

令和 4 年 6 月 6 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2019～2021

課題番号：19H02059

研究課題名（和文）流れが生み出す生理的機能の解明

研究課題名（英文）Physiological function generated by biological flow

研究代表者

菊地 謙次（Kikuchi, Kenji）

東北大学・工学研究科・准教授

研究者番号：00553801

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,400,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、「流れが生み出す生理的機能の解明」を徹底的に追求し、実験・理論解析・数値シミュレーションの手法を駆使することで、世界の他の研究グループの追隨を許さない高みに引き上げることに成功した。そして、微生物から皮膚の薬剤吸収にいたるまで、マイクロスケールからセンチスケールまでの生命現象を解明し、生物流れに関わる工学・医工学技術の開発へと展開した。これらの成果は、9編の査読付き英文雑誌論文として公表した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

生体もしくは生物の周りに生じている液体やガスの流れは、生命存続やエネルギー摂取などに重要であることがある。しかしながら、流れの強さや変化がどれほど生体へ影響を与えるかを理解するには、流れ計測、生体内の応答、物質の移動などを直接計測し、その変化や流動を数学的にモデル化するなど物理的な解釈が求められる。本研究では、微生物の繁殖や皮膚角質層からの異物侵入などの、生体まわりの流れと生体への影響を調査することで、これまでに理解が困難であった現象の物理的理解を、工学的手法を駆使することで明らかにした。

研究成果の概要（英文）：In this research, we thoroughly pursued the "Physiological function generated by biological flow" and succeeded in taking it to heights unparalleled anywhere in the world, utilizing experimental and theoretical analysis and numerical simulation methods. Subsequently, we have elucidated biological phenomena from microorganisms to drug absorption in the skin on scales from microscopic to centimeters, and developed engineering and medical engineering technologies related to biological flow. The results have been published as 9 peer review journal papers.

研究分野：生体流体力学

キーワード：生体流体 バイオメカニクス ライブイメージング 数理モデル 微生物 ゼブラフィッシュ 線虫
経皮吸収

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、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

生体における流動現象は、単に物質の輸送を担うばかりでなく、生命現象の根幹を司る物質拡散や合成、代謝へ重要な役割を持つことがある。本研究では、病原菌の感染、腸内における消化作用、皮膚伸展時の経皮吸収を研究対象とし、生体流動における流体の運動が生命現象へ与える影響について、工学的知見より徹底的な解決を目指す。そのために申請者が10年に渡り推し進めてきた *in vivo* (生体内) 三次元流体計測技術を、物質濃度も計測を可能としたマルチモーダル(多次元)計測へ革新し、微小領域における生体流動メカニクスを徹底的に追求する。生体流動における流体の運動の生理的役割について炙り出し、生体内における既存の物質輸送理論に新たな数理モデルを構築し、新たな生体内における物質輸送理論を構築する。

本研究により得られた成果は、ヒト生体内における輸送機能の制御法へとフィードバックし、新たな治療・投薬技術として基盤創生を目指す。工学的知見から生体における細胞スケールにおける流動現象をより深く分野横断的に取り組むことで、これまでに蓄積されてきた人類の叡智をさらに飛躍的に理解が深まると考えている。そのために微小領域における生体流動メカニクスを徹底的に追求する必要がある。

2. 研究の目的

本研究は、生体の運動を伴う際の細胞スケールにおける生体内の物質輸送に注目し、これまでに開発を進めてきた高度な顕微鏡技術をさらにマルチモーダルイメージング法へと革新し、生体内における流動と生体内物質の挙動をありのままに、かつリアルタイムで可視化し、生理現象のキーファクターとなる生体物質と生体挙動との力学的・生理学的関係について丁寧に定量化を行っていく。また、実験結果から生体内における既存の物質輸送理論に新たな数理モデルを構築し、生体流動における流体の運動の役割について炙り出す。その後、能動的な生体内の輸送機構の制御法を開発し、その手法を元に新たな治療・投薬技術の基盤創生を目指し、生物学や医学、生物学など多くの学問領域に貢献が期待されるのみならず、各産業界へ技術寄与を目指している。

3. 研究の方法

流動物質の輸送過程についてこれまでに開発を進めてきた *in vivo* マルチモーダルイメージング技術を用いて実験的に可視化を行い、得られた実験結果より物質流動の数理モデル化へと発展させ、最終的に生体内における物質輸送理論の構築へと拡張する。

