

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 19 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26242039

研究課題名(和文) 階層を貫く細胞サスペンション力学の新展開

研究課題名(英文) Advances in cell suspension mechanics based on the hierarchy structure

研究代表者

石川 拓司 (Ishikawa, Takuji)

東北大学・工学研究科・教授

研究者番号：20313728

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 33,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、「階層を貫く細胞サスペンション力学」を徹底的に追求し、実験・理論解析・数値シミュレーションの手法を統合することで、世界の他の研究グループの追従を許さない高みに引き上げることに成功した。そして、海洋微生物から人体の血球細胞にいたるまで、ナノスケールからマクロスケールまでの生命現象を解明し、生物流れに関わる工学・医工学技術の開発へと展開した。これらの成果は、30編の査読付き英文雑誌論文として公表した。

研究成果の概要(英文)：In this project, we have succeeded to construct a world leading ‘cell suspension mechanics based on the hierarchy structure’ by combining experiment, theory and numerical simulation. We have clarified many phenomena from nano to macro scale using various cells such as algae, bacteria and blood. Then, the obtained knowledge was utilized to develop devices for engineering and biomedical use. The results have been published as 30 peer review journal papers.

研究分野：生体力学

キーワード：バイオメカニクス 生体流体 モデル化 微生物 血液

1. 研究開始当初の背景

細胞が懸濁した液体である細胞サスペンションは、我々の身の周りに広く存在している。例えば、海洋微生物は海水中に懸濁しており、生態系の底辺を占めているため地球環境問題や漁業と密接に関わっている。工学的には、微生物はバイオリアクターとして医薬品や食品等の製造に利用されている。特に近年では、化石燃料からの脱却に向けたエネルギー対策と、二酸化炭素排出削減による地球温暖化の防止の目的で、微細藻類から精製するバイオ燃料が脚光を浴びている。人の体内に目を向けると、血液は赤血球などの有形成分を高濃度で含む細胞サスペンションであり、体内の物質輸送の根底を担っている。また、腸内には腸内フローラが形成されており、肥満や免疫機能にも大きな影響を及ぼすことが明らかになってきた。このように、細胞サスペンションが関連する学問分野・研究分野は多岐に渡り、この研究分野は幅広い産業に貢献する可能性を秘めている。

こうした細胞サスペンションがどのように流れ、物質を輸送するのか、また、細胞自身が増殖し、相互干渉して生命機能を発現するかを解明することは、生態系や地球環境の予測、バイオリアクターの高効率化、血液循環器系・消化器系の生理・病理現象の解明、新しい診断・治療方法の開発など、さまざまな環境問題・健康問題の解決に向けたブレークスルーを生み出すと期待される。しかしながら、従来の細胞サスペンションの研究は経験則に基づいて展開されるものがほとんどであり、サスペンション内の輸送現象や細胞分布などを予測し、制御することは極めて困難であった。こうした困難を克服すべく、我々は 10 年に渡って細胞サスペンション力学の創成に取り組んできた。

2. 研究の目的

本研究は、申請者が追求してきた、世界の最先端の研究レベルにある細胞サスペンション力学、とりわけ、分子・細胞レベルから連続体レベルまでの階層を貫く力学現象を徹底的に追求し、実験・理論解析・数値シミュレーションの手法を統合することで、世界の他の研究グループの追従を許さない高みに引き上げることを目指すものである。そして、海洋微生物から人体の血球細胞にいたるまで、ナノスケールからマクロスケールまでの生命現象の全体像を再現・解明し、生物流に関わる工学・医工学技術の開発・実現へと展開する。

3. 研究の方法

本研究課題では、分子スケールからマクロスケールまでの各階層の連続性にもとづく新しい探求手法として、革新的細胞サスペン

ション力学を構築する。これを先導的原理とする、細胞サスペンション解析プラットフォームを築く。そして、プラットフォームを用いて生体・生理・病理現象の解明・予測を行い、その知見にもとづく細胞操作技術、診断・治療技術の開発へと展開する。

