

令和 3 年 5 月 21 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17H03194

研究課題名(和文)細胞折紙技術による形状変化・力学刺激に対する形態形成メカニズム解析システムの構築

研究課題名(英文)Construction of morphogenetic mechanism analysis system for shape change and mechanical stimulation by cell origami folding technique

研究代表者

繁富 香織 (Shigetomi, Kaori)

北海道大学・高等教育推進機構・特任准教授

研究者番号：90431816

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,652,992円

研究成果の概要(和文)：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、形態形成の過程でおこる細胞の折り畳みによる形状変化や生体内における力学的刺激と形態形成のメカニズムの関係の解明を目指した。研究期間中に磁性体入りマイクロプレートを作製し、プレート上に細胞を培養した後に、顕微鏡下で磁場を用いてマイクロプレートを折り畳み・展開し、細胞の形状を立体的に制御することに成功した。磁性体を用いることで、非接触で駆動できることから、配線などは必要なく、細胞の形状の変えることが可能になった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により細胞の立体的な形状変化や力学刺激が細胞の3次元形態形成や分化に及ぼす影響を解析・解明が可能となる。本研究は、細胞発生学の基礎研究分野のみならず、再生医療分野において効率的に幹細胞を分化させることができる次世代の技術に応用することが可能である。

研究成果の概要(英文)：In this study, we use microfabrication technology and folding technology of origami engineering to create microplates that serve as scaffolds for cells, and by folding the cells after culturing them, the shape changes due to the folding of the cells during the process of morphogenesis. We aimed to elucidate the relationship between mechanical stimulation and the mechanism of morphogenesis in vivo. During the research period, we produced a magnetic microplate, cells were cultured on the plate, and then the microplate was folded and unfolded using a magnetic field under a microscope, and the shape of the cells was successfully controlled three-dimensionally. By using a magnetic material, it can be driven in a non-contact manner, so it is possible to change the shape of cells without the need for wiring.

研究分野：折紙工学

キーワード：折紙工学 Bio-MEMS 細胞 再生医療

1. 研究開始当初の背景

長年、発生生物学では、形態形成は特有の遺伝子が支配していると考えられてきたが、近年、細胞の増殖や分化の過程でおこる折り畳みによる形状変化や生体内における力学的刺激が、生物の形態形成の遺伝子を調整しているというこれまでとは異なる形態形成のメカニズムを解明しようとする研究が国内外で盛んに行われるようになってきている。しかしながら、従来の実験系では、培養した細胞や細胞シートをさまざまな形状に変えることは不可能であった。また、細胞に引張・圧縮意外の生体内でおこっている曲げやねじりといった多種力学的刺激を印加できるシステムがなかった。

研究代表者は、これまで、細胞の立体組織構造の構築を目指して、微細加工技術と折紙工学技術を用いて、マイクロサイズの山・谷の折り目を加工した薄膜構を作製し、細胞シートを折りたたむ技術やマイクロプレートに細胞を培養し、細胞の牽引力を用いてプレートを折り畳むことで、3次元的な組織を人工的に構築する“細胞折紙”技術を開発してきた。これまでの研究により、細胞シートや単一細胞を折り紙のように折り畳むことで細胞の形状を簡単に制御できることがわかった。さらに、細胞自身の牽引力により自発的に立体を作製することがわかった。これにより、従来困難であった培養過程で、細胞が立体的(3D)に形状の変化することが可能になり、それに伴う発生・形態形成に及ぼす影響を解析・解明することができると考えた。

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、形態形成の過程でおこる細胞の折り畳みによる形状変化や生体内における力学的刺激と形態形成のメカニズムの関係の解明を目指す。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、これまで困難であった細胞に多種力学的刺激を印加することが可能になる。これにより、細胞の立体的な形状変化や力学刺激が細胞の3次元形態形成や分化に及ぼす影響を解析・解明が可能となる。本研究は、細胞発生学の基礎研究分野のみならず、再生医療分野において効率的に幹細胞を分化させることができる次世代の技術に応用することが可能である。

3. 研究の方法

細胞に対する多種力学的刺激として、曲げ、引張り、ねじり刺激を考えた (Fig.1)。本研究では、磁場による磁気モーメントにより柔らかい構造を変形させ、細胞に力学的刺激を与えることとした (Fig.2)。細胞を培養する表面にはシリコンゴムを用い、裏面の一部には駆動のための磁性体が配置されている。磁気駆動構造上に培養する細胞としてはカエル腎臓由来細胞株 (A6) を用いた。

