

令和 6 年 6 月 2 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的研究（開拓）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K20532

研究課題名（和文）ガン治療を目的としたゼブラフィッシュ内ナノメディシンの数理モデルの構築とその検証

研究課題名（英文）Development and validation of mathematical model of nanomedicine for cancer treatment by using zebrafish

研究代表者

長谷川 洋介（Hasegawa, Yosuke）

東京大学・生産技術研究所・教授

研究者番号：30396783

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 19,800,000円

研究成果の概要（和文）：ゼブラフィッシュの共焦点画像から毛細血管3次元構造を再構築し、得られた3次元構造、および各断面における赤血球の動画を深層学習に組み込むことによって、3次元毛細血管構造内部の3次元血流場の推定を行うための方法論を提案し、その予測精度を検証した。また、散逸動力学法による血流解析を実施し、血液中の赤血球と血漿の複雑な相互作用を再現し、その妥当性をライブイメージング動画との比較により検証した。実験においては、ナノ粒子の表面に異なる長さのPEGを被覆することにより、ナノ粒子の血液中の滞留時間を制御できることを示した。これらの知見は、ナノメディシンで用いる粒子の最適設計に大きく寄与することが期待できる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまで毛細血管内部における赤血球や血漿の相互作用やナノ粒子の挙動については、十分な知識が得られておらず、そのことが狙った患部に薬剤を選択的に届けるドラッグデリバリーシステムの確立の大きな障害となっていた。本研究では、ライブイメージングが可能なゼブラフィッシュを生体モデルとして、その内部にナノ粒子を注入し、その血管内の流動特性を直接観察する技術を構築するとともに、赤血球の動力学を考慮した数理モデルの構築、および計算コードの開発を実施した。本研究で構築したツールは、ドラッグデリバリーシステム構築のためのナノ粒子最適設計に大きく貢献することが期待される。

研究成果の概要（英文）：We developed a new methodology to reconstruct three-dimensional complex vascular network from a series of two-dimensional confocal microscope images taken from young zebrafish. The reconstructed three-dimensional structure and the movies of red blood cells at the two-dimensional planes are integrated into deep neural network for estimating the three-dimensional velocity field inside the vascular network. We have also established dissipative particle dynamics (DPD) simulation, and validated its capability of predicting complex interaction between red blood cells and plasma by comparing with experimental data. We also coated nano particles by PEG with different lengths, and demonstrated the possibility of controlling the residence time of nano particles in the blood flow, and thereby providing them the opportunity to reach a target tissue. The present experimental and numerical methods will be useful for the optimal design of nano particles used in the future drug delivery systems.

研究分野：熱流体工学

キーワード：血流シミュレーション ナノメディシン ライブイメージング ゼブラフィッシュ

### 1. 研究開始当初の背景

近年、ナノテクノロジー、医学、生命科学を融合し、がん組織へ集中的に薬物を投与するドラッグデリバリーシステムが大きな注目を集めている。生体内に注入されたナノ粒子は、毛細血管網を血流によって移流した後、がん組織近傍の血管内壁の微小な空隙を通過し、細胞間質を拡散することにより、がん組織へ到達する。これら一連のプロセスに支配されるナノ粒子のがん組織への伝達効率を高めることができれば、副作用が小さく効果的な化学療法が確立できる。しかし、生体内の血流およびナノ粒子の輸送過程を in Vivo で計測することは極めて難しく、それらを予測するための数理モデルも確立されていないことから、効率的なドラッグデリバリーシステムの開発の大きな障害となっている。また既存研究において、生体内に投入されたナノ粒子はマクロファージや血管内壁に捕捉されるために、その多くが患部に届かず、十分な治療効果が得られないことが報告されている。

