

令和 5 年 5 月 31 日現在

機関番号：13901

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2021～2022

課題番号：21K18704

研究課題名（和文）培養骨格筋の精密制御を実現する神経-筋接合部の生体外での創製

研究課題名（英文）in vitro Muscle-Nerve Interface for Precise Control of Skeletal Muscle Actuators

研究代表者

福田 敏男（Fukuda, Toshio）

名古屋大学・未来社会創造機構・客員教授

研究者番号：70156785

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、研究代表者らが行ってきたマイクロ・ナノメカトロニクス技術による生体外での細胞組織構築技術を用いて、生体外にて骨格筋組織によるアクチュエータの構築を行うことを目指す研究である。本研究では特に、筋組織の駆動量の向上、及び筋組織と人工物との接続部分に着目し研究を推進した。その結果、遠心力を用いた細胞圧縮技術によって高密度の骨格筋組織を構築し、その結果駆動量が上昇することを確認した。また、骨格筋自体の自己収縮力を用いることで、腱を模した人工物との接続部を硬く強固にすることが可能となり、筋と腱の接続部を模した生体組織と人工物との接続を実現した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、生体外での筋組織アクチュエータの構築について研究を行なった。筋組織は柔軟性、伸縮性、エネルギー効率の高さなど従来のアクチュエータに対して利点を有しており、新たなアクチュエータとして注目を集めている。一方で、生体外においては生体内のような大きな駆動量が得られておらず、実用化に向けて大きな課題が残っている。本研究における成果は筋組織アクチュエータの駆動量向上手法を提案しておりその手法も簡便であることから、今後の筋組織アクチュエータの実用化に向けた大きな意義を有すると考えられる。

研究成果の概要（英文）：This research aims to construct an actuator using skeletal muscle tissue in vitro, using the micro-nanomechatronics technology that we have developed to construct cellular tissue in vitro. We especially focused on the improvement of the muscle tissue contraction, and the connection between the muscle tissue and an artificial material. As a result, the high-density skeletal muscle tissue was constructed by cell compression technology using centrifugal force. The contraction of fabricated muscle tissue increased by the increase of cell density. In addition, the connection of muscle tissue with the artificial material became stiff and strong by using the self-contracting force of the skeletal muscle itself.

研究分野：マイクロ・ナノメカトロニクス

キーワード：筋組織 アクチュエータ 駆動制御 マイクロロボット 骨格筋培養

### 1. 研究開始当初の背景

筋肉は高い伸縮性を有しており、細胞レベルで収縮能を有し小型化が容易であるため、筋細胞を用いたソフトロボティクスは現在大きな注目を集めている。筋組織をアクチュエータとして用いるソフトロボティクスはこれまでも様々な研究がなされており、生物を模した形状のマイクロロボットが近年多数報告されている (SJ Park et al., Science 2016, B. J. Williams et al., Nature Communications 2014 など)。日本国内においても数多くの研究がなされており、例えば東京大学の竹内・森本らは 3D プリンタ製のロボット骨格に筋組織アクチュエータを設置し、ロボットの関節角度を操作しており (Morimoto et al., Sci Robot 2018)、大阪大学の森島らのヒトの表面筋電を入力とした骨格筋アクチュエータの制御 (Kabumoto et al., Tissue Eng A 2013)、九州大学の井藤らの磁力を用いた骨格筋アクチュエータの作製 (Yamamoto et al., Tissue Eng A, 2011) などが挙げられる。