生体内における細胞スケールの流動現象の実験方法として、マルチフォトン顕微鏡、共焦点レーザー顕微鏡、ライトシート顕微鏡、マイクロX線顕微鏡を用いて生体運動や生体内流動の時間変化を計測する。

4. 研究成果

(1) ゼブラフィッシュ稚魚の蠕動と腸内流動

腸は、生体の健康状態全般と密接に関連する消化管の重要な臓器である。腸は蠕動運動と呼ばれる筋肉の収縮と弛緩を継続的に行っており、ストレス、便秘、大腸がん、その他の腸の機能障害に関連している。腸内の微生物叢は、代謝および肥満、糖尿病、心血管疾患などの疾患において重要な役割を果たす。腸内細菌の増殖は細胞周囲の環境に依存し、細胞周囲の流れ場と濃度場は流体内の輸送現象に支配されることが知られている。脊椎動物研究のモデル生物としては、ヒトとの遺伝的類似性が高いことから、ゼブラフィッシュが広く用いられている。ゼブラフィッシュは高い繁殖力を持つため、大量に維持することが容易であり、世代交代が短いため、遺伝子や化学物質のスクリーニングが容易である。近年、ゼブラフィッシュは、脂質代謝、脂肪生物学、膵臓構造、グルコースホメオスタシスの機能保存により、肥満や糖尿病などの代謝性疾患の研究に魅力的なモデル系と考えられている。特にゼブラフィッシュの利点は、その幼生がほぼ透明であるため、研究者が体内の観察に使用できることである。

本研究では、無胃腸性魚類のモデルとして、受精後7日目(dpf)のゼブラフィッシュ幼生の摂食後の腸内における輸送現象について検討した。マイクロインジェクターを用いて蛍光溶液または蛍光トレーサー粒子を注入し、蛍光顕微鏡で腸の蠕動運動を観察した。注入後1時間から5時間までの蠕動伝播速度と振幅、前向きおよび逆向きの蠕動運動を測定し、粒子追跡速度計測法(PTV)を用いて動的トレーサー粒子の動きを分析した。最後に、ゼブラフィッシュ幼生腸において、摂食後の前向きの蠕動運動と逆向きの蠕動運動による腸内混合とポンピングの経時的な影響を定量的に検討した(図: [Kikuchi et al, American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology, 2020](#))。

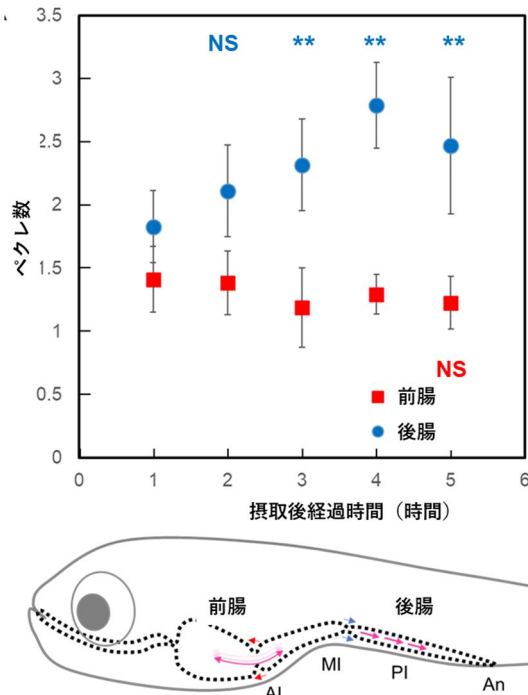


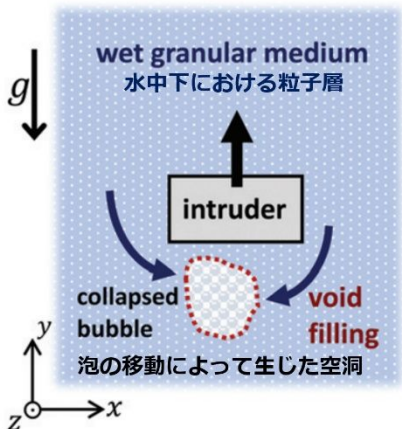
図 4. 摂食後の前向きと逆向きの蠕動運動による腸内混合とポンピングの経時的変化

