

令和元年6月17日現在

機関番号：17104

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K18844

研究課題名(和文)白血球機能から学ぶ濃度マランゴニ効果を利用した新規マイクロ粒子推進機構の開発

研究課題名(英文) Development of new propulsion mechanism of microparticle driven by concentration Marangoni effect learning from leukocyte function

研究代表者

玉川 雅章 (TAMAGAWA, MASAOKI)

九州工業大学・大学院生命体工学研究科・教授

研究者番号：80227264

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,900,000円

研究成果の概要(和文)：濃度勾配による水溶液中で白血球の運動に着目し、光学顕微鏡下での白血球移動と濃度輸送の計測から、白血球表面での濃度勾配による白血球駆動機構の解明を行い、3種類(低・中・高濃度勾配)の初期濃度勾配を与えることにより、白血球の濃度勾配依存性を調べ、(a)1次元の濃度マランゴニ効果の理論のように白血球移動速度は膜上サイトカイン濃度勾配に比例していること、(b)白血球の周囲流体の濃度勾配が負に対して、白血球の膜上濃度勾配は正が支配的であること、(c)正と負が逆転を繰り返しながら時間進行していること、(d)3種類のサイトカインの濃度勾配に対して、その勾配に対する感度が変化することがわかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本課題の研究成果のみだけでは、完全な白血球の運動機構の説明にはいたっていないものの、得られた結果に加えて、推進機構となる濃度勾配の変化が生きている白血球の回転によってより強化されていることが実験で示されれば、運動機構をよく説明できる。つまり、本課題の趣旨である人体内で人工的に粒子を動かして薬物を搬送する、いわゆるドラッグデリバリーシステム(DDS)の発展やそのほかのMEMSなどの微細加工の応用技術の一端となることが期待できる。

研究成果の概要(英文)：Focusing on the motion of white blood cell by concentration gradient in aqueous solution, the propulsion mechanism of white blood cell by concentration gradient was elucidated. By using three level of concentration gradient (high, middle, low) in the experiments, the effects of concentration gradient on the motion were investigated. It was found that (a) the velocity of white blood cell is proportional to concentration gradient in the same way as the 1-D Marangoni effect theory, (b) the positive gradient on the membrane is dominant comparing with negative gradient around the cell, (c) the positive gradient and negative gradient is changing alternatively on the membrane, (d) the sensitivity to the gradient changing by using three level of concentration gradient.

研究分野：生体流体工学

キーワード：濃度マランゴニ効果 白血球 膜上濃度勾配 サイトカイン 液中走化性

1. 研究開始当初の背景

人体中の血液に含まれる数マイクロメートルの大きさの白血球は、免疫機能を持ち、細菌や炎症部へ向けて移動する“走化性”といった機能を持つ。走化性については、(a)表面から生成された偽足による壁面移動と(b)液中における泳動の2つがある。この走化性の機構のうち(b)については、生物学的には、白血球が炎症部より生成される誘因物質のサイトカイン(ケモカイン)濃度勾配を感知して移動すると考えられているが、物理的には解明されていないのが現状である。

一般に、液中に濃度勾配による微粒子の運動は、濃度マランゴニ効果、すなわち、膜表面での界面張力の勾配の変化によって駆動されていると考えられるが、白血球のサイトカイン濃度勾配による液中駆動についても同じ機構かどうかはいまだに不明である。これには、白血球の膜構造も関係していることが考えられる。そこで、本研究では、濃度マランゴニ効果によって、白血球が駆動されると仮定して、この駆動機構解明を行う。

この機構を解明し、白血球の界面機能を模倣して、フェムト秒パルスレーザを用いた微細孔分布生成などの微細加工により、微粒子表面の界面張力分布および濃度勾配から微粒子を制御できれば、人体内で人工的に粒子を動かして薬物を搬送する、いわゆるドラッグデリバリーシステム(DDS)の発展やそのほかの MEMS 応用技術の一端となることが期待できる。特に、モーターやエンジンなどの駆動源を搭載できないスケールの小さなマイクロマシンなどにはその表面のマイクロ加工により本機能のバイオミメティクス(生物機能の模倣)的利用が可能であると考えられる。したがって、この機能の基礎的解明は、MEMS 分野の新たな発展を促すことになると考えられる。

2. 研究の目的

本研究では、白血球膜機能から学ぶ濃度マランゴニ効果を利用した新規マイクロ粒子駆動源の開発を目的として、濃度勾配による水溶液中下で白血球の運動に着目し、光学顕微鏡下での白血球移動と濃度輸送の計測、および原子間力顕微鏡による駆動力の計測から、白血球表面での濃度勾配による白血球駆動機構の解明を行う。また、この生物の機能を模倣した濃度制御型微細表面加工のための基礎的研究を行う。

