

令和 4 年 6 月 15 日現在

機関番号：32689

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2020～2021

課題番号：20K20986

研究課題名（和文）生体外で人工心筋細胞組織をモニタリングする超低侵襲性エレクトロニクスシートの開発

研究課題名（英文）Development of a minimally invasive electronic sheet for ex vivo monitoring of artificial cardiomyocyte tissue

研究代表者

梅津 信二郎（Umezū, Shinjiro）

早稲田大学・理工学術院・教授

研究者番号：70373032

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,900,000円

研究成果の概要（和文）：心臓は電気的に興奮をし、機械的に収縮弛緩をすることで生体内に血液を循環させる臓器であるため、心臓における電気生理学的機能と機械的な機能が、重要な評価指標である。心臓はダイナミックな変形をしているが、構成している心筋細胞単体や一層の心筋細胞組織に注目した場合、ここで発生する力はごく僅かである。このような系を対象として、低侵襲性で、電気的な特性と力学的な特性を精密にモニタリング可能なエレクトロニクスシートを開発した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

電気生理学的機能の評価と機械的機能の評価を同時に行うことが可能な画期的な測定システムを構築した。本研究は、侵襲性が極めて低だけでなく、長期間の培養に耐える測定システムである点が従来の類似研究と一線を画する学術的成果である。新薬開発に本技術を使用する場合、長期間培養した上で測定を行う必要がある。本技術はこのような使用が可能である。日本は超高齢社会であり、様々な新薬開発研究が行われていることから、本研究の社会的意義は大きい。

研究成果の概要（英文）：Since the heart is an organ that circulates blood through the body by electrically exciting and mechanically contracting and relaxing, electrophysiological and mechanical functions in the heart are important metrics to evaluate. Although the heart undergoes dynamic deformation, the forces generated are quite small when focusing on the myocardial cells alone or on a single layer of myocardial cell tissue. We have developed an electronics sheet that is minimally invasive and allows precise monitoring of electrical and mechanical properties.

研究分野：知能機械

キーワード：薄膜エレクトロニクス 心筋細胞+薄膜エレクトロニクス組織 細胞外電位 収縮力 低侵襲性

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

心臓は電氣的に興奮をし、機械的に収縮弛緩をすることで生体内に血液を循環させる臓器であるため、心臓における電気生理学的機能と機械的な機能が、重要な評価指標である。電気生理学的な機能評価をする手法としてパッチクランプ法、微小平面電極アレイ(MEA)による評価が挙げられる。さらに、近年では心筋細胞の収縮運動を機械的に抑制せず成熟化を促しながら活動電位や収縮力を測定する方法として、フレキシブルな薄膜エレクトロニクスを使用した研究が進められている。薄膜エレクトロニクスは、エラストマー材料や樹脂材料などの薄膜基材の上に安定かつ高い通電性を有する導電性材料を設置するものであり、様々な電気信号の測定が可能である。さらに、薄膜に対してマイクロ加工を施すことによって、局所的な剛性や柔軟性を変更可能である。これらの機械特性の制御は、生物特有の複雑な動きに適応できるだけでなく、計測対象に対して機械的な刺激や制御を行うことができる。

収縮力の測定方法としては、画像解析、インピーダンスアッセイ、ひずみ分析による方法が挙げられる。画像解析とインピーダンスアッセイによる収縮力の測定では、心筋細胞の動きを直接ではなく、間接的に捉えて評価するため、ハイスループットである。一方で、心筋細胞に発生するごく僅かな力の変化の測定・評価はできない。フレキシブルエレクトロニクスを使用して、ひずみ計測と圧力測定から収縮力を評価する場合、心筋組織の僅かな収縮力の変化を直接測定可能である。僅かな収縮力の変化を測定する技術は、例えば抗がん剤の副作用評価に重要である。抗がん剤の中には、長期使用による累積投与量に依存し心筋細胞の萎縮を経て心機能の低下に至る症例報告がされている。これらの薬物誘発性の心筋萎縮について、TRPC3-Nox2 タンパク複合体数を増加させることで、酸化ストレスも増加していくことが原因であると報告がされている。創薬段階でこのようリスクを排除するためには、心機能評価に電気生理学的評価だけでなく、精密な機械的収縮特性の評価も必要だといえる。

2. 研究の目的

精密な機械的収縮特性を評価するためには、薄膜エレクトロニクスの局所的な剛性を変更できるのが好ましい。また、局所的に薄膜エレクトロニクスの剛性が違うと、心筋細胞による交差的な収縮力を使って、立体的な変形を生み出せるので、心筋細胞と薄膜エレクトロニクスから構成されるバイオアクチュエータを開発できる。従って、薄膜エレクトロニクスの局所的な剛性を変更する加工方法の確立が重要となるので、これが本研究の目的である。