(2) 上面発酵酵母の発泡による流動攪拌

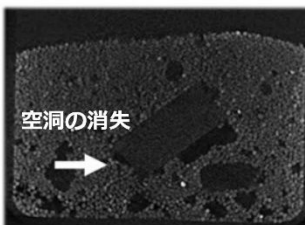
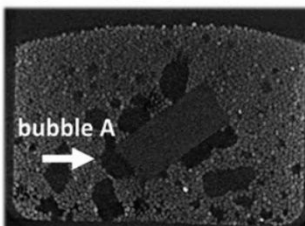
微生物には鞭毛や繊毛を用いて水中を遊泳するものがあり、呼吸や栄養吸収、危険回避や化学的物理的誘因によって様々な振る舞いを示すことが知られている。食品産業などで広く使用される酵母は、鞭毛や繊毛などの遊泳器官を有さないが、発酵過程で自身が産生する気泡に付着することで、驚くべきことに秒速数 cm 程度の速度で底部から水面にまで上昇する (Srivastava, Kikuchi, Ishikawa, Journal of the Royal Society Interface, 2020)。発酵容器内に生分解されにくい人工物 (シリコンゴム) を混入させることで、環境問題となっているプラスチックごみなどが、自然界の生態系にどのような影響を及ぼすのかを検討するために、実環境を模擬した「ジオラマ環境」での実験を行った。発酵容器内に混入した人工物は、発酵気泡が付着することで容器の底面から水面に上昇し、その後、下降するという上下運動を繰り返し、容器内部が攪拌され、栄養素が全体に行き渡り、酵母の増殖を促進させることが分かった (Srivastava, Kikuchi, Ishikawa, Journal of the Royal Society Open Science, 2021)。一見、酵母にとって邪魔な存在と思われる人工物だが、実は酵母の増殖を助ける役割をすることが明らかになった。

本研究では、人工物が周囲の微粒子に埋没した状況下で、微生物の発酵による発泡が微生物

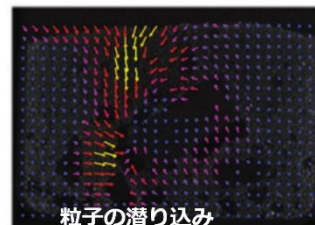
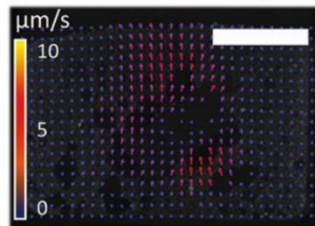
酵母発酵の発泡による埋没した物体の浮上現象
Microbial Brazil nut effect



X線CTによる断層像の可視化



周囲粒子の移動速度の計測



物自身の 10 億倍の大きさの物体を移動させる物理現象を発見し (図) X 線を用いたイメージング法と確率微分方程式に基づく理論解析により現象解明に成功した (Srivastava, Kikuchi, Ishikawa, Soft Matter, 2021)。

図 5. 埋没した物体下に生じた泡の移動によって生じた空洞に周囲粒子が潜り込む現象の可視化

(3) 線虫口部における選択的捕食機能

健康・寿命のモデル動物である線虫 (*C. elegans*) を用いた、摂食量と寿命 (摂食過多による寿命減少、摂食制限による寿命増加) との関係に関する分子生物学的・遺伝学的研究が進み、ヒトへの応用研究が近年盛んに進められている。しかしながら、摂食過少と寿命や生存率については、種の存続にとって重要であるにもかかわらずよくわかっていない。線虫は、餌を摂食するのが困難となる高粘性環境 (水中、果蜜、バイオフィームなど) であっても、地球上に広く分布する動物である。特に、高粘性における生息環境では、運動負荷が高くなるのみならず、口部の吸い込みによる摂食行動も困難となり生命の危機に陥るほどの摂取カロリーの過少 (飢餓) となることもある。緻密な口部構造と咽頭ポンプを用いて餌濃縮を行い、効率的に摂食を行うことがこれまでの研究により明らかになってきた (Suzuki, Kikuchi, Numayama-Tsuruta, Ishikawa, *Theor. App. Mech Lett*, 2019)。

