

令和 5 年 6 月 3 日現在

機関番号：33919

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19H00749

研究課題名(和文) 赤血球回復時定数100倍激変現象の解明

研究課題名(英文) Research on Recovery Behavior of Red Blood Cell with a Hundredfold Drastic Change

研究代表者

金子 真 (Kaneko, Makoto)

名城大学・理工学部・教授

研究者番号：70224607

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 34,400,000円

研究成果の概要(和文)：人工毛細血管の狭窄部で赤血球を止め、3分後に解放すると赤血球回復時定数が100倍激増するローディング現象を発見した。50%、90%まで2段階回復特性をホームページに記載。

<https://www1.meijo-u.ac.jp/~mkaneko/>

回復時定数が100倍になる条件を考察するためホームページ図6のばね2個(k_1 , k_2)、ダンパー2個(C_2 , C_1)モデルで時定数 $=C_2(k_1+k_2)/(k_1k_2)$ を定式化し、 C_2 が一定で k_1 , k_2 が0.01倍になれば $=100$ となり時定数は100倍になる。顕微鏡環境コントロールボックスを試作することで赤血球変形能分解能が2桁向上することも示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

赤血球の直径は高々10 μ mであるのに対し、毛細血管の直径は5 μ mである。したがって赤血球が大動脈内を流れる際には赤血球の抵抗が流れを妨害することはなく心臓に負担をかけることはない。一方赤血球が毛細血管を通過するときには毛細血管の方が細いため、通過抵抗が大きくなり、毛細血管の上流側の圧力が高くなり、結果的に心臓に負担がかかる場合がある。赤血球の変形能が低下すると、心臓への負担は益々大きくなる。糖尿病になると赤血球変形能が低くなり、ひいては心臓疾患に繋がる。ここに赤血球変形能を調べる研究は学術的意義及び社会的意義がある。

研究成果の概要(英文)：We discovered an interesting phenomenon on red blood cell under an artificial capillary including partially narrow section, where a red blood cell is stopped in a narrow capillary section until it is released after three minutes loading, for example. We found that the recovery time constant depends upon how much loading time is given. For example, the recovery time constant becomes 100 times more than that after the loading with just several seconds. An interesting observation is that each red blood cell results in 90% recovery of the original size, eventually, which means that the surface of each cell is not damaged, while mechanical impedance such as spring and damper are heavily changed after a long time loading.

研究分野：赤血球変形能と循環器系疾患

キーワード：赤血球変形能 ローディング 回復時定数 細胞骨格 循環器系疾患

1. 研究開始当初の背景

(1) 赤血球の変形能は硬さに依存し、一般に変形能が大きい赤血球は柔らかく、変形能が小さい赤血球は硬い。変形能を正確に測る方法として AFM (原子間力顕微鏡) がある。AFM は赤血球の膜表面の硬さを精密に測ることができるものの、スループットが低いいため計測に時間がかかるという難点があった。

(2)(1)の欠点を踏まえて、私達はマイクロ流路内狭窄部の通過時間で赤血球変形能を評価する方法を取り込んだ (図1 実験装置)。これにより赤血球変形能計測スループットが格段に向上した。この実験中に赤血球を人工毛細血管内の狭窄部に一定時間停止させて、解放したときに回復時定数が停止時間に応じて100倍以上激変することを発見した。これが本研究の出発点となっている。

2. 研究の目的

(1) 赤血球を人工毛細血管内の狭窄部に一定時間停止させて、解放したときに回復時定数が停止時間に応じて100倍以上激変する現象を実験的に調べる。

(2) 赤血球を人工毛細血管内の狭窄部に一定時間停止させて解放したときの回復時定数を解析的に求め、100倍以上の激変現象が上手く説明できる機械インピーダンスモデルを提示する。

(3) 赤血球変形能の分解能を上げるための基本原理について考察し、予備実験で基本原理を確認する。

3. 研究の方法

(1) 人工毛細血管内の狭窄部で停止時間をパラメータにとって回復特性を縦軸にとり横軸に時間をとってデータ処理を行う。(図1 実験装置)