### 2. 研究の目的

本研究では、胚が透明であり、生体内輸送現象のライブイメージングが可能であるゼブラフィッシュを用いて、毛細血管網内部における血球やナノ粒子の輸送・集積過程の計測手法を確立する。また、得られた時系列データを血流シミュレーションに同化することにより、毛細血管網内部の血行力学因子を取得する方法論を提案し、その有効性を実証する。また血球と血漿の相互作用を陽に考慮した散逸動力学シミュレーションを実施し、生体内データと比較することにより、同シミュレーション手法の検証を行う。また、ナノ粒子の表面に異なる長さの高分子で被覆することによって、血管内部における滞留時間を制御することを試みるとともに、その有効性を生体内ライブイメージングにより実証することを目的とする。最終的には、上記の研究を通じて、ゼブラフィッシュを生体モデルとした、ナノ粒子を用いたドラッグデリバリー開発の実験的および数値的プラットフォームの構築を目指す。

### 3. 研究の方法

本研究では、ゼブラフィッシュの脳内血管網を対象として、共焦点顕微鏡を用いて、断面画像を取得した。血管内壁と赤血球、またはナノ粒子を異なる波長で蛍光することにより、血管内壁と血管内を流れる血球、またはナノ粒子の同時観察を可能とした。また、観察断面を垂直方向にスキャンすることによって、最終的には3次元空間における血管構造を再構築し、各水平断面内における血球、またはナノ粒子の時系列データを取得した。その例を図1に示す。

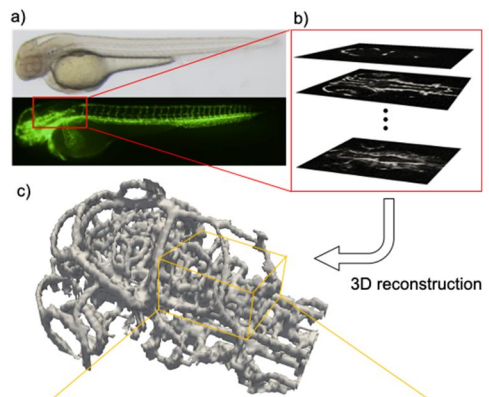


図1 ゼブラフィッシュ内部のライブイメージング

- a) 対象となるゼブラフィッシュの全体画像
- b) 各断面の血管画像 c) 3次元構築された血管構造

### 4. 研究成果

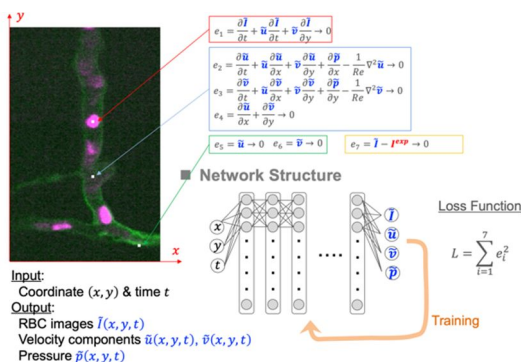


図2 深層学習を用いた顕微鏡画像に基づく血流場予測アルゴリズム

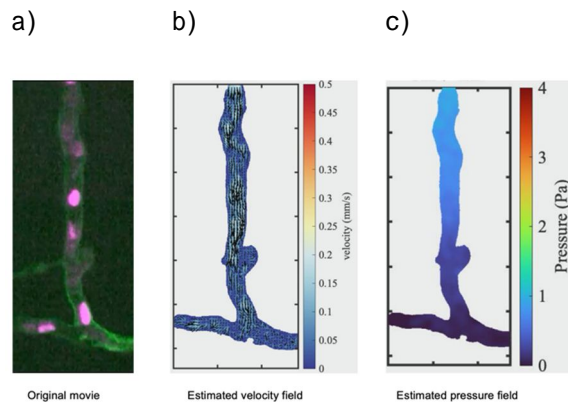


図3 血流予測結果

- a) 入力された血管と血球画像
- b) 推定された速度場および c) 圧力場

本研究では、各断面の血球、もしくはナノ粒子の時系列データを用いて、血流を推定するアルゴリズムを開発した。具体的には、図2に示すように、1)各断面の血球の動画のデータ、2)血流の支配方程式、3)血管内壁における境界条件(滑り無し条件)を満たすようにニューラルネットワークを学習させることによって、血球の動画に整合しつつ、流れの物理法則を同時に満たすような流れ場の再構築を行なった。元の血球動画とそれを入力データとして本手法により得られた血流分布と圧力分布をそれぞれ図3(a)-(c)に示す。さらに、上記の手法を3次元に拡張し、3次元毛細血管網内部の血流分布を推定した結果を図4に示す。

