メカノバイオシステム*

Mechano-bio Systems

新井史人** 林 育菁** 山西陽子**

Fumihito ARAI, Yuching LIN and Yoko YAMANISHI

Key words mechano-bio systems, MEMS, μ -TAS, microactuator, arterial tissue engineering

1. はじめに

日本は近い将来、超高齢化社会に突入する。医療技術の進歩により、低侵襲治療が普及し、手術成績が向上することで、寿命が延び、労働年齢は引き上げられる。高い治療成績をあげるために必要となる先端医療システムの需要は益々増加し、低侵襲医療や、組織工学や細胞工学とかかわりの深い再生医療において、メカノバイオシステムが果たす役割が大きくなる。

ここで、メカノバイオシステムとは、分子、細胞、組織といった生体を構成する要素を(1)力学的に扱うもの、(2)模擬するものや、(3)生体を構成する要素を取り込んだデバイスやシステムもしくは生体に組み込まれる生体親和性の高い人工物をさすものとする。メカノバイオシステムを実現するための基盤技術の多くは、これまで精密工学の中で培われてきたナノ・マイクロ加工技術などがベースとなっており、バイオ・メディカル分野との境界領域において新たな展開を見せている。そこで、本稿ではメカノバイオシステムに焦点をあてて、筆者らが取り組んでいる最近のトピックスを紹介する。

2. メカノバイオシステムの例

まず、メカノバイオシステムに属すると考えた研究テーマを列挙してみる。

(1) 生体要素を扱う(操作、加工、外科的治療)。

バイオ操作(分子操作、細胞操作、組織操作)

自己組織誘導(分化制御)

遺伝子解析、遺伝子操作

細胞分離、細胞融合、加工、クローニング作業

細胞・組織培養、タンパク合成

外科的治療・診断システム

カテーテル

内視鏡、鉗子(バイオプシー、ESD など) など

(2) 生体要素を模擬する。

教育・トレーニング・評価用超精密人体ロボットなど

(3) 生体要素を取り込むもしくは生体に組み込まれる。

再生医療、生体親和性スキャホールド

人工臓器、人工血管、ステント

バイオ素子、バイオセンサ、バイオアクチュエータなど

(1) に関しては扱う対象物が小さいこと、外科的医療に関しては傷口をなるべく小さくした低侵襲治療が要求され、(2) シミュレータに関しては物理的スケールも含めてリアリティが要求されること、(3) に関してはデバイスの設計・製作とその生体親和性の評価がミクロな視点で要求されることを特徴としている。このため、メカノバイオシステムの研究開発に共通していえることは、ナノ・マイクロの視点からシステム設計・製作を行う必要がある点である。以下では、具体的な例をいくつかあげて、最近の話題を紹介する。

3. バイオ操作のためのメカノバイオシステム

3.1 バイオ操作の特色

生体の要素を対象として、これまで様々な微細操作技術が提案されてきた¹⁾²⁾。分子、細胞、組織レベルの広い範囲で特定の対象物を極めて高い選択性をもって高精度に操作するマルチスケール操作技術に関しては参考文献3)で述べたとおりである。液体中での微小物体の操作においては外乱の影響を極力なくす必要があるため、閉じた空間での非接触操作や精密な流体制御が必要になる。このため、 μ TASの研究分野で活発化しているバイオチップ技術を活かしたオンチップ非接触操作が適する。

*原稿受付 平成 19 年 3 月 7 日

**東北大学大学院工学研究科バイオロボティクス専攻(仙台市青葉区荒巻字青葉 6-6-01)

新井史人

1993 年工学博士(名古屋大学), 1994 年講師, 1998 年助教授, 2005 年より東北大学教授, 現在に至る。マイクロ・ナノロボット工学等の研究に従事。

林 育菁

2006 年工学博士(東北大学), 2006 年より東北大学助手, 現在に至る。MEMS 関係の研究に従事。

山西陽子

2003 年工学博士(ロンドン大学), 2004 年芝浦工業大学特任講師, 2006 年より東北大学産学官連携研究員, 現在に至る。

バイオチップ内部での非接触操作手法は参考文献 3) に述べたとおり、サイズ依存で適した手法を選択することが現実的といえる。また、操作環境の衛生を保つためには、対象が移動する空間ユニットと制御用ユニットを物理的に分離して、前者をディスポーザブルにするよう配慮することが産業化の上では重要となる。このような観点から、近年我々が開発したクローニング作業の自動化のための卵細胞の操作技術を以下に紹介する。