(2) 赤血球をバネ・ダンパー機械インピーダンスで表現し、回復時定数の解析解を求め、100倍激変現象を説明する条件を求める。

4. 研究成果

(1) 赤血球ローディング後狭窄部から解放したとき、ローディング時間が長いときに赤血球は最初の数ミリ秒で元々の大きさの50%まで回復し、さらに数秒かけて90%まで回復する2段階回復特性を示すことが実験的に明らかになった。(図2 実験結果) なお、この2段階回復特性は数ミリ秒のローディングでは起こらないこともわかった。なお3分程度ローディングを行っても数分後には元々の大きさの90%まで回復することを突き止めた。もし赤血球の膜が傷ついていれば90%回復はあり得ないため、ローディ

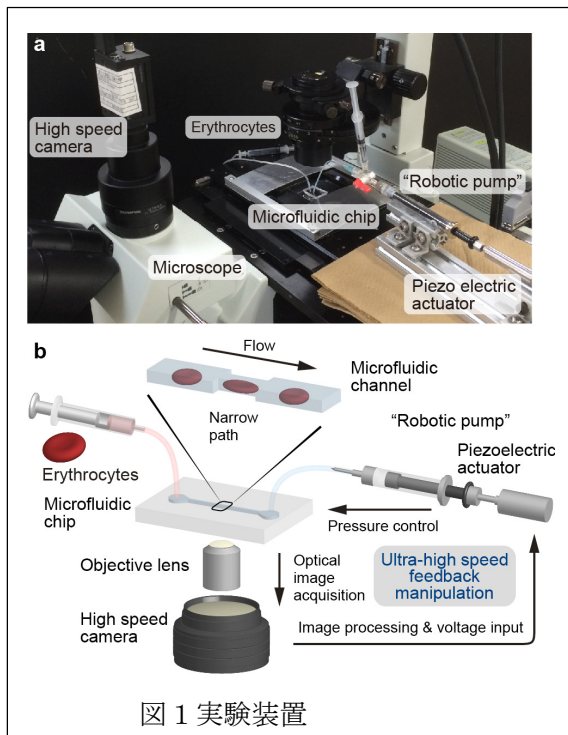


図1 実験装置

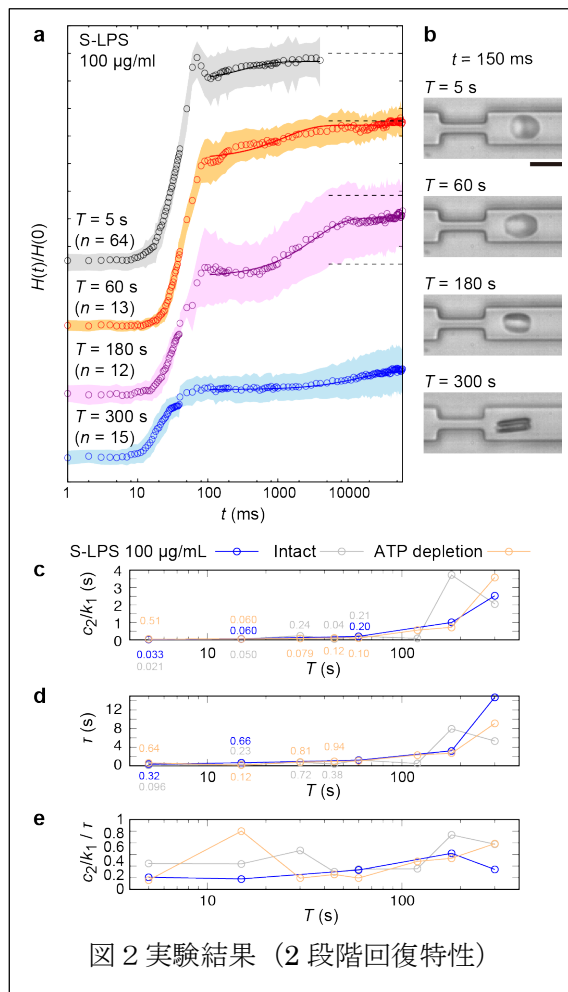


図2 実験結果 (2段階回復特性)