本研究における研究代表者らも骨格筋アクチュエータの生体外での作製を実現しているが、上記研究も含めその駆動は一様電場によるものであり、生体内の運動単位のような神経-筋システムについては未だ不十分である。生体外にて筋組織に神経細胞を接着させ、筋神経接合部を作製する研究は幾つかあるが (Morimoto et al., Biomater 2013)、生体内の運動単位のように複数の運動単位を構成し、それらへの刺激を制御することで骨格筋の駆動を制御する研究は見られない。また、生体を模した複数の運動単位によるシナプス形成、電気刺激による筋力の制御は未開拓の分野である。本研究ではこの課題に着目し、生体が有する神経-筋システムを模擬したシステムを生体外で構築できれば、駆動精度の向上のみならず筋疲労の低減も期待でき、骨格筋アクチュエータの性能、耐久性向上など実用的なアクチュエータとしての必要条件を有する新たな骨格筋アクチュエータの創製に繋がると考え、本研究の提案に至った。

### 2. 研究の目的

生体内では、運動ニューロンと筋線維を一对とした運動単位と呼ばれる運動機能の最小単位が存在する。運動単位は大小様々存在し、脳からの運動指令が脊髄、運動神経を介することで複数の運動単位が協調して発火、運動するようになり、結果として連続的な身体運動が生成されている (図 1)。本提案では、生体外にて作製した骨格筋アクチュエータに対し、微細加工技術を用いて神経-筋接合部を複数箇所構築することで、生体内における運動単位に相当する神経-筋システムの構築手法創製を目指す。さらに、作製した神経に対し異なる複数の箇所から電気刺激を印加できるシステムを構築し、多チャンネルの電気刺激パターンにより筋収縮力の精密な制御を可能とすることを目指すと共に、神経-筋接合部におけるシナプス形成について、生体外での形成に寄与する微細形状を探索し、効率的なシナプス形成と神経伝達機構の生体外での再現について新たな知見を得ることを目指す。

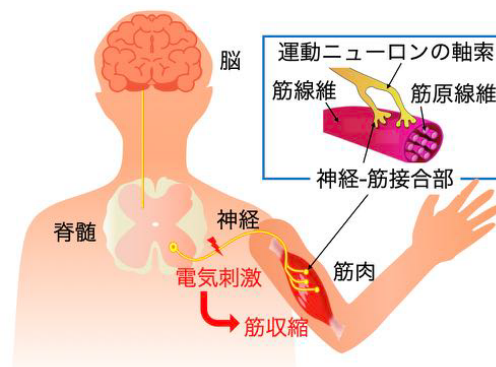


図 1 脳からの運動指令が神経-筋接合部を介して筋収縮を生成する

### 3. 研究の方法

本研究を行うにあたり、大きな駆動量を有する骨格筋組織を生体外にて作製することがまず必要である。従来の生体外における骨格筋組織の構築には、マトリゲル等の生体外マトリックス内に筋芽細胞を分散させ、分化培養を行っていた。しかしながら、細胞に対して生体外マトリックスの量が多く細胞密度が低くなってしまいう課題があった。そこで、本研究では遠心圧縮による細胞密度の向上を実施した。図 2 に遠心力を

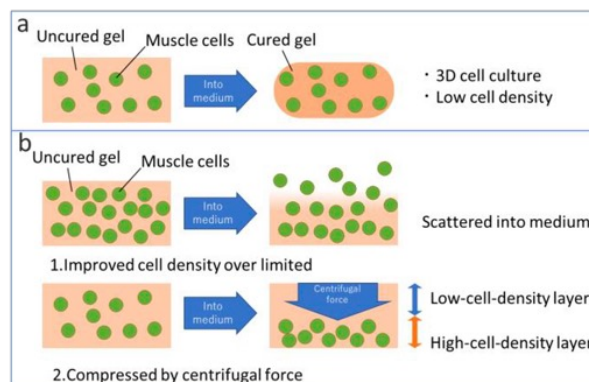


図 2 遠心力圧縮を用いた細胞密度向上手法 (a) ゲル内に細胞を分散させる従来手法 (b) 遠心力による細胞密度の向上概念図

用いた細胞密度の向上に関する概念図を示す。従来手法では細胞をゲル内に分散させるため、細胞間にゲルが存在し細胞密度が低下してしまう。そのため、マトリゲルに細胞を分散させた後に遠心力圧縮を実施し、細胞の高密度層と低密度層の2層構造にすることで、高密度な部分で収縮力の高い骨格筋組織を構築しつつ、細胞培養中に構造が崩れないように低密度層で保持するという方法を提案した。