3. 研究の方法

ガラス板上に、剥離剤をディップコーティングし、加熱した。剥離剤のコーティング後にパリレンを蒸着した。次に、微細加工プロセスによって、パリレン基板上に微細孔を設けた。次に、このような孔を設けた薄膜エレクトロニクスを開発して、細胞培養を行った上で、心筋細胞組織に作用する収縮力と細胞外電位を測定した。

4. 研究成果

3章の工程で孔を設けた薄膜を図1に示す。10 μm 程度の大きさの孔を設けられることを確認した。数十 μm 程度以上の大きさの孔を設けることは可能であるが、細胞の大きさの関係で、孔の上に留まりにくく、孔が形成されてしまう。一方で、10 μm 程度の大きさの孔の場合、細胞が覆いかぶさる形で培養され、薄膜エレクトロニクスと細胞組織が一体化した組織となった。この結果、薄膜エレクトロニクス上で培養された心筋細胞組織は、1週間程度経過すると、自立は駆動に伴い、剥がれてしまうことが分かっているが、この問題を解決した。長期間培養した後で、

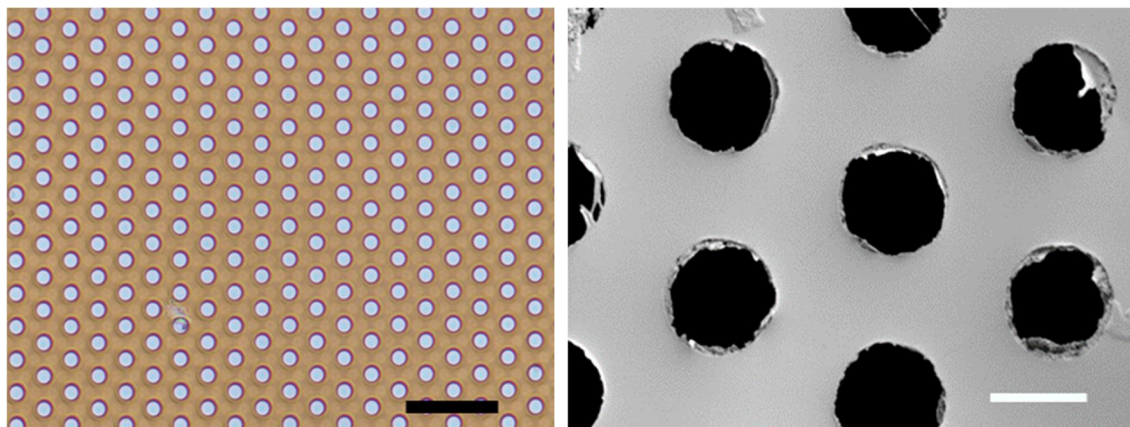


図1 微細加工プロセスで使用したマスクと孔を設けた薄膜エレクトロニクスの写真
左図のスケールバーは50 μm で、右図のスケールバーは10 μm

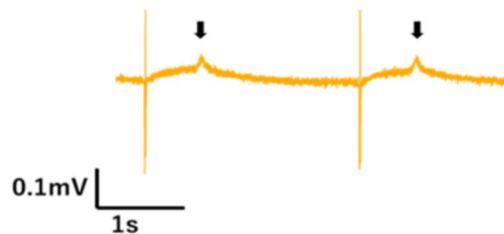
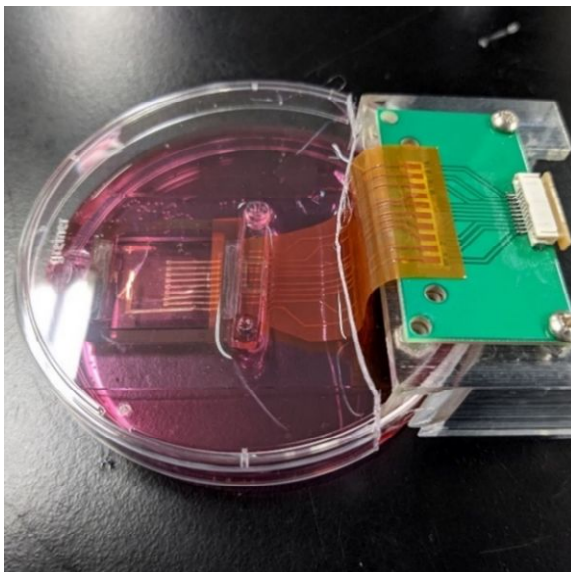