3.2 マイクロ磁気ツールによる細胞の非接触操作

操作対象物のサイズが百マイクロ前後（例えば卵細胞）になると、光ピンセットでは力不足となり、高速搬送は望めない。一方、磁力はこれに適しているため、マイクロ流路の形状と組み合わせることで卵細胞もしくは流体の制御が可能である⁴⁾。ただし、細胞などの柔らかい物体が混在した流れを扱う場合には、柔らかいマイクロ磁気ツールが望ましい。PDMS に磁性体（例えばマグネタイト）を混合して、厚膜レジストで型どりしたマイクロ磁気ツールが製作できる（ヤング率：サブ MPa）。これをマイクロ流路内で磁気駆動することで、流体制御バルブ、ミキサー、細胞ソーター、フィルタなどが実現できる。

図 1 にコンセプトを示す⁵⁾。図 1 (a) は外部磁場を回転させることによって磁気ツールを回転させる例であり、マイクロ攪拌子などの応用がある。図 1 (b) はステップ駆動回転の例であり、外部磁場を変化させることにより、磁気ツールをステップ駆動し、磁気ツール内のポケットに入った細胞を 1 個ずつ下流へ送るローディング機能を持つ。図 1 (c) は 1 次元並進運動の例であり、流路を磁気ツールの形状に合わせて作成することで、流路を閉じるゲート機能を持たせる。図 1 (d) は並進運動と回転運動の混合運動であり、磁気ツールの重心は楕円軌道を持つ。細胞がこのツール上で保持され回転することで、姿勢を制御する。図 1 (e) は磁気ツールの柔軟性を用いた変形運動である。磁気ツールの一部を変形させ並進運動させることで、バルブ機能やソーティング機能を持たせる。これら磁気ツールはマイクロ流路中におかれて、非接触で駆動されるため、ディスポーザブル化に適している。図 2 には磁性体を含む PDMS 製のマイクロ磁気ツールの例を示す⁵⁾⁶⁾。厚さは 150 μm 前後で、レジストの厚さで調整できる。フォトリソグラフィ技術を用いることで高精度なマイクロ磁気ツールを大量に安価に作成することが可能になった。

マイクロ攪拌子の駆動例では、外部磁場 130~550 mT において 1000~5000 RPM の回転数を実現しており、マイクロ流路内の層流流れを効率的に混合することが可能である。これ以外にも、図 1 (b) に示したセルローダーや、図 1 (c) に示した細胞バルブが実現している。図 3 はレボルバータイプのセルローディングシステムの写真である。マイクロ磁気ツールの柔軟性を用いて細胞にダメージを与えずに送ることが可能である。

図 1 マイクロ磁気ツールによるチップ内アクチュエーター概念図
(a) 連続回転 (b) ステップ駆動回転 (c) 一次元並進運動
(d) 並進運動+回転運動 (e) 変形運動

4. 治療訓練・評価のためのメカノバイオシステム

近年、患者の QOL (Quality of Life) の観点から低侵襲治療が大きな注目を集めている。しかし、同医療は急速な発展・普及段階にあり、手術法の安全性の検証や、医師の

図2 マイクロ磁気ツールファミリー

図3 マイクロ流路内でのステップ駆動

医療トレーニングが十分に行われない段階で臨床に応用される危険性ははらんでいる。このため、医療事故の発生を未然に防ぎ、手術成績を向上するためにも超精密人体ロボットを開発し、訓練センターで適切な指導の元、活用することによって医療技術の進歩が期待できる。

このような背景から、これまで、様々な人体シミュレータが開発されてきた。例えば、カテーテルを使った経皮的脳血管内手術の技術トレーニングや検証を支援し、低侵襲医療の普及と安全性の向上を目指して、透明血管モデルを有する超精密人体ロボット (EVE) が開発された⁷⁾。本ロボットの内部には、CT や MRI 撮影により得られた個人情報に基づき、全身 (大腿動脈から脳動脈の全長約 1.2 m) の血管構造が精度 13 μm にて再現され (特許第 3613568 号, 特許第 3670657 号), 血管内にカテーテル類の医療器具を挿入することによって、脳血管内手術の精密かつ高度なシミュレーションを実現させる。同血管構造には組織物性 (縦弾性係数・摩擦係数等) や、脈動血液循環が精密に再現され、術中における血管の粘弾性変形、医療器具の挙動、医療器具の操作感覚を精密に再現することができる⁸⁾。また、本ロボットには、術中に血管に加わる応力を血管のモデル上に明瞭に可視化し、リアルタイムにて定量的に評価する機能が実装され (特許 2005-315894 など), 医療技術のみならず、疾患の危険度や医療機器の性能等の精密かつ多角的な評価を実現する⁹⁾。