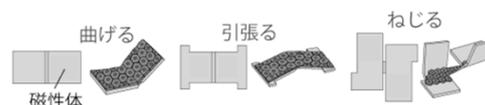


Fig. 1 刺激概略図

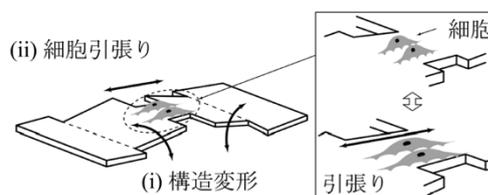


Fig. 2 構造変形による引張り刺激

磁気駆動構造表面の PDMS を空気プラズマで親水化した後、Fibronectin (FN) をコートした。30 分以上インキュベータ内に入れ FN を定着させ A6 を播種した。力学刺激後に細胞の生死染色を LIVE/DEAD®を用いて確認した。これにより生きている細胞は緑色、死んでいる細胞は赤色に染色される。

さらに、本研究では多細胞をプレートに培養し立体に培養した際でその機能に変化があるかも検討した。マイクロプレート上に細胞 (3T3) を 24 時間培養後、異なる種類の細胞 (HepG2) を培養し、アルギン酸リアーゼ酵素によりマイクロプレート下のアルギン酸ゲルを溶かすことで、マイクロプレートをガラス基板から剥がすことができるようにした。細胞の牽引力によりマイクロプレートが起き上がり、NIH/3T3 で HepG2 を包みこんだ立体構造を構築することができる。作製された立体構造と折り畳まずに平面状で共培養を行った時のアルブミン生成の量を比較した。

4. 研究成果

磁気駆動型プラットフォームの磁気駆動構造上に細胞が培養できるかを確認した。細胞の生存率を計測すると、98%以上の細胞が生きていることが確認できた。これにより、シリコンゴムシート、両面テープ、磁性体薄板から作製した磁気駆動構造上に問題なく細胞が培養できると考えられる。さらに、A6 細胞は引張りの力学的刺激を与えるとひずみ方向に対して直角にアクチンが配向することが知られていることがわかった。

3T3 と HepG2 細胞が培養されたマイクロプレートは、アルギン酸リアーゼによりガラス基板から剥がれ、細胞の牽引力により折畳まれた。多種細胞の 3 次元立体構造を作製することができた。2 次平面状で、培養した場合に比べて、細胞機能 (アルブミン生成) が向上していることを確認した (Fig. 3) [1]。

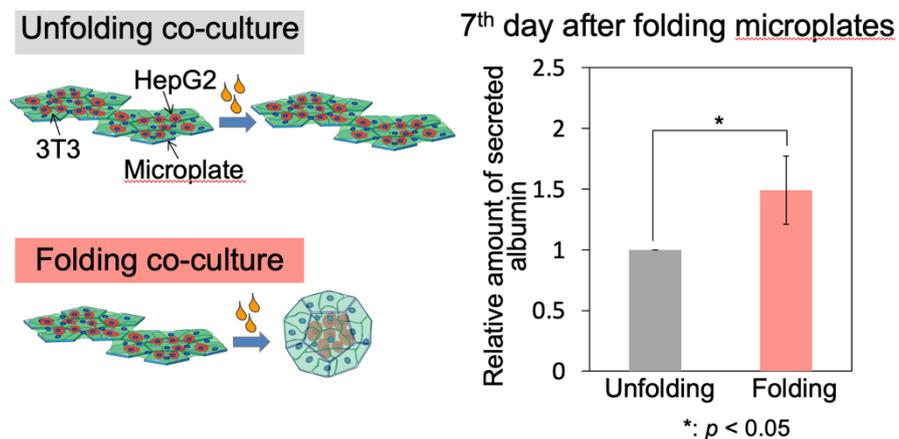


Fig3.アルブミン生成の比較

[1] Q. He, T. Okajima, H. Onoe, A. Subagyo, K. Sueoka, K. Kuribayashi-Shigetomi, "Origami-based self-folding of co-cultured NIH/3T3 and HepG2 cells into 3D microstructures", Scientific Reports, 8(1), 4556, 2018