図2 細胞外電位測定時のノイズ除去と測定した細胞外電位波形

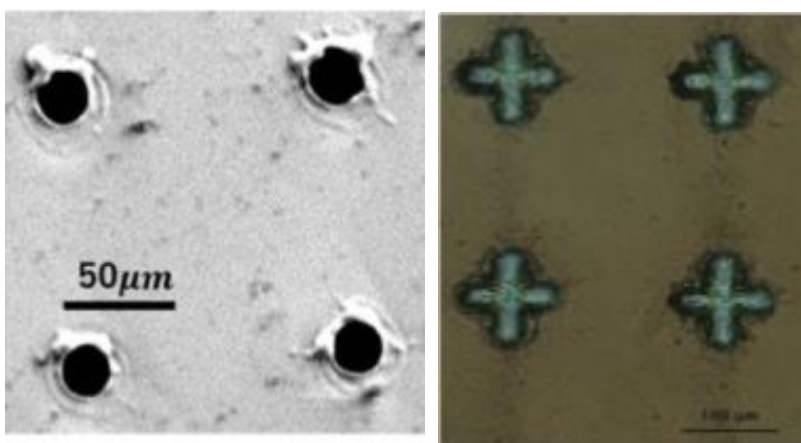


図3 カラーマーカーを設置した対象物への孔加工

薄膜エレクトロニクスによって収縮力と細胞外電位を測定可能な画期的な手法である。

次に、細胞外電位は微弱なため、測定信号からノイズを除去する必要がある。D/A コンバータで測定波形を変換し、パソコンに接続することで測定アプリケーション上に電位波形を表示した。有孔薄膜エレクトロニクス上の4チャンネルをアプリケーション上に表示して測定を行なった。測定時には、50Hzの電源ノイズなどを除去するために40Hzのローパスフィルタを適用した。また、複数の電子機器を使用することによるノイズの重畳が発生しうる。計測波形を大きく超えるノイズ波形が出た場合には、アンプのグランドをグローブボックスに設置して、ノイズを低減した。さらに、昇温装置や振動によるノイズを除去するために、デバイスの底面にシリコンゴムシートを敷いた。

上記の手法により、微細孔の作製から細胞組織の生化学情報の測定までが可能であるが、微細加工プロセスの場合、マスクが必要となるため、時間とコストの面から様々な孔のデザインを検討しにくい。一方で、スポット径の小さなレーザーを用いて孔を設けようとしても、薄膜エレクトロニクスの非金属部は透明なため、光が透過してしまい、孔を設けることができない。そこで、カラーマーカーを薄膜上に設ければ、レーザー光を照射した際に熱を発生させ、孔を設けることができるのではないかと考えた。図3に一例を示すが、マスクレスで50µmの孔を設けることが可能であった。さらに、図3の右図に示すように、レーザーのスキャンを制御することによって、円形の孔だけでなく、十字形などの形に変更可能である。様々なデザインの孔を設けた薄膜を作製し、細胞組織の変形を観察することによって、アクチュエータとしての変位量の最大化や収縮力測定に最も好ましいデザインの探索が容易になる。

以上のことから、創薬研究で使うことが望まれる、長期間の培養が可能で、細胞組織の生化学情報の測定が可能なデバイスを開発した。このデバイスは、実際の創薬研究への応用が強く期待されると考えている。

文献省略

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Takashi Ohya, Haruki Ohtomo, Tetsutaro Kikuchi, Daisuke Sasaki, Yohei Kawamura, Katsuhisa Matsuura, Tatsuya Shimizu, Kenjiro Fukuda, Takao Someya, Shinjiro Umezu	4. 巻 21(20)
2. 論文標題 Simultaneous measurement of contractile force and field potential of dynamically beating human iPSC cell-derived cardiac cell sheet-tissue with flexible electronics	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Lab on a Chip	6. 最初と最後の頁 3899-3909
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/D1LC00411E	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Kewei Song, Yue Cui, Tiannan Tao, Xiangyi Meng, Michinari Sone, Masahiro Yoshino, Shinjiro Umezu, Hirotaka Sato	4. 巻 2112
2. 論文標題 New metal-plastic hybrid additive manufacturing strategy: Fabrication of arbitrary metal-patterns on external and even internal surfaces of 3D plastic structures	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 arXiv	6. 最初と最後の頁 11661
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.48550/arXiv.2112.11661	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Fan Huang, Kewei Song, Yue Jiang, Kayo Hirose, Shinjiro Umezu	4. 巻 33(1)
2. 論文標題 3D-printed swab with cover for precision diagnosis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Materials Science: Materials in Medicine	6. 最初と最後の頁 1-8
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10856-021-06635-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Kewei Song, Yue Cui, Liang Liu, Boyang Chen, Kayo Hirose, Md Shahiduzzaman, Shinjiro Umezu	4. 巻 12(1)
2. 論文標題 Electro-spray deposited TiO ₂ bilayer films and their recyclable photocatalytic self-cleaning strategy	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific reports	6. 最初と最後の頁 1-12
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-022-05633-w	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Hirose Kayo, Uchida Kanji, Umezu Shinjiro	4. 巻 34
2. 論文標題 Airtight, flexible, disposable barrier for extubation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Anesthesia	6. 最初と最後の頁 798 ~ 799
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00540-020-02804-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Valentine Christopher J., Takagishi Kensuke, Umezu Shinjiro, Daly Ronan, De Volder Michael	4. 巻 12
2. 論文標題 Paper-Based Electrochemical Sensors Using Paper as a Scaffold to Create Porous Carbon Nanotube Electrodes	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 ACS Applied Materials & Interfaces	6. 最初と最後の頁 30680 ~ 30685
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acsami.0c04896	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Tanaka Ryu-ichiro, Sakaguchi Katsuhisa, Umezu Shinjiro	4. 巻 25
2. 論文標題 Printing support hydrogels for creating vascular-like structures in stacked cell sheets	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Artificial Life and Robotics	6. 最初と最後の頁 199 ~ 203
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10015-020-00605-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計10件(うち招待講演 0件/うち国際学会 4件)

