

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 22 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26286030

研究課題名(和文)細胞折紙 - 折紙の折畳み技術を利用した細胞の3次元組織の構築

研究課題名(英文)Cell Origami-3D cell-laden structures using origami folding technique

研究代表者

豊富 香織 (Shigetomi, Kaori)

北海道大学・その他部局等・その他

研究者番号：90431816

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,700,000円

研究成果の概要(和文)：1) 微細加工技術を用いて細胞の足場となるマイクロプレートを作製し細胞を折り紙のように折ることで、3次元立体を作製する手法を確立した。2) マイクロプレートに磁性体を埋め込み磁場をかけることで、細胞の形状変化を可能とするアクティブデバイスを作製した。3) 幹細胞を立体的に培養しすると骨に分化しやすいことがわかった。4) NIH/3T3とHepG2を立体的に共培養することで、平面状に共培養するより、HepG2のアルブミンの生成が増えることがわかった。5) NIH/3T3を培養した後に、折り畳み展開を繰り返すことで、細胞内のアクチンの配向に影響を及ぼすことがわかった。

研究成果の概要(英文)：1) We successfully produced origami-inspired method to generate 3D cell laden microstructures using MEMS technique. 2) Magnetic material is embedded in the microplate, and a magnetic field is applied from the outside to control the shape and timing of folding, which makes it possible to change the shape of active cells in the cell culture process. 3) The stem cells dedifferentiated by adipocytes were cultured on the microplate and are folded. We found that the cells differentiated more likely into bones than when cultured on a flat surface. 4) We successfully produced 3D microstructures of co-culture fibroblasts (NIH/3T3 cells) and hepatocytes (HepG2 cells). Measurement of secreted albumin confirmed HepG2 function in the 3D microstructures at 5 and 7 days after formation. 5) We found that repeating folding and deployment processes for NIH/3T3 that were cultured on the active micro device affected the orientation of actin in the cells.

研究分野：折紙工学

キーワード：折紙工学 MEMS 再生医療

## 1. 研究開始当初の背景

再生医療において、幹細胞は有望な細胞源として期待され、その分化に影響するファクターを調べることは、再生医療の実現化にとって極めて重要である。近年、細胞の接着面積などの周囲環境が、種々の細胞の接着・増殖、そして分化などの機能に影響を与えていることがわかってきている。例えば、間葉系幹細胞において、単一細胞の接着面積が狭いときには、脂肪に分化し、広いときには骨に分化するという結果が報告されている。しかしながら、これまでの細胞のマイクロパターンング技術では、2次元平面上で細胞の培養接着面積を変えることしかできず、細胞を生体に近い状態である立体(3次元)的な環境下で、形状などの周囲環境変化と細胞の機能発現・分化に関する解析は不可能であった。

我々は、これまでMEMSを利用した微細加工技術を用いてマイクロプレートを作製し、それを単一細胞で操作する方法や異種細胞の細胞間相互作用の計測ツールとして利用する研究してきた。さらに、マイクロプレートを細胞の牽引力を用いて折り畳むことで、3次元的な組織を人工的に構築する“細胞折紙”という技術を提案し、開発してきた。細胞折紙技術により、細胞の3次元構造の構築が可能になったが、「細胞“が”折り畳む」ため、できあがる形状は細胞の牽引力によって受動的に決まるものであった。そこで、分担者の一人である岩瀬による磁性体を外部磁場により組み立てる技術を取り入れることで、能動的に「細胞“を”折り畳む」という発展した“細胞折紙”が可能であると考えた。

## 2. 研究の目的

本研究では、微細加工技術と折紙工学の折り畳み技術を利用して、細胞の足場となるマイクロプレートを作製し、細胞を培養した後に折り畳むことにより、効率的な細胞の3次元立体構造の形成・能動的な立体形状の変化が可能なる手法を確立する。プレートに磁性体を埋め込み外部から磁場をかけることで、折り畳む形状・タイミングを制御し、従来困難であった細胞培養過程での能動的な細胞の形状変化を可能とする。これにより、細胞の立体的な形状変化が細胞の機能発現や分化に及ぼす影響や、単一細胞レベルのミクロな形状変化と組織レベルのマクロな形態形成の相互作用についての解析・解明が可能となる。本研究の結果を通し、再生医療分野で求められている、効率