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Q. He, T. Okajima, H. Onoe, A. Subagyo, K. Sueoka, K. Kuribayashi-Shigetomi	4. 巻 8
2. 論文標題 Origami-based self-folding of co-cultured NIH/3T3 and HepG2 cells into 3D microstructures	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 4556
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-018-22598-x	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 繁富（栗林）香織	4. 巻 87
2. 論文標題 「折紙工学の医療機器、再生医療への応用と展望」特集 折紙工学の最前線 基礎から応用まで	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 金属	6. 最初と最後の頁 41-46
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
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 -

1. 著者名 繁富（栗林）香織	4. 巻 102(4)
2. 論文標題 折り紙のバイオ -医療への応用-	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 電子情報通信学会誌	6. 最初と最後の頁 335-341
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
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 -

1. 著者名 繁富（栗林）香織	4. 巻 140(9)
2. 論文標題 細胞を駆動源とした折り紙によるマイクロ立体構造の形成	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 電気学会誌	6. 最初と最後の頁 588-590
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
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 -

1. 著者名 繁富(栗林)香織	4. 巻 314
2. 論文標題 マイクロ加工基板を用いた細胞の3D構造制御	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 応用物理学会 有機分子・バイオエレクトロニクス分科会 会誌	6. 最初と最後の頁 249-254
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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31件(うち招待講演 20件/うち国際学会 5件)