4. 研究成果

(1) 分子スケールの研究

大腸菌の鞭毛運動を調べた研究 (Shimogonya et al. *Sci. Rep.* (2015)) において、鞭毛がスピンと旋回の 2 つの回転運動を行い、下図に示すマイクロな歳差運動を行うことを発見した。この成果は *Scientific Report* 誌に掲載され、*ASCII* 誌や財経新聞などで取り上げられた。この研究で得られた知見は、鞭毛を駆動する分子モーターの出力特性や、鞭毛基部にあるフックの固体力学特性を理解する上で重要である。

毛細血管内のがん細胞の接着過程を調べた研究 (Takeishi et al., *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* (2016)) では、がん細胞と内皮細胞間のリガンド・レセプタ結合によって、強固な接着を実現できることを示した。こうした知見は、がんの血行性転移を理解する上で有用である。

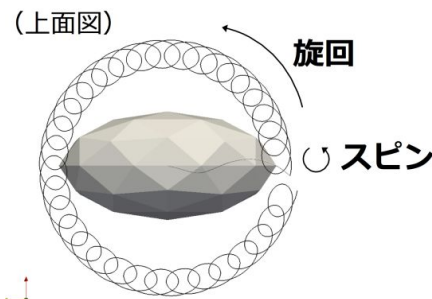


図 バクテリア鞭毛の歳差運動

(2) 細胞スケールの研究

せん断流れ中の精子の遊泳挙動を調べた研究 (Omori & Ishikawa, *Phys. Rev. E.* (2016)) では、下図に示すように、精子が壁面と流体力学的に干渉し、流れに逆らって泳ぐ走流性を示すことを明らかにした。この知見は、少量のサンプルから遊泳能の高い精子を分離する微小流体流路の開発等に適用できると考えられる。

また、変形能を有する遊泳繊毛虫の数値モデル化にも世界で初めて成功した (Ishikawa et al. *Proc. R. Soc. A* (2016))。このモデルを用いて重力下における遊泳を解析したところ、重力による細胞の変形という物理現象が、繊毛虫の走地性に影響を及ぼすことが明らかとなった。

重力下における赤血球の沈降現象を解析した研究 (Matsunaga et al. *J. Fluid Mech.* (2016)) においては、膜の弾性力と重力の比

を表すボンド数によって、沈降挙動を整理できることを示した。この知見は、医療診断に用いられる赤血球沈降速度の理解に役立つと考えられる。

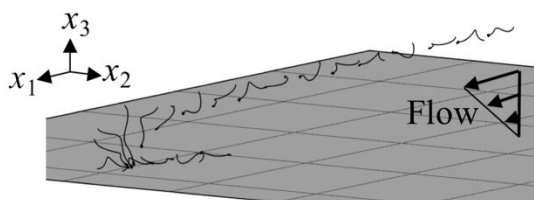


図 走流性を示す精子

(3) メソスケールの研究

遊泳細胞の協調運動を調べた研究 (Kyoya et al., *Phys. Rev. E* (2015)) では、まず始めに、大規模計算を可能とするシミュレーションコードを開発した。そのコードを用いてシミュレーションを行い、下図に示す協調遊泳構造を解析した。その結果より、協調遊泳が現れる原因は遠距離の流体力学相互作用ではなく、近距離の相互作用であることが明らかとなった。この知見は、長らく議論が続いていた協調遊泳構造の発生メカニズムを解明するものであり、重要である。

さらに、遊泳微生物の栄養摂取に関する解析コードも開発し、微生物サスペンション中の物質輸送現象を解析した (Ishikawa et al. *J. Fluid Mech.* (2016))。その結果、細胞数が増加することにより、栄養を摂取する速度が高くなることを示した。この知見は、懸濁液中の細胞の増殖を理解する上で有用である

細胞サスペンションのレオロジー特性を調べた研究 (Matsunaga et al. *J. Fluid Mech.* (2016)) では、体積率 40% に及ぶ濃厚懸濁液の解析に成功し、ずり流動化現象のメカニズムを明らかにした。

細動脈中のがん細胞の流動挙動を調べた研究 (Takeishi et al., *Phys. Rev. E* (2015)) においては、周囲の赤血球によってがん細胞が壁面に押し付けられる現象を報告した。この成果は、がん治療に役立つ知見として注目され、*Inside Science* などに取り上げられた。