3. 研究の方法

方法については、倒立顕微鏡に取り付けられた CCD カメラを用いて、液体中に分散している白血球にサイトカインの(a)過渡的な濃度勾配を与えたとき、および(b)定常的濃度勾配を与えたとき白血球挙動を観察してその速度を計測し、その濃度分布を CCD 上の蛍光強度により求め、これらの結果から過渡的・定常的濃度勾配と速度変化を調べる。これらから、白血球の運動の濃度勾配による依存性ならびに濃度分布と駆動機構の詳細について調べる。また、一方で、これらの速度計測から推定される白血球にはたらく力を原子間力顕微鏡によって測定を試み、その力と濃度勾配から白血球膜の界面張力の濃度依存性について求める。さらには、この原理を駆動源となる微小球の設計に生かすために、その微小球の表面をマイクロ加工し、その試作を行う。

まとめると、(1)溶液中白血球のサイトカイン濃度勾配による白血球の運動の観察と濃度分布測定、(2)原子間力顕微鏡による働く力の計測、(3)濃度駆動型推進微粒子の開発を行う。

4. 研究成果

濃度勾配による水溶液中下で白血球の運動に着目し、光学顕微鏡下での白血球移動と濃度輸送の計測、および原子間力顕微鏡による駆動力の計測から、白血球表面での濃度勾配による白血球駆動機構の解明を行った。また、この生物の機能を模倣した濃度制御型微細表面加工のための基礎的研究を行った。得られた結果は以下の通りである。

(1)溶液中白血球の過渡的サイトカイン濃度勾配による運動の観察と測定を行った。サイトカインに付着させた蛍光物質を顕微鏡下で CCD カメラを用いて観察し、その輸送状態(輝度分布、輝度勾配分布)を実験的に得ることができた。3種類(低・中・高濃度勾配)の初期濃度勾配を与えることにより、白血球の濃度勾配依存性を調べ、

- (a) 1次元の濃度マランゴニ効果の理論式から得られているように、白血球移動速度は膜上サイトカイン濃度勾配に比例していること
- (b) 白血球の周囲流体の濃度勾配が負に対して、白血球の膜上濃度勾配は正が支配的であること
- (c) 正と負が逆転を繰り返しながら時間進行していること
- (d) 3種類のサイトカインの濃度勾配に対して、その勾配に対する感度が変化することがわかった。

(2) 白血球の一定濃度勾配による運動の観察と測定については、Y字型流体回路内で、観察領域への白血球シードを試みたが、一定濃度勾配下になる条件の前に移動を開始してしまい、白血球から見ると過渡的な濃度勾配となり、結果的に(1)と同様な現象となったため、(1)の過渡的現象での分析の方を進めた。

(3) 原子間力顕微鏡を用いた力の計測については、白血球の表面をカンチバーで固定する必要があるが、この際白血球の表面を刺激することによって、細胞としての損傷や過度な刺激として反応し、安定したデータを得ることができなかった。この結果からは、微小な力の計測を光ピンセット等の別の方法で行う必要性が生じた。

(4) 新規マイクロ粒子については、凹凸等の表面加工をフェムト秒パルスレーザーで行う予定であったが、50 μm の PIV 用の樹脂ビーズ球に対して、集光領域 (5x10 μm) の位置あわせが完全でなく、表面の微小凹凸生成が困難であった。これについては、異なるレンズの開口比を用いてフェムトレーザーの集光域をより狭くすることや、レーザー光の微小移動の制御が可能なシステムへの変更が必要であることがわかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 3 件)

(1) Shohei Nakata, Yuko Miyamura and Masaaki Tamagawa, EFFECTS OF IMPINGING JET FLOW ON PLATELETS ADHESION BY COMPUTATIONAL FLUID DYNAMICS (CFD) ANALYSIS WITH CONSIDERATION OF PARTICLE MOTION FOR PREDICTING THROMBUS FORMATION, ICIC Express Letters Part B: Applications, 査読有, Vol.10, 2019 (To be published)

(2) Yingming Yi, Masaaki Tamagawa, Simulation of platelet aggregation on the wall of orifice flow by dissipative particle dynamics accelerated by openmp, ICIC Express Letters, Part B: Applications, 査読有, Vol.9, No.7, pp.665-672, 2018

(3) Chiharu Hirayama, Yuko Miyamura, Masaaki Tamagawa, Effects of flow asymmetry on thrombus formation and hemolysis properties in the pipe orifice flow by CFD analysis, ICIC Express Letters, Part B: Applications, 査読有, Vol.9, No.7, pp.673-680, 2018

〔学会発表〕(計 17 件)

(1) 山口翔史, 玉川雅章, 弁周囲逆流モデルでの流路壁面における血栓形成の解析とその評価, 日本機械学会九州支部第 72 期総会講演会講演論文集 G41, 3pages, No.198-1, 2019.3.14, 北九州

