



つくば医工連携フォーラム 2023

Tsukuba Biomedical Engineering Forum 2023
「医工融合で切り拓くつくば発エコシステム」

プログラム・予稿集

日 程

2023(令和 5)年 1 月 20 日(金)

会 場

産業技術総合研究所 つくば共用講堂

大会長

荒川 義弘
(筑波大学つくば臨床医学研究開発機構 機構長)

主催:つくば医工連携フォーラム | つくばバイオマテリアル医工学研究会
共催:筑波大学つくば臨床医学研究開発機構 | 産業技術総合研究所 | 物質・材料研究機構 |
農業・食品産業技術総合研究機構 | 茨城県 | つくば研究支援センター
後援:NPO 法人医工連携推進機構 | つくば市 | つくばグローバル・イノベーション推進機構
協賛:AMED 次世代医療機器連携拠点整備等事業

広告



GLIT (グリット) とは…

Guild for Leading Innovative Technologyの略で、直訳すると革新的な技術でリードする団体
茨城県内企業を中心とした中小製造業による共同受注体
「医療・介護」「航空・宇宙」「再生可能エネルギー」
への共同参入を目指し、活動を行っています。



GLITは持続可能な開発目標（SDGs）を支援しています。



光学 半導体
ウエハー
結晶

小ロットから対応。

各種単結晶ウエハー
ご相談ください。

大学や先端研究部門では、ウエハーのサイズや、方位、厚さなど、様々なパラメータが重要な要素になり、量販の基板では妥協できない場合も出てくるかと思います。

こういったお客様に、できる限り理想のウエハー供給を行い、研究開発に貢献して行く事が（株）オプトスターのミッションです。

Si, Sapphire, ZnO, etc.

株式会社オプトスター

〒305-0067

茨城県つくば市館野 597-1 2号

TEL 029-879-8928

FAX 029-879-8811

E-mail sales@optostar.com

Website <https://optostar.com>

「スモールウエハー」で検索・お問合せください!

ご挨拶

つくば医工連携フォーラム 2023 の開催にあたって

「医工融合で切り拓くつくば発エコシステム」

このたび、2023 年 1 月 20 日（金）に国立研究開発法人産業技術総合研究所にてつくば医工連携フォーラム 2023 を開催することとなりました。

本フォーラムは、「つくばバイオマテリアル・医工学研究会」、「つくば医療産業懇談会」（当時）および「Bio Tsukuba 研究交流会」を母体として、2009 年以来、コロナ禍の 2021 年を除き毎年開催されています。つくば地区を中心として、医工連携による研究開発に従事する研究者や関連産業の方、大学院生、ライフイノベーションに関心がある方等が、年に一度集い、互いの成果を発表し、また、最新の情報を共有して交流を深めています。

今年のテーマは「医工融合で切り拓くつくば発エコシステム」としました。昨今、医薬品・医療機器等の開発は、アカデミア発、スタートアップ経由、製造販売企業による事業化という流れが一般化してきており、アカデミアへの期待が益々高まっています。また、アカデミアでも、研究成果（シーズ）を実用化に結びつけるための橋渡し研究の支援体制の整備が進み、研究の早期の段階からオープンイノベーションを推進し、共同研究や技術移転に結びつけていく体制が整備されています。その中で、アカデミアによる革新的医療技術開発には、ニーズを的確に把握しシーズ開発に反映させる「医工融合」の重要性が改めて認識されています。

このつくば医工連携フォーラムは、そのような志の関係者が集う場（エコシステム）となっています。できるだけ多くの方にご参加・ご発表いただき、活発な議論をお願いするとともに、共同研究や技術移転に少しでも多く発展することを期待しています。

2022 年 10 月

つくば医工連携フォーラム 2023

大会長 荒川義弘

筑波大学つくば臨床医学研究開発機構（T-CReDO）機構長

大会概要

- 大会名称

つくば医工連携フォーラム 2023

- テーマ

医工融合で切り拓くつくば発エコシステム

- 大会長

荒川 義弘 筑波大学つくば臨床医学研究開発機構（T-CReDO）機構長

- 会 期

2023（令和5）年1月20日（金）

- 会 場

産業技術総合研究所 つくばセンター共用講堂
茨城県つくば市東 1-1-1

- 主 催

つくば医工連携フォーラム
つくばバイオマテリアル医工学研究会

- 共 催

筑波大学つくば臨床医学研究開発機構
産業技術総合研究所
物質・材料研究機構
農業・食品産業技術総合研究機構
茨城県
つくば研究支援センター

- 後 援

NPO 法人医工連携推進機構
つくば市
つくばグローバル・イノベーション推進機構

- 協 賛

AMED 次世代医療機器連携拠点整備等事業

- 運営事務局

筑波大学つくば臨床医学研究開発機構
TR 推進・教育センター内
〒305-8576 茨城県つくば市天久保 2-1-1
E-mail: tbme2023@md.tsukuba.ac.jp

大会組織(各組織五十音順)

● 名誉会員

立石 哲也	国立研究開発法人産業技術総合研究所 名誉リサーチャー 医工連携推進機構
	国立研究開発法人物質・材料研究機構
本間 一弘	国立研究開発法人産業技術総合研究所 名誉リサーチャー 株式会社三菱総合研究所ヘルスケア・ウェルネス事業本部
山根 隆志	国立研究開発法人産業技術総合研究所 名誉リサーチャー

● 筑波大学つくば臨床医学研究開発機構

大会長 荒川 義弘	国立大学法人筑波大学つくば臨床医学研究開発機構
野口 裕史	国立大学法人筑波大学つくば臨床医学研究開発機構
橋本 幸一	国立大学法人筑波大学つくば臨床医学研究開発機構
町野 毅	国立大学法人筑波大学つくば臨床医学研究開発機構
山田 雅信	国立大学法人筑波大学つくば臨床医学研究開発機構
監査 高野 晋吾	国立大学法人筑波大学つくば臨床医学研究開発機構

● 産業技術総合研究所

加藤 大	国立研究開発法人産業技術総合研究所 健康医工学研究部門 バイオイメーシング研究グループ
佐藤 洋	国立研究開発法人産業技術総合研究所 人間情報インタラクション研究部門
鎮西 清行	国立研究開発法人産業技術総合研究所 健康医工学研究部門
丸山 修	国立研究開発法人産業技術総合研究所 健康医工学研究部門 次世代治療・診断技術研究ラボ
葭仲 潔	国立研究開発法人産業技術総合研究所 健康医工学研究部門 医療機器研究グループ

● つくばバイオマテリアル・医工学研究会

廣瀬 志弘	国立研究開発法人産業技術総合研究所 健康医工学研究部門 生体材料研究グループ
-------	--

● 物質・材料研究機構

荏原 充宏	国立研究開発法人物質・材料研究機構 機能性材料研究拠点 スマートポリマーグループ
川上 亘作	国立研究開発法人物質・材料研究機構 機能性材料研究拠点 医療応用ソフトマターグループ
田口 哲志	国立研究開発法人物質・材料研究機構 機能性材料研究拠点 バイオポリマーグループ
陳 国平	国立研究開発法人物質・材料研究機構 機能性材料研究拠点 生体組織再生材料グループ
吉富 徹	国立研究開発法人物質・材料研究機構 機能性材料研究拠点 生体組織再生材料グループ

● 農業・食品産業技術総合研究機構

副会長 亀田 恒徳	国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構 生物機能利用研究部門 絹糸昆虫高度利用研究領域 新素材開発グループ
神戸 裕介	国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構 生物機能利用研究部門 絹糸昆虫高度利用研究領域 新素材開発グループ
寺本 英敏	国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構 生物機能利用研究部門 絹糸昆虫高度利用研究領域 新素材開発グループ

● 茨城県

大森 貴弘	茨城県産業戦略部技術振興局技術革新課
小林 哲也	茨城県産業戦略部技術振興局技術革新課

● つくば研究支援センター

田澤 真人	株式会社つくば研究支援センター
湯原 幸子	株式会社つくば研究支援センター

参加者の皆様へ

参加受付

日 時：2023（令和 5）年 1 月 20 日（金）8:40～17:00

場 所：産業技術総合研究所 共用講堂 1 階総合受付

- （１） 会場入口には非接触型体温計等を使用し体温計測を行います。
- （２） オンラインでの事前登録・決済制のみの受付とさせていただきます。
本大会の参加受付には Peatix（イベント管理システム）を利用しています。
事前に Peatix の「つくば医工連携フォーラム 2023」イベントサイトで参加登録をお済ませください。
会期中に参加登録される方も、必ずオンライン登録をお済ませの上、ご来場ください。
- （３） 当日は Peatix にログインし、マイチケットから本大会のチケットを表示していただくか、あらかじめ QR コード画面を印刷して当日ご持参ください。

参加費

区分	事前参加登録 ～2023/1/8 まで	通常登録 2023/1/9～1/20
一般	2,000 円	3,000 円
ポスドク	2,000 円	3,000 円
学生（当日、学生証の提示要）	無料	無料

ネームカード(参加証)

- ・当日は Peatix にログインし、マイチケットから本大会のチケットを表示していただくか、あらかじめ QR コード画面を印刷して当日ご持参ください。
- ・QR コードを確認し、ネームカード（参加証）と引き換えさせていただきます。学生の方は、学生証をご提示ください。
- ・ネームカードに記名の上、会場内では必ず着用ください。

講演予稿集

- ・講演抄録集は電子化されています。
- ・大会ホームページより PDF にてダウンロードいただけます。
- ・今回は紙媒体での抄録集の配布予定はございません。予めご了承ください。

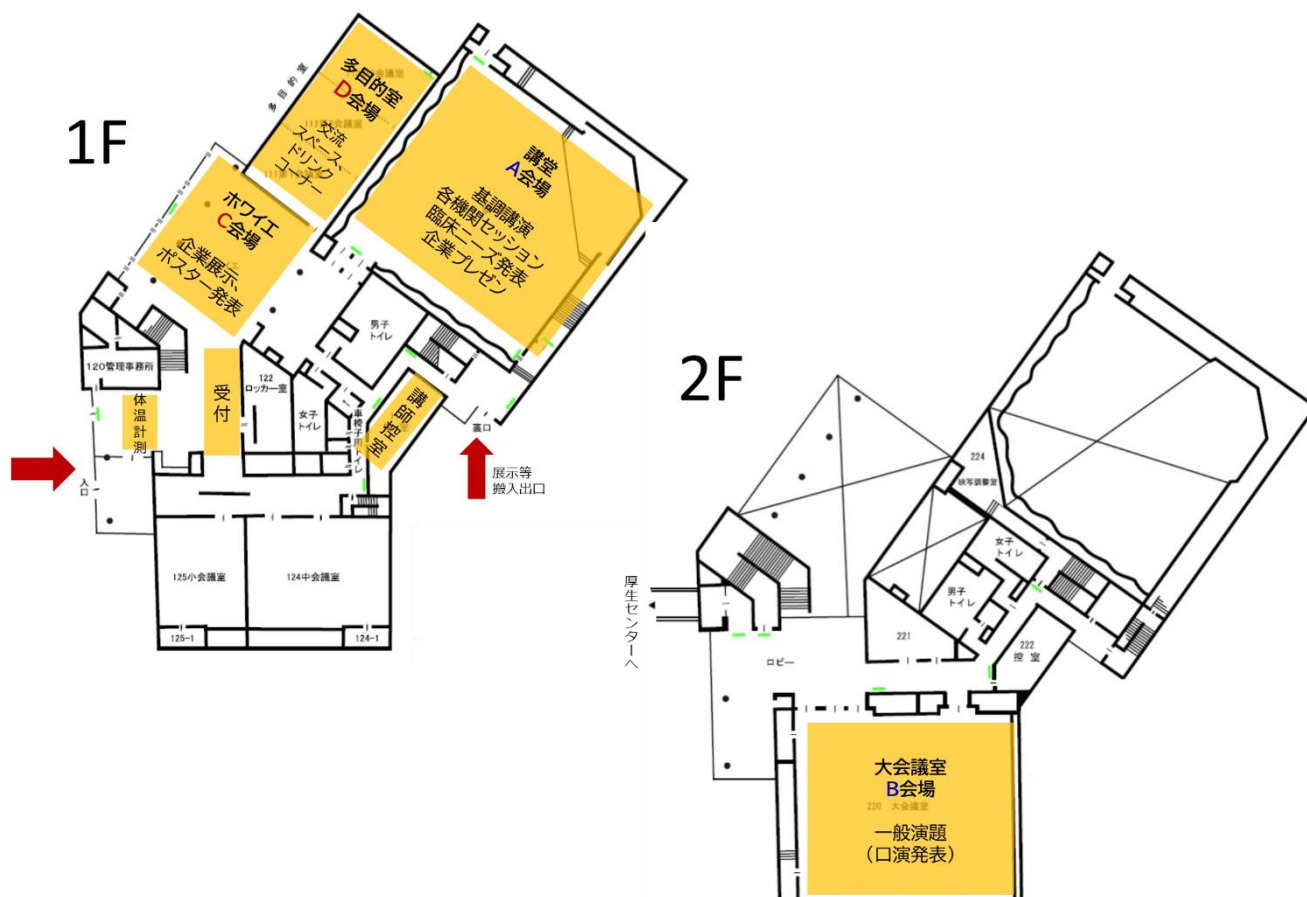
新型コロナウイルス感染症 感染拡大防止対策

- ・来場時にマスク着用をお願いします。予備のマスクは運営事務局で準備していますので必要に応じてお使いください。
- ・発熱・咳等の風邪の症状がある方は、会場参加をお控えください。
- ・正面玄関入口に手指消毒用アルコール、自動体温計測器の設置があります。
- ・37.5℃以上の方は入場できません。
- ・飲食される際は黙食のご協力をお願いいたします。

会場内サービス・施設について、その他

- ・会場内飲食：
指定された場所以外での飲食はご遠慮ください。
飲食可能場所：1 階：D 会場（多目的室）、講師控室、2 階：ラウンジ、ウッドデッキ
- ・ドリンクサービス：
D 会場（多目的室）に無料ドリンクコーナーをご用意いたします。数に限りがありますのでご了承ください。
- ・昼食のご案内：
厚生センター内食堂、レストラン、コンビニ、厚生別館 B 食堂、カフェピクニックをご利用ください。
一部の施設（食堂）では現金が使えない場所もありますのでご注意ください。
- ・貴重品・クローク：
貴重品のお預かりはできません。クロークの用意はありません。ご自身で管理をお願いします。
- ・Wi-fi 環境：
会場内各エリアで Wi-fi が無料でご利用いただけます。（パスワードあり、受付までお問い合わせください）
- ・災害発生時の避難：
災害発生時は、各会場のスタッフの指示に従って避難してください。
各会場の非常口や避難経路をご確認ください。受付に掲示いたします。
避難時はエレベーターを使用しないでください。

会場案内



日程表

	A 会場 (講堂)	B 会場 (大会議室)	C 会場 (ホワイエ)	D 会場 (多目的室)
8:30				
	大会専用無料バス:TX つくば駅/つくばセンター⑨番のりば 9:10 発⇒産総研行き			
9:00	8:40- 開場・受付		9:00-10:00 (企業展示設営)	
	9:40-9:50 開会挨拶 荒川 義弘			
10:00	9:50-10:30 基調講演 1 座長 町野 毅 演者 Dennis Abremski			
11:00	10:40-11:30 招待講演1(産総研セッション) 座長 鎮西 清行/葭仲 潔 演者 池原 譲/吉岡 正裕	10:40-11:30 一般演題(口演) 1 座長 川上 亘作 O1-1～O1-5		
	11:30-12:00 臨床ニーズ発表 座長兼演者 野口 裕史		10:00-13:30 ポスター閲覧	
12:00	12:00-12:30 企業ショートプレゼンテーション 司会 つくば研究支援センター			
13:00			10:00-16:30 企業展示設営	11:00-16:00 交流スペース ドリンクコーナー
			13:30-14:30 ポスター発表 コアタイム制 奇数番 13:30-14:00 偶数番 14:00-14:30	
14:00				
	14:30-15:00 基調講演 2 座長 荒川 義弘 演者 久芳 明			
15:00	15:00-15:50 招待講演 2(筑波大セッション) 座長兼演者 野口 裕史 演者 犬塚 隆志/竹下 修由/松山 裕	15:00-15:50 一般演題(口演) 2 座長 寺本 英敏 O2-6～O2-10	14:30-16:30 ポスター閲覧	
16:00	16:00-16:50 招待講演 3(物材研セッション) 座長 田口哲志 演者 土谷 浩一/間宮 広明/石原 伸輔	16:00-17:00 一般演題(口演) 3 座長 丸山 修 O3-11～O3-16		
17:00	17:00-17:50 招待講演 4(農研機構セッション) 座長 亀田 恒徳 演者 佐藤 充		16:30-17:30 (企業展示撤去)	
18:00	17:50-18:00 研究奨励賞表彰式 18:00-18:10 閉会挨拶 亀田恒徳			
	大会専用無料バス:産総研 18:30 発⇒TX つくば駅行き			

プログラム

A 会場(講堂)

開会挨拶 (9:40～9:50) 荒川義弘 (筑波大学つくば臨床医学研究開発機構)

基調講演 1 | Keynote Lecture 1 (9:50～10:30)

座長 町野 毅 (筑波大学つくば臨床医学研究開発機構)

KL-01 How Entrepreneurial Collaborations between Universities in Japan and the US are Accelerating International Innovation and Economic Development

Dennis Abremski

Executive Director of UC San Diego's Institute for the Global Entrepreneur (IGE)

招待講演 1 (産総研) | Invited Lecture 1 (AIST) (10:40～11:30)

～技術の粋が医療を支え、医療を革新する～

座長 鎮西 清行 (産業技術総合研究所)

葭仲 潔 (産業技術総合研究所)

IL-01 Cutting the Gordian Knot: 産業技術で開く次世代診断・治療の扉

池原 譲

産業技術総合研究所 細胞分子工学研究部門, 電子光基礎技術研究部門 上級主任研究員

千葉大学・医学研究員腫瘍病理学 教授/千葉大学・附属病院病理診断科 教授

IL-02 医用超音波機器の安全性評価に資する超音波計量標準の開発と供給

吉岡 正裕

産業技術総合研究所 計量標準総合センター 工学計測標準研究部門

材料強度標準研究グループ 研究グループ長

臨床ニーズ発表 | Clinical Needs Introduction Session (11:30～12:00)

座長 野口 裕史 (筑波大学つくば臨床医学研究開発機構)

CN-01 筑波大学における臨床ニーズに関わる取り組み紹介

野口 裕史

筑波大学つくば臨床医学研究開発機構

企業ショートプレゼンテーション | Exhibition Session (12:00～12:30)

座長 つくば研究支援センター

EX-01 GLIT

EX-02 茨城リネンサプライ株式会社

基調講演 2 | Keynote Lecture 2 (14:30～15:00)

座長 荒川 義弘 (筑波大学つくば臨床医学研究開発機構)

KL-02 産学連携のありかたと今後の展開 - 医療機器産業界の立場で -

久芳明

日本医療機器産業連合会 常任理事

招待講演 2 (筑波大学 T-CReDO) | Invited Lecture 2 (T-CReDO) (15:00～15:50)

～医工連携在り方シンポジウム～

座長 野口 裕史 (筑波大学つくば臨床医学研究開発機構)

- IL-03 筑波大学附属病院における医療機器開発支援—デザイン思考に基づいた臨床現場見学、起業家育成—
野口 裕史
筑波大学つくば臨床医学研究開発機構
- IL-04 各分野の専門家との幅広いネットワークの見える化
犬塚 隆志
つくばグローバル・イノベーション推進機構 (TGI)
- IL-05 国立がん研究センター東病院で進める医工連携の紹介
竹下 修由
国立がん研究センター東病院
- IL-06 医療機器のマッチング、事業化支援の取り組み
松山 裕
大阪商工会議所

パネルディスカッション

招待講演 3 (物材研) | Invited Lecture 3 (NIMS) (16:00～16:50)

座長 田口 哲志 (物質・材料研究機構)

- IL-07 耐疲労特性に優れた医療デバイス用 Co-Cr 合金の開発
土谷 浩一
国立研究開発法人物質・材料研究機構 グローバル中核部門 若手国際研究センター センター長
- IL-08 がん温熱療法用磁性ナノ粒子の材料設計
間宮 広明
国立研究開発法人物質・材料研究機構 先端材料解析研究拠点 光・量子ビーム応用分野 中性子散乱グループ
主席研究員
- IL-09 NO 発生固体材料を用いた小型 NO 吸入器の開拓
石原 伸輔
国立研究開発法人物質・材料研究機構 国際ナノアーキテクトニクス研究拠点 ナノマテリアル分野
フロンティア分子グループ 主幹研究員

招待講演 4 (農研機構) | Invited Lecture 4 (NARO) (17:00～17:50)

座長 亀田 恒徳 (農業・食品産業技術総合研究機構)

- IL-10 組換えカイコによる疾病診断および感染症防除に有用なアフィニティーシルク素材の開発
佐藤 充
農業・食品産業技術総合研究機構 生物機能利用研究部門 絹糸昆虫高度利用研究領域 カイコ基盤技術開発グループ

研究奨励賞表彰式 | (17:50～18:00)

閉会挨拶 (18:00～18:10) 亀田 恒徳 (農業・食品産業技術総合研究機構)

B 会場(大会議室)

* 研究奨励賞選考対象演題

一般演題 (口演) 1 | Oral Presentation 1

(10:40~11:30)

座長 川上 亘作 (物質・材料研究機構)

O1-01 Cell compatibility and nanoparticle formation of coiled-coil silk from hornets

○Derya Aytemiz¹, Yusuke Kambe¹, Tsunenori Kameda¹

¹ Silk Materials Research Unit, Institute of Agrobiological Science, NARO

O1-02* Formation of nuclei during annealing impeded the supersaturation in the dissolution process of celecoxib glass

○J. Song¹, K. Kawakami^{1,2}

¹ Research Center for Functional Materials, National Institute for Materials Science (NIMS), ² Graduate School of Pure and Applied Sciences, University of Tsukuba

O1-03* 術後心房細動予防のための抗不整脈薬持続放出型シルクフィブロインフィルムの開発

○山本遥香¹, 石井庸介², 太良修平³, 秋岡翔太¹, 中澤靖元¹

¹ 東京農工大学大学院工学府生命工学専攻, ² 日本医科大学心臓血管外科, ³ 日本医科大学循環器内科

O1-04* Surface modulation of extracellular vesicles with peptide-conjugated lipids for improvement of intracellular delivery

○HUANG Tianwei¹, Yuya Sato¹, Masayuki Sano², Makoto Miyagishi³, Hiroaki Tateno², Renu Wadhwa^{4,5}, Kazunori Kawasaki⁶, Takeyuki Uchida⁶, Ung-il Chung¹, and Yuji Teramura^{2,7,8}

¹ Department of Bioengineering, School of Engineering, The University of Tokyo, ² Cellular and Molecular Biotechnology Research Institute (CMB), National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST), ³ Biomedical Research Institute, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST), ⁴ AIST-INDIA DAILAB, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST), ⁵ School of Integrative & Global Majors (SIGMA), Tsukuba Life Science Innovation, University of Tsukuba, ⁶ Material Science RG, Research Institute of Electrochemical Energy, Department of Energy and Environment, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST), ⁷ Department of Immunology, Genetics and Pathology (IGP), Uppsala University, ⁸ Master/Doctoral Program in Life Science Innovation (T-LSI), University of Tsukuba

O1-05* In Vitro Gastric Simulation Evaluation of Hornet Silk as a Potential Alternative Food Source

○Muganda, J.¹, Mao, X.¹, Tian, Y.³, Zhang, B.¹, Kobayashi, I.^{1,2}, Kameda, T.^{1,3}

¹ Department of Life Science Innovation, University of Tsukuba, ² Food Research Institute, NARO, ³ National Institute of Agrobiological Sciences, NARO

一般演題 (口演) 2 | Oral Presentation 2

(15:00~15:50)

座長 寺本 英敏 (農業・食品産業技術総合研究機構)

O2-06* 分子量の異なるポリエチレングリコールをリンカーとした機能性ペプチド固定化シルクフィブロインの作製と血管新生シートへの応用

○森唯菜¹, 秋岡翔太¹, 中澤靖元¹

¹ 東京農工大学大学院工学府生命工学専攻

O2-07* Tumor microenvironment regulation-enhanced photo-immunotherapy

○Xueping Yu^{1,2}, Xiupeng Wang², Atsushi Yamazaki¹

¹ Graduate School of Creative Science and Engineering, Waseda University, Japan, ² National Institute of Advanced Industrial Science and Technology, Japan

O2-08* Regulation of bifurcated cytokine induction by CpG oligodeoxynucleotides/cationic liposome ratio in immune cells

○Le, N. B. T.^{1,2}, Yamazaki, T.¹

1 Graduate School of Hokkaido University, 2 Research Center for Functional Materials, National Institute for Materials Science (NIMS)

O2-09* Bifunctional Scaffolds for Magnetic Hyperthermia of Breast Cancer Cells and Regeneration of Adipose Tissue

○Rui, Sun^{1,2}, Toru Yoshitomi¹, Naoki, Kawazoe^{1,2}, Guoping Chen^{1,2}

1 Research Center for Functional Materials, NIMS, Japan, 2 Sch. of Pure and Applied Science, Univ. of Tsukuba, Japan

O2-10 オーガニックタトゥー製品 Inkbox®の医療分野での応用

○後藤雅明¹, 牧島弘和¹, 大城佳子^{1,2}, 櫻井英幸¹

1 筑波大学医学医療系 放射線腫瘍学, 2 筑波メディカルセンター病院 放射線治療科

一般演題（口演）3 | Oral Presentation 3

(16:00~17:00)

座長 丸山 修（産業技術総合研究所）

O3-11 ロボットスーツ HAL の医工融合研究：臨床運動解析による疾患横断的運動改善機序体系の構築

○門根秀樹¹, 清水如代², 久保田茂希³, 渡邊大貴⁴, 丸島愛樹⁴, 羽田康司², 鈴木健嗣⁵, 山海嘉之⁵, 山崎正志³

筑波大学医学医療系 1 サイバニクス医学, 2 リハビリテーション医学, 3 整形外科, 4 脳神経外科, 5 筑波大学システム情報系/サイバニクス研究センター

O3-12 起立動作のバイオメカニクスに基づく起立着座・立位移動支援装置 Qolo の開発と社会実装

○門根秀樹^{1,3}, 清水如代², 江口洋丞³, 佐々木海³, 木戸俊介⁴, 羽田康司², 鈴木健嗣⁵

1 筑波大学医学医療系・サイバニクス医学, 2 筑波大学

O3-13 経食道心エコー検査室でのエアロゾル感染リスク低減における HEPA フィルター付き陰圧ブースの有効性

○町野智子^{1,2}, 町野毅^{2,3}, 渡部一史⁴, 小野康之⁴, 伊村佳洋⁴, 川上康¹

1 筑波大学・臨床検査医学, 2 筑波大学・循環器内科, 3 筑波大学・つくば臨床医学研究開発機構 (T-CReDO), 4 茨城リネンサプライ株式会社

O3-14 マグネシウム合金製生体吸収性ヘッドレスコンプレッションスクリューの短期埋植試験による安全性評価

○野口裕史¹, 三島初¹, 渡邊竜之介¹, 花田幸太郎^{2,3}, 十時靖和¹, 都丸洋平¹, 北川全³, 山崎正志¹

1 筑波大学医学医療系整形外科, 2 国立研究開発法人産業技術総合研究所, 3 メルフロンティア株式会社

O3-15 γ 線最終滅菌した FGF-2 リン酸カルシウム含有コーティングインプラントに対する骨組織反応

十時靖和¹, 安永菜由², 小林文子¹, 松本佑啓¹, 野口裕史¹, 岡野英里子¹, 柳澤洋平¹, 六崎裕高³, 十河友², 伊藤敦夫², 山崎正志¹

1 筑波大学医学医療系整形外科, 2 産業技術総合研究所健康医工学研究部門, 3 茨城県立医療大学整形外科

C会場(ホワイエ)

* 研究奨励賞選考対象演題

一般演題 (ポスター) | Poster Presentation

(13:30~14:30)

コアタイム 奇数番 13:30~14:00・偶数番 14:00~14:30

- P-01* 外科手術後の癒着防止を可能にする疎水化タラゼラチン粒子の開発
○伊藤椎真^{1,2}, 長坂和寛^{1,2}, 西口昭広², 田口哲志^{1,2}
1 筑波大学大学院 数理物質, 2 物質・材料研究機構
- P-02* 低膨潤外科用シーラントの設計と脳硬膜閉鎖能の評価
○小松ひより^{1,2}, 渡邊志春², 長坂和寛^{1,2}, 伊藤椎真^{1,2}, 西口昭広², 田口哲志^{1,2}
1 筑波大院 数理物質, 2 物材機構 機能性材料研究拠点
- P-03* 大動脈吻合部血液漏れ防止のためのカテコール基導入タラゼラチン接着剤の開発
○長坂和寛^{1,2}, 渡邊志春², 伊藤椎真^{1,2}, 西口昭広², 大塚英典³, 田口哲志^{1,2}
1 筑波大学大学院・数理物質科学研究群, 2 物質材料研究機構, 3 東京理科大学・理学部
- P-04* 抗炎症治療を目指した人工アポトーシス細胞の開発
○松本峻輔^{1,2}, 荏原充宏^{1,2,3}
1 物材機構機能性, 2 筑波大院数理物質, 3 東理大院先進工
- P-05 ヘパリン-FGF-2-リン酸カルシウム複合層の成膜と *in vitro* 生物活性評価
○安永来由¹, 十河友¹, 室富和俊², 廣瀬志弘¹, 山崎正志³, 伊藤敦夫¹
1 産業技術総合研究所健康医工学研究部門, 2 産業技術総合研究所バイオメディカル研究部門, 3 筑波大学医学医療系整形外科
- P-06* Chitosan based antimicrobial coating fabrication strategy for Ti6Al4V based orthopedic implants
○Bhardwaj, Aman.^{1,2}, Yamamoto, Akiko.¹, Pandey, Lalit Mohan.²
1 Research Center for Functional Biomaterials, National Institute for Materials Science, 2 Department of Biosciences & Bioengineering, Indian Institute of Technology, Guwahati
- P-07* サイトカインストームの抑制を目指した新規抗体-ポリマー複合体 (APC) の作製
○岩瀬大周^{1,2}, 松本峻輔^{1,2}, Ahamed Nabil¹, 荏原充宏^{1,2,3}
1 物質・材料研究機構 機能性材料研究拠点, 2 筑波大学大学院 数理物質科学研究群, 3 東京理科大学大学院 先進工学研究科
- P-08* Composite scaffolds of gold nanoparticles and doxorubicin-loaded thermo-sensitive liposomes for cancer therapy
○Huajian Chen^{1,2}, Rui Sun^{1,2}, Jing Zheng^{1,2}, Toru Yoshitomi¹, Naoki Kawazoe¹, Guoping Chen^{1,2}
1 National Institute for Materials Science, 2 Graduate School of Pure and Applied Sciences, University of Tsukuba
- P-09 神経膠芽腫に対し、局所へ持続的に薬物を放出するスマートナノファイバーシステムは、相乗的な併用療法を可能にする
○李宜諾¹, 松本孔貴^{2,3}, 陳麗麗⁴, 菅原裕^{1,3}, 荏原充宏⁴, 櫻井英幸^{2,3}
1 筑波大学人間総合科学学術院, 2 筑波大学・医学医療系・放射線腫瘍科, 3 筑波大学附属病院・陽子線治療センター, 4 国立研究開発法人物質材料研究機構
- P-10 Parallel guanine-quadruplex structure improves the immunostimulatory effects of phosphodiester-based CpG oligodeoxynucleotides
○Pathak, S.¹, Yamazaki, T.^{1,2}
1 Graduate School of Life Science, Hokkaido University, Sapporo, Japan, 2 Research Center for Functional Materials, National Institute for Materials Science, Tsukuba, Japan
- P-11 細胞のマルチモーダル造影用金-リン酸カルシウム複合粒子の開発
○猪瀬智也¹, 中村真紀¹, 大矢根綾子¹
1 産業技術総合研究所・ナノ材料研究部門

