoCoater（MP-19010NCR）で 1 分間金蒸着後，高真空モード，加速電圧 10 k V，測定倍率 2000 倍にて観察を行った．

6）放射光 X 線マイクロ CT 観察：放射光施設 SPring8 の兵庫県 ID ビームライン BL24XU で，X 線波長 1.24 Å（光子エネルギー10 keV）で実施した．間接型 X 線検出器（ピクセル分解能 0.65μm）を用い，試料 - 検出器間距離を 10 mm とした．

7）官能評価：冷凍・解凍後試料 C-F，SA-F を 20g ずつ提供し，5 段階採点法で行った．被験者は兵庫県立大学の学生 38 名（平均年齢 22.4±3.02 歳）とし，分析型評価項目と嗜好型評価項目を設定した．被験者には本研究の趣旨及び意義の説明を十分に口頭と文書にて行い，事前に同意を得た上で研究を行った．

３．実験結果および考察

1）茹で汁の濁度では，SA は濁りが少ないことから，SA は麺表面がほどけにくいこと，C に比べて小麦粉の割合が低いことが理由であると推察した．

2）茹で時および冷凍・解凍後の重量増加率では，有意差は認められず，食物繊維混合による麺の吸水，それによる重量変化への影響は少ないと考えられた．

3）圧縮曲線では，茹で後試料では，歪率 20%前後の SA-B の圧縮応力は C-B に比べて大きく，冷凍・解凍後試料では，歪率 60～80%付近で C-F は上昇がなだらかになるのに対し SA-F では上昇を続けた．

2）官能評価では，SA-F は C-F と比較し有意につやがなく，有意になめらかでないが，水っぽさが少なく，硬く，こしがあると有意に評価された．

3）構造観察では，食物繊維混合麺は，表面には食物繊維が観察されたことより，官能評価でつやがなくなめらかでないことと，食物繊維が麺中で水分を保つことが予想され，そのことにより官能評価で水っぽさが少ないと評価されたことに起因と推察した．さらに，食物繊維混合麺では複合過程に起因すると思われる広い隙間構造が中心部にあり，中心部は表面と類似の調理特性を示すと予想されることから，物性測定で示されたように，茹で後，冷凍・解凍後に硬さを保つことが推察された．食物繊維混合麺の隙間構造ではでんぷんの凝集が多く観察されたことから，硬さは隙間でのでんぷんの凝集に由来する可能性がある．

５．結言

SA-F は C-F に比べ水っぽさが少なく，硬く，こしがあると評価されたことは，SA-F は隙間構造にでんぷんの凝集がみられたことなどと関連性があると考えられた．

冷凍処理による鮪肉の局所弾性率変化の観察

森脇健司*，君塚道史**，春田峰雪***，尾股定夫****
*弘前大学　機械科学科 [〒036-8561　青森県弘前市文京町 3 番地]
**弘前大学　食料資源学科
***株式会社インエクス
****Over Science & Technology Lab.

１．緒言

鮪や鰹などの鮮魚はそのほとんどが冷凍で流通する．解凍後の品質評価には ATPase 活性，pH，K 値など化学的手法が多いが，冷凍鮮魚は生食（刺身）での利用も多く食感などを評価するために力学的手法も重要であると考える．しかし，引張試験などの一般的な力学試験では，凍結時の氷結晶の成長による組織損傷 [1]など微視的な現象の評価に応用し難い．一方，Murayama らが開発した走査型触覚顕微鏡（SHM）[2]は，マイクロレベルの空間分解能で試料表面の弾性率分布を観察でき，これまで主に生体医工学分野で組織の微視的力学評価法として応用されてきた [3]．

本研究では，SHM による食品の微視的弾性率評価の第一歩として，鮪肉の弾性率分布の観察を行い冷凍処理前後における筋と身の部分の弾性率の変化を調べた．

２．実験方法

試料には，びん長鮪の切り身を用いた． 既報 [3]に示す要領で，SHM（Fig. 1A）により試料表面の弾性率分布を観察した．先端直径が約 30 μm のガラス針をプローブに用いた．弾性率が既知の寒天ゲルをあらかじめ測定することで, SHM の検出信号である周波数変化率と弾性率の較正を行った. 腐食や乾燥を抑制するため, 試料は氷水で冷やしたアルミ板の上に静置した．筋が含まれる範囲の弾性率分布を, 冷凍処理 (-20°C, 3days) の前後で比較した（Fig. 1B）．

３．結果と考察

筋部の弾性率は身部よりも著しく高く，弾性率分布像中で明確に識別できた．筋・身ともに冷凍処理により弾性率が半分程度に低下した．今後，凍結条件による違いを定量的に評価できれば，新規冷凍保蔵法の提案や水産物の付加価値向上に有用であると考える．

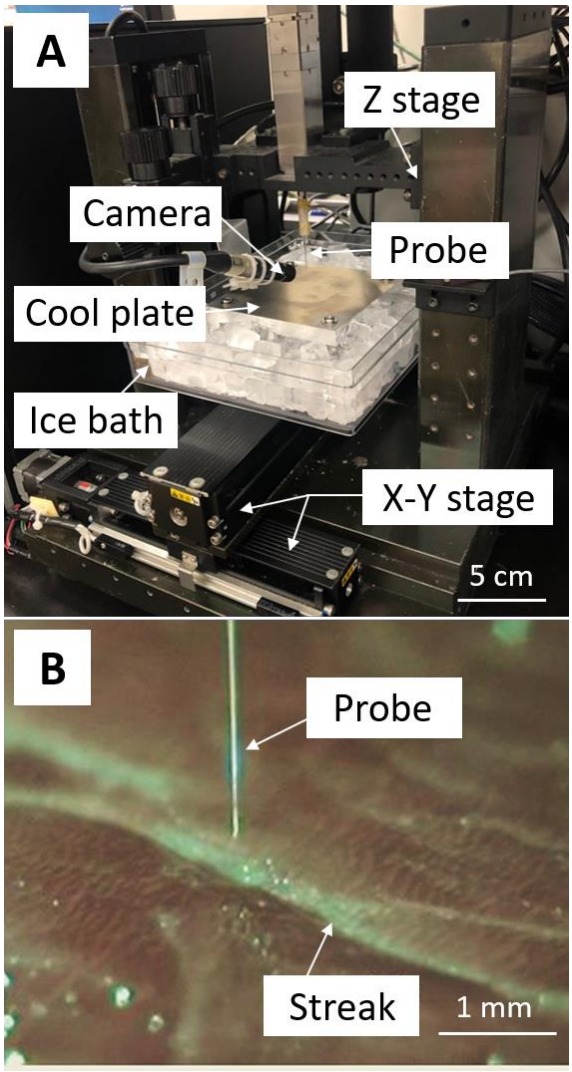


Fig. 1　Photograms of SHM (A) and Tuna sample (B).

謝　辞

本研究は，弘前大学異分野連携若手研究支援事業の支援を受けた．ここに謝意を記す．

文　献

1) 安藤泰雅ら：食品の冷凍および解凍に関する技術開発の現状と今後の課題, 日本食品科学工学会誌，**64**(8)，391-428，2017.
2) Murayama, Y., Constantinou, C. E. and Omata, S.: Development of Tactile Mapping system for the stiffness characterization of tissue slice using novel tactile sensing technology. Sens. Actuators A Phys., **120**, 543-549, 2005.
3) Moriwaki, T. et al.: Variations in local elastic modulus along the length of the aorta as observed by use of a scanning haptic microscope (SHM). J. Artif. Organs, **14**(4), 276-283, 2011.

スクラロースを添加したゼラチンゲルのレオロジー

黒岩 勇*，槇 靖幸*，安中雅彦*
＊ 九州大学大学院理学研究院化学部門 [〒819-0395　福岡県福岡市西区元岡 744]

1．緒言

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，弾性率が増加することは古くから知られているが [1),2)]，ゲル化温度の上昇と弾性率の増加の関係を明確に表した研究はあまりなかった．我々は最近，スクロースを添加したゼラチンの系において，一定の調製温度 T でゲルを調製する場合にはゲルの貯蔵弾性率 G'はスクロース濃度とともに増加するが，ゲル化温度 T_{gel} からのクエンチ幅 $q = T_{gel} - T$ を一定とする条件でゲルを調製する場合，G'はスクロース濃度にほとんど依存しないことを示した [3)]．このことは，ゼラチンゲルの G'を支配する網目構造の形成過程が，糖の添加量によらずクエンチ幅 q で決定されることを意味している．本研究では，人工甘味料の 1 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ゼラチンに添加し，ゲルのレオロジー的性質に及ぼす影響について検討した．

2．実験方法

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．スクラロース濃度 c_s は 0, 5, 10, 20 wt%とした．今回の糖の濃度範囲は，スクロースを用いた以前の研究 [3)]と同程度であるが，スクラロースが甘味料として食品に用いられる濃度（0.1 wt%以下）よりはるかに高い．ゲルの動的粘弾性測定をレオメータ（Rheologia A300, Elquest）により行った．試料を 55℃で 15 分保持した後，測定温度へ急冷し，G'の経時変化を 24 時間測定した．スクラロース水溶液の物性として，音速と密度を振動式音速・密度計（DSA5000, Anton Paar），浸透圧を蒸気圧法浸透圧計（VPO5600, Wescor），粘度をウベローデ粘度計により測定した。

3．結果と考察

ゲル化温度の測定では，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 T_{gel} とした．スクロースなどの一般的な糖では糖の濃度の増加により T_{gel} は上昇するが，スクラロースでは逆に，糖の濃度増加により T_{gel} は低下した．

Fig. 1 は異なる濃度のスクラロースを含むゼラチンの $T = 20$℃における G'の経時変化である．24 時間の測定中 G'は緩やかに増加し続けた（エイジング）．また，スクロースなどとは対照的に，スクラロースでは糖の濃度の増加により G'は減少した．Fig. 2 は，スクラロース濃度の異なるゼラチンについて，$q = 10$ K で測定した時の G'の経時変化である．24 時間の測定で全てのデータがほぼ重なった．従って，スクロースの場合と同様に，スクラロースを添加したゼラチンにおいても q が一定の条件でゲルを調製する場合には，網目構造の形成過程は糖の添加量によらないと考えられる．

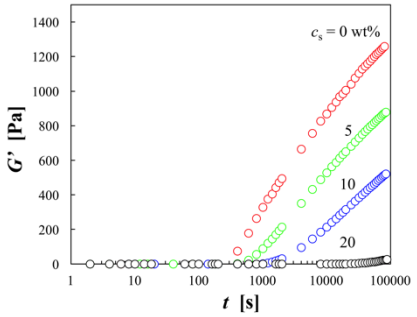


Fig. 1. Time evolution of G' for gelatin gels containing sucralose at 20 °C. The sugar concentration c_s = 0 wt% (○), 5 wt% (○), 10 wt% (○) and 20 wt% (○).

