

文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業
(平成20年度～平成24年度)

生体医工学研究センター (BERC) 研究成果報告書

平成23年3月

工学院大学総合研究所

目 次

B E R C (Biomedical Engineering Research Center)

スマート機械システム創成技術に基づいた生体医工学研究拠点の形成 センター長 大竹 浩靖	1
基礎生体医工学プロジェクト プロジェクト長 小野 幸子	5
1.1.幹細胞等バイオメカニクス..... 大家 溪	7
1.1.1 幹細胞をベースとした生体組織再生用材料の創成..... 大家 溪, 藤江裕道	9
1.1.2 マイクロ流体デバイスを用いた流体による刺激と細胞の応答に関する研究藤江裕道, 大家 溪	11
1.2.バイオマテリアル・デバイス 阿相英孝, 何 建梅	13
1.2.1 マイクロ・ナノ規則性構造材料創製技術の開発とマイクロバイオシステムへの 応用に関する研究..... 小野幸子, 阿相英孝	15
1.2.2 超音速フリージェット PVD によるハイドロキシアパタイト膜の開発に関する研究 湯本敦史	17
1.2.3 リン酸カルシウム人工骨補強用高柔軟性・長寿命チタンメッシュレートの創製 何 建梅	19
1.3.医用エネルギー工学..... 大竹浩靖	21
1.3.1 マイクロスケール下の熱流体挙動, 医用エネルギー機器およびマイクロエネルギー機器の 開発に関する研究 大竹浩靖	23
1.3.2 振動弾性板ポンプの性能特性に関する研究 佐藤光太郎	25
1.3.3 微生物による水素ガス生産..... 小野寺一清	27
1.3.4 酵素反応マイクロリアクタの反応成績 長本英俊	29
1.4.バイオメティクス・ロボティクス 鈴木健司, 金野祥久	31
1.4.1 昆虫の機能に基づくマイクロ機械とそのロボット化に関する研究 鈴木健司, 高信英明, 三浦宏文	33
1.4.2 生物の水中運動メカニズムの解明とそのスマート機械による模倣 水野明哲, 伊藤慎一郎, 金野祥久	35
1.5.マイクロ構造の評価・加工技術 立野昌義, 西谷要介	37
1.5.1 バイオマイクロ構造体における強度特性評価システムの開発と力学的特性評価 立野昌義, 後藤芳樹	39
1.5.2 マイクロスケール機構の製作と評価に関する研究..... 鈴木健司, 小林光男	43
1.5.3 マイクロポーラス金属の材料特性評価 塩見誠規	45
1.5.4 光造形による 3次元マイクロ部品の成形加工と医用工学への応用に関する研究 西谷要介, 佐藤貞雄	47
応用生体医工学プロジェクト..... プロジェクト長 藤江 裕道	51
2.1.幹細胞を用いた組織再生工学 藤江裕道	53
2.1.1 幹細胞を用いた軟骨再生..... 藤江裕道	55
2.1.2 幹細胞を用いた靭帯, 腱の再生 木村雄二, 藤江裕道	57
2.2.マイクロバイオデバイスの開発 疋田光孝	59
2.2.1 Ni-Ti 形状記憶合金のバイオデバイスへの適用 木村雄二	61
2.2.3 バイオメトリクス環境センサの研究 疋田光孝	63
2.3.医療支援ロボットの開発..... 高信英明	65
2.3.1 歯科患者ロボット..... 高信英明	67
2.3.2 6軸ロボットシステムを用いた関節再建術の評価..... 藤江裕道	69
2.3.3 生体信号処理に基づく医療装置の開発と応用..... 石井千春	71

スマート機械システム創成技術に基づいた生体医工学研究拠点の形成

Establishment of the Biomedical Engineering Research Center (BERC) on the basis of the Technologies Derived from the Smart Machine and Bio-System Research Center (SMBC)

センター長：大竹 浩靖（工学院大学工学部機械工学科教授）

高齢化が進む我が国において、医療・福祉に関する研究の重要性は益々高まるばかりである。なかでも整形外科や循環器外科などの外科領域は、生活の質（QOL）に直接かわる分野であり、その重要性が非常に高い。これらの外科領域では、身体運動の機械力学、関節軟骨のトライボロジー、血液等循環の熱流体力学、生体組織特性解析のための材料力学、生体材料開発のための材料科学、生体計測のための計測学など、機械工学、材料科学を基礎とした研究手法が問題解決の道筋を与えてくれる。

一方、我々は、2003-2007年度にハイテクリサーチセンター事業として採択・実施された「スマート機械・バイオシステム(SMBC)」の研究において、マイクロ加工技術等に関する多くの成果をあげた。その中には細胞培養技術、生体模倣、生体材料開発などの研究も含まれていた。そこで機械工学、材料科学に加えて、SMBCでの技術的蓄積を基盤として、生体医工学領域における特色ある研究を展開できると考えた。

上記の研究スキームは、いわば工学の医学への応用展開である。しかし、それだけでは工学側の基盤技術に限りが生じるため、事業の継続的・効果的発展が望めない。ネタ切れになってしまう。逆に、永い年月をかけて獲得された生体の機能や構造等の優れた特徴を学び取り、それを工学に応用すること（生体模倣）で、新たな工学分野を開拓することが可能となる。SMBCでは生体規範のロボットやスマート機械等の開発を行っており、その基盤技術を我々はすでに獲得している。それらを新事業に取り入れれば、「工学の医学への応用」という車輪だけでなく「医学の工学への応用」の車輪が回転し、両輪駆動により、ブレークスルーも期待できる新たな研究事業を展開することができる。

そのような考えの下に、2008年度、本研究事業をスタートさせた。SMBCで得られた技術体系を基本にして、基礎生体医工学研究プロジェクトと応用生体医工学プロジェクトを展開する。両プロジェクトには中テーマが5つ、および3つ含まれている。応用プロジェクトは医療研究機関や医療系企業と密接な結びつきを有しており、研究成果が実質的な医療に有効利用される点が特徴である。

これまでの研究期間3年の間に、多くの成果が上げられた。特に応用生体医工学プロジェクトのすべての中テーマと、基礎生体医工学プロジェクトのなかの「1.1 幹細胞等のバイオメカニクス」と「1.2 バイオマテリアル・デバイス」の中テーマでは学外の医学系研究機関との共同研究がスタートし、関連病院の手術術式や臨床処置を改善するな

ど、臨床医学のレベル向上・改善に結果を残している。また、臨床応用の実現と並行して医療系企業との共同研究も進め、医療系産業における製品開発や試験法開発なども着手した。

研究報告会などを通して、中テーマ間の連携も活発に行っている。数例にすぎないが、2.1「幹細胞等を用いた組織再生工学」では、1.5「マイクロ構造の評価・加工技術」の成果を取り入れて、マイクロパターン加工を施した培養皿上で幹細胞を培養し、異方性構造を有する組織の生成に成功している。また、1.3のマイクロチャンネル・ポンプおよび2.2のバイオトリクスセンサの作製には、前出1.5のマイクロ加工技術を用いている。

今2010年度より、研究代表者が藤江裕道客員教授（前本学工学部機械工学科教授）に代わり大竹浩靖に変更になったが、大竹は本研究プロジェクト構想段階から藤江教授とともに中核を担っており、かつ、藤江教授も本研究プロジェクトに継続して参加できるよう工学院大学客員教授として本研究組織（応用生体医工学研究プロジェクトリーダーおよび中課題幹事）に残り、昨年同様本研究プロジェクトは積極的に研究活動を続けている。また、本年度より、大家溪総合研究所助教を研究プロジェクトメンバーに迎え、マイクロ加工設備に加え、生体医工学系設備の積極的な拡充を行った。

今2010年度は、中間成果報告として、9月25日に『進捗状況報告書』を文部科学省に提出した。この報告書による『中間評価の結果』が平成23年2月10日付で通知され、進捗が見られるとの評価を頂いた。ただし、改善すべき点も指摘された。