的な幹細胞の分化による3次元組織構築のための次世代技術の創製を目指す。

## 3. 研究の方法

折畳み・展開可能な磁性体入りマイクロプレートの作製は、我々がこれまで確立したパリレン樹脂を用いたマイクロプレートの作製法を応用し、パリレンのプレート間に磁性体(パーマロイ)をパターンする。作製したマイクロプレート上のみ細胞を培養する方法としては、ガラス基板上に細胞の吸着を防ぐことができるポリマー(2-メタクリロイルオキシメチル・)を挿入したマイクロプレートを作製する。

外部磁場源として、ハンドタイプの永久磁石(ネオジム磁石)を利用した。より精度良く一度に多くのプレートをマイクロオーダーで動かすために、顕微鏡環境下で使用でき、均一な磁場を作り出すヘルムホルツコイルを導入した。

## 4. 研究成果

本研究では、以下の成果を得た。

- 1) 微細加工技術を用いて、細胞の足場となるマイクロプレートを作製し、細胞を培養した後に、折り紙のように折ることで、効率的に細胞の3次元立体構造を作製する手法を確立した。
- 2) マイクロプレート内に磁性体を埋め込み外部から磁場をかけることで、折り畳む形状・タイミングを制御し、従来困難であった細胞培養過程での能動的な細胞の形状変化を可能とするマイクロアクティブ折紙デバイスを作製した。
- 3) 折り紙技術により構築した3次元立体構造が組織形成における細胞機能発現や分野への影響があるかを解析し、マイクロプレート上に脂肪細胞により脱分化した幹細胞が折り畳まれ、立体的に培養し、骨に分化する分化誘導培地を加えると、細胞は、平面で培養したときに比べて、骨に分化しやすいことがわかった。
- 4) マイクロプレート上に異なる種類の細胞を培養し多細胞の3次元立体構造の作製に成功した。NIH/3T3(繊維芽細胞)とHepG2(ヒト肝癌由来細胞)を用いて、立体的に共培養することで、平面状に共培養するより、HepG2のアルブミンの生成が増えることがわかった。細胞を立体的に共培養することは、細胞がより生体の環境に近い状態となり、細胞の機能を向上させることに重要であることがわかった。(論文投稿中)
- 5) マイクロアクティブデバイスを用いて、NIH/3T3細胞を培養した後に、折り畳み、展開を繰り返すことで、細胞内のアクチンの配向に影響を及ぼすことがわかった。(論文投稿中)

## 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 3 件)

1. 繁富(栗林)香織, 「医療分野への応用を目指した折り紙技術の最前線」折紙探偵団 通巻 162 号, P13-15, 2017 年 3 月 25 日発行 (査読無)
2. 繁富(栗林)香織, 「折り紙が命を救う」日本機械学会誌 2016 10 Vol.119 No.1175 P30-31 (査読無)
3. 繁富(栗林)香織, 「マイクロプレートを用いた 3 次元組織の構築」3 次元細胞システム設計論(組織工学ライブラリ-マイクロロボティクスとバイオの融合), P106 - 117, 2016 年 8 月 26 日発行 談話室「細胞折紙と医療」生物工学会誌 2016 Vol.94 No.5, P282 - 283, 2016 年 5 月 25 日発行 (査読無)

〔学会発表〕(計 34 件)

(招待講演)

