［研究助成（A）］

ケロイドの予防方法の開発を目指した複数方向の機械振動による細胞遊走の抑制

Inhibition of cell migration by mechanical vibration in multiple directions to develop a preventive method for keloids

2221006

研究代表者　東京大学　大学院工学系研究科　特任研究員　今　城　哉　裕

［研 究 の 目 的］

患者の QOL 向上が重要視されている現代医療において，審美性を損なうケロイドの予防は重要事項の一つである。傷口を開く方向（垂直方向）への繰り返しの刺激によって，傷口の細胞の遊走（移動）が過剰になることでケロイドが発生することがすでにわかっている。そこで，傷口にテープを貼るなどして刺激を低減する処置が施されているが，患者が生活する上でこういった機械刺激は完全には避けられない。そこで，ケロイドの予防のため，患部における細胞の遊走速度を能動的に抑制する必要がある。ここで，in vitro において細胞遊走の方向に対して直行する向きの機械振動を加えることで，細胞遊走が抑制されることを申請者は報告している。そこで，傷口に対して並行な方向の機械振動を付与することでケロイドを予防することを着想した。

具体的な研究の目標として，In vitro において研究のコンセプトを示すことを目指した。傷口に垂直な振動刺激が付与されることでケロイドは発生するため，これを予防するために傷口に並行な振動刺激を加えることでケロイドの発生を防ぐ必要がある。本研究では，このビジョンに向かう第一歩として，“in vitro において機械振動の方向を変化させることで細胞遊走の抑制は可能か？”という「問い」への回答を目指して研究計画を打ち立てた。

［研究の内容，成果］

上記の研究目標を達成するために，本研究では，創傷モデルに対して複数の方向の機械振動を付与する実験系が必要である。このためには，所望の振動刺激を付与可能な創傷モデルの作成，および細胞に付与する振動の方向を制御する技術を確立する必要がある。通常，創傷モデルは培養面に接着した細胞で作成するが，この状態の細胞に対して機械振動を付与すると，培養面において振動が反射されるため，振動の制御が困難である。このため，振動の反射が少ないコラーゲンゲルを足場として創傷モデルを生成する必要がある。また，培養系に付与した振動の方向を測定する方法を構築する必要がある。

本研究では実際にコラーゲンゲル上の細胞に対して超音波を照射する培養システムを構築することに成功したが，超音波をコラーゲンに照射することで様々な現象が発生したためデバイスの大幅なデザイン変更を行い研究を遂行した。本報告書では本経緯を簡潔に記しつつ，副次的に得られた成果について報告する。

① 最初に設計したデバイスについて

本研究では，図１に示すようにコラーゲンゲ

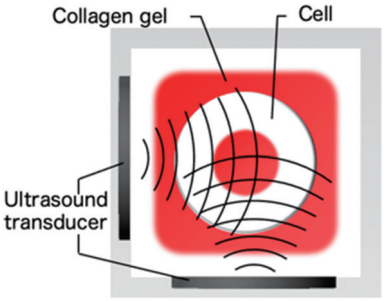


図１　超音波照射システムのデザイン

ルの上に細胞を培養してその遊走を評価するシステムの開発を目指した。しかし，超音波をコラーゲンゲルに照射することで様々な副次的な影響があることが判明したため，②および③に示すような研究計画を立案して遂行した。副次的な影響はいくつかあったが，今回は特にコラーゲンゲルへの超音波照射によって培養温度が急激に上昇することに着目した。

②　熱刺激による細胞応答性評価デバイスについて

コラーゲンゲルにて培養した細胞への超音波照射が培養温度に大きな影響を及ぼすことがあきらかになったため，細胞への熱刺激を付与する培養システムを構築し，熱刺激が細胞に及ぼす影響を検討する実験系を確立することとした。

具体的には，図２に示すような培養システムを開発した。本培養システムは金属製の培養面に温度グラデーションを設けた。この温度グラデーションにより，様々な温度刺激に対する細胞の反応を一度の実験によって評価することができる。また，培養面が熱伝導率に優れた金属であるため，細胞への温度刺激を即時かつ正確に制御することができる。開発したデバイスの温度特性を図３にしめす。図３（A）に示すような位置での温度を図３（B）および（C）に示す。（B）のエラーバーは最大値と最小値を表している。（C）の温度履歴では 30 分後に金属製培養容器をシステムから外した。このように，培養面に対して温度勾配を迅速かつ安定的に提示することができることを示した。さら