1. 発表者名 Hiroshi Kobayashi, Hisashi Sugime, Suguru Noda, Kayo Hirose and Shinjiro Umezu
2. 発表標題 Evaluation of Stretching Resistance of CNT-Based Flexible pH Sensor
3. 学会等名 The 11th International Conference on Flexible and Printed Electronics (ICFPE) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yue Cui, Kewei Song, Kayo Hirose, Md Shahiduzzaman and Shinjiro Umezu
2. 発表標題 Establishment of ABS Resin Electrospinning Method Utilizing Acetone as Solvents
3. 学会等名 The 11th International Conference on Flexible and Printed Electronics (ICFPE) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Ryunosuke ARAKAWA, Hitoshi OHMORI, Teruko KATO and Shinjiro UMEZU
2. 発表標題 Tribological Characteristics to Emulate Shaper Machining for Ti-6Al-4V
3. 学会等名 The 6th International Symposium on Micro/Nano Mechanical Machining and Manufacturing (ISMNM 2021) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Kewei Song, Xiangyi Meng, Jun Koyanagi, Shinjiro Umezu
2. 発表標題 Preparation of CFRP used for FDM-3DP and study of its properties
3. 学会等名 The 16th China-Japan International Conference on Ultra-Precision Machining Process (The 16th CJUMP) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 川村洋平, 大矢貴史, 菊地鉄太郎, 佐々木大輔, 清水達也, 福田憲二郎, 染谷隆夫, 梅津信二郎,
2. 発表標題 微細孔を有する薄膜エレクトロニクスの作製
3. 学会等名 日本機械学会主催2020年度茨城講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 蒋越, 富田聡, 梅津信二郎, 小柳潤
2. 発表標題 An Analysis of the Stress Variation on Smooth Parylene Thin Film During the Debonding Process
3. 学会等名 日本材料科学会主催2020年度学術講演大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 川村洋平, 大矢貴史, 菊地鉄太郎, 佐々木大輔, 清水達也, 福田憲二郎, 染谷隆夫, 梅津信二郎
2. 発表標題 高分子薄膜における貫通穴パターンの差による柔軟性への影響の調査
3. 学会等名 日本材料科学会主催2020年度学術講演大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 大友春輝, 大矢貴史, 菊地鉄太郎, 佐々木大輔, 清水達也, 松浦勝久, 福田憲二郎, 染谷隆夫, 梅津信二郎
2. 発表標題 心筋細胞の細胞外電位が測定可能な薄膜電極の構成検討
3. 学会等名 日本材料科学会主催 2020年度学術講演大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 小林 宙, 杉目恒志, 野田 優, 梅津信二郎
2. 発表標題 CNTペーパーを用いたフレキシブルナトリウムイオンセンサ
3. 学会等名 日本材料科学会主催2020年度学術講演大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 大矢貴史, 大友春輝, 菊地鉄太郎, 佐々木大輔, 松浦勝久, 清水達也, 福田憲二郎, 染谷隆夫, 梅津信二郎,
2. 発表標題 超薄膜電極を利用したヒトiPS細胞由来心筋細胞の細胞外電位低侵襲モニタリング手法の開発
3. 学会等名 第59回 日本生体医工学会大会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 エアロゾル流出バルーン	発明者 廣瀬佳代、内田寛 治、梅津信二郎、リ ギョウトン	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2020-88159	出願年 2020年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

Development of Disposable Balloon to https://www.waseda.jp/top/en/news/74023 ハイブリッド3Dプリンタ造形技術 開発 https://www.waseda.jp/top/news/70208 The Best of Both Worlds: https://www.waseda.jp/top/en/news/73810
--

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	坂口 勝久 (Sakaguchi Katsuhisa) (70468867)	早稲田大学・理工学術院・准教授(任期付) (32689)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------