

補助事業番号 2024M-580

補助事業名 2024年度小型自動車等機械振興事業に関する 補助事業

補助事業者名 大阪工業大学 工学部 機械工学科 講師 横山 奨

1 研究の概要

本研究では、動物実験代替法として期待される人工骨格筋(OITem: Osaka Institute of Technology tissue engineered muscle)を用いた薬効評価プラットフォームの高度化を目的とし、収縮力評価用デバイスの量産技術、機能評価技術、運動モード解析技術、および薬効評価技術の開発を実施した。

近年、創薬や病態解明研究において、動物実験に伴う倫理的課題やコスト、種差によるヒトへの外挿性の問題から、動物実験代替法の開発が強く求められている。一方で、従来の2次元細胞培養では、生体内の筋機能を十分に再現することが困難であり、収縮力を指標とした薬効評価は実現できなかった。

本研究では、人工骨格筋の収縮力を非侵襲的に定量評価可能な培養プラットフォームを量産化するとともに、画像解析による運動モード解析技術を組み合わせることで、従来の最大収縮力のみでは評価困難であった応答性や減衰特性を含めた高精度な薬効評価の実現を目指した。

また、収縮力測定に用いるシリコンゴム製マイクロピラーの機械的特性評価技術を確立し、滅菌処理による特性変化の定量評価を行うことで、評価系全体の信頼性向上を図った。

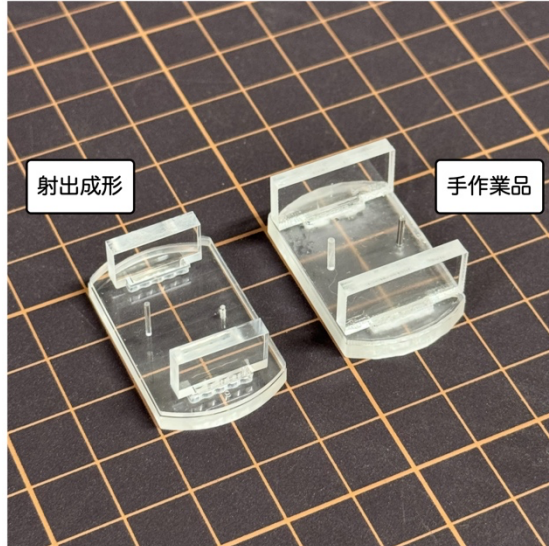
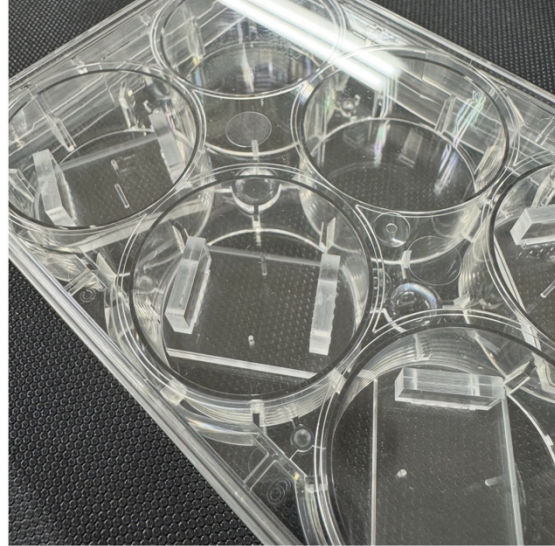
2 研究の目的と背景

筋疾患やサルコペニアなどの治療薬開発では、筋収縮機能を定量評価可能な実験系が重要である。しかし、従来の動物実験は倫理的課題や高コストに加え、ヒトへの外挿性に課題が存在する。人工骨格筋は、生体内に近い3次元構造を有し、筋収縮機能を直接評価可能な次世代評価系として期待されている。しかし、従来の人工骨格筋評価系では、デバイス間ばらつきや電気刺激条件の再現性不足、長期培養時の評価安定性など、多くの課題が存在していた。