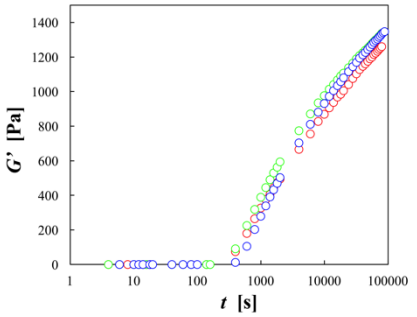


Fig. 2. Time evolution of G' for gelatin gels containing sucralose of c_s = 0 wt% (○) at 20 °C, c_s = 5 wt% (○) at 17.5 °C and c_s = 10 wt% (○) at 15.5 °C.

文　献

1） Oakenful, D. and Scott, A.: Food Hydrocolloids, **1**, 163-175, 1986.
2） Miyawaki, O., Norimatsu Y., Kumagai, H., Irimoto, Y., Kumagai, H. and Sakurai, H.: Biopolymers, **70**, 482-491, 2003.
3） 江口允崇，槇 靖幸，安中雅彦，第 42 回日本バイオレオロジー学会年会．

せん断流動下の動的粘弾性測定による感触評価の可能性
－ 市販ヨーグルトでの検討 －

菜嶋健司
（株）大菜技研 開発室 ［〒305-0047 つくば市千現 2-1-6］

１．緒言

混ぜる、あるいは、塗ると言うような操作を人が行うとき、良否判断が常に行われていて、職人芸的な OK や食品・化粧品の良し悪しの判断に結びつけている。この感触のレオロジーについて考える。動作は、せん断を与え、その応力を感じていると単純化することができる。レオロジー測定では、通常、これを定常流測定と振動（動的）測定に分けて測定する。ただ、それらのデータから感触を再現するにはまだ何かが不足しているように思われる。それは、非線形な性質の測定で得られる何かだと考えるのが自然であろう。

上記の混ぜる等の操作から感じ取れるものは、動的と静的なものが混じり合った状態での感覚であると言える。すると、レオロジー測定的には、せん断流動下で動的粘弾性挙動を測ることがより実際に近い測定法になる。この方法で得られるデータは、Cox-Merz 則で云うせん断速度と角周波数の同一性とは異なるせん断流動と振動応答の関わりを示すと考えられ、新しい評価軸となると期待できる。ここでは、せん断流動下の動的粘弾性測定法を市販のヨーグルトで試し、どの様に解析すれば感触の評価に使える新しい手法になり得るのかを検討してみた。

２．実験方法

動的粘弾性測定に定常流動を重畳し、流速を変化させて粘弾性測定を行う。今回、得られた剛性率を、定常流を加えない測定で得た剛性率で除してその比を見ることにした。以下では、貯蔵剛性率 G’、損失剛性率 G”、及び、複素剛性率 G^*の比を、それぞれ G’r, G”r, G^*r と表記する。これらの測定では、各重畳定常流速度毎に非重畳測定を行うことにした。全体の測定ルーチンでは、歪み振幅依存性、周波数依存性をまず測定し、その後このせん断流動下の動的粘弾性測定を行い、最後に定常流粘度測定を行う手順とした。

測定周波数は 10 rad/s、定常流速は 0.2～13 s^{-1} で 2 倍刻みの測定とした。

試料のヨーグルトは、市販品 5 種類（これらを M, Y, K, F, C と表記する）を購入して使用した。

３．実験結果

ヨーグルトは半固体状でサンプリング時や定常流動等の測定時にその構造が壊れ、安定した測定値を得るのが難しい。これを上記で示した比、G’r, G”r, G^*r とすることで改善できる。この中で G^*r が最も分かりやすく、基本的に定常流粘度測定を行った後の２回目の測定結果を Fig.1 に示す。この図から、試料 M と K は、せん断速度に敏感で値の低下が大きく、試料 Y と C は値の低下が緩やかであることが分かる。試料 F は、感触が明確に異なるヨーグルトであるが、特に最初の測定（F1）で、最大のせん断速度で G^*r の大きさが目を引く。

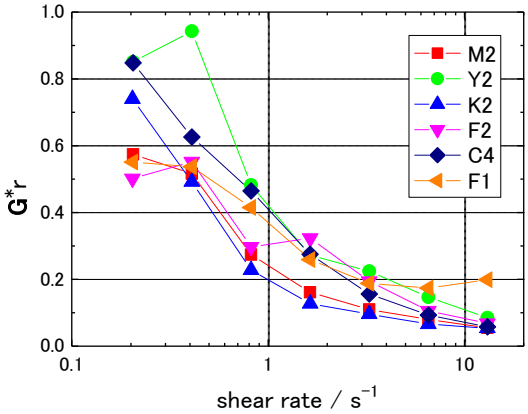


Fig.1 Degradation ratio of complex modulus, G^*r; the number following the sample name characters indicates the run number of measurement.

４．考察

Y と C のヨーグルトは M と K に比べてポッテリ感を持っている。単純な定常の粘度測定では判別しづらかったのであるが、図では区別ができている様に見える。せん断流動で粘弾性応答が低下しないということがこの感触の元になっている、といった議論が可能で、この手法は感触評価の指標になり得るのではないかと思われる。

５．結言

食品等の複雑な物質は、レオロジー測定を解析的に扱うことは困難で、必要な評価軸と一致させる手法が重要である。今回の手法についても、個々の対象が必要とする評価軸に合わせた解析方法を開発してゆくことが課題となる。

多糖類溶液の伸長粘度と食感の相関

○柴田章吾*，中野浩輔*，中馬誠*，船見孝博*
＊ 三栄源エフ・エフ・アイ株式会社 [〒561-8588　大阪府豊中市三和町 1-1-11]

１．緒言

液状食品の食感を表す指標として，試料をせん断ずり変形させたときの応力応答から得られる定常流粘性や動的粘弾性などのレオロジーパラメータが使われることが多い．液状食品における重要な食感として，咽頭相が感じる「まとまり感」や「付着感」があるが，船見らはキサンタンガムやローカストビーンガム溶液の食感とせん断ずり流動レオロジーとの関連を調べ，付着性はレオロジーと一定の相関がみられるがまとまり感には有意な相関がないことを確認した[1]．この理由として喉を流れる液体の流動がせん断ずり流動ではなく伸長流動的な挙動をしている可能性が考えられる．近年，伸長流動時のレオロジーが測定できる機器が開発され，簡便な測定が可能になってきているが，多糖類の伸長粘度と食感の関連を詳細に調べた研究は少ない．本研究では，様々な濃度のローカストビーンガムおよびキサンタンガム溶液の伸張流動レオロジーを測定し，それらの流動特性を確認するとともに食感との相関を確認した．

２．実験方法

試料: 試料として 0.2%, 0.4%, 0.6%, 0.8%, 1.0% キサンタンガム溶液, 0.4%, 0.5%, 0.55%, 0.65%, 0.7%ローカストビーンガム水溶液を用いた．

伸長粘度測定: 伸張粘度の測定には HAAKE CaBER 1(Thermo Fisher Scientific 社)を使用した．試料をギャップ 1 mm で平行に配置した直径 4 mm の平板プランジャーの間に挟むように配置し，上部のプランジャーを瞬間的（50 ms）に 4.2 mm 引き上げた際の試料直径の変化から伸長粘度を測定した．測定は 20 ℃で実施した．

官能評価: 官能評価は既報の方法で行った[1]．平均年齢 29.6 歳の成人男性 8 人を対象に, 20 ℃の試料を 10 mL 飲み込んだときのまとまり感(Cohesiveness)と凝集性(Adhesiveness)の絶対評価値を VAS 法で評価させた．

３．実験結果

各試料の伸張粘度の伸長歪依存性を解析すると伸長歪 2～4 に伸長粘度が大きく上昇および下降する領域があり，その後再び上昇する傾向が見られた．この伸長歪 2～4 における伸長粘度の上昇は，まとまりがよい食感であると評価された高濃度のキサンタンガム溶液においてより顕著だった．また，伸長歪 2～4 における最大の伸長粘度と官能評価による Cohesiveness には高い正の相関（r=0.935）がみられた（Fig. 1）．

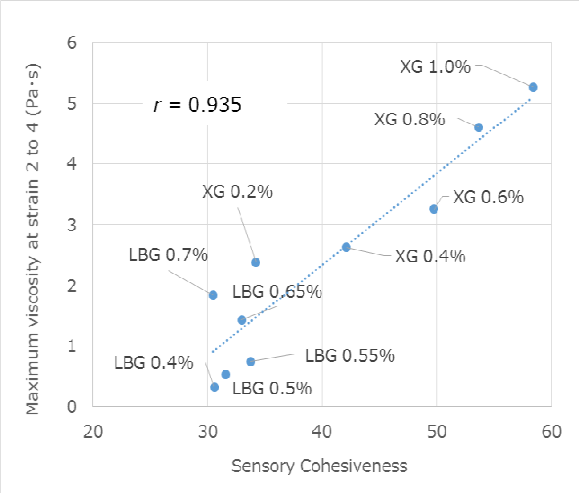


Fig. 1 Correlation of extensional viscosity and sensory evaluation (Cohesiveness).

４．考察

CaBER1 を用いた伸長粘度測定において，プランジャーによる引き上げ直後に，伸長流動速度が低下するが，これが伸長粘度の上昇として観測される．ヒトの嚥下時において，舌で咽頭部に送り込み（伸長歪の増加に相当）直後に流動性が大きく低下する試料のほうがよりまとまって流動すると感じられているのではないかと考えられる．

５．結言

伸長流動から得られるレオロジーパラメータによってずりせん断流動では評価の難しかった食感を評価しうる可能性が示唆された．

文　献

1) Funami, T. et al: *In vivo* measurement of swallowing by monitoring thyroid cartilage movement in healthy subjects using thickened liquid samples and its comparison with sensory evaluation. J Texture Stud, 48, 494-506, 2017.

