

令和 4 年 6 月 15 日現在

機関番号：32689

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19H02117

研究課題名(和文)サイバー・フィジカルシステムによる高精度な心毒性の評価手法の開発

研究課題名(英文) Precision Evaluation of Cardiac Toxicity Utilizing Cyber-Physical System

研究代表者

梅津 信二郎 (Umezu, Shinjiro)

早稲田大学・理工学術院・教授

研究者番号：70373032

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,600,000円

研究成果の概要(和文)：テーラーメイド薬を始めとする様々な新薬開発に関する研究が盛んであるが、より高精度に薬効評価が可能な測定システムの開発と、数値解析システムを構築することによって、薬剤応答の正確な把握が可能になり、副作用と関連がある小さなシグナルを検出できるのではないかと考えた。そこで本研究では、薄膜エレクトロニクスを使用することでこのような測定システムを開発した。また、従来の数値解析システムを改良し、高精度に測定したデータを使用することによって、解析精度の向上を行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

日本は超高齢社会を迎えており、また心臓に関する疾患は、致死性が高いものが多いため、この薬剤応答の高精度化は、重要である。また、心臓は体全体に血液を送るポンプの役目を担う唯一の臓器のため、侵襲性の高い測定ができない。このことから、iPS由来の心筋細胞組織を対象とした高精度な測定システムを構築し、数値解析を援用して心毒性・薬剤応答を評価することは、学術的にも社会的にも意義のあることである。本研究では、薄膜エレクトロニクスによる測定システムの構築とそこで取得したデータを活用した数値解析システムを構築した。

研究成果の概要(英文)：While research on the development of various new drugs, including tailor-made drugs, has been active, we thought that the development of a measurement system that can evaluate drug efficacy with higher precision and a numerical analysis system would enable us to accurately understand drug response and detect small signals that are associated with adverse drug reactions. Therefore, in this study, we developed such a measurement system by using thin-film electronics. In addition, we improved the conventional numerical analysis system by using data measured with high precision.

研究分野：知能機械

キーワード：薄膜エレクトロニクス 心筋細胞 細胞外電位 収縮力 解析

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

心筋細胞の複雑な収縮メカニズムを正確に理解することを目的として、様々な *in vitro* 評価系が構築されている。これらは、心筋細胞の収縮能を評価する系、電気生理学的な評価をする系に大別可能である。

心筋細胞の収縮能を評価する手法として、様々な評価系が構築されているが、近年では基材の柔らかさが検討されつつある。これまでの基材として、ヤング率が数百 GPa 以上である金、白金、酸化イリジウム等の材料が使用されてきたが、心筋細胞等の生体組織のヤング率は数十 kPa 程度であり、オーダーが異なる。測定金属と細胞との界面におけるヤング率・剛性の大幅な差が、生化学的なシグナルに変換され、細胞の成長・分化に影響すると言われている。従って、テーラード薬の開発に向けて、より精度の高い薬剤応答を測定できる評価系を構築するためには、この問題を解決する必要があった。

先行研究で報告されている収縮能評価系を、培養表面の柔らかさで分類する。培養表面がリジッドな状態に適用できる収縮能評価系として、細胞の微小な形態変化を電気シグナルとして捉えるインピーダンス法、顕微鏡下での微小な細胞の動きを数値化するモーション解析、カンチレバーを接触させ、拍動時の力を定量化する原子間力顕微鏡、拍動時のカルシウムイオンの流れを定量化するカルシウムイメージングが挙げられる。これらの手法は、培養皿上で培養した心筋細胞の状態を評価できる。次に、培養基板として PDMS 等の柔らかい材料を用いて、心筋細胞の微小な動きの変位量から収縮能を定量化する手法が開発されている。牽引力顕微鏡、レーザー変位計、測色センシング、モーション解析である。これらの手法は、前述の培養皿上での培養と比較して、基材と心筋細胞との界面における機械的剛性はより近づけることができた。しかし、まだ大きなギャップがあった。

そこで、このギャップを埋めるために、材料を薄膜化したフレキシブルなひずみゲージ式のセンサやクラックセンサ、または組織工学的な手法によるゲルなどの生体材料上での培養や、スキヤフォールド無しの平面状またはチューブ状の組織を形成し、変位や拍動圧を測定する手法が報告されている。これらの手法は、足場材料の柔らかさが生体内の環境に近く、ダイナミックに拍動をする組織としての力を評価可能であるという点で優位性がある。