様々な粘性環境における大腸菌 (餌) 摂食量と生存率 (粘性暴露 3 日後) を計測したところ、餌摂食量のみには依存的な、餌摂食量と生存率の普遍的関係 (図) を発見した。本研究では、線虫を様々な粘性環境 (水の粘性の 1 倍 ~ 10^5 倍) に置き、高速微分干渉ライブイメージング法を用いた咽頭ポンプ運動計測、レーザー誘起蛍光法を用いた餌摂取量の定量計測を行い、線虫の摂食メカニズムと生存率との関係について力学的解析に基づいた調査を行った。その結果、線虫の摂食量と生存率には普遍性があることを発見し、摂食量と生存率との関係を力学的解析により世界で初めて明らかにした (Suzuki, Kikuchi, Numayama-Tsuruta, Ishikawa, *Journal of Experimental Biology*, 2020)。

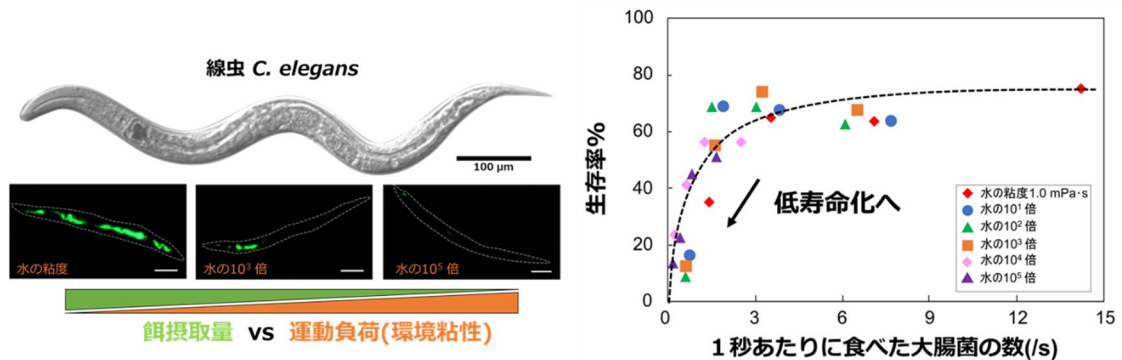
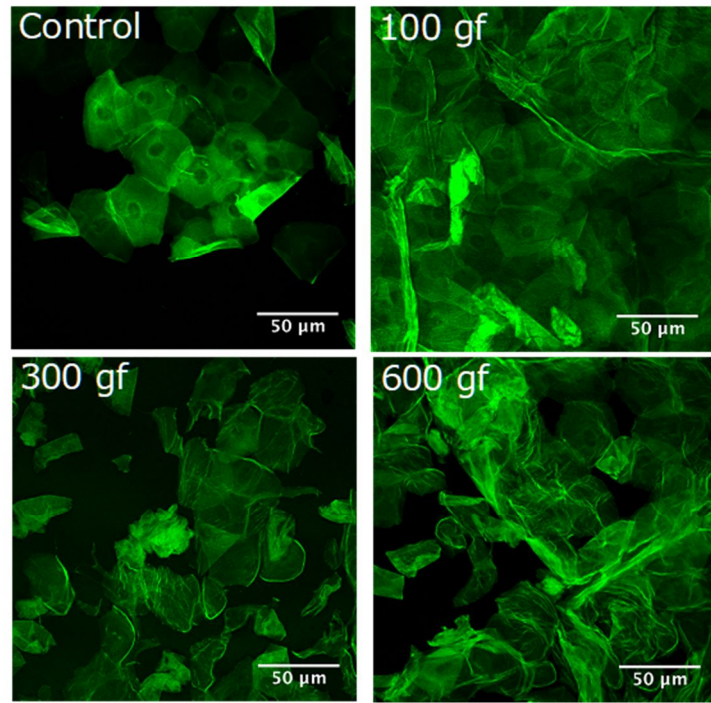