(2) 山口泰申, 玉川雅章, CFD を用いた衝突流れにおける血栓の評価, 日本機械学会九州支部第 72 期総会講演会講演論文集 G42, 3pages, No.198-1, 2019.3.14, 北九州

(3) 山口翔史, 玉川雅章, 光学的可視化による弁周囲逆流モデルでの流量の血栓形成への影響, 第 31 回バイオエンジニアリング講演会講演論文集, 2G14, 2pages, 2018.12.14-15, 郡山

(4) 山口泰申, 宮村裕子, 玉川雅章, 末梢静脈血管内カテーテルまわりの流れの数値解析と血栓形成, 日本機械学会流体工学部門講演会講演論文集, OS13-2, 3pages, 2018.11.29-30, 室蘭

(5) Yingming Yi, Masaaki Tamagawa, Computational Method for Prediction of White Thrombus Formation with Consideration of Platelet Aggregation and Separation, 第 31 回計算力学講演会 (CMD2018) 講演論文集, 315, 3pages, 2018.11.23-25, 徳島

(6) Masaaki Tamagawa, Yingming Yi, Sgoji Yamaguchi, CFD model of White Thrombus Formation by High Shear Blood Flows with consideration of Transport Process of Concentration and Aggregation Process and related Thrombus Visualization, ASME2018 IMECE (IMECE2018), Nov.9-15, 2018, Pittsburgh, USA

(7) 宮村裕子, 吉牟田純一郎, 山口泰申, 玉川雅章, 乳幼児点滴時のカテーテル周辺血栓形成とその因子群流動場へ影響について, BMFSA2018 講演論文集, pp.122-123, 2018.11.3-4, 金沢

(8) 田端純風, 玉川雅章, 各種サイトカイン濃度勾配による好中球の水中推進機構の解明, 第 29 回バイオフロンティア講演会論文集, 2C31-2pages, 2018.10.24-25, 千葉

(9) 宮村裕子, 玉川雅章, 乳幼児の体動および点滴固定による留置針周囲の血栓形成について, C-38, 第 6 回看護理工学会学術集会, 2018.10.13-14

(10) イインミン, 玉川雅章, せん断流れにおける壁面での血小板凝集を伴う血栓形成予測のための FDM と DPD のハイブリッド CFD 手法の精度向上について, 日本機械学会九州支部北九州講演会講演論文集, pp.157-158, 2018.9.20 北九州

(11) Shohei Nakata, Yuko Miyamura and Masaaki Tamagawa, Effects of Impinging Jet Flow on Platelets Adhesion by Computational Fluid Dynamics (CFD) Analysis with Consideration of Particle Motion for Predicting Thrombus Formation, 13th International Conference on Innovative Computing, Information and Control (ICICIC2018), August 20-22, 2018, Lianyungang, China

(12) 山口 翔史, 山嵜 悠司, 玉川 雅章, 弁周囲逆流モデルでのせん断れによる血栓形成の可視化とその解析, 日本機械学会 2018 年度年次大会講演論文集, J0210102-4pages, 2018.9.9-9.12, 吹田

(13) 玉川雅章, Yi Yingming, 山口泰信, 血小板凝集を考慮した差分法と粒子法のハイブリッド手法を用いた白色血栓予測法について, LIFE2018, OS6-1, 2pages, 2018.9.6-9.8, 東京

(14) Masaaki TAMAGAWA, Elucidation of mechanism of neutrophil propulsion in liquid by optical observation, 8th World Congress of Biomechanics(WCB2018), July.8-12, Dublin, Ireland

(15) Masaaki Tamagawa, Prediction of Thrombus Formation by Cfd with Considering Transport Equations and Aggregations on High Shear Flows and Observation of the Process by Optical Systems, ASAIO 64th Annual Conference(ASAIO2018), June.13-16, Wahsington DC, USA

(16) 玉川雅章, イインミン, 山嵜祐司, 中田祥平, オリフィス管内せん断流れにおける凝集を考慮した白色血栓形成の予測, 第 57 回日本生体医工学会講演論文集, 03-7-2-2, 2018.6.19-21

(17) Yingming Yi, Masaaki Tamagawa, Simulation of White Thrombus Formation with Consideration of Platelet Aggregation by FDM and DPD, 第 23 回計算工学講演会, 2018.6.6-8 名古屋

〔図書〕(計 1 件)

(1) Masaaki Tamagawa, Toshikazu Imakado and Ryo Ogasahara, 31st International Symposium on Shock Waves 2- Applications-, "Analysis of Deformation Process of a Bubble in an Elastic Capsule by Shock Waves and Their Medical and Biological Applications", Springer International Publishing (Sasoh et.al Eds)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

6 . 研究組織

玉川 雅章 (TAMAGAWA, Masaaki)
九州工業大学・大学院生命体工学研究科・教授

研究者番号 : 80227264

(1)研究分担者

なし

(2)研究協力者

なし

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。