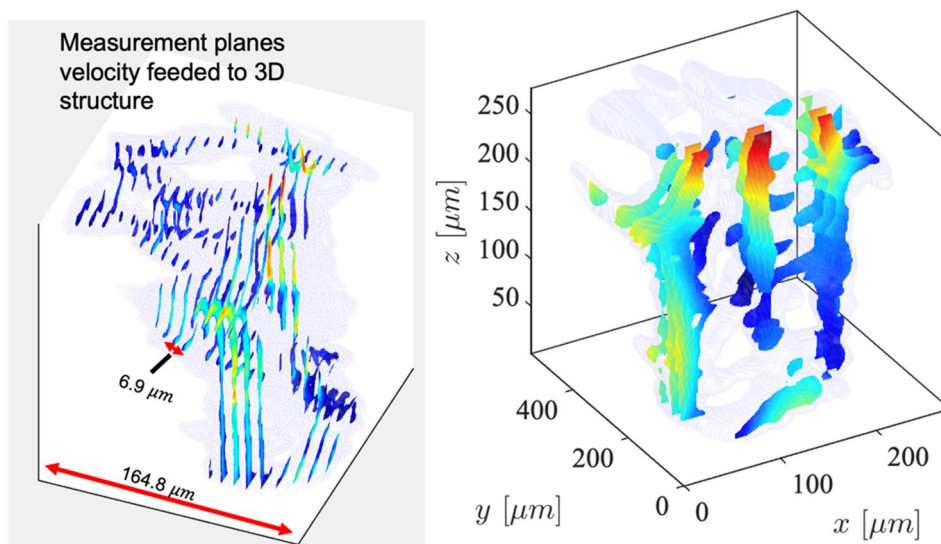


図4 本研究で提案する深層学習を用いた顕微鏡画像の同化アルゴリズムにより推定されたゼブラフィッシュ脳内3次元血管網内部の血流分布

上記の手法は、赤血球またはナノ粒子の動画から血流を予測したものであるが、この場合、赤血球やナノ粒子のダイナミクスは実験データから推定する必要があるため、実験データが存在しない未知の特性を持つ粒子の挙動を推定することは原理的に難しい。そこで、本研究では、別の数値的アプローチとして、散逸動力学法によるゼブラフィッシュ生体内の血流解析を実施した。散逸動力学では、赤血球および血漿を多数の粒子で表現し、粒子間に適切なポテンシャルを設定することにより、血漿とその内部に分散する赤血球やナノ粒子の相互作用を陽に考慮したシミュレーションが可能である。このようにして得られたシミュレーションとライブイメージングの比較を図5に示す。

