

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24年 6月 18日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2010～2011

課題番号：22760180

研究課題名（和文）

細胞力覚により成長するウェットロボットの開発

研究課題名（英文）

Development of a Wet-robot that Grows by Exploiting Mechanical Stimulations

研究代表者

清水 正宏 (SHIMIZU MASAHIRO)

大阪大学・大学院情報科学研究科・准教授

研究者番号：50447140

研究成果の概要（和文）：生物は、細胞単位であっても自己複製、自己修復、自己組み立てといった優れた機能を発現することが知られている。そこで申請者は、生体自体が本来有する優れた特性を誘導・発現させるバイオリボットの創成を試みた。具体的には、細胞力覚（機械刺激応答）を活用して成長する筋細胞アクチュエータを開発した。ここでは、マウス由来筋芽細胞 C2C12 に伸展機械刺激を印可することで、筋線維への分化が促進されることを確認し、筋細胞アクチュエータを自己組織的に設計・構築することが可能となった。

研究成果の概要（英文）：Recently, bioactuators that exhibit self-organization have been attracting a lot of attention, because biological devices are expected to have significant abilities such as self-reproduction, self-repair, self-assembly. Based on this consideration, we have developed a myofilament-actuator, where we have utilized effects of a mechanical stimulation to construct the mechanical structure of such a bio-actuator. More specifically, we found that induction of differentiation into myofilament-like cells from a cultured myoblasts C2C12 is promoted under the mechanical stimulation.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2011年度	1,500,000	450,000	1,950,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：工学

科研費の分科・細目：機械工学 ・ 知能機械学・機械システム

キーワード：バイオメカニクス、メカノバイオロジー

1. 研究開始当初の背景

これまで、RT (Robot Technology) は日本国の次世代産業の基幹技術として期待され、経済産業省の技術戦略マップ、21世紀ロボットチャレンジプログラムの施策のように、急務の課題として推進されている。しかしながら、現在の RT においては、既存の技術の継承・発展や、金属・半導体といった生

体に非親和性な材料の利用を要因として、その応用分野のほとんどが生体外適用に限定されている。そこで今後の超高齢化社会への対応、再生医療への応用といった生体内環境での計測と制御のニーズに応えるために、RT 技術のパラダイムシフトが焦眉の急となっている。

一方、近年、生物学では機械的な刺激に対す

る細胞の応答（細胞力覚）による機能・形態の分化が注目を集めている。細胞の振る舞いを決定する要因として、従来ホルモンなど化学的な外部刺激が知られていたが、機械的な刺激も非常に重要であることが解明されてきた。機械的な刺激に対する細胞の応答は、国内では曾我部（名古屋大）・成瀬（岡山医大）らによって先駆的に研究され、極めて短時間に細胞の内部状態と形態が変化することが明らかになった。研究の進展によりこれらの知見は、現在、再生・移植医療、ガン医療を初めとする医療分野から極めて大きな関心を集めている。なぜなら、細胞の形態のみならずその機能は、細胞が体内で受ける機械的な刺激・物理的な相互作用に非常に強く依存していることが明らかになったためである。例えば、筋芽細胞の筋細胞への分化は機械的な刺激によって促進されることが報告されており、さらに興味深いことに、Discherら（ペンシルバニア大、USA）によると、細胞は接着した場所の機械的な強度を認識することができ、足場の固さに応じて骨・筋肉・神経に分化する。

2. 研究の目的

本研究の目的は、生体に親和性の高い材料のみから知能機械システムを実現するウェットロボティクス技術の創出を目指すものである。具体的には、細胞の力覚応答を活用して任意の機械構造を筋芽細胞により構成し、電気刺激を制御入力として、機械的機能（運動）を出力として制御する。これは、生体内環境での計測と制御を可能とするロボットの開発を早期に達成する研究プロジェクトである。以上により、工学のみならず、生物学、医学にも貢献する新しいロボット工学の創出が期待できる。

3. 研究の方法

本研究では、PDMS チャンバ上で培養筋芽細胞に伸展刺激を印加することで、生体由来アクチュエータ（筋細胞）を構築する。このために、細胞に伸展刺激を与えるための実験システムを構築した。以下にその詳細を述べる。