ング

ング中少なくとも赤血球膜に傷はついていないと考えるのが自然である。

(2) 図3 (赤血球の機械インピーダンスモデル) またはHP図6のばね2個 (k_1, k_2)、ダンパー2個 (C_2, C_1) からなる二層モデルで回復時定数 τ を定式化すると $\tau = C_2(k_1+k_2)/(k_1k_2)$ となり、 $C_2 = mC_0, k_1 = nk_0, k_2 = nk_0$ の条件下では $\tau = \alpha \tau_0$ となる。ただし $\alpha = 2m/n$ は係数、 $\tau_0 = C_0/k_0$ は初期時定数。この場合、例えば赤血球が $m = 50, n = 1$ になるということは、ダンパーが50倍増え、バネ定数は変化なしを意味する。赤血球がこのような機械特性を持っていれば、回復時定数 $\tau = 100 \tau_0$ になり、時定数が初期時定数の100倍激増することになる。なおダンパー C_1 は塑性変形には関与するが、回復時定数には関与しないことに留意されたい。

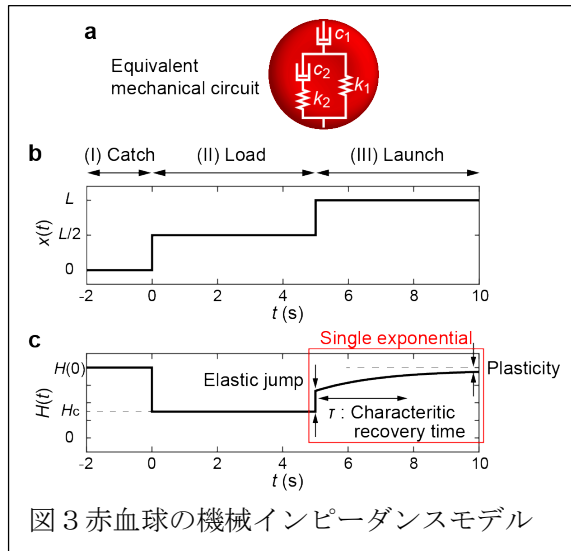


図3 赤血球の機械インピーダンスモデル

(3) さらに顕微鏡環境コントロールボックスを試作することで赤血球変形能分解能が大きく向上を確認することができた。図4は顕微鏡環境コントロールボックスの外観である。ただし実際にはアクリル板で覆われているが内部構造がわかるように外板はあえて外した状態であることを付記しておきたい。図5は希釈血液の蒸発まで考慮してマイクロ流路内の流量を割り出した予備実験結果である。

顕微鏡環境コントロールボックス内には上下動制御可能なスライダ上に希釈血液が入った容器とマイクロ流路間はチューブで接続されている。スライダの上下動に応じて希釈血液容器が上下し、チップ内の人工毛細血管内の出入口間の圧力が変化する。チップ内の狭窄部を通過する赤血球の動きを顕微鏡で観察することで、赤血球変形能が観察できるようになっている。図4の顕微鏡環境コントロールボックスを用いることにより、振動及び温度、湿度の変化に対応することができ、流量はそのまま赤血球の移動速度に連動するため、ひいては赤血球変形能分解能が大幅に向上することを付記しておきたい。

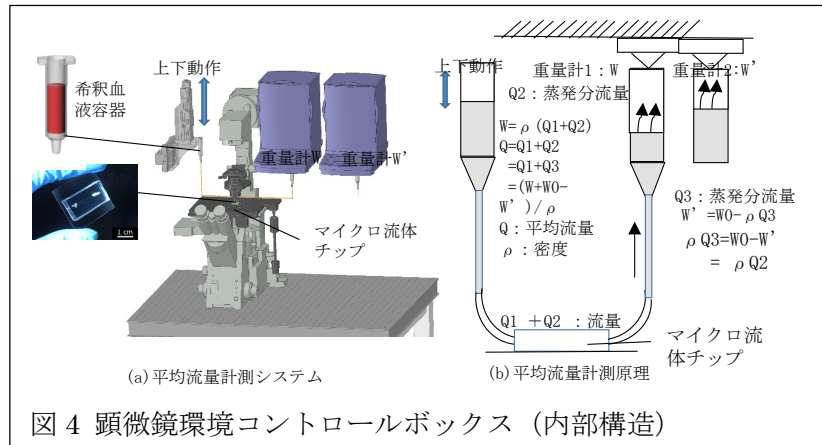


図4 顕微鏡環境コントロールボックス (内部構造)