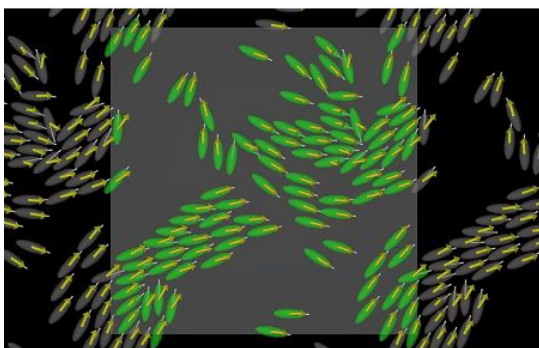


図 遊泳微生物の協調遊泳構造

(4) マクروسケールの研究

微細藻類の分布に及ぼすエアレーションの影響を調べた研究 (Nonaka et al. *Biol. Open* (2016)) では、細胞の遊泳能と背景流れが干渉することによって、容器上部に渦状の細胞分布が出現することを明らかにした。この知見は、流動条件下におけるマクروسケールの細胞分布を理解する上で有用である。

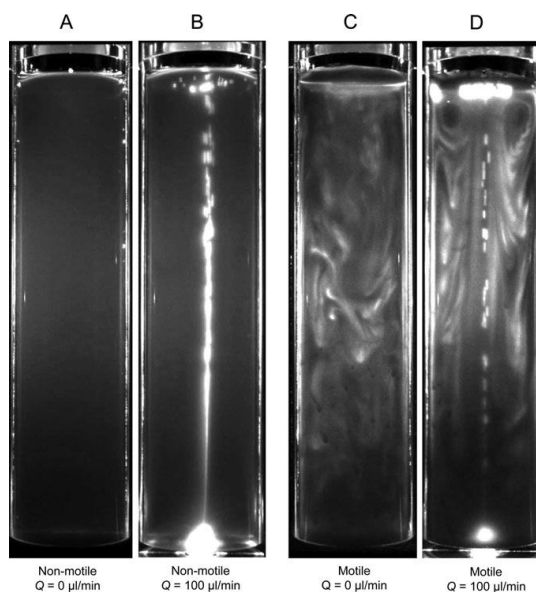


図 円筒容器内の細胞分布に及ぼす遊泳能の有無とエアレーションの影響

(5) 応用技術の開発

帆立て貝定理を破る細胞の運動挙動に着想を得て、下図に示す2つの球をばねでつなぐ形状のマイクロロボットの推進原理を開発した (Ishikawa & Vladimirov, *J. Fluids Eng.* (2015))。このマイクロロボットに2方向から流体振動力を作用させることで、壁面近傍を水平方向に推進させることに成功した。流体力を利用するマイクロロボットの推進機構は他に例がなく、今後の展開が期待される。

また、赤血球の壁面への付着を防ぐ、特殊な壁面形状の開発も行った (Saadatmand et al., *J. Biomech.* (2016))。下図に示すように、壁面にバイパス流路を設けることで、流路後方に形成される血漿層の厚みが増加することを示した。この技術は、血管内に挿入する医療器具や、血液を扱う装置の開発時に、血栓の形成を抑制する技術として役立つことが可能である。

さらに、微小流体流路中の混相流体や細胞サスペンションの挙動を観察する顕微鏡技術の開発にも取り組んだ (Kawano et al., *PLoS ONE* (2015))。Darkfield Internal Reflection Illumination (DIRI) を新たに顕微鏡に組み込むことで、微小流体流路の壁面と、気液界面や蛍光細胞を同時計測できることを示した。

この技術は、細胞サスペンションを操作する微小流体流路を設計・開発する上で、有用である。

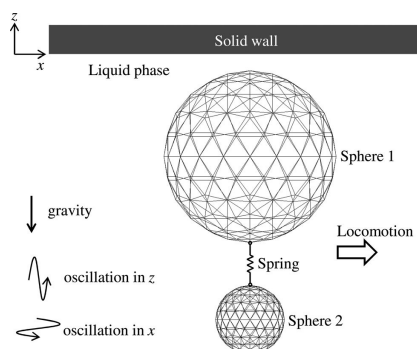


図 マイクロロボットの動作原理の模式図

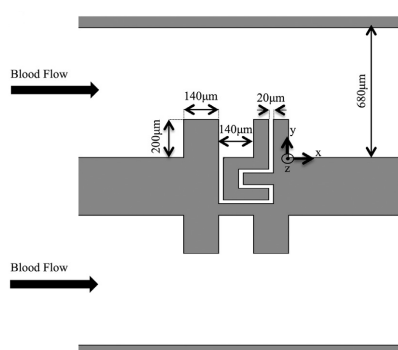


図 血漿層を増幅する壁面形状の模式図

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 30 件)