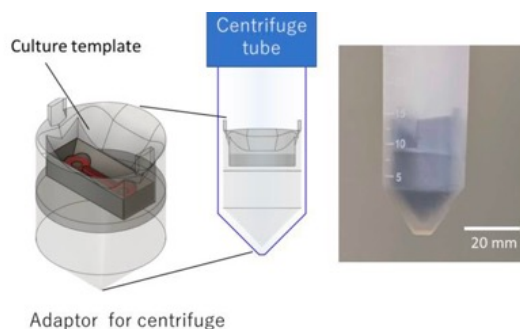


図3 遠心力を印加するための治具

#### 4. 研究成果

高密度モジュール型骨格筋バイオアクチュエータを作製するために、遠心力の印加を行なった。遠心分離器に細胞を分散させたマトリゲルを設置するために、図3に示すように遠沈管内に設置可能な治具を作製した。この治具内に培養プレートと呼ぶ細胞を分散させたマトリゲルを成形するための型を入れることができ、その状態で遠心分離機にかけることで遠心圧縮を印加することが可能となる。印加する遠心力については細胞密度及び生細胞数の計測から、最も生細胞の細胞密度が高くなる値を用いることとした。実験の結果、450 xg が最も生細胞の細胞密度が高くなることが明らかとなったため、その値を用いてC-MBAの作製を行うこととした。

従来手法で作製したモジュール型骨格筋バイオアクチュエータ (MBA) 及び遠心圧縮により細胞密度を向上させたモジュール型骨格筋バイオアクチュエータ (C-MBA) についてそれぞれの作製結果を図4に示す。ここで、骨格筋組織の両端には3Dプリンタで作製したピラー形状の腱構造を配置し、骨格筋を左右に引っ張る役割を担っている。MBAでは横から見た際に骨格筋組織内全体に細胞が分散し、白く見えているのに対し、C-MBAでは骨格筋組織が底面に密集し、高密度細胞層として形成されていることが確認できる。

遠心圧縮を用いたC-MBA及び用いなかったMBAそれぞれについて、マトリゲル内の細胞密度を計測した。計測結果を図5(a)に示す。このように、遠心圧縮を用いることで2倍弱細胞密度を向上させることに成功した。さらに、作製した骨格筋アクチュエータに電場を印加することで収縮させ、その収縮力を計測した。収縮力の計測には微小力を計測可能なロードセルを用い、MBA及びC-MBA両端に設置した腱構造を用いて計測装置に設置した。その結果を図5(b)に示す。このように、高密度細胞組織のC-MBAはMBAと比べ約2倍の収縮力を発揮していることが分かり、細胞密度向上が収縮力向上に寄与していることを確認した。