次に、電気生理学的評価手法に関しても同様に培養表面の柔らかさで分類する。基材がリジッドな評価系としては、パッチクランプ法、多点平面電極(MEA)が挙げられる。パッチクランプ法は、最も実績のある電気生理学的評価手法であり、単一細胞の細胞膜に印加された電圧や細胞膜上のイオンの流れの記録が可能である。現状の *in vitro* hERG 試験はパッチクランプ法が適用されている。次に MEA を使用した手法は、組織化した心筋の電気生理学的評価が可能であり、組織内における細胞外電位の流れのマッピングが可能である。また、収縮能評価系と同様に、界面にマイクロニードル等の三次元構造を作製しておくことで、培養心筋細胞の微小な動きに伴う電気生理学的特性を評価できる。しかしながら、これらの評価系も生体内の環境と比較すると培養表面が硬く、培養された心筋組織が一体となって収縮することができないという課題が残っていた。

そこで、この問題を解決するにあたり、極めて薄い基材に設けた薄膜電極、エレクトロスピンングにより作製したナノメッシュ電極、ハイドロゲルでできた柔らかい電極を利用した方法が報告され始めた。これらの方法は、拍動する細胞に追従し一体となって拍動をするため、心筋細胞にかかる物理的なストレスを大幅に軽減可能である。

さらに、上述の手法を組み合わせることで、心筋組織の収縮特性と電気生理学的特性を同時に記録する画期的な手法が提案され始めた。具体的には、MEA 技術とモーション解析、インピーダンス法、カルシウムイメージングを組み合わせることで、*in vitro* での同時測定である。収縮特性と電気生理学的特性の同時記録は、心筋細胞の複雑なメカニズムを一つの評価系で評価ができること、相互の詳細の関係が把握できることにより、指標の有効性の検証や詳細メカニズムの把握に役立つと考えられる。

### 2. 研究の目的

以上の背景から、本研究の目的は、動的な拍動を示すヒト iPS 細胞由来心筋組織の収縮力・細胞外電位の同時計測が可能な精密な生理学的機能評価システムの確立である。

### 3. 研究の方法

心筋細胞シートにおける細胞外電位を測定可能な薄膜エレクトロニクスを作製した。薄膜エレクトロニクスの作製方法は既に確立されており、それを用いた。薄膜であり生体適合性を有するパリレンを薄膜エレクトロニクスの基材として使用し、その上に、プリンティングや蒸着によって、銀や金を電極として設けた。図 1 では、金を電極として使用したものを使用する。長期間の培養を目的とした場合、銀ではなく、金の方が好ましいことを把握している。また、図 2 に示すように、薄膜エレクトロニクスを搭載した心筋細胞シート組織を培養液内に設置可能である。このような系を作製して、細胞外電位の測定を行った。さらに、本測定系の端部をロードセルに