ヒスチジンによるアクトミオシン加熱ゲル形成の抑制について

早川徹*，窪野佑*，若松純一*，玖村朗人*
＊ 北海道大学大学院農学研究院　畜産科学分野 [〒060-8589　札幌市北区北 9 条西 9 丁目]

１．緒言

ハムやソーセージなどの食肉加工品の独特の食感は，結着性と保水性に大きく依存してる．これらの性質の発現には，原料である食肉に含まれるタンパク質の加熱によるゲル形成が必須であることがわかっている．中でも，ミオシンおよびミオシンとアクチンの複合体であるアクトミオシンの加熱ゲル形成の寄与が大きいとされている．

これまでに私たちは，ミオシンの加熱ゲル形成能が，アミノ酸の一種であるヒスチジン（His）の添加によって著しく損なわれること, His により加熱に伴う動的粘弾性のプロファイルが大きく変化することを報告した[1)]．これらの変化は，His の存在によりミオシン頭部間の凝集反応が抑制されたことが原因であると考えられた[2)]. しかしながら，食肉中のミオシンの多くはアクチンと結合し，アクトミオシンとして存在している．つまり，上述の His の作用を食肉加工に応用するためには，アクトミオシンの加熱特性における His の影響について検討する必要がある．

そこで本研究では, His 存在下におけるアクトミオシンの加熱に伴う分子性状の変化について検討した．

２．実験方法

本研究で用いたアクトミオシンは、ニワトリ浅胸筋から常法により調製した．なお，本研究は，「国立大学法人北海道大学動物実験に関する規定」に基づき，動物実験委員会の承認を得て実施された．調製したアクトミオシンは，His を含む低塩濃度溶液（1 mM KCl，5 mM His，pH 7.0）に対して透析した．透析後の内液を試験管に移し，各温度に設定した恒温槽にて 10 分間加熱した. 加熱後の試料を以降の実験に供した.

表面疎水性は，疎水環境下で蛍光強度が著しく増大するアニリノナフタレンスルホン酸（ANS）を蛍光プローブとして用いることで測定した．アクトミオシン試料に ANS を添加し，蛍光強度（Em 380 nm, Ex 475 nm）を測定し評価した．平均粒子径およびゼータ電位は, ゼータ電位・粒度分布測定装置（Beckman Coulter, Delsa Nano HC）により測定した.

３．実験結果

加熱したアクトミオシンの表面疎水性は，加熱温度の上昇とともに増大した. His を含まない場合では 40℃から 60℃にかけて大幅に増大したのに対し，His を含む場合 50℃での増大幅は小さく，60℃で大きく増大した.

アクトミオシンの加熱に伴う平均粒子径は，His を含まない場合は 60℃以上の加熱で有意に大きくなったのに対し，His を含む場合では 70℃までの加熱による変化はなかった．また，ゼータ電位については, His の存在による絶対値の増大が見られたものの, 加熱に伴う値の変化は見られなかった.

４．考察

アクトミオシンの加熱ゲル形成は，タンパク質分子間の疎水結合が一因であると考えられている．これは，タンパク質の加熱変性に伴う表面疎水性が増大によるものである．つまり，本研究の結果は, His を含む場合では加熱変性が抑えられ, 疎水結合も抑制されたためにゲル形成能が低下したと考えられる．また, His により表面電荷が大きくなり，分子間に働く引力が弱まったと考えられ，このことが大きな凝集体の形成阻害をもたらし，結果として加熱ゲル形成能の低下につながったと考えられる．これらの結果は，先行研究における動的粘弾性の加熱に伴う上昇の抑制や形態観察の結果とも一致している.

５．結言

His によるアクトミオシンの加熱ゲル形成抑制作用は, 加熱によるタンパク質分子の変性および凝集を His が抑えたことによるものであることが明らかとなった.

文　献

1) Hayakawa, T., Yoshida, Y., Yasui, M., Ito,T., Iwasaki, T., Wakamatsu, J., Hattori, A. and Nishimura, T.: Heat-induced gelation of myosin in a low ionic strength solution containing-histidine. Meat Sci., **90**, 77-80, 2012.
2) Hayakawa, T., Yoshida, Y., Yasui, M., Ito, T., Wakamatsu, J., Hattori, A. and Nishimura, T.: Role of heavy meromyosin in heat-induced gelation in low ionic strength solution containing L-histidine. J., Food Sci., **80**, C1641-C1645, 2015.

食品の形状を食感に基づいて判断できるか?

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]
e-mail: takemasa@physics.soft-matter.org

１．緒言　食品は生物生存の基盤である。健康維持のための免疫賦活効果や嗜好性などに代表される、栄養摂取以外の機能も重要で、特に我々人類は食のおいしさは、文化に発展させるほど重要である。おいしさは、甘味、塩味など舌で感じる味や、匂い物質など、受容体に結合する分子に起因するフレーバーと、食感であるテクスチャーに代表されるが、後者が６割超を占めるとされる。食は多くの場合、天然物の構造を活かして構成される。例えば、植物組織、動物の筋肉組織にみられる分子の配向、結晶構造や、自己組織化による高次の階層構造などは、大変形に対して各々の構造を反映した特徴的な力学応答を示す。テクスチャーの多様性はこれらの生体高分子間の階層構造と、分子間の相互作用に起因する。この意味で食感は、力学的刺激応答を通して生体の多様な構造を判別する、バイオレロジーの一大分野であり、それらを応用して、広く食品の付加価値や食文化として産業や人間社会として広く利用されているともいえる。本研究では、食感に基づいて食品の形状を判別可能かどうかなど、上記のような不均一性を各論や人為的な考慮が不要な機械学習を用いた自動解析法確立による解決に取り組んでいる。

２.実験

食品圧縮試験を、形状が異なる一連の食品に対して計 2000 回程度実施し、そのテクスチャープロファイルから、食品を判別可能かどうか、マルチレイヤーパーセプトロンに基づいた機械学習により判定を行った。

３.結果と考察

人間は多少外形が異なっていても、同一材料、製法であれば食感が異なるとは認識せず、同一の食品の多様性であると認識する。本研究では、材料が同一でも試験片ごとに形状が異なる食品を用いて食品圧縮試験を行った。

製法が異なるポテトチップスでは、約８０％程度の確度で、いずれの商品であるかを判別することが可能であった。ジャガイモをそのまま切断して揚げる製法のポテトチップスでは、一枚ごとにまがり具合いなど形状が異なるが、その場合でも形状に左右されずに、商品(≒製法)を見分ける事ができた。一方、形状が一つずつ異なるスナック菓子として「おっとっと」を用いて同様の試験と解析を行った結果、７０％程度の確度で、食感に基づいて食品の形状を判別することに成功した。

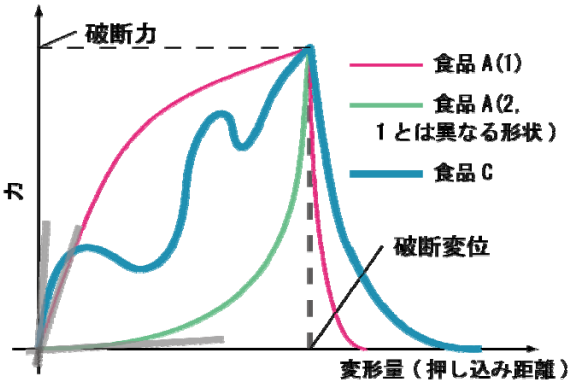


Fig.1　食品ごとに異なる、圧縮試験結果例。食感を反映して、破断力や変形量が異なる。また破断に至る経路が食感、また食品形状を反映する。

食感を物性測定としてとらえる場合、複数の困難が伴い、測定や解析が容易ではなかった。(1) 食品は本質的に不均一構造を持つ天然物から構成されている。前述のような分子の配向によるミクロな構造異方性だけでなく、異なる材料を、異なる大きさにカットして混合して利用するという観点でも、階層的な不均一性を持っていたことが、圧縮試験結果の解析が困難である理由であると考えられた。(2) 口腔内では食品を咀嚼する際、大変形、つまり非線形レオロジーが食品物性の主となる。大変形時は破断を伴うことが多く、破断後は材料試験としては複数の試験片を同時に圧縮することになる。材料試験一般ではこの領域は解析は困難であり特に食品では議論は少なかった。

本研究により、機械学習を応用することで不均一構造を持つ複雑な食品に対しても、また試験片ごとに形状が異なっていても、同種の食品を食感に基づいて判別することは十分に可能であり、一部では人間以上となることも期待された。

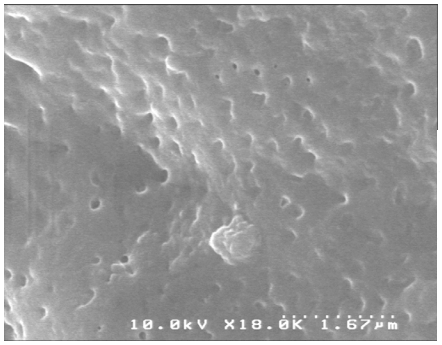
要旨

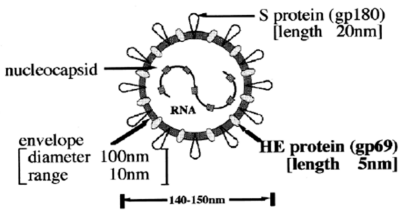
OS8

レオロジー一般・その他

トンボ卵ガラス様膜を介する呼吸機能の検討
更紗ヤンマ卵はガラス様膜を介して、水中で呼吸し成長する。

小山富康、高野広子、横山 透　(元北海道大学)





電子顕微鏡像ガラス様膜一例

１．緒言

トンボの卵や幼虫は多孔性ガラス様膜を介して、水中の溶存酸素を取り込み、二酸化炭素を放出しながら成長する。更紗ヤンマは、山中の小さい清流に産卵する。本研究では呼吸運動を行うことも出来ないトンボ卵の、ガラス様膜を介する究極の簡素な呼吸器官の構造と機能の解明を目指して、走査電子顕微鏡により観察した。多数の超微小孔がガラス様膜に貫通していた。微小貫通構造を観察し、呼吸孔等を計数した。結果は平均値±SD で評価して、下記のようになった。

２．方法

北海道大学医学部に設置されている走査電顕装置を借用した。高野が操作して脱皮殻のガラス様膜を写真撮影した。
試料としては貴種、更紗ヤンマの卵の脱皮殻を用いた。この種の幼虫は清浄な横山家の汲み上げ井戸水を用いて飼育し、適時換水して、羽化まで育て上げた。成虫が清浄な木片などに産み付けた卵を最終段階まで育て、脱皮羽化後の羽化殻を走査電顕により小山が随時検鏡・計数した。

３．結果と考察

乾燥脱皮殻のガラス様膜の呼吸孔の平均直径は、74.7±61.3 nm, 硝子様膜小孔総断面積 4380±3555nm^2、硝子様膜小孔の１卵当りの呼吸孔数の総平均値は 4.16±1.3 pores/μ㎡であった。
呼吸孔のサイズが、目下話題となり、世界経済を騒がせているコロナビールスの直径よりも小さいことは真に興味深い。野生の病原体の侵入を防ごうという天の配慮かとも感じられる。

４．結語

硝子様膜の処々に形成された多くの蜻蛉卵の呼吸孔の直径は平均 75nm であり、コロナヴィールスより少し小さい。外敵の多い野生に於いて種の健康を保つための天然の工夫が備わっているのかも知れない。

５．参考文献

１．Ar　A and Rahn H (1985) Pores in avian eggshells: Gas conductance, gas exchange and embryonic Growth rate. Respiration Physiology 61. 1-20.
2. Hinton HE (1981) Biology of insect eggs. Pergamon Press. Vol. 1 p.95
3. Truemann JWH (1991) Egg chorionic structures in cordulidae and libelluridae (anisoptera). Odonatrogia 20(4), 441-452
4. Tullett SG and Board RG (1977) Determinants of avian eggshell porosity. J. Zool. London, 183. 203-211.
5. Koyama T, Takano H, Yokoyama T. (2011) Micropores in the vitteline layer of the eggs of the dragonfly Oligoaeshna pryeri: A preliminary observation from the view point of oxygen uptake.　Springerlink 2011, xxxII p307-310.