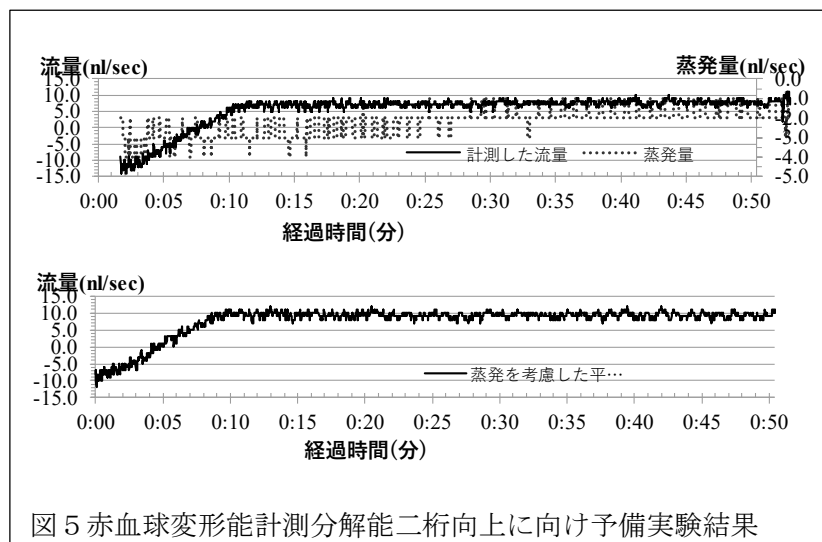


図5 赤血球変形能計測分解能二桁向上に向け予備実験結果

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9件/うち国際共著 4件/うちオープンアクセス 8件）

1. 著者名 Nakamura Takashi, Yokoyama Utako, Kanaya Tomomitsu, Ueno Takayoshi, Yoda Takanori, Ishibe Atsushi, Hidaka Yuko, Umemura Masanari, Takayama Toshio, Kaneko Makoto, Miyagawa Shigeru, Sawa Yoshiki, Endo Itaru, Ishikawa Yoshihiro	4. 巻 30
2. 論文標題 Multilayered Human Skeletal Muscle Myoblast Sheets Promote the Healing Process After Colonic Anastomosis in Rats	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cell Transplantation	6. 最初と最後の頁 3689 ~ 9559
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1177/09636897211009559	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 Saito Junichi, Yokoyama Utako, Nakamura Takashi, Kanaya Tomomitsu, Ueno Takayoshi, Naito Yuji, Takayama Toshio, Kaneko Makoto, Miyagawa Shigeru, Sawa Yoshiki, Ishikawa Yoshihiro	4. 巻 45
2. 論文標題 Scaffold free tissue engineered arterial grafts derived from human skeletal myoblasts	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Artificial Organs	6. 最初と最後の頁 919 ~ 932
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/aor.13930	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 Ohara Kenichi, Iwazawa Ryosuke, Kaneko Makoto	4. 巻 11
2. 論文標題 Modeling and Analysis of a High-Speed Adjustable Grasping Robot Controlled by a Pneumatic Actuator	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Robotics	6. 最初と最後の頁 1 ~ 17
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/robotics11010027	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 Kaneko Makoto, Tsai Chia-Hung Dylan	4. 巻 20
2. 論文標題 Fast and Fine Manipulation of RBCs in Artificial Capillary and Their Mysterious Behaviors	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Robotics Research. ISRR 2019.	6. 最初と最後の頁 102 ~ 113
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-3-030-95459-8_7	査読の有無 有
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 該当する

1. 著者名 Harada Hiroyuki、Kaneko Makoto、Ito Hiroaki	4. 巻 14
2. 論文標題 Rotational manipulation of a microscopic object inside a microfluidic channel	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biomicrofluidics	6. 最初と最後の頁 1~16
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1063/5.0013309	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 Takayama Toshio、Hosokawa Naoya、Tsai Chia-Hung Dylan、Kaneko Makoto	4. 巻 11
2. 論文標題 Push/Pull Inequality Based High-Speed On-Chip Mixer Enhanced by Wettability	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Micromachines	6. 最初と最後の頁 9500-1 ~ 9500-13
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/mi111100950	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 該当する

1. 著者名 Takayama Toshio、Kaneko Makoto、Tsai Chia-Hung Dylan	4. 巻 12
2. 論文標題 On-Chip Micro Mixer Driven by Elastic Wall with Virtual Actuator	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Micromachines	6. 最初と最後の頁 217-1 ~ 217-14
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/mi12020217	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 該当する