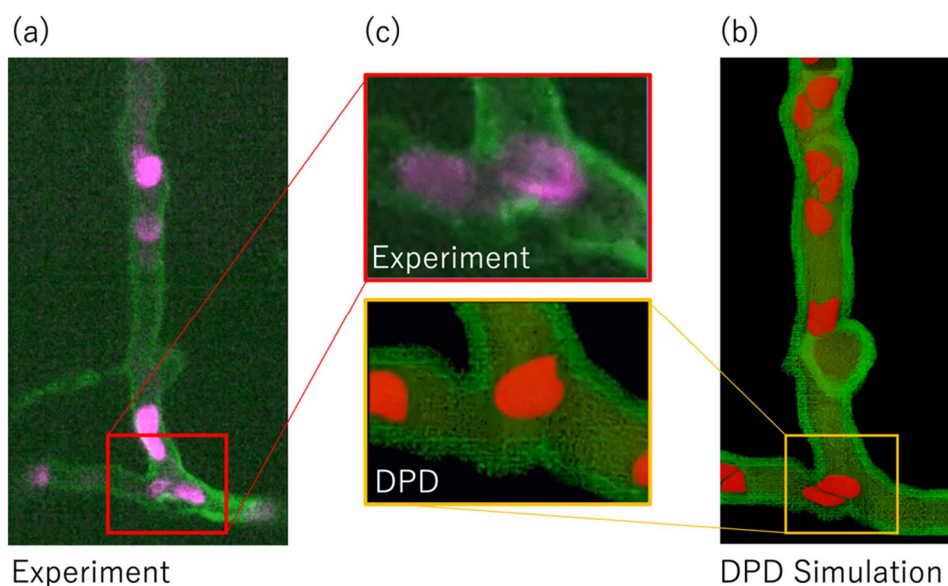


図5 ゼブラフィッシュ脳内毛細血管T字分岐部における実験と散逸動力学(DPD)シミュレーションの比較 (a) 実験によるライブイメージング結果、(b)DPD シミュレーション結果、(c)T字分岐部における拡大図



両者に良い一致が見られている。特に、図 5(c)に示す T 字分岐では、左右の分岐への赤血球の分配比率が異なっており、実験データで得られた比率とシミュレーションにより再現された分配比率には良い一致が確認できた。これにより、本研究で提案した手法によって、現実の生体の毛細血管網内部における血球と血漿の複雑な力学的相互作用が極めて精度良く再現されることを確認した。

ナノメディシンの実現に向けては、血管内に投入されたナノ粒子を長時間に渡って血管内に留める必要がある。しかし、多くのナノ粒子は血管内皮細胞やマクロファージに補足され、その僅かな一部のみが患部へ到達する。したがって、ナノ粒子に何らかの操作を加えることによって、血液中の滞留時間を拡大することが必要である。本研究では、ナノ粒子を異なる長さのポリエチレングリコール(PEG)系ポリマーで被覆することによって、血液中の滞留時間を増加させることを試みた。異なる分子量の PEG で被覆したナノ粒子をゼブラフィッシュ内に投入し、画像処理によって投入後の異なる時刻におけるナノ粒子動画から血管内壁に捕捉されたナノ粒子と血流中を移流するナノ粒子に分離し、捕捉された粒子と血管内に滞留する粒子の比率を計算した (図 6 )

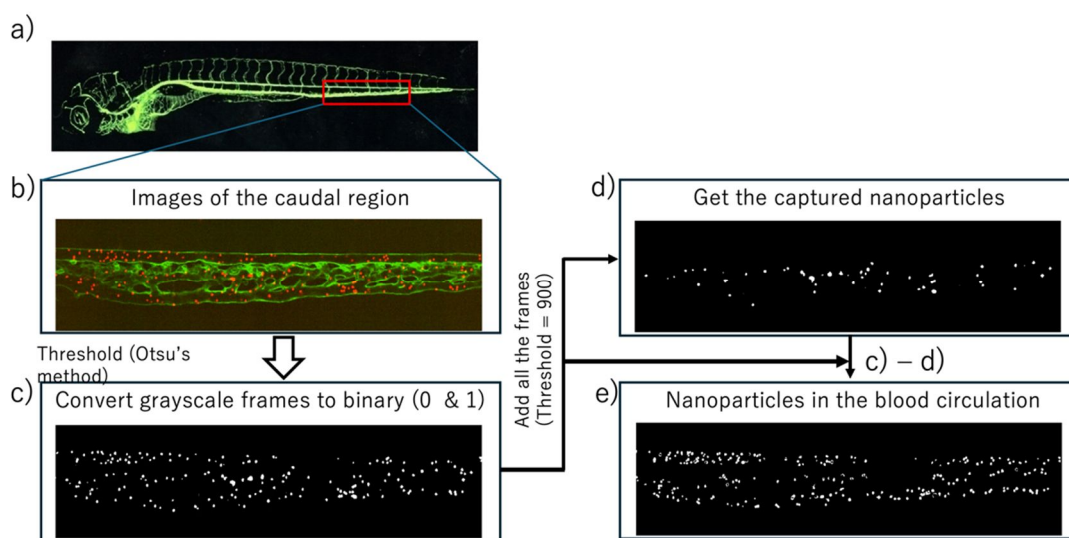


図 6 ゼブラフィッシュ内部に投入されたナノ粒子の可視化、および血管内壁に捕捉されたナノ粒子と血管内を移流するナノ粒子への分離例

このようにして得られた捕捉されたナノ粒子と血液内を移流するナノ粒子の割合を投入後の経過時間に対してプロットした結果を図 7 に示す。これにより、PEG の分子量の増加とともに、血液中の滞留時間が顕著に増加することが確認された。この結果は、ナノ粒子表面を修飾することにより、血流中の滞留時間を制御することが可能であることを示している。