- P-12 医工融合研究チームによる起立型車椅子 Qolo の開発～リハビリテーション科医師の視点から～
○清水如代¹, 門根秀樹², 江口洋丞³, 佐々木海³, 木戸俊介⁴, 羽田康司¹, 鈴木健嗣⁵
1 筑波大学医学医療系リハビリテーション医学, 2 筑波大学医学医療系サイバニクス医学, 3 Qolo 株式会社, 4 須磨ユニバーサルビーチプロジェクト, 5 筑波大学システム情報系
- P-13 A 病院における入院患者の食事摂取状況把握と活用に関する実態調査
○金澤悠喜¹, 加藤綾子², 岩部博子³, 大場美穂⁴
1 筑波大学・医学医療系, 2 三条市立大学・工学部, 3 筑波大学附属病院・病態栄養部, 4 神奈川県立保健福祉大学・保健福祉学部
- P-14 ヘパリン担持リン酸カルシウムナノ粒子による塩基性タンパク質の選択的共担持
○中村真紀¹, 分領和歌子¹, 奈良崎愛子², 大屋根綾子¹
1 産業技術総合研究所・ナノ材料研究部門, 2 産業技術総合研究所・電子光基礎技術研究部門
- P-15* 薬物キャリア開発を目指した PMPC 結合脂質によるリボソーム表面修飾
○鈴木遥奈^{1,4}, 中村奈緒子², 石原一彦³, 寺村裕治⁴
1 芝浦工業大学大学院・理工学研究科, 2 芝浦工業大学・システム理工学部, 3 大阪大学大学院・工学研究科, 4 産業技術総合研究所・細胞分子工学研究部門
- P-16* 経口投与薬剤の粘液拡散過程を評価するための粘膜透過性評価システムの開発
○曾我翔太^{1,4}, 川上亘作^{1,2}
1 物質・材料研究機構・医療応用ソフトマターグループ, 2 筑波大学大学院・数理物質科学研究群
- P-17* 温度応答性 Diels-Alder 型薬物放出制御システムの設計
○藤澤七海^{1,2}, 陳麗麗¹, 荏原充宏^{1,2,3}
1 物材機構・機能性, 2 筑波大院・数理物質、3 東理大院・先進
- P-18* 高リン血症治療を目指したリン吸着ナノファイバーメッシュの開発
○高橋可保^{1,2}, 佐々木信^{1,2}, 荏原充宏^{1,2}
1 物材機構機能性, 2 筑波大院数理物質
- P-19* Design of functionalized poly(acrylic acid)-ethylene glycol fiber meshes via centrifugal spinning to remove excess water from kidney failure patients
○I-Hsuan Yang^{1,2}, Makoto Sasaki^{1,3}, Mitsuhiro Ebara^{1,3}
1 Research Center for Functional Materials, National Institute for Materials Science (NIMS), Japan, 2 Department of Biomedical Engineering, National Taiwan University, Taiwan, 3 Graduate School of Pure and Applied Sciences, University of Tsukuba, Japan
- P-20* 血中尿素を分解により除去可能なナノファイバーメッシュの創製
○佐々木信^{1,2}, 荏原充宏^{1,2}
1 物質・材料研究機構・機能性材料研究拠点, 2 筑波大学大学院・数理物質科学研究群
- P-21* 高速がんスフェロイド作製法の確立
○飯嶋雄太^{1,2}, 早瀬元², 吉野大輔¹
1 東京農工大学, 2 国立研究開発法人物質・材料研究機構
- P-22 着衣状態での診断を目指した自動聴診ロボットの基礎検討
○津村遼介¹, 森島祐子², 小関義彦¹, 岩田浩康³, 葭仲潔¹
1 産業技術総合研究所 健康医工学研究部門, 2 筑波大学 医学医療系, 3 早稲田大学 理工学術院
- P-23 高精度超音波診断を目指した音速測定技術の開発
○新田尚隆¹
1 産業技術総合研究所 健康医工学研究部門

- P-24* 精巣腫瘍における化学療法後の後腹膜リンパ節の病理結果を予測するための機械学習モデルの開発
○中川翔太¹, 儀同政伸¹, 新田聡², 小島崇宏³, 掛谷英紀¹
1 筑波大学 視覚メディア研究室, 2 筑波大学附属病院泌尿器科, 3 愛知県がんセンター 泌尿器科
- P-25* 1 細胞解析のためのラマン分光顕微システム
○赤木祐香^{1,2}, 木田泰之^{1,3}
1 国立研究開発法人産業技術総合研究所 生命工学領域 細胞分子工学研究部門, 2 筑波大学大学院 ライフイノベーション学位プログラム, 3 筑波大学大学院 グローバル教育院
- P-26 糖鎖を表面固定化したウイルス検出用ポリマー粒子の開発
○山内紀子¹, 内野七海¹, 小林芳男¹, 川口敦史², 尾形慎³
1 茨城大学・大学院理工学研究科, 2 筑波大学・医学医療系, 3 福島大学・農学群食農学類
- P-27* Synergistic effects of cell morphology and extracellular viscosity on differentiation of human mesenchymal stem cells
○Jing Zheng^{1,2}, Yongtao Wang^{1,2}, Naoki Kawazoe¹, and Guoping Chen^{1,2}
1 Research Center for Functional Materials, National Institute for Materials Science, 2 Department of Materials Science and Engineering, Graduate School of Pure and Applied Sciences, University of Tsukuba
- P-28* ヒト iPS 細胞由来心臓ペースメーカー細胞の分取法の確立と培養基質の検証
○吉岡諒太^{1,2}, 佐藤佑哉^{3,4}, 孫略¹, 寺村裕治³, 山崎淳司², 白吉安昭⁵, 森川久未¹
1 産総研・健康医, 2 早稲田大・創造理工, 3 産総研・細胞分子, 4 東京大院・工学系, 5 鳥取大院・医学系
- P-29* High-Throughput Drug Screening using 3D Tumor Model containing Induced Cancer-Associated Fibroblasts for Pancreatic Ductal Adenocarcinoma Treatment
○Xiaoyu Song^{1,2}, Yasuyuki Kida^{1,2}
1 Stem Cell Biotechnology Research Group, National Institute of Advanced Industrial Science & Technology (AIST), Center 5-41, Tsukuba, Ibaraki, Japan, 2 School of Integrative & Global Majors (SIGMA), Tsukuba Life Science Innovation, University of Tsukuba, Japan
- P-30* 3D Tumor Model with Perfusable Blood Vessels
○Rinki Singh^{1,2}, Nobuhito Mori², Ryo Tsumura³, Yoshikatsu Koga³, Yasuyuki S. Kida^{2,4}
1 School of Comprehensive Human Science, Life science innovation, University of Tsukuba, 2 Cellular and Molecular Biotechnology Research Institute, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST), 3 Exploratory Oncology Research and Clinical Trial Center, National Cancer Center, 4 School of Integrative and Global Majors, University of Tsukuba
- P-31 脳-腸相関を解析するための迷走神経誘導技術の開発
○二橋佑磨¹, 高山祐三¹, 赤木祐香^{1,2}, 木田泰之^{1,3}
1 国立研究開発法人産業技術総合研究所 生命工学領域 細胞分子工学研究部門, 2 筑波大学大学院 ライフイノベーション学位プログラム, 3 筑波大学大学院 グローバル教育院
- P-32* 水中運動中における血行動態と換気応答
○星大輔¹, 福家真理那¹, 樽味孝¹, 菅原順¹
1 国立研究開発法人産業技術総合研究所・人間情報インタラクション研究部門
- P-33* 経皮的動脈弁置換術（TAVI）治療前後の血行動態と認知・運転操作に関する探索的研究
○野口拓弥¹, 町野毅², 橋本幸一³, 石井圭⁴, 小峰秀彦⁴, 平谷太吾², 渡部浩明², 星智也²
1 筑波大学大学院 人間総合科学学術群 フロンティア医科学, 2 筑波大学循環器内科, 3 筑波大学医学医療系橋渡し・臨床研究学, 4 産業技術総合研究所
- P-34 フェニルボロン酸含有超高分子を用いた新規ハウ素製剤の有効性評価
○竹内春¹, 菅原裕^{1,2}, 東大志^{3,4}, 伊敷帆夏⁴, 松本孔貴⁵
1 筑波大院, 2 筑波大附病院陽セ, 3 熊本大院先導機構, 4 熊本大院薬, 5 筑波大医学医療系

基調講演

産学連携のあり方と今後の展開 ー医療機器産業界の立場でー

久芳 明

一般社団法人日本医療機器産業連合会 常任理事

世界の医療機器市場は、2021 年で 4576 億 USD（約 50 兆円）の規模であり、今後も CAGR6% 程度での成長が見込まれている。一方、国内市場は約 4 兆円の規模（世界の約 8%程度）であり、CAGR3%程度での成長を続けているものの、国別では、長年「米国に次いで第 2 位」といわれてきたが、直近のデータでは、米国、ドイツ、中国に次いで第 4 位となっており、世界市場に占める割合は、年々低下する傾向にあると言わざるを得ない。これを医療機器の製品分類別に見た時、今後も成長が期待されるのが、いわゆる治療系の機器であり、リスクレベルが比較的高いという特性からも産学連携の活動からベンチャーへ、さらには既存企業との連携へと繋がっていく候補と考えることが出来る。

一般に、日本におけるイノベーションエコシステムは、高度成長期に比較的うまく機能していた垂直統合型といわれる「基礎研究から製品普及まで事業会社が内製化し一貫して実施する」といった仕組みから脱却しきれていない。米国などで行われてきたような研究開発型のベンチャーと既存の事業会社との間での活発な交流を通して、短期間に急速に事業を成長させるいわゆるベンチャーエコシステムがまだまだ育っていないと考えられ、医療機器の分野でも同様である。そのような中で、我々はどのようなスキームでイノベーションを加速させ、産業として成長していくのか。「スタートアップへの投資」を政策の柱の一つに掲げ、米国における成長力も利用していくという政府が示している方向性ももちろん重要である。

今回は、もう一つの潮流である DX の観点からの産学連携についても検討してみたい。すなわち、AI 技術の応用などにおいて一段と重要性が高まっている医療データ利活用についてである。2022 年 5 月に閣議決定された第 2 期医療機器基本計画においても「健康・医療情報の活用にあたり、プライバシーへの配慮をしつつ、企業を含めた研究・開発者により十分に活用され、より良い医療機器・技術が社会実装されていくことが国民のメリットに繋がることから、利活用することを前提としたデータ基盤の整備を進めるべきである」との基本的な方向性が示されている。さらに、「医療情報は機微性の高い情報ではあるが、医学の発展に寄与することが可能な貴重な社会資源でもある」との基本に立ち返った議論も進んでおり、「一般法である個人情報保護法を前提として医療情報の利活用のあり方を考えていくことは限界に達しつつある」との見解も示されている。このような中で産学連携してデータ利活用を推進するとの観点から、今後の展開について考えてみたい。

招待講演 1(産総研セッション)

Cutting the Gordian Knot: 産業技術で開く次世代診断・治療の扉

¹産総研・細胞分子工学研究部門、²産総研・電子光基礎技術研究部門、³千葉大学・医学研究院腫瘍病理学、⁴千葉大学・附属病院病理診断科、⁵獨協医科大学・埼玉医療センター外科、⁶株式会社 DRC、⁷千葉大学・医学研究院形成外科、⁸同・臓器制御外科 ⁹同・先端応用外科
○池原 譲^{1,2,3,4}、吉富秀幸^{3,5}、永野富郎⁶、池原早苗^{2,3}、山口高志^{1,3}、秋田新介⁷、
三川信之⁷、大塚將之⁸、松原久裕⁹

ヒトの行う診断・治療には、不確実な局面が存在する。確実性を高めるために医師は、診療経験を積み、診療ガイドラインや専門医制度に定める診療や精度管理を行う。それには、疾病の進展と成り立ちの理解、治療の適切性や診療効果を評価するための知識が不可欠である。一方、診療ガイドラインや取り扱い規約は、新たな疾患理解や新技術の革新性に基づいて作られている。講演ではこれらの背景を踏まえ、近赤外リンパスコープの開発を例にあげて、エレクトロニクス・製造と材料・化学領域の生産技術で開いた次世代診断・治療の扉を共有する。

発表者は病理医として、リンパ組織検体処理に関連した不確実性を認識し、解決に取り組んできた。この試みに対する反応は診療科によって異なり、膵臓、食道、胃などに発生する癌腫を切除する診療科において高い。これら診療科の共通点は、小さなリンパ節からの再発が術後の生存期間へ強く影響する腫瘍を治療していることで、精度管理の徹底が手術治療成績の向上に必要なことである。逆に、「小さなリンパ節の検索漏れは発生しても可」とする反応を示したのは、リンパ節からの術後再発が緩徐に進み、再発しても薬で生存期間を確保できる「化学療法で対処できる腫瘍を治療する」診療科であった。

これらを鑑み、近赤外波長域により小さなリンパ節を可視化して行う「分子病理診断システム」を考案して、上記課題を共有する開発体制を構築した。リンパ節の解剖学的特徴は、脂肪組織内に存在することと、水分を多く含むことである。これらより、脂肪は透過するものの、水に吸収されやすい 1300-1600nm 波長域で照明して撮像し、脂肪組織内に存在するリンパ節を描出するモダリティーを着想した。さいわい産総研には、1300-1600nm 波長域光を光電変換できる 3-5 族化合物半導体を製造して加工し、近赤外波長域イメージングカメラを実現する技術と環境があった。また、千葉大・医学部には、ガイドラインや取り扱い規約を作ってきた医師が多く在籍し、リンパ組織検体処理に関連した不確実性を課題として共有することも容易であった。そして両者の協力により、近赤外光イメージングで臨床検体を検索し、リンパ節のみを回収できることを明らかにできた次第である。社会実装の可能性を明らかにした臨床研究は、工程の自動化だけでなく、「転移のあるリンパ節の個数」を数える診断から、遺伝子検査で「転移しているがん細胞の量 (Total Tumor Load)」を決定する診療ニーズの変化も明確にしたと思う。

病理で行うリンパ節の回収は、現在も自動化されていない。これは、「ヒトの手指の感覚に勝るものはない」とされるためである。我々の研究では、5mm 以下の大きさのリンパ節の回収は、手術用グローブ越しの触覚を頼りに行われる作業で不確実になることを確認している。しかも手指感覚でのリンパ組織回収では、リンパ節以外の成分が多量に含まれてしまうので、リンパ節組織の断面を捉えるのに、その後の薄切工程でたくさんの試作切片を作る原因になっていることも確認している。これらより我々は、「病理診断は、産業技術を取り入れることで新たな進化を遂げる」と確信できたと考えている。

医用超音波機器の安全性評価に資する超音波計量標準の開発と供給

国立研究開発法人産業技術総合研究所 計量標準総合センター

○吉岡 正裕、松田 洋一、内田 武吉、千葉 裕介

1. はじめに

医用超音波機器は治療・診断のため人体内に超音波を伝搬させる。機器のメーカーは、薬事承認を得て機器を製造販売するため、医用超音波の安全性を評価することを求められる。我が国メーカーの主要製品である超音波診断装置の多くは、日本産業規格 JIS T 0601-2-37 (医用超音波診断装置及びモニタ機器の基礎安全及び基本性能に関する個別要求事項) に適合する評価を求められる。

そのためには、国際電気標準会議規格 IEC 62359 (Ultrasonics - Field characterization - Test methods for the determination of thermal and mechanical indices related to medical diagnostic ultrasonic fields) に規定されている安全性評価指標の算出が必要である。これらの評価指標は、機器から発生する超音波音場を測定することにより得られる。

産業技術総合研究所 計量標準総合センター (NMIJ) は、我が国唯一の国家計量標準機関として、産業、通商、社会で必要とされるあらゆる測定の信頼性を確保するため活動している。NMIJ において我々は、医用超音波を測定する「ものさし」となる超音波計量標準の開発、供給、普及を担っている。^{1,2)}

2. NMIJ の超音波計量標準

IEC 62359 に規定される医用超音波の安全性評価指標を算出するため、医用超音波機器から発生する超音波音場の超音波パワー (単位 W) と音圧 (単位 Pa) の測定が必要である。我々はこれらの測定に資する計量標準を開発している。

超音波パワーは、ある面を通過する超音波の単位時間当たりのエネルギーであり、医用超音波機器から発生する超音波の出力を表す。超音波パワー標準では、この出力測定に用いるための基準超音波振動子の超音波パワーを校正する。周波数 0.5 MHz から 20 MHz、超音波パワー 1 mW から 100 W まで標準供給している。

音圧は、超音波により生じる静圧からの圧力変動である。測定には超音波音圧を電圧に変換する水中用超音波マイクロホンであるハイドロホンを用いる。超音波音圧標準では、その変換係数であるハイドロホン感度 (単位 V/Pa) を校正する。周波数 100 kHz から 60 MHz まで標準供給している。

我々は開発した計量標準の普及にも取り組んでいる。外国の計量標準との同等性を相互に承認するための国際比較^{3,4)}に参加し、校正事業者に校正技術を移転し、校正事業者の ISO/IEC 17025 (試験所及び校正機関の能力に関する一般要求事項) への適合性認定取得に協力した。またメーカーや大学と連携し、治療、診断技術の研究開発や医用超音波の安全性評価に資する超音波音場測定サービスを実施している。

- 1) 吉岡、高橋、松田、内田、山田、堀内、産総研 計量標準総合センター (NMIJ) における音響・超音波標準の開発と供給、日本超音波医学会 基礎技術研究会資料、Vol. 2014、No. 5、pp. 1-8 (2014)
- 2) 吉岡、超音波計測の信頼性を支える計量標準、信学技報 (電子情報通信学会技術研究報告)、US2020-57、Vol 120、No. US-355、pp. 1-2 (2021)
- 3) J. Haller, C. Koch, R. P. B. Costa-Felix, P. K. Dubey, G. Durando, M. Yoshioka, Final report on key comparison CCAUV.U-K3.1, Metrologia, Vol. 53, Num. 1A, p. 09002 (2016)
- 4) S. Rajagopal, C. R. Fury, B. Zeqiri, M. Brandt, V. Wilkens, C. Koch, Y. Matsuda, M. Yoshioka, Y. Ping, Z. Yan, B. Wenping, E. G. Oliveira, Report on BIPM/CIPM Key Comparison CCAUV.U-K4: Absolute Calibration of Medical Hydrophones in the Frequency Range 0.5 MHz to 20 MHz - Final Report -, Vol. 53, No. 1A, p. 09004 (2016)

招待講演2(筑波大セッション)

医工連携在り方シンポジウム

昨今、医療機器の開発においても、アカデミア発、スタートアップ経由、製造販売企業による事業化という流れが一般化してきており、アカデミアへの期待が高まっている。行政や国立研究開発法人日本医療研究開発機構（AMED）等により、研究成果を実用化に結びつけるための橋渡し研究の支援体制の整備が進み、研究の早期の段階からオープンイノベーションを推進し、共同研究や技術移転に結びつけていく体制が整備されてきている。しかしながら、医工連携に関わる支援が、開発者の抱える多種多様な障壁全てを解消するに至っていないことも事実である。

本セッションでは、アカデミアも関わる医療機器の実用化支援を推進している4つの拠点の方々に集まっていただき、各拠点の活動紹介を行うと共に、医工連携支援のあり方や拠点間連携、産学連携等について、今後の将来像を想像しながらパネルディスカッション形式で議論を行う。

IL-03

筑波大学附属病院における医療機器開発支援

野口裕史

筑波大学つくば臨床医学研究開発機構(T-CReDO)

筑波大学は、橋渡し研究支援拠点として医療機器研究開発支援や起業支援に取り組んでおり、日本医療研究開発機構（AMED）「次世代医療機器連連携拠点整備等事業」への採択以降、産官学の研究者に対して、オンサイト／オンライン対応の臨床現場実習、ニーズシーズマッチング等、様々な支援活動を実施しています。

本発表では、本拠点で特徴的な「デザイン思考に基づいたニーズ探索」の取り組み、および医療系起業家育成のためのアクセラレーションプログラム「Research Studio」を中心に紹介する。

IL-04

各分野の専門家との幅広いネットワークの見える化

犬塚隆志

(一社)つくばグローバル・イノベーション推進機構(TGI)

日本医療研究開発機構（AMED）委託事業「医工連携イノベーション推進事業（地域連携拠点自立化推進事業）」の採択を受け、関東経済産業局とともに、医療機器事業化支援エコシステムの形成を進めてきています。

その中で、各分野の専門家との幅広いネットワークの見える化し、有機的な繋がりを成果につなげる活動を進めてきました。具体的には、市場探索の専門家、知財の専門家、コンセプト設計の専門家、開発の専門家、試験の専門家、製造・サービス供給体制の専門家、販売・マーケティングの専門家、製販企業等の紹介といった専門家のうち、どの機関にどの専門家がいらっしゃるかのリストを地域連携拠点内で共有し、直接連絡するなど相互に

活用できるようにしました。

今後は、①必要な専門家の分野を増やしていくこと、②セミナーの講師等人材育成等にも専門家に活躍いただくこと、③地域連携拠点の枠を超えて各分野の専門家と有機的な繋がりを持っていただきそれぞれの成果につなげていただけるようにすること、などに取り組んでいきます。

IL-05 国立がん研究センター東病院で進める医工連携の紹介

竹下修由

国立がん研究センター東病院

国立がん研究センター東病院では 2017 年に NEXT 医療機器開発センターが開設された。臨床現場観察や人材育成、臨床ニーズを核としたプロジェクト創出、中/大型動物・トレーニングモデルによる proof of concept 取得、さらには、薬事・保険・事業化支援を軸とした医療機器開発推進を実施してきた。2019 年より AMED 次世代医療機器連携拠点整備等事業に採択され、臨床現場観察の体制整備、ニーズ・シーズマッチング体制の強化、ベンチャー支援やアントレプレナーシップ教育、に注力し事業を進めている。2022 年 5 月には院内に医療機器開発推進部門が新設され、プレーヤー部門は手術領域、内視鏡・放射線領域、AI・デジタル領域に注力した機器開発を進め、サポーター部門はプロジェクト管理支援と各種専門支援を実施する体制となった。当院の医工連携におけるこれまでの取り組みや課題、今後の方向性などについて紹介させていただく。

IL-06 医療機器のマッチング、事業化支援の取り組み

松山 裕

大阪商工会議所



次世代医療システム
産業化フォーラム HP

大阪商工会議所は、2003 年から医工連携による医療機器開発支援プラットフォーム事業「次世代医療システム産業化フォーラム（MDF）」を開催しています。全国の企業、大学、医療・研究機関等を対象に、マッチングから個別の事業化支援、販路開拓まで一貫したサポートを実施し、医療現場等における課題を解決する製品・サービスの事業化を推進しています。

具体的には、大学、医療・研究機関等が年間 40 件以上の医療現場ニーズ・シーズを企業に対して発表・マッチングを行う医工連携マッチング事業のほか、20 名超の専門人材による年間 500 件を超える相談への対応や、医療従事者が開発・試作品等を評価するユーザー評価、医療機器メーカー・販売会社に対して製品や技術を売り込む商談会の開催など、開発段階に応じた支援を実施しています。これらの支援を経て、これまでに 65 の案件が事業化を果たしました。

2021 年には、日本医療研究開発機構（AMED）委託事業「医工連携イノベーション推進事業（地域連携拠点自立化推進事業）」の採択を受け、近畿経済産業局「関西医療機器産業支援ネットワーク」と一体的に、関西における医療機器開発エコシステムの構築に取り組んでいます。

招待講演3(物材研セッション)

耐疲労特性に優れた医療デバイス用コバルト-クロム合金の開発

土谷 浩一

物質・材料研究機構

ステント、人工心臓弁などの血管内留置型医療デバイスにはステンレス鋼(SUS316L)、チタン・ニッケル(TiNi)合金、コバルト-クロム(Co-Cr)合金などの金属材料が用いられている。特に MP35N 合金、L605 合金などのコバルト-クロム合金は現在、冠動脈用のバルーン拡張型ステントの主要材料となっている。これらの合金はもともと航空機用材料として開発されたものだが、強度が高く耐食性にも優れているため、ステントの材料として転用されている。しかし、石灰化した部位に留置された場合などでは大きな変形を繰り返し受ける為に比較的早期に破断するという報告がある[1]。

我々は Co-Cr-Mo-Ni 合金について、合金成分と塑性変形機構の関係について調べ、変形時に HCP 相と変形双晶が同時に生成する合金では既存のコバルト-クロム合金の低サイクル疲労寿命を上回る事を明らかにした(図 1) [2]。これらの合金は大きな加工硬化を示すために強度-延性バランスに優れている他、L605 に比べて塑性加工性にも優れている。開発合金から伸管加工で作製したチューブについて、レーザー加工により作製したステントについて、拡張力を測定したところ、ほぼ同じデザインのエルジロイ合金製ステントよりも高い拡張力を示す事が明らかになった。

本合金を用いるとステントの薄肉化、ロープロファイル化が可能になり、脳血管などのより細い血管用のステントにも適していると考えられるなど、次世代の医療デバイス材料として有望である。

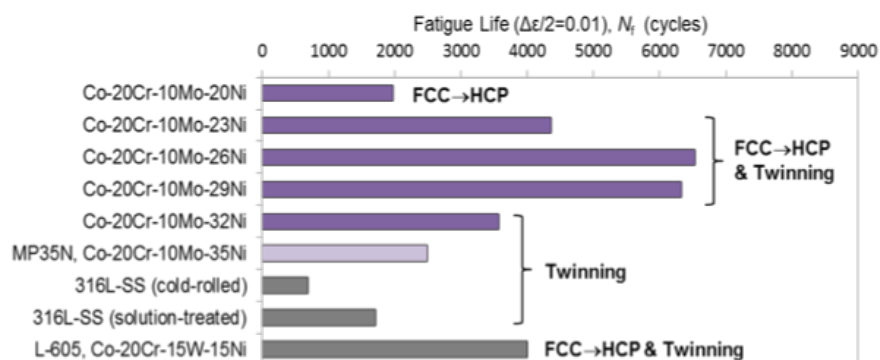


図 1 Co-20%Cr-10%Mo-(20~35)Ni 合金(CCMN 合金)とステンレス鋼(316L), MP35N, L605 合金との低サイクル疲労寿命の比較.Co-20Cr-10Mo-26Ni 合金は L605 の 1.6 倍、MP35N の 2.6 倍の低サイクル疲労寿命を示す。

参考文献

- [1] D. O. Halwani, P. G. Anderson, B. C. Brott, A. S. Anayiotos, J. E. Lemons: J Biomed. Mater. Res. B Appl Biomater 100 (2012)292.
- [2] 特許第 6999934 号、田崎亘、澤口孝宏、土谷浩一、物質・材料研究機構、“ステント用合金およびステント”。

がん温熱療法用磁性ナノ粒子の材料設計

間宮 広明

国立研究開発法人物質・材料研究機構 先端材料解析研究拠点

薬で治らないときは刃物で治る、刃物で治らないときは火で治る、とヒポクラテスが述べたとされるが、深部の腫瘍に対してコンロに人体を載せて炙ることは難しい。ここで、IH調理器に手を載せても熱くないことを思い出すと、小さなフライパンを患部だけに送り届けられれば、IH調理器に載るだけで腫瘍のみを効率的に焼くことができる可能性に気付く。患部への送達を血流経由とすればフライパンの大きさは概ね 100nm より小さいことが望ましい。ただし、この大きさでは電磁誘導による発熱は消えてしまうので、IH調理のもうひとつの発熱メカニズムであるヒステリシス損失を示す鉄や酸化鉄のような強磁性体が極小のフライパンの材料候補となる。本講演では、この温熱療法の確立を目指し進められている大きな発熱効果を持つ強磁性ナノ粒子の開発の現状¹を紹介し、その課題を議論する。

温熱療法は基本的には加熱によって腫瘍細胞を死滅させる治療なので、ナノ粒子からの発熱は大きければ大きいほどよいが、これだけなら照射する高周波磁場の振幅や周波数を上げるだけで容易に達成できる。ただし、やみくもに照射強度を増やせば、正常な組織まで加熱されてしまう。そこで、より穏和な照射条件で十分な発熱効果を引き出すために最適化された強磁性ナノ粒子の設計・製造技術の研究開発が強く求められている。均一な内部構造を持つ単一粒子の場合、照射磁場の振幅と周波数に合わせて動的保磁力と緩和時間を調整できれば、発熱量を最大化できることが知られている。しかしながら、酸化や欠陥、歪の影響を受けやすく表面状態に敏感で、容易に相互作用し、サイズや形状でその挙動を変える強磁性ナノ粒子の動的保磁力と緩和時間の制御方法を解明し、それらを全てのナノ粒子で均一に発現させる製造技術を確立することは容易ではない。このため、大きさや形が揃ったナノ粒子の合成とその磁気特性評価について基礎の立ち戻った研究が進められている²。一方、コアシェル構造などの複合構造を持つナノ粒子の利用や腫瘍到達後に多数のナノ粒子間に協調的な応答を誘導する方法などこれまでの枠組みを超えた着想に基づくアプローチも注目を集め、そのための基盤的研究も盛んになりつつある³。今後、具体的にどんな条件で何をどう治療するのかその際リスクとベネフィットをどう考えるのかが定まり材料への要求性能が明確になってくれば、こうした強磁性ナノ粒子材料の知見の蓄積が実際に温熱療法の臨床で有効性を示す極小のフライパンの開発に大きな役割を果たすと考えられる。

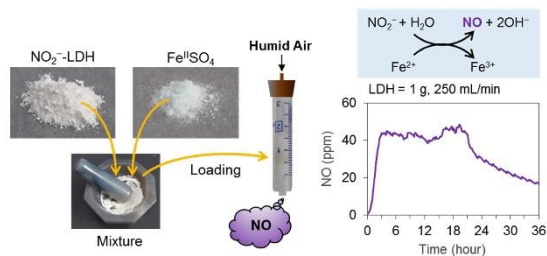
1. H. Mamiya et al., in *Nanomagnetic Materials*. Yamaguchi et al, Eds. Elsevier, 2021.
2. H. Mamiya et al., *ACS Nano*. 14 (2020) 8421.
3. H. Mamiya et al., *J. Phys. Chem. C* 125 (2021) 740.

