

科学研究費助成事業（基盤研究（S））公表用資料
〔令和2（2020）年度 研究進捗評価用〕

平成29年度採択分
令和2年3月31日現在

拍動する心筋細胞シートを用いた伸縮性多点電極アレイによる薬物反応の評価

Evaluation of Drug Response by Elastic Multipoint Electrode Array Using Cardiomyocyte Sheet

課題番号：17H06149

染谷 隆夫 (SOMEYA, TAKAO)

東京大学・大学院工学系研究科・教授



研究の概要（4行以内）

本研究では、創薬における心臓への副作用を定量的に評価することを目的として、独自の伸縮性センサを駆使して、拍動する心筋細胞シートの活動電位を長期間に渡って高空間・高時間分解能で計測する手法を確立する。本手法では心筋細胞シートはダイナミックに拍動できるため、実際に近い模擬環境で薬物反応を評価できる。

研究分野：電子デバイス・電子機器

キーワード：バイオエレクトロニクス / 伸縮性センサ / 生体適合性 / 心筋細胞 / 細胞シート / ビッグデータ / フレキシブルデバイス / 有機トランジスタ / センサシステム / アナログ集積回路

1. 研究開始当初の背景

近年、ヒトの ES/iPS 細胞から作った心筋細胞による心臓モデルを使って、新薬の副作用を培養皿上で調べる研究が活発に進められている。従来の評価手法では、ガラスかプラスチック製の培養皿の内側に作製された多点の電極を使って、心筋シートを培養皿に固定した状態で表面電位を計測していた。この場合、本来ダイナミックに拍動している心筋細胞の運動は、大きく制限されていた。実際の心臓の状態に近い環境で計測するために、健康な細胞シートが自由に拍動できる状態で計測する手法が求められていたが、連続して自由に運動している細胞シートの表面電位を評価できる手法はこれまでに報告されていなかった。その理由は、柔らかさと耐久性を兼ね備えた薄型のセンサを実現することが困難なためであった。

2. 研究の目的

本研究では、創薬における心臓への副作用を定量的に評価することを目的として、伸縮性センサを駆使して、拍動する心筋細胞シートの活動電位を長期間に渡って高空間・高時間分解能で計測する手法を確立する。より具体的には、ナノファイバー型メッシュ構造（以下、**ナノメッシュセンサ**と略す）で伸縮性の多点電極アレイを製造し、心筋細胞シートに直接貼り付けて、表面電位の分布を計測することによって、投薬による影響を定量的に評価する。従来の評価手法

は、培養された心筋細胞は培養皿に固定された状態で活動電位の計測が進められていたのに対して、本手法では心筋細胞はダイナミックに拍動するため、実際に近い模擬環境で薬物反応を評価できる。

3. 研究の方法

本研究では、まず、ナノメッシュセンサの製造法とその評価法を確立する。ナノメッシュ構造を活用して、物質（薬物）の透過性を実現する。次に、投薬の副作用のみを正確に評価するため、計測に起因した外的要因を徹底的に排除する。心筋に対する力学的負荷を排除するため、心筋細胞と同じだけ伸縮性のある柔らかさを実現する。また、化学的ダメージを排除するため、生体適合性（炎症反応フリー）を実現する。続いて、作製したセンサを自由に拍動する心筋シートに適用し、力学的負荷による心筋シートへの影響や開発したセンサと心筋シートを用いた投薬試験等を行う。なお、実際の心臓に近い模擬環境として、細胞と同程度の柔らかさを持つ材料（フィブリン・ゲル）の上に作製した心筋シートを用いる。

4. これまでの成果

拍動する心筋細胞シートを評価するためには、以下の要件を満たす必要がある。

(1) 十分な柔らかさと伸縮性を持ち、繰り返し伸縮する心筋細胞への負荷を最小限とする

(2) 長時間細胞と接触しても有害作用を与

えない

(3) 投薬時に薬品の拡散を妨げないように物質透過性を有する

本研究では、ポリウレタンを電界紡糸法によってナノファイバーを形成し、それを数層積層した非常に薄いナノメッシュセンサを開発した。ナノメッシュセンサは、心筋シートと同じくらい柔らかく（5%伸長させるために必要な力が0.2ミリニュートン）、心筋シートの細胞から発生する非常に小さな力によって、自由に変形・伸縮できた。また、ナノファイバーをテンプレートとして、金の薄膜（100ナノメートル）を蒸着法で形成することによって高導電性を有しながらも、センサが心筋シートとともに伸縮する柔らかさと耐久性を同時に兼ね備えている。金薄膜を形成したナノファイバーの周辺のみを高分子膜（パリレン）でコーティングすることによって、絶縁性を向上し、電極間のクロストークを低減した。実際に、ナノメッシュセンサを貼りつけている心筋