接続することによって、薄膜基板に発生する収縮力の変化を測定した。

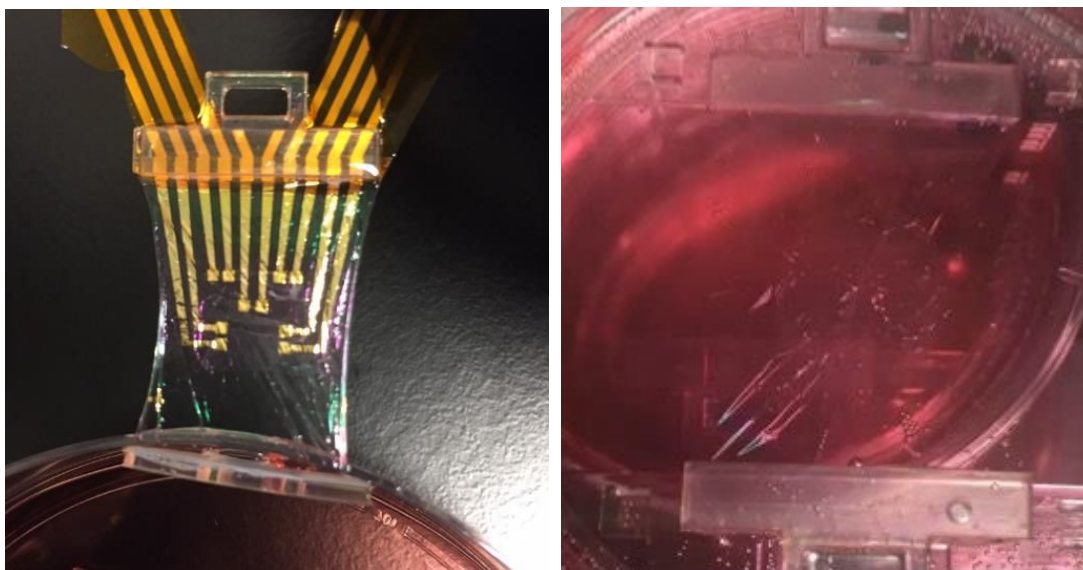


図 1 心筋細胞シートにおける細胞外電位を測定する薄膜エレクトロニクス

図 2 培養液内に設置した、薄膜エレクトロニクスを搭載した心筋細胞シート組織

#### 4. 研究成果

図 3 に収縮力と細胞外電位の同時測定結果を示す。心筋細胞シートに発生する収縮力はわずかであるが、測定できることを確認した。また、薄膜エレクトロニクスのデザインを変えることによって、測定点の数や場所を調整可能である。図 3 では 4 点の同時測定結果を示している。細胞外電位が組織内を伝播していることを確認した。

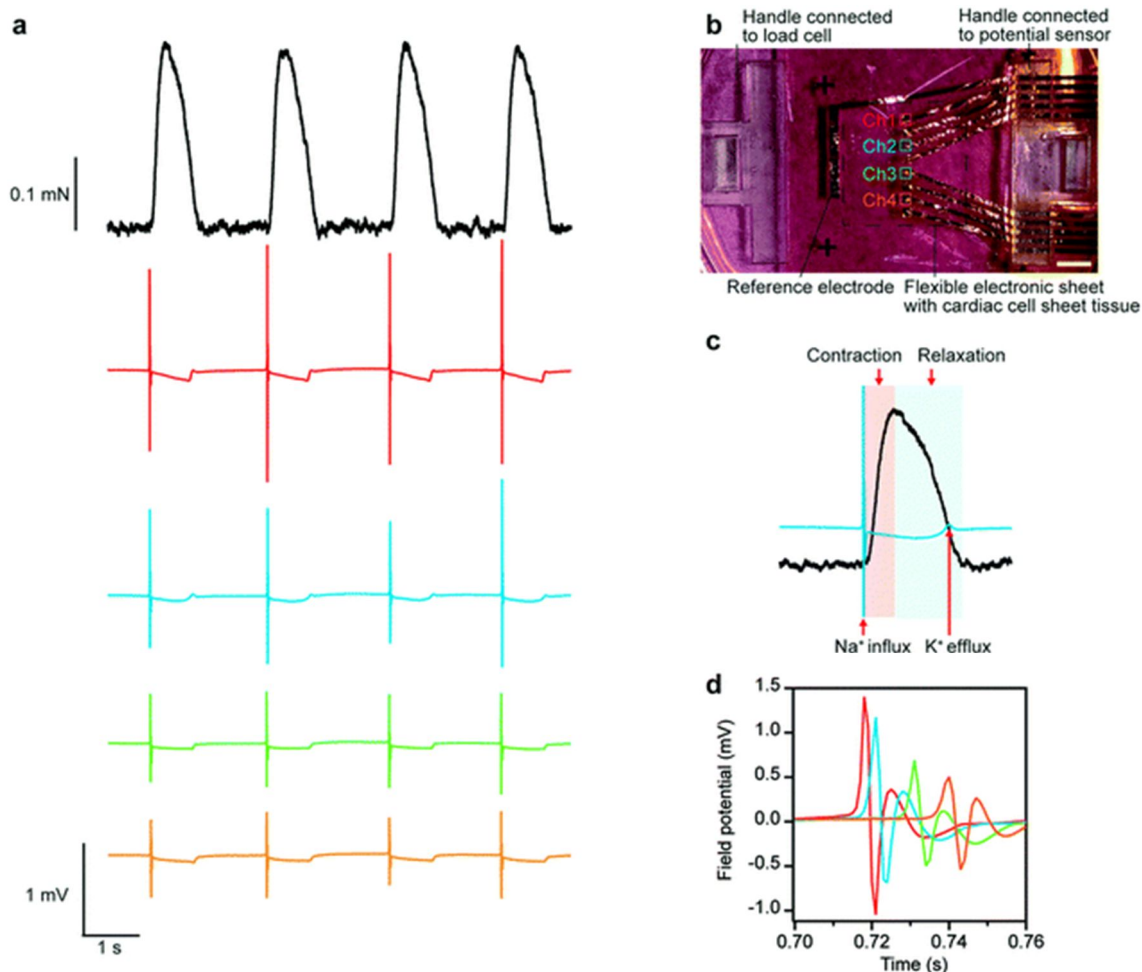


図 3 収縮力と細胞外電位の多点計測の同時測定 (lab on a chip の図 3 より引用)