NO 発生固体材料を用いた小型 NO 吸入器の開拓

石原伸輔、井伊伸夫
国立研究開発法人物質・材料研究機構

一酸化窒素ガス (NO) は多様な生理活性 (血管拡張・抗炎症・抗血栓・抗ウイルスなど) を有し、体内で活発に産生されている。至適濃度 (5~20 ppm) の NO を吸入すると肺血管の選択的拡張による肺動脈圧の低下や、換気血流比 (V/Q 比) と肺内シャントの改善によって低酸素性呼吸不全を改善できることから、NO 吸入法は新生児遷延性肺高血圧症 (PPHN) 及び心臓手術の周術期における肺高血圧症に対して保険適用されている。また、他の疾患 (急性呼吸窮迫症候群 (ARDS)・慢性閉塞性肺疾患 (COPD)・ウイルス性肺炎など) への適用についても研究が進められている。しかしながら、NO は大気中で不安定なガスであるため取り扱いが難しく、現行の NO 吸入法には高压ガスボンベ (800 ppm NO, N₂ ベース) が必要となり、救急 (病院外)・小規模病院・途上国などでの利用は極めて限定的である。

本発表では、NO 吸入法の利用拡大に向けた、NO 発生固体材料と小型 NO 吸入器の開発について紹介する (参考文献 1-3)。NO 発生源となる亜硝酸イオン (NO₂⁻) を層間に保持した粘土系材料 (層状複水酸化物: LDH) と硫酸鉄 (FeSO₄) の混合粉末に湿った空気を送り込むと、Fe²⁺ と NO₂⁻ の酸化還元反応がゆっくりと進行して NO が徐放されることを見出した。この NO 発生固体材料は安価な原料から大量合成が可能で、密閉袋中で室温保存が可能である。NO 発生の濃度と持続時間は材料の組成や使用量によって制御でき、2 グラムの材料で PPHN の治療に十分な NO (40 ppm、250 mL/分) を半日以上供給することができる。



【参考文献】

- (1) Ishihara & Iyi, Controlled release of H₂S and NO through CO₂-stimulated anion exchange, *Nat. Commun.* **2020**, *11*, 453.
- (2) Ishihara & Iyi et al., Disposable NO generator based on a structurally deformed nitrite-type layered double hydroxide, *Inorg. Chem.* **2021**, *60*, 16008–16015.
- (3) 窒素系ガス徐放剤、該徐放剤を用いた窒素系ガスの徐放方法、該徐放剤を用いた呼吸器具、包装体、及び、徐放装置 (特許登録第 7111404 号, 2022 年 7 月 25 日)

【謝辞】

本研究は、AMED・橋渡し研究戦略的推進プログラム・つくば臨床医学研究開発機構 (シーズ A (2020-2021), PreF (2022-2023)) の支援を受けて進められています。

招待講演4(農研機構セッション)

組換えカイコによる疾病診断および感染症防除に有用なアフィニティーシルク素材の開発

農業・食品産業技術総合研究機構 生物機能利用研究部門

絹糸昆虫高度利用研究領域 カイコ基盤技術開発グループ 佐藤 充

生体内に侵入した異物(抗原)に働く抗体は特定の種類のタンパク質などに特異的に結合する性質をもつことから、基礎研究や医療に至る幅広い分野で利用されている。しかしながら製造コストの高さが問題となっており、より低コストの抗体産生技術が求められている。そこで我々は低コストで優れたタンパク質生産系である組換えカイコを用いて、特定のタンパク質に結合する抗体特有の性質（アフィニティー）をシルクに付加した新規シルク素材「アフィニティーシルク」を生産する技術を開発した。

シルクタンパク質は高度に繊維化した構造体であるため、抗体活性が保たれるには繊維中で抗体分子が適切な立体構造をとる必要がある。そこで抗体に関しては、抗体の分子内結合を必要としない一本鎖抗体（single-chain variable fragment: scFv）を選択した。一本鎖抗体は抗原の特異的認識に関わる抗体の重鎖および軽鎖の可変領域（VH と VL）をつないだ低分子化抗体である。それをシルクタンパク質の中で比較的親水性が高く、他のタンパク質との融合発現実績があるフィブロイン L 鎖タンパク質に発現させることとした。

これまでにカイコを利用した組換え抗体生産に関しては、組換えバキュロウイルスを用いた抗体遺伝子導入による発現や組換えカイコにより抗体をセリシン層に発現させ、回収する方法がすでに報告されているが、これらの技術は抗体をタンパク質として単独で発現させて回収することに注目した技術であり、抗体活性を付加した機能性シルクタンパク質の製造という概念とは全く異なる。

本講演では、これまでに開発したがんマーカーの検出や動物の感染症防除に有用なアフィニティーシルクについて紹介する。

臨床ニーズ発表

筑波大学臨床ニーズ発表会 筑波大学における臨床ニーズに関わる取り組み紹介

野口 裕史

筑波大学附属病院 つくば臨床医学研究開発機構 TR 推進教育センター

2018 年以降、本フォーラムにて、筑波大学におけるニーズ探索活動について報告しております。2019 年度より AMED 次世代医療機器連携拠点整備等事業として本格的に活動していく中で、ニーズ調査から企業マッチング 11 件を経て、5 件がプロジェクト化に至り、プロトタイプ作成や実証研究を開始した事例も出てまいりました。今回、上記マッチング活動の概要や事例をご紹介させて頂く共に、医療従事者への医療ニーズ調査回答に基づいて、事務局で選抜したニーズリストを提示致します。

また、AMED 橋渡し拠点戦略的推進プログラムで、シーズ A（2 年以内に関連特許出願を目指す研究課題）に採択されたものの、基礎研究者のみで医療者が関わっていない体制であるために、本来の臨床ニーズが把握しきれていない案件に対して、知財相談会とは別個に医療従事者との意見交換の場を提供する新たな取り組みも開始しております。こちらについても併せてご紹介致します。

※；個別のニーズに対するマッチングにつきましては、オンライン開催当日に実施予定はございません。事務局へご連絡頂ければ、後日改めて調整させていただきます。予めご了承下さい。

筑波大学T-CReDO 臨床ニーズ一覧

No.	テーマ	
1	腹部術後患者の一過性イレウスに対して改善するためのデバイス	提案者あり
2	経鼻胃管を意識障害時に容易に入れる方法/盲目的にベッドサイドで十二指腸まで誘導する方法	
3	バイタルモニタリングシステムの誤アラートの軽減	
4	記載しやすく評価もしやすい頭痛日記	
5	大腸憩室出血に対する内視鏡的止血術に使用する専用の止血装置	
6	経鼻内視鏡検査を短時間でも見逃しを防ぐ方法	
7	腹腔鏡下直腸手術専用のクランプ鉗子	
8	先天性心疾患新生児の超音波検査練習モデル	
9	簡単にストマ装具面板をカットできる補助具	
10	胃管など自己抜去されにくいデバイス	
11	インスリン製剤(ペン型)の針をワンタッチで捨てられるデバイス	
12	固定治療中の皮膚トラブルを早期に確認する方法	
13	気管切開管理児童の在宅医療での安全(チューブ抜け)を担保する	提案者あり 試作あり
14	気管切開児童の保護者向け 吸引・挿管指導モデル	
15	新生児の頭蓋内圧亢進を客観的に評価するデバイス	
16	水頭症に対するシャント手術後のシャント機能のモニタリングデバイス	
17	高齢者(特に認知障害者)の服薬管理	
18	診療で発生するエアロゾルによるCOVID-19 感染対策	

2020年

2019年

一般演題(口演)

Cell compatibility and nanoparticle formation of coiled-coil silk from hornets

¹*Derya Aytemiz, ¹Yusuke Kambe, ¹Tsuneri Kameda

¹*Silk Materials Research Unit, Institute of Agrobiological Science, NARO*

To avoid the side effects of cancer chemotherapeutics, the application of a drug delivery system (DDS) has recently been expanded to develop carriers for anti-tumor agents to control their distribution.¹ Silk, a natural polymer, is one of the candidates in this field. Although silk is protein-based material, it is characterized by its exceptional mechanical properties with the simplicity of preparation methods compared to other protein-based natural polymers used for DDS, such as collagen, gelatin, and albumin. Unfortunately, collagen and gelatin can dissociate during isolation and purification as both are derived from animals. Also, both material needs to be cross-linked or modified for stability. Although, albumin from human serum is already commercially in use as a nanocarrier for the chemotherapeutic drug Paclitaxel. However, it is expensive to prepare and purification from human serum is difficult. The simplicity of the preparation method for silk makes the active-targeting delivery achievable upon blending or conjugation of various targeting ligands such as peptides, antibodies, aptamers, etc. to the drug-loaded silk material. Silks from *Bombyx mori* and spiders are the most evaluated types for this purpose. Both silks have high toughness derived from their high β -sheet contents resulting from their highly repetitive primary structure. However, this feature of high β -sheet contents mostly causes inflammatory effects with a low degradation rate *in vivo* for drug delivery applications.²⁻³ In that case, the nanoparticles prepared from those silks can be rejected or removed from the body by lymphatic drainage. On the contrary, the silk produced by hornets contains relatively large amounts of α -helix secondary structure⁴, and thus, given its low β -sheet content, hornet silk could be a potential carrier for chemotherapeutic agents for DDS. However, hornet silk still has many unclear points in terms of cell compatibility and cytotoxic effects. In this study,

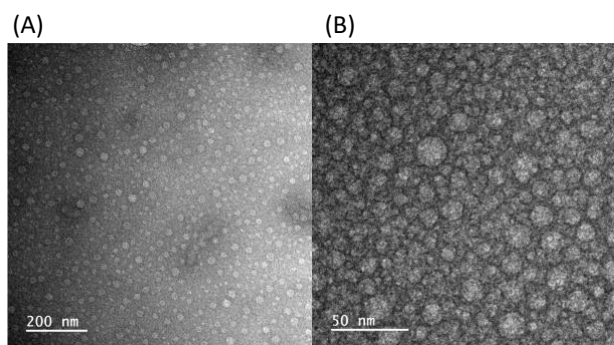


Figure 1. TEM image observation of AHS sample (A) and EHS sample (B)

after clarifying these unclear points in the aqueous solution state, we aim to prepare nanoparticles from hornet silk solution (HSS) with low β -sheet content.

To clarify the cell compatibility CCK-8 assay was performed with murine fibroblast cells (NIH/3T3). Also, a cell cytotoxicity detection kit of lactate dehydrogenase (LDH) assay was used to determine of cytotoxic effect of HSS on NIH/3T3 cells with high control of Triton-X and low control of PBS. The CCK-8 assay result showed a slightly higher cell viability ratio than the PBS for the

concentration 10 and 100 mg/ml sample of HSS three days after incubation with NIH/3T3 cells. The low cytotoxic effect of LDH release was observed at all concentrations of HSS with the same or lower amount as the PBS. After the clarification of low cytotoxicity, the organic solvent precipitation method was used to prepare HS nanoparticles. Briefly, 0.6 wt% HSS added to pure acetone dropwise by maintaining over 75% (v/v) of acetone and this sample was named AHS. The same protocol was used with ethanol as an organic solvent; this sample was named EHS. The particle formation of AHS and EHS was evaluated by transmission electron microscopy (TEM) and particle size histogram with a distribution curve calculated by ImageJ software. The structure of nanoparticles was evaluated by Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) after freeze-drying. The zeta potential of AHS and EHS in distilled water was evaluated by ZetaSizerUltra (Malvern). TEM pictures showed higher diameter frequency for AHS than EHS. (Figure 1). In addition, the diameter frequency and intensity curve tend to be at a higher area. From FTIR evaluation, the amide I band showed board and indistinct peak suggested α -helix structural confirmation for AHS samples. In contrast, the amide I band of EHS samples showed a clear characteristic peak for β -sheet confirmation. In addition, negatively charged zeta potential was observed for both samples with stable characteristics.

Formation of nuclei during annealing impeded the supersaturation in the dissolution process of celecoxib glass

¹* J. Song, ^{1,2} K. Kawakami.

¹Research Center for Functional Materials, National Institute for Materials Science (NIMS), ² Graduate School of Pure and Applied Sciences, University of Tsukuba

Aqueous solubility is a critical index that represents the absorption of orally administered drugs of active pharmaceutical ingredients (API). Physical state of the drug, namely, the crystalline or the amorphous state, deeply influence the solubility of API. Despite the amorphization provides greater adsorption effect in comparison to the crystalline drug, the nuclei formation during storage was thought to develop into crystalline hence restricts its dissolution advantage. However, the influence of ageing related nuclei formation to the API dissolution process was not fully understood. Excitingly, we previously confirm that the nuclei of amorphous celecoxib (CEL) could form but without developing into crystal under freezing temperature^[1]. On the basis of this finding, the dissolution performance of amorphous CEL annealed at room temperature (RT) and freezing temperature (FT, -20°C) (**Figure**), respectively, was investigated. The results showed that the supersaturation state of RT-annealed CEL lasted longer than that of FT-annealed CEL. We own the reason to the fast conversion rate of amorphous to crystalline state of FT-annealed CEL due to the existence of nuclei. Additionally, a new crystal form of CEL was discovered associated with this study.

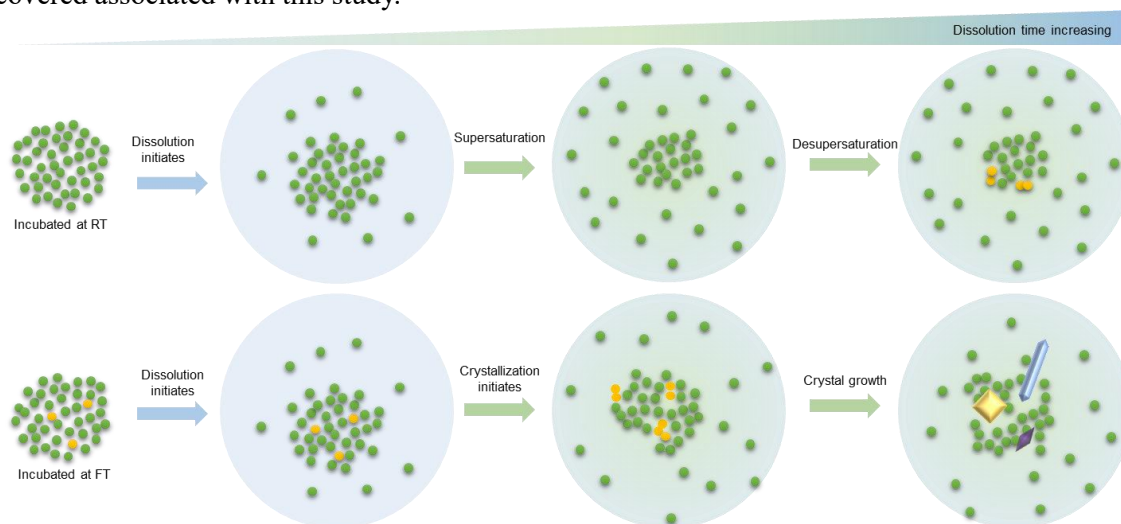


Figure Schematic of the dissolution process of annealed celecoxib glass.

Reference:

[1] Kawakami, K. *Thermochimica Acta* 2019, 671: 43-47.

術後心房細動予防のための抗不整脈薬持続放出型 シルクフィブロインフィルムの開発

¹ 東京農工大学大学院工学府生命工学専攻、² 日本医科大学心臓血管外科、

³ 日本医科大学循環器内科

○山本遥香¹、石井庸介²、太良修平³、秋岡翔太¹、中澤靖元¹

【背景】

術後心房細動(postoperative atrial fibrillation: POAF)は心臓手術後において高頻度で発症する合併症であり、現在、抗不整脈薬であるアミオダロン(AMD)の持続静脈注射や経口投与といった処置がとられている。しかし、この投与方法では、肝臓等に AMD が蓄積することで重篤な心臓外副作用を引き起こす恐れがある。そこで、副作用の抑制を目的に、心臓に貼付することで、局所的な薬剤放出が可能なシルクフィブロイン (SF) 基盤フィルムの開発を行うこととした。

SF は生体適合性や生分解性を有しており、抗生物質やタンパク質等の担持する物質の活性を阻害することなく送達することが可能である。また本研究では、SF にポリエチレングリコール (PEG) を架橋した。PEG は、埋植部位の周囲組織の癒着を抑制できるうえに、分子量の違いによる薬剤放出速度の調節機能が期待される。以上より研究戦略として、分子量の異なる 3 種の PEG を SF に架橋した材料 (SPD) を作製することとし、本発表では AMD 放出試験について報告する。

【実験内容】

分子量 200、600、1000 の PEG (Sigma Aldrich) の両末端をエポキシ化することで得たポリエチレングリコールジグリシジルエーテル (PEG-DE) を SF のチロシン残基と反応させることで分子量の異なる 3 種の PEG を架橋した SF (SPD200、SPD600、SPD1000。数字はそれぞれ PEG の分子量を示す) を得た。SPD の反応確認は、溶液 ¹H NMR 測定 (JEOL RESONANCE 社) により行った。また、AMD を 70 (v/v)% エタノールに 15 mg/mL となるように溶解し、SF 水溶液と各 SPD 水溶液と混合した。そして半径 50 mm のポリスチレン製シャーレにキャストし、25 °C で乾燥させることで AMD 担持フィルムを得た。このフィルムを 75 (v/v)% エタノールに蒸気暴露させて水に不溶なフィルムを作製した。AMD 放出試験では、5 (w/v)% グルコース水溶液とエタノールが 9:1 となるように混合した水溶液に AMD 担持フィルムを投入し、各時間における AMD の放出量を分光光度計にて測定 (測定波長: 242 nm) し、放出率を算出した。

【結果及び考察】

SF と各 SPD 水溶液の溶液 ¹H NMR 測定を行ったところ、SPD 水溶液において PEG メチレン基由来のピークおよび SF 由来ピークを確認し、帰属した。さらに反応点としたチロシン残基芳香環由来ピークの低磁場シフトによる新規ピーク (6.76、6.98 ppm) が認められ、SF 分子中のチロシン側鎖尿酸基を介した PEG の架橋反応の進行が示された。

Fig. 1 には SF と各 SPD フィルムにおける経時的な AMD の放出率の推移を示した。SPD600、SPD1000 では SF、SPD200 と比較して 24 時間以内に多くの AMD が放出された。これに対し、SF、SPD200 は 15 日間にわたり穏やかな放出で、7~11 % 程度の累積放出率を示した。そして 1 日目以降の放出速度は 4 種で同程度となった。また、1 日目の放出量は、SPD600、SPD1000 では 1.8~2.0 mg、SF、SPD200 では 0.2~0.5 mg であった。POAF に有効な AMD の心臓周囲の組織濃度は約 600 µg/g¹ であることが知られており、SPD600、SPD1000 で 1 日以内に組織濃度に達し、薬効を示す可能性があると考えられる。発表ではフィルムの構造解析とともに放出材としての有用性を考察する。

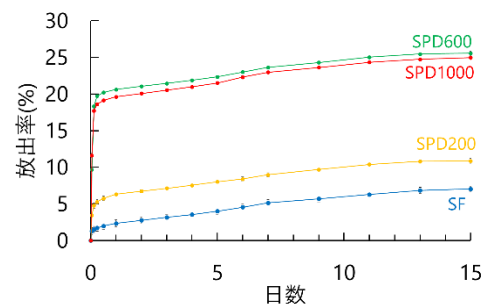


Fig. 1 SF、各 SPD フィルムにおける AMD 累積放出率 (n=4)

【謝辞】本研究の一部は科学研究費補助金 基盤研究C (18K08745) の助成を受けて実施した。

【参考文献】1. Takeda, T. *et al. Ann. Thorac. Surg.* **91**, 734–739 (2011).

Surface modulation of extracellular vesicles with peptide-conjugated lipids for improvement of intracellular delivery

¹*HUANG Tianwei, ¹Yuya Sato, ²Masayuki Sano, ³Makoto Miyagishi, ²Hiroaki Tateno, ^{4,5}Renu Wadhwa, ⁶Kazunori Kawasaki, ⁶Takeyuki Uchida, ¹Ung-il Chung, and ^{2,7,8}Yuji Teramura.

¹Department of Bioengineering, School of Engineering, The University of Tokyo, ²Cellular and Molecular Biotechnology Research Institute (CMB), National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST), ³Biomedical Research Institute, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST), ⁴AIST-INDIA DAILAB, National Institute of Advanced Industrial Science & Technology (AIST), ⁵School of Integrative & Global Majors (SIGMA), Tsukuba Life Science Innovation, University of Tsukuba, ⁶Material Science RG, Research Institute of Electrochemical Energy, Department of Energy and Environment, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST), ⁷Department of Immunology, Genetics and Pathology (IGP), Uppsala University, ⁸Master's/Doctoral Program in Life Science Innovation (T-LSI), University of Tsukuba

Introduction: Exosomes are a subtype of extracellular vesicles secreted by cells containing DNA, microRNA (miRNA), and proteins [1]. Exosomes are expected to be valuable as a means of delivering drugs or functional miRNAs in treatment of diseases [2]. Hindering this potential, the delivery of exosomes is passive and has a short clearance time, even though exosomes have intrinsic delivery functions and minimal reactions to the innate immune system [3]. In addition, intracellular delivery is passive, and therefore the therapeutic effect is limited. It will be beneficial to promote the intracellular delivery of exosomes for use as drug carriers. Cell-penetrating peptides (CPPs) are short peptide families that facilitate cellular intake of molecules and vesicles. The modification of cells, and liposomes with CPP-conjugated-lipids, CPPs conjugated with poly(ethylene glycol)-conjugated phospholipids (PEG-lipid), that induce adhesion by CPPs, can be useful for cell-based assays and harvesting liposomes in our previous reports [4, 5]. In this study, we aimed to modulate the exosome surface using Tat peptide (YGRKKRRQRRR)-PEG-lipids to improve intracellular delivery to cells.

Results and discussion: We isolated and characterized exosomes from the medium of HEK 293T cell cultures. Isolated exosomes were measured using NanoSight to measure size, particle number, and TEM for morphology analysis. Representing exosomes surface marker CD63, CD81, CD9, and HSP70 were detected by Western blotting. Maleimide-PEG-lipid was synthesized as previously reported [5]. Tat peptides were conjugated with PEG-lipids with different spacer molecular weights (5kDa, 20kDa, 40kDa) and lipid types (DMPE: C14, DPPE: C16) by thiol-maleimide reaction. Then Tat-PEG-lipids were incorporated into exosomes using fluorescein isothiocyanate labeling to optimize the number of Tat-PEG-lipids immobilized on the exosome surface. The number of incorporated Tat peptides increased with increased feed concentration for both Tat-PEG-DMPE and Tat-PEG-DPPE and also showed a higher number of incorporated Tat peptides for Tat-PEG-DMPE when we compared 5kDa PEG and 40kDa PEG chain. Tat-PEG-DPPE was decided to be used for exosome modification because PEG-DMPE rapidly detached from the cellular surface. The exosomes modified with Tat-PEG-lipids were incubated with human umbilical vein endothelial cells (HUVECs) and HEK 293T cells to study the interaction. Tat-PEG(5k)-DPPE incorporated on the exosome surface were highly detected inside HUVECs by flow cytometry. Fluorescence was negligible in HUVECs for control groups. In addition, surface modulated exosome with EGFP expressed plasmid encapsulation could be delivered to HEK 293T and expressed EGFP. Thus, Tat-PEG-lipids can be modified on the exosome surface, improving the intracellular delivery of exosomes with functional molecules. We anticipate that this material will be useful for specific exosome delivery for disease treatment.

References: [1] Zhang *et al.*, *International journal of nanomedicine*, 2020:15 6917-6934. [2] Hu, Gw. *et al. Stem Cell Res Ther* 6, 10 (2015). [3] A. Clayton *et al.*, *Eur J Immunol* 33 (2003) 522-531. [4] Y. Sato *et al.*, *Langmuir* 2021, 37, 9711-9723. [5] M. Noiri *et al.*, *ACS Appl Bio Mater* 4 (2021) 4598-4606

In Vitro Gastric Simulation Evaluation of Hornet Silk as a Potential Alternative Food Source

¹*Muganda, J., ¹Mao, X., ³Tian, Y., ¹Zhang, B., ^{1,2}Kobayashi, I., ^{1,3}Kameda, T.

¹Department of Life Science Innovation, University of Tsukuba, ²Food Research Institute, NARO, ³National Institute of Agrobiological Sciences, NARO.

[Introduction]

With the current unprecedented proportions of global food crisis, there has been a shift to exploit alternative food sources in an effort to meet the food demand of the ever growing human population. In actual realization of this, the Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) has been in the frontline popularizing insect-eating as an alternative protein source. Crickets and locusts are well known insects that have attracted attention as food. Similarly, the pupae of silkworms and wasps (Hornets) have long been used as food. Progressive research has shown silk, the thread spun by silkworms, as a potential valuable protein source owing to their attractive properties and relative amino acid composition. However, silkworm silk, such as of *Bombyx mori*, suffers a drawback of being a high-quality food protein source due to its relatively low essential amino acid content constituting of only about 7.92%. In contrast, Hornet silk has a relatively higher composition of essential amino acid constituting about 19.1%, making it an attractive alternative food source. Therefore, to evaluate Hornet silk food source potential, there is need to evaluate its digestibility in the stomach. Here, comparison is made between Hornet silk and tofu. Tofu is a widely ingested high nutrient-dense food made by condensing soy milk into a semi-solid or liquid state.

[Experiment]

Hornet silk digestibility evaluation was conducted through in vitro gastric simulation studies by the use of a human gastric digestion simulator. The Gastric Digestion Simulator (GDS) is designed for direct observation and quantitative analysis of the food digestion process in the human stomach. In this study, Hornet silk was prepared into silk gels of varying concentrations. 60g of 5mm chopped pieces of the Hornet silk gel were prepared to imitate the chewing process. For pre-digestion, to recreate food digestion in the mouth, the chopped slices were transferred into a beaker containing 30mL of artificial saliva composed of salivary amylase 2.0g/L, NaCl 0.117g/L, KCl 0.149g/L, and NaHCO₃ 2.1g/L. The resulting mixture was well mixed and allowed to stand for 2 minutes. Pre-digestion of tofu also followed the same manner. The predigested Hornet silk and tofu were then separately transferred into the GDS and 200mL of a solution mixture containing pepsin 2.0g/L (derived from pigs), NaCl 8.775g/L, and HCl (to adjust the pH environment to 1.3) added. The digestibility behavior and the subsequent physical analysis (penetration stability test) of Hornet silk gel and tofu were analyzed and comparisons made.

[Results and Discussion]

It was observed that Hornet silk gel digestibility behavior was influenced by the silk concentration. The force required for the needle to penetrate 1mm into the Hornet silk gel during penetration stability studies increased with increase in gel concentration. Surprisingly, even though Hornet silk gel appeared harder than tofu, silk digestability was higher than tofu. After digestion in GDS followed by fraction evaluation studies in sieves of varying pore sizes i.e ranging from 2.0mm to 0.025mm, Hornet silk gel was found to have the highest digestability of 89% relative to 52% tofu digestability at similar concentration and digestion time, indicating Hornet silk great utilization potential as a potential protein food source. The findings from this study elucidates the great potential for the utilization of Hornet silk as an alternative protein food source owing to its faster digestibility rate, reported non-toxicity, and relatively higher essential amino acid composition which can be exploited in an effort to curb the global hunger issue. Additionally, the digestibility findings of Hornet silk can also be utilized as a reference in the design and administration of Hornet silk drug delivery system via the oral route.

[References]

1. T. Kameda *et al.*, Biomacromolecules (2010), 11, 1009 – 1081.
2. Kozu *et al.*, Food Sci. Tech. Res. (2014).

分子量の異なるポリエチレングリコールをリンカーとした機能性ペプチド固定化シルクフィブロインの作製と血管新生シートへの応用

¹東京農工大学大学院工学府生命工学専攻

○森 唯菜¹、秋岡 翔太¹、中澤 靖元¹

【緒言】

血管新生療法に用いられる血管新生因子は、半減期が短く、分解産物による重篤な副作用が危惧されている。そこで本研究では、高い安定性や低免疫原性といった利点を有する機能性ペプチド、特に血管新生能を有するオステオポンチン由来ペプチド(以下 SVV)に着目した。当研究グループではこれまでに、シルクフィブロイン(SF)に対し、ポリエチレングリコール(PEG)をリンカーとして SVV を固定化したシート(SF-PEG-SVV)を作製し、ヒト臍帯静脈内皮細胞(HUVEC)を用いた *in vitro* 評価を実施した。その結果、PEG の導入と SVV の固定化により、細胞接着及び増殖が有意に向上し、さらに管腔形成能を示したことから、血管新生シート基盤材料に有用であることを示唆した。

そこで本研究では、この SF-PEG-SVV シートの血管新生能を深く調査するため、リンカーとして用いた PEG の分子量に着目した。分子量の異なる 3 種の PEG を用いてそれぞれ SF-PEG-SVV シートを作製し、HUVEC を用いた細胞試験を実施した。発表では、細胞試験に加え、各反応の進行確認について報告し、PEG の分子量とシートの血管新生能の相関について考察する。

【実験方法】

SF 水溶液に塩化シアヌル(関東化学)を加えて反応させた後、数平均分子量 200, 1500, 3400 の PEG 水溶液をそれぞれ添加することで、各 SF-PEG(SP)水溶液を作製した。以後サンプル名を PEG の分子量に基づき、それぞれ SP200, SP1500, SP3400 とする。次に、各 SP 水溶液に対して、EDC/NHS 法を用いて SVV (H₂N-SVVYGLRGG-COOH)を固定化し、SPS200, SPS1500, SPS3400 水溶液を得た。固定化反応の進行を確認するため、作製した各水溶液に対して ECA500(JEOL RESONANCE)を用いた溶液 ¹H NMR 測定を実施した。

また、細胞試験のため、調製した SF, 各 SPS 水溶液を用いてそれぞれ組織培養プレート上にキャストフィルムを作製し、70 (v/v)%エタノールによる不溶化処理と滅菌を実施した。各キャストフィルム上に HUVEC を播種し、5 % CO₂, 37 °C 環境下で 6 時間培養した後、DAPI 染色を実施し、接着細胞数を算出することで細胞接着性を評価した。

【結果・考察】

作製した SF, 各 SP に対する溶液 ¹H NMR 測定より、各 SP のスペクトルについて PEG 由来のピークの出現が認められた。また、各 SPS について、Val H_β 由来ピークの強度が SF, 各 SP と比べ増加し、これは SVV の固定化に起因するものと考えた。以上より、SF に分子量の異なる PEG を介して SVV を固定化することに成功した。

また、HUVEC を用いた接着試験の結果を Fig. 1 に示す。播種 6 時間後における細胞密度は、SF と比較し各 SPS で有意に高値であった。これは固定化した機能性ペプチド SVV の内皮細胞接着促進能によるものと考えた。さらに、SPS200 と比較し、SPS1500 と SPS3400 では、細胞密度がより高値を示す傾向にあり、PEG の分子量依存的に細胞接着を促進する可能性を示した。これは、高い運動性を持つ PEG をリンカーとして導入することで SVV の運動性が向上し、SVV と細胞間のアクセスビリティが向上したためと考えられる。

以上より、SF に PEG を介して SVV を固定化した SPS において、リンカーとして用いた PEG の分子量依存的に HUVEC の接着を促進することが示唆された。発表では、PEG の分子量がシートの血管新生に与える影響について考察する。

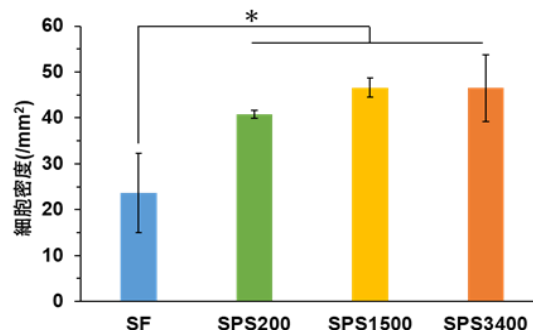


Fig. 1 HUVEC 播種 6 時間後における細胞密度 (n=4, *:p<0.05)

Tumor microenvironment regulation-enhanced photo-immunotherapy

^{1, 2}*Xueping Yu, ²Xiupeng Wang, ¹Atsushi Yamazaki.

¹Graduate School of Creative Science and Engineering, Waseda University, Japan, ²National Institute of Advanced Industrial Science and Technology, Japan.

[Introduction]

Cancer is still one of the deadliest diseases. According to the data from global cancer in 2020, there are around 19 million new cases of cancer and 10 million deaths from cancer. And it is reported that among the deaths from cancers, around 90% were caused by tumor metastasis (Lambert, Pattabiraman et al. 2017) and only 1/5 patients who were diagnosed with metastatic cancers can survive for more than 5 years (Time 2011). Therefore, the anticancer effect of different therapies is still not good enough in curing cancer. For example, phototherapy, a strategy that applies the near-infrared light (NIR) wavelength (650nm-1350nm) to induce damage to tumor tissues, has drawn much attention due to its minimal invasiveness with good selectivity and nondrug resistance. Whereas its anticancer effect is still limited by different factors, including the easy degradation of photo agents after laser irradiation, the complex tumor microenvironment, and the immunosuppressive status in tumor tissues. Interestingly, Mn-based nanomaterials have been reported to potentially regulate tumor microenvironments through catalyzing H_2O_2 to produce O_2 , inducing Fenton-like reaction to generate hydroxyl radicals, and depleting glutathione (GSH, one of the main reducing agents of antioxidative systems) (Zeng and Zhang et al., 2020; Ma and Nishina et al., 2021; Ou and Tian et al., 2021; Gong and Yang et al., 2020), as well as activating immune systems through activating cGAS-STING pathway (Lv and Chen et al., 2020; Song and Liu et al., 2021). Therefore, Mn-based nanomaterials may be promising for solving the limitations faced by phototherapy. Here, we synthesized Mn-doped mesoporous silica nanoparticles (Mn-MSN) to load the photo agent of IR 780, which were further coated with Mn to protect the IR 780 from degradation after laser irradiation and formed the system of IR 780@Mn-MSN@Mn. The photothermal and photodynamic capability and the regulation functions to the tumor microenvironment were carefully investigated. The in vivo anticancer effect of inhibiting tumor growth and tumor metastasis was evaluated using a bilateral animal model.

[Results]

Firstly, IR 780@Mn-MSN@Mn showed more stable temperature-increasing trends after 4 cycles of laser irradiation and higher production of singlet oxygen, which suggested that IR 780@Mn-MSN@Mn protected the degradation of IR 780 after laser irradiation and improved photothermal and photodynamic capability compared with IR 780. Secondly, IR 780@Mn-MSN@Mn showed obvious regulation functions to the tumor microenvironment, including oxygenation, generation of reactive oxygen species (ROS), and depletion of GSH, which suggested that IR 780@Mn-MSN@Mn could improve the ROS level generated by photodynamic therapy through increasing O_2 level and decreasing the ROS consumption by GSH. Additionally, the chemodynamic therapy due to the Mn-induced ROS generation through a Fenton-like reaction could further enhance the effect of phototherapy. Thirdly, Mn-MSN showed potential in vitro immune activation capacity, which induced cytokine secretion from macrophage-like cells incubated with Mn-MSN. Finally, the in vivo anticancer effect induced by IR 780@Mn-MSN@Mn was evaluated using a bilateral animal model. Compared with the combination of IR 780 and laser irradiation, the combination of IR 780@Mn-MSN@Mn and laser irradiation showed a better inhibitory effect on both primary tumors received treatments and distant untreated tumors and induced higher cytokine secretion from splenocytes.

In conclusion, IR 780@Mn-MSN@Mn showed the potential to solve the problems faced by phototherapy through protecting IR 780 from degradation, regulating the tumor microenvironment, and activating immune responses, which synergistically contributed to the enhanced in vivo anticancer effect on inhibiting the growth of primary tumors and distant untreated tumors. The system of IR 780@Mn-MSN@Mn may provide a potential strategy for enhancing photo-immunotherapy in inhibiting tumor growth and tumor metastasis.

Regulation of bifurcated cytokine induction by CpG oligodeoxynucleotides/cationic liposome ratio in immune cells

^{1,2*} Le, N.B.T., and ^{1,2}Yamazaki, T.

