

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 7 月 8 日現在

機関番号：22604

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2012～2014

課題番号：24560203

研究課題名(和文) ナノ手術デバイスに向けた電場誘起流動・粒動現象の解明

研究課題名(英文) Investigation of electric induced flow and particle movement under Applied Alternating Current Electric Field to Develop Nano-scale cell surgery

研究代表者

小原 弘道 (OBARA, Hiromichi)

首都大学東京・理工学研究科・助教

研究者番号：80305424

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円

研究成果の概要(和文)：細胞に着目したナノ手術デバイスとして次世代型医療技術の基盤となることが期待される先鋭微小電極近傍局所域に形成されるElectrokinetics現象を多面的に活用した、細胞操作のための電場誘起流動デバイスの確立が最終的な目標である。当該現象を詳細に解明し、交流電場印加により電場誘起流動・粒動とエレクトロポレーション法を融合した技術を確立するために、交流電場印加により交流電場誘起流動・粒動の形成機構の解明ならびに電場誘起流動による粒子状物質、細胞の操作技術の評価を、実験的手法・解析的手法により複合的に実施し、その可能性を検討した。

研究成果の概要(英文)：A manipulation of cells is important technique to improve medical technology for cell transplantation and regenerative medicine. Furthermore this technique can be used for nano-scale surgery to maintain cell condition and cell properties. Controlling particle migration and flow with a micro sharp electrode using alternating current electric filed has several potential to develop cell manipulation device. And this device can provide a low invasive electroporation to maintain the cell properties. This device is useful for the cell manipulation and it is easy to control cells with their dielectric properties. In this study, a confirmation of the shape tip electrode for the cell manipulation under AC electric field was introduced and the cells and particles velocity near the electrode tip under several conductivity conditions were measured to investigate the flow structure and the cell movement around the electrode with experimental approach and analytical approach.

研究分野：流体力学，医用工学，臓器工学

キーワード：細胞操作 流動制御 電場誘起流動 交流電場 細胞治療 細胞手術

1. 研究開始当初の背景

QOL(Quality of Life)の向上, 短期入院による医療費削減のために, 非侵襲・低侵襲の医療技術が求められている. 内視鏡・複腔鏡手術や顕微鏡手術(マイクロ手術)も広く臨床で活用され, さらなる微小領域での手術を可能とする手術支援ロボットも利用可能になりつつある. こうした中で, さらに微小な初期腫瘍や組織・細胞をターゲットとし, ナノスケールで選択的に処置可能なナノ手術のための技術開発に大きな期待がある. たとえば, 抗腫瘍効果を持つ情報伝達タンパク質であるサイトカインを発現する遺伝子を細胞に導入することで, 高副作用薬剤の使用量を低減し, 効果的な治療が可能となる. また, 臓器不足の問題は非常に深刻ではあるが, あわせて重要な課題である拒絶の問題の克服は重要であり, 細胞治療などの組み合わせにより免疫寛容を誘導の可能性なども報告されてきている. 本研究で開発する手法を移植医療支援技術に組み込むことで, 移植後の免疫拒絶を解決可能となる. こうしたなか, ドラッグデリバリーシステムなどの研究も進んではいるものの, 細胞内へ選択的に物質を導入するためには課題も多い. 特に, 細胞を適切に制御し, それらを配置し, 低侵襲で取り扱うための操作技術が求められている. さらに, 大規模かつ高額な光学的なアプローチを利用せず, 操作が可能となれば小型化や低価格化が可能となり将来性の高い技術となる. 一方で, 瞬間的な高電場印加により細胞膜に穿孔可能であるエレクトロポレーション(EP)技術が期待されている. このEPをマイクロスケールの微小尖鋭電極先端に誘起される電場誘起流動と組み合わせることで, 選択的・限定的に細胞にシグナル物質やRNA, 薬剤などを導入可能となる. この微小デバイスを, 内視鏡やカテーテル先端に配置し, 将来的にはカプセル型の医療装置に実装することで, 非侵襲・低侵襲の新しいナノ手術を確立可能となり, 次世代医療基盤技術となる可能性を有している.

2. 研究の目的

本研究では, 細胞に着目したナノ手術デバイスとして次世代型医療技術の基盤となることが期待される先鋭微小電極近傍局所域に形成されるElectrokinetics現象を多面的に活用した, 細胞操作のための電場誘起流動デバイスの確立が最終的な目標である. 当該現象を詳細に解明し, 交流電場印加により電場誘起流動・粒動とエレクトロポレーション法を融合した技術を確立するために, 交流電場印加により交流電場誘起流動・粒動の形成機構の解明ならびに電場誘起流動による粒子状物質・細胞の操作技術の評価を, 実験的手法・解析的手法により複合的におこなうことが目的である.