図. 線虫 (*C. elegans*) における摂食量と生存率との関係

(4) せん断摩擦による皮膚バリア機能の脆弱化

皮膚の表面は、角化細胞間を埋めるセラミドやコレステロール、脂肪酸によって、皮膚内部からの水分の蒸発を防ぐだけでなく、外部からの薬剤や細菌、ウイルスの浸透を防ぐ「皮膚バリア機能」を持っている。皮膚損傷部 (擦過傷や切傷、咬傷、刺傷、靴擦れなど) では、正常皮膚より薬剤経皮吸収のコントロールが困難になり、同時に病原菌やウイルスの感染リスクが高くなる。また、見た目には傷には見えない程度であっても、摩擦刺激を受けた皮膚では皮膚のバリア機能の喪失 (脆弱化) が生じることが知られていた。しかし、そのメカニズムはこれまで明らかにされていない。皮膚の脆弱性を定量的に検査するためには、皮膚の表面から内部に透過する物質量の検査や血中物質濃度などの侵襲性のある検査方法が用いられてきた。本研究では、独自に開発した非侵襲高速物質透過量計測法 (Kikuchi, et al, *PLoS ONE*, 2019) を採用し、ヒト薬剤浸透モデル皮膚 (として用いられるユカタン子豚皮膚) に様々な摩擦刺激を与え、皮膚の摩擦刺激に対する皮膚バリア機能の脆弱性について調査を行った。

皮膚が摩擦刺激によって変形し、また元の形に復元する性質を数理モデル化し、加えた摩擦刺激の周波数および荷重をもとに、皮膚の刺激前の形から刺激後の形の変化を示すひずみについて力学的解析を行った。その結果、摩擦刺激が加わった皮膚では、摩擦力が増すごとにひずみが増し、角化細胞が摩擦方向に縮んで変形 (図) することが分かった。摩擦刺激によって生じた角化細胞のひずみは、時間とともに蓄積され、角質層内に微小な間隙が形成され皮膚バリア機能低下を引き起こす。表皮細胞のアポトーシス後の角化細胞は自己修復しないことから皮膚バリア機能は皮膚ターンオーバー (約 40 日) の間、回復できず、時間不可逆的にひずみとして蓄積され、摩擦刺激によって皮膚バリア機能の脆弱化が時間とともに増加することが明らかになった (Kikuchi et al, *International Journal of Pharmaceutics*, 2020)。



角化細胞のひずみの可視化：摩擦荷重の増加により、角化細胞のしわ構造が増加

図．摩擦刺激を与えた角化細胞の形態可視化観察

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 0件 / うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Kenji Kikuchi, Hyontack Noh, Keiko Numayama-Tsuruta, Takuji Ishikawa	4. 巻 -
2. 論文標題 Mechanical roles of anterograde and retrograde intestinal peristalses after feeding in a larval fish (<i>Danio rerio</i>)	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1152/ajpgi.00165.2019	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 -
1. 著者名 Takuji Ishikawa, Hironori Ueno, Toshihiro Omori, Kenji Kikuchi	4. 巻 -
2. 論文標題 Cilia and Centrosomes: Ultrastructural and Mechanical Perspectives	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Seminars in Cell and Developmental Biology	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.semcdb.2020.03.007	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 -
1. 著者名 Kage Azusa, Omori Toshihiro, Kikuchi Kenji, Ishikawa Takuji	4. 巻 223
2. 論文標題 The shape effect of flagella is more important than bottom-heaviness on passive gravitactic orientation in <i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Journal of Experimental Biology	6. 最初と最後の頁 jeb205989
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1242/jeb.205989	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 -
1. 著者名 Suzuki Yuki, Kikuchi Kenji, Tsuruta-Numayama Keiko, Ishikawa Takuji	4. 巻 9
2. 論文標題 Particle selectivity of filtering by <i>C. elegans</i>	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Theoretical and Applied Mechanics Letters	6. 最初と最後の頁 61 ~ 65
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.taml.2019.02.001	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 -

1. 著者名 Srivastava Atul、Kikuchi Kenji、Ishikawa Takuji	4. 巻 17
2. 論文標題 Microbial Brazil nut effect	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Soft Matter	6. 最初と最後の頁 10428 ~ 10436
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/d1sm01327k	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 Omori T.、Kikuchi K.、Schmitz M.、Pavlovic M.、Chuang C.-H.、Ishikawa T.	4. 巻 930
2. 論文標題 Rheotaxis and migration of an unsteady microswimmer	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Fluid Mechanics	6. 最初と最後の頁 A30
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1017/jfm.2021.921	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 Srivastava Atul、Kikuchi Kenji、Ishikawa Takuji	4. 巻 8
2. 論文標題 Non-biodegradable objects may boost microbial growth in water bodies by harnessing bubbles	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Royal Society Open Science	6. 最初と最後の頁 210646 ~ 210646
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1098/rsos.210646	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 Srivastava Atul、Kikuchi Kenji、Ishikawa Takuji	4. 巻 17
2. 論文標題 The bubble-induced population dynamics of fermenting yeasts	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of The Royal Society Interface	6. 最初と最後の頁 20200735
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1098/rsif.2020.0735	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 Suzuki Yuki, Kikuchi Kenji, Numayama-Tsuruta Keiko, Ishikawa Takuji	4. 巻 223
2. 論文標題 How do <i>C. elegans</i> worms survive in highly viscous habitats?	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Experimental Biology	6. 最初と最後の頁 jeb224691
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1242/jeb.224691	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 -