要旨

ポスター発表

微小正方形管内流れにおける赤血球の断面内分布-硬化度の影響-

田中沙織*，板野智昭*，関眞佐子*,**
*関西大学大学院　理工学研究科 [〒564-8680 大阪府吹田市山手町 3-3-35]
**大阪大学大学院　基礎工学研究科

１．緒言

微小血管内の血液流れにおいて，赤血球は管壁から遠ざかる向きに移動して中心付近に多く分布することが知られている．これは赤血球の軸集中現象 [1]と呼ばれており，赤血球の変形性に起因すると考えられている．本研究では，薬品によって変形性を様々な程度に変化させた赤血球を含む希薄サスペンションを微小正方形管に流し込み，下流断面での赤血球分布を計測することで，赤血球の変形性と分布との関係を調べた．

また，赤血球は円盤状であることから，浮遊粒子の形状による影響を調べるために，剛体粒子(球状，雪だるま状)を用いた実験も行い，粒子分布の比較を行った．

２．実験方法

赤血球は，ヒト全血を遠心分離することで得た正常赤血球と，正常赤血球をグルタルアルデヒド(GA)水溶液(濃度 20ppm~4000ppm)に 1 時間浸漬することで作製した硬化赤血球を用いた．また，剛体粒子は球状(直径 5μm)と雪だるま状(5.1×7.7μm)のポリスチレン製粒子を用いた．

媒質はリン酸緩衝生理食塩水に，デキストラン 40(10wt%)とウシ血清アルブミン(1wt%)を添加した溶液(密度:1050 kg/m^3, 粘度:5.10×10^{-3} Pa·s)を使用し，ここに赤血球または粒子を体積分率 0.005 ~ 0.01%となるように加えて試料とした．

シリンジポンプの陽圧によって，上記の試料を 1 辺が 50μm の正方形断面をもつ長さ 100mm のガラス管に流し込み，流路出口を正面から高速度カメラで撮影した．流量はレイノルズ数(*Re*)が *Re*=0.01～1 となるように設定した．得られた画像を画像解析ソフト ImageJ に取り込み，浮遊粒子の重心位置を求めて粒子分布図を得た．

３．実験結果及び考察

得られた赤血球分布の例を図 1 に示す．*Re*=0.01 は流速が遅く慣性の影響がほとんどない場合であり，*Re*=1 は少し流速が大きくなって慣性の影響が現れる場合である．正常赤血球では図 1 (a)に示すように *Re*=0.01 では軸集中がみられたが，*Re*=1 では対角線上の 4 点に集まる様子が確認できた．赤血球を硬化させると，GA 濃度が 40ppm 以上では図 1 (b)左図のように低レイノルズ数であるほど全体に広がるように分散し，*Re*=1 では環状の分布となり，硬化による大きな変化が見られた．

一方，剛体粒子を浮遊させた場合には形状による粒子分布の差はほとんどなく，硬化赤血球に近い分布となった．このことから，粒子分布は浮遊粒子の形状より変形性に大きく依存することが確認された．なお，図 1 (b) 右図のような環状の分布は，円管内流れで報告されている Segre-Silberberg 環 [2]に相当し，慣性に起因するものと考えられる [3]．

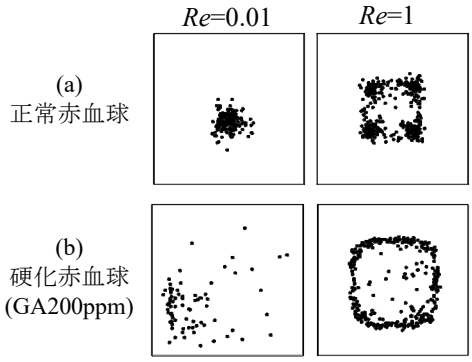


Fig. 1 正方形管流れ中の赤血球の断面内分布

４．結言

赤血球や剛体粒子の希薄なサスペンションを微小正方形管に流し込み，下流断面における浮遊粒子の分布を調べた．正常赤血球では *Re*=0.01 で軸集中，*Re*=1 では対角線上 4 点に集中した．浮遊粒子を硬化赤血球と剛体粒子とした際には，低レイノルズ数で断面内全体に広がる分布となり，*Re*=1 では慣性に起因する環状の分布が見られた．以上のことから，正常赤血球の場合に見られた各点へ集中した分布が変形性によるものであることが確認できた．

謝　辞

本研究の一部は JSPS 科研費 17H03176 および関西大学先端科学技術推進機構研究グループの助成を受けた．

文　献

1) Sasaki, T., Seki, J., Itano, T. & Sugihara-Seki, M.: Biorheology 54, 153-165, 2018.
2) Segre, G. & Silberberg, A.: J. Fluid Mech 14, 136-157, 1962.
3) Shichi, H., Yamashita, H., Seki, J., Itano, T. & Sugihara-Seki, M.: Phys Rev Fluids 2, 044201, 2017.

心臓進化の観点からみたカエル心室の受動的伸展性
—ラット・カメとの比較—

伊藤愛*，杉田修啓*，中村匡徳*，氏原嘉洋*
*名古屋工業大学　大学院工学研究科 [〒466-8555　名古屋市昭和区御器所町]

１．緒言

脊椎動物の心臓は，進化の過程で 1 心室から 2 心室へとマクロな構造が大きく変化してきたことが知られている．しかしながら，その機能の変化については知見が少ない．我々は心臓の機能の中でも，近年増加している拡張機能障害に関わる心室の受動的伸展性に着目した．心室の受動的伸展性は，心筋細胞の収縮ユニットであるサルコメア内のコネクチン分子の影響が大きいと考えられている [1]．ラット (2 心室) の左心室は，カメ (1 心室) の心室よりも，受動的伸展性がコネクチン分子レベルで低いことから [2]，心室数の増加に伴い受動的伸展性が低下している可能性がある．そこで本研究では，心室数の増加による心室の受動的伸展性の変化を明らかにするために，哺乳類や爬虫類の共通祖先で 1 心室心臓を持つ両生類の心室の受動的伸展性を調べ，先行研究 [2]と比較した．

２．実験方法

２・１　心室の受動的伸展性の評価 [2]

左大動脈に注射針を挿入したアフリカツメガエルの心臓を単離し，構築した装置 (図 1) に取付けた．シリンジポンプで心筋保護液を心室に注入し，心室内圧の変化を圧力トランスデューサとひずみアンプで測定した．大きさの異なる心室の受動的伸展性を比較するために，心室容積を心室質量で正規化し，圧-正規化容積関係を求めた．

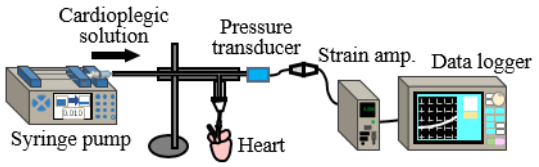


Fig. 1 An experimental system to analyze the passive mechanical property of frog ventricle.

２・２　サルコメア長の評価

倒立顕微鏡でカエル，カメ，ラットの単離心筋細胞を観察した．撮影画像から，ImageJ 1.52s のプラグイン SarcOptiM[3]でサルコメア長を測定した．

３．実験結果および考察

カエルの心室の圧-正規化容積曲線は，下に凸の非線形な挙動を示し (図 2)，先行研究 [2]のカメとラットの心室の挙動と定性的に一致した．同じ圧力で比較すると，カエルの正規化容積は，カメと同程度で，ラットよりも著しく大きかった．このことから，カエルとカメの受動的伸展性は，ラットよりも高いことがわかった．

カエル，カメ，ラットの心室から心筋細胞を単離したところ，サルコメアの縞模様が観察された (図 3)．カエルのサルコメア長は，カメと同程度であり，ラットの 1.3 倍であった．サルコメア長は，コネクチンの全長および弾性領域の長さと相関があると報告されている [2,4]．脊椎動物のコネクチンの弾性領域の組成は類似していることから [2,4]，その剛性は領域の長さに反比例すると考えられる．したがって，両生類のカエルと爬虫類のカメのコネクチンは，哺乳類のラットよりも剛性が高い可能性が示唆された．

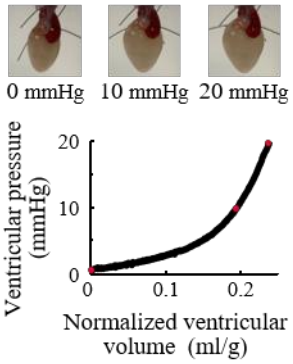


Fig. 2 Passive mechanical property of frog ventricle

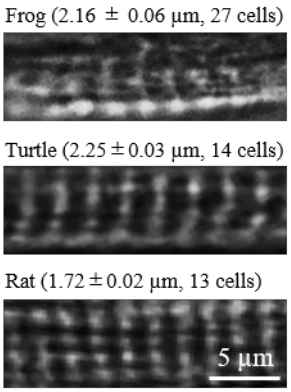


Fig. 3 Sarcomere length

４．結言

カエル心室の受動的伸展性は，カメと同程度であり，ラットよりも著しく高かった．1 心室から 2 心室へと心室の数が増える進化の過程で，分子レベルで受動的伸展性が制限された可能性が示唆された．

謝辞

本研究の一部は，JSPS 科研費 (17H04740, 19K22962) の助成を受けた．記して謝意を表する．

文献

1) Granzier, H. L. and Irving, T. C., Biophysical Journal, 68(3), 1027-1044, 1995
2) Honda, T. et al., Kawasaki Medical Journal, 44(1), 1-17, 2018
3) Pasqualin, C. et al., American Journal of Physiology-Cell Physiology, 311(2), C277-283, 2016
4) Hanashima, A. et al., Gene, 596(5), 19-26, 2017