¹ Graduate School of Life Science, Hokkaido University

² Research Center for Functional Materials, National Institute for Materials Science (NIMS)

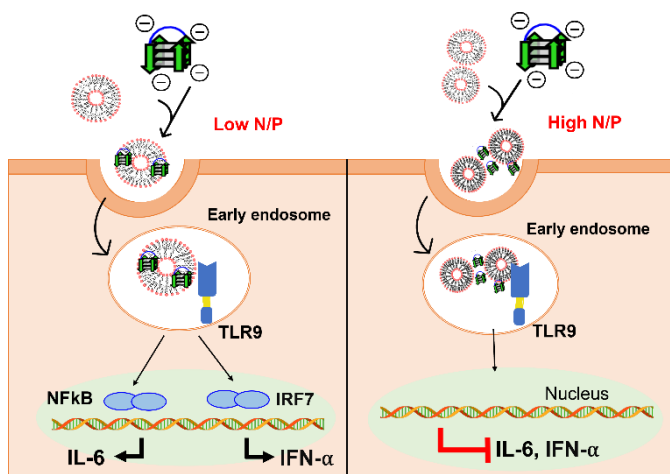
【Objective】 The flexible bifurcation of cytokine induction is beneficial in immunotherapy. Inflammatory cytokines such as interleukin (IL)-6, IL-12, and interferon (IFN)- α play important roles in immune response. The secretion of these factors from immune cells is required simultaneously for adjuvants in vaccines and for the treatments of various diseases including cancer. Here we show the ratio of guanine-quadruplex (G4) structure-based CpG oligodeoxynucleotides (ODNs)-G4 CpG ODN to cationic liposome-1,2-dioleoyl-3-trimethylammonium propane (DOTAP) drives the bifurcation of cytokine induction. In this study, we aim to clarify mechanism governing the regulation of IL-6 and IFN- α by G4 CpG ODN/DOTAP in immune cells.

【Method】 DOTAP and G4 CpG ODNs contain two immunostimulatory CpG motifs-GD2 were bound electrostatically with various charge ratio (ratio of number of positive charges originating from cationic lipid and number of negative charges from DNA's phosphates) by adjusting the amount of DOTAP. The characterization of GD2-DOTAP complexes including size, surface charge, topology, and stability was examined. The immunostimulatory properties of GD2/DOTAP complexes were evaluated in human peripheral blood mononuclear cells (hPBMCs). Intracellular behaviors of the complexes were investigated in cell lines as models

【Results and discussion】 Amount of DOTAP affects the characterization of complexes. Increase in charge ratio resulted in increase in the size and serum stability of liposome/DNA complex. Surface charge was decreased due to increased negative-charge density at the surface of the complexes. In immune cell, the bifurcation of cytokine induction IL-6 and IFN- α was only observed at low charge ratio complex. Specifically, we

confirmed the trend of IL-6 and IFN- α were mainly induced by B cells and plasmacytoid dendritic cells (pDCs), respectively, in hPBMC. Increasing of complex size and different surface charges at each charge ratio significantly changed cellular uptake efficiency and localization of complex in cells. These intracellular behaviors of complex correlated to the bifurcation of cytokine induction in immune cells.

【Conclusion】 A rational design of G4-CpG ODN/DOTAP complex is promising in delivering and controlling G4 ODN activity.



Bifunctional Scaffolds for Magnetic Hyperthermia of Breast Cancer Cells and Regeneration of Adipose Tissue

^{1,2}*Rui, Sun, ¹Toru, Yoshitomi, ¹Naoki, Kawazoe, ^{1,2}Guoping, Chen

¹Research Center for Functional Materials, NIMS, Japan,

²Sch. of Pure and Applied Science, Univ. of Tsukuba, Japan

E-mail: Guoping.CHEN@nims.go.jp

[Introduction]

Breast cancer is the most common cause of cancer-related death in women worldwide. There remains a challenge in completely eradicating breast cancer cells and reconstructing the tumor-initiated breast defect after surgical intervention. In recent years, Fe₃O₄ NPs have been widely developed as heat mediators for magnetic hyperthermia to achieve ablation of breast cancer cells. In this study, we designed alternating magnetic field (AMF)-responsive bifunctional composite scaffolds of gelatin and Fe₃O₄ NPs for magnetic hyperthermia of breast cancer cells and regeneration of adipose tissue (Figure 1).^[1]

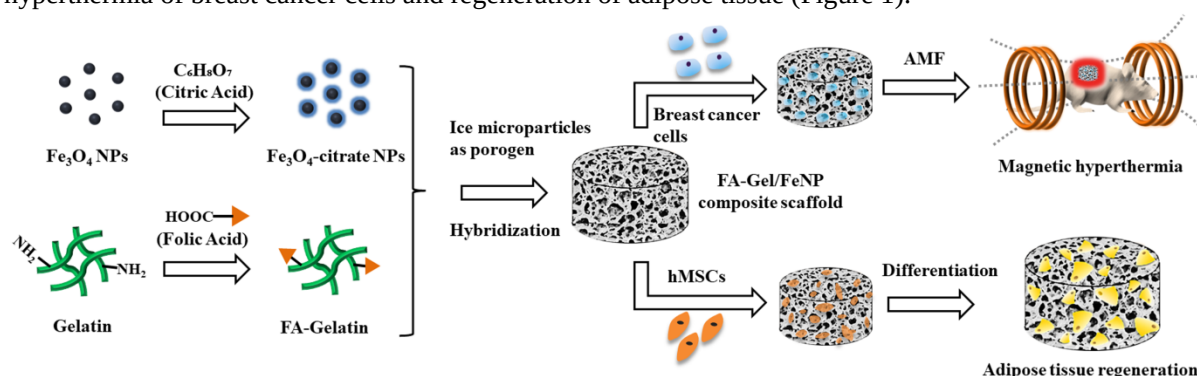


Figure 1. Scheme of the preparation of the FA-Gel/FeNP composite scaffolds and evaluation of their functions for magnetic hyperthermia treatment and tissue regeneration.

[Experiments]

Fe₃O₄ NPs were synthesized from Fe (II) and Fe (III) precursors in DEG/NMDEA mixture polyol solvent (1:1, v/v) and modified with citrate. Gelatin was conjugated with folic acid (FA) to obtain FA-gelatin. The citrate-modified Fe₃O₄ NPs were hybridized with the FA-gelatin solution to fabricate the composite scaffolds by using ice microparticles as porogen material. The pore structures of composite scaffolds were investigated by SEM. Their ability to capture FA receptor-expressing breast cancer cells was evaluated *in vitro*. Their magnetic thermal property and anticancer efficacy under AMF were studied both *in vitro* and *in vivo*. In addition, the composite scaffolds were used for *in vitro* 3D culture of human bone-marrow derived mesenchymal stem cells (hMSCs) to explore their capacity to guide the adipogenic differentiation of hMSCs.

[Results and Discussion]

The bifunctional composite scaffolds had well-interconnected spherical pores that allowed cell migration and infiltration. Due to the presence of folic acid, composite scaffolds could capture FA receptor-expressing breast cancer cells. Composite scaffolds possessed a high magnetic-thermal conversion property and could ablate breast cancer cells under AMF irradiation during *in vitro* cell culture and *in vivo* animal experiments. In addition, culture of hMSCs in the composite scaffolds showed that the composite scaffolds not only supported the adhesion and proliferation of hMSCs, but also promoted lipid droplet formation and up-regulated the expression of adipogenesis-related genes (FASN, FABP4, CEBPA and LPL) when AMF was off. Overall, the results demonstrated that composite scaffolds possessed both the magnetic thermal effect for ablating breast cancer cells and the promoted effect for adipogenic differentiation of hMSCs.

[Reference]

1. R. Sun, et al., Composite scaffolds of gelatin and Fe₃O₄ nanoparticles for magnetic hyperthermia-based breast cancer treatment and adipose tissue regeneration. *Adv. Healthcare Mater.*, 2022.

オーガニックタトゥー製品 Inkbox®の医療分野での応用

¹筑波大学医学医療系 放射線腫瘍学、²筑波メディカルセンター病院 放射線治療科
○後藤 雅明¹，牧島 弘和¹，大城 佳子^{1,2}，櫻井 英幸¹

【背景】安全で確実な治療を行うために医療現場では患者の皮膚にマーキングを行うことがしばしばある。現状，皮膚マーキングは容易に消えてしまう油性ペンや，発がん性のあるゲンチアナバイオレットを含むインクで行われ，持続性や安全性の観点で課題がある。Inkbox®は植物由来のオーガニックタトゥー製品で，インクに含まれる Genipin が皮膚の角質に直接着色し，約2週間色素が持続する。筆者らは，放射線治療時のマーキングとして Inkbox 製品を医療現場で導入しその持続期間に関して観察研究を施行した。シールタイプおよびペンタイプの Inkbox 製品の観察研究の結果と医療現場における導入事例に関して報告する。

【方法】本研究は筑波大学附属病院，筑波メディカルセンター，茨城県立中央病院の多施設の前向き観察研究である。2020年12月から2021年3月と2022年1月から2022年5月に同意を得られた放射線治療患者を対象にシールタイプとペンタイプの Inkbox をそれぞれ使用した。シールタイプは皮膚に1時間貼付しインクを定着させる必要があるが，ペンタイプは直接体表に描くことが可能である。患者自身がマーキングの濃さを，4段階（3：はっきり見える，2：うすいが見える，1：かすかに見える，0：見えない）で評価するとともにその使用感を記録した。濃さが1（かすかに見える）になるまでの期間を持続期間と定義し，その持続期間を通常の油性ペンと比較した。

【結果】シールタイプは32名，ペンタイプは20名にマーキングとして用いられた。持続期間は，シールタイプ Inkbox：油性ペンは16日：4日（ $p<0.001$ ）⁽¹⁾，ペンタイプ Inkbox：油性ペンは11日：5日（ $p<0.001$ ）と有意に Inkbox が長かった。また Inkbox は入浴時の煩わしさや衣類への色移りがないことが好評であった。有害事象は本観察研究では認めなかった。本研究の結果をもとに筑波大学附属病院をはじめとして，放射線治療の皮膚マーキングとして Inkbox を導入する施設が増加している。

【結語と考察】Inkbox 製品は，元来皮膚に使用する製品であるため従来の油性ペンに比べ安全性が高いと考えられ，油性ペンの2倍以上の持続期間を有し，患者のストレスも軽減される。これらの利点を有する Inkbox を用いた皮膚マーキングの需要は放射線治療以外にも大きいと考えられ，他領域での応用に関しても，今後検討を行う。

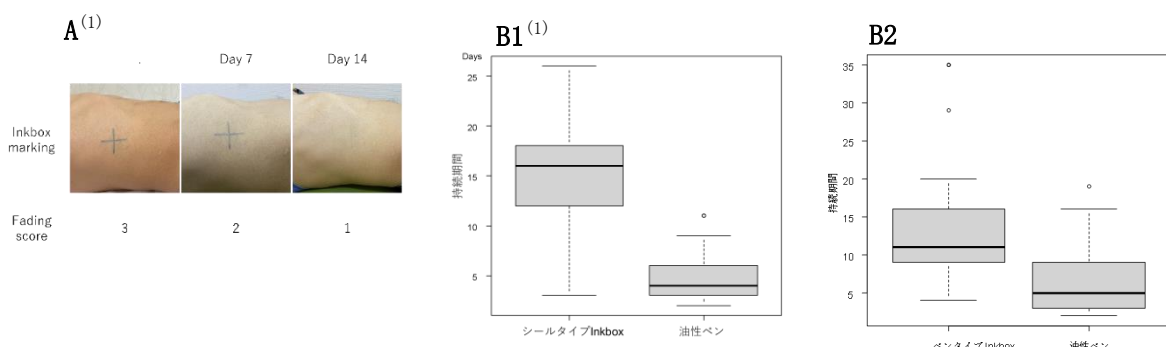


図1 本研究で用いた Inkbox による皮膚マーキング (A) と持続期間の結果
(B1:シールタイプ Inkbox vs 油性ペン, B2:ペンタイプ Inkbox vs 油性ペン)

引用

(1) M Goto et al, *J Radiat Res*, March 2022, 63(2), p314-318.

ロボットスーツ HAL の医工融合研究： 臨床運動解析による疾患横断的運動改善機序体系の構築

筑波大学医学医療系 ¹サイバニクス医学、²リハビリテーション医学、
³整形外科、⁴脳神経外科、
⁵筑波大学システム情報系/サイバニクス研究センター
○門根 秀樹¹、清水 如代²、久保田 茂希³、渡邊 大貴⁴、
丸島 愛樹⁴、羽田 康司²、鈴木 健嗣⁵、山海 嘉之⁵、山崎 正志³

【緒言】HAL (Hybrid Assistive Limb) は表面電極で計測される生体電位信号に基づく肢運動支援により麻痺肢の運動を改善する効果があると考えられ、臨床評価に基づく報告がなされている。一方、運動改善の経過やその背景にある運動学的機序については疾患ごとに解析され報告されてきているものの、体系的な理解を得られるには至っていない。筑波大学では医工融合研究により、運動麻痺を呈した患者に対してロボットスーツ HAL を用いた運動改善治療を実施し、その運動を計測、解析してきた。本発表では、HAL の効果として現れる運動制御の変化と運動学習を疾患横断的に概観し、その機序体系について議論する。

【方法】対象は HAL を用いた運動改善の研究に参加した 68 例である。内訳は、歩行治療(図 1 左)を行った 44 例(A 脳血管障害 20 例(内 HAL 群 11 例、非 HAL 群 9 例)、B 後縦靭帯骨化症による脊髄症 15 例、C 慢性期脊髄損傷 9 例)、D 肘運動治療(図 1 中)を行った 6 例(脳性麻痺患者 2 例、頸髄損傷患者 4 例)、E 肩運動治療(図 1 右)を行った 18 例(急性期頸髄損傷 1 例、脊髄性筋萎縮症 1 例、C5 麻痺 8 例、慢性期脳卒中 8 例)である。HAL 治療の前中後において当該運動の 3 次元動作計測(VICON MX, 100Hz)と無線表面電位計測(Delsys Trigno Lab, 2000Hz)を行い、関節運動、関節協調運動、筋活動度および筋協調運動(筋シナジー)を治療の前中後および治療期間前後で比較した。



図 1 (左:歩行訓練、中:肘関節運動訓練、右:肩関節運動訓練)

【結果】A～E において歩行訓練群では歩行速度の改善を認め、関節運動訓練群では関節可動域の改善を認めた。また全般に臨床評価項目の改善を認めた。A 脳血管障害例の歩行訓練後に麻痺側非麻痺側の筋シナジー対称性および関節協調運動が改善した。B 後縦靭帯骨化症に対する術後の急性期群において関節協調運動が改善し、術後急性期および慢性期両群で股関節運動およびダブルニーアクションが改善した。C 慢性期脊髄損傷例の上肢下肢連動歩行訓練後に、治療前に認めなかった下肢筋活動を治療後に認めた。D 脳性麻痺、頸髄損傷の肘屈曲伸展運動では拮抗筋の共収縮が改善した。E 肩運動訓練では、頸髄障害由来群では僧帽筋の代償的活動の低減を認め、慢性期脳卒中群では僧帽筋および棘下筋の代償的活動の低減を認めた。

【考察】HAL は末梢の神経・筋活動と関節運動が整合した運動訓練を提供し、中枢系の運動制御に改善効果をもたらすと考えられている(iBF 仮説)。本報告で概観した疾患群で、関節協調運動や筋の協調活動が HAL 治療後に改善した。また重度麻痺群においては、それまでに得られなかった筋活動が協調運動の結果として得られた。協調運動とその制御は脳脊髄を含む中枢神経系の働きによるものであることから、HAL 治療の機序の可能性として、中枢神経系の協調制御に対する作用が考察された。

起立動作のバイオメカニクスに基づく 起立着座・立位移動支援装置 Qolo の開発と社会実装

¹筑波大学医学医療系・サイバニクス医学、²筑波大学医学医療系・リハビリテーション医学、
³Qolo 株式会社、⁴須磨ユニバーサルビーチプロジェクト
⁵筑波大学システム情報系・サイバニクス研究センター
○門根 秀樹^{1,3}、清水 如代²、江口 洋丞³、佐々木 海³、
木戸 俊介⁴、羽田 康司²、鈴木 健嗣⁵

【緒言】Qolo は下肢機能障害者の起立、立位保持、着座動作を補助し、リハビリテーションや日常生活における立位を可能にすることを目的とする装置である。Qolo の特徴は、バネを主とする受動機構を人動作のバイオメカニクスに整合させた形態で設計することにより、下肢機能障害者の能動的な起立着座を電動モータ等の外部動力を使用することなく可能にすることにある。完全麻痺を含む下肢機能障害が対象であり、脊髄損傷、脳血管障害、脳性麻痺、神経難病など起立困難を来す疾患が幅広く対象となる。本発表では、Qolo の基礎をなす受動的動作支援技術、臨床研究、そして社会実装への展開を説明する。

【受動機構による動作支援】人の座位から立位への遷移である起立動作は(i)股関節屈曲、体幹前傾(ii)臀部が座面から離れる離臀(iii)体幹、股関節、膝関節の伸展からなる。力学的には、(i)体幹前傾によって重心が前方遷移し、膝関節軸に近づくことにより(iii)膝関節伸展で必要となる伸展モーメントを小さくするとともに、(ii)離臀後に小さくなる接地支持面上へ重心をあらかじめ遷移させておくことで全身の安定性を得るという意義がある。このバイオメカニクス特性の動作解析に基づき、体幹の前傾角度と膝伸展角度に応じた膝関節の平衡モーメントを起立動作中の各状態において実現する受動機構の設計法を開発した。主に、モーメントの条件を満たすバネ反力特性と膝関節軸に対するバネの配置の組み合わせを繰り返し計算によって決定した。我々は、人動作が元来有するバイオメカニクスに整合した受動機構により使用目的に応じた動作を支援する手法をPAL(Passively Assisted Limb)と呼んでいる。

【ユーザ参加型開発】実用性向上のため、機構開発と並行してユーザによる動作検証試験と使い勝手や使用目的に関する聞き取りを行った。動作検証試験から、バネ強さの調整機構、ハンドル位置、体幹支持が不可欠であることがわかり、以降の試作機に反映した。臨床試験としては、下肢機能障害による起立困難を有する 27 例(脊髄損傷 16 例:神経学的損傷高位 C3~L3、AIS A~C、股 MMT0~1、膝 MMT0~4 / 骨関節疾患 4 例 / 神経疾患(脳性麻痺、脳卒中、神経難病)7 例)が Qolo を用いて起立着座を行った。また、対麻痺 7 例においては起立着座訓練への応用を念頭に、連続的な反復起立着座を試みた。

【臨床試験結果】全例において能動的な起立着座が可能であった。完全麻痺例においては、上位胸髄レベル以上で硬性体幹装具を併用した他、頸髄レベルでは徒手の介助を併用した。対麻痺 7 例における平均反復回数は 33.9 回であった(5 回(T4A)-70 回(L3C))。

【社会実装】臨床試験・ユーザ参加型開発を通して、ユーザおよび医療関係者から実用化を望む声が多く寄せられた。開発メンバーを中心に大学から大学発スタートアップ(Qolo 株式会社)へ開発主体を移行して実用化開発を強化、医工産学連携体制により社会実装へ向けた研究開発を継続している。

【結論】下肢機能障害者において Qolo により能動的な起立着座が可能であり、ADL やリハビリテーションの向上につながる可能性が考えられた。医工融合研究によって実用化を前提としたシーズ技術開発を行った。産学連携体制により社会実装へ向けた活動を継続している。

経食道心エコー検査室でのエアロゾル感染リスク低減における HEPA フィルター付き陰圧ブースの有効性

¹筑波大学・臨床検査医学、²筑波大学・循環器内科、
³筑波大学・つくば臨床医学研究開発機構 (T-CReDO)、⁴茨城リネンサプライ株式会社
○町野 智子^{1,2}、町野 毅^{2,3}、渡部 一史⁴ 小野 康之⁴、伊村 佳洋⁴、川上 康¹

【背景と目的】

医療現場における新型コロナウイルスの感染対策は、今日における重要な課題である。口から超音波探触子を食道に挿入し、心臓の構造や機能を評価する経食道心エコー検査(TEE)は、循環器診療において必須であるが、患者がマスクを装着できない上、探触子の刺激により咳嗽やくしゃみ、嘔吐反射が起きるため、エアロゾル発生リスクが極めて高い。5 μ m以下のエアロゾルは空中で数時間漂い、その中に含まれる病原体によりエアロゾル感染を生じうる。陰圧ブースは、エアロゾル感染リスク低減目的で様々な場面で用いられているが、TEE 検査室で使用した報告は皆無であり、本研究ではその有効性について検討した。

【方法と結果】

筑波大学附属病院 TEE 検査室に、HEPA フィルター付き陰圧ブース(天井に給気口、患者頭側の壁に排気口があり、プッシュプル型の換気を行う)を設置した(図1)。パーティクルカウンターを用いて、ブース内の微粒子定量化を行い、経時的な粒子の除去率を評価した。

【結果】

部屋全体の1時間あたりの換気量(ACH)はわずか4であったが、ブース内では28であり、CDC 推奨の空気感染隔離室の基準(ACH $\geq$ 12)を満たしていた。換気装置を稼働後、約6分間以内に各サイズの粒子数は急激に減少し、7分以降は基礎値の約7割低減した状態ではほぼ定常となった(図2)。

【結論】

陰圧ブースは、検査室内の微粒子と空気感染のリスクを短時間で効果的に低減した。

図1. 陰圧ブースの構造と換気の仕組み

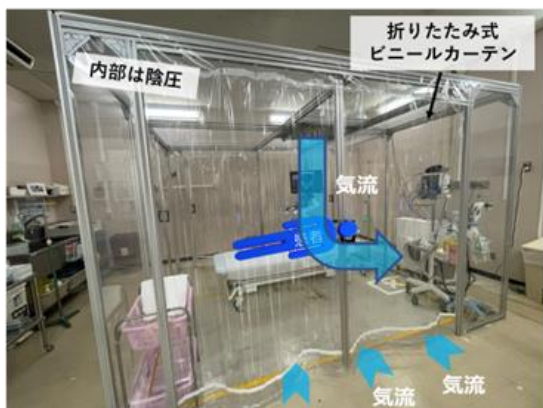
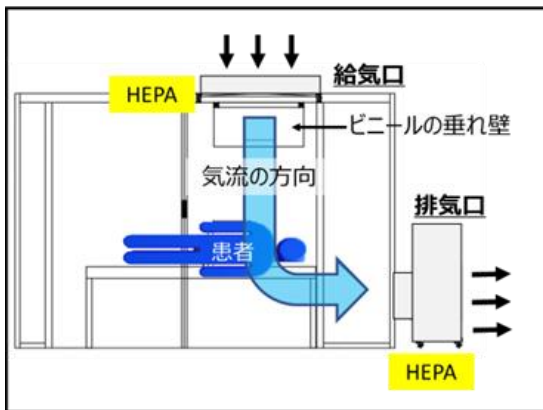
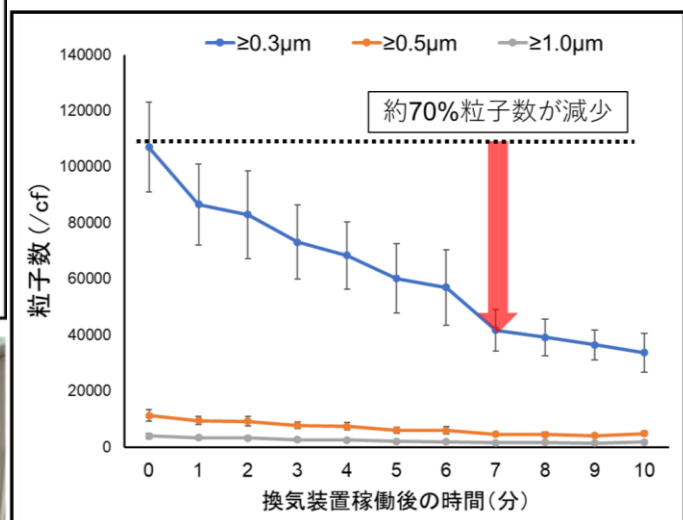


図2. 陰圧ブース内における微粒子数の変化



マグネシウム合金製生体吸収性ヘッドレスコンプレッションスクリューの短期埋植試験による安全性評価

¹筑波大学医学医療系整形外科 ²国立研究開発法人産業技術総合研究所

³メルフロンティア株式会社

○野口裕史¹ 三島初¹ 渡邊竜之介¹ 花田幸太郎^{2,3} 十時靖和¹
都丸洋平¹ 北川全³ 山崎正志¹

【背景】生体マグネシウム (Mg) 合金は、生体適合性、金属特有の優れた機械的特性、生分解性及び骨形成能を有しており、次世代整形外科インプラントの原材料として期待されている。一方で、Mg 合金には生体内での分解過程で水素ガスが発生するという課題を有する。今回、産総研で開発された Mg 合金製のヘッドレスコンプレッションスクリューの安全性評価を行ったので報告する。

【目的】Mg 合金製インプラントの生体への影響を評価すること。

【方法】12 週齢の日本白色家兎の両大腿骨遠位に Mg 合金スクリュー (径 2.6mmx10mm 長) を挿入し、術後 3, 6, 9 週後に検体を採取した (各週 n=3)。以下の評価を行い、経時的変化を調査した。

- ① 放射線学的評価；X 線、 μ CT により、スクリュー周囲の経時的な挙動を観察した。
- ② 組織学的評価；大腿骨骨幹端部に埋植した検体の内、術後 3 週の 2 検体、9 週の 3 検体について、非脱灰研磨標本を作成しトルイジンブルー染色にて顕微鏡下に観察し、スクリューの分解程度、スクリュー周囲の炎症状態、周囲骨との固着およびガスキャビティ、骨細胞の壊死について定性評価した。(0-5 点のグレード付け (数値が大きい程重度) を行った。)

【結果】

- ① 放射線学的評価；個体差はあるものの、3 週時ではスクリュー周囲にガスキャビティと考えられる透亮像を認めた。透亮像は経時的に減少し、スクリューと骨が直接連続する領域が拡大した。スクリューの分解は 3, 6 週でごく一部に散見され始め、9 週時は全ての検体でスクリューの 2-5 割程度が分解された。スクリュー全体で一塊に分解が進行する訳ではなく、虫食い状に部分的な反応であった。
- ② 組織学的評価；術後 3/9 週の順に、スクリューの分解程度 $1.5 \pm 0.7 / 3.0 \pm 1.0$ 、スクリュー周囲の炎症状態 0/0、周囲骨との固着 $0.5 \pm 0.7 / 2.3 \pm 0.6$ 、ガスキャビティ $3.5 \pm 0.7 / 1.0 \pm 0.0$ 、骨細胞の壊死 0/0 であった。

【考察】懸念された水素ガスは術後 3 週で確認されたが、術後 6 週、9 週と経過するにつれて消失傾向にあった。ガスキャビティ周辺では骨形成が旺盛に生じており、9 週時には、開発コンセプト通り、スクリューが直接骨組織と連続し固着している所見やスクリューが分解され周囲骨組織へ置換される所見が確認された。各観察時点において、炎症性細胞浸潤等の所見はなく、また、家兎の健康状態が支障ないことより、Mg 合金製スクリューは安全性上の懸念は低いと考えられた。

海外では、マグネシウム合金製インプラントの実用化に至っている事例も散見されており、これまでの非吸収性金属インプラントや PLLA 製の吸収性インプラントとは体内挙動の異なるモダリティとして、今後の展開が期待される。

【結論】Mg 合金製スクリューは開発コンセプト通りの生分解性・骨形成能を有しており、本研究結果では安全性上の懸念は低いと考えられた。マグネシウム合金製インプラントは、これまでの非吸収性金属インプラントや PLLA 製の吸収性インプラントとは体内挙動の異なる次世代インプラントとして、今後の展開が期待される。

γ線最終滅菌した FGF-2 リン酸カルシウム含有コーティング インプラントに対する骨組織反応

¹筑波大学医学医療系整形外科、²産業技術総合研究所健康医工学研究部門、
³茨城県立医療大学整形外科

十時靖和¹、安永茉由²、小林文子¹、松本佑啓¹、○野口裕史¹、岡野英里子¹、
柳澤洋平¹、六崎裕高³、十河友²、伊藤敦夫²、山崎正志¹

【背景・目的】我々は脊椎インプラントの術後のゆるみを低減させるため、骨形成能を有する線維芽細胞増殖因子 (FGF-2) と骨伝導性を有するリン酸カルシウム (CP) を共沈によりチタン表面にコーティングする技術を開発し椎弓根スクリューに臨床応用した。また、最近このコーティングをγ線滅菌しても高度に FGF-2 の *in vitro* 生物活性を維持できる手法を構築した (γFGF-2-CP コーティング)。最終滅菌できれば高コストな無菌製造を避けられるが、滅菌による FGF-2 の変性で期待する効果を発揮できない可能性がある。そこでγFGF-2-CP コーティングに対するラットでの骨形成と組織反応を検討することを目的とした。

【方法】長径 5mm 幅 3.5mm 厚さ 1mm のアパタイトバーホールボタンに FGF-2-CP 又は CP をコーティング後、25kGy でγ線滅菌して (γFGF-2-CP 群、γCP 群) 盲検化した。Wistar ラット (雄、8 週齢、各群 12 匹) の頭蓋骨に直径 5mm の骨孔を形成し、バーホールボタンを埋入した。埋入 4w 後に脱灰標本 (HE 染色) を作製して骨形態計測と組織学的評価を行った。

【結果】骨孔とバーホールボタンの隙間の新生骨量は、γCP 群に比較してγFGF-2-CP 群のほうが多かった ($p < 0.05$)。バーホールボタン表面に骨伝導した個体の割合も、γCP 群に比較してγFGF-2-CP 群のほうが高かった ($p < 0.05$)。

【考察】先行研究ではγ線滅菌後も *in vitro* で FGF-2 の細胞増殖活性を維持できることを見出したが、*in vivo* での骨形成促進作用を維持できるか否か不明であった。本研究では、γ線滅菌した FGF-2-CP コーティングでラットの骨形成を促進できることが示唆された。

【結論】FGF-2-CP コーティングはγ線滅菌後も骨形成促進作用を有する。

一般演題(ポスター)

外科手術後の癒着防止を可能にする疎水化タラゼラチン粒子の開発

¹筑波大学大学院 数理物質, ²物質・材料研究機構
 ○伊藤 椎真^{1,2}, 長坂 和寛^{1,2}, 西口 昭広², 田口 哲志^{1,2}

【緒言】術後癒着は、外科手術後に創傷部と他の臓器が接着する合併症の一つである。術後癒着の発生率は 90%を超えるとされており、腸閉塞や不妊症につながるリスクがある。この術後癒着は、創傷部から増殖するフィブリンが周囲の臓器に結合することで発症と言われており、癒着を防止するため、創傷部と周辺組織・臓器とを隔てる物理的バリアが使用されている。これまでに、溶液状、シート状、ハイドロゲル状の癒着防止剤を物理的バリアとして使用する例が報告されているが、水中安定性、操作性、1 成分系、癒着防止能のすべてを満たす癒着防止剤の報告は僅かである。そこで本研究では、湿潤生体組織上で生じる疎水化タラゼラチン粒子の自己組織化現象を活用した癒着防止効果について報告する¹。

【実験】疎水化ゼラチンであるデシル化タラゼラチン(C10-ApGltN)は、タラゼラチンを 2-ピコリンボラン存在下でデカナールを反応させることにより合成した²。得られた C10-ApGltN を用い、コアセルベーション法、凍結乾燥および熱架橋によって疎水化タラゼラチン粒子(C10-MPs)を調製した。得られた C10-MPs をブタ胃漿膜組織上で水和させ、形成するコロイドゲルの接着強度(ASTM F2258-05 に準拠)を経時的に測定することで ex vivo で癒着防止能を評価した。さらに、コロイドゲルの水中安定性、組織追従性の評価を行った。また、ラット盲腸-腹壁欠損癒着モデルを用いた C10-MPs の癒着防止効を癒着スコアに従って評価した。

【結果と考察】作製した C10-MPs は $2.6 \pm 1.1 \mu\text{m}$ の平均粒子径を有し、スプレーデバイスを用いて患部へのスプレー噴霧が可能であった。湿潤生体組織に散布した C10-MPs は、水和することのみにより粒子間が物理的に架橋したコロイドゲルを形成した。組織上に形成したコロイドゲルを生理食塩水中に 2 日間浸漬させたところ、C10-MPs コロイドゲルは組織と疎水性相互作用を形成することで安定して組織に接着し続けることが確認された。ブタ摘出胃漿膜組織に対する C10-MPs のコロイドゲル層は、水和時間とともに他の漿膜組織との接着強度が減少し、30 分以内に接着性を示さなくなることが明らかとなった。これは、水和時間の増大によって形成するコロイドゲル表面の水和層によって他組織との疎水性相互作用の形成が抑制されたためだと推察される。ラット盲腸-腹壁欠損癒着モデルによる評価において、C10-MPs 適用群は、コロイドゲルが創傷を被覆するとともに物理的バリアとして機能することで、未処置群と比較して腹壁と盲腸との癒着を有意に抑制することが明らかとなった(Fig. 1)。以上の結果から、C10-MPs はデバイスからのスプレー噴霧、自己組織化による安定なゲル形成、生体内における物理的バリアの形成を実証したため、術後癒着防止材として有用であることが明らかとなった。

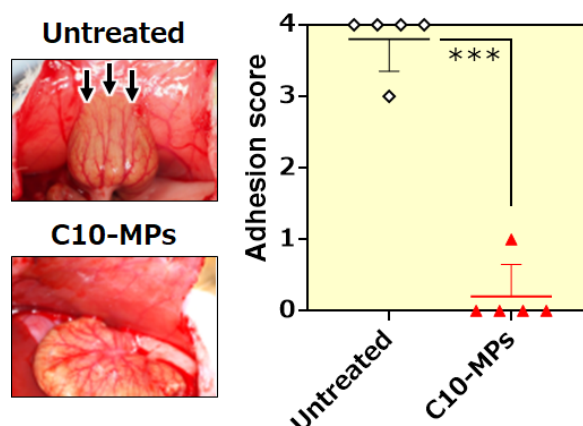


Fig. 1 Prevention of postoperative adhesion by C10-MPs colloidal gel using the cecum-abdominal wall defect model of rat. *** $p < 0.001$, a significant difference between untreated and C10-MPs group. Details of adhesion score: 0. No adhesion, 1. Mild adhesions, 2. Localized moderate adhesions, 3. Moderate and wide adhesions, 4. Severe adhesions, impossible to separate. Black arrows: Adhesion sites.