Hiroki Kamada, Yohsuke Imai, Masanori Nakamura, Takuji Ishikawa, and Takami Yamaguchi, Shear-induced platelet aggregation and distribution of thrombogenesis at the stenotic vessel, *Microcirculation*, 査読有, in press, 2017, DOI: 10.1111/micc.12355

KENJI KIKUCHI, TOMOFUMI HAGA, KEIKO NUMAYAMA-TSURUTA, HIRONORI UENO and TAKUJI ISHIKAWA, Effect of Fluid Viscosity on the Cilia-Generated Flow on a Mouse Tracheal Lumen, *Annals of Biomedical Engineering*, 査読有, Vol.45, No.4, 2017, pp.1048-1057, DOI: 10.1007/s10439-016-1743-y

Jinyou Yang, Yuji Shimogonya, Takuji Ishikawa, Mixing and pumping functions of the intestine of zebrafish larvae, *Journal of Theoretical Biology*, 査読有, Vol.419, 2017, pp.152-158, DOI: 10.1016/j.jtbi.2017.02.004

Yoshihiro Kawano, Kana Namiki, Atsushi Miyawaki, Takuji Ishikawa, Extending Whole Slide Imaging: Color Darkfield Internal Reflection Illumination (DIRI) for Biological Applications, *PLoS ONE*, 査読有, Vol.12, No.1, 2017, pp.e0167774-1-e0167774-10, DOI: 10.1371/journal.pone.0167774

Taimei Miyagawa, Yohsuke Imai, Shunichi Ishida, and Takuji Ishikawa, Relationship between gastric motility and liquid mixing in the stomach, *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 査読有, Vol.311, No.6, 2016, pp.G1114-G1121, DOI: 10.1152/ajpgi.00346.2016

D. Matsunaga, Y. Imai, C. Wagner and T. Ishikawa, Reorientation of a single red blood cell during sedimentation, *Journal of Fluid Mechanics*, 査読有, Vol.806, 2016, pp.102-128, DOI: 10.1017/jfm.2016.601

Shunichi Ishida, Yohsuke Imai, Yuki Ichikawa, Stephanie Nix, Daiki Matsunaga, Toshihiro Omori & Takuji Ishikawa, A numerical model of a red blood cell infected Plasmodium falciparum malaria: coupling cell mechanics with ligand-receptor interactions, *Science and Technology of Advanced Materials*, 査読有, Vol.17, Issue1, 2016, pp.454-461, DOI: 10.1080/14686996.2016.1211462

Naoki Takeishi, Yohsuke Imai, Shunichi Ishida, Toshihiro Omori, Roger D. Kamm, and Takuji Ishikawa, Cell adhesion during bullet motion in capillaries, *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 査読有, Vol.311, No.2, 2016, pp.H395-H403, DOI: 10.1152/ajpheart.00241.2016

M. Saadatmand, Y. Shimogonya, T. Yamaguchi, T. Ishikawa, Enhancing cell-free layer thickness by bypass channels in a wall, *Journal of Biomechanics*, 査読有, Vol.49, Issue11, 2016, pp.2299-2305, DOI: 10.1016/j.jbiomech.2015.11.032

S. Nix, Y. Imai, T. Ishikawa, Lateral migration of a capsule in a parabolic flow, *Journal of Biomechanics*,

査読有, Vol.49, Issue11, 2016, pp.2249-2254

DOI: 10.1016/j.jbiomech.2015.11.038

Yohsuke Imai, Toshihiro Omori, Yuji Shimogonya, Takami Yamaguchi, Takuji Ishikawa, Numerical methods for simulating blood flow at macro, micro, and multi-scales, Journal of Biomechanics, 査読有, Vol.49, Issue11, 2016, pp.2221-2228, DOI: 10.1016/j.jbiomech.2015.11.047