本研究では、人工骨格筋の収縮力を高精度かつ再現性良く評価可能な量産型プラットフォームを構築するとともに、収縮波形解析や応答性解析を組み合わせた新しい薬効評価技術を開発することで、動物実験代替法としての実用化を目指した。

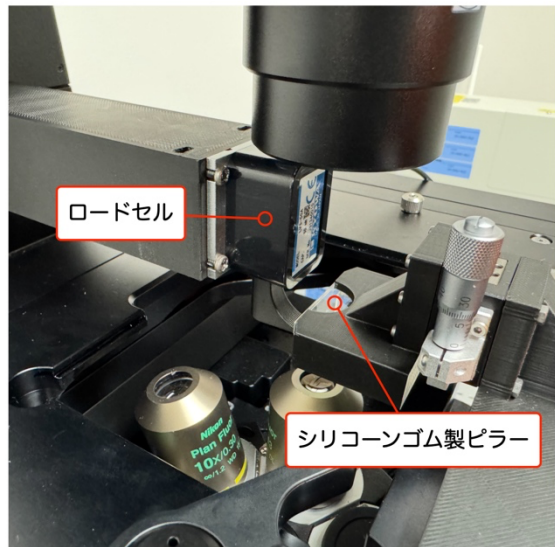
3 研究内容

(1) 収縮力評価用デバイス量産の実現



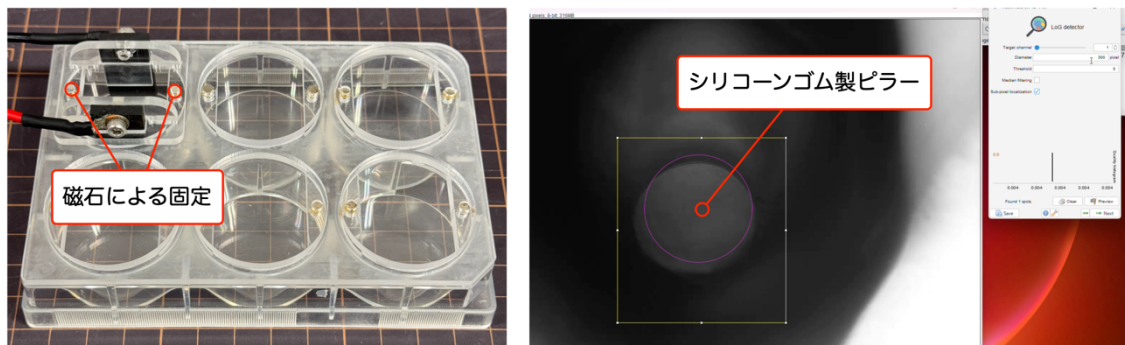
人工骨格筋の収縮力評価に使用するデバイスについて、従来の研究室内手作業による作製から、射出成形を用いた量産化へ移行した。新たに射出成形用鋳型を設計・作製し、初期量産および本格量産を実施した。これにより、従来課題であったデバイス間ばらつきを低減し、高い再現性を有する収縮力評価用デバイスの量産を実現した。

(2) 量産した収縮力評価用デバイスの機能評価技術の確立



電動ステージ、微小荷重ロードセルを導入し、シリコンゴム製ピラーのばね定数測定装置を構築。射出成形により作成した収縮力評価用デバイス量産の性能評価を実施。

(3) 人工筋肉の運動モード解析技術の確立



電気刺激用のカーボン電極を磁石で固定可能な周辺機器を開発。画像解析により収縮時の最大変位量だけでなく、立ち上がり時間、収縮後の減衰特性、収縮波形の変化などを評価可能とする解析手法を構築。

4 本研究が実社会にどう活かされるか—展望

本研究により、人工骨格筋を用いた収縮力評価プラットフォームの量産化と高精度化を実現した。これにより、従来課題であったデバイス間ばらつきや評価再現性の問題を低減し、高スループットかつ高信頼性な薬効評価系の構築が可能となった。また、収縮力だけでなく、応答性や減衰特性などを含めた運動モード解析技術を組み合わせることで、筋機能を多角的に評価可能となった。今後は、筋疾患モデルやサルコペニア研究、創薬スクリーニングへの応用が期待される。さらに、本研究は動物実験代替法としての社会的意義も大きく、創薬研究における倫理的課題やコスト低減への貢献が期待される。