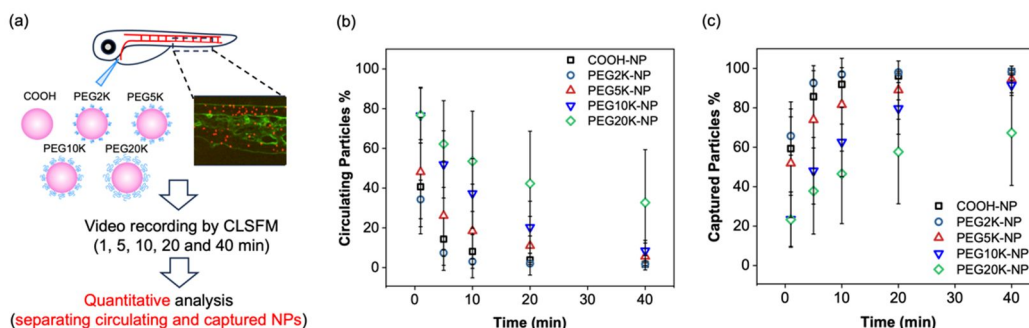


図 7 異なる分子量の PEG を被覆したナノ粒子の血管内滞留時間

(a)表面修飾したナノ粒子とその解析の概念図 (b)滞留している粒子割合 (c)血管内皮細胞に捕捉されたナノ粒子の割合

本研究では、稚魚の段階でライブイメージングが可能であるゼブラフィッシュを生体モデルとし、顕微鏡観察技術、血流シミュレーション技術、機械学習を融合することにより、生体内部の血流分布を予測し、血流と赤血球やナノ粒子の力学的相互作用を再現するための数理モデルを構築し、実験データに基づきその検証を行なった。本研究で構築された数理モデルとシミュレーション技術により、血流内部に存在する血球やナノ粒子の相互作用を再現することが可能となり、今後、ターゲットとする患部へ選択的に薬剤を運ぶナノメディシンの開発に有効なツールとなることが期待される。また、本研究で提案した PEG で表面被覆したナノ粒子を用いることで血管内の滞留時間を飛躍的に増加させることが可能であり、本研究で確立したプラットフォームにより、分子レベルのナノ粒子設計から毛細血管内部の輸送過程までを統一的に扱うことが可能となり、今後のナノメディシンの実現に大きく貢献することが期待される。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 9件 / うち国際共著 6件 / うちオープンアクセス 10件）