この改善すべき点は昨年度実施した独自の外部評価でも指摘されてもおり、今年度は、外部評価委員の評価結果を反映し『10の小テーマを重点テーマ』と選定し、本年度の研究費の配分にメリハリをつけ、次ステップへと踏み出している。

今後も、テーマの重点化と連携を計り、本研究拠点を医工学領域における重要研究教育拠点として発展させていく計画である。なお、平成23年2月より、待望のPD、Anawati博士を迎えることができ、より充実した研究体制となったことを加筆する。

2010年度は2008および2009年度の成果を基にして、多くの成果が得られた。本報告書にて報告する。

末筆ながら、東北地方太平洋沖地震の被災に関しまして、心よりお見舞い申し上げます。

基礎生体医工学プロジェクト

基礎生体医工学プロジェクト

Basic Project of the Biomedical Engineering Research Center (BERC)

プロジェクト長：小野 幸子（工学院大学応用化学科教授）

本プロジェクトでは、医療デバイスや医療支援ロボットの技術を支える基礎工学体系を構築し、この工学体系を研究・教育する新たな研究拠点を形成することを目的としている。具体的には、2003～2007年度にハイテクリサーチセンター事業として採択された「マイクロ先進スマート機械・マイクロバイオシステム実現へ向けてのテクノロジー開発」によって得られた多くの成果・知見に基づき、それらを集約した中テーマ 1.5 と、それらを基盤とした基礎的な中テーマ.1.1, 1.2, 1.3, 1.4 を展開する。得られた成果は応用生体医工学プロジェクトに応用される。

プロジェクトを構成する中テーマおよび中テーマ内の小テーマと担当者は以下のとおりである。

基礎生体医工学研究プロジェクト

1.1. 幹細胞等バイオメカニクス

- 1.1.1. 幹細胞をベースにした生体組織再生用材料の創成
大家 溪，藤江裕道，中村憲正（阪大医），
中田 研（阪大医）
- 1.1.2. マイクロ流体デバイスを用いた流体による刺激と細胞の応答に関する研究
藤江裕道，大家 溪

1.2. バイオマテリアル・デバイス

- 1.2.1. マイクロ・ナノ規則性構造材料創製技術の開発とマイクロバイオシステムへの応用に関する研究
小野幸子，阿相英孝
- 1.2.2. 超音速フリージェット PVD によるハイドロキシapatite膜の開発に関する研究
湯本敦史（芝浦工大）
- 1.2.3. 人工骨材料の開発と力学解析
何 健梅

1.3. 医用エネルギー工学

- 1.3.1. マイクロスケール下の熱流体挙動，医用エネルギー機器およびマイクロエネルギー機器の開発に関する研究
大竹浩靖，小泉安郎（信大），田中 学（千葉大），木倉宏成（東工大）
- 1.3.2. 体内埋込用ポンプ開発のための基礎的研究
佐藤光太郎，横田和彦（青山学院大）
- 1.3.3. 微生物による水素ガス生産
小野寺一清，志澤泰彦（日大）
- 1.3.4. 酵素反応マイクロリアクタの反応成績

長本英俊，大島榮次（東工大）

1.4. バイオミメティクス・ロボティクス

- 1.4.1. マイクロ機械のロボット化に関する研究
三浦宏文，高信英明，鈴木健司
- 1.4.2. 生物の水中運動メカニズムの解明とそのスマート機械による模倣
水野明哲，伊藤慎一郎，金野祥久，飯田明由（豊橋技科大）

1.5. マイクロ構造の評価・加工技術

- 1.5.1. バイオマイクロ構造体における強度特性評価システムの開発と力学的特性評価
立野昌義，後藤芳樹
- 1.5.2. マイクロスケール機構の製作と評価に関する研究
鈴木健司，小林光男，福田勝己（東京工専）
- 1.5.3. マイクロポーラス金属の材料特性評価
塩見誠規
- 1.5.4. 光造形による3次元マイクロ部品の成形加工と医用工学への応用に関する研究
西谷要介，佐藤貞雄

() 内所属先は2010年4月1日時点の所属
(表記なしは工学院大学所属)

1.1. 幹細胞等バイオメカニクス

Stem Cell Biomechanics

1.1.1. 幹細胞をベースとした生体組織再生用材料の創成

大家 溪, 藤江 裕道, 中村 憲正 (阪大医学部), 中田 研 (阪大医学部)

1.1.2. マイクロ流体デバイスを用いた流体による刺激と細胞の応答に関する研究

藤江 裕道, 大家 溪

関節軟骨や、靭帯、腱などの線維性組織を治療するため、さまざまな方法について研究が行われている。その中で近年最も注目されているのが、幹細胞を用いた再生医療手法である。幹細胞は分化能と増殖能を併せ持つ細胞であり、その高い分化能により治療対象組織の細胞を創り出し、かつ高い増殖能でその効果を長く保つことが可能である。幹細胞の能力を最大限活用することで、さまざまな生体組織の再生、修復を高効率で達成できると考えられ、多くの研究者がしのぎを削って研究を行っている。幹細胞研究では、受精卵から得られる胚性幹細胞 (embryonic stem cell; ES 細胞) が 1981 年にマウスから、1988 年にヒトから樹立されて以来、活発に研究が進められてきた。ES 細胞は成体を構成するあらゆる細胞に分化できる能力 (全能性; pluripotency) を有しており、万能細胞とも呼ばれている。しかしながら、ES 細胞は受精卵を破壊して作られることに対する倫理問題や、免疫拒絶反応などの技術的問題を拭い去ることができていない。最近では、2006 年に京都大学の山中教授らが樹立した人工多能性幹細胞 (induced pluripotent stem cell; iPS 細胞) が大きな注目を集めている。iPS 細胞は、成体から得た細胞に 4 つの遺伝子 (現在では 3 つでよいことがわかっている) を導入して作製された細胞であり、ES 細胞とほぼ同等の分化能を有していると考えられている。iPS 細胞は ES 細胞が抱える倫理問題や免疫拒絶反応に対する問題を解決していることから、新たな幹細胞として期待されている。しかし、iPS 細胞は ES 細胞と比較してガン化のリスクが高く、分化能の範囲が不明であるなど、今後、解決していかなければならない問題も山積している。一方、成体のさまざまな組織中にも造血幹細胞や間葉系幹細胞など、多種多様な幹細胞が存在することがわかっている。これらの幹細胞を総じて体性幹細胞 (adult stem cell) といい、ES 細胞や iPS 細胞ほどの全能性は有していないものの、多分化能 (多能性; multipotency) を有することがわかっている。体性幹細胞は、患者本人から得ることができ、遺伝子操作が不要であるため、ES 細胞や iPS 細胞が抱える問題は解決でき、実用化の面では最も研究が進んでいる。しかし、すべての幹細胞に共通する問題として、幹細胞はそれのみではある程度の組織を作製できないという技術的問題に直面している。そのため、細胞を適当な足場材 (スキャフォールド) に播種して培養し、患部に置換して治療するのが現在の一般的な方法となっている。

小テーマ 1.1.1 では、我々が再生医療用材料として開発した、体性幹細胞の一種である間葉系幹細胞を含む滑膜由来細胞が細胞外基質を自己生成して作製される scSAT

(stem-cell-based self-assembled tissue) に注目した。scSAT は、関節滑膜から採取した間葉系幹細胞を含む細胞塊を取り出し、4~7 回程度の継代培養によって幹細胞密度を高めた後、アスコルビン酸により線維生成を促進させ、自然収縮により肥厚させた組織である。scSAT は、組織の強度を担う I 型および III 型コラーゲン線維や、周辺組織との連結を担うフィブロネクチン、ヴィトロネクチン等で構成されている。また、患者の自己細胞を用いて作製できることから、免疫拒絶反応の懸念もなく、組織修復に最適な材料である。幹細胞を医療現場で実用化するためには、常に安定した細胞供給が求められるため、凍結保存による細胞バンク化が必要不可欠となる。そこで本研究では、ヒト滑膜由来間葉系幹細胞の凍結保存による影響を明らかにすることを目的とし、凍結保存を行った間葉系幹細胞の遺伝子発現解析や、その細胞を用いて作製した scSAT の力学特性を評価した。その結果、凍結保存をしていない細胞と比較して、凍結保存した細胞の遺伝子発現量や発現時期に大きな差はなかった。さらに、作製した scSAT の厚さや形態、力学特性においても、大きな差はなかった。したがって、ヒト滑膜由来間葉系幹細胞の凍結保存は、それをもとに作製される scSAT に対して大きな影響を及ぼさないことがわかった。