5 教歴・研究歴の流れにおける今回研究の位置づけ

本研究は、これまで当研究室で進めてきた人工骨格筋(OITem)および非侵襲的収縮力評価技術の発展研究である。従来は人工骨格筋の作製および収縮力測定基盤の構築を中心としていたが、本研究では量産化、画像解析、自動化、運動モード解析、生化学的評価を統合し、より実用化・社会実装を強く意識した研究へ発展させた。また、本研究成果は特許出願にも発展しており、今後の産学連携や事業化への展開も期待される。

6 本研究にかかわる知財・発表論文等

1) 特願2025-185516

「非侵襲的収縮力評価デバイス」

2) Nakajima R, Nakanaga Y, Nakamura T, Yokoyama S, Development of a Culture Vessel to Evaluate the Effects of Microgravity on Artificial Skeletal Muscle, The 28th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (MicroTAS 2024 Conference), M171.h, Montréal, Canada, Oct. 13-17, 2024

7 補助事業に係る成果物

・2024 MicroTAS Technical Digest用論文要旨およびポスター



Topic No. (select from the category listing)
Oral or Poster (Indicate your preference for Oral or Poster)

Abstract Reference No: 0650
Poster

Ryo Nakajima¹, Yuika Nakanaga¹, Sho Yokoyama¹, and Tomohiro Nakamura¹
¹Osaka Institute of Technology, JAPAN

Ryo Nakajima¹, Yuika Nakanaga¹, Sho Yokoyama¹, and Temehiro Nakamura¹
¹Osaka Institute of Technology, JAPAN

This paper evaluates the effects of microgravity on artificial skeletal muscles in relation to changes in contractile force and protein responses. Artificial skeletal muscle (iOTem; Osaka Institute of Technology) that mimics living muscle has been developed by seeding C2C12 cells and collagen gel and combining them with titanium tendons [1]. We have developed a culture platform that enables non-invasive measurement of the contraction force of the artificial muscle [2] and have proposed a method of drug efficacy evaluation using this culture platform (Fig. 1). The objective of this study was to investigate the effects of a microgravity environment on the artificial skeletal muscle culture platform. This was achieved by mounting the culture platform and the artificial skeletal muscle on a clinostat (Fig. 2), which produces a simulated microgravity environment.

It has been increasingly acknowledged in recent years that the reduction in muscle mass that accompanies the aging process can result in several adverse health effects, including locomotive syndrome. This syndrome occurs when the breakdown of skeletal muscle proteins exceeds their synthesis, resulting in a loss of motor function and a significant reduction in mobility, potentially leading to complete immobility. At present, there are no available treatment options for this condition, although research into developing an effective treatment is underway. In the process of elucidating the progression mechanism and developing new drugs, animal experiments using mice and other animals are common. However, ethical issues such as low quantitative performance due to individual differences and animal welfare have been highlighted, and the scale of animal experiments has been reduced. Consequently, there is a necessity for the development of cellular assay tools that facilitate more quantitative and rapid evaluation.

The clinostat is a device that uses rotation to simulate 16°G. Due to the rotational motion imparted upon the clinostat by the rotation of the clinostat, a novel culture vessel is required for the containment of the artificial skeletal muscle culture platform, to prevent leakage of the culture medium. The culture vessel that could be mounted on the clinostat was designed and fabricated using an FFF-type 3D printer (Fig. 3). The lid can be fixed without the use of tools in order to facilitate medium exchange while preventing the leakage of culture medium. At the center of the lid, a gas-permeable silicone sheet is attached, thereby achieving the necessary gas exchange during culture.