このようなロボットは疾患や手術内容に応じて様々なものが開発されるものと思われる。将来的には生体親和性の高いバイオマテリアルや細胞、組織をくみこんだハイブリッドシミュレータの出現も十分予想できる。

5. 再生医療のためのメカノバイオシステム

5.1 テーラーメイド生体親和性スキャホールド

再生医療により、損傷した組織の機能を回復・維持・改善するためには、精度良く 3 次元生体親和性スキャホールドを製作できることが重要である。スキャホールドの構造と組成の両方が接着した細胞に影響を与えることが知られている。その構造については、従来より微視的および巨視的な 3 次元多孔構造がポロゲン抽出、電界紡糸、積層、成型、3 次元印刷などの方法により開発されてきた。これらの技術から適切なものを組み合わせることによって全く新

しい種類のスキャホールドを作り出すことも可能である。その組成については、生体内移植後の生体吸収性を有する生体親和性材料の利用が望まれている。

特に血管再生の分野においては、これまでに様々な種類の人工血管が開発されてきた¹⁰⁾。人工血管用の材料は生体適合性材料から生体親和性材料に遷移してきており、その強度特性も人間の血管に近づいてきている¹¹⁾。しかし、上に述べたような研究開発に加えて、患者の損傷を受けた血管の形状を忠実に再現することも非常に重要である。これまでに円筒状の人工血管の開発に多大なる尽力が注がれているにも関わらず、患者個人の血管形状を忠実に再現した人工血管を開発した例は報告されていない。我々の研究グループは、4 章で紹介した患者個人の血管形状の再構築技術⁸⁾を組織工学に応用することで、患者の CT データに基づいてテーラーメイドな生体親和性スキャホールドの研究開発に取り組んでいる。患者個人の組織にできるだけ形状の近い人工血管を開発できれば、手術時間が短縮され、体内に移植した後に馴染みやすいと考えた。この実現は 3 次元微細加工技術によるところが大きい。

我々のグループではポリ乳酸・カプロラクトン共重合体 (Poly-L-lactide-co-e-caprolactone, PLCL)¹²⁾を材料として、血管狭窄が起こりやすい頸動脈の分岐部分を生体親和性材料で再現することを目的とし、患者個人の血管形状を再現したスキャホールドを開発する手法を提案した¹³⁾。個人データに基づいた血管形状の再構築技術をディップコート、選択的溶解法、ソルトリーチング法と組み合わせることによって組織工学に応用した。この結果、患者個人の頸動脈形状を再現し、同時に孔も有する生体親和性スキャホールドを製作することに成功した。図 4 に実際に製作したものの 1 例を示す。PLCL の膜厚はディップコートでの引き上げ速度を変えることで調節することが可能であった。スキャホールドのヤング率は、ポリマー濃度と多孔度を変えることによって、0.6 MPa から 5.2 MPa の間で制御可能であった。一般に人間の血管のヤング率は 1 MPa から 3 MPa といわれており、PLCL スキャホールドの強度は十分この範囲を含んでいる。スキャホールドの生体適合性は、ヒトさい帯静脈内皮細胞 (Human umbilical vein endothelial cells, HUVECs) の接着および生存を確認することで確かめられた。本技術は PLCL 以外のポリマーや頸動脈以外の部位にも応用できる可能性を有している。

5.2 細胞の行動形態観察

このスキャホールドは多孔質構造であり、足場内部には血液凝固を防ぐために血管内皮細胞を接着させる。多孔質構造のポアサイズは細胞の接着性に関与し、その表面構造は接着細胞の形態や行動、つまり細胞の成長に影響を与える¹⁴⁾。このため、我々は細胞の行動形態を把握するために、様々な細胞接着表面形状での細胞の行動形態観察を行い、接着表面条件の定量化を行っている¹⁵⁾。図 5 には 3 次元フォトリソグラフィによって作成した PDMS 基板表面の一つのディンプルを示す。また、図 6 にはこの表面で

図4 生体適合性材料による頸動脈形状の再現 (a) 個人データの3次元画像 (b) PLCL製スキャホールド (c) 表面の電子顕微鏡画像

図5 PDMS基板表面のディンプルの電子顕微鏡画像

図6 ディンプルパターンを有するPDMS基板上でのヒトさい帯静脈内皮細胞 (HUVECs) の培養例. バーの長さは10μm (a) 培養前 (b) 培養後の蛍光顕微鏡画像 (核酸とアクチンフィラメントを染色)

培養した HUVEC の接着の様子を示す.