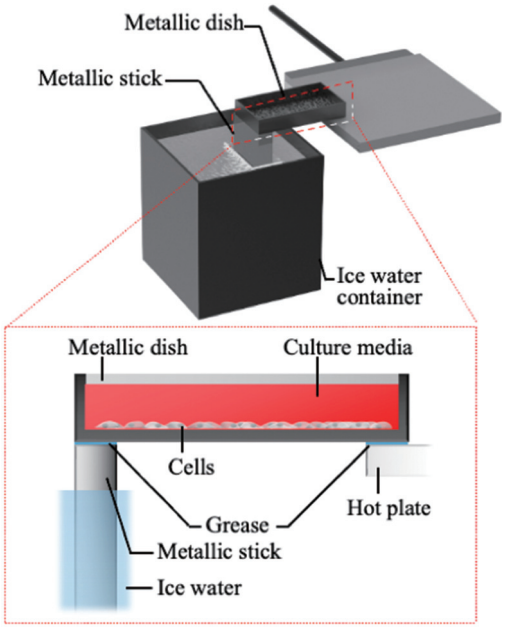
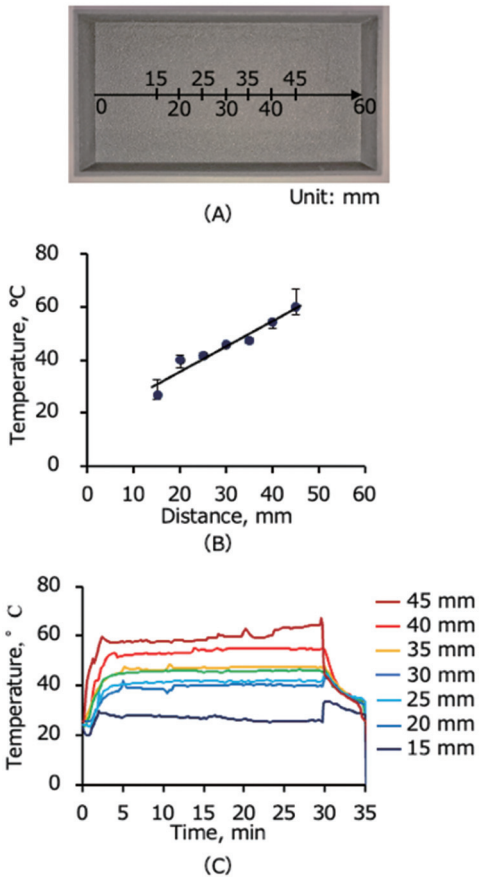


図２　温度勾配提示システム



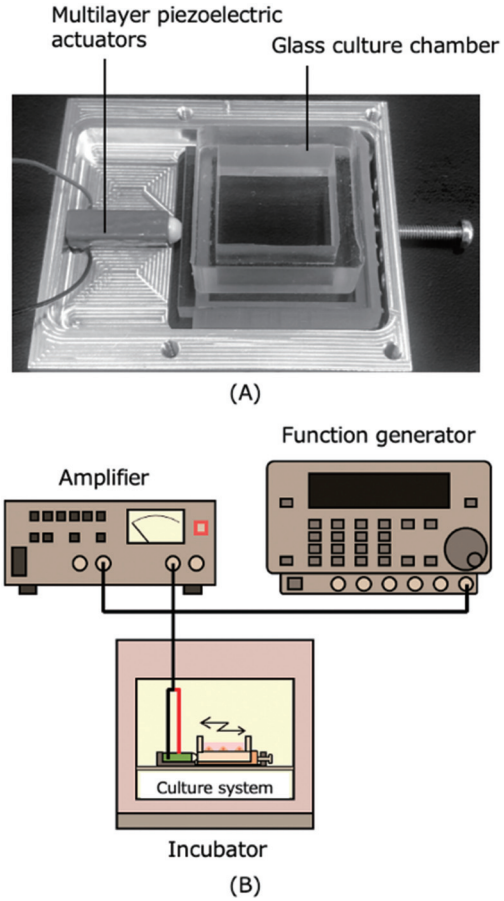
（A）温度測定位置の提示
（B）温度勾配の測定結果
（C）それぞれの位置での温度履歴

図３　温度勾配提示システムの評価

に，システムが実際に細胞実験に使用できることの評価として，がん細胞のモデルとなるMichigan Cancer Foundation-7（MCF-7）細胞と正常細胞のモデルとなるNormal Human Dermal Fibroblast（NHDF）をそれぞれ本システムで培養し，熱刺激を与えて，各細胞の熱刺激に対する反応を調べた。その結果，各細胞の熱刺激への反応は先行研究と同様であること，すなわち，開発したシステムが合理的な設計になっていることを確認した。

③　培養面水平振動デバイスについて

②に示したように，熱への刺激を探りつつ，培養面を水平に振動させることで細胞に対して遊走方向と並行もしくは垂直に超音波刺激を付与するでシステム（図4）を並行して開発した。本システムは，積層型アクチュエータの機械振動をガラス製の培養面に伝播させる構造である。積層型アクチュエータにはファンクションジェネレータと増幅アンプを用いて交流電圧を印加できるため，所望の条件の機械振動を付与できる。現在までに開発したデバイスでは並行もしくは垂直に超音波刺激を選択的に付与するにとどまるが，更なる開発を重ねることで，培養した細胞に対して当初想定した機械刺激を付与できる。



（A）振動部分の写真
（B）全体の構成

図4　培養面水平加振システム

④　まとめ

当初の研究計画を遂行する中で課題を新たに発見し，提案した計画を遂行するために現時点で必要となる知見を得るための計画を策定した。その結果，超音波刺激がもたらす影響の一つである熱刺激が細胞の遊走に及ぼす影響を検討するシステムを構築した。さらに，細胞に対して必要な超音波刺激を付与するためのシステムのデザインを構築した。すなわち研究目標である機械振動による遊走の制御のために重要な知見とシステムを構築することができた。