Toshihiro Omori and Takuji Ishikawa, Upward swimming of a sperm cell in shear flow, Physical Review E, 査読有, Vol.93, Issue3, 2016, pp.032402-1-032402-9 DOI: 10.1103/PhysRevE.93.032402

Ishikawa, T., Kajiki, S., Imai, Y., and Omori, T., Nutrient uptake in a suspension of squirmers, Journal of Fluid Mechanics, 査読有, Vol.789, 2016, pp.481-499 DOI: 10.1017/jfm.2015.741

Y. Nonaka, K. Kikuchi, K. Numayama-Tsuruta, A. Kage, H. Ueno, T. Ishikawa, Inhomogeneous distribution of Chlamydomonas in a cylindrical container with a bubble plume, Biology Open, 査読有, Vol.5, 2016, pp.154-160 DOI: 10.1242/bio.015669

T. Ishikawa, T. Tanaka, Y. Imai, T. Omori and D. Matsunaga, Deformation of a micro torque swimmer, Proceedings of the Royal Society A, 査読有, Vol.472, 2016, pp.20150604-1-20150604-20 DOI: 10.1098/rspa.2015.0604

D. Matsunaga, Y. Imai, T. Yamaguchi, T. Ishikawa, Rheology of a dense suspension of spherical capsules under simple shear flow, Journal of Fluid Mechanics, 査読有, Vol.786, 2016, pp.110-127, DOI: 10.1017/jfm.2015.666

K. Kyoya, D. Matsunaga, Y. Imai, T. Omori, and T. Ishikawa, Shape matters: Near-field fluid mechanics dominate the collective motions of ellipsoidal squirmers, Physical Review E, 査読有, Vol.92, 2015, pp.0630271-1-0630271-6 DOI: 10.1103/PhysRevE.92.063027

Yuji Shimogonya, Yoichiro Sawano, Hiromichi Wakebe, Yuichi Inoue,

Akihiko Ishijima & Takuji Ishikawa, Torque-induced precession of bacterial flagella, Scientific Reports, 査読有, Vol.5, 2015, pp.18488-1-18488-8 DOI: 10.1038/srep18488

Naoki Takeishi, Yohsuke Imai, Takami Yamaguchi, and Takuji Ishikawa, Flow of a circulating tumor cell and red blood cells in microvessels, Physical Review E, 査読有, Vol.92, 2015, pp.063011-1-063011-6, DOI: 10.1103/PhysRevE.92.063011

Takuji Ishikawa, V. A. Vladimirov, A Stepping Microrobot Controlled by Flow Oscillations, Journal of Fluids Engineering, 査読有, Vol.137, 2015, pp.084501-1-084501-3 DOI: 10.1115/1.4029840

⑳ Yoshihiro Kawano, Chino Otsuka, James Sanzo, Christopher Higgins, Tatsuo Nirei, Tobias Schilling, Takuji Ishikawa, Expanding Imaging Capabilities for Microfluidics: Applicability of Darkfield Internal Reflection Illumination (DIRI) to Observations in Microfluidics, PLOS ONE, 査読有, Vol.10, 2015, pp.e0116925-1- e0116925-19 DOI: 10.1371/journal.pone.0116925

㉑ Toshihiro Omori, Yohsuke Imai, Kenji Kikuchi, Takuji Ishikawa, and Takami Yamaguchi, Hemodynamics in the microcirculation and in microfluidics, Annals of Biomedical Engineering, 査読有, Vol.43, 2015, pp.238-257 DOI: 10.1007/s10439-014-1180-8

㉒ Takuji Ishikawa, and T. J. Pedley, Dispersion of model microorganisms swimming in a nonuniform suspension, Physical Review E, 査読有, Vol.90, 2014, pp.033008-1-033008-8 DOI: 10.1103/PhysRevE.90.033008

㉓ D. Matsunaga, Y. Imai, T. Yamaguchi and T. Ishikawa, Deformation of a spherical capsule under oscillating shear flow, Journal of Fluid Mechanics, 査読有, Vol.762, 2014, pp.288-301 DOI: 10.1017/jfm.2014.649