小テーマ 1.1.2 では、動脈硬化や血栓、閉塞などに関与している血液の流体力学因子を明らかにするために、マイクロ加工技術を用いた微小循環モデル内において、流れによるせん断応力の細胞に及ぼす影響について調べた。そのために、マイクロ流路の材料である高分子材料 (polydimethylsiloxane; PDMS) に対し、ナノプロセス技術を用いてナノレベルの表面構造を付与した。さらに、細胞の接着性を高めるために、作製した培養基盤に対して酸素プラズマ照射を施して親水性を付与した。それらの上で間葉系幹細胞の培養を行い、細胞と培養皿との接着の評価および形態観察を行った。酸素プラズマ処理を施す前の PDMS の接触角は、ナノ構造付与の有無に関わらず市販のポリスチレン製組織培養皿と比較して顕著に高く、接着細胞数も少なかった。一方、酸素プラズマ処理を施すことによって各 PDMS の接触角は大きく減少し、プラズマ照射時間の増加に伴って接着細胞数も増加した。特に、酸素プラズマ処理を 480 s 施した、ナノ構造を付与した PDMS では、接着細胞数が飛躍的に増加し、ポリスチレン製組織培養皿上の接着細胞数のおよそ 2 倍となった。したがって、本研究で用いたナノ構造付与 PDMS をマイクロ流路の一部に使い、その表面上に内皮細胞や幹細胞を接着させることにより、流れに対する細胞応答の中長期観察、計測が可能になったと考えられる。

1.1.1. 幹細胞をベースとした生体組織再生用材料の創成 Development of stem cell-based tissue-engineered constructs for regenerative medicine

大家 溪, 藤江 裕道, 中村 憲正 (阪大医学部), 中田 研 (阪大医学部)

Kei OYA, Hiromichi FUJIE

Norimasa NAKAMURA, Ken NAKATA (Osaka University Medical School)

Keywords : Stem cell-based self-assembled tissue (scSAT), Tissue engineering, Tensile property

1. 緒言

関節を構成する関節軟骨や腱, 靭帯は, 自己修復能に乏しい. 重度損傷に対する治療では, 移植や人工物への置換などが行われているが, 完全治癒が困難なことや耐久年数, 長期安定性に問題がある. そのため, これらの問題を解決する新たな再生医療用材料の開発が望まれている. 現在, 体性幹細胞の一種である間葉系幹細胞 (mesenchymal stem cells; MSCs) をヒト膝滑膜より採取し, 細胞外基質を自己生成させて作製される滑膜由来幹細胞自己生成組織 (stem-cell-based self-assembled tissue; scSAT) が, 新たな再生医療用材料として期待されている¹⁾. scSAT は患者の自己細胞を用いて作製されるため, 免疫拒絶反応の危険がない. さらに, 組織の強度に関わる I, III型コラーゲンを含み, フィブロネクチンやヴィトロネクチンなどの細胞接着因子も豊富に含んでいる. 現在, 体性幹細胞の多くは凍結保存を経ずに使用されている場合が多いが, 今後, 幹細胞による再生医療を実用化するためには, 常に安定した細胞を供給するために, 凍結保存による細胞バンク化が必要となる. しかしながら, 凍結保存による幹細胞に対する影響は, 未だ十分に明らかにされていない. そこで本研究では, ヒト滑膜由来 MSCs の凍結保存による遺伝子発現への影響および scSAT の力学特性に及ぼす影響について調査した.

※本研究は工学院大学「ヒトを対象とする研究倫理審査」の承認を受けている.

2. 材料および実験方法

2-1. 細胞培養および凍結解凍手順

ヒト膝関節から得た滑膜組織からコラーゲナーゼ処理によって採取した MSCs を含む細胞群を得た. 3 回継代培養した細胞を回収し, それらを細胞凍結保護液としてセルバンカー 1 プラス (BLC-1P, 十慈フィールド) を用いて凍結保存した. 凍結保存では, -80°C に設定したディープフリーザ内で凍結速度 $-1^{\circ}\text{C}/\text{min}$ で凍結し, 凍結開始から 12 時間後に -196°C の液体窒素内へ移した. 液体窒素内で 12 時間保存した後, 37°C の温水中で細胞を解凍した (FT 群). 一方, 凍結解凍をしていない細胞を Control (CTRL) 群とした. 両細胞群の初期細胞密度を $0.7 \times 10^4 \text{ cells}/\text{cm}^2$ として組織培養皿に播種し, 37°C , $5\% \text{CO}_2$ の環境下で 13 日間培養を行った.

2-2. scSAT 作製手順

両細胞群をそれぞれ回収した後に (培養 0 日目), $6 \times 10^5 \text{ cells}/\text{cm}^2$ の初期細胞密度で L-アスコルビン酸 2 リン酸 (Asc-2P) を 0.2 mM になるように添加した培地 (DMEM, $10\% \text{Fetal Bovine Serum}$, $1\% \text{Penicillin-Streptomycin}$) を用いて組織培養皿に播種した. 28 日間培養した後培養皿底面に生成された細胞と, 細胞が生成した細胞外基質から成る複合体を培養面から剥がし, 1 時間の自己収縮を与え, scSAT を作製した²⁾ (Fig.1).

2-3. 遺伝子発現解析

2-2 の手順で 0, 7, 14, 28 日間培養した各群の細胞を用い,

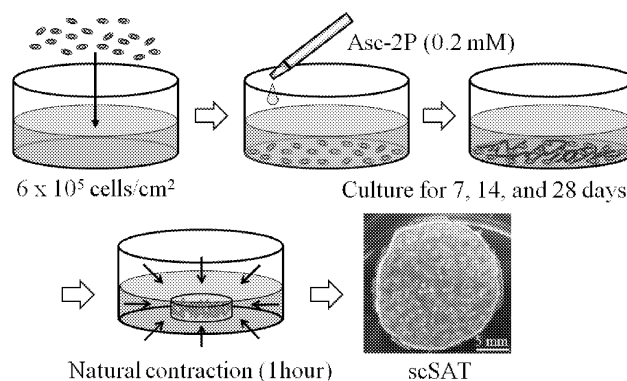


Fig.1 scSAT 作製方法

定量的 RT-PCR 解析を行った. TRIzol[®] Reagent (Invitrogen) を用いて各細胞から total RNA を抽出し, PrimeScript[®] RT reagent Kit (タカラバイオ) を用いて逆転写反応を行い, cDNA を作製した. 作製した cDNA は SYBR[®] Premix Ex Taq[™] (タカラバイオ) およびリアルタイム PCR 機器として LightCycler[®] 480 (Roche Diagnostics) を用いてリアルタイム PCR を行い, 目的遺伝子 (I, III 型コラーゲン, フィブロネクチン, ヴィトロネクチン) を増幅させた. 得られた値を用い, $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法によって内部標準遺伝子 (GAPDH) に対する目的遺伝子の相対発現量を算出した.

2-4. 厚さ測定と組織観察

回収した各群の scSAT をスライドガラスに広げ, PBS(-) 溶液を $10 \mu\text{L}$ 添加し, カバーガラスで挟んだ. マイクロスコープ (VHX-100, KEYENCE) を用いてスライドガラスとカバーガラスの間の距離を 5ヶ所測定し, 得られた値の平均値をそれぞれの scSAT の厚さとした. また, 位相差顕微鏡 (IX71, OLYMPUS) を用い, 各群の scSAT 表面の線維様組織の形態を観察した.