1. 発表者名 繁富(栗林)香織
2. 発表標題 世界が注目するOrigamiから生まれる技術革新 医療応用を目指して
3. 学会等名 火力原子力発電技術研究会 北海道支部(招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 繁富(栗林)香織
2. 発表標題 世界が注目する折紙工学から生まれる技術革新 医療応用を目指して
3. 学会等名 YKK株式会社(招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 繁富(栗林)香織, 上原隆平, 堀山貴文
2. 発表標題 細胞折紙技術と計算折紙紙による立体構造の最適化
3. 学会等名 第80回応用物理学会秋季学術講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kaori Kuribayashi-Shigetomi
2. 発表標題 3D Cell Structures Optimized by Computational Origami
3. 学会等名 第57回日本生物物理学会年（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Qian He, Takaharu Okajima, and Kaori Kuribayashi-Shigetomi
2. 発表標題 Producing Various Shapes of 3D Cell Co-culture Microstructures using a Single Cell Origami Technique
3. 学会等名 OSME 2018, 7th International Meeting on Origami in Science, Mathematics and Education（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Qian He, Takaharu Okajima, and Kaori Kuribayashi-Shigetomi
2. 発表標題 Applying Cell Origami to produce 3D co-culture cell laden microstructures
3. 学会等名 8th World Congress of Biomechanic（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Qian He, Takaharu Okajima, and Kaori Kuribayashi-Shigetomi
2. 発表標題 3D microstructures with various shapes and co-culture cells created by cell origami technique
3. 学会等名 化学とマイクロ・ナノシステム学会 第38回研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 繁富（栗林）香織
2. 発表標題 折紙工学の最前線：折り紙技術による3D 共培養構造
3. 学会等名 NanoBio 第11回若手ネットワーキングシンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 繁富（栗林）香織
2. 発表標題 折り紙の最先端技術の紹介と可能性
3. 学会等名 平成30年度 日本物理教育学会北海道支部総会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 繁富（栗林）香織
2. 発表標題 折紙工学最前線 折り紙の折りたたみ技術による3D立体構造組織の作製
3. 学会等名 3次元画像コンファレンス（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kaori Kuribayashi-Shigetomi
2. 発表標題 Origami in Micro-Nano Technology -Applications to Regeneration Medicine using Cell Origami-
3. 学会等名 19th RIES-Hokudai International Symposium（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 繁富（栗林）香織
2. 発表標題 世界が注目する折紙工学 - 医療応用の新しい可能性 -
3. 学会等名 第69回 医用高分子研究会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 繁富（栗林）香織
2. 発表標題 Origamiが医療を変える
3. 学会等名 国際観光コンベンションフォーラム 2019（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Qian He, 繁富（栗林）香織
2. 発表標題 折り紙の折り畳み技術によるNIH3T3/HepG2の3次元共培養
3. 学会等名 日本機械学会 2017年度年次大
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 繁富（栗林）香織
2. 発表標題 生きている折り紙 細胞は平面から立体へと旅をするー
3. 学会等名 第94回サイエンス・カフェ（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 繁富（栗林）香織
2. 発表標題 折り紙の医療分野への応用
3. 学会等名 日本図学会 北海道支部開催講演（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 繁富（栗林）香織
2. 発表標題 細胞を折る?-折り紙の折り畳み技術の医療への応用-
3. 学会等名 日本・デンマーク外交関係樹立150周年記念展覧会日々の生活-気づきのしるし（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 繁富（栗林）香織
2. 発表標題 細胞で折り紙？ 折り紙の折り畳技術の応用
3. 学会等名 第4回 再生医療分野 若手研究者交流会（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 繁富（栗林）香織
2. 発表標題 折紙工学最前線：細胞まで折ってしまうとは！
3. 学会等名 平成29年度 進路セミナー・学問研究会（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 繁富（栗林）香織
2. 発表標題 折り紙技術最前線 -医療への応用に向けて-
3. 学会等名 日本機械学会 第30回 バイオエンジニアリング講演会（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 繁富（栗林）香織
2. 発表標題 折り紙技術最前線 -医療への応用に向けて-
3. 学会等名 第18回 モーニングセミナー 北海道大学大学院 消化器外科学（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 繁富（栗林）香織
2. 発表標題 折紙工学の最前線、北海道から世界へ
3. 学会等名 日本機械学会 北海道学生会 第47回学生員卒業研究発表講演会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 繁富（栗林）香織
2. 発表標題 折り紙の医療への応用
3. 学会等名 第17回日本再生医療学会総会 市民公開講座（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 繁富(栗林)香織
2. 発表標題 折り紙で命を救う～折紙工学による医療開発の可能性～
3. 学会等名 クラスター研究会 東京都医工連携HUB機構(招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 K. Kuribayashi-Shigetomi, T. Horiyama, Q. He, R. Uehara
2. 発表標題 Forming a 3D Cell Shape Optimized by Computational Origami
3. 学会等名 OSME 2018, 7th International Meeting on Origami in Science, Mathematics and Education(国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 繁富(栗林)香織, 上原 隆平, 堀山 貴史
2. 発表標題 計算折り紙による細胞の3次元立体構造の最適化
3. 学会等名 日本機械学会 2020年度年次大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 繁富(栗林)香織, 上原 隆平, 堀山 貴史
2. 発表標題 細胞折紙技術と計算折り紙による細胞の3D構造の最適化
3. 学会等名 化学とマイクロ・ナノシステム学会 第42回研究会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 繁富(栗林) 香織, 上原 隆平, 堀山 貴史
2. 発表標題 計算折り紙と細胞折り紙技術による細胞の立体構造の最適化
3. 学会等名 第33回代用臓器・再生医学研究会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 繁富(栗林) 香織
2. 発表標題 細胞を折る？
3. 学会等名 函館工業高等専門学校(招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 繁富(栗林) 香織
2. 発表標題 折り紙の最先端技術の紹介と可能性
3. 学会等名 成30年度 日本物理教育学会北海道支部総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 K. Kuribayashi-Shigetomi
2. 発表標題 Formation of 3D cell-laden microstructures using origami folding technique for applications of regeneration medicines
3. 学会等名 HU-SNU Summer Symposium(招待講演)(国際学会)
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 繁富(栗林)香織	4. 発行年 2018年
2. 出版社 金沢21世紀美術館	5. 総ページ数 223
3. 書名 Everyday Life-Signs of Awareness 日々の生活 気づきのしるし	

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>メカジヨ(機械系女性)の活躍 生体医工学会における男女共同参画推進, 第57回日本生体医工学会大会 「折り紙・達人技と科学の技」MR0北陸放送 2017年9月6日放送 第6回科学の甲子園 全国大会「君だけのテーマの見つけ方」 NHK Eテレ2017年5月6日放送 https://koushien.jst.go.jp/koushien/tournament/2016/report.html 「折り紙の技 医療に生かす」知の達人たち, 朝日新聞 朝刊 12版 2018年2月27日 「折り紙の技法、医療に」, 毎日新聞(北海道) 朝刊 13版 2017年11月2日 「折り紙工学をライフサイエンスに応用」日経バイオテク 第859号 2017年7月10日</p>

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	尾上 弘晃 (Onoe Hiroaki) (30548681)	慶應義塾大学・理工学部(矢上)・教授 (32612)	
研究分担者	岩瀬 英治 (Iwase Eiji) (70436559)	早稲田大学・理工学術院・教授 (32689)	
研究分担者	福井 彰雅 (Fukui Akimasa) (80262103)	中央大学・理工学部・教授 (32641)	

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