(1) 可変形 PDMS チャンバの導入

ここでは、培養筋芽細胞に伸展刺激を印加するために、可変形な PDMS 製のストレッチチャンバ（以降、PDMS チャンバと呼称する。）（ストレックス社製）を導入した。PDMS は、1) 無色透明であり実験観察が容易、2) 生体物質に対し化学的影響を及ぼさない、といった性質を有する樹脂素材である。このため、培養筋芽細胞への伸展刺激の印加、細胞培養の一連の操作をすべて行うことができる。

(2) 細胞伸展刺激装置の開発

上述の PDMS チャンバに伸展刺激を印加するための、細胞伸展刺激装置を開発した。駆動原理は以下の通りである。アクチュエータとしてステッピングモータ

(AR46AK-T10-1) を用い、その回転軸にボールねじを装着することで、回転運動を直線運動に変換した。チャンバの片側を装置のフレームに固定し、もう片側を可動式のアームに固定する。アームはボールねじと連結しており、ステッピングモータを反復回転させることでチャンバに伸展刺激を印加する。

(3) 生成：伸展刺激による筋線維への分化誘導

以上の実験システムを用いて、以下に述べる手続きに基づき細胞の培養、分化誘導を行った。伸展刺激を印加する細胞には、前述の培養筋芽細胞(ATCC 社製) を使用した。

PDMS チャンバを 2% ゼラチン(和光社製) でコートし、細胞濃度が 5.0×10^5 cells/chamber となるように播種した。

コンフルエントになる（細胞が密集する）までは 10%FCS(GIBCO 社製)、1%PS(SIGMA 社製) を含む DMEM(SIGMA 社製) を用いて培養し、その後は細胞増殖抑制のため FCS を 3% に変更し、周期が 10cycle/min、伸展率が 12.8% の条件で伸展刺激を 3 日間印加した。培養は、37°C、5%CO₂ のインキュベータ中で行った。また、コントロール（比較対象）として伸展刺激を印加しない細胞の培養も併せて行った。

(4) 駆動：電気刺激印加による筋線維の収縮生成させた筋細胞に対する、電気刺激印加による駆動実験を行った。2 本の白金線を電極として培養液に浸し、50V のパルス電圧を室温環境下で印加し、観察した。

4. 研究成果

H 2 2 年度は、筋芽細胞が伸展応力外場によって配向し筋細胞の繊維をつくる性質を応用し、マイクロスケールの一次元筋細胞アクチュエータを構築した（図 1 参照）。