【参考文献】

1. S. Ito, K. Nagasaka, A. Nishiguchi, T. Taguchi, *Acta Biomater.*, **2022**, 149, 139-149.
2. S. Ito, A. Nishiguchi, F. Sasaki, H. Maeda, M. Kabayama, A. Ido, T. Taguchi, *Mater. Sci. Eng. C*, **2021**, 123, 11199.

低膨潤外科用シーラントの設計と脳硬膜閉鎖能の評価

¹筑波大院 数理解物質, ²物材機構 機能性材料研究拠点

○小松ひより^{1,2}、渡邊志春²、長坂和寛^{1,2}、伊藤椎真^{1,2}、西口昭広²、田口哲志^{1,2}

【背景】

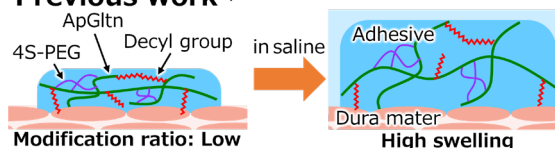
脳腫瘍摘出等の開頭手術後の硬膜閉鎖は、縫合による閉鎖後、吻合部からの髄液漏出防止のために接着剤が使用されている。既存の接着剤は一定の脳硬膜閉鎖能を有するが、閉鎖後に接着剤硬化物が膨潤するため、頭蓋内圧の亢進につながる。そのため、脳硬膜を閉鎖することに加え、生理的環境においても硬化物が膨潤しない特性を持った接着剤が求められている。これまで我々はスケトウダラ由来ゼラチン(ApGltN)に種々の疎水基を導入した疎水化タラゼラチンとポリエチレングリコール系架橋剤(4S-PEG)から構成される外科用接着剤を開発し、導入した疎水基が効率的に膨潤組織での接着性を向上させることを明らかにした[1]。一方で高い疎水基導入率においては、疎水基間の自己組織化による接着強度の低下が観察されることも明らかにしている[2]。

そこで本研究では、 α -シクロデキストリン (α -CD) の分子包接能に着目し、ApGltN にデシル基を高導入した C10-ApGltN に α -CD を添加した包接ポリマー(α -CD/C10-ApGltN)を調製し、4S-PEG と組み合わせることによる 2 成分系接着剤を設計した。得られる α -CD/C10-ApGltN 溶液の粘度、接着剤硬化物の膨潤変化率、耐圧強度および細胞親和性について評価した。

【実験】

C10-ApGltN は ApGltN に含まれるリジン残基にデカナールを反応させ Schiff 塩基とした後、2-ピコリンボランにより還元することで合成した。C10-ApGltN と α -CD を緩衝液に加温しながら溶解することで α -CD/C10-ApGltN を調製し、4S-PEG と in situ 架橋することで接着剤を調製した。接着剤の膨潤変化率は、ディスク状に形成した接着剤硬化物を生理食塩水中に浸漬することで評価した。また、耐圧強度はコラーゲンケーシングおよびブタ脳硬膜を用いて ASTM F2392-04 規格に従い評価した。

Previous work^{1,2}



This work

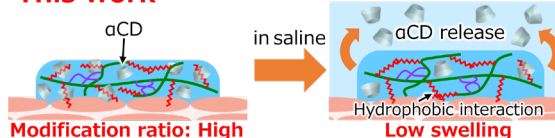


Fig.1 Inhibition of swelling of cured α -CD/C10-ApGltN adhesive in water environment.

【結果・考察】

C10-ApGltN 溶液の粘度は、 α -CD /デシル基のモル比を増加させることにより減少した。これは、Ap-GltN に導入したデシル基が α -CD によって包接され、デシル基間の疎水性相互作用が阻害されたことに起因すると考えられた。一方生理食塩水中に浸漬後の α -CD/C10-ApGltN 接着剤硬化物は、Org-ApGltN および既存の脳硬膜用接着剤と比較して有意に低い膨潤変化率を示した。また、 α -CD/C10-ApGltN 接着剤は、Org-ApGltN およびフィブリン系接着剤と比較して有意に高い耐圧強度を示した。 α -CD/C10-ApGltN 接着剤の低膨潤特性と高い接着強度は、生理食塩水中において α -CD が放出され、デシル基間の疎水性相互作用による自己組織化（物理架橋形成）が促進されたことに起因すると考えられた。

以上の結果より、 α -CD/C10-ApGltN 接着剤は、脳硬膜を閉鎖する接着剤として有用であると考えられる。

Org-ApGltN	α CD/ C10-ApGltN	Commercial adhesive
Adhesive Dura mater		
46.8±17.2 mmHg	92.9±17.4 mmHg	108.8±32.5 mmHg

Fig.2 Sealing of dura matter using Org-ApGltN α -CD/C10-ApGltN and commercial adhesives.

【参考文献】

- [1] Mizuno, Y.; Mizuta, R.; Hashizume, M.; Taguchi, T. Biomater Sci, **2017**, 5, 982.
[2] Mizuta, R.; Ito, T.; Taguchi, T. Colloids Surf B, **2016**, 146, 212.

大動脈吻合部血液漏れ防止のための カテコール基導入タラゼラチン接着剤の開発

¹筑波大学大学院・数理物質科学研究群、²物質材料研究機構、³東京理科大学・理学部

○長坂和寛^{1,2}、渡邊志春²、伊藤椎真^{1,2}、西口昭広²、大塚英典³、田口哲志^{1,2}

【目的】外科用接着剤は肺欠損部からの空気漏れ防止や血管吻合部からの血液の漏れ防止を目的として数種類が臨床で使用されているが、いずれも組織接着性と生体親和性の両立に課題があり、両者を兼ね備えた接着剤が望まれている。このような臨床の課題を解決するため、先行研究では、低温流動性を有するスケソウダラ由来ゼラチン(ApGln)にアルキル基やコレステリル基を導入した疎水化 ApGln を合成し、これを用いた接着剤が肺や大腸に対して優れた接着強度と生体親和性を示すことを明らかにしている。¹しかしながら、大動脈等の高い圧力のかかる組織に対しては更なる組織接着性の向上や膨潤性の低減が必要であった。一方、ムール貝は水中においても様々な基盤に対して高い接着強度を示し、そのキー分子はカテコール基であることが報告されている。²そこで本研究では、ApGln にカテコール基を導入したカテコール基導入タラゼラチン(Cat-ApGln)を合成した。また、得られた Cat-ApGln およびポリエチレングリコール系架橋剤(4S-PEG)から成る 2 成分系の外科用接着剤を調製し、組織接着性および生体親和性について評価した。³

【方法】Cat-ApGln は、還元的アミノ化法により合成した(Fig. 1)。カテコール基の導入率は TNBS 法により算出し、FT-IR 及び ¹H-NMR によりカテコール基の導入を確認した。接着剤は Cat-ApGln と 4S-PEG を in situ 混合することで調製した。湿潤組織接着性は、ブタ大動脈を用いた耐圧強度試験(ASTM F2392-04)によって評価した。生体親和性及び生分解性は、ラットの背部皮下に接着剤硬化物を埋入し、一定期間後に取り出して観察することで評価した。

【結果と考察】Cat-ApGln はすべて 90%以上の収率で合成され、残存アミノ基定量法で算出した導入率は 5~35 mol%であった。FT-IR の結果より 3285 cm⁻¹ に第二級アミンのピークの増加が認められ、¹H-NMR の結果より 6.8-7.0 ppm にカテコール基の芳香環由来のピークが認められたことから、ApGln のアミノ基へのカテコール基の導入が確認できた。一方、ブタ大動脈に対する耐圧強度試験では、導入率 8 mol%の Cat-ApGln(8Cat-ApGln)接着剤が最大の耐圧強度(174.8 mmHg)を示した。この値は未修飾のタラゼラチン(Org-ApGln)接着剤や市販のフィブリン系接着剤の耐圧強度と比較して、それぞれ 2.3 倍、3.9 倍以上であり、正常なヒトの平均収縮期血圧(127.0 mmHg)⁴と比較しても高いという結果となった(Fig. 2)。8Cat-ApGln 接着剤は、導入したカテコール基が分子内外で物理及び化学架橋を形成したことにより、高い耐圧強度を示したと考えられる。一方、ラット皮下に埋入した 8Cat-ApGln 接着剤は、過度な炎症を誘発することなく 56 日以内に完全に分解され、高い生体親和性と生分解性を有することが明らかになった。

以上の結果より、新たに設計した Cat-ApGln 接着剤は大動脈に対する高い接着強度と生体親和性を併せ持つことから、大動脈手術の吻合補助剤として利用できる可能性が示唆された。

【参考文献】

1. R. Mizuta, et al, *Macromol Biosci*, **2017**, 17, 1600349.
2. H. G. Silverman, et al, *Mar Biotechnol*, **2007**, 9, 661-681.
3. K. Nagasaka, et al, *Colloids Surf. B*, **2022**, 220, 112946.
4. B. Zhou, et al, *Lancet*, **2017**, 389, 37-55.

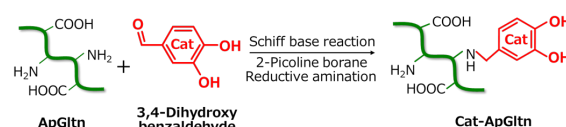


Fig. 1. Synthesis of Cat-ApGln.

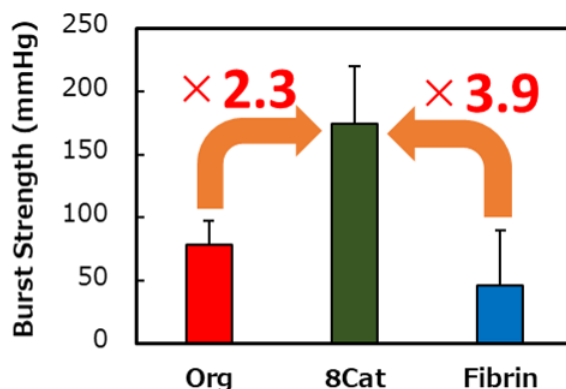


Fig. 2 Burst strength of Org-ApGln, Cat-ApGln and Fibrin adhesives for sealing a porcine aorta.

抗炎症治療を目指した人工アポトーシス細胞の開発

物材機構機能性¹・筑波大院数理物質²・東理大院先進工³

○松本峻輔^{1,2}・荏原充宏^{1,2,3}

＜緒言＞慢性炎症が引き起こす疾患の死亡率は50%以上に昇り^[1]、過剰な炎症反応を制御する治療法の開発が急務である。近年、アポトーシス細胞が持つ免疫寛容効果が注目を集めている。アポトーシス細胞は、通常膜内部に存在するPhosphatidylserine (PS)を表面に露出し、免疫細胞がPSを認識することで炎症性のフェノタイプ(M1型)から抗炎症性のフェノタイプ(M2型)に変化し、抗炎症サイトカインが放出される^[2]。当研究室ではPSを表面に有する粒子の作製に成功し、炎症性サイトカインの抑制効果を報告した^[3-4]。しかし、PSは免疫細胞による貪食を誘導し^[5]、炎症部で適切な治療が行えない懸念がある。そこで炎症部では代謝の影響から弱酸性条件に傾くことに注目し、外部pH変化を利用した粒子の表面制御を考えた。本研究では炎症部でのpH低下に応答し、炎症を抑制可能な新規高分子の作製を目指す(Fig. 1)。

＜実験方法＞先行研究よりbutyl methacrylate (BMA)、2-hydroxyethyl methacrylate (HEMA)及び2-methacryloyloxyethyl phosphorylserine (MPS)の共重合体poly (BMA-co-HEMA-co-MPS)とpolyethylene glycol monomethyl ether (mPEG)-benzaldehydeを合成した^[3,6]。続いて、シッフ塩基結合の形成によりpoly [BMA-co-HEMA-co-(MPS-g-mPEG)]を合成し、透析法で自己会合型粒子(PEG-PS particles)を作製した後、dynamic light scattering (DLS)によりpH応答性の評価を行った。最後にenzyme-linked immuno-sorbent assay (ELISA)によってmacrophage (RAW-BlueTM cells)における抗炎症効果の検証を行った。

＜結果及び考察＞¹H nuclear magnetic resonance (¹HNMR)とgel permeation chromatography (GPC)による解析から、poly[BMA-co-HEMA-co-(MPS-g-mPEG)]の合成が確認された。続いて、macrophageによるPEG-PS particlesの取り込み挙動を共焦点レーザー顕微鏡で観察した結果、PEG-PS particlesはPEG未修飾のPS particlesと比較して、取り込みを抑制していることを確認した。これはPEG-PS particles表面に存在しているPEGによってPSレセプターによる認識を回避したためと考えられ、中性環境下では免疫細胞による貪食を回避可能であることが示唆された。また、DLSによる解析からpHの低下により粒径とZeta potentialの変化が確認され、pH変化をトリガーとした表面構造の制御が可能であると考えられた。抗炎症評価ではpH 7.4 PBSに浸漬させた粒子と比較して、pH 6.5リン酸緩衝溶液に浸漬させた粒子による有意な炎症抑制が確認された(Fig. 2)。これはpH 6.5環境下でシッフ塩基が切断され、macrophageが露出したPSを認識したためと考えられる。これより、本研究の粒子は弱酸性環境下で抗炎症効果を発揮することが示唆され、より安全で効果的な抗炎症治療を実現する有用な材料として期待できる。

＜参考文献＞[1] D. Furman, *et al.*, *Nat. Med.*, **2019**, 25, 1822-1832. [2] R. E. Voll, *et al.*, *Nature*, **1997**, 390, 350-351. [3] Y. Nakagawa, *et al.*, *ACS Biomater. Sci. Eng.*, **2019**, 5(11), 5705-5713. [4] Y. Nakagawa, *et al.*, *ACS Macro Lett.*, **2022**, 11, 270-275. [5] B. Frey and U. S. Gaip, *Semin. Immunopathol.*, **2011**, 33, 497-516. [6] W. Park, *et al.*, *J. Nanomater.*, **2016**, 2016, Article ID 3739723.

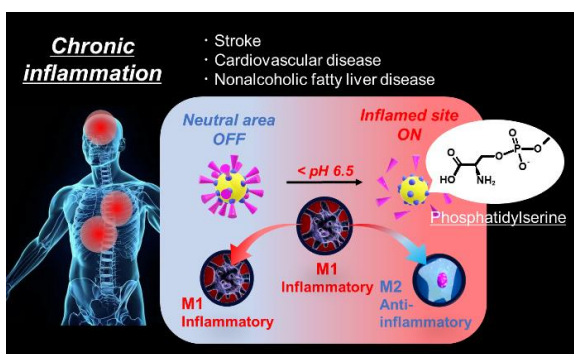


Fig. 1 Conceptual image of anti-inflammatory therapy using pH-responsive anti-inflammatory polymer.

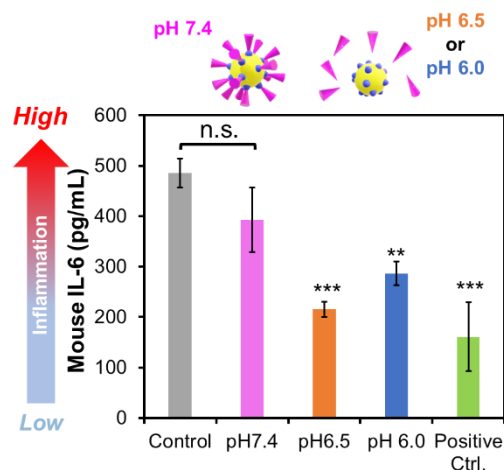


Fig. 2 IL-6 production levels by Raw BlueTM cells treated with PEG-PS particles (n = 3, ** $p < 0.01$ and *** $p < 0.001$ against control)

ヘパリン-FGF-2-リン酸カルシウム複合層の成膜と *in vitro* 生物活性評価

¹産業技術総合研究所健康医工学研究部門, ²産業技術総合研究所バイオメディカル研究部門

³筑波大学医学医療系整形外科

○安永茉由¹, 十河友¹, 室富和俊², 廣瀬志弘¹, 山崎正志³, 伊藤敦夫¹

【緒言】骨固定術では、骨粗鬆症や隙間感染等による骨固定用インプラントのゆるみが課題である。本課題を解決するために、我々は骨形成や細胞増殖を促す線維芽細胞成長因子-2 (FGF-2) と骨伝導性を有するリン酸カルシウム (Cp) の共沈により、インプラント表面にコーティングする技術 (FGF-2-Cp コーティング) を開発した。FGF-2-Cp コーティングの効能を検証した結果、動物モデルにて有効性を示したものの、臨床応用へと展開する上で生物活性の向上が必要となった。本研究では FGF-2 活性を制御することが知られているヘパリンを FGF-2-Cp コーティングに混合し、ヘパリンによる複合層形成や生物活性への影響について検証した。

【実験】FGF-2 (4 µg/ml) および低分子ヘパリン (0, 0.04, 0.4, 4 IU/ml) を添加した CaP 過飽和溶液 (コーティング溶液) に 3 mol% イットリア安定化正方晶ジルコニア多結晶体 (3Y-TZP; 直径 29 mm, 厚さ 2 mm または 2.4 mm × 幅 21 mm × 厚さ 2.4 mm) を 37 °C で 24 時間浸漬し、ヘパリン-FGF-2-Cp コーティングを行った。3Y-TZP 表面上に形成された複合層の特性を解析するため、形態観察および元素分析は SEM-EDX で、結晶構造解析は XRD で行った。また複合層は 10 mM クエン酸ナトリウム溶液で溶解した後、複合層中の Ca、P 量は ICP で、FGF-2 量はウエスタンブロットで、ヘパリン量は抗 Xa 活性キットを用いて定量した。複合層の *in vitro* での生物活性評価のため、溶解液を用いて、NIH3T3 細胞または HUVEC 細胞での細胞増殖評価、HUVEC 細胞での管腔形成評価、MG63 細胞での FGF-2 誘導性の骨分化関連遺伝子の発現評価を行った。またコーティング溶液中でのヘパリンの FGF-2 安定性への影響を検証するため、37 °C で 6 または 24 時間後のコーティング溶液中の残存 FGF-2 量を ELISA で測定した。

【結果と考察】3Y-TZP 表面上に形成された複合層は、コーティング溶液中のヘパリンの有無に関わらず、Ca を含む連続的かつ均一な層と 500 nm 以下の粒子から成り、非晶質 CaP であることを明らかにした。複合層の溶解液中の Ca、P 量を定量したところ、コーティング溶液中のヘパリン濃度増加に伴う Ca、P 量の減少傾向がみられたものの、有意な差はなかった。一方、FGF-2、ヘパリンは溶解液中で検出され、コーティング溶液中のヘパリン濃度増加に伴い、有意に増加した。これより 3Y-TZP 表面上でのヘパリン-FGF-2-CaP 複合層の形成に成功し、コーティング溶液中のヘパリンは複合層中の FGF-2 量を増加させることを明らかにした。次に複合層の溶解液を用いて、生物活性評価を行ったところ、コーティング溶液中のヘパリン濃度増加に伴い、細胞増殖活性や管腔形成率の増加、FGF-2 誘導性の骨分化関連遺伝子の発現変動が観察された。またコーティング溶液中の残存 FGF-2 量を定量したところ、コーティング溶液中のヘパリン濃度増加に伴って、残存 FGF-2 量が有意に増加した。以上よりヘパリンはコーティング溶液および複合層中の FGF-2 の安定性を高める可能性があり、ヘパリン-FGF-2-CaP 複合層の生物活性の向上に寄与することを明らかにした。

【参考文献】M. Yasunaga, et al., "The enhancing effects of heparin on the biological activity of FGF-2 in heparin-FGF-2-calcium phosphate composite layers", *Acta Biomaterialia* (2022) Aug;148:345-354.

演題発表に関連し、発表者らに開示すべき COI 関係にある企業等はありません。

Enhancing effects of heparin on biological activity of FGF-2 in heparin-FGF-2-calcium phosphate composite layers

Mayu Yasunaga¹, Yu Sogo¹, Kazutoshi Murotomi², Motohiro Hirose¹, Masashi Yamazaki³, Atsuo Ito¹

¹ Health and Medical Research Institute, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST)

² Biomedical Research Institute, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST)

³ Department of Orthopaedic Surgery, Faculty of Medicine, University of Tsukuba

Tel: +81-087-869-4218, Fax: +81-029-861-6149, E-mail: m-yasunaga@aist.go.jp

Chitosan based antimicrobial coating strategy for Ti6Al4V based orthopedic implants

^{1,2}*Bhardwaj, Aman., ¹Yamamoto, Akiko., ²Pandey, Lalit Mohan.

¹*Research Center for Functional Biomaterials, National Institute for Materials Science,*

²*Department of Biosciences & Bioengineering, Indian Institute of Technology, Guwahati*

Sedentary lifestyle and growing old population have increased bone related ailments in the modern era. Moreover, unhealthy lifestyle has compromised human immunity, leading to the increased chances of the microbial infections. These pathogens might also reach out the implantation site and initiate the colonization cascade, leading to the biofilm formation in the extreme case. For the infection eradication, high antibiotic dosage is administered with implant replacement being the last resort. Implant replacement strategy is also susceptible to the loop holes, as some pathogens might escape the eradication and reinitiate the colonization on the newly implanted material. Research in this direction involves imparting the antimicrobial features to the implant surface, thus eliminating the need of external administration of the antibiotics [1,2].

Keeping this objective in mind, our work targets the fabrication of the chitosan nanoparticles on the surface of the Ti6Al4V model implant. Chitosan is antimicrobial in nature due to the polycationic nature and offer the ease of tunability as the drug loading vehicle or conjugation framework for the various functional moieties on the surface. Chitosan also exhibit mucoadhesive nature, biocompatibility, and easy synthesis. The aim of our research is to impart the antimicrobial feature to the Ti6Al4V surface via silane mediated coupling of the antibiotic encapsulated chitosan nanoparticles (NPs) to prevent the pathogen colonization of the surface.

Ionotropic gelation method was used for the stabilization and synthesis of the chitosan NPs (HMW & LMW) using sodium tripolyphosphate as the polyanion. Dynamic equilibrium state of the fabricated NPs was addressed using glutaraldehyde as crosslinker to permanently retain the NPs in the reaction conditions as confirmed by the intrinsic fluorescence of the Schiff base formed. Mild synthesis conditions were optimized using sodium acetate (0.05M) and acetic acid (final conc. 0.02M) to carry out the NPs fabrication under the stable pH 5. We achieved two types of NPs for each chitosan precursor based on the parameters tunability. Chitosan NPs formation efficiency of ~35% was achieved by optimizing the downstream processing. Successful crosslinking was confirmed by the FTIR analysis. Size and shape of the formed NPs was confirmed by the DLS measurement and FESEM analysis as ca.200 and ca.300 nm for LMW and HMW chitosan, respectively. Ampicillin was used as the model antibiotic and investigated for the immobilization capability of the fabricated NPs. Ampicillin was successfully encapsulated inside the NPs with the loading efficiency of 77.4% (LMW NPs) and 69.90% (HMW NPs) as optimized by tuning the loading parameters.

Our strategy provides a benign approach to address the microbial susceptibility of the implant surfaces along with tunable drug release kinetics strategy.

Reference:

- [1] Bhardwaj, A. and Pandey, L.M., 2022. Design of antibiofilm surfaces by immobilization of biogenic silver nanoparticles on amine self-assembled monolayers. *Materials Letters*, 311, p.131574.
- [2] Bhardwaj, A. and Pandey, L.M., 2022. Biomaterials: Types and Applications. In *Nanoscale Engineering of Biomaterials: Properties and Applications* (pp. 89-114). Springer, Singapore.

サイトカインストームの抑制を目指した 新規抗体-ポリマー複合体 (APC) の作製

¹物質・材料研究機構 機能性材料研究拠点、²筑波大学大学院 数理工学科学研究群、

³東京理科大学大学院 先進工学研究科

○岩瀬 大周^{1,2}、松本 峻輔^{1,2}、Ahamed Nabil¹、荏原 充宏^{1,2,3}

1. 緒言

ウイルス感染に伴う致死的な急性呼吸促迫症候群 (ARDS) の主な原因はサイトカインの過剰な産生状態 (サイトカインストーム) によるものと考えられている^[1]。現在の治療法としてステロイド薬や抗体医薬を用いた薬物療法が行われているが副作用の面から新規治療法が求められている。本研究室では、生体内で恒常的に行われているアポトーシス細胞の免疫寛容効果に注目し、アポトーシス細胞膜模倣ポリマー (2-methacryloyloxyethyl phosphorylserine; MPS) を開発し、細胞傷害性を持たない免疫寛容効果を報告してきた^[2]。本研究では炎症性サイトカインに対する中和抗体に着目し、抗体と MPS との相乗効果を狙った、抗体-ポリマー複合体 (Antibody-Polymer Conjugate; APC) の開発を目指す (Fig. 1)。特に本研究では、IgG に対する MPS の修飾法について報告する。

2. 実験

ホスホロアミダイト法により、2-hydroxyethyl methacrylate (HEMA) と MPS の共重合体である poly (HEMA-co-(*t*-BuO/Boc)MPS) を合成した^[3]。合成したポリマーの構造解析結果から PS の導入率を評価した後、PS の保護基を脱保護することで poly (HEMA-co-MPS) を合成した。さらに、合成した poly (HEMA-co-MPS) と抗体をカップリング反応によって APC の作製を試みた。

3. 結果・考察

¹H-nuclear magnetic resonance (¹H-NMR) による構造解析結果から PS が持つ保護基 (*t*-BuO/Boc) に由来するピーク (1.1 ppm) が確認され、poly (HEMA-co-(*t*-BuO/Boc)MPS) の合成を確認した。さらに脱保護後、1.1 ppm 付近のピーク

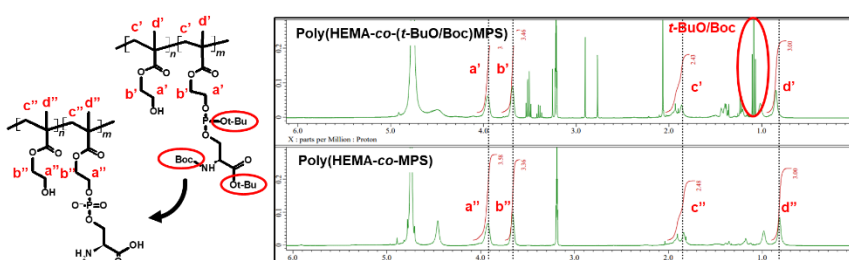


Fig. 2 ¹H-NMR spectra of polymers.

が消失したことで、脱保護の成功も確認した (Fig. 2)。さらに、GPC による分子量解析から重合反応後の分子量増加やフルオレスカミンによる第一級アミンの定量分析から PS 基に含まれる第一級アミノ基が検出され、poly (HEMA-co-MPS) の合成を確認した。カップリング反応を用いた抗体との結合後、ポリアクリルアミド電気泳動法 (SDS-PAGE) による分子量解析を試みた。今後は、マクロファージを用いた in vitro 試験より、ポリマーと抗体-抗炎症ポリマー複合体の抗炎症性評価や取り込み挙動を調べる。さらに、ポリマーの分子量やリンカーの種類などのパラメータを変えることによる抗炎症挙動を詳しく調査する。

4. 参考文献

[1] M. Mahmudpour, *et. al.*, *Cytokine*, **2020**, 133, 155151, [2] Y. Nakagawa, *et al.*, *ACS Macro Lett.*, **2017**, 6, 9, 1020-1024, [3] Y. Nakagawa, *et al.*, *Polymer*, **2018**, 134, 85-93

Composite scaffolds of gold nanoparticles and doxorubicin-loaded thermosensitive liposomes for cancer therapy

^{1,2}*Huajian Chen, ^{1,2}Rui Sun, ^{1,2}Jing Zheng, ¹Toru Yoshitomi, ¹Naoki Kawazoe, ^{1,2}Guoping Chen.

¹ National Institute for Materials Science, ² Graduate School of Pure and Applied Sciences, University of Tsukuba.

[Introduction]

Breast cancer is one of the major lethal diseases. Surgery is usually used for breast cancer treatment. However, residual breast cancer cells and large defects are the main limitations for surgical resection. Therefore, synergistic therapy has been developed as an effective strategy for breast cancer therapy, especially the combination of photothermal therapy (PTT) and chemotherapy. In this study, composite scaffolds were prepared by hybridizing doxorubicin-encapsulated thermosensitive liposomes and gold nanorods into porous scaffolds of gelatin and polyglutamic acid (Dox-lipo/AuNR/Gel/PGA). The composite scaffolds had a synergistic effect of photothermal therapy and chemotherapy. In addition, the composite scaffolds could support the proliferation of stem cells after treatment.

[Experiments]

Firstly, gold nanorods with 70 nm in length were synthesized based on a seed-growth method. Secondly, the doxorubicin-encapsulated thermosensitive liposomes were prepared by thin-film hydration method. Composite scaffolds of gold nanorods, folic acid-functionalized gelatin and PGA were prepared by using ice particulates to control the pore structures. Finally, the thermosensitive liposomes were incorporated into the composite scaffolds by the reaction between amino groups on the liposomes and carboxyl groups on the pore surfaces of the scaffolds.

[Results and discussion]

TEM was used to confirm the size and shape of gold nanorods. DLS analysis showed that the sizes of liposomes were well controlled around 200 nm after encapsulation of doxorubicin. Zeta potential showed a reverse surface charge of different liposomes surface after modifying the amino groups. The SEM images showed the composite scaffolds had spherical large micropores with good interconnectivity. The photothermal conversion curves showed the photothermal-induced temperature change of the composite scaffolds could be controlled by irradiation time and laser intensity. The incorporation of liposomes had no effect on photothermal conversion of the composite scaffolds. The release profile of doxorubicin from the composite scaffolds was investigated with or without a periodic near-infrared laser irradiation. The results showed that the cumulative release of doxorubicin after the first cycle of laser irradiation was 6 times higher than that without laser irradiation, and the value was 8 times higher after 7 cycles of laser irradiation. *In vitro* cell culture and *in vivo* animal experiments demonstrated the anti-cancer effect of the composite scaffolds. Furthermore, after complete drug release, the composite scaffolds maintained the high viability of human bone marrow-derived mesenchymal stem cells and promoted cell proliferation. Therefore, the photothermal composite scaffold not only produced synergistic PTT and doxorubicin therapeutic anticancer effects to efficiently kill breast cancer cells in the early stage of treatment but also served as a supporting scaffold to guide new tissue regeneration and recover tissue function in the late stage of treatment.