3. 研究の方法

(1) 細胞操作デバイス

細胞操作デバイスは, 交流電場印加可能な先鋭電極と対向する電極により構成される. 本研究ではこの細胞操作デバイスの機能評価のために, 細胞操作デバイスを含む細胞操作ユニット, 電源装置, 倒立顕微鏡から構成される実験装置を用いた.(図1)細胞操作ユニットは, 細胞操作デバイスの心臓部となる先鋭電極(タングステン針, 先端径 $1\mu\text{m}$)ならびに, これを支持する3次元油圧微動マニピュレータ装置, ガラスディッシュ上に配置された対極となる平板電極より構成される. 電源装置は, 信号発生器(IWATSU SG-4105)により生成された信号を高電圧アンプ(NF HSA4011あるいはNF HSA4101)において増幅し, 電極に印加した. 光学計測系は, 倒立方顕微鏡を用い, CCD/CMOSカメラならびに高速カメラにより画像情報を取得した. 計測は画像情報を用いた画像相互相関法による場の情報と個別の細胞, 粒子に着目した粒子追跡法による粒子の速度情報等を取得した. なお, 電極先端部を座標系の原点とし, 電極軸方向を x 軸, これと垂直に y 軸をとした.

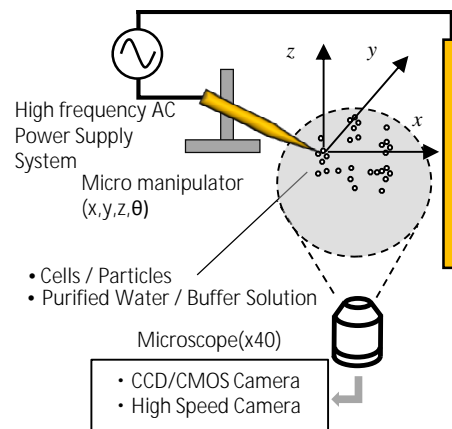


Fig.1 Experimental apparatus

(2) 細胞および粒子分散試料ならびに実験条件・解析条件

細胞操作特性を評価すならびに先鋭電極近傍の細胞懸濁液の流れを計測するため粒子と細胞を分散させた溶液を用いた. 粒子は蛍光ポリスチレン粒子(Duke, 粒径 $1\mu\text{m}$)で本報告の範囲においては細胞は酵母菌(直径 $3-7\mu\text{m}$)を用いた. なお, 動物細胞を用いた検証実験も実施しているが, 本報告では定量的な議論をおこなうため, 安定的な細胞条件が得られた酵母菌の結果を用いた. 溶液は導電率を調整しおこなった. 細胞粒子分散液をガラスディッシュに必要量を滴下し実験をおこなった. 印加電場条件は, 印加電圧と針状電極の先端間距離により算出した電場強度 $E=0-100\text{V}/\text{mm}$, 電場周波数 $f=1\text{k}-10\text{M Hz}$ とした. また, 電場解析ならびに実験結果から得られる電場特性条件, 流動条件から粒子に作用する各作用力を考慮した解析的手法により評価を行った. 具体的には, 電場解

析ならびに運動解析を行い、流体の流れである流動特性情報と細胞や計測用に分散させている粒子の運動である粒動特性を合わせてし、形成される細胞制御空間の解析をおこない実験結果とあわせて解析した。

4. 研究成果

図2に交流電場印加された先鋭電極を用いた細胞補足時の様相を示す。ここでは一例として、 $E=50V/mm$, $f=10MHz$ における結果を示す。この電場条件においては、誘電泳動が支配的になり、正の誘電泳動力が作用する生細胞は先鋭電極に集まり、細胞の補足が可能である。ここでは図示を割愛しているが、電場強度ならびに印加時間により細胞補足量を制御可能であり、印加電場周波数を変化させることで、流動も形成可能である。先鋭電極近傍に誘起される流動と誘電泳動力との組み合わせにより、様々な形で細胞を操作可能であり、電場印加条件制御によりマイクロ局所エレクトロポレーションによる各種因子の導入も可能である。

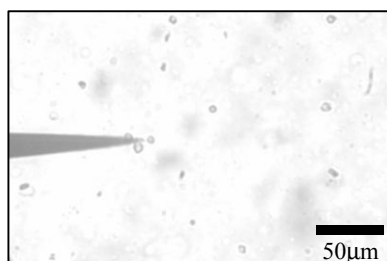


Fig.2 Cells captured with sharp tip electrode

図3に $E=50V/mm$, $f=1kHz$ における電極先端部近傍断面での粒子速度分布を示す。ここでは粒径 $1\mu m$ の粒子に着目したPIV計測により取得された粒子速度であり、誘起される流動の大きさに比し誘電泳動による作用は小さいことからここでの粒子速度は電場印加により誘起される流動を代表していると考えられる。いずれの断面においても速度分布は先鋭電極先端の延長上に速度の速い領域が存在しており電極から離れるにつれ減衰を示している。この流動と誘電泳動を合わせて用いることで細胞への様々な操作が可能となると考えられる。特に、 $x=10\mu m$ において、最大の速度を示しており、以下ではこの最大速度に着目して議論する。