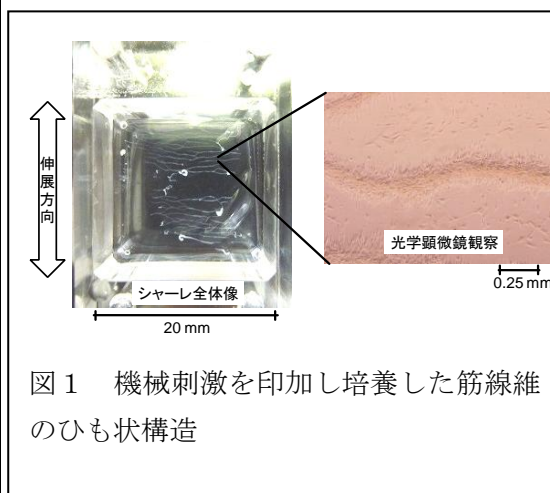


図 1 機械刺激を印加し培養した筋線維のひも状構造

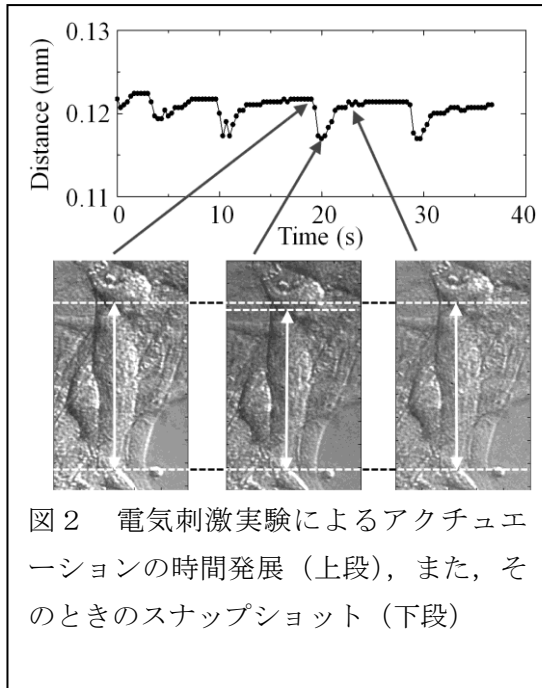


図2 電気刺激実験によるアクチュエーションの時間発展（上段），また，そのときのスナップショット（下段）

(1) 細胞接着の足場パターンニングによって細胞塊の概形を構成 PDMS 表面形状の制御によって，細胞接着のパターンを制御する．溝状のパターン内では，細胞は溝底部にのみ接着することが分かっている．このようにして，長さ 1 mm×幅 0.3 mm×厚さ 20 μm 程度の細長い板状の細胞塊をデザインするための培養実験を行い，知見を蓄積した．

(2) 細胞伸展実験装置によって細胞塊内の配向を制御 細胞塊の短軸方向あるいは長軸方向に伸展刺激を与え，細胞塊の中で筋細胞を一方向に配向させた（図2参照）．

(3) 内部構造が形成された細胞塊を足場から剥離 上述の実験と並行して細胞塊を足場から剥離する技術を検討する．岡野ら（東京女子医科大）は，37 度付近で凝固するゲルの上で細胞シートを培養した後，低温でゲルを融解させて細胞シートのみを回収する技術を報告している．本研究の初動段階では，大面積の細胞シートをハンドリングする必要は無いため，この温度応答性ゲルを使用することによって(b)で形成した細胞塊を傷つけずに剥離・回収することができると考えている．今年度は，このために，コラーゲンゲルに細胞を内包させる実験を行った．

(4) チャネルロドプシン遺伝子の導入による光刺激制御 上述の実験と並行して，細胞にチャネルロドプシン遺伝子を導入し，培養筋芽細胞を外部からの光刺激によって収縮させることに成功した（図3参照）．

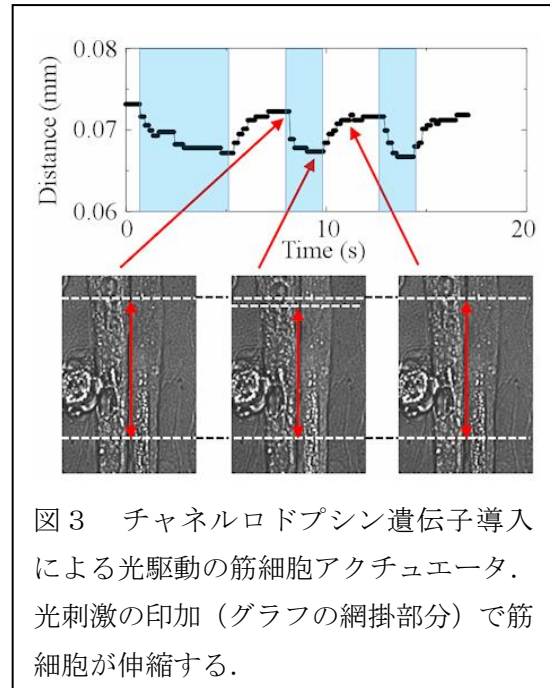


図3 チャネルロドプシン遺伝子導入による光駆動の筋細胞アクチュエータ．光刺激の印加（グラフの網掛部分）で筋細胞が伸縮する．

H 2 3 年度は，培養筋細胞によるマイクロポンプ用アクチュエータの作成を行った（図4参照）．現在，必要箇所への確に微量の液体や気体を輸送するための手段としてマイクロポンプが使用されている．マイクロポンプは，工学的には携帯電話やノートパソコンなどのモバイル機器に搭載されるモバイル用燃料電池や冷却機，MEMS(Micro Electro Mechanical System) 技術を用いた少量の液