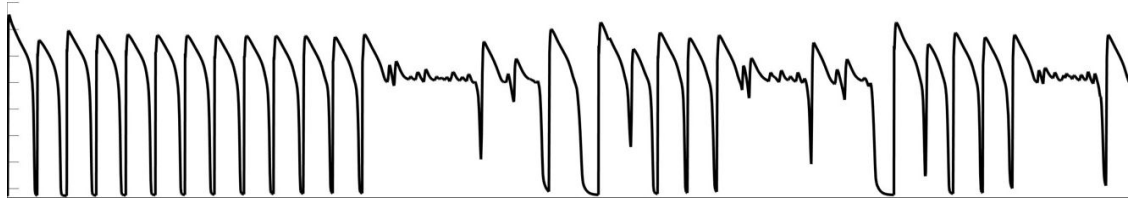


図4 数値解析（不整脈モデル）

同時並行して、数値解析を行った。図4に心臓内の線維芽細胞の比率をある一定以上にした場合（不整脈モデル）の結果を示す。線維芽細胞の比率を上げることによって、不整脈が観察されるようになるだけでなく、不整脈が心臓モデル内にとどまってしまうことを確認した。数値解析を行うにあたり、必要な値は実験または文献値を用いており、複雑で検証が困難な実験を置換する形で、数値解析を実施可能である。不整脈のメカニズムの詳細を把握することは、学術的なニーズがあるだけでなく、極めて大きな社会的・経済的意義があるので、今後は数値解析の精度向上に向けた研究の推進を行っていく。