神経膠芽腫に対し、局所へ持続的に薬物を放出するスマートナノファイバーシステムは、相乗的な併用療法を可能にする

¹筑波大学人間総合科学学術院、²筑波大学・医学医療系・放射線腫瘍科、³筑波大学附属病院・陽子線治療センター、⁴国立研究開発法人物質材料研究機構

○李 宜諾¹、松本 孔貴^{2,3}、陳麗麗⁴、菅原 裕^{1,3}、荏原 充宏⁴、櫻井 英幸^{2,3}

〔背景・目的〕 悪性神経膠芽腫(GBM)は脳腫瘍の中でも最も悪性度が高く、5年生存率は10%以下である。その理由は、外科的に切除できる領域が制限され、腫瘍細胞が摘出部位周辺に残存するため、再発しやすいのが一因である。また、再発した膠芽腫に対する有効な治療法が確立されていない GBM の根治には、原発巣を含め、周囲正常組織に浸潤した多くの腫瘍細胞を死滅させる強力かつ選択的な治療が必要である。一方、多くのがん細胞で過剰発現していることが知られる熱ショックタンパクの一つである Hsp90 (Heat shock protein 90) は、分子シャペロン機能により、がん細胞の生存、分化に関与するだけでなく、放射線、抗癌剤などへの抵抗性を誘導し、治療後の局所再発や遠隔転移にも関与することが知られている。また Hsp90 は GBM の悪性度にも関与しており、Hsp90 阻害剤を併用することで、GBM に対する放射線治療効果を増強する可能性も近年報告されている。本研究では、放射線、抗癌剤、分子標的薬の多剤併用効果を極めて同時かつ遷延的に処理することで、各モダリティで得られる生物効果を最大限に発揮した相乗効果により、GBM の治療効果の向上と再発率の減少を実現する新規治療法の提案を目的とした。〔材料と方法〕 生分解性が高く、バイオメディカル用途に頻用されるポリエステルであるポリカプロラクタン(PCL)で抗癌剤であるテモゾロミド(TMZ)および分子標的薬である Hsp90 阻害剤(17AAG)を含有した PCL-nanofiber mesh を作成した。PCL-nanofiber mesh(PCL-NFM)は、その特性として薬物を長期間に渡り徐放することが報告されており、含有薬剤の持続的作用が期待できる。〔結果〕 透析膜を用いて nanofiber mesh からの薬剤放出量を確認した結果、投与後徐々に放出量が増加し、30 日時点で 40%に到達した。ヒト GBM 由来 T98G 細胞を用い、17AAG および TMZ 単独処理による殺細胞効果を調べた結果、IC50 はそれぞれ 376.4 nM および 659.7 μ M だった。また、両薬剤併用による殺細胞効果は、Combination Index(CI)が 0.599 となり、相乗的であることも明らかとなった。ついで、17AAG または TMZ と X 線を併用した場合の増感効果について調べた結果、濃度及び評価生存率によりそれぞれ 1.12~1.67 または 1.54~1.82 の sensitizer enhancement ratio (SER) を示した。最後に、PCL-NFM による放射線増感効果を調べた。17AAG または TMZ を含有させた 17AAG-NFM および TMZ-NFM では約 10~15%程度の僅かな殺細胞効果しか示さなかったが、それぞれ X 線と併用することで、50%まで殺細胞効果が増強された。さらに、両剤を含有する 17AAG/TMZ-NFM により、単剤含有-NFM に比べ相乗的な効果が確認され(細胞生存率 55%)、その効果は X 線との併用でさらに増強された(細胞生存率 15%)。〔結論〕 これらの結果から、徐放性複合ナノファイバーメッシュ(PCL-NFM)の使用により、抗がん剤、分子標的薬、放射線治療の多剤複合的な治療が、ヒト GBM 由来 T98G 細胞に対して強力な細胞毒性効果と顕著な放射線増感効果をもたらすことを確認した。

Parallel-type guanine-quadruplex structure improves the immunostimulatory effects of phosphodiester-based CpG oligodeoxynucleotides

^{1,2*}Pathak, S., ^{1,2}Yamazaki, T.

¹Graduate School of Life Science, Hokkaido University, Sapporo, Japan, ²Research Center for Functional Materials, National Institute for Materials Science, Tsukuba, Japan

Key words: CpG oligodeoxynucleotides, Guanine-quadruplex, interleukin-6, Serum stability, parallel topology

Synthetic short oligodeoxynucleotides (ODNs) with cytosine-phosphate-guanine (CpG) motifs induce immunostimulatory response via toll-like receptor 9 cascade. Hence, CpG ODNs are promising candidate molecules for oligonucleotide-based therapeutics to eradicate diseases like cancer, allergies and being used as adjuvants for vaccine development. However, non-modified ODNs are susceptible to nuclease degradation making them unstable inside cellular environment and fall short during clinical applications. In this study, we have developed new CpG ODNs forming a parallel-type guanine-quadruplex (G4) structure. With the presence of oligo-guanine in the sequence ODNs fold into a specific non-canonical secondary structure, G4. We predicted that parallel-type G4-CpG ODNs shows superior stability and cellular uptake compared to antiparallel- and hybrid-type G4 due to its small molecular capacity.

First, we designed parallel type G4-CpG ODNs based on previously reported parallel structures. Synthesized parallel-type G4-CpG ODNs have shown significantly higher stability when exposed to serum nuclease than linear CpG ODNs. Parallel-type G4-CpG ODNs have also triggered secretion of interleukin-6 in RAW 264 cells, which results to activation of the immune system. This advancement makes their path closer to be used as adjuvants for the development of vaccines in future.

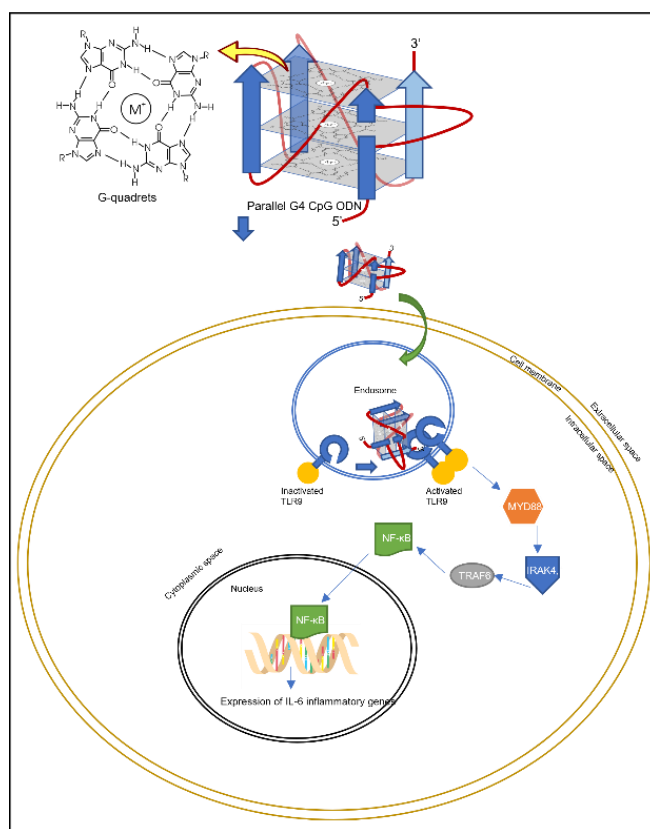


Fig. 1: Activation of immune response by parallel G4 CpG ODNs.

細胞のマルチモーダル造影用金-リン酸カルシウム複合粒子の開発

¹産業技術総合研究所・ナノ材料研究部門
 ○猪瀬 智也¹、中村 真紀¹、大矢根 綾子¹

【緒言】 近年注目されている免疫細胞、脂肪細胞、iPS 細胞等を用いた細胞移植療法において、生体内に移植する細胞の挙動（位置・数）を高感度かつ高精度に可視化する技術（細胞トラッキング技術）は極めて重要である。超小粒径（コア径約 2 nm）金ナノ粒子は、高い X 線吸収能に加えて蛍光能を有するため、体内深部を含む全体像を可視化できる X 線 CT 造影と組織・細胞レベルの高感度観察を得意とする蛍光イメージングの双方に利用可能な細胞トラッキング用マルチモーダル造影剤として有用と期待される。近年、発表者らが合成に成功したグルタチオン修飾超小粒径金ナノ粒子(AuNC)[1]は、高い化学的安定性と腎排泄性を併せ示すことから、長期的な残存による生体への悪影響懸念が少ないと期待される。AuNC による細胞トラッキングを実現するためには、多量の AuNC を分散状態で移植細胞内に導入し、細胞を標識する必要があるが、AuNC の細胞標識能は十分とは言えない。そこで発表者らは、生体親和性・生体吸収性を併せ示し、細胞への遺伝子導入用キャリアとして実績を持つリン酸カルシウム (CaP) 粒子に AuNC を担持・複合化することで、細胞の AuNC 標識・トラッキングが可能になると考えた。本研究では、AuNC を担持・複合化した CaP 粒子（金-リン酸カルシウム複合粒子：Au-CaP 粒子）を作製し、その蛍光能と細胞標識能を評価することを目的とした。

【実験】 共沈法[2]により Au-CaP 粒子の作製を試みた。具体的にはまず、6 種類の医薬品注射液と AuNC（コア径約 2 nm）コロイド溶液[1]を混合し、反応液（Ca: 5.1 mM, P: 2.6 mM, Au: 0.6 mM）を調製した。この反応液を 37℃で 60 分間静置した後、析出物を遠心で洗浄・回収し、試料を得た。比較試料として、AuNC コロイド溶液を含まない反応液を用いて CaP 粒子を得た。得られた試料の構造、組成、粒径、ゼータ（ ζ ）電位および蛍光強度を、透過型電子顕微鏡（TEM）観察、エネルギー分散型 X 線分光法（EDX）、動的光散乱法（DLS）、電気泳動光散乱法（ELS）、蛍光分光法により評価した。細胞標識能は、得られた試料と AuNC 単体をそれぞれマウスマクロファージ様細胞（RAW264.7）に 24 時間暴露した後、細胞を蛍光顕微鏡で観察することにより評価した。

【結果と考察】 TEM 観察の結果、得られた試料はシングルナノメートルサイズの粒子を高密度に担持した球状ナノ粒子であり（図(a)）、EDX 分析において Ca、P、O、Au を含むことが示された。以上の結果、AuNC 無添加の反応液から作製された CaP 粒子（図(b)）との比較により、CaP マトリックス中に AuNC が担持・複合された Au-CaP 粒子が生成したと考えられた。水中での DLS・ELS 測定の結果、Au-CaP 粒子は平均粒径 251 nm、 ζ 電位 -16.6 mV の単分散ナノ粒子であった。一方、CaP 粒子は ζ 電位 1.5 mV の多分散粒子であった（粒子径算出不可）。表面グルタチオンにより大きな負の ζ 電位（-38.1 mV）を示す AuNC が、Au-CaP 粒子に負の ζ 電位を与え、同粒子の分散安定性に寄与したと考えられる。蛍光分析の結果、Au-CaP 粒子は、AuNC 単体の 140 倍もの蛍光強度（570 nm、金元素 1 モルあたり）を示した。CaP マトリックスが AuNC のブラウン運動を制限し、動的消光を抑制したと推定される。細胞の蛍光顕微鏡観察の結果、AuNC 単体は細胞を可視化できなかったのに対し、Au-CaP 粒子は細胞を明瞭に可視化でき、高い細胞標識能を有していることがわかった。

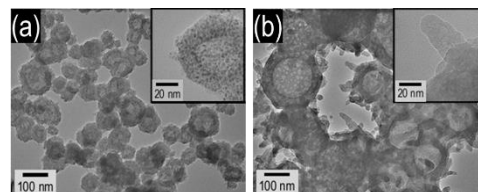


図. 作製した粒子の TEM 像(挿入図: 拡大像)
 (a) Au-CaP 粒子, (b) CaP 粒子

以上、共沈法により多数の AuNC を高密度に担持・複合化した Au-CaP 粒子の作製に成功し、複合化による蛍光能と細胞標識能の向上を確認した。

【参考文献】

[1] T. Inose *et al.*, *Col. Surf. B*, **2021**, 23, 111732. [2] M. Nakamura *et al.*, *Col. Surf. B*, **2018**, 162, 135.

医工融合研究チームによる起立型車椅子 Qolo の開発 ～リハビリテーション科医師の視点から～

¹筑波大学医学医療系リハビリテーション医学、²筑波大学医学医療系サイバニクス医学、³Qolo 株式会社、⁴須磨ユニバーサルビーチプロジェクト、⁵筑波大学システム情報系
○清水如代¹、門根秀樹²、江口洋丞³、佐々木海³、木戸俊介⁴、羽田康司¹、鈴木健嗣⁵

【緒言】

車いすは、下肢機能障害者にとって座位姿勢のまま移動できる優れた機器である。脊髄損傷や脳外傷、脳性麻痺など、様々な疾病、外傷により、起立動作や歩行動作の獲得ができない状況では、車いすを利用した日常生活を構築することになる。車いすにより、“移動能力”という自由を獲得すると同時に、“座位の継続”という制約がかかる。座位の継続は、身体的には、股関節・膝関節の関節拘縮、褥瘡、基礎代謝量の低下などのリスクを伴う。社会的には、起立生活者との間に視線の高さのギャップが生じる。

筑波大学人工知能研究室では、歩行困難な体幹下肢機能障害者に対して、起立動作と着座動作の双方を補助することで、今までの車いすでは実現できなかった立位姿勢での移動をも可能にするパーソナルモビリティ Qolo を開発した。機器開発エンジニア、病院に常駐するエンジニアである医工学研究者、医師、エンドユーザからなる multidisciplinary team で開発し、現在は 2021 年 4 月にスタートした Qolo 株式会社（茨城県つくば市）で商品化に向けて開発を継続している。

【機器紹介】

Qolo は体幹前傾によりばねが膝関節伸展を補助、起立動作を補助する機器である。Qolo 第一世代 (Qolo-1) は、神経学的損傷高位は腰椎レベルを想定されていたが、本機器を対象とする患者は、更に高位での損傷の胸髄損傷者と考えられ、胸髄損傷者を含めて検証を行った。

【臨床研究】

Qolo-1 は、脊髄損傷者 4 名（神経学的損傷高位 T10～L3、ASIA Impairment Scale (AIS) A～C）を対象とし、起立および着座動作を安全にできるか検証した。MMT 股関節伸展が 1 以上、膝関節伸展が 3 以上の症例（L3C、T10C）では、起立・着座動作とも可能であったが、膝伸展筋の MMT が 1 以下の T10A、T11A の計 2 名では、着座は可能であったが起立は困難であった。

本結果を参考に、第二世代 (Qolo-2.0) では、バネを強めるとともに、上肢からの適切な支援を受けられるハンドルを追加し、脊髄損傷者 9 名（神経学的損傷高位 T4～T12、AIS:A）の起立着座動作検証を行った。T5-12 レベルは全例で起立着座動作が可能であり、T4 の一例では硬性コルセットを使用し、起立着座動作が可能であった。

起立動作の意義について車椅子エンドユーザからリスニングしたところ、高所からものを取る、洗車する、買い物するなどの具体的な用途が提示され、Qolo-2.0 を用いてエンドユーザによる検証を行った。（図 1）



（図 1）

【今後の展望】

その後、座位移動のできる第 3 世代の開発に加え、現在は Qolo によって実施できる起立動作に着目し、体幹機能訓練器を開発している。

医療機器開発における医師の役割は、エンドユーザの身体状況、ニーズを理解し、安全を担保しつつ、エンジニア、エンドユーザと連携して、製品の可能性を引き出すことであると考えられる。

A 病院における入院患者の食事摂取状況把握と活用に関する実態調査

¹筑波大学・医学医療系、²三条市立大学・工学部、
³筑波大学附属病院・病態栄養部、⁴神奈川県立保健福祉大学・保健福祉学部
 ○金澤 悠喜¹、加藤 綾子²、岩部 博子³、大場 美穂⁴

【緒言】入院患者の高齢化に伴い、食事摂取状況の把握は、より一層重要になることが考えられる。食事摂取状況のうち食事摂取量は、多くの施設において看護師の目測により日常的に把握され、栄養サポートチーム（Nutrition Support Team：以下、NST と略す。）介入の基準となっている場合もある。病院における常食提供者は 23.5%と少なく（小林他，2013）、多様な形態の食事摂取量を把握することが求められる。しかし、看護師の観察における目測の妥当性に関する研究では、観察物の大きさ、形に影響を受け、大きいものや不定形のものには誤差が大きくなることが報告されている（降矢他，2013）。食事摂取量の把握方法や記録方法は病院によって異なり、より食事の管理が必要となるような病棟や NST 対象患者は把握方法が異なるかなどが、明らかにされていない。そこで、本研究では病院における食事摂取量把握と活用に関する実態調査を行い、食事摂取量把握の現状を明らかにすることを目的とした。病院における食事摂取把握の現状を明らかにすることで、食事摂取把握方法や業務内容の改善および対策の一助となる。

【方法】研究のデザインは、無記名自記式質問紙調査による観察研究である。調査対象機関は、総合病院 1 施設とし、食事を提供が少ないもしくは食事形態が違う、救急、ICU、HCU、小児病棟等を除いた。対象者は、食事摂取量の把握を実施している看護師および看護助手とした。質問紙は、研究者独自で先行研究などを参考に作成した。質問内容は、入院患者の毎食の食事摂取状況の把握方法 11 項目と自由記述、食事摂取量のカルテ記載方法 5 項目、食事摂取量の分類方法 4 項目、補助食品の摂取量記載方法 5 項目、下膳実施回数・人数・時間、食事摂取量の把握の工夫 7 項目、食事摂取量の把握に困りごと 8 項目、食事摂取量以外の把握内容 6 項目、食事摂取量の把握方法に対する気持ち 7 項目 4 件法、食事摂取状況把握方法の改善のための希望を自由記述、属性（職種、経験年数、年齢等）とした。データ収集は、各病棟に質問紙を配布し、回収用封筒に入れてもらった。収集期間は、2022 年 6 月 13 日～7 月 27 日であった。分析方法は、SPSS を用いて、項目ごとに単純集計を行った。自由記述は、質的帰納的に意味内容が変わらないよう注意深く分類した。倫理審査委員会の承認を得ている（R04-010）。本発表では、調査の一部を報告する。

【結果】回収率 42.5%（n=119）であり、欠損 3 件を除き、有効回答率 97.5%（n=116）を分析対象とした。看護師 96.5%、看護助手 3.5%であった。正確に食事摂取状況の把握をする上で工夫している者 30.0%であった。工夫している者のうち、配膳量の記憶をしている 27.0%、患者に確認する 35.0%が多かった。食事摂取状況の判断に困ったことがある者は、9.0%であった。困った項目は、判断しにくい形状の食事形態 72.0%と上位であった。具体的には、ちまきと麺類が一緒に出た場合の主食の判断や、残ったものを 1 つの皿にまとめられた時、看護師によって摂取量の考え方に違いが生じた時、お粥などの水分が多い食事の時であった。摂取量以外に食事から患者情報を得ている者は 9.0%であった。得ている情報は、食欲 83.0%、嗜好 57.0%、咀嚼・嚥下の能力 47.0%であった。現状の食事摂取量把握方法に対する気持ちは、問題ない 92.0%、簡単な方法である 81.1%と多かったが、正確な把握方法ではない 55.0%であった。自由記述では、食事量把握の正確性や時間短縮、個人差がでないような判断基準のマニュアル化などが提案された。

【考察】看護者による食事摂取量状況の把握の実態として、正確に食事摂取量状況の把握する上で工夫をしている者は少なく、現状の方法で困り感も感じていないことが明らかとなった。しかし、少人数ではあるが、工夫をしている者も存在し、患者の食欲や嗜好、嚥下・咀嚼の能力などを把握するなど、患者個人の看護ケアに非常に重要な視点で食事摂取量状況の把握をしていたことが明らかとなった。食事摂取量状況の把握を患者のケアに有効活用するためにも、食事摂取量把握を正確に行うこと及び、その得られた情報から患者の身体面を可視化されるようなシステムにすることが、よりよい看護ケアを提供できることにつながると考えられる。

【結論】食事摂取量状況の把握方法に対して、看護者は特に問題なく行えている実態が明らかとなった。また、食事摂取量状況の把握方法が正確な把握方法であるかの検証を行い、患者の栄養に関する看護ケアをより良く改善できる可能性が示唆された。

ヘパリン担持リン酸カルシウムナノ粒子による 塩基性タンパク質の選択的共担持

¹産業技術総合研究所・ナノ材料研究部門、²産業技術総合研究所・電子光基礎技術研究部門

○中村 真紀¹、分領 和歌子¹、奈良崎 愛子²、大矢根 綾子¹

【緒言】

サイトカイン、抗体、酵素などのタンパク質は先進医療を支えるバイオ医薬品として応用拡大が期待されている。タンパク質の多くは高価で安定性に劣るため、これを効率よく担持し、活性を保持したまま目的の部位に送達できる担体が必要とされている。我々は、これまで、生体親和性に優れるリン酸カルシウムのナノ粒子を担体とする薬物送達研究に取り組んできた[1]。その中で、負電荷を有する薬剤分子であるヘパリンをリン酸カルシウムナノ粒子に担持すると、同粒子のゼータ電位の絶対値が増大し（大きな負のゼータ電位になる）、水中分散性が改善することを見出している[2]。我々は、リン酸カルシウムナノ粒子に担持されたヘパリンが、粒子の分散剤としてだけでなく、静電相互作用により塩基性タンパク質の担持助剤としても機能すると考えた。そこで、本研究では、塩基性あるいは酸性タンパク質とヘパリンを共担持したリン酸カルシウムナノ粒子を合成し、ヘパリンが各タンパク質の担持効率や粒子分散性に与える影響を検討した。

【実験】

塩基性タンパク質としてシトクロム c およびリゾチーム、酸性タンパク質としてアルブミンを用いて検討を行った。まず、カルシウムイオン (40 mM)、リン酸イオン (20 mM)、ヘパリン (1.25 mg/mL)、各タンパク質 (0.5 mg/mL) を含む反応液を調製した。この反応液を 25℃、150 rpm で 24 時間振とう後、析出物を洗浄・回収して試料を得た。また、比較としてヘパリンを添加せずに調製した反応液からも同様に試料を得た。得られた試料の構造・組成・分散性は、走査電子顕微鏡 (SEM) 観察、エネルギー分散型 X 線分光法 (EDX)、紫外可視分光法 (UV)、動的光散乱法 (DLS)、電気泳動光散乱法 (ELS) などにより調べた。また、各タンパク質の担持効率 (試料に担持されたタンパク質量 / 反応液に添加したタンパク質量 × 100 (%)) を算出した。

【結果と考察】

SEM 観察、EDX 分析、UV 測定の結果、ヘパリン添加反応液から得られた試料は、タンパク質とヘパリンを共担持した不定形のリン酸カルシウムナノ粒子であった。これらのナノ粒子は負のゼータ電位を有し (-21 mV)、水に良く分散した (平均粒子径 100~200 nm)。一方、ヘパリン無添加の反応液から得られた試料は、1 時間以内に沈降した。塩基性タンパク質 (シトクロム c およびリゾチーム) の担持効率は、反応液へのヘパリン添加により、大幅に向上した (表 1)。負電荷を有するヘパリンが塩基性タンパク質と静電的に相互作用し、リン酸カルシウムナノ粒子への共担持を促進したと考えられた。一方で、酸性タンパク質 (アルブミン) の担持効率は、反応液へのヘパリン添加により大幅に低下した (表 1)。

表 1 ヘパリン担持・非担持のリン酸カルシウムナノ粒子における各タンパク質の担持効率

	ヘパリン担持	ヘパリン非担持
シトクロム c	76%	22%
リゾチーム	67%	1%
アルブミン	22%	95%

以上より、タンパク質とヘパリンを共担持したリン酸カルシウムナノ粒子において、ヘパリンは塩基性タンパク質の担持効率の向上ならびに粒子の分散性向上に寄与することが示された[3]。すなわち、ヘパリン担持リン酸カルシウムナノ粒子は、塩基性タンパク質を高効率に担持できる担体として有用と期待される。

【参考文献】 [1] 中村真紀, 大矢根綾子, セラミックス, **2020**, 55, 189. [2] M. Nakamura *et al.*, *Coll. Surf. B*, **2018**, 162, 135. [3] M. Nakamura *et al.*, *Int. J. Mol. Sci.*, **2022**, 23, 11530.

【謝辞】 本研究は、コーセーコスメトロロジー研究財団、JSPS 科研費 (JP19H02635, JP22H05148) の助成を受けて実施された。

薬物キャリア開発を目指した PMPC 結合脂質によるリポソーム表面修飾

¹ 芝浦工業大学大学院・理工学研究科、² 芝浦工業大学・システム理工学部、
³ 大阪大学大学院・工学研究科、⁴ 産業技術総合研究所・細胞分子工学研究部門、
 ○鈴木遥奈^{1, 4}、中村奈緒子²、石原一彦³、寺村裕治⁴

【緒言】

リポソームは細胞膜と同じ構造を持つリン脂質小胞体であり、細胞膜モデルとして用いられている。また、mRNA や薬剤をカプセル化できるため薬物キャリアに使用されている。しかし、リポソームは免疫系により認識されるため、体内から速やかに除去されてしまう。そこでポリエチレングリコール (PEG) 結合脂質により、リポソームの表面を修飾することで、免疫系からの回避が検討されている。新型コロナウイルスに対する mRNA ワクチンにもこの技術は使用されている。しかし、PEG 修飾リポソームは生体内に投与すると、補体系が活性化され、抗 PEG 抗体が産生される。そのため、2 回目以降に投与された PEG 修飾リポソームは血中滞在性が低下し、アナフィラキシー反応や肝障害を引き起こすことが懸念されている。本研究では、PEG の代替材料として、ポリ(2-メタクリロイルオキシエチルホスホリルコリン(MPC))(PMPC)を用いて、免疫反応を回避できるリポソーム表面修飾剤の合成と自己集合現象によるリポソーム表面への導入を目指した。

【方法】

2 本のパルミトイル基を有する脂質から原子移動ラジカル重合 (ATRP) 開始剤を合成し、末端に MPC を重合させ、MPC の重合度が 10, 20, 50, 100 の PMPC 脂質の合成を行った (Fig.1)。合成した PMPC 脂質をゲル浸透クロマトグラフィー (GPC)、核磁気共鳴装置 (¹H-NMR) を用いて分子量、分子量分布の測定を行った。また、臨界ミセル濃度 (CMC)、ミセルの粒径、PDI 及び表面電位の測定を行った。その後、1,2-dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphocholine (DPPC) とコレステロール (モル比 1/1) のリポソームを薄膜水和法により調製した。このリポソームに PMPC 脂質を外部添加し、37℃で 30 分間反応させることで、リポソームと PMPC 脂質の相互作用を解析した。PMPC 脂質の分子量が導入量に与える影響と 4℃及び 37℃における PMPC 脂質の修飾安定性を 2 週間にわたってリン定量により測定した。また、透過電子顕微鏡 (TEM) によるリポソームの観察、粒径、PDI 及び表面電位の測定により、リポソーム表面における PMPC 脂質の修飾の確認を行った。その後、PMPC 修飾リポソームとタンパク質との相互作用を SDS-PAGE と総タンパク質濃度測定により分析した。また、抗 PEG 抗体との相互作用についてフローサイトメトリーを用いて解析した。

【結果と考察】

GPC と ¹H-NMR 測定より、重合度 10, 20, 50, 100 の PMPC 脂質の合成が確認できた。また、PMPC 脂質は CMC を有し、両親媒性であることが示された。PMPC 脂質は重合度が小さいほどリポソーム表面に導入されやすいことが分った (Fig.2)。PMPC 修飾リポソームの粒径、PDI 及び表面電位測定から、PMPC 脂質で修飾することにより、重合度の増加に伴う粒径の増大、分散の安定化、表面電位が 0 mV に近づくことを示した。また、TEM 観察により、球状のリポソームが観察され、PMPC 修飾リポソームはリポソームの周囲に厚いポリマー層が観察された。これらにより、リポソーム表面に PMPC 脂質の修飾が示された。14 日間による安定性評価では、4℃において安定であり、37℃において PMPC 脂質はリポソームから徐々に脱離し、14 日後には 20% の脱離が確認されたが、高い分散安定性を示した。また、PMPC 修飾リポソームは PMPC 脂質の分子量によらず、タンパク質の吸着を抑制し、抗 PEG 抗体には認識されないことが分かった。

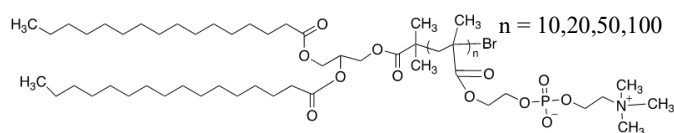


Fig. 1 Chemical structure of PMPC-lipid

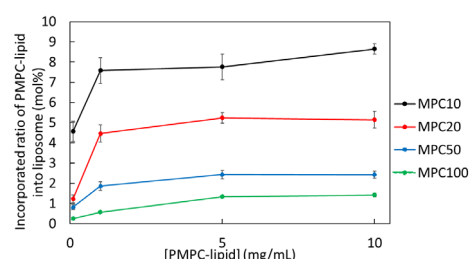


Fig. 2 PMPC-lipid incorporated ratio into liposomes

経口投与薬剤の粘液拡散過程を評価するための 粘膜透過性評価システムの開発

¹物質・材料研究機構・医療応用ソフトマターグループ、²筑波大学大学院・数理物質科学研究群
○曾我 翔太^{1,2}、川上 亘作^{1,2}

【緒言】

小腸粘膜は、主に Mucin と呼ばれる多糖類から成るゲルである^[1]。生体内で小腸粘膜は、微生物等から上皮細胞を保護する拡散障壁の役割をもつが、医薬品の吸収においても拡散障壁となり得る。医薬品の粘膜透過性を in vitro で評価できることが望まれるが、実際の生体粘膜においても物性の部位差や個体差が大きく、その単なる模倣は容易ではない。物理化学特性を詳細に把握した粘膜設計を行い、粘膜透過性について既に得られている知見を再現できる評価システムの構築が必要と考えられる。本研究では、経口投与された薬物の粘膜透過性評価システムを粘膜のレオロジー特性とモデル化合物を用いた透過特性の観点で開発した。

【実験方法】

高分子基材として生体由来ムチンにポリ(アクリル酸) (Carbopol) を添加し、粘弾性を制御した。さらにレシチン等の生体成分を添加した粘膜を装着した Franz 拡散セル(図1)を用い、モデル化合物の透過性を評価した。見かけの透過係数 (P_{app}) は、次の式を用いて計算した。

$$P_{app} = (dQ/dt)/(C_0 \times A)$$

ここで、 dQ/dt は膜を通過する輸送速度 [μ g/s]、 C_0 は薬物の初期濃度 [μ g/mL]、 A は膜の表面積 (cm^2) を示している。

【実験結果と考察】

図2は、Carbopol/Mucin ゲルのレオロジー特性を示す。ムチンを添加すると、ゲルの pH が低下するため、Carbopol の粘弾性が下がった。透過性評価では、Franz 拡散セルに粘膜を均一に添加するためには、粘度の低いゲルが好ましいため、1% Carbopol と 2% ムチンからなるゲルを選択した。

図3に各モデル化合物の粘膜透過性評価を行った結果を示す。化合物の分子量および溶解度に依存した透過性が観察され、一般的に指摘されている粘膜層の特徴を再現することができた。

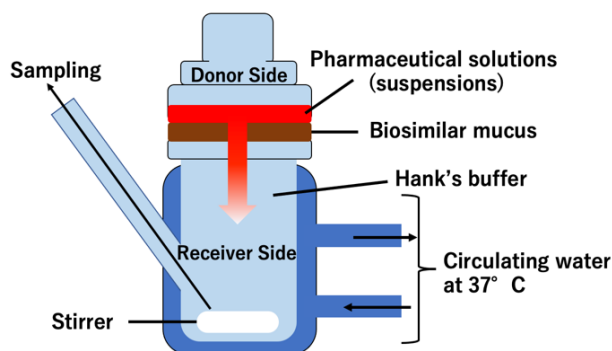


図1. Franz 拡散セルの模式図

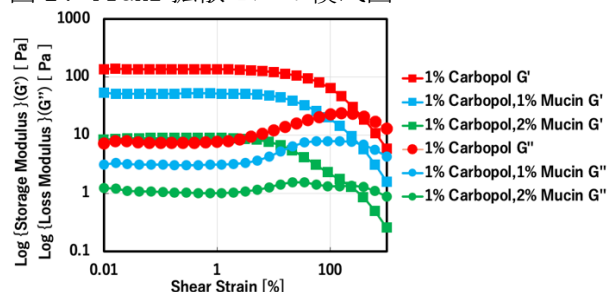


図2. NaOH 水溶液を用いて調製した Mucin/Carbopol ゲルの粘弾性特性。

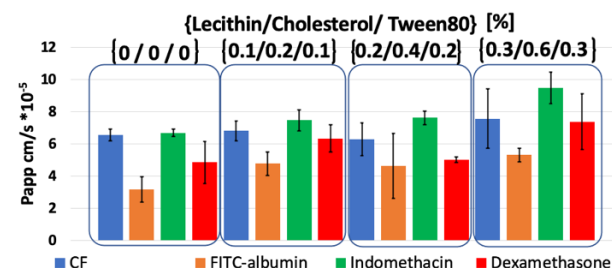
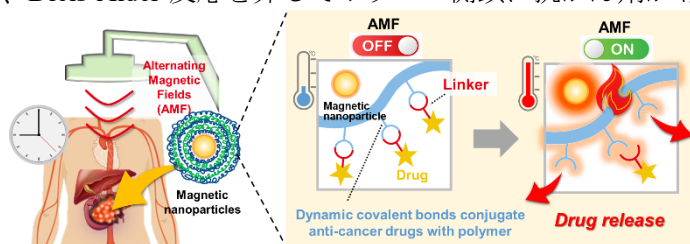


図3. 各モデル化合物の P_{app}

温度応答性 Diels-Alder 型薬物放出制御システムの設計

¹ 物材機構・機能性、² 筑波大院・数理物質、³ 東理大院・先進工
 ○藤澤 七海^{1,2}、陳 麗麗¹、荏原 充宏^{1,2,3}

【緒言】近年、がんの治療の選択肢として化学療法と温熱療法の併用療法が期待されているが、その相乗効果を発揮するための時空間制御に課題がある[1,2]。その実現のため、本研究では温度依存的な動的共有結合を形成する Diels-Alder 反応を用いることで、薬物放出と温熱の時間的制御に取り組んできた[3]。このシステムでは、Diels-Alder 反応を介してポリマー側鎖に抗がん剤が導入する。これに対して熱を与えることにより、逆反応である retro Diels-Alder 反応が起こり、薬物放出される仕組みとなっている(図1)。本研究では、より発熱を限局させた薬物放出制御を目指し、発熱体である磁性ナノ粒子に親水性 Diels-Alder 型薬物放出ポリマーを Layer-by-Layer(LbL)法で静電的にコーティングした磁性ナノ粒子の創製を目的とする。



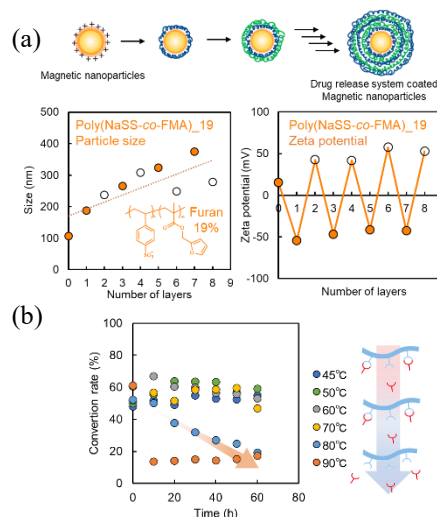
(図1)温度応答性 Diels-Alder 型薬物放出システムは、磁場によって体外から薬物放出を制御可能である。

【実験】p-Styrene sulfonic acid sodium salt (NaSS) と Diels-Alder 反応部位である Furfuryl methacrylate (FMA)を各組成でフリーラジカル重合し、アニオン性ポリマーである Poly(NaSS-co-FMA)を合成した。次に、LbL 法による薄膜形成を水晶振動子マイクロバランス法 (QCM) で検証した。今回、ポリカチオンである Polyallyl amine とポリカチオンである Poly(NaSS-co-FMA)をそれぞれ溶解させたポリマー水溶液(5.0 mg/mL, NaCl 150 mM, MiliQ 水)に対して、金基盤がコートされた水晶振動子を 5 分間浸漬させ MiliQ 水で洗浄したのち、アルゴンでよく乾燥させた水晶振動子の周波数の変化を各ステップで測定した。また、同様に磁性ナノ粒子表面に LbL 法で薄膜を形成した。Poly(NaSS-co-FMA)(10.0 mg/0.2 mmol)に対して Maleimide-PEG₂-NHS ester(13.0 mg/30.5 mmol)を重水(5 mL)中で Diels-Alder 反応を介して結合させ、¹H NMR によって Diels-Alder 反応の進行度を経時的に測定した。また、retro Diels-Alder 反応を各温度(45~90°C)で経時的(10 分毎 1 時間)に観察した。

【結果と考察】 LbL 法により静電的に磁性ナノ粒子表面に対してポリマーをコーティングするため、Diels-Alder 反応が可能な官能基を含み、かつアニオンポリマーである Poly(NaSS-co-FMA)を合成した。¹H NMR 測定によって算出されたポリマーの組成は、furan 基が最大 19%含まれていた。QCM を用いた Poly(NaSS-co-FMA)/PAH の薄膜形成の検証では、ステップごとの水晶振動子の周波数の減少が確認されたことより、交互に積層することによって薄膜が形成したことが確認された。さらに、LbL 法によって磁性ナノ粒表面に薄膜を形成することに成功した(図 2a)。に対して交流磁場を照射することにより、磁性ナノ粒子の局所加熱に成功した。側鎖の furan 基に対する Diels-Alder 反応を介した Linker の導入率は、反応の進行によって新規に表れる 3.70 ppm (endo 体) と 3.38 ppm (exo 体)の積分値の増加より算出した。薬物放出のトリガーとなる retro Diels-Alder 反応は 80°C 以上で確認され、90°C での反応はおおよそ 10 分程度で完了した(図 2b)。今後は交流磁場に応答した薬物放出制御を試みる。

References

- [1] E. Niiyama *et al.*, *Polymers*, **10**, 1018, 2018. [2] L. Chen *et al.*, *Int J Mol Sci*, **22**, 2542, 2021. [3] N. Fujisawa *et al.*, *Sci Technol Adv Mater*, **22**(1), 522, 2021.