2-5. 引張破断試験

培養期間 28 日の各群の scSAT を試験片として, 齊藤らが開発した引張試験機³⁾を用い, 引張破断試験を行った. チャック部で scSAT を把持し, 幅を 6 mm に切り揃えた. チャック部一端に取り付けられたリニアアクチュエータ (LAH-46-3002-F-PA, ハーモニックドライブシステムズ) によりプレロード 2 mN を与え, 引張速度 $0.05 \text{ mm}/\text{s}$ で scSAT が破断するまで引張った. その間の荷重変化をひずみゲージ式荷重計で測定した. scSAT 実質部ひずみを, 画像センサ (CV-700, KEYENCE) を用いて非接触で計測した. 試験は生体内の環境に近づけるため, 37°C の PBS(-) 溶液中で行った. その後, 厚さ測定時の scSAT の厚さと試験片チャック幅 6 mm から初期断面積を求め, 荷重を断面積で除して公称応力を算出し, 得られた応力ひずみ線図から scSAT の力学特性を評価した.

2-6. 統計的検定

統計的検定として, t 検定 (有意水準 5%) を用いた.

3. 結果

3-1. 遺伝子発現解析結果

リアルタイム RT-PCR 解析の結果、Control 群と FT 群では各目的遺伝子の発現時期に差はなく、全ての遺伝子は 14 日目に発現のピークを迎えることがわかった。各培養日数における各遺伝子の相対発現量を Fig.2 に示す。培養 0 日目と 7 日目において、Control 群と比較して FT 群の方が III 型コラーゲンの発現量が有意に多かった。しかしながら、それ以外の遺伝子および培養期間では、Control 群と FT 群間の遺伝子発現量に有意差はなかった。

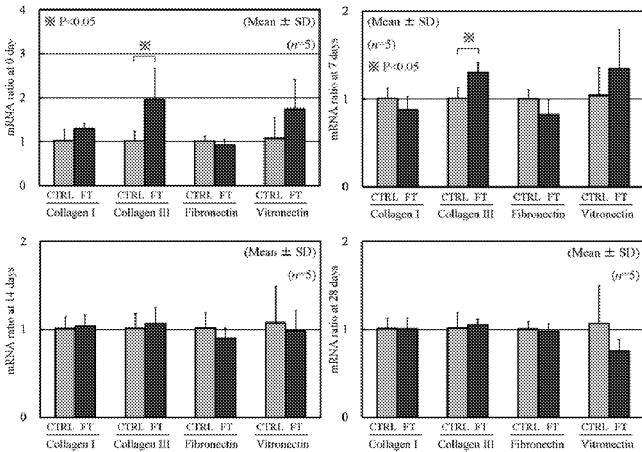


Fig.2 各培養期間における目的遺伝子の相対発現量の定量結果 (左上:0 日目, 右上:7 日目, 左下:14 日目, 右下:28 日目)

3-2. 厚さ測定および組織観察結果

各群の scSAT の厚さを測定した結果、Control 群の厚さは $53 \pm 6 \mu\text{m}$ 、FT 群の厚さは $58 \pm 16 \mu\text{m}$ となり、両群間に有意差はなかった。さらに、位相差顕微鏡による組織観察結果から、線維性組織が一樣に分布している様子が確認できたが、両群間で大きな差は確認されなかった (Fig.3)。

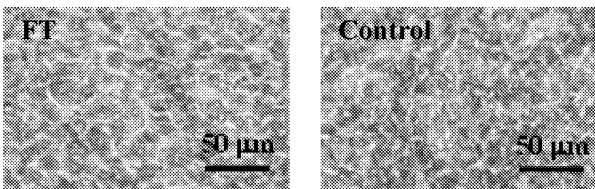


Fig.3 位相差顕微鏡による組織観察結果

3-3. 引張破断試験結果

引張試験により得られた応力ひずみ線図を Fig.4 に示す。FT 群は Control 群と比較してひずみ 20% 付近からの応力の立ち上がり早いことがわかった。Control 群と比較して FT 群の引張強度は増加し、破断ひずみは減少する傾向があったが、両群間に有意な差は確認されなかった。低ひずみ域 (ひずみ 0~5%) と高ひずみ域 ((破断ひずみ-5%)~破断ひずみ) における傾きを算出し、接線係数を求めた (Fig.5)。低ひずみ域においては Control 群と比較して FT 群の接線係数は増加する傾向が見られたが、両群間に有意な差は確認されなかった。高ひずみ域においては、Control 群と比較して FT 群の接線係数は有意に増加することが確認された。

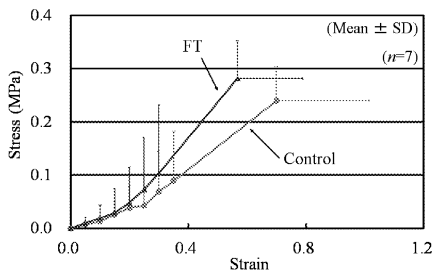


Fig.4 応力ひずみ線図

4. 考察

リアルタイム RT-PCR 解析の結果、培養 0 日目および 7 日目において FT 群の III 型コラーゲンの相対発現量は Control 群と比較して有意に増加することが確認された。しかしながら、各群の各遺伝子の発現時期に差がなく、培養後期 (14, 28 日目) において、各遺伝子の発現量に有意差はなかった。scSAT は Asc-2P 添加後、28 日間程度の培養期間を必要とすることから、培養初期に見られた凍結保存による III 型コラーゲン遺伝子の発現量の差は、その後で作製される scSAT に大きな影響を及ぼさないと考えられる。一方、引張破断試験の結果より、細胞の凍結解凍は、培養期間 28 日の scSAT では、破断点付近における接線係数が有意に増加するが、引張強度および破断ひずみに有意な影響は及ぼさなかった。また、両群の細胞を用いて作製した scSAT の厚さや組織の様子にも大きな差はなかった。以上、凍結保存された MSCs の遺伝子発現時期や発現量、および、その細胞を 28 日間培養して作製された scSAT の力学特性は、凍結保存を施していないものと比較して大きな差がなかったことから、凍結保存が MSCs や scSAT に及ぼす影響は小さいと考えられる。

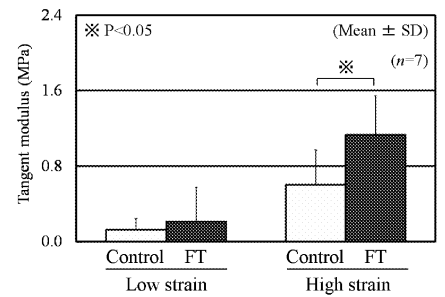


Fig.5 接線係数結果

以上、凍結保存された MSCs の遺伝子発現時期や発現量、および、その細胞を 28 日間培養して作製された scSAT の力学特性は、凍結保存を施していないものと比較して大きな差がなかったことから、凍結保存が MSCs や scSAT に及ぼす影響は小さいと考えられる。

5. まとめ

各群の MSCs の遺伝子発現解析を行った結果、各群の各遺伝子の発現時期に差はなく、培養後期において遺伝子発現量に有意差はなかった。一方、引張試験を行った結果、FT 群の細胞を用いて作製された scSAT は、破断点付近における接線係数が有意に増加するが、引張強度および破断ひずみに有意な影響はなかった。以上の結果より、MSCs の凍結保存は scSAT の作製に関わる遺伝子の発現に大きな影響を及ぼさず、scSAT の力学特性にも影響がないことがわかった。

参考文献

- 1) Ando W., *et al.*, Biomaterials, 2007.
- 2) Emura R., *et al.*, Proceedings of the 6th WCB, 2010.
- 3) 齊藤, 他, 日本臨床バイオメカニクス学会誌, 30, 2009.