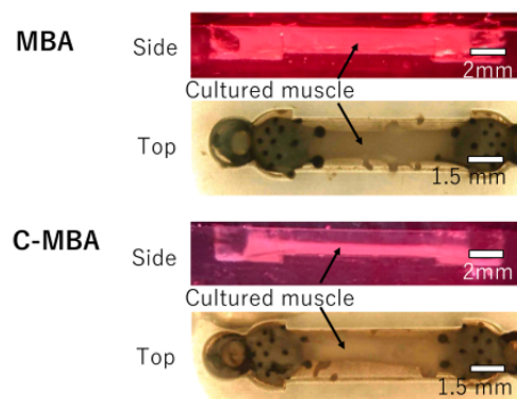


図4 遠心圧縮なし (MBA) 及び遠心圧縮あり (C-MBA) による骨格筋アクチュエータの作製結果

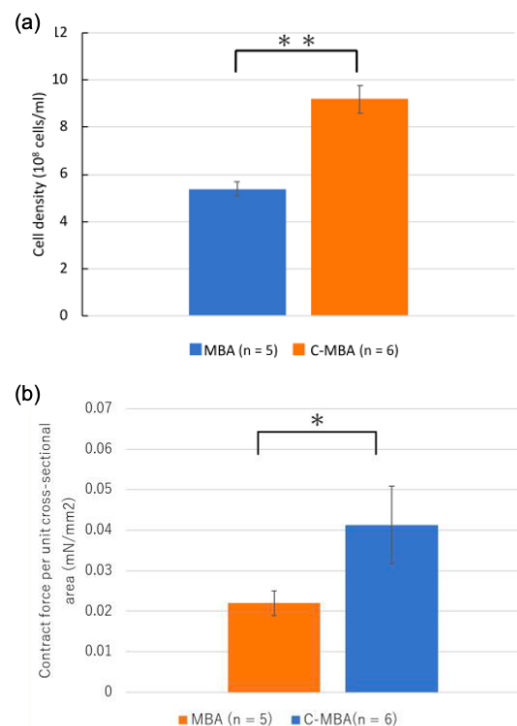


図5 細胞密度及び骨格筋の収縮力計測結果 (a) MBA 及び C-MBA の細胞密度 (b) MBA 及び C-MBA の収縮力

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Nomura Takuto, Takeuchi Masaru, Kim Eunhye, Huang Qiang, Hasegawa Yasuhisa, Fukuda Toshio	4. 巻 13
2. 論文標題 Development of High-Cell-Density Tissue Method for Compressed Modular Bioactuator	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Micromachines	6. 最初と最後の頁 1725 ~ 1725
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/mi13101725	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 該当する

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 0件/うち国際学会 4件）

1. 発表者名 Takuto Nomura, Masaru Takeuchi, Eunhye Kim, Toshio Fukuda, Yasuhisa Hasegawa
2. 発表標題 Development of Cultured Muscles with High Cell Density by Centrifugal Force in Three-dimensional Cell Culture
3. 学会等名 32nd 2021 International Symposium on Micro-NanoMechatronics and Human Science (MHS) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 野村匠永, 竹内大, 金恩恵, 福田敏男, 長谷川泰久
2. 発表標題 立体培養における遠心力による高細胞密度培養筋の作製
3. 学会等名 第39 回日本ロボット学会学術講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Takuto Nomura, Masaru Takeuchi, Eunhye Kim, Toshio Fukuda, Yasuhisa Hasegawa
2. 発表標題 Development of Multiple Connectable Bio-Actuator by Tendon Structures
3. 学会等名 2021 IEEE Workshop on Advanced Robotics and its Social Impact (ARSO) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Takuto Nomura, Masaru Takeuchi, Eunhye Kim, Toshio Fukuda, Yasuhisa Hasegawa
2. 発表標題 A Hybrid Tendon Structure Using Cell Density Gradient in Cultured Muscle
3. 学会等名 2022 International Symposium on Micro-NanoMechatronics and Human Science (MHS) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 野村 匠永, 竹内 大, 金恩恵, 福田 敏男, 長谷川 泰久
2. 発表標題 培養筋肉における細胞密度勾配による腱組織 再現手法の研究
3. 学会等名 第40回日本ロボット学会学術講演会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Eunhye Kim, Masaru Takeuchi, Takuto Nomura, Yasuhisa Hasegawa, Qiang Huang, Toshio Fukuda
2. 発表標題 Fabrication of PEDOT:PSS based Soft Sensor for Feedback Control of Modular Bio-actuator
3. 学会等名 2022 IEEE International Conference on Robotics and Automation (ICRA) (国際学会)
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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	竹内 大  (Takeuchi Masaru)  (20713374)	名古屋大学・工学研究科・助教    (13901)	

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
---------	---------