1. 著者名 Morooka N., Gui N., Ando K., Sako K., Fukumoto M., Hasegawa U., Humann M., Schulte-Merker S., Mochizuki N., Nakajima H.	4. 巻 151
2. 論文標題 Angpt1 binding to Tie1 regulates the signaling required for lymphatic vessel development in zebrafish	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Development	6. 最初と最後の頁 202269
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1242/dev.202269	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 Nakajima H., Ishikawa H., Yamamoto T., Chiba A., Fukui H., Sako K., Fukumoto M., Mattonet K., Kwon H.B., Hui S.P., Dobreva G.D., Kikuchi K., Helker C.S.M., Stainier D.Y.R., Mochizuki N.	4. 巻 58
2. 論文標題 Endoderm-derived islet1-expressing cells differentiate into endothelial cells to function as the vascular HSPC niche in zebrafish	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Developmental Cell	6. 最初と最後の頁 58 1-15
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.devcel.2022.12.013	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 Gong, J., Onishi, J., Komatsu, Y., Mao, N., Kametani, Y., Hasegawa, Y., Shikazono, N.	4. 巻 200
2. 論文標題 Heat transfer and pressure loss characteristics of an offset fin with oblique waves	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 International Journal of Heat and Mass Transfer	6. 最初と最後の頁 123522
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ijheatmasstransfer.2022.123522	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, K., Huang, Z., Sato, T., Ujikawa, N., Hayakawa, T., Hasegawa, Y., Suzuki, H.	4. 巻 10
2. 論文標題 Investigation of the vibration-induced local flow around a micro-pillar under various vibration conditions	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Mechanical Engineering Journal	6. 最初と最後の頁 22-00223
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1299/mej.22-00223	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 Blumers, A. L., Yin, M., Hasegawa, Y., Li, Z., Karniadakis, G. E.	4. 巻 68
2. 論文標題 Multiscale Parareal Algorithm for Long-Time Mesoscopic Simulation of Microvessel Blood Flow in Zebrafish	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Computational Mechanics	6. 最初と最後の頁 1131-1152
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00466-021-02062-w	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 Mirzapour-shafiyi, F., Kametani, Y., Hikita, T., Hasegawa, Y., Nakayama, M.	4. 巻 June 16
2. 論文標題 Numerical evaluation reveals the effect of branching morphology on vessel transport properties during angiogenesis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 PLOS Computational Biology	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) 10.1371/journal.pcbi.1008398	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 長谷川 洋介	4. 巻 73
2. 論文標題 計測とシミュレーションの融合による熱流動場の推定	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 機械の研究	6. 最初と最後の頁 911-918
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 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 F. Mirzapour-shafiyi, Y. Kametani, T. Hikita, Y. Hasegawa, M. Nakayama	4. 巻 accepted
2. 論文標題 Numerical evaluation reveals the effect of branching morphology on vessel transport properties during angiogenesis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Plos Computational Biology	6. 最初と最後の頁 1-28
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 A. Blumers, M. Yin, H. Nakajima, Y. Hasegawa, Z. Li, G. E. Karniadakis	4. 巻 2101.08414
2. 論文標題 Multiscale parareal algorithm for long-time mesoscopic simulations of microvascular blood flow in Zebrafish	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 arXiv	6. 最初と最後の頁 1-25
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 無
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 Kaithakkal Arjun J., Kametani Yukinori, Hasegawa Yosuke	4. 巻 164
2. 論文標題 Dissimilar heat transfer enhancement in a fully developed laminar channel flow subjected to a traveling wave-like wall blowing and suction	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Heat and Mass Transfer	6. 最初と最後の頁 120485 ~ 120485
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ijheatmasstransfer.2020.120485	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 KAMETANI Yukinori, FUKUDA Yutaka, OSAWA Takayuki, HASEGAWA Yosuke	4. 巻 15
2. 論文標題 A new framework for design and validation of complex heat transfer surfaces based on adjoint optimization and rapid prototyping technologies	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Thermal Science and Technology	6. 最初と最後の頁 JTST0016 1-15
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1299/jtst.2020jtst0016	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14件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 9件)

1. 発表者名 Shogo Sekine, Vivek Kumar, Hiroyuki Nakajima, Yosuke Hasegawa
2. 発表標題 1D Vascular Network Analysis of Zebrafish Hindbrain Using Physics-Informed Neural Network and its validation
3. 学会等名 日本流体力学会年会2023
4. 発表年 2023年