論文投稿・研究発表等

- 1) Emura R., Saito K., Sudama H., Nakamura N., and Fujie H., *et al.*, Effects of culture period and cell density on the mechanical property of the stem cell-based self-assembled tissue (scSAT), 6th WCB, 2010.
- 2) 江村, 須玉, 佐藤, 大家, 中村, 藤江, 他, ヒト滑膜由来細胞の基質生成能に及ぼす凍結解凍の影響, 第 21 回バイオフロンティア講演会, 2010.
- 3) Emura R., Oya K., Sudama H., Sato Y., Nakamura N., Fujie H., *et al.*, Effects of cell freezing and thawing on the mechanical properties of a stem cell-based self-assembled tissue (scSAT), ISL&T-XI, 2011.
- 4) Oya K, Emura R., Sudama H., Nakamura N., Fujie H., *et al.*, Morphological changes of human-derived mesenchymal stem cells in response to freezing preservation, ISL&T-XI, 2011.
- 5) 江村, 大家, 須玉, 佐藤, 中村, 藤江, 他, 細胞の凍結解凍が幹細胞自己生成組織の力学特性におよぼす影響, 第 31 回バイオトライボロジシンポジウム, 2011.

1.1.2. マイクロ流体デバイスを用いた流体による刺激と細胞の応答に関する研究 Morphological Responses of Endothelial Cells Cultured in Microchannel under Fluid Shear Stress

藤江 裕道, 大家 溪

Hiromichi FUJIE, Kei OYA

Keywords : Endothelial Cell, Morphological Responses, Nano-Processing, Stem Cell-Based Self-Assembled Tissues

1. 背景

3大疾病のうち、がんを除く脳血管疾患と心血管疾患は、いずれも血液循環に異常が生じる疾病である。これらは動脈硬化や血栓、閉塞などと密接に関連しているが、その発症と進展には、血液の流体力学因子が大きな影響を及ぼしていることが知られている。これらの原因究明や予防のために、血管の内側を覆っている内皮細胞の機能が注目されている。内皮細胞は血流による機械的刺激と相関関係があり¹⁾、これまでに *in vivo* や *in vitro* の実験が行われており、流体によるせん断応力と NO 産生量などに相関があることが調べられている²⁾が、不明な点が多い。本研究では、そのメカニズムの解明を目的とし、マイクロ加工技術を用いた微小循環モデル内において、流れによるせん断応力の内皮細胞に及ぼす影響について調べることを目的としている。

ところが、平成 21 年度までの検討で、内皮細胞とマイクロ流路内の付着力が低く、実験中に内皮細胞が剥離してしまい、実験データを得ることができないという問題が生じた³⁾。一方、先行研究においてナノ構造を表面に作製した培養皿が、細胞の培養皿との接着に影響を及ぼすことが示唆されている^{4,5)}。そこで、平成 22 年度は、マイクロ流路の材料である高分子材料 (Polydimethylsiloxane, PDMS) に対し、ナノプロセス技術を用いてナノレベルの表面構造を付与し、その上で間葉系幹細胞の培養を行った。細胞と培養皿との接着の評価および形態観察を行った。

2. 材料および実験方法

培養皿上のナノプロセス

浸漬塗装プロセスにより直径 300 nm のシリカ粒子をシリコンウェハ上に自己整列させた。粒子をマスクとして利用してウェハに反応性イオンエッチング (RIE: reactive ion etching) を施し、フッ酸により粒子を除去した。走査型電子顕微鏡の観察により、ウェハ表面に円錐型をしたピラーのナノ構造があることを確認した (Fig. 1)。シリコロンと硬化剤を 10:1 の割合で混合し、脱気した後、シリコンウェハのモールド上に流し込んだ。1時間 65°C でベイクし、空冷の後、固化した PDMS をモールドから剥がし、正方形 (10 x 10 mm) にカットした。このようにしてシリコンウェハ上のナノ構造を PDMS に転写した。その後、PDMS 表面に酸素プラズマ照射を、照射時間、0, 300, 480s で行い、親水化処理を行った。親水化の度合いを、接触角計測により確認した。

細胞接着試験

試験に用いる細胞は、本研究で生成がルーチン化されている滑膜由来間葉系幹細胞を用いた。大阪大学医学部病院で患者の同意のもとに手術中に膝滑膜組織を剥離し、コラゲナーゼ処理により細胞を単離した。4回の継代培養の後、ナノ構造を付与した PDMS 培養皿に、細胞密度 $1.0 \times 1.0 \text{ cells/cm}^2$ になるように培地である DMEM (10% FBS, 1% P/S) の濃度を調整し、細胞を播種した。比較対照のため、ナノ構造を持たない PDMS 培養皿上でも同様の培養を行った。1日間培養した後、リン酸緩衝生理食塩水 (PBS : phosphate buffered saline) により洗浄し、培養皿に接着していない細胞を取り除いた。Trypsin-EDTA 溶液 (1% Trypsin, 2% EDTA) を使って培養皿から吸着している細胞を剥がし、血球計算盤を使って接着していた細胞を計測した。さらに、トリパンブルー溶液により死滅細胞を染色し、活性細胞を評価した。細胞観察は、微分干渉顕微鏡 (IX71, Olympus, Japan) を用い行った。

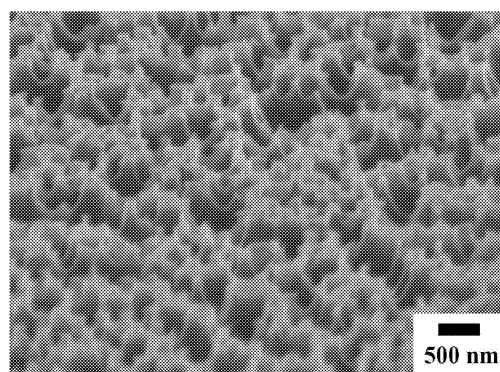


Fig.1 シリコンウェハ上の円錐型ピラーのナノ構造

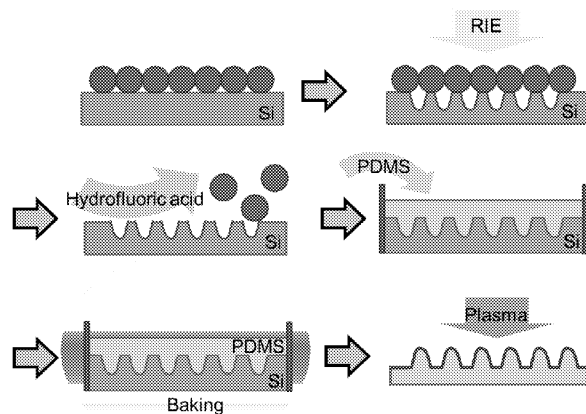


Fig.2 シリコンウェハのナノ構造作製と PDMS の転写

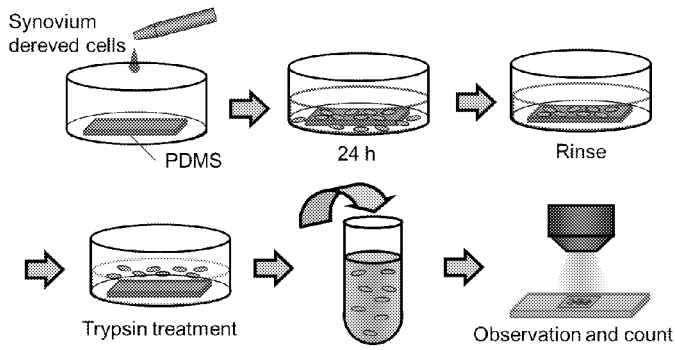


Fig. 3 細胞培養，観察および計測の手順

3. 実験結果および考察

培養皿にプラズマ処理を行う前，ナノ構造付与 PDMS 培養皿 ($113.1 \pm 1.0^\circ$) とナノ構造なし PDMS 培養皿 ($107.1 \pm 2.6^\circ$) の接触角は，市販されている通常のプラスチック培養皿 ($40.1 \pm 1.8^\circ$) (Mean \pm SD) よりも高かった．しかし，480s 間プラズマ処理を行うと，ナノ構造付与，およびナノ構造なしの PDMS 培養皿の接触角は，それぞれ $53.8 \pm 4.5^\circ$ ，および $66.0 \pm 2.4^\circ$ まで減少した．細胞培養後の顕微鏡観察では，ナノ構造付与 PDMS 培養皿上ではナノ構造なし PDMS 培養皿上よりも多く細胞が観察された (Fig. 4)．またナノ構造付与 PDMS 培養皿，ナノ構造なし培養皿どちらにおいても，プラズマ照射時間の増加とともに単位面積当たりの接着細胞数が増加した (Fig. 5)．プラズマ照射時間が 300s を超えると，ナノ構造付与 PDMS 培養皿における接着細胞数は飛躍的に増加し，プラズマ照射時間が 480s では，ナノ構造付与 PDMS 培養皿 (4.5×10^3 cells/cm²) は，ナノ構造なし PDMS 培養皿 (2.0×10^3 cells/cm²) と通常プラスチック培養皿 (2.2×10^3 cells/cm²) に比べ，有意に多かった．