1. Kaori Kuribayashi-Shigetomi, “Formation of 3D co-culture microstructures using MEMS and Origami folding techniques”, 2016 Origami-Based Modeling and Analysis, P11, Meiji University (Tokyo, Bunkyo-ku), Japan, November.10, 2016
2. 繁富(栗林)香織, “折り紙の折り畳み技術を用いたものづくりへの挑戦—医療分野への応用—”, ものづくりライフイノベーション 最先端科学技術融合セミナー第一回, 横浜国立大学(神奈川県横浜市), 2017 年 3 月 16 日
3. 繁富(栗林)香織, “ミクロナ折り紙が命を救う—ステントグラフトと再生医療への応用—”, 札幌市青少年科学館 冬の特別展 2017「小さな世界をみてみたい」, 札幌市青少年科学館(北海道札幌市), 2017 年 1 月 15 日
4. 繁富(栗林)香織, “折紙工学を利用した宇宙の展開構造物の開発及び新渡戸スクールについての紹介”, 北海道大学における超小型衛星開発と利用に関するワークショップ, 北海道大学(北海道札幌市), 2016 年 10 月 28 日
5. 繁富(栗林)香織, “細胞で折り紙をして自在に中空構造を作る”, 日本分析化学会第 65 年次会 展望とトピック, 北海道大学(北海道札幌市), 2016 年 9 月 16 日
6. 繁富(栗林)香織, “ORIGAMI×医療～日本の伝統技術が命を救う”, TED x Sapporo 2016 「Relay your story」, 北翔大学(北海道札幌市), 2016 年 7 月 3 日
7. Kaori Kuribayashi-Shigetomi, “Cell origami-Producing 3D cell-laden microstructures using the origami folding technique toward its applications in medical field”, 2016 The 2<sup>nd</sup> Seminar for Young Researchers, 北九州工業大学(福岡県北九州市), 2016 年 2 月 12 日
8. 繁富(栗林)香織, “細胞折紙技術の生物学、医療への応用”, 文部科学省 現象数理学共同利用・共同研究集会「文理融合を目指した折紙科学研究」, 明治大学(東京都中野区), 2015 年 11 月 12 日
9. 繁富(栗林)香織, “細胞の折り紙: 折り紙の折畳み技術と細胞牽引力を駆動源として用いた 3 次元組織構築”, 医用アクチュエーションの最近の話題, 北海道大学(北海道札幌市), 2015 年 9 月 15 日
10. 繁富(栗林)香織, “細胞折紙技術を用いた 3 次元立体組織の構築～再生医療への応用～”, 第 1 回北海道ナノバイオ研究会(HNB)シンポジウム, 北海道大学(北海道札幌市), 2015 年 8 月 18 日
11. 繁富(栗林)香織, “折紙工学の挑戦～医療器具と再生医療への応用”, 未来へのバイオ技術勉強会「医療を変革する細胞作製と画像クラスタリング」, バイオインダストリー協会(東京都中央区), 2015 年 6 月 16 日
12. 繁富(栗林)香織, “細胞の牽引力と折り紙の折畳み技術を用いた立体構造の構築”, 分子ロボティクス研究会定例会”分子ロボットの知能～ロジカルなシステムをいかに構築するか～”, 北海道大学(北海道札幌市), 2015 年 5 月 23 日
13. 繁富(栗林)香織, “細胞で折り紙! -細胞の立体構造の構築と再生医療への応用-”, 第 13 回生物計測化学懇談会, 北海道大学(北海道札幌市), 2015 年 5 月 13 日
14. Kaori Kuribayashi-Shigetomi, “Bio-origami engineering-applications in medical fields using origami folding techniques”, 2014 IEEE EMBS Micro and Nanotechnology in Medicine, P13, Hawaii, USA, 8-12 Dec. 2014
15. 繁富(栗林)香織, “折り紙の技術の可能性-医療への応用”, 第 4 回次世代の物質科学・ナノサイエンス を探る,