さらに，本研究を遂行する中で細胞の遊走と培養面の表面形状が密接な関係にあることを着想し，培養面の表面設計に関しての研究も立ち上げることが可能となった。

細胞の遊走を制御することができれば，本研究の目的であるケロイドの予防に限らず，創傷治癒やがんの転移予防など多くの分野への応用が可能となる。

［成果の発表，論文など］

以上の結果について1件の査読付き英語論文を出版し，もう1件の査読付き英語論文を執筆中である。さらに，下記に示す学会や講演で成果または成果の一部についてすでに発表している。

［1］ ○Chikahiro Imashiro, Contribution for SDGs by the Combination between Mechanical engineering, Bioengineering, and AI, International Conference on

Sustainable Aquatic Resources “Application of Science and Technology in Achieving SDGs”, 25th, Oct, 2022, Online. **基調講演**

［2］ ○ Chikahiro Imashiro, Yuta Tokuoka, Kaito Kikuhara, Takahiro G Yamada, Kenjiro Takemura, Akira Funahashi, Development of cell counting app using two-directional macro-scale images of cell aggregates, 2022 JSME-IIP/ASME-ISPS Joint International Conference on Micromechatronics for Information and Precision Equipment, 28th – 31st, Aug, 2022, Online/Nagoya, Japan.

［3］ ○ Chikahiro Imashiro, A fabrication method for in vitro tissue using traveling acoustic wave, International Workshop on Piezoelectric Materials and Applications in Actuators 2022, 24th-26th, Oct, 2022, Online. **招待講演**.

［4］ ○ Natsuki Takanosawa, Chikahiro Imashiro, Kenjiro Takemura, Horizontal vibration stimulation induced by piezoelectric actuator enhances the efficacy of anticancer drug, the 9th International Conference on Manufacturing, Machine Design and Tribology, 8th-11th, Mar, 2023, Jeju, Korea.

［5］ ○ Chikahiro Imashiro, In vitro study using mechanical vibration for the development of regenerative therapy application, The 6th Jc-IFToMM International Symposium（in conjunction with The 29th Jc-IFToMM Symposium on Theory of Machines and Mechanisms）, 12th, May, 2023, Tokyo, Japan. **基調講演**

［6］ ○片倉明日香，高野澤夏暉，今城哉裕，竹村研治郎，培養皿に接着した細胞に加わる音響放射力の定量化，ロボティクス・メカトロニクス 講演会 2022，札幌コンベンションセンター，北海道，2022 年 6 月 1-4 日.

［7］ ○今川翔太，森田晋也，片平和俊，吉川直希，今城哉裕，小茂鳥潤，金属製細胞培養器開発に資する極小径 PCD エンドミルによる Co-Cr 合金の微細溝加工，2022 年度砥粒学会学術講演会，神奈川大学みなとみらいキャンパス，2022 年 8 月 29-31 日.

［8］ 大山泰吾，今城哉裕，○竹村研治郎，生体外培養環境における超音波照射による細胞損傷と周波数の関係（Effect of frequency on ultrasound-induced damage on cells in an in-vitro culture environment），Dynamics and Design Conference 2022，秋田県立大学 本荘キャンパス，秋田，2022 年 9 月 5-8 日.

［9］ ○今城哉裕，静的および動的な機械刺激による細胞の操作 —— 金属培養面への機械加工と超音波アクチュエーションに立脚した技術 ——，2023 年度精密工学会春季大会学術講演会，東京理科大学葛飾キャンパス，東京，2023 年 3 月 14-16 日.**【基調講演】**

［10］ ○今城哉裕，森倉峻，羽山元晶，江面篤志，小茂鳥潤，宮田昌悟，坂口勝久，清水達也，金属 3D プリンターによるメッシュ型細胞シート培養容器の開発，第 22 回日本再生医療学会総会，国立京都国際会館，京都，2023 年 3 月 23-25 日.

［11］ Lyuwei Fan，○今城哉裕，梅津信二郎，坂口勝久，清水達也，Investigating optimum temperature for angiogenesis by the device giving multiple thermal doses，第 22 回日本再生医療学会総会，国立京都国際会館，京都，2023 年 3 月 23-25 日.

［12］ 今城哉裕，超音波による培養細胞の活動制御，第 6 回 精密工学セミナー（東京大学），ウェブセミナー，2022 年 10 月 25 日.

［13］ 今城哉裕，機械工学による細胞のエンジニアリング，一般財団法人慶応工学会 第 128 回セミナー「現代科学・技術の最前線」，慶應義塾大学 日吉キャンパス，2023 年 3 月 16 日.

［14］ Chikahiro Imashiro, Yangyan Jin, Motoaki Hayama, Takahiro G. Yamada, Akira Funahashi, Katsuhisa Sakaguchi, Shinjiro Umezu, Jun Komotori, Titanium culture vessel presenting temperature gradation for the thermotolerance estimation of cells, Cyborg and Bionic Systems, 2023, 7, 0049.