(図2)(a)Poly(NaSS-co-FMA)/PAH 磁性ナノ粒子の粒径および電位。

(b) retro Diels-Alder 反応の各温度での経時変化。

高リン血症治療を目的とした リン吸着ナノファイバーメッシュの開発

¹ 物材機構機能性, ² 筑波大院数理物質
○高橋可保^{1,2}, 佐々木信^{1,2}, 荏原充宏^{1,2}

【緒言】

腎不全により生じる高リン血症に対して、現在は血液透析やリン吸着剤を用いた内服治療が行われている。しかし、血液透析患者は透析時間の増大から、QOLの低下が日本で長年の課題となっている。血液透析患者の2割はリン吸着剤を内服しているが、大量の服薬が必要となり、胃中でリン吸着剤が沈着することによる粘膜障害が問題となっている。これらの解決手法として、持ち運び可能な血液浄化装置を開発し、装置にナノファイバーメッシュ(NM)を挿入することでリン酸を除去する方法に注目した(Fig.1)^[1]。NM化により、リン吸着剤がファイバー中に固定化され、漏出や沈着を防ぐことができる。本研究では、現在飲み薬としても使用され、リン吸着剤としての効力が高い炭酸ランタンと炭酸カルシウムの2つの吸着剤を使用した。NMの母材にはpoly(ethylene-co-vinyl alcohol)(EVOH)を使用した。NMを作製後、NMのリン酸吸着能の評価、NMの構造解析と吸着メカニズムについて検討した。

【実験】

粉末状のEVOHを溶解させた1,1,1,3,3,3-hexafluoroisopropanol(HFIP)溶液(5 wt%)を2サンプル用意し、それぞれに炭酸ランタンあるいは炭酸カルシウムを0.9、4.9、9.1、16.7、33、50 wt%の濃度で分散させた。この溶液を用い電界紡糸(25 kV, 23G, 15 cm, 1 ml/h)を行うことで、吸着剤含有のNMの作製を試みた。作製したNMを0.1、1 mMのリン酸水溶液に浸漬し、37°Cで振とうさせた後、上澄みのリン酸濃度を測定することで、NMのリン酸吸着性能を評価した。

【結果と考察】

NMの炭酸ランタンと炭酸カルシウムの最大含有量は、EVOH量に対して50、33 wt%となった。次に、NMのリン酸吸着性能を評価したところ、炭酸ランタン含有ファイバーがより高い吸着性能を示した。SEM-EDXの測定結果により、NMがリン酸を吸着していることを確認した(Fig.2(a))。リン酸濃度は、透析時間の目安となる3時間後において、1.0 mMから $0.5 \pm 0.28(n=2)$ mMまで減少した。また、TG-DTAやICP発光分光分析測定の結果により、吸着試験前後で吸着剤が溶液中に漏れ出していない事が確認された(Fig.2(b))。

このNMが40g程度あれば、成人男性において1日に必要なリン酸除去量である400mgを除去することができる。これらの結果から、NMは現行の血液透析のプレカラム材料として期待が持てる。将来的には当研究室で目指している、持ち運び可能な血液浄化装置に用いるフィルターへ応用したいと考えている。

【参考文献】 [1] K. Namekawa, et al., *Biomaterials Science* **2014**, 2, 674-679.

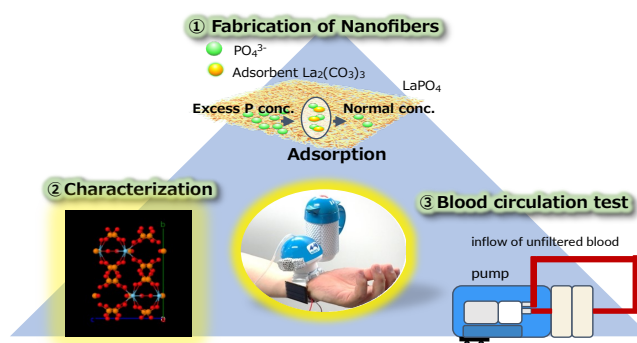


Fig.1 Design of nanofiber meshes for the removal of excess PO_4^{3-} from hyperphosphatemia patients.

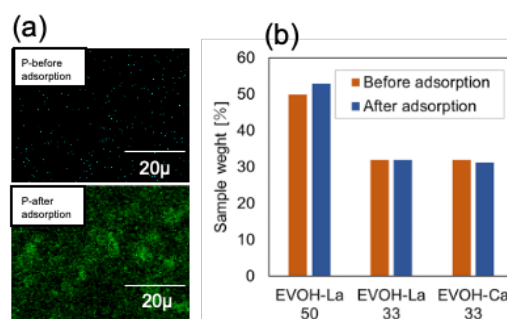


Fig. 2 (a) SEM-EDX images of P-meshes before and after adsorption test. (scale bar: 20μm), (b) P-mesh before and after water immersion test according to TGA(n=1).

Design of functionalized poly(acrylic acid)-ethylene glycol fiber meshes via centrifugal spinning to remove excess water from kidney failure patients

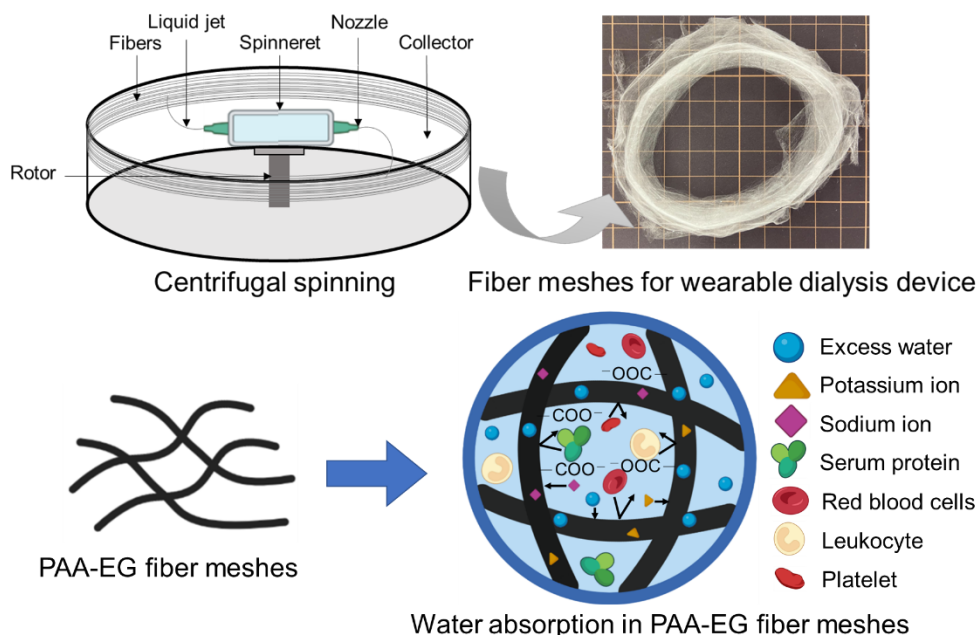
^{1,2}I-Hsuan Yang*, ^{1,3}Makoto Sasaki, ^{1,3}Mitsuhiro Ebara

¹Research Center for Functional Materials, National Institute for Materials Science (NIMS), Japan

²Department of Biomedical Engineering, National Taiwan University, Taiwan

³Graduate School of Pure and Applied Sciences, University of Tsukuba, Japan

Kidney failure is when the kidneys have stopped working so that the body is no longer able to remove enough waste and excess fluid from the body, resulting in an accumulation of waste and excess water in the body with serious health consequences [1]. Nowadays, a variety of polymers, activated carbon, zeolite, and metal-organic frameworks have been studied for dialysis against chronic kidney disease. Although these materials have the potential to remove urine toxins and remove excess water, there are still a lot of improvements to be made [2]. In this study, poly(acrylic acid)-ethylene glycol (PAA-EG) fiber meshes made by the homemade centrifugal spinning system for mass production were designed for the efficient removal of excess water from kidney failure patients. The developed PAA-EG fiber meshes were partially neutralized by alkali treatment from their carboxylic acid form to sodium carboxylate form for better water absorption efficiency. Rotating speed, nozzle diameter, crosslinker concentration, and degree of neutralization will be studied compared with PAA-EG films. Results showed that the liquid can be quickly absorbed into the polymer and the network structure with no cytotoxicity and high hemocompatibility. Importantly, due to the different absorption rates, the prepared fiber meshes will selectively absorb the water and not affect other large molecular substances in the blood, thereby achieving higher compatibility with the human body.



[1] M. Faria, M.N. de Pinho, Challenges of reducing protein-bound uremic toxin levels in chronic kidney disease and end stage renal disease, *Translational Research* 229 (2021) 115-134.

[2] S.H. Baek, K.-H. Oh, S. Kim, D.K. Kim, K.-W. Joo, Y.K. Oh, B.G. Han, J.H. Chang, W. Chung, Y.S. Kim, Control of fluid balance guided by body composition monitoring in patients on peritoneal dialysis (COMPASS): study protocol for a randomized controlled trial, *Trials* 15(1) (2014) 1-7.

血中尿素を分解により除去可能なナノファイバーメッシュの創製

¹物質・材料研究機構・機能性材料研究拠点、²筑波大学大学院・数理物質科学研究群
○佐々木 信^{1,2}、荏原 充宏^{1,2}

【緒言】慢性腎不全とは、腎臓の機能が低下することで、通常は尿として排出される老廃物が血中に蓄積する疾病である。代表的な治療法である血液透析は治療に大量の水を消費するため、災害時や低インフラ地域といった十分な水が確保できない状況下では、治療の実施は困難である。

これを解決するべく、本研究ではウェアラブル血液浄化装置の開発を目指している (Fig. 1) [1,2]。

老廃物は装置内部のフィルターにより吸着・除去され、治療に水を必要としないため、低インフラの状況下でも治療の実施が可能となる。約 90 種類の尿毒素のうち、本研究では、それらの中で最も高い血中濃度を示し、動脈硬化を誘発することが報告されている尿素に着目した^[3]。尿素的除去方法として吸着は適していないことが知られているため、尿素を加水分解する働きがある酵素である Urease をナノファイバー上に固定化することで尿素を分解し、それにより生じる Ammonium を、ナノファイバー中に含有した吸着材により吸着・除去可能な設計とした。

【実験】血液毒性が低いことが知られている poly(ethylene-co-vinyl alcohol) (EVOH) と、反応性が高いアミノ基をもつ Chitosan を用い、電界紡糸法により EVOH/Chitosan ナノファイバーを作製した。Glutaraldehyde (GA) を架橋剤とし、Chitosan と Urease のアミノ基間で化学架橋を形成することで、ナノファイバー上に Urease を固定化した。合成した Ammonium 吸着材を含有する EVOH/Adsorbent ナノファイバーを紡糸し、EVOH/Chitosan ナノファイバーと併せて層状構造とした。

【結果と考察】電界紡糸法により作製した層状ナノファイバーの上面 (EVOH/Chitosan) と下面 (EVOH/Adsorbent) の SEM 画像をそれぞれ Fig. 2 (a), (b) に示す。どちらのナノファイバーも均一な構造を有しており、層状ナノファイバーの作製が確認された。

Urease を固定化後、尿素分解試験を行った結果を Fig. 2(c) に示す。分解により尿素濃度は試験前の 1.6% にまで減少していた。また、尿素分解に伴い Ammonium が産生されたが、層状ナノファイバーを使用することで産生量は 54.9% まで抑えられており、Ammonium が吸着されていることが示唆された。したがって、尿素と Ammonium の両方を除去可能な新規材料の創製に成功した。今後は作製条件の最適化や血中毒性の評価を行い、ウェアラブル血液浄化装置への応用を目指す。

【参考文献】 [1] K. Namekawa *et al.*, *Biomater. Sci.*, **2014**, 2, 5, 674-679 [2] M. Sasaki, Y. Liu, and M. Ebara, *Fibers*, **2021**, 9, 37, 1-11 [3] M. D'Apolito *et al.*, *Atherosclerosis*, **2015**, 239, 2, 393-400

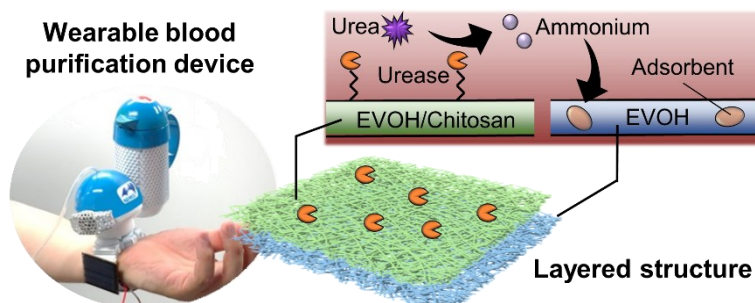


Fig. 1 Concept of wearable blood purification device and urea removal by layered nanofibers composed of urease immobilized EVOH/Chitosan nanofibers and EVOH/Adsorbent nanofibers.

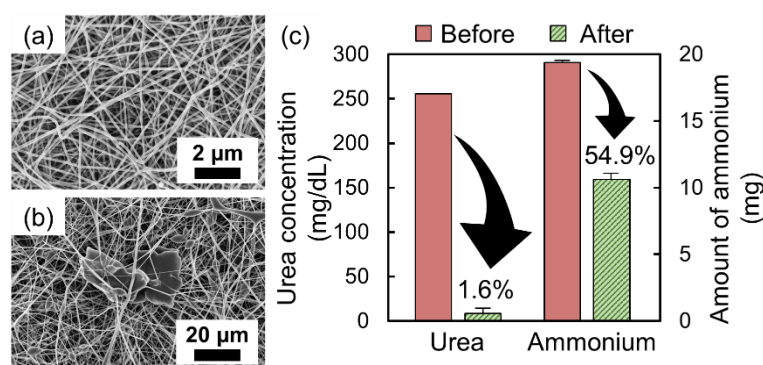


Fig. 2 (a) SEM image of EVOH/Chitosan nanofibers.

(b) SEM image of EVOH/Adsorbent nanofibers.

(c) Change of urea concentration and amount of ammonium in urea decomposition test using layered nanofibers ($n = 3$).

高速がんスフェロイド作製法の確立

¹東京農工大学、²国立研究開発法人物質・材料研究機構

○飯嶋 雄太^{1, 2}、早瀬 元²、吉野 大輔¹

【緒言】

日本では、2人に1人が生涯でがんになる時代が到来し、死亡数増加が深刻な問題となっている⁽¹⁾。がん治療の進歩は目覚ましい状況にあるが、転移のメカニズムにおいては未解明な部分が多く残っている。がんの動態を生体外で再現するには3次元培養が必須となるが、現状の手段では再現性の高い定量計測は難しい。本研究では、超撥水性モノリス型多孔体に切削加工した培養器材⁽²⁾を用い、再現性の高いがん3次元組織の高速作製法を確立することを目的とする。

【方法】

本研究では、液中分散したベーマイトナノファイバー（水酸化酸化アルミニウム AlOOH 組成）をポリメチルシルセスキオキサン（ $\text{CH}_3\text{SiO}_{1.5}$ ）で被覆して立体構造を形成したモノリス型多孔体に切削加工を施し、超撥水性のマイクロウェルを作製した。作製したマイクロウェルにコラーゲンを基質として所定の濃度に調整した細胞懸濁コラーゲン溶液を分注し、 37°C 、 $5\% \text{CO}_2$ で30～45分間インキュベートすることでゲル化させ、培養液の入ったウェルプレートに移し、 CO_2 インキュベーター内で培養することでがんスフェロイドを作出した。本研究では、乳がん細胞（MDA-MB-231）とヒト子宮頸がん細胞（HeLa）を用いてスフェロイドの作製精度を評価した。

【結果・考察】

作製したがんスフェロイドにおける形状誤差は最大10%であった（図1）。MDA-MB-231については、スフェロイドの細胞牽引力依存性の収縮が確認できる。また、作製後3日目以降からがん細胞がスフェロイドから脱出し、スフェロイド外で増殖する様子が確認でき、がんの転移動態を再現できていると考えられる。

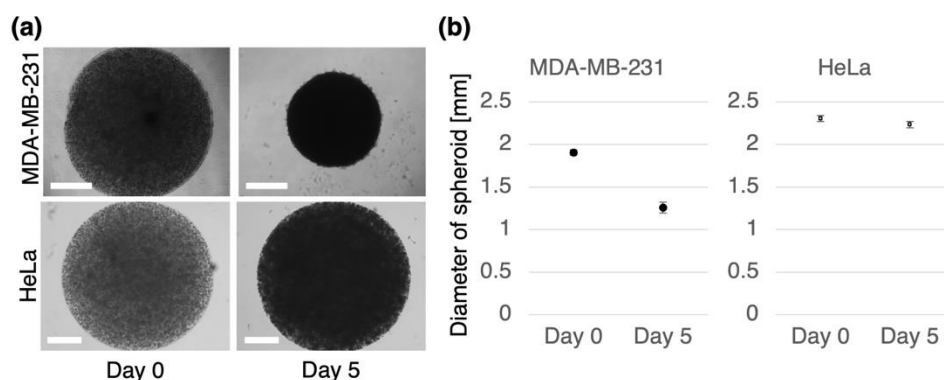


Fig.1 Fast fabricated cancer spheroids. (a) Phase-contrast images depicting two types of cancer spheroid. Scale bar, 500 μm . (b) Change in the spheroid diameter (mean $\pm$ SD, $n = 4$, MDA-MB-231; $n = 6$, HeLa).

【結言】

本研究では、超撥水性モノリス型多孔体に切削加工を施したウェルプレートを用いることで、がんの進展や転移を再現した直径2～5 mmのスフェロイドを形状誤差10%で作製可能な手法の開発に成功した。今後、タンパク質レベルでがんスフェロイドの動態の詳細を明らかにすることで、がんの発症や進展、転移の生体外モデルとして提案できると期待される。

【文献】

- (1) 国立がん研究センターがん情報サービス「がん統計」（人口動態統計）
- (2) Hayase, G. and Yoshino, D., “CNC-Milled Superhydrophobic Macroporous Monoliths for 3D Cell Culture”, *ACS Applied Bio Materials*, Vol. 3, No. 8 (2020), pp. 4747-4750.

着衣状態での診断を目指した自動聴診ロボットの基礎検討

¹産業技術総合研究所 健康医工学研究部門、²筑波大学 医学医療系、³早稲田大学 理工学術院
○津村 遼介¹、森島 祐子²、小関 義彦¹、岩田 浩康³、葭仲 潔¹

【背景】

人手不足や感染症、医師と患者間の性差の問題から医師の接触を必要としない自動聴診の実現を目指している。本報告ではロボットを用いた着衣状態で心音聴取可能な診断プラットフォームの基礎検討について紹介する。

聴診の際、性別の異なる医師に胸部を見せることや、医師から身体を触られることに、恥ずかしさや不快感を感じる人が多い。そこで我々は、ロボット技術を用いた聴診によって、前述の性差に関連する問題を解決できると考えている。本報告では、聴診時のジェンダーバイアスを解消するために、衣服の上から聴診を自動で行うことができるロボットシステムを提案する。

【手法】

本システムは、RGB-D カメラを用いた衣服上の聴診位置推定システムと、衣服による音響減衰を最小化するための接触力調整機構から構成されている。聴診位置推定は、RGB-D カメラから取得したデプス画像をもとに骨格を抽出し、抽出した3次元骨格位置を基準に、解剖学的統計値を参照に体表上の4つの心臓の弁（大動脈弁、肺動脈弁、三尖弁、僧帽弁）の聴診位置を推定する。接触力調整機構は、リニアサーボアクチュエータ、距離センサ、線形バネから構成されており、聴診器を押し付ける線形バネの圧縮量をリニアサーボアクチュエータで制御することで、任意の接触荷重を維持することが可能となる。またバネを用いているため、呼吸などによる体動の影響も安全に補償することができる。

本システムの有用性を評価するため、聴診ファントムを対象に、聴診位置推定手法の推定精度と、接触力の調整による衣服による聴診音の減衰の低減効果を検証した。使用した着衣のパターンは3通り（脱衣、インナー、インナー＋セーター）で、0.5N 刻みで0.5～4.5Nの接触力を付与した。

【結果】

聴診位置推定に関して、大動脈弁、肺動脈弁、三尖弁ではおよそ1cm程度の推定誤差だったが、僧帽弁では1.8cm程度の推定誤差となった。それぞれの聴診位置での心音の音質（振幅スペクトラム）は推定誤差の大きさに相関しており、僧帽弁では他の弁と比べて低い音質となった。衣服による音の減衰に関して、脱衣とインナーの条件においては、接触力1Nをピークに次第に減少していった。インナー＋セーターの条件においては、接触力の増加に伴い振幅スペクトラムは増加していった。

【結論】

開発したロボットシステムを用いることで聴診におけるジェンダーバイアスの解決に貢献できる可能性を示した。今後は体型の個人差に合わせた推定手法への拡張及び衣服の厚みや素材に応じた適切な接触力の導出に取り組んでいく。

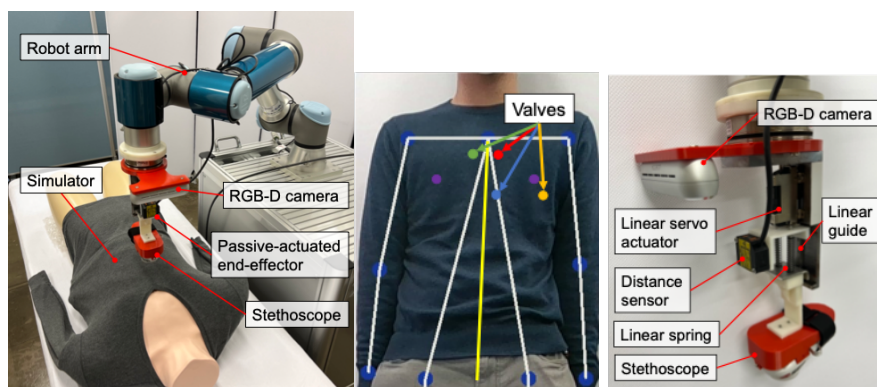


図1 提案システム概観

高精度超音波診断を目指した音速測定技術の開発

¹産業技術総合研究所・健康医工学研究部門○新田 尚隆¹

【緒言】

生体内を伝搬する超音波の伝搬速度（音速）は、組織の種類や疾病状態によって異なることが知られ、高精度に測定できれば疾病の早期発見等に有用なバイオマーカーとなる。特に腹部診断においては、肝臓及び肝硬変に至る肝線維化の初期ステージまたは脂肪化ステージを鑑別するマーカーとして期待されている。従来の超音波診断と同様の手技により音速測定を可能とするには、手持型プローブを用いた高精度な音速測定法が必要である。それゆえ我々は、手持型プローブから得られる後方散乱波を用いた新たな音速測定法の開発を進めている¹⁾。

【音速測定法】

Fig. 1 に、音速測定の方法概念図を示す。超音波診断では生体内において音速を決定するための距離測定が行えない強い制約があるため、組織内でマーカーとなる強散乱点を探査後に平面波を送信し、リニアアレイプローブ上の全素子で受信した後方散乱波 $\{e_i\}$ ($i = 1 \sim N$; N は全素子数)の波面が水平に揃う遅延時間 $\{\tau_i\}$ を探査することにより音速を決定する。

【精度評価】

Fig. 2 は、21通りの寒天濃度（1.3, 1.7, 2.1, 2.8, 3.4 wt%）とグリセリン濃度（0, 10, 20, 30, 40 wt%）の組み合わせにより音速を変えたファントムに対し、本測定法を適用した結果を示す。横軸はレーザー変位計で測定した距離をもとに求めた音速の参照値（真値）、縦軸は本測定法による音速測定値を示す。両者はよく一致し、高精度な音速測定が可能であった。

【実組織への適用性】

実組織への適用性を評価するため、摘出した鶏肝臓を用いた ex vivo 評価を行った。寒天で固定した鶏肝臓を湯せんで加温し、肝臓内部に挿入した熱電対の指示値が 20℃から 40℃に到達する期間で温度の記録とともに後方散乱波データを取得して、経時的な音速測定を行った。

Fig. 3 は、鶏肝臓内部の連続的な温度変化に対する音速測定値の変化をプロットした結果である。肝臓内部の連続的な温度上昇によって音速も徐々に増加する様子が捉えられている。この線形関係における勾配は 1.8 m/s/℃と推定された。生体組織における 1℃あたりの音速変化は 1~2 m/s であることが知られており、この知見によく一致した。

【結語】

開発した音速測定法は実組織にも適用でき、高精度かつ高感度な音速測定が可能であった。今後は、モデル動物等を用いた in vivo 評価を実施したい。

【謝辞】本研究の一部は、科学研究費補助金（19H04494）による補助を受けた。

【文献】

1) N. Nitta, et al. Jpn J Appl Phys. 2022;61: SG1023.