- 北海道大学 (北海道札幌市), 2015 年 1 月 9 日
16. 繁富 (栗林) 香織, “バイオ・医療へのマイクロ・ナノ加工の応用”, ナノテクノロジープラットフォーム, 第 1 回地域セミナー in 北海道, P80, 北海道大学 (北海道札幌市), 2014 年 10 月 31 日
  17. 繁富 (栗林) 香織, “マイクロプレートデバイスを用いた細胞操作”, 第 3 回蛍光イメージングミニシンポジウム, 札幌北海道大学 (北海道札幌市), 2014 年 9 月 24 日
  18. Hiroaki Onoe, “Microfluidic Technologies for Constructing 3D Cell-Laden Hydrogel Structures”, The 4th International Conference on Electronic Materials and Nanotechnology for Green Environment (ENGE2016), Jeju, Korea, Nov. 6-9, 2016.
  19. 尾上弘晃, “組織構築と移植医療のための細胞ファイバ技術,” 第 67 回日本細胞生物学会大会, タワーホール (東京都江戸川区), Jun. 30-Jul. 2, 2015.
  20. Hiroaki Onoe, “Hydrogel Microfibers for Biomedical Applications,” 1st Korea-Japan Biomedical Technology Symposium, Tokyo University of Agriculture and Technology (Tokyo, Fucyu, Japan), Jun. 12, 2015.
  21. Eiji Iwase, “Flexible Devices using Rigid Materials,” 2016 Japan-America Frontiers of Engineering (JAFOE) Symposium, Irvine, California, USA, June 16-18, 2016.

(国際学会)

22. Q.He, T. Okajima, Kaori Kuribayashi-Shigetomi, “Simple and rapid formation of 3D co-culture cell laden microstructures by using cell origami technique”, microTAS, Dublin, Ireland, 9-13, October, 2016
23. Noriyuki Fukui, Kaori Kuribayashi-Shigetomi, Hiroaki Onoe, Eiji Iwase, “Observation of Mechanical Stimulus Effect on Cell Culture using Magnetically-Driven Structures,” Proceedings of the International Symposium on Micro-Nano Science and Technology 2016 (MNST2016), SaP-22, University of Tokyo (Tokyo, Bunkyo-Japan), December 16-18, 2016.
24. Kaori Kuribayashi-Shigetomi, “3D Co-Culture System Using Cell Origami Technique”, The 8<sup>th</sup> Asian-Pacific Conference on Biomechanics AP Biomech

25. Kaori Kuribayashi-Shigetomi, “Cell Origami: Producing 3D tissue using origami folding technique”, The 6<sup>th</sup> International Meeting on Origami in Science, Mathematics and Education, P81, Meiji University (Tokyo, Bukyo-ku, Japan), August 10-13, 2014
26. Kaori Kuribayashi-Shigetomi, “Self-folding of 3D cell-laden microinstructions using origami folding and cell traction forces”, 7th World Congress of Biomechanics, Boston, USA, July 6-11, 2014

(国内学会)

27. 繁富 (栗林) 香織, “マイクロ・ナノ折紙工学-バイオメテイクスへの応用”, 日本応用数理学会 2016 年 研究部会連合発表会, P6, 神戸学院大学 (兵庫県神戸市), 2016 年 3 月 4-5 日
28. 繁富 (栗林) 香織, 何 倩, “マイクロ流路内での 3 次元立体組織構造の構築”, 第 28 回代用臓器・再生医療研究総会次大会, P8, 北海道大学 (北海道札幌市), 2016 年 2 月 27 日
29. 福井規之, 繁富 (栗林) 香織, 尾上弘晃, 岩瀬英治, “磁気駆動型プラットフォームを用いた力学的刺激下での細胞培養, Cell Culture under Mechanical Stimulus using a Magnetic Drive Platform”, 日本機械学会第 28 回倍おエンジニアリング講演会, 1D23, 東京大学 (東京都目黒区), 2016 年 1 月 9-10 日
30. 福井規之, 繁富 (栗林) 香織, 尾上弘晃, 岩瀬英治, “培養器内に設置可能な力学的刺激用細胞培養プラットフォーム”, 科学とマイクロ・ナノシステム学会第 32 回研究会, 3P13, 北九州国際会議所 (福岡県北九州市), 2015 年 10 月 26-27 日
31. 繁富 (栗林) 香織, 何 倩, “折り紙の折畳み技術を用いた多細胞培養システム”, 2015 年度日本機械学会年次大会, P37, 北海道大学 (北海道札幌市) 2015 年 9 月 13-16 日
32. 福井規之, 繁富 (栗林) 香織, 尾上弘晃, 岩瀬英治, “磁気駆動による多種力学的刺激可能な細胞培養プラットフォーム, Various Mechanical Stimulus Platform of Cell Culture using Magnetic Actuation”, 日本機械学会 関東学生会 第 54 回学生員卒業研究発表講演会, No.1704, 横浜国立大学 (神奈川県横浜市), 神奈川, 2015 年 3 月 20 日