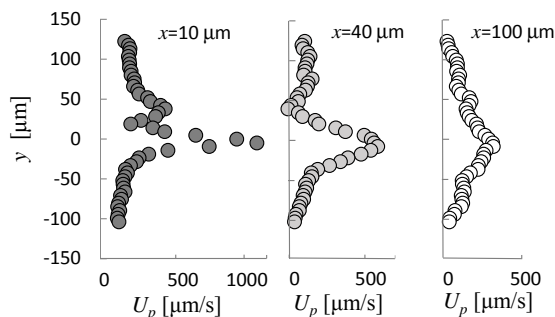


Fig.3 velocity profile near sharp tip electrode

図4に $E=50V/mm$, $f=1kHz$ における導電率変化による最大速度を示す。導電率の増加とともに速度は減衰を示している。この電場条件においては、導電率と速度の関係から先鋭電極上に形成される電気二重層への交流電場の作用によって交流電気浸透流が誘起されているものと考えられる。導電率を適切に管理し、電場条件を最適化することで電極近傍の流動形成の制御が可能であり、誘電泳動力と複合利用することで細胞を様々な形態で操作が可能になると考えられ、細胞操作デバイスに活用可能であると考えられる。

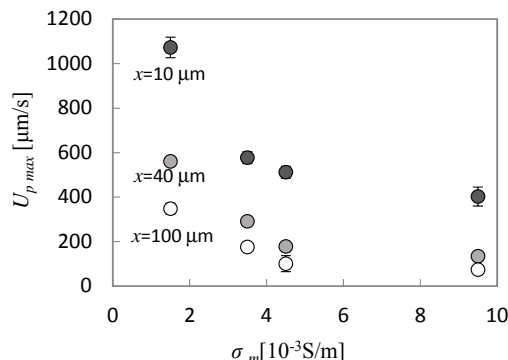


Fig.4 Influence of conductivity on maximum velocity

ここでは抜粋した一部の成果に関して、整理しているが、本研究によって、交流電場印加により電場誘起流動・粒動とエレクトロポレーション法を融合した技術を確認するために重要となる、交流電場印加により交流電場誘起流動・粒動の形成機構の解明ならびに電場誘起流動による粒子状物質、細胞の操作技術の評価に関して実験的手法・解析的手法により複合的におこない、その詳細な特性を解明整理することができた。こうした成果は、細胞に着目したナノ手術デバイスとして次世代型医療技術の基盤となることが期待される先鋭微小電極近傍局所域に形成されるElectrokinetics現象を多面的に活用した、細胞操作のための電場誘起流動デバイスの確立を可能にすると考えられる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計0件)

〔学会発表〕(計9件)

- 1)交流電場による粒動・流動制御, 小原弘道, 日本機械学会年次大会講演会, 2012.09.09-12, 金沢大学 角間キャンパス(金沢市)
- 2)Induced Flow and Formed Structures of Nano-diamond Dispersion under Alternating Current Electric Field, Hirumichi OBARA, Japan-Taiwan International Conference on Magnetic Fluid, 2012.1130-12.1, Dousisha Univ.(Kyoto,Japan)

3)先鋭電極近傍に形成される電場・流動場の同時計測, 小原弘道, 大谷直輝, 水沼博, 日本機械学会年次大会講演会, 2013.09.09-11, 岡山大学(岡山市)

4)先鋭電極近傍に形成される電磁場を用いた細胞操作, 小原弘道, 磁性流体連合講演会, 2013.11.15-16, 富山市民会館(富山市)

5)先鋭電極による誘電泳動力と電場誘起流を用いた細胞操作の電場印加条件の影響, 大谷直輝, 小原弘道, 水沼博, バイオエンジニアリング講演会, 2014.01.11-12, 東北大 片平キャンパス(仙台市)

6)次世代医療のための電磁場を利用したナノ手術デバイス, 小原弘道, 磁性流体研究連合講演会, 2014.11.20-21, 物質・材料研究機構(つくば市)

7)病気の子供を助けたい: 肝臓疾患のための医療技術開発, 小原弘道, 日本機械学会年次大会講演会, 2014.09.7-10, 東京電機大(東京都)

8)先鋭電極近傍に形成される局在電場による細胞操作への影響, 大谷直輝, 小原弘道, 水沼博, バイオエンジニアリング講演会, 2015.01.09-10, 朱鷺メッセ新潟コンベンションセンター(新潟市)

9)交流電場を印加した先鋭電極を用いた細胞操作デバイスの開発, 小原弘道, 大谷直輝, 水沼博, 日本機械学会関東支部総会講演会 2015.03.20-21, 横浜国大(横浜市)

〔図書〕(計 1 件)

1) 磁性流体研究の新展開 I (Advances in nanoparticle fluid system I), 間宮広明, 岩本悠宏 編, 出版社・磁性流体研究連絡会, 小原弘道, 31(8-9 ページ担当)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.comp.tmu.ac.jp/obaken/>

6. 研究組織

(1)研究代表者 首都大学東京・理工学研究科・准教授, 小原弘道 (Hiromichi OBARA) 研究者番号: 80305424