二重らせん多糖ザンサン水溶液の異方性ゲル化

入江昇陽*，仁科あかり*，吉場一真*，山本隆夫*，土橋敏明*
＊ 群馬大学大学院　理工学府分子科学部門 [〒376-8515　群馬県桐生市天神町 1-5-1]

１．緒言

いくつかの高分子ではその溶液を架橋剤溶液に浸すと光学的異方性を持つゲルが形成されることが知られている[1]。この光学異方性は、架橋剤の拡散により高分子の主鎖が一方向に配向し、その後共有結合や水素結合などによって架橋されて生じると考えられる。水溶性の天然多糖ザンサンは、塩溶液中では二重らせん構造を形成し、剛直な棒状高分子の形態で存在する。この剛直性のため、濃厚溶液はリオトロピック液晶を発現する。ザンサンの分岐側鎖のカルボキシル基により、水溶液中では負電荷を帯びているため、金属多価カチオンによって架橋されゲル化すると考えられる。本研究では、ザンサン溶液と塩化アルミニウム（$AlCl_3$）水溶液を接触させることによる異方性ゲルの形成について検討し、そのゲル化ダイナミクスを調査することを目的とした。

２．実験方法

ザンサン（Kelco Co., CG-T）を NaCl 水溶液に溶かした 1 wt%溶液を調製した。溶液中の NaCl 濃度は 0.01 M～1.0 M の範囲で調製した。透析外液に 0.05 M $AlCl_3$ 水溶液を用いた。ザンサン溶液を、上下面が半径Rの円盤状で側面が半透膜である円筒状セルに充填した。$AlCl_3$ 水溶液に浸した後、デジタルカメラによりインターバル撮影した。得られた画像からゲル幅xを求めた。作製したザンサンゲルをクロスニコル条件で観察し、ザンサン分子の配向状態を調べた。

３．結果と考察

ザンサン溶液と $AlCl_3$ 水溶液を接触させると、2 つの溶液の接触界面から白濁したゲル層が出現した。その後ゲル化は中心に向かって進行し、最終的にはセル中の溶液全体がゲル化した。ゲル幅xを $AlCl_3$ 水溶液との接触後のゲル化時間t に対して Fig.1 にプロットした。ザンサン溶液中の[NaCl]< 0.3 M の時、途中でゲルの成長速度が緩やかになる。[NaCl]>0.3 M の時、ゲルの成長速度は単調に増加した。一方で、ゲル化の完了時間は NaCl 濃度の増加に伴い遅くなる。ザンサン- $AlCl_3$ 水溶液におけるゲル化の初期過程について、セル半径Rでスケールしたゲル幅$y = x/R$をスケールした時間$t' = t/R^2$に対してプロットし、Fig. 2 に示す。NaCl 濃度が 0.02 M～0.20 M の範囲では、初期過程は直線関係により表された。このことは、ザンサン溶液のゲル化が Al^{3+}イオンの拡散に支配されていることを意味する。

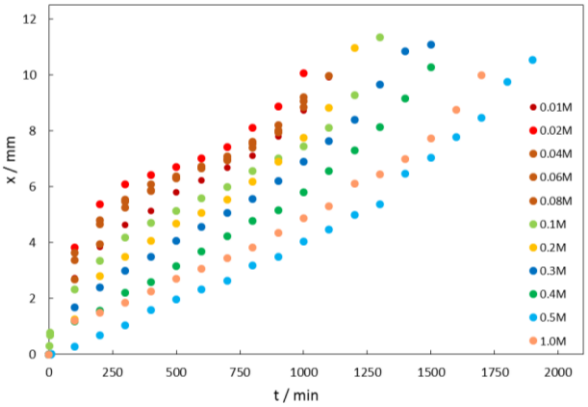


Fig. 1　1 wt%ザンサン溶液に対する各塩化ナトリウム濃度におけるゲル幅 x の時間依存性（0.05 M $AlCl_3$）

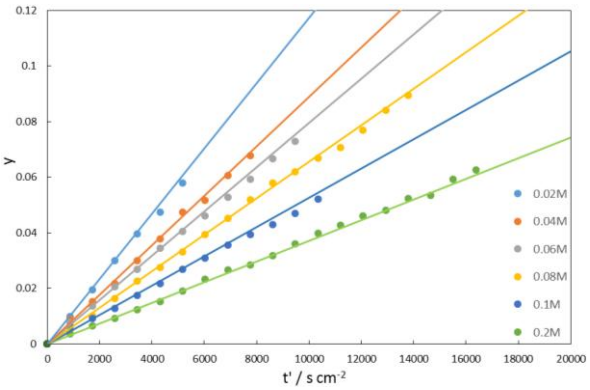


Fig. 2　ゲル化の初期過程においてスケーリングしたゲル幅 y のプロット

なお、作製した全ての塩化ナトリウム濃度においてザンサンゲルは複屈折性を示し、ザンサン分子が配向していることが分かった。また、1/4 波長板での観察から、ゲルの辺縁部と中心部ではザンサン分子の配向方向が 90°異なっていることが示された。

４．結言

ザンサンの配向ゲル化は、初期過程において、Al^{3+}イオンの拡散に支配される。ザンサンの二重らせんは NaCl 濃度に関係なく接触ゲル化により配向するが、配向主軸はゲル化の途中で 90°変化する。

文　献

1） Dobashi, T. Furusawa, K. Kita, E. Minamisawa, Y. Yamamoto, T. Langmuir, 23, 1303-1306 (2007).

脳脊髄液流動を想定した非平衡空間における アミロイドβペプチドと脂質膜との相互作用

飯田茜*，鵜浦啓**，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，アミロイドβ (Aβ) ペプチドが脳細胞表面で線維化・凝集することが知られている認知症の一種である．原因タンパク質である Aβ が脳内で生成され AD の特徴であるアミロイド斑を形成するまでの一連の事象は，脳間質液（ISF）の流動下で進行する．そのため脳内では，流動のせん断力による Aβ 分子内・分子間構造変化が線維化速度を変化させ，更に，Aβ モノマー濃度が線維化の進行度合いによらず常に一定に保たれるといった 2 つの特殊条件が成立する．そのため，ISF 流動の力学的作用を考慮し，かつ，線維化・凝集が進行してもモノマー濃度を一定に保つ実験系での Aβ と細胞膜との相互作用の検証が AD 解明に必要となる．しかしながら，既報の多くはこの二つの条件を満たさないシャーレなどの閉鎖静置系において行われてきた．近年では，攪拌を加えた閉鎖攪拌系が確立され，二つの条件のうちの力学的作用を考慮した系での検証も行われてきたが，それでも閉鎖平衡系であるため後者の条件は満たさない．そこで本研究では，生体内を模倣し二つの条件を満たした非平衡開放系かつ連続的流動条件での実験系を構築し，非平衡流動下での Aβ の凝集挙動及び細胞膜との相互作用を観察し，AD 病理機構の解明を目指した．

２．実験方法

マイクロ流路とシリンジを用いて非平衡開放系での連続流動が可能な実験系を構築した．DMPC 二重膜製膜後，Aβ モノマー溶液で満たした．その後，10 μm/s の流速で 24 時間 Aβ モノマー溶液の流入を続けた動的条件下，Aβ モノマー溶液で満たした後に溶液供給を停止させた閉鎖系での静的条件下にて， Aβ と DMPC 膜との相互作用を蛍光顕微鏡で観察した．

３．実験結果

チオフラビン T によりアミロイド線維を青色に染色したところ，静的条件では 1 μm 未満の微視的な凝集体が観察された（図 1A）．また、脂質膜の蛍光強度が減少したため，Aβ との相互作用により脂質膜の薄化及びポア形成が誘起されたことが示唆される．一方，動的条件では，Aβ と脂質膜が混在した 20 μm 程の巨視的凝集体が観察された(図 1B)．また，脂質膜の蛍光強度が広範囲に渡って減少している部分が見られたことから，微視的だけではなく巨視的な膜崩壊が生じていることが明らかとなった．以上の結果から，流動が凝集体の形成を促進し，巨視的な膜崩壊を誘起していると考えられる．

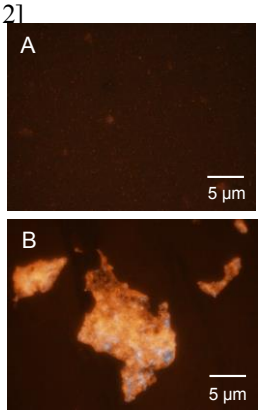


図 1. (A) 静的条件, (B) 動的条件における蛍光顕微鏡観察結果.

４．考察

観察された Aβ-脂質複合体は，detergent 効果により細胞膜表面にて形成した水溶性ミセルであり，この水溶性ミセルに流動作用が働くことで巨視的な凝集体が形成することが推測された．すなわち，水溶性ミセルに媒体流動による力学的作用が生じることで，細胞膜表面での吸着・脱離を繰り返しながら凝集し，巨視的な凝集体へと成長する．最終的に細胞膜表面に吸着･不動化した凝集体が AD の特徴であるアミロイド斑となる機構が提案される．このように，流動効果が凝集体の形成ならびに膜崩壊に対して大きな作用をもたらすことが明らかとなった．

５．結言

本研究結果より，非平衡流動がアミロイド斑類似の凝集体形成を促進する機構が示唆された．すなわち，脳内の ISF 流動がアミロイド斑形成に重要な役割を担っており，一連の機構を解明するためには生体内の特殊条件を満たした非平衡流動を考慮する必要性が明らかとなった．今後は単分子観察を用いることで，より詳細な AD 病理の分子機構の提案を目指す．

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．

アミロース含量の異なる米粉ゲルの力学物性とナノ構造の相関

○岡部尚輝[1],大沼正人[1],金田勇[2],田中宏樹[2]
[1]北海道大学,[2]酪農学園大学

１．緒言

米粉はグルテンフリーのパンに使用されるなど,近年注目されている食材である。特に北海道で開発された高アミロース品種のキタミズホは高いゲル強度を示すことがわかっているが,その構造的な起源は未解明である。また,力学特性は食感に関連し,その経時変化は食品としての性能に直結する重要な課題である。そこで本研究では非破壊的にナノ構造が測定可能な X 線小角散乱(SAXS)測定と動的粘弾性測定を並行して行うことで,力学特性の差異についてその構造的起源を検討することを目的とした。