文献省略

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計13件（うち査読付論文 12件／うち国際共著 8件／うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Kosaka Takumi, Gan Jia Hui, Long Le Duc, Umezu Shinjiro, Sato Hiroataka	4. 巻 16
2. 論文標題 Remote radio control of insect flight reveals why beetles lift their legs in flight while other insects tightly fold	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Bioinspiration & Biomimetics	6. 最初と最後の頁 036001 ~ 036001
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1088/1748-3190/abe138	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 Shahiduzzaman Md., Hossain Mohammad Ismail, Visal Sem, Kaneko Tetsuya, Qarony Wayesh, Umezu Shinjiro, Tomita Koji, Iwamori Satoru, Knipp Dietmar, Tsang Yuen Hong, Akhtaruzzaman Md., Nunzi Jean-Michel, Taima Tetsuya, Isomura Masao	4. 巻 13
2. 論文標題 Spray Pyrolyzed TiO <sub>2</sub> Embedded Multi-Layer Front Contact Design for High-Efficiency Perovskite Solar Cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nano-Micro Letters	6. 最初と最後の頁 none
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s40820-020-00559-2	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 Zhan Jing, Tamura Takayuki, Li Xiaotong, Ma Zhenghao, Sone Michinari, Yoshino Masahiro, Umezu Shinjiro, Sato Hiroataka	4. 巻 36
2. 論文標題 Metal-plastic hybrid 3D printing using catalyst-loaded filament and electroless plating	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Additive Manufacturing	6. 最初と最後の頁 101556 ~ 101556
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/J.ADDMA.2020.101556	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 Shima Daiki, Gan Jia Hui, Umezu Shinjiro, Sato Hiroataka	4. 巻 16
2. 論文標題 Smooth and slipless walking mechanism inspired by the open/close cycle of a beetle claw	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Bioinspiration & Biomimetics	6. 最初と最後の頁 016011 ~ 016011
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1088/1748-3190/abb0ca	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 Hirose Kayo, Uchida Kanji, Umezu Shinjiro	4. 巻 34
2. 論文標題 Airtight, flexible, disposable barrier for extubation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Anesthesia	6. 最初と最後の頁 798 ~ 799
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00540-020-02804-9	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 高坂拓実, 清水貴裕, 佐藤裕崇, 梅津信二郎	4. 巻 58(4)
2. 論文標題 昆虫の飛翔特性	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 日本画像学会誌	6. 最初と最後の頁 441-446
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 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 Christopher J. Valentine, Kensuke Takagishi, Shinjiro Umezu, Ronan Daly, and Michael De Volder	4. 巻 XXX
2. 論文標題 Paper based electrochemical sensors using paper as scaffold to create porous carbon nanotube electrodes	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 ACS Appl. Mater. Interfaces	6. 最初と最後の頁 XXX
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acsami.0c04896	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 Kayo Hirose, Kanji Uchida & Shinjiro Umezu	4. 巻 XXX
2. 論文標題 Airtight, flexible, disposable barrier for extubation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Anesthesia	6. 最初と最後の頁 XXX
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00540-020-02804-9	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 Katsuhisa Sakaguchi, Kei Akimoto, Masanori Takaira, Ryu-ichiro Tanaka, Tatsuya Shimizu, Shinjiro Umezu	4. 巻 2022
2. 論文標題 Cell-Based Microfluidic Device Utilizing Cell Sheet Technology	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cyborg and Bionic Systems	6. 最初と最後の頁 9758187
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.34133/2022/9758187	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 Fan Huang, Kewei Song, Yue Jiang, Kayo Hirose, Shinjiro Umezu	4. 巻 33 (8)
2. 論文標題 3D-printed swab with cover for precision diagnosis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Materials Science: Materials in Medicine	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) 10.1007/s10856-021-06635-2	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 Md Shahiduzzaman, Boyang Chen, Md Akhtaruzzaman, LiangLe Wang, Hiroki Fukuhara, Koji Tomita, Satoru Iwamori, Jean-Michel Nunzi, Tetsuya Taima, Shinjiro Umezu	4. 巻 13 (45)
2. 論文標題 Paste Aging Spontaneously Tunes TiO2 Nanoparticles into Reproducible Electrospayed Photoelectrodes	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 ACS Applied Materials & Interfaces	6. 最初と最後の頁 53758-53766
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acsami.1c13793	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 Gamal A Nasser, Ahmed L Abdel-Mawgood, AA Abouelsoud, Hisham Mohamed, Shinjiro Umezu, Ahmed MR El-Bab	4. 巻 35(7)
2. 論文標題 New cost effective design of PCR heating cycler system using Peltier plate without the conventional heating block	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Mechanical Science and Technology	6. 最初と最後の頁 3259-3268
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12206-021-0646-5	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 Takashi Ohya, Haruki Ohtomo, Tetsutaro Kikuchi, Daisuke Sasaki, Yohei Kawamura, Katsuhisa Matsuura, Tatsuya Shimizu, Kenjiro Fukuda, Takao Someya, Shinjiro Umezu	4. 巻 21(20)
2. 論文標題 Simultaneous measurement of contractile force and field potential of dynamically beating human iPSC cell-derived cardiac cell sheet-tissue with flexible electronics	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Lab on a Chip	6. 最初と最後の頁 3899-3909
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/D1LC00411E	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19件(うち招待講演 0件/うち国際学会 11件)

1. 発表者名 Zikai Zhou, Shinjiro Umezu
2. 発表標題 A simplified electromechanical model of cardiac myocyte coupling with fibroblast
3. 学会等名 The 7th International Conference on Functional Material Application (ICFMA 2021) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Marc J. Montagut Marques, Shinjiro Umezu
2. 発表標題 Towards IoT compatible thin-film healthcare wearables
3. 学会等名 The 7th International Conference on Functional Material Application (ICFMA 2021) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kewei Song, Yue Cui, Kazuyoshi Tsuchiya and Shinjiro Umezu
2. 発表標題 Enhancement Effect of ABS Fiber on Electrospinning Film
3. 学会等名 AROB-ISBC-SWARM 2022 (国際学会)
4. 発表年 2022年