Artificial skeletal muscles were divided into clinostat culture and control groups, and their contractility was measured. RNA-seq was performed to analyze changes in artificial skeletal muscle proteins. The results showed that the contractility of the clinostat culture group was significantly lower than that of the control group (Fig. 4). RNA-expression of *HSBP4*, a protein involved in the sensing of changes in gravity was elevated. The expression of *Myh1*, a marker of myofibrin formation, was found to be predominantly decreased, while the expression of *Myog*, a marker of muscle differentiation, was also decreased. These findings suggest that the differentiation of muscle cells may be reduced by the microgravity.

Word Count: 496

Topic No. (select from the category listing)
Oral or Poster (Indicate your preference for Oral or Poster)

Abstract Reference No: 0650
Poster

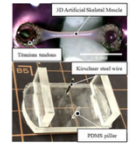


Figure 1: Overall view of artificial skeletal muscle (Top). The artificial skeletal muscle was fabricated between Kirschner wires and PDMS pillars on the platform. Kirschner wires and PDMS pillars are connected to the artificial skeletal muscle via artificial tendons. The contractility of a material can be evaluated by measuring the deformation of PDMS pillars with an artificial skeletal muscle (Bottom).

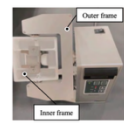


Figure 2: A clinostat is a device that utilizes rotation in order to negate the effects of gravity. Two frames (an outer and an inner frame) are rotated together in order to cancel out the effects of gravity, creating a pseudo-microgravity environment for the mounted object.



Figure 3: Overall view of the fabricated culture vessel and culture platform fabricated using an FFF-type 3D printer, which allows the culture platform to be stored inside the vessel and mounted on the clivostat. A gas permeable silicone sheet in the center of the lid maintains the gas exchange during incubation.

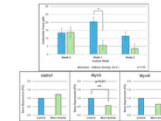
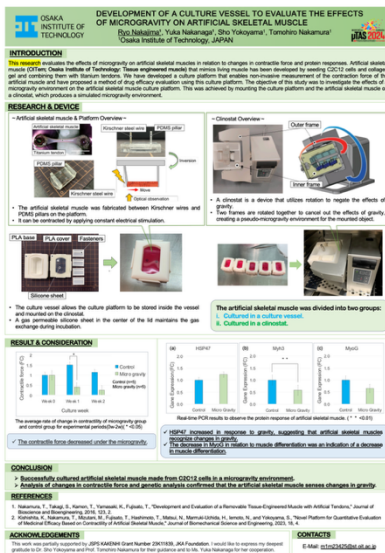


Figure 4: Microgravity-induced changes in contractile force and protein response contractile force. Microgravity reduces contraction of artificial skeletal muscles.

REFERENCES

1. Nakamura, T., Takagi, S., Kamen, T., Yamasaki, K., Fujisato, T., "Development and Evaluation of a Removable Tissue-Engineered Muscle with Artificial Tendons," *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2016, 123, 2.
2. Kishishita, K., Nakamura, T., Mizutani, M., Fujisato, T., Hashimoto, T., Matsui, N., Mamaki-Uchida, H., Imoto, N., and Yokoyama, S., "Novel Platform for Quantitative Evaluation of Medical Efficacy Based on Contractility of Artificial Skeletal Muscle," *Journal of Biomechanical Science and Engineering*, 2023, 18, 4.

28th International Conference on Miniaturized
Systems for Chemistry and Life Sciences
13 - 17 October 2025, Montréal, CANADA



・特許出願用資料など

8 事業内容についての問い合わせ先

所属機関名: 大阪工業大学 工学部 (オオサカコウギョウダイガク コウガクブ)

住所: 〒535-8585(半角)

大阪府大阪市旭区大宮5丁目16番1号

担 当 者 講 師 横 山 奨 (コウシ ヨコヤマ ショウ)

担 当 部 署： 機 械 工 学 科 (キカイクガク)

E - m a i l: sho.yokoyama@oit.ac.jp

U R L: <https://www.oit.ac.jp/labs/eng/med/yokoyama/>