33. 何 倩, 惠 淑萍, 繁富(栗林)香織, “Co-culture system using cell origami technique”, 日本応用数理学会, 明治大学(東京都中野区), 2015年3月6日
34. 何 倩, 惠 淑萍, 繁富(栗林)香織, “Formation of 3D microstructure for HepG2 and 3T3 cells co-culture using cell origami”, 第27回 代用臓器・再生医療研究会総会, P12, 北海道大学(北海道札幌市), 2015年2月28日

〔図書〕(計 1 件)

1. 繁富(栗林)香織, 「マイクロプレートと折り紙技術を用いた細胞操作」三次元ティッシュエンジニアリング, P159 - 163, 2015年2月24日発行, 美研クリエイティブセンター

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
出願年月日:  
国内外の別:

取得状況(計 0 件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
取得年月日:  
国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等賞

1. 繁富(栗林)香織, コスモ・バイオ学術論文賞, 2015年8月19日
2. Kaori Kuribayashi-Shigetomi, People's choice Young Faculty Presentation, 2014 IEEE EMBS Micro and Nanotechnology in Medicine, Hawaii, 8-12 Dec. 2014

新聞

1. 「細胞組織3次元で再現」サイエンスView 医療も宇宙もおりがみで 読売新聞 朝刊 2017年2月19日
2. 「ORIGAMI×医療～日本の伝統技術が命を救う」読売新聞 さっぽろライフマガジン ZERO11 8月号 2016年7月23日

3. 「折り紙を折って開く未来～再生医療」北陸中日新聞 popress 2015年11月6日
4. 「女性研究者サイエンスグラント受賞」北海道新聞 朝刊 2015年6月13日
5. 「折り紙工学 世界が注目」日本経済新聞 朝刊 2015年1月25日
6. 「折り紙が技術を変える」朝日新聞 朝刊 2014年10月13日
7. 「数学,工学に应用される折紙」読売新聞 朝刊 2014年9月5日
8. 「ORIGAMIで広がる未来」印刷新聞 朝刊 2014年9月18日

テレビ

1. サイエンスゼロ #558 「折り紙大進化！宇宙から医療まで」NHK 2017年3月26日
2. UN MONDE EN PLUS LE CODE ORIGAMI 「Der origami code」フランス, ドイツ制作 2015年10月15日
3. ガリレオ X #96 「人生は再生出来るか？生物から見えた形作りの秘密」BS フジ 2015年3月2日
4. マネーの羅針盤 #141 年末拡大版 「ニッポン力で世界に挑め！」テレビ東京 2014年12月27日
5. 「High-Tech-Origami」NHK 国際放送 2014年4月1日

6. 研究組織

(1) 研究代表者

繁富 香織 (Kaori SHIGETOMI)  
北海道大学・高等教育推進機構・特任准教授  
研究者番号: 90431816

(2) 研究分担者

岩瀬 英治 (Eiji IWASE)  
早稲田大学・理工学術院・准教授  
研究者番号: 70436559

尾上 弘晃 (Hiroaki ONOE)  
慶應義塾大学・理工学部・准教授  
研究者番号: 30548681

(3) 連携研究者

( )  
研究者番号:

(4) 研究協力者

( )