1. 著者名 Saito Junichi、Kaneko Makoto、Ishikawa Yoshihiro、Yokoyama Utako	4. 巻 2021
2. 論文標題 Challenges and Possibilities of Cell-Based Tissue-Engineered Vascular Grafts	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cyborg and Bionic Systems	6. 最初と最後の頁 1~16
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.34133/2021/1532103	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 Ito Hiroaki, Kaneko Makoto	4. 巻 7
2. 論文標題 On-chip cell manipulation and applications to deformability measurements	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 ROBOMECH Journal	6. 最初と最後の頁 1-11
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s40648-020-0154-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 該当する

〔学会発表〕 計8件 (うち招待講演 5件 / うち国際学会 4件)

1. 発表者名 Ryosuke Iwazawa, Kenichi Ohara, and Makoto Kaneko,
2. 発表標題 Development of high-speed gripper with closing and releasing capability
3. 学会等名 The 2021 IEEE/SICE International Symposium on System Integration (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Makoto Kaneko and Koji Mizoue
2. 発表標題 Elasticity Evaluation of Red Blood Cell without Force Sensor under Large Deformation
3. 学会等名 IEEE The 3rd International Conference on Cyborg and Bionic Systems (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hiroaki Ito, Kohei Fujimoto, and Makoto Kaneko
2. 発表標題 On-chip Deformability Measurement of Eukaryotic Cells: Comparison to Anucleate Cells
3. 学会等名 The 23rd International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (MicroTAS2019) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Makoto Kaneko and Chia-Hung Dylan Tsai
2. 発表標題 Fast and Fine Manipulation of Red Blood Cells in Artificial Capillary and their Mysterious Behaviors
3. 学会等名 International Symposium of Robotics Research (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Makoto Kaneko
2. 発表標題 Multi-fingered Robotic Hands-Toward Beyond Human
3. 学会等名 International Symposium on Crossmodal Learning in Humans and Robots (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Makoto Kaneko
2. 発表標題 Fast and Fine On-Chip Manipulation
3. 学会等名 TUM, Munich, Germany (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 金子真
2. 発表標題 人手不足に対する設備の自動化--ヒトの能力を超えたロボット--
3. 学会等名 日本食品・機械研究会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 金子真
2. 発表標題 バイオマイクロフルイディクス未解決連想問題
3. 学会等名 日本学会議第5回理論応用力学シンポジウム(招待講演)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<http://www1.meijo-u.ac.jp/~mkaneko/>
 名城大学大学院理工学研究科金子研究室へようこそ
 -科研基盤研究A：赤血球回復時定数100倍激変現象の解明を軸に-
 上記科研基盤Aの動機付け：心臓から押し出された赤血球は約1分で体内を一周し、再び心臓に戻ってくる。直径6~8μmの赤血球が血管中で一番動きにくくなるのは直径5μm以下の毛細血管を通過するときである。したがって赤血球が変形能を失ってしまうと、毛細血管内で局所的に血圧が高くなり、最終的に心臓の負担が増大する。赤血球の変形能を調べる研究の意義がここにある。我々は赤血球の変形能計測をハイパー人工心臓と人工毛細血管を内蔵した世界初の高速高分解能細胞操作システム(図1)を用いて生体外で実験を行うことに成功している。

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	坂田 泰史 (Sakata Yasushi) (00397671)	大阪大学・医学系研究科・教授 (14401)	
研究分担者	伊藤 弘明 (Ito Hiroaki) (10783186)	千葉大学・大学院理学研究院・助教 (12501)	
研究分担者	大谷 朋仁 (Ohtani Tomohito) (30623897)	大阪大学・医学系研究科・講師 (14401)	

6. 研究組織（つづき）

	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	丸山 央峰 (Maruyama Hisataka) (60377843)	名古屋大学・工学研究科・准教授 (13901)	
研究分担者	高山 俊男 (Takayama Toshio) (80376954)	東京工業大学・工学院・准教授 (12608)	

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1件

国際研究集会 Research Meeting on Red Blood Cell Deformability	開催年 2019年～2019年
--	--------------------

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			
韓国	POSTECH	0	0	
その他の国・地域(台湾)	National Yang Ming Chiao Tung University	0	0	
その他の国・地域(台湾)	Yang Ming Chiao Tung University (台湾)	0	0	
その他の国・地域(台湾)	Taiwan National Chiao Tung University	0	0	