1. 発表者名 富澤駿、Vivek Kumar, 中嶋洋行、Zhen Li, 長谷川洋介
2. 発表標題 ゼブラフィッシュにおける赤血球の動力学を考慮した散逸粒子動力学法による血流シミュレーション
3. 学会等名 CVMW2023
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Kumar, V., Nakakura, M., Kumar, P., Nakajima, H., Hasegawa, Y., Karniadakis, G.E.
2. 発表標題 Predicting the blood flow in zebrafish hindbrain with multiple planes RBCs signal using Artificial Intelligence Velocimetry (AIV)
3. 学会等名 10th International and 50th National Conference on Fluid Mechanics and Fluid Power (FMFP) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Vivek Kumar, Shengze Cai, Mitsuho Nakakura, Hiroyuki Nakajima, George Em Karniadakis, Yosuke Hasegawa
2. 発表標題 Artificial Intelligence Velocimetry for Unsteady Blood Flow Prediction in the Basilar Artery of a Young Zebrafish
3. 学会等名 9th World Congress of Biomechanics (WCB-2022) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kanji Kaneko, Mamiko Tsugane, Taku Sato, Takeshi Hayakawa, Yosuke Hasegawa, and Hiroaki Suzuki
2. 発表標題 Detection of nanoparticles in a minute sample using the vibration induced flow
3. 学会等名 The 17th IEEE International Conference on Nano/Micro Engineered & Molecular Systems (IEEE-NEMS 2022) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kanji Kaneko, Takeshi Hayakawa, Yosuke Hasegawa, and Hiroaki Suzuki
2. 発表標題 Numerical simulation of vibration-induced mixer using a cylindrical pillar with various vibration directions
3. 学会等名 APCOT 2022 (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kanji Kaneko, Yosuke Hasegawa, Takeshi Hayakawa, and Hiroaki Suzuki
2. 発表標題 NUMERICAL STUDY OF THE VIBRATION-INDUCED CHAOTIC MIXER BASED ON VIBRATION SWITCHING
3. 学会等名 The 26h International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (MicroTAS) 2022 (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kanji Kaneko, Mamiko Tsugane, Taku Sato, Yosuke Hasegawa, Takeshi Hayakawa, and Hiroaki Suzuki
2. 発表標題 Detection and Quantification of Nanoparticles Using the Vibration-Induced Flow
3. 学会等名 MHS2022 (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Zhitai HUANG, Kanji KANEKO, Yuto ASADA, Yosuke HASEGAWA, Takeshi HAYAKAWA, Hiroaki SUZUKI
2. 発表標題 NUMERICAL CHARACTERIZATION OF THE VIBRATION-INDUCED FLOW IN VARIOUS CONDITIONS
3. 学会等名 The 26h International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (MicroTAS) 2022 (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kanji Kaneko, Yosuke Hasegawa, Takeshi Hayakawa, and Hiroaki Suzuki
2. 発表標題 NUMERICAL INVESTIGATION OF THE VIBRATION-INDUCED CHAOTIC MIXING UNDER RECTILINEAR VIBRATIONS
3. 学会等名 Serendipity Workshop 2022 (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Hasegawa, Y.
2. 発表標題 Application of Measurement Data Fusion Simulation to Vascular Biology
3. 学会等名 Cardiovascular and Metabolic Week 2022 (CVMW2022) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kumar, V., Cai, S., 中倉満帆, 中嶋洋行, Karniadakis, G., 長谷川洋介
2. 発表標題 人工知能速度測定を用いたゼブラフィッシュ後脳基底動脈の血流推定
3. 学会等名 日本流体力学会年会2021
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 長谷川洋介
2. 発表標題 血管生物学と熱流体工学
3. 学会等名 第7回血管生物医学会若手研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 中倉満帆, M. Yin, 中嶋洋行, G.E. Karniadakis, 長谷川洋介
2. 発表標題 ゼブラフィッシュ脳内血管網における生体ライブイメージングを用いた1次元血流モデルの検証
3. 学会等名 日本流体力学会年会2020
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 長谷川 洋介, 中山 雅敬	4. 発行年 2021年
2. 出版社 (株)エヌ・ティー・エス	5. 総ページ数 8
3. 書名 マイクロ・ナノ熱工学の進展 (分担執筆: 第4篇 第3章 第4節 生体内血管網の輸送特性と分岐形態最適化)	

1. 著者名 長谷川洋介, 中山雅敬 (分担執筆)	4. 発行年 2021年
2. 出版社 エヌ・ティー・エス	5. 総ページ数 8
3. 書名 マイクロ・ナノ熱工学の進展 (第4篇3章(4)「生体内毛細血管網の輸送特性と分岐形態最適化」)	

〔産業財産権〕

〔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	中嶋 洋行  (Nakajima Hiroyuki)  (10467657)	国立研究開発法人国立循環器病研究センター・研究所・室長    (84404)	

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
研究協力者	長谷川 麗  (Hasegawa Urara)	ペンシルベニア州立大学・Department of Materials Science and Engineering・Assistant Professor	

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		
	米国	ブラウン大学	ペンシルベニア州立大学