[学会発表] 計12件(うち招待講演 2件/うち国際学会 8件)

1. 発表者名 小山 周治, 菊地 謙次, 沼山 恵子, 石川 拓司
2. 発表標題 淡水海綿における流れの可視化計測
3. 学会等名 可視化情報学会第47回可視化情報シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Y. Kurosawa, K. Kikuchi, K. Numayama-Tsuruta, T. Ishikawa
2. 発表標題 Enhancement of Transdermal Drug Delivery by Rotational Stimulation Device
3. 学会等名 16th International Conference on Fluid Dynamics (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Y. Suzuki, K. Kikuchi, K. Numayama-Tsuruta, T. Ishikawa
2. 発表標題 High Viscous Fluid Flow in <i>C. elegans</i> Pharynx
3. 学会等名 16th International Conference on Fluid Dynamics (国際学会)
4. 発表年 2019年

1 . 発表者名 S. Koyama, K. Kikuchi, K. Numayama-Tsuruta, T. Ishikawa
2 . 発表標題 Pumping Function for a Fresh-water Sponge
3 . 学会等名 16th International Conference on Fluid Dynsmics (国際学会)
4 . 発表年 2019年

1 . 発表者名 Atul Srivastava, Kenji Kikuchi, Takuji Ishikawa
2 . 発表標題 On Transport of Yeasts
3 . 学会等名 10th Asian-Pacific Conference on Biomechanics (国際学会)
4 . 発表年 2019年

1 . 発表者名 Masahiro Takahashi, Kenji Kikuchi, K. Numayama-Tsuruta, Takuji Ishikawa
2 . 発表標題 Inflamed Intestinal Flow in Zebrafish Larva
3 . 学会等名 10th Asian-Pacific Conference on Biomechanics (国際学会)
4 . 発表年 2019年

1 . 発表者名 Kenji Kikuchi, Hyeongtak Noh, Keiko Numayama-Tsuruta, Takuji Ishikawa
2 . 発表標題 Mixing and pumping functions in a zebrafish larval intestine
3 . 学会等名 72nd Annual Meeting of the APS Division of Fluid Dynamics (国際学会)
4 . 発表年 2019年

1. 発表者名 Yuki Suzuki, Kenji Kikuchi, Keiko Numayama-Tsuruta, Takuji Ishikawa
2. 発表標題 Pump Function of <i>C. elegans</i> Pharynx in Highly Viscous Environments
3. 学会等名 72nd Annual Meeting of the APS Division of Fluid Dynamics (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鈴木 雄貴, 菊地 謙次, 沼山 恵子, 石川 拓司
2. 発表標題 線虫の餌捕食機能における餌粘性の影響
3. 学会等名 日本機械学会 第30 回バイオフィロントニア講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Atul Srivastava, Kenji Kikuchi, Takuji Ishikawa
2. 発表標題 Collective Behavior of Yeasts in Fermentation
3. 学会等名 日本流体力学会, 年会2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kenji Kikuchi
2. 発表標題 Phase contrast x-ray imaging in bio-mechanical aspects; mosquito bloody ingestion
3. 学会等名 Next Generation Synchrotron Radiation Workshop (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 菊地謙次
2. 発表標題 生物流体から学ぶバイオミメティクス
3. 学会等名 2019 年度高分子・ハイブリッド材料研究センター（PhyM）若手フォーラム（招待講演）
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計2件

産業財産権の名称 振動針装置及び針の挿入方法	発明者 菊地謙次、杉山航二 郎、石川拓司、高瀬 圭	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、出願2020-101453	出願年 2020年	国内・外国の別 国内
産業財産権の名称 Vibrating neegle device and needle insertion method	発明者 Kikuchi, et al	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、PCT/JP2021/022252	出願年 2021年	国内・外国の別 外国

〔取得〕 計0件

〔その他〕

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	石川 拓司 (Ishikawa Takuji) (20313728)	東北大学・医工学研究科・教授 (11301)	

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