２．実験方法

試料はキタミズホを含むアミロース含量の異なる３種の米粉ゲルを用いた。SAXS 測定は Mo 線源-ラボ X 線小角散乱装置（リガク NanoViewer）を用いて測定を行った。動的粘弾性測定は回転式レオメータ（アントンパール MCR501）を使用して動的弾性率の周波数依存性測定を行った。以上の測定を試料調整製直後から最大 60 日後まで行った。

３．実験結果

3 品種の米粉ゲルに対する SAXS プロファイルを図 1 に示す。q=0.1～0.2nm^{-1} の領域で高アミロース品種の米粉ゲルのプロファイルが異なっている。この結果を楕円体の形状因子を用いて解析したところ,高アミロース品種のアスペクト比が他の品種と比較してアスペクト比が 2 倍以上であることがわかった。図２には高アミロース品種の平均粒径と Weak-gel model により得られたゲル強度の時間変化を示す。平均粒径は 33nm から 55nm に増大し,同時にゲル強度も上昇した。これらの結果から力学特性に見られた差異と同様に品種間の構造差は高アミロースで顕著であり,時間変化についても３種の中では高アミロースの構造変化がもっとも大きかった。以上の結果をもとに力学特性を説明可能なデンプンゲルの構造モデルについて議論する。

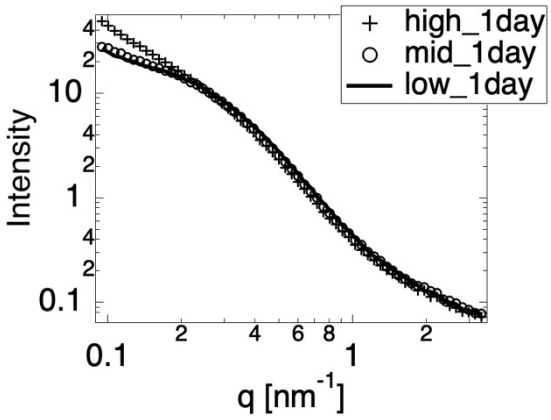


図１　アミロース含量の異なる３種の米粉ゲルの 1 日後 SAXS プロファイル

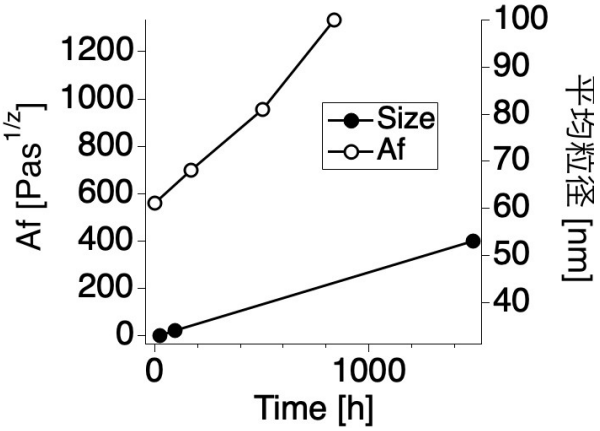


図２　キタミズホの力学特性と平均粒径の時間変化

謝　辞

本研究の指導教官である大沼正人教授および金田勇教授には多くの丁寧なご指導を賜りました。ここに深く感謝の意を表し、御礼申し上げます。

ニワトリ異常硬化胸肉の物性と組織化学的特徴

長谷川靖洋*，岩崎智仁*，細谷実里奈**，渡邉敬文**，川崎武志***
*酪農学園大学　食と健康学類 [〒069-8501　北海道江別市文京台 582]
**酪農学園大学　獣医学類[〒069-8501　北海道江別市文京台 582]
***人と鳥の健康研究所 [〒099-3119　北海道網走市鱒浦 2-7-1]

１．緒言

ニワトリの異常硬化胸肉（Wooden Breast，以下 WB）は，胸筋（浅胸筋）の全体または局所が異常硬化したもので，筋線維走行に沿った白色のスジ，表面の粘稠性滲出物，しばしば表層点状出血を認めるとされている [1]．現状，商品価値を失い廃棄されるため，業界での経済的損失も大きい．我々は，WB について，種々の組織化学的観察および電子顕微鏡観察を実施した．さらに，WB の物性測定を行い組織構造との関わりについて検討した．

２．実験方法

酪農学園大学フィールド教育センター実験鶏舎ならびに国内の養鶏場で 45-55 日齢まで飼育された ROSS308 系のニワトリ（ブロイラー，肉用鶏）から得た胸筋を試料とした．翼の挙上試験と胸部の触診により，WB の発現の有無を判別し、と殺後直ちに胸筋を摘出した．胸筋は常法に従って処理し，パラフィン切片試料，凍結切片試料，および電子顕微鏡観察用試料を作製した．組織観察は種々の組織化学的処理を施した組織標本を用いて実施した．凍結切片では，筋組織中の活性酸素種（ROS）と酸化ストレスマーカーであるリポフスチンの局在を調査した．ROS はアミノフェニル・フルオレセイン染色にて，リポフスチンはシュモール反応を用いて確認した．また，リポフスチンの自家蛍光像を撮像し，Image J を用いて蓄積量（% area）として定量した．電子顕微鏡試料から超薄切片を作製して透過型電子顕微鏡にて筋肉組織の微細形態を観察した．物性は剪断力価として屠殺後 8 時間以内に測定した．

３．実験結果

翼の挙上試験と触診により WB と判断されたニワトリの立位姿勢は前傾であり，歩行にも異常を認めた．また，WB の組織像は，筋線維の崩壊，筋線維間ならびに筋束間における結合組織の増生，炎症細胞浸潤が多数確認され，しばしば肉内結合組織に脂肪の蓄積も観察された． WB の剪断力価は正常胸肉に比べて有意に高い値を示した（$p<0.05$）．WB の ROS は筋線維間の細胞外基質領域に分布しており，崩壊した筋線維にも一部認められた．リポフスチンは，WB で多く蓄積しており（$p<0.05$），その顆粒の多くは筋線維間の細胞外基質領域や崩壊した筋線維に局在していた．胸筋の異なる部位における剪断力価とリポフスチン蓄積量を比較したところ，リポフスチンの多い部位と剪断力価との間に正の相関があることが明らかになった．

４．考察

食肉の硬さは筋肉内結合組織量が大きく影響し，結合組織が多いほど硬くなる傾向があることが知られている．WB では正常胸肉と比較して剪断力価が高く、結合組織の増加が認められる．特に筋周膜部分の筋肉内結合組織が著しく肥厚しており，このことが剪断力価の増大に強く関係していると考えられた．リポフスチンの蓄積量は WB の表層頭部側で著しく高く，合わせて同部位の剪断力価が最も高いことが明らかとなった．これまでに WB は，タンパク質酸化の指標である 3-メチル-ヒスチジン量や脂質酸化マーカーの TBARS 値が高値であると報告されている [2]．これらの報告と本研究で明らかになったリポフスチンの蓄積から，WB の発現に酸化ストレスの増大が影響していることが強く示唆された．今後は，酸化ストレスが増大する原因について調査し，WB の発現を低減化するための飼育手法についての研究を展開する予定である．

５．結言

本研究では，剪断力価と酸化ストレス（リポフスチンの蓄積量）の関係に正の相関があることを明らかにした．このことはニワトリ胸肉の異常硬化に酸化ストレスが関係していることを強く示唆している．

謝　辞

本研究の一部は， JSPS 科研費（JP17K08067），ならびに酪農学園大学共同研究費（2018-1）の助成を受けて実施したものです．

文　献

1) Sihvo, H. K., Immonen, K., and Puolanne, E., Myodegeneration with fibrosis and regeneration in the pectoralis major muscle of broilers. Vet. Pathol. **51,** 619-623, 2014.
2) Abasht, B., Mutryn, M.F., Michalek, R.D., Lee, W.R., Oxidative stress and metabolic perturbations in wooden breast disorder in chickens. PLoS One. **11**, 1-16, 2016.

ハイドロゲルによる３Ｄプリント食品の食感増強

渡邊健太*，武政誠*
＊ 東京電機大学大学院理工学研究科生命理工専攻　[〒350-0394　埼玉比企郡鳩山町石坂]

１．緒言　フードード３Ｄプリンタは、食品を立体的に造形する未来の食品加工技術として注目を集めている。しかし、現状は限られた食材しかフードインクとして出力できず、食品の見た目、食感を自在にプリントするまでには至っていない。

我々は、食品の食感を３Ｄプリントにより設計、再現することを目的に、フード３Ｄプリンタ及びフードインクの開発を行った。フード３Ｄプリントは、シリンジから材料（フードインク）を押し出し、積み重ねることで立体造形を行う。そのため、フードインクはシリンジから押し出し可能な流動性のある物性でなければならず、食感はペースト状の柔らかいものか、熱す、冷やす等で固めたものに限定される。そこで、プリント後にゲル化するハイドロゲルをフードインクの材料として用いることで、従来不可能であった食感の３Ｄプリントを試みた。また、ゼラチン等食用ゲル単体では高い破断力を得られないため、ゲル化材として、二種類ゲルの相乗作用によって強度が向上することで知られるダブルネットワーク(以下 DN と記す)構造を利用したフードインク開発を行った。

２．実験方法　可食材料を用いた DN ゲルとして報告[1]のあるアルギン酸ナトリウムとゼラチン混合系を材料として、フードインク化した際に、食感を有するのかを定量的に検討するため、圧縮試験機（YAMADEN　RE-3305S　RHEONER）によるゲルと食品の破断過程測定を行い、破断力を比較した。

DN ゲルは、材料となる二種類ゲルの混合比やゲル化させる順序によって力学特性が変化することが知られている。本研究で用いたアルギン酸ナトリウムとゼラチンの場合、ゼラチンを先行してゲル化させることで、アルギン酸ナトリウムを先行してゲル化させたものと比べて DN ゲルの弾性率が向上すると報告されているが[1]、混合比がゲルの力学特性に及ぼす影響は明らかになっていない。混合比によるゲル力学特性の変化を明らかにするため、混合比別にゲルの圧縮試験を行い、破断力を見積もった。また、鶏ささみ肉を試料として圧縮試験を行い、本研究ゲルと破断力を比較した。

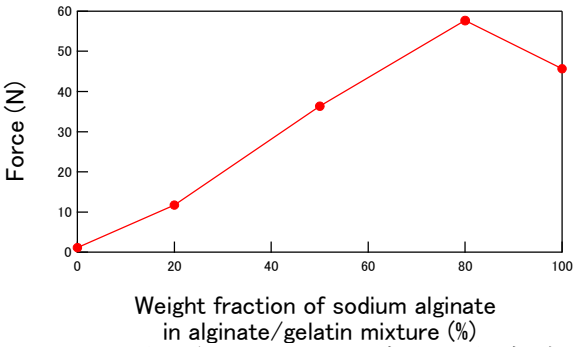


図 1　アルギン酸ナトリウム、ゼラチン混合ゲルの混合比別破断力比較

３．実験結果　アルギン酸ナトリウム、ゼラチン混合ゲルの破断力を混合比別に比較すると、重量比でアルギン酸ナトリウム：ゼラチン＝4：1 のものが最も破断力が高かった(図 1)。鶏ささみ肉は 30 N 付近で破断したあと、皮部分のみ破断せず、同じ圧縮条件で 80 N 付近まで力が上昇した。