細胞の仮足は培養皿表面周囲を把持する役割を果たしていると考えられる．実験結果から仮足の把持力は，平らな表面における力と比較するとナノ構造を付与した表面において強くなるのが分かった．開発したナノ構造付与 PDMS を，マイクロ流路の一部に用い，その表面上に内皮細胞や幹細胞を付着させることで，本研究テーマで目的とする，流れに対する細胞応答の中長期観察，計測が可能になったと考えられる．

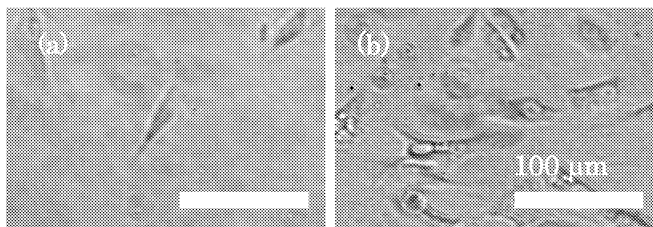


Fig.4 (a)ナノ構造なし PDMS 培養皿，および(b)ナノ構造付与 PDMS 培養皿上の細胞の様子

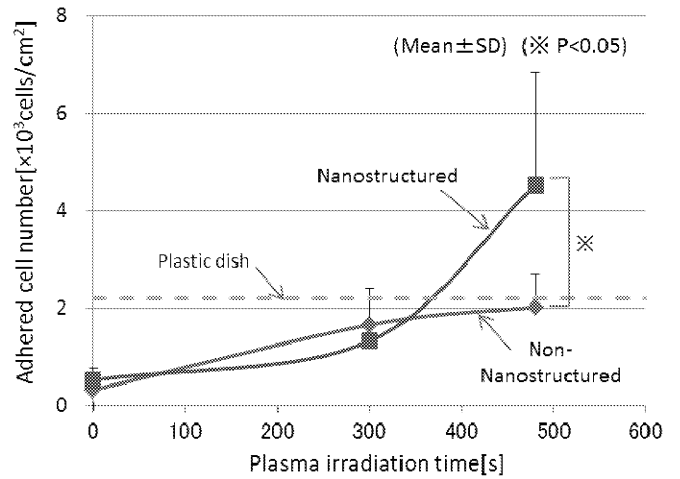


Fig. 5 プラズマ照射時間と接着細胞数の関係

文 献

- 1) Pries, A. R., and Secmb, T. W., "Microvascular blood viscosity in vivo and the endothelial surface layer," *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, 289, pp. H2657-H2664 (2005).
- 2) Gouverneur, M., Berg, B. V. D., Nieuwdorp, M., Stroed, E. and Vink, H., "Vasculoprotective properties of the endothelial glycocalyx: effects of fluid shear stress," *J. Inter. Medicine.*, 259(4), pp. 393-400 (2006)
- 3) 藤江, BERC 報告書 1.1.2, (2010)
- 4) W. A. Loesberg et al., 2007, "The threshold at which substrate nanogroove dimensions may influence fibroblast alignment and adhesion," *Biomaterials*, Vol.28, pp. 3944–3951.
- 5) J. Park, et al., 2007, "Nanosize and vitality: TiO₂ nanotube diameter directs cell fate," *Nano Lett.*, 2007, 7 (6), pp.1686–1691
- 6) H. Kobayashi, N. Moronuki, and A. Kaneko, 2008, "Self-assembly of fine particles applied to the production of antireflective surfaces", *Int. J. of Prec. Eng. and Mfg.*, 2008, Vol. 9, No. 1, pp. 25-29.

論文投稿・研究発表等

- 1) Sudama H., Nakamura N., Fujie H. et al., Effect of microgroove depth of a micro pattern-processed glass plate on the tensile properties of stem cell-based self-assembled tissues (scSAT), 6th WCB, pp.204, 2010
- 2) Suganuma L., Fujie H., et al., Nanostructure processed on culture plate improves cell adhesion, ASME 2011 Summer Bioengineering Conference, 2011 (submitted)

1.2 バイオマテリアル・デバイス

Biomaterials・Devices

1.2.1 マイクロ・ナノ規則性構造材料創製技術の開発とマイクロバイオシステムへの応用に関する研究

小野 幸子, 阿相 英孝

1.2.2 超音速フリーズジェット PVD によるハイドロキシアパタイト膜の開発に関する研究

湯本 敦史

1.2.3 金属光造形複合加工法による焼結チタン合金インプラント人工骨の創製

何 建梅

1. 研究組織と現在までの進捗状況及び達成度

2008年のプロジェクト開始時、基礎生体医工学プロジェクトの中テーマ 1.2 は、本学の応用化学科、機械システム工学科、機械工学科に所属する3つの研究グループから構成され、いずれもバイオマテリアル・デバイスの開発を主目的に研究を展開してきた。具体的には、生体内使用のインプラント材の生体組織適合性を向上させることを目的に、電気化学的手法あるいは超音速フリーズジェット PVD を用い、形状ならびに組成を制御した生体活性表面をチタンなどの基板に構築する。あるいは、3次元光造形加工法に関して、チタン合金等の人工骨の強度等材料特性を把握し、内部メッシュ構造を持った人工骨の構造信頼性向上を図ることを目的として研究計画を立てた。

本年度、小テーマ 1.2.2 の担当者が他大学に転出したため所属の変更があったが、本研究プロジェクトへは継続して参加するため所属変更自体の影響は無い(図1)。

これまでの研究成果として、小テーマ 1.2.1 では、酸化チタンならびにチタン多孔体を擬似体液に浸漬し水酸アパタイトの形成能を評価した結果、核となる水酸アパタイトを電着あるいは交互浸漬法で予備的に付与することで硬組織適合性が著しく向上することを見出した。小テーマ 1.2.2 では、超音速フリーズジェット PVD で成膜したアパタイト粒子分散チタン膜においても同様の効果を確認した。小テーマ 1.2.3 では、インクジェット粉末積層法によるリン酸カルシウム製人工骨の強度向上に有効な手術糸固定位置等を求め、さらに、3次元金属光造形複合加工法による焼結チタン合金の力学的材料特性を明らかにし、人骨特性類似のカスタム人工骨の内部構造を検討した。

引き続き、材料・デバイスに関する検討を行うことで、新規の生体由来材料や人工材料・デバイスが創成される可能性が大いにあり、今後は再生医療や外科治療への応用も視野に入れて研究を進展させたいと考えている。

2. グループの連携体制と今後の方針

図1に中テーマ 1.2 グループの相関図を示す。本年度(2010年度)、1.2.1 小野・阿相グループはチタンの硬組織適合性向上を目的に、アパタイト/チタン複合材料に関して検討を加えるとともに、表面微細構造を制御したポラスアノード酸化皮膜上での細胞培養に関して基本データの収集を継続した。1.2.2 湯本グループは複合化による生体機能化に着目し、緻密なアパタイト粒子分散チタン膜の形成ならびにその生体親和性の評価として擬似体液中での骨類似アパタイトの生成を確認した。また、ナノ結晶チタン膜の疑似生体環境下での摺動特性を評価し、人工骨・人工関節など生体硬組織代替材料への適用の可能性を検討した。1.2.3 何グループはこれまでの研究におけるリン酸カルシウム製人工骨の強度不足問題や焼結チタン合金における重量・強度・靱性の過剰問題などを解決するため、チタンプレートにメッシュ構造を取り入れたリン酸カルシウム製人工骨を補強するためのチタンメッシュプレートの創製を試みた。