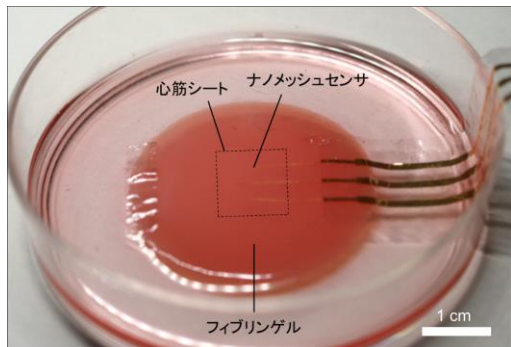


図1 ナノメッシュセンサを用いて心筋シートの表面電位を計測できる

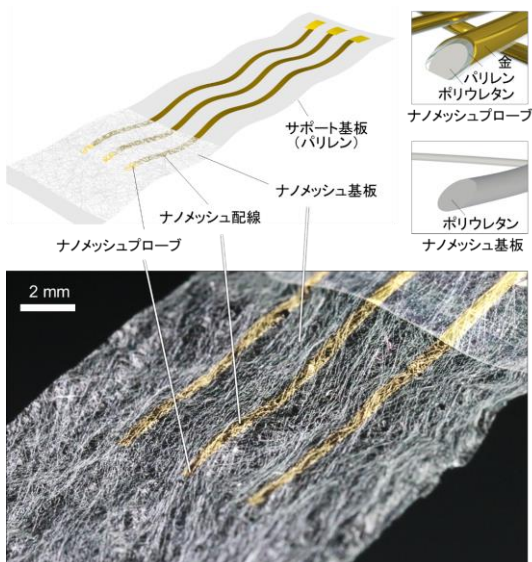


図2 ナノメッシュセンサの模式図（上）と写真（下）。心筋シートと接触する部分はすべてナノメッシュ構造となっており、プローブ、配線、基板から構成される。

シートの動きを評価した結果、センサを張り付けていない心筋シートと同等の伸縮を示すことが確認できた。さらに、心筋シートが自由に拍動する状態で、心筋シートの表面電位を96時間連続して安定に計測した。多点で心筋シートの表面電位の分布を計測することによって、各点の時間差から活動電位信号がシート内を伝搬していく状態を計測できた。また、ナノメッシュセンサは高い液透過性を持っており、ナノメッシュセンサが直接心筋シートに接触している状態でも、培養液からの栄養分や薬の成分を心筋シートに供給できます。実際に、心筋シートの拍動数に影響を与える薬（イソプロテレノール）の投薬前後で、心筋シートの拍動間隔が変化することを計測することに成功した。

5. 今後の計画

高空間分解能を実現するためには、電極の微細化が必要である。そのために、電極の実効的な表面積を増やし、接触インピーダンスを下げることを検討する。具体的には、ナノ寸法の微細な構造を有し、十分な導電性を示す有機材料を電極にコートする手法を確立する。たとえば、ポリポリスチレンスルホネート (PEDOT:PSS) を、ナノ寸法の基材にダメージを与えないで形成するために、印刷法を用い、溶媒の選定や印加電圧などの印刷プロセスにおけるプロセス条件の最適化を進める。さらに、PEDOT:PSSをスイッチング素子として用い、アクティブマトリックス化することで、高空間・高時間分解能計測を実現する。

6. これまでの発表論文等（受賞等も含む）

1. Ultrasoft electronics to monitor dynamically pulsing cardiomyocytes, Sunghoon Lee, Daisuke Sasaki, Dongmin Kim, Mami Mori, Tomoyuki Yokota, Hyunjae Lee, Sungjun Park, Kenjiro Fukuda, Masaki Sekino, Katsuhisa Matsuura, Tatsuya Shimizu, and Takao Someya, *Nature Nanotechnology* **14**, 156-160, 2019.
2. Highly Stretchable Metallic Nanowire Networks Reinforced by the Underlying Randomly Distributed Elastic Polymer Nanofibers via Interfacial Adhesion Improvement, Zhi Jiang, Muhammad Osman Goni Nayeem, Kenjiro Fukuda, Su Ding, Hanbit Jin, Tomoyuki Yokota, Daishi Inoue, Daisuke Hashizume and Takao Someya, *Advanced Materials* **31**, 1903446, 2019.
3. Nonthrombogenic, stretchable, active multielectrode array for electroanatomical mapping, Wonryung Lee, Shingo Kobayashi, Masase Nagase, Yasutoshi Jimbo, Itsuro Saito, Yusuke Inoue, Tomoyuki Yambe, Masaki Sekino, George G. Malliaras, Tomoyuki Yokota, Masaru Tanaka, and Takao Someya, *Science Advances* **4**, eaau2426, 2018.
7. ホームページ等

<http://www.ntech.t.u-tokyo.ac.jp/>