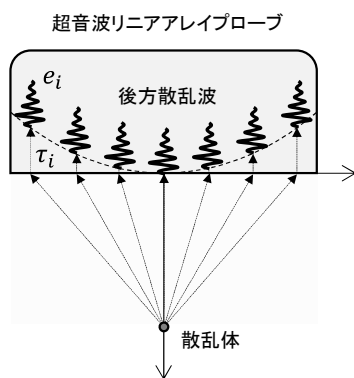


Fig. 1

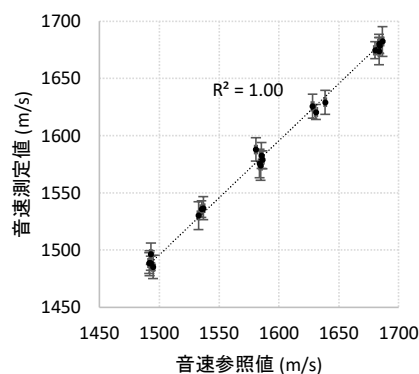


Fig. 2

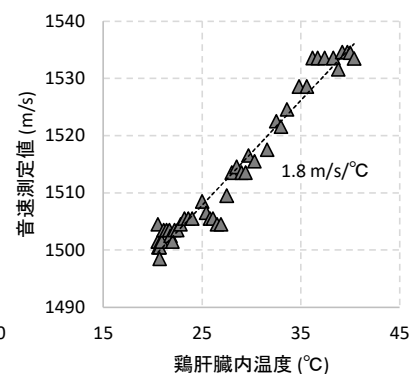


Fig. 3

精巣腫瘍における化学療法後の後腹膜リンパ節の病理結果を 予測するための機械学習モデルの開発

¹筑波大学 視覚メディア研究室、²筑波大学附属病院 泌尿器科、³愛知県がんセンター 泌尿器科
○中川 翔太¹、儀同 政伸¹、新田 聡²、小島 崇宏³、掛谷 英紀¹

【背景】

進行期精巣腫瘍において、後腹膜リンパ節に奇形腫の存在を予測することは、既存の臨床学的因子や画像診断では困難である。本研究では、臨床学的因子および CT 画像を用いた機械学習手法により、残存腫瘍が奇形種か壊死組織かを予測するモデルを開発する。

【目的】

臨床学的因子と CT 画像を用いて、残存腫瘍の病理結果を予測する。

【方法】

筑波大学附属病院において、2005 年から 2019 年までに進行期精巣腫瘍患者で化学療法後、後腹膜リンパ節郭清術を施行された 63 名 (ROI=163) から、原発巣の病理、腫瘍マーカー、CT 画像、化学療法前および化学療法後の後腹膜リンパ節転移最大径、後腹膜リンパ節郭清術の病理結果を収集した。これらのデータを用いて、画像認識で用いられる畳み込みニューラルネットワーク (CNN) と、分類問題で用いられるサポートベクターマシン (SVM) を組み合わせて予測を行う。

【結果】

CT 画像のみでの予測では正解率 68.8%、AUC 0.77。臨床学的因子のみでの予測では正解率 76.6%、AUC 0.79。両者を組み合わせると正解率 82.0%、AUC 0.84 であった。

【考察】

過去の 1094 名の症例を元に臨床学的因子のみを用いて予測したモデルの報告では AUC が 0.84 である。本研究では臨床学的因子に加えて CT 画像を用いたことで、少ない症例数で同等の精度のモデルを開発することができたと考えられる。

【結語】

臨床学的因子と CT 画像を用いて、それぞれのデータに適した 2 つの機械学習手法を組み合わせることで予測精度が向上することを確認した。

1 細胞解析のためのラマン分光顕微システム

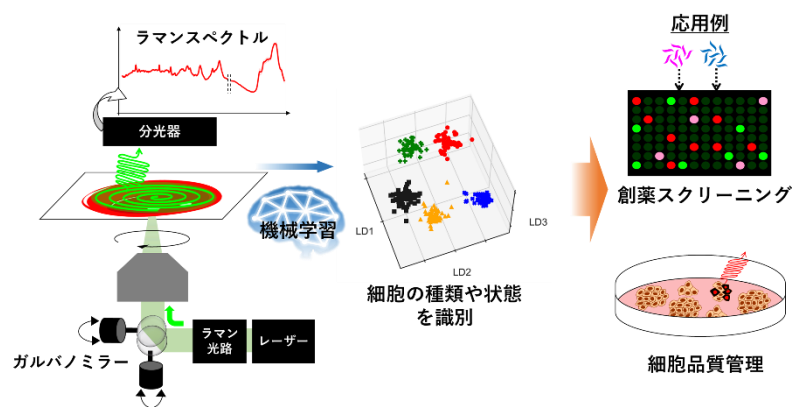
¹ 国立研究開発法人産業技術総合研究所 生命工学領域 細胞分子工学研究部門、
² 筑波大学大学院 ライフイノベーション学位プログラム、³ 筑波大学大学院 グローバル教育院
 ○赤木 祐香^{1, 2}、木田 泰之^{1, 3}

細胞から得られるラマン散乱光は、タンパク質や脂質などの細胞内分子の分布や量を示し、その細胞の状態を非侵襲・非染色で判別することが可能である。しかし、細胞由来のラマン散乱光は微弱であり、細胞内構造による変動の影響を受けやすい。そのため、ラマンシグナルを用いたラベルフリーな単一細胞の分類を行うためには、細胞の広範囲領域から高感度でラマンスペクトルを得る技術が必要である。本研究では、高速で振動する2軸ガルバノミラーを介して細胞の広い範囲にレーザー光を照射する Paint 式ラマン分光顕微鏡 (Paint Raman Express Spectroscopy System (PRESS)) を開発した。得られた散乱光は、CCD カメラで単一の信号として認識される。我々はこのシステムを用いて、ヒトT細胞 (Jurkat) の活性化状態を非染色で分類を行った。CD3/CD28 抗体で刺激した Jurkat 細胞の特定の円形領域からラマンスペクトルを測定した結果、活性化された細胞は、いくつかの波数領域において、活性化されていない細胞とは異なる散乱光強度を示した。この細胞由来のラマン信号を機械学習に応用した結果、部分最小二乗回帰 (PLS) やサポートベクターマシンにより、94~98%の高精度で分類することができた。また、CD3/CD28 抗体刺激時に生じる活性化状態の未知の細胞に対し、機械学習によってその活性化状態の予想が可能であることが示された。

したがって、PRESS は、細胞内の広い範囲からラマン散乱光を高速で取得することができ、活性化状態を高精度に判別することが可能となった。この技術は、非染色で単一細胞の解析が可能であり、将来的には低コストな創薬スクリーニングへの応用が期待される。

関連情報

- ・ Non-invasive cell classification using the Paint Raman Express Spectroscopy System (PRES), Sci. Rep. 11, 8818 (2021).
- ・ 「スペクトルデータ取得方法、細胞の分類方法、およびラマン分光」特願 2021- 68916, PCT/JP2022/013239



糖鎖を表面固定化したウイルス検出用ポリマー粒子の開発

¹茨城大学・大学院理工学研究科、²筑波大学・医学医療系、³福島大学・農学群食農学類

○山内 紀子¹、内野 七海¹、小林 芳男¹、川口 敦史²、尾形 慎³

【緒言】

ウイルス感染症の広がりを抑制するため、感染初期のウイルス量が極めて少ない時期に、感染を正確に判断する診断技術が求められる。ウイルス感染の多くは、ウイルスがもつ糖鎖認識部位が、細胞表面にある糖鎖を認識して結合することによって起こる。本発表では、講演者らがこれまでに取り組んできた糖鎖固定化ポリマー粒子の合成プロセスの構築に関する研究、および糖鎖固定化ポリマー粒子のウイルス検出剤としての利用可能性について紹介する。

糖鎖などの機能性生体物質は、多数の反応性官能基（ヒドロキシ基など）を持つため、化学反応を利用して粒子表面に固定化する際、副反応による構造変化が起きやすい。副反応を抑制するためには、保護基の着脱や洗浄分離操作の繰り返しなど、多段階ステップが必要になる。さらに、有機溶剤や毒性のある試薬を使用して合成する場合、生成後の洗浄工程での手間やコストがかかるとともに、環境負荷が大きいという課題もある。一方で、疎水性相互作用や静電相互作用による物理吸着は、材料を混ぜるだけのシンプルな手法であるが、粒子表面に固定化した機能性物質が容易に外れるという問題がある。本研究では、ソープフリー乳化重合を基盤とし、物理吸着のシンプルな固定化操作を維持したままで、化学結合と同程度の強固な固定化を可能にする表面修飾技術を確認し¹⁾、この基礎技術によりウイルスの高感度検出が可能な粒子を合成して、ウイルス検出剤としての実用化を目指すことを目標としている。

【実験】

ヒト型インフルエンザウイルスおよびSARS-CoV-2を特異的に認識する $\alpha 2,6$ 結合型シアロ糖鎖を表面固定化したポリマー粒子の合成を試みた。糖鎖は密に集積させることでウイルスとの結合親和性を大幅に向上できることから、ペプチド鎖1本あたり約2000個の $\alpha 2,6$ 結合型シアロ糖鎖および疎水基を導入した分子²⁾をポリメタクリル酸メチル(PMMA)粒子表面に固定化することを検討した。水溶媒に、モノマーとしてメタクリル酸メチル、重合開始剤として過硫酸カリウム、蛍光色素としてローダミンB、シアロ糖鎖ポリペプチド、PMMA表面への夾雑物の非特異吸着を抑制するためのポリエチレングリコールを加え、70℃で重合して粒子を得た。

【結果と考察】

図1の生成粒子（小粒子分離後）の走査型電子顕微鏡（SEM）像より、平均粒径270 nmの粒径均一性が高い粒子を確認した。図2の生成粒子の蛍光顕微鏡像より、個々の粒子が水中で凝集せずに分散していること、および蛍光検出可能なことを確認した。図3に、不活化したヒト型インフルエンザウイルス（(H3N2) A/Panama/2007/99）を塗布したメンブレン上に、糖鎖固定化粒子分散液を滴下後、蛍光励起ライト（Ex:505 nm）を照射した様子を示す。ウイルス塗布部が蛍光発光したことから、生成粒子はウイルス認識能があることが示された。現在、本粒子を用いたウイルス検出キットの開発を進めている³⁾。

【参考文献】1) Yamauchi, *et al.*, *Colloids Surf. A*, 580 (2019) 123754

Yamauchi, *et al.*, *Colloids Surf. A*, 604 (2020) 125299、特願 2021-105030

2) Ogata, *et al.*, *ACS Appl. Bio Mater.*, 2 (2019) 1255-1261

3) 特願 2022-072253

【謝辞】本研究は、AMED「橋渡し研究戦略的推進プログラム」筑波大学拠点 令和3年度、令和4年度（JP211m0203010、JP22ym0126803）の支援を受けたものである。

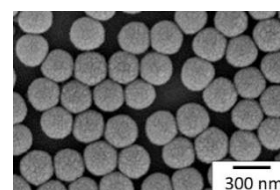


図1 生成粒子のSEM像

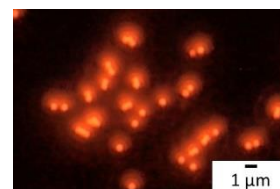


図2 生成粒子の蛍光顕微鏡像

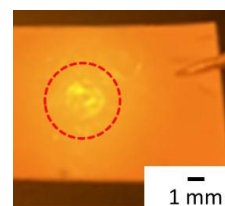


図3 ウイルス塗布部に粒子分散液を滴下した後のメンブレンに、蛍光励起ライトを照射した様子

Synergistic effects of cell morphology and extracellular viscosity on differentiation of human mesenchymal stem cells

^{1,2}*Jing Zheng, ^{1,2}Yongtao Wang, ¹Naoki Kawazoe, and ^{1,2}Guoping Chen

¹ Research Center for Functional Materials, National Institute for Materials Science, ² Department of Materials Science and Engineering, Graduate School of Pure and Applied Sciences, University of Tsukuba

[Introduction]

Natural tissues exhibit viscoelasticity properties which has led to the strong interests on studying the influence of matrix elasticity(stiffness) on cells. Recently, some researchers have reported viscosity also affects cell functions. However, it is difficult to exclude the effect of cell morphology when exploring the effect of viscosity on cells using conventional culture methods. In this study, micropatterned surfaces were used to control the cell morphology of human mesenchymal stem cells (hMSCs) and the effect of extracellular viscosity on osteogenic and adipogenic differentiations of hMSCs with controlled morphology was investigated.

[Experimental]

Tissue culture polystyrene (TCPS) discs were coated with photoreactive poly(vinyl alcohol)(PVA) to prepare micropatterned surfaces by UV treatment under a photomask. Micropatterns on the prepared surfaces used to control cell morphology were circles of different size (30, 40, 60 and 80 μm diameter) and 60 μm diameter circle of different aspect ratio (1:1, 2:1, 4:1 and 8:1). The hMSCs cultured on the micropatterned surfaces were treated by osteogenic or adipogenic induction media with different viscosities. The viscosity of the media was adjusted by adding high-molecular weight polyethylene glycol (PEG) and low-molecular weight PEG with different weight ratios but keeping the total polymer concentration all the same as 1 wt%. To examine the osteogenic differentiation, alkaline phosphatase (ALP) staining and alizarin red S staining were performed after 2 weeks and 3 weeks culture respectively. Oil red O (ORO) staining was performed to check the adipogenic differentiation after the cells were cultured for 2 weeks.

[Results and Discussion]

The cell morphology of hMSCs cultured on the micropatterned surface was well controlled. After the cells were treated by osteogenic induction media with different viscosity for 2 weeks, the percentage of ALP-positive cells was counted. For large cells (circles with diameter of 40, 60, and 80 μm), the percentage of ALP-positive cells increased with increasing viscosity. Small cells (30 μm) showed the same level of ALP activity in different viscosity. When hMSCs were cultured on the 60 μm circle and ellipse micropatterns with a fixed size but different aspect ratio, the cells with the highest aspect ratio (8:1) showed enhanced ALP activity in high viscosity. After 3 weeks culture, the alizarin red S staining of calcium deposition showed a result consistent with that of ALP staining. When the cells were cultured in adipogenic induction media with different viscosity, ORO staining of the oil lipid was performed after 2 weeks culture. The percentage of ORO-positive cells with shapes of circles of 60 and 80 μm decreased with increasing viscosity. While the cells of 30 and 40 μm showed no obvious difference of the percentage of ORO-positive cells in different viscosity. The highly elongated cells (aspect ratio of 8:1, same area of 60 μm circle) showed decreased ORO-positive cells in higher viscosity. These results indicated that viscosity of culture medium could affect osteogenic and adipogenic differentiation of large hMSCs more significantly than small hMSCs. High viscosity could promote osteogenic differentiation while inhibit adipogenic differentiation. The effect of high viscosity was enhanced by high aspect ratio. Cell morphology and extracellular viscosity showed synergistic effects on osteogenic and adipogenic differentiation of hMSCs.

ヒト iPS 細胞由来心臓ペースメーカー細胞の分取法の確立と 培養基質の検証

○吉岡諒太^{1,2}、佐藤佑哉^{3,4}、孫略¹、寺村裕治³、山崎淳司²、白吉安昭⁵、森川久未^{1,*}
1. 産総研・健康医、2. 早稲田大・創造理工、3. 産総研・細胞分子、4. 東京大院・工学系、5. 鳥取大院・医学系

*Contact information: 森川久未 (kumi-morikawa@aist.go.jp)

心臓の心拍数は、洞結節に存在するペースメーカー細胞が制御している。このため、ペースメーカー細胞の機能不全は、徐脈性不整脈などの重篤な不整脈を発症する。しかし、ヒト心臓のペースメーカー細胞は生体からの直接採取が困難であるため、研究解析は進んでいない。一方で、ヒト iPS (induced Pluripotent Stem) 細胞は、多能性と無限増殖能を有し、分化誘導によって種々の細胞種を生み出すことができる。このため、ヒト細胞の細胞供給源として有用である。そこで本研究では、ヒト iPS 細胞の心筋分化誘導系からペースメーカー細胞の選別分取法の開発をおこなった。ヒトペースメーカー細胞を大量に利用できるようになれば、基礎研究に利用するだけでなく、不整脈の病態モデルの開発や生物学的ペースメーカーとして再生医療に利用すること、創薬時の心毒性試験などに応用することが可能となる。

ヒトペースメーカー細胞の選別分取のために、ペースメーカー細胞の自動能(自発性活動電位)に必須である HCN4(Hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated channel 4) イオンチャネルを GFP (緑色蛍光タンパク質)、ペースメーカー細胞の発生過程でマーカーとなる Shox2 (Short Stature Homeobox 2) 転写因子を mCherry (赤色蛍光タンパク質) で可視化する二重改変 iPS 細胞 (X42s-10 株) を樹立した。この X42s-10 株を心筋細胞へ分化誘導すると、分化誘導後 10 日目以降から心筋拍動部位で特異的に GFP 蛍光を確認でき、さらに分化誘導後期で mCherry 陽性の二重陽性細胞 (HCN4^{GFP}/Shox2^{mCherry}) が出現することが分かった。また、分化誘導後 30~50 日目では蛍光強度が増加する様子を観察できた。この二重陽性細胞を FACS (fluorescence-activated cell sorting) を用いて分取し、パッチクランプ法により電気生理学的特性を解析すると、ペースメーカー細胞の特徴である自動能を検出することができた。以上より、X42s-10 株の心筋分化集団からペースメーカー細胞を可視化でき、特異的に分取可能であることが分かった。

一方、本研究で対象とした HCN4 は、心臓の発生過程初期には、心臓前駆細胞マーカーとして機能することが知られている。そこで、X42s-10 株を利用し、HCN4 陽性の心臓前駆細胞を分取後、各種の細胞外マトリックス (Extracellular matrix: ECM) 上で培養し、前駆細胞の接着性や生存率について検証した。具体的には、ゼラチン、マトリゲル、コラーゲン I 型、フィブロネクチンの 4 種類の ECM でコーティングした培養皿と、培養基質なしの培養皿を用い、①播種後 2 日目に CCK-8 (Cell Counting Kit-8) アッセイにより生存率の測定、②播種後 4 日目に心筋細胞のマーカーである α -Actinin 陽性細胞の免疫染色と細胞数の計測を行なった。結果、培養基質を用いない場合と比べて、全ての ECM で心筋細胞の接着性、生存率が 1.8~2.1 倍に有意に増加することが判明した。さらに、各種 ECM 間では、ゼラチンとマトリゲルに比べて、コラーゲン I 型とフィブロネクチンで細胞の接着性が増加する傾向にあることが分かった。以上の結果より、特定の ECM を用いることで分取後の心臓前駆細胞を効率良く生存させることが分かった。このように前駆細胞の培養を工夫することにより、終分化により増殖能を失ったペースメーカー細胞の分取量を増大させることができる可能性がある。

キーワード: ヒト iPS 細胞、心臓、ペースメーカー細胞、純化法、培養基質

High-Throughput Drug Screening using 3D Tumor Model containing Induced Cancer-Associated Fibroblasts for Pancreatic Ductal Adenocarcinoma Treatment

^{1,2*}Xiaoyu Song, ^{1,2} Yasuyuki S. Kida

¹ Stem Cell Biotechnology Research Group, National Institute of Advanced Industrial Science & Technology (AIST), Center 5-41, Tsukuba, Ibaraki, Japan

² School of Integrative & Global Majors (SIGMA), Tsukuba Life Science Innovation, University of Tsukuba, Japan

Pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC) is a refractory solid cancer presenting as an advanced malignancy. To optimize the treatment of PDAC, high-throughput 3D models that screen thousands of drug candidates are urgently needed. However, commonly used 3D models lack the reproduction of tumor microenvironment, including cellular heterogeneity and its reciprocal signaling. To solve it, we are targeting cancer-associated fibroblasts (CAFs), which serve as the key component of the PDAC tumor environment and contribute to tumor proliferation, cellular heterogeneity, reciprocal signaling, as well as drug resistance. In our previous study, heterogeneous CAFs were established *in vitro* and *in vivo* by co-culturing adipose-derived Mesenchyme Stem Cells (MSCs) and PDAC cells. Following this strategy, in this study, to further reproduce the high density and stiffness of PDAC, we are using the fibroblast-populated collagen lattice model to establish a stromal-rich microenvironment. We demonstrated a clinical-like PDAC morphology in this 3D model by H&E staining. To understand the detailed molecularity, immunostaining and ELISA will be performed. At the later stage of this study, we expect this 3D tumor model could be applied for rapid and large-scale drug screening, which may shorten the process of clinicalization and time to market.

3D Tumor Model with Perfusable Blood Vessels

^{1,2*}Rinki Singh, ²Nobuhito Mori, ³Ryo Tsumura, ³Yoshikatsu Koga, ^{2,4}Yasuyuki S. Kida.

1. *School of Comprehensive Human Science, Life science innovation, University of Tsukuba*
2. *Cellular and Molecular Biotechnology Research Institute, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST)*
3. *Exploratory Oncology Research and Clinical Trial Center, National Cancer Center*
4. *School of Integrative and Global Majors, University of Tsukuba*

The tumor microenvironment primarily consists of cancer cells, cancer-associated fibroblast, extracellular matrix, and the tumor blood vessels, which is additionally infiltrated by immune cell and other cells. The cell survival, proliferation, and drug resistance of cancer are influenced by the tumor microenvironment. To better understand and develop new therapeutic approaches, *in vitro* models of the tumor microenvironment are being actively developed. However, no model system for simulating the human tumor microenvironment has yet been developed, that has the same characteristics as the tumor microenvironment which has blood-flowing tumor vessels, high-density cancer cells, and a rigid extracellular matrix. This is a major impediment in cancer research and anticancer drug testing. In this study, we constructed a three-dimensional cancer tissue consisting of cancer cells, vascular endothelial cells, and collagen gel, utilizing a perfusion device with a stable tissue-holding mechanism. The cells and collagen were densified by the phenomenon of contraction brought on by cell self-assembly and the creation of capillaries was aided by perfusing the main vessels built in the tissue's center with a culture medium using the needle removal technique. This tissue construction method successfully formed perfusable main vessels and capillary networks in all four cancer cell lines. Additionally, after administering the anticancer medicine doxorubicin to the tissues, the reduction in the number of cancer cells in the tissues could be assessed with the help of imaging. Furthermore, CD8-positive T cells were perfused into the tissues, and their infiltration into the tissues was successfully evaluated by immunostaining and other histological methods. These results imply that this device can be used for numerous cancer cell types. Additionally, expected to evaluate the efficacy and development of anticancer drugs and precision medicines. In the future, we aim to evaluate antibody drugs and T-cell-based therapies.

脳-腸相関を解析するための迷走神経誘導技術の開発

¹ 国立研究開発法人 産業技術総合研究所 生命工学領域 細胞分子工学研究部門、

² 筑波大学大学院ライフイノベーション学位プログラム、

³ 筑波大学大学院グローバル教育院

○二橋 佑磨¹、高山 祐三¹、赤木 祐香^{1, 2}、木田 泰之^{1, 3}

【緒言】

食品や薬剤開発では臨床試験を行う前に動物実験によって分子毒性などを評価することが一般的であるが、従来法の予測精度は十分ではない。また、動物福祉の観点から、化粧品、食品業界では動物実験が中止となり、医薬品業界においても実験動物に依存しない試験法の活用が求められている。とくに、生体における食品免疫を検討するためには、脳腸軸の主軸である迷走神経の働きに着目した新たなアッセイシステムが必要とされる。この観点から、腸管を起点とする迷走神経求心路を介した脳への入力および脳から迷走神経遠心路を介して炎症応答等の身体生理に及ぼす影響・効果を評価可能な生体外の培養システムの開発が期待されている。しかし、この神経路を構成するための迷走神経について、これまでに生体外にて分化誘導された報告はなかった。この課題を踏まえて本研究では、ヒト多能性幹細胞から迷走神経を高効率で誘導する技術を開発した。

【方法】

様々な低分子化合物を段階的に用い、ヒト多能性幹細胞株（201B7 株）から神経堤細胞を経て迷走神経を誘導した。また、RNA シーケンスおよびシングルセル解析によって迷走神経関連遺伝子の発現量を網羅的に調べた。同時に、誘導した神経細胞の免疫染色を行い、その形態学的評価を行った。神経細胞の機能評価は、電気活動評価（カルシウムイメージング）によって行った。

【結果】

分化誘導 13 日後の 201B7 株において、神経堤細胞マーカー SOX10 および NGFR の発現量の増加を認めた。分化誘導 52 日目の神経細胞では、PHOX2B、PRPH、ChAT を発現することを免疫染色によって確認した。これらのことから、低分子化合物による分化誘導によって、ヒト多能性幹細胞から成熟した神経細胞が誘導されることを確認できた。誘導した迷走神経のシングルセル解析では、受容体の発現が異なる多様な神経が誘導されていることが示唆された。カルシウムイメージングでは、神経アゴニストに強く反応する機能的な細胞であることが示された。また、いくつかの腸内細菌代謝物や消化管ホルモンに対しても、作製した神経細胞が応答することを認めた。

以上のように、我々は低分子化合物によってヒト多能性幹細胞から迷走神経の細胞誘導に成功した。現在、生体外で脳腸相関を模倣した次世代型ヒト脳腸軸オンチップモデルを開発し、腸内代謝物を評価できる動物実験代替法の確立を目指している。

水中運動中における血行動態と換気応答

¹ 国立研究開発法人産業技術総合研究所・人間情報インタラクション研究部門○星 大輔¹、福家 真理那¹、樽味 孝¹、菅原 順¹

【緒言】水中運動は陸上運動よりも運動中の下肢関節の負担が軽減されるため、疾患患者や高齢者に対する運動療法およびリハビリテーションとして期待されている。先行研究において、水圧は血行動態および呼吸機能に影響を及ぼすことが明らかにされている。浸水時は水圧が下肢の血液量を胸部に移動させるため、静脈還流量が増加する。したがって、心臓から拍出される安静時一回拍出量は陸上より高値を示し、心拍数は低値を示す。このような血行動態の変化は、胸腔内の血液量を増加させ、肺の柔らかさの指標となる肺コンプライアンスを低下させる。結果として、呼吸の仕事量は陸上よりも高くなる。先行研究により、浸水安静時に生じるこのような一連の関係性は明らかにされているものの、水中運動中の血行動態と換気応答は明らかにされていない。本研究は、低強度から中等度運動強度の水中および陸上自転車運動を実施し、血行動態および換気応答を明らかにすることを目的とした。

【方法】12名の健常男性（年齢：24 ± 1歳、身長：174.8 ± 4.3 cm、体重：68.1 ± 5.7 kg、BMI：22.3 ± 1.6 kg/m²）が本研究に参加した。対象者は実験室に3度来室し、以下の順で測定を実施した。1) 漸増運動負荷試験による最高酸素摂取量測定、2) 水中自転車運動（水中条件）、3) 陸上自転車運動（陸上条件）。水中条件では、水温および水深の設定された水槽（31～32℃、対象者の剣状突起水位）に入水した後、水中セミリカンベントバイクで4分間安静座位姿勢をとり、自転車運動を開始した。対象者は5分間ごとに30、45、60回転（ステージ1、2、3）と回転数を増加させる漸増自転車運動を実施した。陸上条件では、4分間の安静座位を陸上でとった後に、60回転で15分間継続的に自転車運動を行った。水中自転車の各ステージで記録された酸素摂取量と一致させるため、5分間ごとに自転車の負荷（ワット）を調節した。運動前安静と運動中において、血行動態の指標として一回拍出量、心拍数、心拍出量、末梢血管抵抗、収縮および拡張期血圧を測定した。換気指標は分時換気量、呼吸数、一回換気量、吸気および呼気相に区別した呼吸時間、一回換気量、呼吸速度を測定した。測定データは各ステージの定常状態となる最後30秒間のデータを平均化した。

【結果】水中および陸上運動における体重で補正した酸素摂取量は有意な環境条件の主効果および交互作用は認められず（ $P = 0.101$ 、 $P = 0.187$ ）、安静からステージ3まで運動強度が増加した（ステージ1：水中 5.6 ml/kg/min vs. 陸上 5.8 ml/kg/min、ステージ2：水中 8.9 ml/kg/min vs. 9.4 ml/kg/min、ステージ3：水中 16.9 ml/kg/min vs. 陸上 17.1 ml/kg/min）。血行動態において、一回拍出量は有意な交互作用を示し（ $P = 0.009$ ）、安静時からステージ2において水中条件のほうが陸上条件よりも有意に高かった（ $P < 0.05$ ）。末梢血管抵抗においても有意な交互作用を示し（ $P = 0.001$ ）、安静からステージ2において水中条件は陸上条件よりも有意に低かった（ $P < 0.05$ ）。水中条件は陸上条件よりも有意に高い心拍出量（環境主効果： $P = 0.021$ ）と有意に低い心拍数（ $P = 0.012$ ）を示したが、有意な交互作用は示さなかった（ $P = 0.366$ 、 $P = 0.689$ ）。水中条件は陸上条件よりも有意に低い収縮期および拡張期血圧を示した（環境主効果： $P = 0.001$ 、 $P = 0.001$ ）。さらに、収縮期血圧は有意な交互作用を示し（ $P = 0.001$ ）、安静からステージ3にかけて水中条件の収縮期血圧は陸上条件よりも有意に低かった（ $P < 0.05$ ）。換気指標において、呼吸数、吸気時間、吸気速度は有意な交互作用を示した（ $P = 0.017$ 、 $P = 0.007$ 、 $P = 0.006$ ）。下位検定の結果、ステージ3の水中運動中に呼吸数が陸上条件よりも高値を示し（ $P = 0.012$ ）、吸気時間は低値を示した（ $P = 0.025$ ）。また、ステージ3において水中自転車運動中の吸気速度は陸上よりも有意に高値を示した（ $P = 0.035$ ）。

【結論】水中運動中の血行動態は、浸水安静時にみられる一回拍出量の増加と心拍数の低下が中等度運動時まで継続し、運動による血圧の上昇も軽減されていた。さらに、中等度水中運動は吸気時間が短縮し、呼吸数が増加したため、運動中の肺の拡張（吸気）を制限する可能性がある。本研究結果は水中運動が心臓血管系に負担をかけず、呼吸筋機能を鍛える運動様式として活用できることを示唆した。

経皮的大動脈弁置換術（TAVI）治療前後の 血行動態と認知・運転操作に関する探索的研究

¹筑波大学大学院 人間総合科学学術群 フロンティア医科学

²筑波大学 循環器内科

³筑波大学医学医療系橋渡し・臨床研究学

⁴産業技術総合研究所

○野口 拓弥¹、町野 毅²、橋本幸一³、石井圭⁴、小峰秀彦⁴、平谷太吾²、渡部浩明²、星智也²

【緒言】

1)目的：

わが国では高齢化社会の進展に伴い、高齢者の免許保有者数は年々増加しており、高齢ドライバーによる交通事故が社会的に注目されている。自動車性能、道路状況、交通指導などにより交通事故件数は年々減少傾向にあるが、死亡事故の占める割合のうち高齢者の割合が増加傾向にある。高齢ドライバー交通事故の要因の1つとして認知機能低下が報告され、今後、日本社会の高齢化の更なる進行に伴い、認知機能低下に関連した健康起因交通事故の増加が予想される。

こうした認知機能低下の1つの要因として大動脈弁狭窄症に伴う脳血流への影響が可能性として考えられている。大動脈弁狭窄症に対する治療として経皮的大動脈弁置換術（TAVI）を受けた患者を対象として、TAVIの治療前後で、血行動態・認知機能・運転操作の関連を探索し、認知機能低下・運転リスクを早期発見するための要因を調査することを目的として、研究を進めている。

2)方法：前向き探索的観察研究

TAVI 治療前・治療後約1ヵ月・治療後約6ヵ月の3つの時点で、以下のデータを収集し、解析する。

- ・組み入れ基準：大動脈弁狭窄症に対する TAVI 治療を実施する 65-85 歳の方で、
運転経験のある方を対象とする
- ・除外基準：運転操作ができない方、脳卒中の既往、片麻痺、脳動脈クリップ、MRI の禁忌に該当する方、そのほか主治医が不適当と考えられる方。
- ・主要評価項目：
ドライビングシミュレータ（DS）運転時の修正操舵の指標である操舵角データの
高周波数パワー値（degree²/Hz）
- ・副次評価項目：
DS 運転時データ：運転挙動、視線、音声・顔画像、心電図、脈波、運転関連アンケート
脳 MRI データ（非造影）：脳構造（T1・DTI 等）、脳血流（Phase contrast）等
日常生活機能データ：認知機能検査 MoCA-J データ、活動量計測
生活状況等に関する質問紙への回答(POMS2、DASC-21)
臨床データ：心臓超音波検査・血液検査の計測値

フェニルボロン酸含有超高分子を用いた新規ホウ素製剤の有効性評価

○竹内春¹⁾、菅原裕^{1) 2)}、東大志^{3) 4)}、伊敷帆夏⁴⁾、松本孔貴⁵⁾

¹⁾ 筑波大院、²⁾ 筑波大附病院陽セ、³⁾ 熊本大院先導機構、⁴⁾ 熊本大院薬、⁵⁾ 筑波大医学医療系

【目的】

現在、手術、化学療法、放射線治療が癌の3大療法として広く実施されており、第4の治療法として免疫療法も注目され始めている。第5の治療法である BNCT は、ホウ素と熱中性子による核反応を利用した新たな治療法であり、その特徴として1回で照射が終了すること、がん細胞のみを選択的に破壊するため、患者の QOL を維持できる点が挙げられる。しかし、現在 BNCT で主に使用されているホウ素薬剤ステボロニンの主成分である BPA は、治療効果は確認されているものの癌種が限定されていること、治療開始前から治療終了まで照射中も含めて3時間もの継続投与が必要であり、患者や医療従事者の負担となること等が課題となっている。新規ホウ素製剤である超分子ボロン酸 (FPBA-PRX) は、BPA と異なる作用機序により、BNCT の適応疾患の拡大、ワンショット投与での効率的投与等、BNCT が抱える課題の解決を可能にする薬剤である。そこで、新規ホウ素製剤による BNCT の普及、適応拡大、治療効果の向上、治療の効率化を目的に研究を行った。

【方法】

BALB/c マウスの右脚大腿部に Colon26 細胞を移植し、担がんマウスを作成した。熊本大学東准教授（共同研究先）が合成した新規ホウ素製剤 FPBA-PRX、FPRX、BPA を投与したのち、茨城県東海村にある加速器 BNCT 装置を用いて中性子を照射し、腫瘍サイズ、一般状態、体重、血球細胞数の変化について、1か月程度飼育・観察を行った。照射日から約1ヶ月後、腫瘍及び周囲正常組織を摘出し、免疫染色により組織変化を確認する予定である。また、右脚大腿部に Colon26 細胞を移植した担がんマウス (BALB/c) を作成し、FPBA-PRX を尾静脈より投与し、ICP-MS にて正常組織、腫瘍組織のホウ素取り込みを確認する予定である。

【結果および考察】

熊本大学東准教授の研究により、シアル酸が高発現した Colon26 細胞において、FPBA-PRX はシアル酸を介してがん細胞に効率よく取り込まれることが示された。蛍光標識-FPBA-PRX を用いて、Colon-26 担癌マウスにおける体内動態を確認した結果、心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓などの正常臓器に比べ、がんにも最も集積することが示された。現在 BNCT による状態変化を観察、検討中である。

出展企業

企業展示

出展社名・主な出展物

GLIT

<https://glit-japan.com/>

茨城県内を中心とした、ものづくり企業 13 社による共同受注体です。

有限会社三協インターナショナル

<https://www.fundou.shop>

試験・研究機関向けの電子天びん及び電動式ピペット。また、分銅の JCSS 校正証明書付の E2 級分銅等

茨城リネンサプライ株式会社

<http://iblinen.jp>

筑波大学臨床検査医学様との共同研究で開発中の、H E P A フィルター付き陰圧ブース他をご紹介します。

inkbox ink Japan 合同会社

皮膚への着色を目的とした唯一のペン製品。約 2 週間肌の上に着色され、患者や技師の負担軽減が期待される

つくば医工連携フォーラム 2023 予稿集
発行日 2023 年 1 月 15 日
編集・発行 つくば医工連携フォーラム 2023 事務局
〒305-8576 茨城県つくば市天久保 2-1-1
国立大学法人筑波大学つくば臨床医学研究開発機構