４．考察　アルギン酸ナトリウム単体のゲルよりも混合ゲルの破断力が高かったため、アルギン酸ナトリウムとゼラチンの混合ゲルはダブルネットワークゲルとして機能した可能性がある。鶏ささみ肉の皮は破断に至らなかったものの、ささみ肉本体の破断力は 30 N 程度であった。アルギン酸・ゼラチン混合ゲルと比較すると、多くの条件、例えば大半の混合比において、またフードインク化して利用したアルギン酸－ゼラチンインクの出力後にゲル化させた出力物において鶏ささみ肉の破断力を上回る結果が得られた。つまり、アルギン酸－ゼラチン混合ゲルはフードインクとして鶏ささみ肉以上の破断力を有する食品を 3Dプリント可能であると考えられる。

５．結言　破断力はゼラチン－アルギン酸混合ゲルの方が鶏ささみ肉よりも大きかったため、アルギン酸・ゼラチン混合ゲルはフードインクとして肉と同程度の歯応えの食品造形を実現可能である。

文　献

(1) 古澤　他：アルギン酸 - ゼラチン混合ゲルの異方性ゲル化と力学特性　日本バイオレオロジー　33(2)：pp78，2019

混合流体分離デバイスを用いた環状オリゴ糖の熱泳動 2

竹前廣大 [1], 村野友哉 [1], 村岸優太 [2], 木村啓志 [2,3], 喜多理王 [1,3], 新屋敷直木 [1,3], 八木原晋 [1]
東海大学理学部物理学科 [1], 東海大学理学部工学部機械工学科 [2]
東海大学マイクロ・ナノ研究開発センター[3]
[〒259-1292 神奈川県平塚市北金目 4-1-1]

１．緒言

熱拡散現象の測定法として, OBD(Optical Beam Deflection)法やレーザー干渉法(TDFRS 法)などが挙げられる. 我々は、OBD 法や TDFRS 法では不可能な, 温度勾配によって形成された濃度勾配を維持したまま溶液の回収を可能とする混合流体分離デバイスを試作した 1). これまで, 混合流体離分デバイスの機能評価として環状オリゴ糖のメチル-β-シクロデキストリン(MβCD)を用いて分離研究が行われてきたが, MβCD のメチル化度の違いが分離後の濃度に影響を及ぼすことが示唆された [1]. そのため本研究では, MβCD のメチル化度の違いが熱拡散現象に与える影響を明らかにすることを目的とする. また, 混合流体離分デバイスを用いて, 異なるメチル化度の βCD を混ぜた三成分系水溶液に温度差を付与し, 濃度差を測定することで, 水素結合または疎水性の相互作用が熱拡散現象に与える影響について調べる.

２．実験方法

本研究で用いた 4 種類の βCD を表 1 に示す. 溶質に 4 種類の βCD, 溶媒に重水(MKCJ4205, Sigma-Aldrich)を用いて ^{1}H-NMR でメチル化度の評価をした. また溶質に 4 種類の βCD, 溶媒に超純水を用いて濃度 1.00　wt.%に調製し, 混合流体分離デバイスを用いて溶液に温度勾配を付与し濃厚層と希薄層をそれぞれ回収した. 設定温度差は 20.0℃（上層 35.0 ℃　下層 15.0 ℃）とした. 温度差付与時間を 3.0 min とするためポンプの流量を 44 μL/min とした. 回収した溶液の密度を密度計(DMA5000M, Anton paar)で測定し, 濃度を算出した. 濃度差は回収した上層部の溶液の濃度と下層部の溶液の濃度の差とした.

３．実験結果と考察

表 1 に, ^{1}H-NMR で得られた βCD のメチル化度を示す. 図 1 に, 混合流体分離デバイスに βCD(1,0wt %)を流した時, 得られた濃度差のメチル化度依存性を示す. メチル化度増加とともに線形的に濃度差も増加した. また, 生じる濃度差はメチル化度 17%付近で符号反転することから, メチル化度 0 %~17 %までは βCD が高温側に拡散し, メチル化度 17 %以降は βCD が低温側に拡散していることを確認した. 平均温度 25.0 ℃においてメチル化度 55 %の MβCD は低温側に拡散し, メチル化度 0 %βCD は高温側に拡散すると確認されている [2]. よって, 流路内で熱拡散現象による物質輸送が起こっていることが分かった. 発表では, 異なるメチル化度の βCD を混ぜた三成分系水溶液を用いた分離実験の結果から, 熱拡散現象に与える, 水素結合や疎水性の相互作用の影響について議論する.

表 1. ^{1}H-NMR 結果

試料	メチル化度 (%)	型番 メーカー
βCD	0	54YKH-NA 東京化成
MβCD	18	TWL2924 和光純薬
MβCD	55	M1356 東京化成
TriMβCD	100	BCCC3169 Sigma-Aldrich

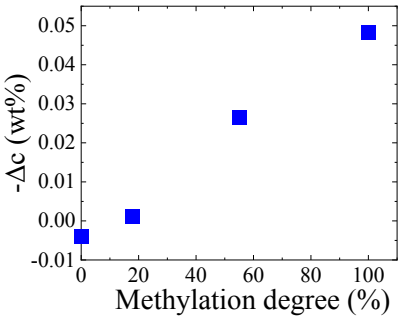


図 1, 混合流体分離デバイスに βCD(1.00 wt.%)を流した時, 得られた濃度差のメチル化度依存性. デバイスの平均温度 25.0 ℃

謝　辞

本研究は科研費 K7K021, 向科学技術振興財団, 東海大学連合後援会の支援を受けたものです。

文　献

1) S. Miyamoto, K. Eguchi, R. Kita. H. Kimura, 21st International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences, MicroTAS 2017, 1320-1321, 2020
2) K. Eguchi, D. Niether, S. Wiegand, and R. Kita, Eurropean Physical Journal E 39(9), 86, 2016.

温度勾配を駆動力としたミオイノシトールの拡散現象

福岡優斗[1]，太田剛[1]，前田晃作[2]，喜多理王[1, 3]，新屋敷直木[1]，八木原晋[1]
[1]東海大学理学部物理学科，[2]東海大学大学院総合理工学研究科総合理工学専攻，
[3]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

混合流体において温度勾配が存在すると，十分な時間経過の後，熱物質拡散により安定的な濃度勾配が形成される現象をソレー効果という．温度勾配によって形成された濃度勾配の大きさと向きを表すソレー係数によって特徴付けられる．本研究室で行われた，エチレングリコール類，クラウンエーテル類，グリセロールの水溶液におけるソレー効果の研究では，それらの構造の違いから水素結合が与えるソレー係数への影響が考察された．窒素や酸素など，電気陰性度の高い元素は水素結合のアクセプターとなりやすく，またそこに結合した水素原子はドナーとなりやすい．これを踏まえると，アクセプターはソレー係数および熱物質拡散係数の増加に寄与し，ドナーはソレー係数および熱物質拡散係数に減少に寄与していることが分かった.[1)] 今回注目したmyo-イノシトールは,9つあるイノシトールの立体異性体のひとつである．myo-イノシトールはその中で自然界に最も多く存在する．生体内においてmyo-イノシトールは浸透圧調整物質であり，他にも様々な機能を有している．構成原子は単糖(グルコース)と同じ$C_6H_{12}O_6$であるが，構造や生体内での働きは異なる．本研究の目的は，myo-イノシトールの熱拡散現象を調べ，単糖（グルコース）および，ソレー係数の測定が行われてきた物質との水酸基数の違いが熱物質拡散係数とソレー係数にどのように影響を与えるのか考察を深めることである．

２．実験方法

測定試料は1.0wt.%，3.0wt.%，4.0wt.%，5.0wt.%のmyo-イノシトール水溶液である．試料溶液の調製には全て超純水を用いた．アッベ屈折計を用いてこれらの水溶液の屈折率を測定することで，屈折率の濃度依存性を求めた．Optical Beam Diffraction 法は，測定試料に対し平行な向きでレーザーを照射したとき，測定試料内に温度勾配を形成させるとそれに伴い濃度勾配も形成され，屈折率の温度依存性と濃度依存性によって屈折するレーザー光の変位を測定する．先に求めたmyo-イノシトールの屈折率の濃度依存性を用いて，レーザー光の変位から屈折率の温度依存性とソレー係数を求め,変位の時間変化から拡散係数を求めた．測定試料への温度勾配の付与は，２つの温度調整された熱浴を用いて 24℃と 26℃に制御し,測定試料が入ったセルを挟むことで行った．熱浴の温度は，0.001℃の感度で制御し実験を行なった．

３．実験結果および考察

アッベ屈折計による屈折率の濃度依存性の値は 0.1752 と求められた．図１に myo-イノシトールのソレー係数の濃度依存性を示す．図１より，3.0wt.%未満の低濃度領域においてソレー係数が急激に大きくなる傾向があることがわかった．それに比べ，3.0～5.0wt.%におけるソレー係数の変化量は少なかった．1.0～5.0wt.%の濃度範囲ではソレー係数が正の値を取ったため，myo-イノシトールは低温側へ拡散したことがわかった．屈折率の温度依存性,拡散係数および水素結合のドナー･アクセプターの数とソレー係数の関係についての考察は発表にて行う．

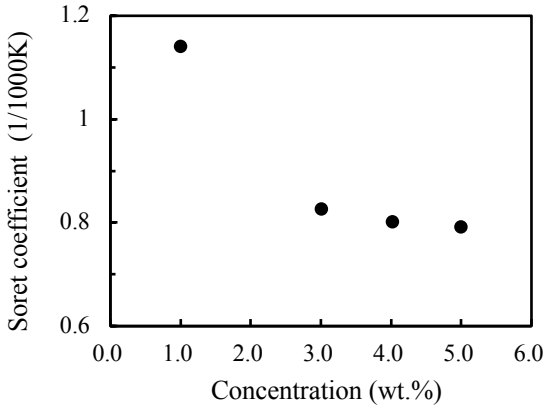


図 1．myo-イノシトールのソレー係数濃度依存性

文　献

1）K. Maeda et al, *j. Chem. Phys.* **143**, 124504(2015)

ポリ乳酸裁断化超薄膜と水の構造体の流動現象の解析

高橋学[1], 小松育実[2], 神田裕美[3] 江口和也[4], 砂見雄太[2,5], 岡村陽介[3,5], 喜多理王[1,5], 新屋敷直木[1], 八木原晋[1]
[1] 東海大学理学部物理学科, [2] 東海大学工学部機械工学科, [3] 東海大学工学部応用化学科,
[4] 東海大学大学院総合理工学研究科総合理工学専攻, [5] 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

球状粒子の分散液の粘度特性は, その濃度依存性は実験とよく合う Einstein 粘度式 $\eta = \eta_0(1 + K\phi)$ が知られている[1]. η は分散液の粘度, η_0 は溶媒の粘度, ϕは分散質の体積分率である. Kは形状因子に依存する量で, A . Einstein は球状粒子の分散液では2.5 と理論的に導いた. 本研究室の先行研究では, 裁断化したポリ乳酸の超薄膜の水分散液(ポリ乳酸裁断化超薄膜水分散液)のレオロジー特性を調べた. 低濃度域において, K が 878 と求まり, また分散質の体積の 88 倍の分散媒を粘性寄与から除外しているという特異的なレオロジー特性が示唆された[2]. 本研究は, 回転粘度計を用いて膜厚が異なるポリ乳酸裁断化超薄膜の特異的なレオロジー特性の再現性を調べ, ポリ乳酸裁断化超薄膜水分散液が示す特異的な流動現象を調べることを目的とする.