6. お わ り に

メカノバイオシステムに焦点をあてて、筆者らが取り組

んでいる最近のトピックスを紹介した. 精密工学と生命科学, 組織工学などとの学際領域にあたり, 異分野間の融合が盛んで, 視点を変えると新たな発見が期待できる. この分野の今後の発展において, ナノ・マイクロ加工を得意とする精密工学者に対する期待は非常に大きい.

謝 辞

本稿で紹介した内容は, 文部科学省の科研費 (17040017), (17076015) と生研センター異分野融合研究事業の助成を得て行われた.

参 考 文 献

- 1) 新井: マイクロ・ナノマニピュレーション技術の将来展望, 精密工学会誌, **68**, 11 (2002) 1389-1392.
- 2) 新井, 福田: オンチップ細胞応答計測システムインテグレーション: システム細胞工学のための単一細胞解析, 計測と制御, **44**, 7 (2005) 498-503.
- 3) 新井: オンチップ非接触操作技術, 日本ロボット学会誌, **25**, 2 (2007) 178-181.
- 4) H. Maruyama, et al.: On-Chip Microparticle Manipulation Using Disposable Magnetically Driven Microdevices, Journal of Robotics and Mechatronics, **18**, 3 (2006) 264-270.
- 5) 山西, 林, 新井: オンチップ細胞操作システムに関する研究, —その2: 高精度ポリマー製マイクロ磁気ツールの製作と応用—, ロボティクス・メカトロニクス講演会 2007 (掲載予定).
- 6) Y.-C. Lin, Y. Yamanishi and F. Arai: On-chip Temperature Sensing and Control for Cell Immobilisation, 2nd IEEE International Conference on NEMS, (2007) 659-663.
- 7) 福田, 新井, 池田: 脳血管内手術トレーニングのための超精密人体ロボット, 日本ロボット学会誌, **24**, 2 (2006) 183.
- 8) S. Ikeda, F. Arai, T. Fukuda, M. Negoro and K. Irie: An in Vitro Patient-Tailored Biological Model of Cerebral Artery Reproduced with Membranous Configuration for Simulating Endovascular Intervention, Journal of Robotics and Mechatronics, **17**, 3 (2005) 327-334.
- 9) S. Ikeda, F. Arai, T. Fukuda, M. Negoro, K. Irie and I. Takahashi: Patient-Specific Neurovascular Simulator for Evaluating the Performance of Medical Robots and Instruments, Proc. 2006 IEEE Int. Conf. Robotics and Automation, (2006) 625-630.
- 10) T. Matsuda: Recent Progress of Vascular Graft Engineering in Japan, Artif. Organs, **28** (2004) 64-71.
- 11) H. Sonoda, K. Takamizawa, Y. Nakayama, H. Yasui and T. Matsuda: Coaxial Double-tubular Compliant Arterial Graft Prosthesis: Time-dependent Morphogenesis and Compliance Changes after Implantation, J. Biomed. Mater. Res. A, **65A** (2003) 170-181.
- 12) H. Inoguchi, I.K. Kwon, E. Inoue, K. Takamizawa, Y. Maehara and T. Matsuda: Mechanical Responses of a Compliant Electrospun Poly(L-lactide-co-ε-caprolactone) Small-diameter Vascular Graft, Biomaterials, **27** (2006) 1470-1478.
- 13) 池田, 内田他: 患者個人の動脈形状に基づいた生体親和性スキャホールドの開発, ロボティクス・メカトロニクス講演会 2007 (掲載予定).
- 14) C.S. Chen, M. Mrksich, S. Huang, et al.: Geometric Control of Cell Life and Death, Science, **276**, 30 (1997).
- 15) 新井, 中野他: 血管内皮細胞の行動形態に関する研究—フォトリソグラフィーによる細胞接着表面の作製—, ロボティクス・メカトロニクス講演会 2007 (掲載予定).