㉔ D. Matsunaga, Y. Imai, T. Omori, T. Ishikawa, T. Yamaguchi, A full GPU implementation of a numerical method for simulating capsule suspensions,

Journal of Biomechanical Science and Engineering, 査読有, Vol.9, 2014, pp.14-00039-1-14-00039-16
DOI: 10.1299/jbse.14-00039

- ②⑥ S. Nix, Y. Imai, D. Matsunaga, T. Yamaguchi, and T. Ishikawa, Lateral migration of a spherical capsule near a plane wall in Stokes flow, Physical Review E, 査読有, Vol.90, 2014, pp.043009-1-043009-44
DOI: 10.1103/PhysRevE.90.043009
- ②⑦ Naoki Takeishi, Yohsuke Imai, Keita Nakaaki, Takami Yamaguchi & Takuji Ishikawa, Leukocyte margination at arteriole shear rate, Physiological Reports, 査読有, Vol.2, 2014, pp.e12037-1- e12037-8
DOI: 10.14814/phy2.12037
- ②⑧ Hironori Ueno, Khanh Huy Bui, Takuji Ishikawa, Yohsuke Imai, Takami Yamaguchi, and Takashi Ishikawa, Structure of Dimeric Axonemal Dynein in Cilia Suggests an Alternative Mechanism of Force Generation, Cytoskeleton, 査読有, Vol.71, 2014, pp.412-422
DOI: 10.1002/cm.21180
- ②⑨ Noriaki matsuki, Takuji Ishikawa, Shingo Ichiba, Naoki Ujike, Takami Yamaguchi, Oxygen supersaturated fluid using fine micro/nanobubbles, International Journal of Nanomedicine, 査読有, Vol.9, 2014, pp.4495-4505
DOI: 10.2147/IJN.S68840
- ③⑩ T. Omori, T. Ishikawa, Y. Imai and T. Yamaguchi, Hydrodynamic interaction between two red blood cells in simple shear flow: its impact on the rheology of a semi-dilute suspension, Computational Mechanics, 査読有, Vol.54, 2014, pp.933-941
DOI: 10.1007/s00466-014-0997-1

[学会発表](計 91 件)

Takuji Ishikawa, Modeling and Understanding Biomedical Flows, 2nd Global Conference on Biomedical Engineering (GCBME), 2016 年 8 月 17 日, Taipei(Taiwan)

Takuji Ishikawa, Biological flow studies from cellular to macro scale, International Conference on Future Healthcare and Economic Development in Southeast Asia, 2016 年 8 月 16 日,

Tainan(Taiwan)

Takuji Ishikawa, Deformation and Motility of Cells, Summer School 2016 Active Complex Matter, 2016 年 7 月 13 日, Cargese, Corsica Island(France)

Takuji Ishikawa, Hydrodynamic regulation and control of a micro-swimmer, The 3rd International Workshops on Advances in Computational Mechanics, 2015 年 10 月 14 日, KFC Hall&Rooms(Sumida-ku, Tokyo, Japan)

Takuji Ishikawa, Transport Phenomena in Suspensions of Swimming Microorganisms, The 4th Korea-Japan Joint Symposium on Dynamics & Control, 2015 年 5 月 22 日, Busan(Korea)

T. Ishikawa, Biological Flow Studies at the Cellular Scale, The Sixth International Symposium on Aero Aqua Bio-mechanisms(ISABMEC2014), 2014 年 11 月 14 日, Honolulu(USA)

T. Ishikawa, K. Kyoya, D. Matsunaga, Y. Imai, T. Omori, Collective motions of ellipsoidal squirmers in a dense suspension, 7th World Congress of Biomechanics, 2014 年 7 月 7 日, Boston(USA)

他 国際学会 62 件、国内学会 22 件

6 . 研究組織

(1)研究代表者

石川 拓司 (ISHIKAWA, Takuji)
東北大学・大学院工学研究科・教授
研究者番号 : 20313728

(2)研究分担者

今井 陽介 (IMAI, Yohsuke)
東北大学・大学院工学研究科・特任准教授
研究者番号 : 60431524