2．実験方法

ポリ乳酸(PLLA)を原料とした超薄膜を μ-coater を用いて作成し, ポリ乳酸超薄膜をホモジナイザー(NS11)で裁断化した. ポリ乳酸裁断化超薄膜の膜厚, 膜の面積は白色干渉顕微鏡 (BW-S507) で測定した. 回転粘度計 (DV2T-LV) を用いて, ポリ乳酸裁断化超薄膜水分散液の粘度を測定した. 温度 25.0℃, 濃度は 0.10wt.%～1.70wt.%の 0.1wt.%刻みで変化させ, ずり速度を 0.040～264s^{-1}の範囲で段階的に増加させた.

3．結果及び考察

白色干渉顕微鏡で測定したポリ乳酸裁断化超薄膜の膜厚は平均 59 ±20 nm , 膜の面積は平均 0.059 ± 0.028mm^2 であった. 図 1 は縦軸にずり速度 $80s^{-1}$ における分散液と水との相対粘度 η_r, 横軸に分散液の体積分率である. 三角と四角のプロットは先行研究と本研究のものである. 曲線は白ぬきのプロットを拡張型 Einstein 粘度式 $\eta_r = (1 - \phi/\phi_c)^{-\phi_c K}$ でフィッティングしたものであり[3], ϕ_c は実効体積に関するパラメータである. フィッティングより本研究では K=625, ϕ_c=0.019 と求まった. $1/\phi_c = 53$より, 分散質の 53 倍の体積の分散媒を粘性寄与から除外していることを示唆している. 膜厚 59 nm で高接着性と高柔軟性を示す裁断化超薄膜がつくる特異的な構造がこのような特異的なレオロジー特性と関係があると考えられる. すなわち, ポリ乳酸裁断化超薄膜水分散液のずり流動中に裁断化超薄膜の間や隙間に水が入り込み, 何らかの構造を形成することで粘性寄与から除外されたのではないかと考える.

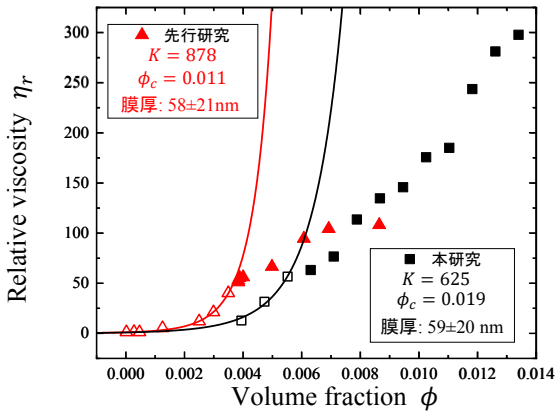


図 1. ポリ乳酸裁断化超薄膜水分散液の相対粘度の体積分率依存性

4．結言

本研究より, 形状因子に起因する量 K が A. Einstein が導いた2.5 より極端に大きい625 という値を示し, 分散質の 53 倍の体積の分散媒を粘性寄与から除外しているというという特異的なレオロジー特性の再現性を確認できた. 今後の展望として, ポリ乳酸裁断化超薄膜水分散液のずり流動中における構造の観察を行うことで, 特異的なレオロジー特性のメカニズムを調べる.

文　献

【参考文献】
1) A. Einstein, Ann. In. Phys., **19**, 289 (1906).
2) 江口和也, 日本バイオレオロジー学会誌, 第 32 巻 第 3 号, 2018 年 10 月 18 日 P138.
3) Jan Mewis and Norman j. Wagner, 『Colloidal Suspension Rheology 』, CAMBRIDGE INIVERSITYPRESS, 2013, P58.

フォーススピニング法を用いたマイクロ/ナノ混合ファイバからなる細胞培養担体

品川明加*，宮田昌悟**
＊ 慶應義塾大学　大学院理工学研究科
**慶應義塾大学　理工学部機械工学科 [〒223-8522　神奈川県横浜市港北区日吉 3-14-1]

１．緒言

再生医療では，細胞を用いて生体組織や器官の失われた機能を再建する．生体組織の再建方法には，生体外で細胞を三次元的な足場材料に播種して培養することで，生体組織を三次元的に再生する手法がある．このような足場材料の構造には微細な空孔を有するマイクロスポンジやハイドロゲルなどが存在するが，生体組織の微細構造を模擬するという視点でマイクロファイバやナノファイバ材料に注目が集まっている．ファイバ材料の作製は，特にナノスケールではエレクトロスピニング法が一般的であるが，十分な厚みを持つシート材料の作製が困難であること，また，ナノファイバのみでは培養担体内部に細胞を導入するような構造がとりづらいことが課題となっている．そこで本研究では，フォーススピニング法に着目し，細胞を内部に導入することに優れ，かつ，ナノファイバの特性も有する細胞培養担体を作製することを目的とした．具体的にはマイクロスケールのファイバとナノスケールのファイバが混在したファイバ材料を作製可能な紡糸デバイスを開発し，マイクロ/ナノ混合ファイバを細胞培養担体としての有用性を検討した．

２．試料および実験方法

フォーススピニング法は，遠心力によってノズルからポリマー溶液を細線状に吐出させて，凝固させることでファイバを作製する手法である．紡糸されるファイバ径は吐出溶液の濃度やノズル口径を変化させることで制御可能である．

本研究では，ポリカプロラクトンを対象として，フォーススピニング法によるファイバ作製装置を開発した．本作製装置は，高速で回転するモータおよびその回転軸に垂直にポリカプロラクトン溶液を含むシリンジおよびニードルを保持する治具，ニードルから吐出されたポリカプロラクトンファイバを捕集する容器，から構成される．

ファイバの作製では，はじめにポリカプロラクトン溶液濃度およびノズル直径を変化させ，紡糸されるファイバサイズに与える影響を調査した．これによりマイクロ/ナノスケールのファイバが同時に紡糸される条件を決定し，マイクロファイバとナノファイバが混在するような条件でポリカプロラクトン溶液を吐出することで，混合ファイバを作製した．

さらに，作製したマイクロ/ナノ混合ファイバの細胞培養担体としての特性を評価するため，作製した材料の空隙率および接触角を評価し，さらに細胞を包含して培養試験を行った．細胞の培養には筋芽細胞株(C2C12)を用いて，細胞の接着性，担体内部への導入を評価した．

３．結果および考察

ポリカプロラクトン溶液を紡糸材料としてフォーススピニングを実施することで，マイクロスケールからナノスケールまでのファイバ材料を作製できた．また，作製したマイクロ/ナノ混合ファイバで培養された筋芽細胞は，培養担体の内部まで浸潤し，接着・増殖していることが認められた．さらに，細胞は培養期間の進行に伴ってファイバ材料に接着して，三次元的なネットワーク構造を形成している部分も存在した．一部の細胞同士は融合して筋管様に成長している様子も認められた．

４．結言

本研究では，三次元的に細胞を培養するための担体材料として，フォーススピニング法を用いてマイクロ/ナノ混合ファイバ材料を開発した．筋芽細胞株を用いて培養試験を実施したところ，混合ファイバ材料は細胞培養の足場材料として有効に機能することが示唆された．

編 集 後 記

第 43 回年会は初夏の北海道で多くの参加者とのディスカッションを期待しておりましたが，新型コロナウイルス（COVID-19）の感染拡大の影響で酪農大での開催を見合わせ，誌上開催することとなりました．現地開催取り止めまでの経緯を備忘録として簡単に書き記しておきたいと思います. 2019 年の暮れから 2020 年にかけて中国の武漢で新型コロナウイルスの人への感染が確認され，春節の人々の大移動と共に全世界に感染が拡大していきました．北海道は札幌雪まつりをはじめとする冬の観光シーズンを迎え多くの観光客が来訪したために日本国内でも深刻な感染拡大が発生しました．その後北海道以外にも主に欧州からの帰国者に起因する感染拡大が首都圏を中心に拡大しました．年会事務局は講演申し込み状況をにらみながら年会開催の可否について日々検討を重ね，また理事長・副理事長とのメール会議を重ねましたが, 3 月中旬には実行委員会としては現地開催中止やむなし，という判断をして理事会（メール会議）に諮り現地開催を取りやめること，またすでに投稿された要旨原稿で要旨集を発刊することで「誌上開催」とすることを決定いたしました．

本号が発刊される 6 月半ばになっても依然として終息はしておらず社会の様々な場面で「新しい生活様式」が求められています。バイオレオロジー学会としても web による学会の開催なども模索してゆかなければならない状況にあると思われます。今回のことが良い教訓になれば不幸中の幸いといえるのではないかと考えております.

（金田　勇）

編集委員会

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

日本バイオレオロジー学会誌（B＆R，電子版） 第 34 巻 第 2 号

2020 年 6 月 17 日発行

編集者　山田 宏

発行者　丸山 徹

特定非営利活動法人 日本バイオレオロジー学会・事務局

〒259-1193　神奈川県伊勢原市下糟屋143

東海大学医学部内科学系循環器内科学 後藤教授室内

TEL　0463-93-1121 (内線2227)

FAX　0463-93-6679

E-MAIL　office@biorheology.jp

© copyrighted 2020, by Japanese Society of Biorheology