これまでの、各材料の特性、形態に応じた最適な処理条件及び評価技術を確認するために、担当者ごとに基礎的な技術の構築、基礎データの収集に努めてきたが、今後は、材料提供や技術提供などの連携を適宜図り、研究成果を具体化し、学会発表、論文発表を積極的に進める予定である。

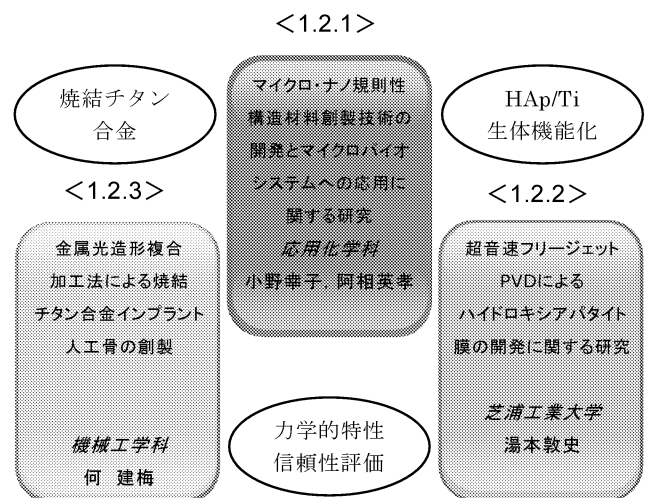


図 1: 中テーマ 1.2 のグループ構成

1.2.1 マイクロ・ナノ規則性構造材料創製技術の開発と マイクロバイオシステムへの応用に関する研究

Fabrication of Micro-/Nano-Ordered Structures and Their Application to Micro-biosystem

小野 幸子, 阿相 英孝

Sachiko ONO and Hidetaka ASOH

Keywords : Micro-/nano-ordered structures, Biomaterials, Titanium,
Hydroxyapatite, Biocompatibility

1. チタンの硬組織適合性に及ぼす水酸アパタイトの添加効果

2008年のプロジェクト開始時からこれまでに、軽量、高強度、低ヤング率などの特徴を持ち骨補填材として期待されているチタン多孔体を下地基板に用い、水酸アパタイト [Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂, 以下 HAp] の析出分布に及ぼすカソード電着条件の影響に関して検討してきた。チタン球の最大粒径が 150 μm のチタン多孔体の場合、電着時の電流分布の偏りが原因で、多孔体電極の表面では HAp が析出しやすいが多孔体の内部では析出しなかった。しかしながら前処理としてアノード酸化やアルカリ処理によりチタン球の表面に微細なポーラス構造を持つチタン酸化物を付与した場合、電着時における電極表面への電流集中が抑制され多孔体内部にも均一に HAp が析出した。また、電着時に超音波照射を併用することで HAp の析出量が増加し、析出分布も著しく改善されることを報告した。

本年度は新たに、ミリング助剤としてステアリン酸 (CH₃(CH₂)₁₆COOH) を用いたメカニカルミリング (Mechanical Milling : MM) 法と放電プラズマ焼結 (Spark Plasma Sintering : SPS) 法を組み合わせて作製した高硬度の純 Ti, あるいは生体材料への適用を考慮し純 Ti に HAp を添加しメカニカルアロイング (Mechanical Alloying : MA) 処理と SPS プロセスによって固化成形した Ti-HAp 複合材料を試料として、アノード分極試験などによる耐食性評価ならびに様々なウエット処理を通じて各種材料の表面特性を評価した。

表 1 に HAp の配合組成ならびにミリング時間を示す。Ti 及び Ti-HAp 粉末を、振動型ボールミルを用いて MM (MA) 処理を行った後、MM (MA) 粉末は SPS 法を用いて直径 20 mm のディスク状に固化成形した。試料を樹脂埋め後、露出面を機械研磨し、NaCl 溶液中 1.25 mV / s の掃引速度でアノード分極した。

樹脂埋めした試料はアノード分極後、再度機械研磨を施し、同条件でのアノード分極、機械研磨を繰り返して使用した。測定ごとに浸漬電位が安定しないため、アノード分極の前に -1.4 V_{vsAg/AgCl} の電位で 5 分保持した。浸漬電位よりも卑な電位で一度電位を保持することで、その後のアノード分極におけるデータの再現性はいくらか改善されたが、曲線から読み取った腐食電位は、同じ試料であっても測定ごとにバラつきが見られた。これは、本研究で用いた試料がバルク材ではなく、微粉体からなる焼結体であることに起因し、研磨面の状態にも強く影響を受けると考えられる。図 1 に測定した腐食電位を試料ごとにまとめて示す。いずれの試料においても、腐食電位にバラつきが見られるものの、同じ組成であれば MM あるいは MA 時間が長い試料ほど、腐食電位が貴にシフトした。これは、基材の耐食性向上に対してミリングの効果があることを意味する。

Ti-10 %HAp 材では、MA 処理③4 h 及び④8 h の試料の腐食電位は、純 Ti 材①、②の電位に近いことから、電気化学的に評価した耐食性という観点では、10 %の HAp の添加が基材の耐食性に与える影響は小さいと考えられる。一方、MA 処理 4 h の試料の場合、⑤20 % HAp および⑦30 % HAp では、腐食電位が卑に大きくシフトしたことから、20 %以上 HAp を添加した基材は純 Ti に比べ耐食性に劣ると言える。しかし、同含有量であっても MA 処理を 8 h 行った試料⑥、⑧では、MA 処理 4 h の試料に比べ腐食電位が貴にシフトし、純 Ti 材と同程度の電位を示した。

表 1 HAp の添加量とミリング時間

Specimen No.	Amount of HAp / mass %	MM (MA) time / h
1	0	0
2	0	4
3	10	4
4	10	8
5	20	4
6	20	8
7	30	4
8	30	8

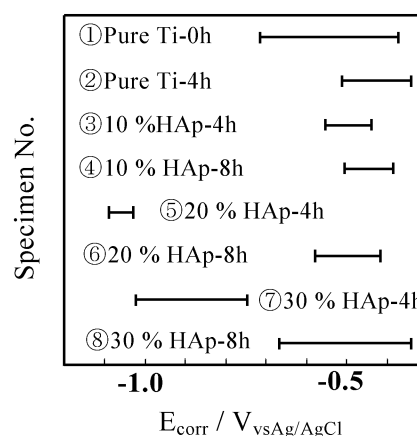


図 1 : 腐食電位に及ぼす HAp 添加量とミリング時間の影響

2. 孔径、膜厚を制御したポーラスアノード酸化皮膜上でのヒト皮膚由来線維芽細胞の培養

2009年度、アルミニウム及びチタン上に作製したポーラス酸化皮膜上でヒト皮膚由来線維芽細胞 (HDF) を 7 日間培養した結果、細胞増殖数に加え細胞の伸展形態が足場として用いたポーラス皮膜の孔径に大きく影響を受けることを報告した。本年度は、細胞の接着性に着目し、細胞接着

数ならびに培養後の細胞伸展性へ及ぼすポーラス酸化皮膜の孔形態（孔径，セル壁厚さ，膜厚）の影響を継続して検討した。

電解研磨した純度 99.99 % の Al 板を 0.3 mol dm^{-3} シュウ酸 ($30 \text{ }^{\circ}\text{C}$) あるいは 0.4 mol dm^{-3} リン酸 ($3, 25 \text{ }^{\circ}\text{C}$) 電解液を用い，二段階定電圧アノード酸化 ($5\text{-}160 \text{ V}$) で，孔径，膜厚を制御したポーラスアルミナ(足場材料)を作製した。10 % ウシ胎仔血清含有細胞培養液 (Dalbecco's Modified Eagle's Medium) 中で酸化皮膜上に HDF を播種し，5 % CO_2 ， $37 \text{ }^{\circ}\text{C}$ の条件下，インキュベータ中で 3 h 初期培養した。その後，培養液を交換することで基板に対して未接着の細胞を除去し，さらに 21 h 培養を継続した。合計 24 h の培養が終了した時点で，細胞数を測定し，種々の基板に対する細胞の接着性を相対的に評価した。