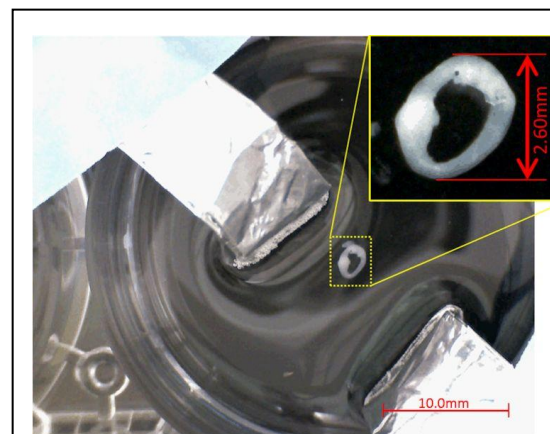


図4 実験で用いた湾曲形状の筋細胞アクチュエータと実験環境．直径 35mm ディッシュの中央付近に製作したアクチュエータを配置し，その両側からアルミ電極により電圧 9.2V を印加しアクチュエータを収縮させる．

体や気体を正確に分析できる測定器としての活用など多岐にわたって使われている。また医学的には、インスリンを投与するための人工膵臓としての活用や、血流を測る測定器などで使われている。一方、我々の血管や心臓も血液を送り出す役割を持っているという点でマイクロポンプと同じであり、これらが欠損した場合は代替となる器官が必要となる。しかし先述のマイクロポンプを血管や心臓などの代替として使うことを考えると、現在使われている素材は生体親和性という観点から製作されておらず、拒絶反応という問題が存在しているため体内埋め込み型のデバイスとしての活用は難しい。

そこで、H23年度は、生体の持つ自己修復能力や生体親和性に着目し、体内埋め込み型マイクロポンプを目指して生体由来組織のみで構成されたアクチュエータを製作した。細胞の機械刺激応答を活用してアクチュエータの形状を設計・作成した。具体的には、大阪工大 藤里らの方法を拡張することにより、湾曲形状を有する筋細胞アクチュエータを作成した。作成した筋細胞アクチュエータに電気刺激を印可し、アクチュエータとして駆動することを確認した。このアクチュエータは肉眼で十分に観察できるほど大きな構造物であることに注意されたい。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計0件)

[学会発表] (計5件)

[1] Masahiro Shimizu, Shintaro Yawata, Koichiro Miyamoto, Kota Miyasaka, Toshifumi Asano, Tatsuo Yoshinobu, Hiromu Yawo, Toshihiko Ogura, and Akio Ishiguro, Toward Biorobotic Systems with Muscle Cell Actuators, In the Proc. of AMAM2011, pp.87-88, 10/12/2011, Awaji Yumebutai(Hyogo), Japan.

[2] 武田孟, 八幡慎太郎, 清水正宏, 宮本浩一郎, 宮坂恒太, 浅野豪文, 吉信達夫, 八尾寛, 小椋利彦, 石黒章夫: 機械刺激応答を活用した筋細胞アクチュエータの自己組織的創成, 第11回計測自動制御学会システムインテグレーション部門講演会, 1L4-3(2010), 12/23/2010, 東北大学(宮城県).

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

○取得状況 (計0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

[その他]

ホームページ等

(1)ホームページ

<http://www-hi.ise.eng.osaka-u.ac.jp/>

(2)報道歴

河北新報朝刊 (2010年12月16日) (チャネルロドプシン遺伝子による光駆動の筋細胞ロボットアクチュエータに関する研究 (神経を照らし情報伝達-動力源に活用探る-))

(3)受賞歴

本研究成果 (学会発表[2]) によって, 指導した学生 (武田孟) が 2011 年度計測自動制御学会学術奨励賞を受賞した。

6. 研究組織

(1) 研究代表者

清水 正宏 (SHIMIZU MASAHIRO)

大阪大学・大学院情報科学研究科・准教授

研究者番号: 50447140