1. 発表者名 Boyang Chen, Hiroki Fukuhara, Md. Shahiduzzaman, Koji Tomita, Satoru Iwamori, and Shinjiro Umezu
2. 発表標題 "Control Growth of Electrostatic Inkjet Deposited-TiO <sub>2</sub> Porous Structure for Dye-sensitized Solar Cells"
3. 学会等名 The 3rd International Conference on Surface and Interface Fabrication Technologies(ICSIF) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Ryota Samo, Toshiyuki Suzuki, Yuki Kubota, Shinjiro Umezu
2. 発表標題 Evaluation of Mechanical Properties of ablators for re-entry Capsule by Interlaminar Strength Test
3. 学会等名 The 3rd International Conference on Surface and Interface Fabrication Technologies(ICSIF) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 藤田 真央, 坂口勝久, 藏本吾郎, 梅津信二郎, 清水達也
2. 発表標題 生体外におけるヒト子宮内膜間質細胞シートの厚みに卵巣ホルモンが与える影響の検討
3. 学会等名 日本機械学会主催2020年度茨城講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 宇沢, モハammadシャヒドゥザマン, 富田恒之, 岩森暁, 梅津信二郎
2. 発表標題 静電インクジェット法を用いた二酸化チタン薄膜の構造制御とペロブスカイト太陽電池への応用
3. 学会等名 日本材料科学会主催2020年度学術講演大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 陳柏陽, 唐鳴毅, モハマドシャヒドゥザマン, 富田恒之, 岩森 暁, 梅津信二郎
2. 発表標題 静電インクジェットを用いた機能性TiO2層の作製
3. 学会等名 日本材料科学会主催2020年度学術講演大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yao Li, Ying HU, Shinjiro Umezu, Hirotaka Sato
2. 発表標題 Flying Cyborg: A New Approach for the Study of Coleoptera's Flight Pitching
3. 学会等名 2019 IEEE International Conference on Cyborg and Bionic Systems (CBS) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takumi Kosaka, Takahiro Shimizu, Hirotaka Sato, Shinjiro Umezu
2. 発表標題 Development of Insect Cyborgs with Artificial Wings
3. 学会等名 2019 IEEE International Conference on Cyborg and Bionic Systems (CBS) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Cheng Zhou, Kayo Hirose, Shinjiro Umezu
2. 発表標題 Discussion of using OpenPose to analysis the walking parameter
3. 学会等名 International Symposium on BioComplexity (ISBC) 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ryu-ichiro Tanaka , Katsuhisa Sakaguchi , Tatsuya Shimizu , Shinjiro Umezu
2. 発表標題 Toxicity evaluation of alginate lyase for dissolving alginate gel used as support material
3. 学会等名 International Symposium on BioComplexity (ISBC) 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tsubasa Sui , Toshinori Fujie , Kayo Hirose , Shinjiro Umezu
2. 発表標題 Development of Electrodes for Long-term High Precision ECG Measurement that is Non-invasive to Everyday Life
3. 学会等名 International Symposium on BioComplexity (ISBC) 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Haruki Ohtomo, Takashi Ohya, Tetsutaro Kikuchi, Daisuke Sasaki, Tatsuya Shimizu, Katsuhisa Matsuura , Kenjiro Fukuda, Takao Someya, Shinjiro Umezu
2. 発表標題 Fundamental Study of Film Thickness of Parylene Film in Measurement of Contractile Force of Cardiomyocytes
3. 学会等名 International Symposium on BioComplexity (ISBC) 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 須井翼 , 藤枝俊宣 , 廣瀬佳代 , 梅津信二郎
2. 発表標題 非侵襲的心電モニタリングに適した電極の基礎特製の検討
3. 学会等名 ロボティクス・メカトロニクス講演会2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 廣瀬佳代, 須井翼, 藤枝俊宣, 梅津信二郎, 山田芳嗣
2. 発表標題 医療機関受診前での心室細動患者拾い上げデバイスの開発
3. 学会等名 日本麻酔科学会第66回学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 田中龍一郎, 坂口勝久, 清水達也, 梅津信二郎
2. 発表標題 立体組織構築のためのバイオプリンタを用いたハイドロゲルのマイクロ加工
3. 学会等名 日本材料科学会学術講演大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大友春輝, 大矢貴史, 菊地鉄太郎, 佐々木大輔, 清水達也, 松浦勝久, 福田憲二郎, 染谷隆夫, 梅津信二郎
2. 発表標題 パリレンフィルム上心筋組織の収縮力増大方法の検討
3. 学会等名 第3回インフォマティク・バイオマテリアル研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 須井翼, 藤枝俊宣, 廣瀬佳代, 梅津信二郎
2. 発表標題 非拘束的な心電計測用電極の開発
3. 学会等名 第3回インフォマティク・バイオマテリアル研究会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 エアロゾル流出バルーン	発明者 廣瀬佳代、内田寛 治、梅津信二郎、リ ギョウトン	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2020-88159	出願年 2020年	国内・外国の別 国内

〔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
---------------------------	-----------------------	----

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