シュウ酸電解液を用い，電圧 5 V あるいは 100 V でアノード酸化を行い，それぞれ孔径が 10 nm，100 nm で膜厚の異なるポーラスアルミナを作製した。参照基板として，中性電解液を用いて作製したバリアー型アルミナ皮膜，ならびに市販のプラスチック培養皿 (Control) を用いた。24 h の培養終了後，試料をリン酸緩衝生理食塩水で洗浄し，4 % パラホルムアルデヒド中で固定処理を行った。固定後の細胞は，ギムザ染色し，光学顕微鏡を用いて単位面積 (1 mm^2) あたりに存在する細胞の数を測定した (図 2, 3)。孔径 10 nm のポーラスアルミナ上において膜厚が薄い場合 (膜厚 0.1, 0.2 μm)，単位面積あたりの細胞数は約 220 で，Control 上で培養した細胞の数 (約 180) より多く，個々の細胞の伸展性も良好であった。24 h 後の細胞数が，接着タンパクならびに細胞の接着性を反映すると考えれば，24 h 後の細胞数がポーラスアルミナ上において多いということは，3 h の初期培養において基板に接着した細胞数が多かったことを意味する。つまり，平坦なプラスチック培養皿より細胞が接着しやすい足場環境であったと言える。膜厚が 0.35 μm 以上になると細胞数は減少し，膜厚 0.5 μm 以上では単位面積あたりの細胞数が約 150 で一定となった。孔径が 10 nm のポーラスアルミナ上で細胞を培養した場合，膜厚の増加に伴い細胞数が減少する傾向にあったが，孔のないバリアー型アルミナ皮膜上での細胞数 (約 110) よりは多かった。

一方，孔径 100 nm のポーラスアルミナ上においては，いずれの膜厚でも細胞数は少なく，単位面積あたりの細胞数は約 30 であった。よって，アルミナを足場材料として用いた場合，基板表面のポーラス化は，表面積の拡大につながり，細胞の接着性向上に寄与すると考えられるが，大きすぎる孔径は逆に細胞の接着，成長を阻害すると言える。また，孔径 10 nm のポーラスアルミナにおいて膜厚が薄い場合には，プラスチック培養皿よりも細胞の数が多いことから，孔径の効果だけでなく，比較的浅いチャンネル構造を持つ基板は，細胞の接着を著しく促進し，その後の成長にも適した足場環境であったと考えられる。

査読付論文

1. 小野幸子，阿相英孝，チタン，**58**, 15 (2010.4)
2. 小野幸子，材料の科学と工学，**47**, 2 (2010.4)

学会発表

1. 阿相英孝，小松晃，小野幸子，チタニアナノチューブを被覆したチタンの生体親和性，軽金属学会第 118 回春期大会，p.269 (2010.5)
2. S. Ono and H. Asoh, Apatite Coating on Structurally Modulated Porous Anodic Films Formed on Valve Metals (Invited lecture), The 2nd Japan-Korea Joint Symposium

for ARS & Capacitor, p.23 (2010.6)

3. 黒田雄士，阿相英孝，今村保忠，小野幸子，細胞増殖に及ぼすアノード酸化ポーラス皮膜の孔形状の影響，無機マテリアル学会 第 121 回学術講演会，p.52 (2010.11)
4. 黒田雄士，阿相英孝，今村保忠，小野幸子，細胞形態および接着性に対するアノード酸化ポーラス皮膜の孔径の影響，金属のアノード酸化皮膜の機能化部会 第 27 回鎌倉コンファレンス，p.75 (2010.11)
5. 阿相英孝，黒田雄士，今村保忠，小野幸子，細胞の初期接着性に及ぼすアノード酸化皮膜の孔形態の影響，表面技術協会第 123 回学術講演会 (2011.3)

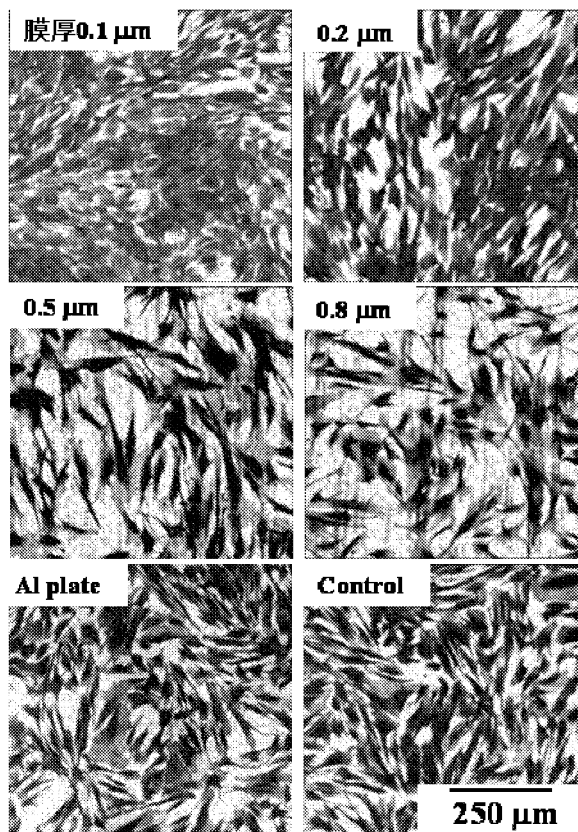


図 2 : アノード酸化ポーラスアルミナ上における HDF の接着性に及ぼす膜厚の影響 (孔径 : 10 nm)

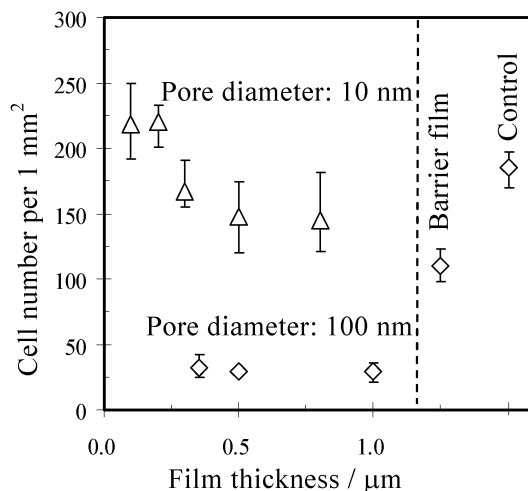


図 3 : アノード酸化ポーラスアルミナ上における HDF の接着数に及ぼす孔径，膜厚の影響

1.2.2. 超音速フリージェット PVD によるハイドロキシアパタイト膜の開発に関する研究 Development of Apatite-Titanium Composite Coatings with Supersonic Free-Jet PVD

湯本 敦史
Atsushii YUMOTO

Keywords: Hydroxy-apatite, Titanium, nanoparticle, supersonic free-jet

1. 緒言

高齢化社会が進む中、欠損した骨や関節に代わり、人工骨・人工関節を生体内に埋め込むことで生体機能の回復・改善を試みる治療法に大きな期待が持たれている。生体内に埋め込むインプラント材の基材として Ti 合金が広く用いられている。しかし、生体硬組織代替材料として活用される Ti 合金には、(1)優れた生体適合性を示す Ti であっても生体内の骨と結合するまでに約半年かかると言われており、早期に生体骨と結合させる必要がある、(2) Ti は生体内でイオンの溶出が少ないが、人工関節として使用した場合摩擦摩耗特性がステンレスなどの他の材料と比較して悪く、生体環境下における摩擦係数・比摩耗量を低減させる必要がある、等の技術的課題が存在する。上記課題(1)に関しては、Ti と骨の結合には Ti と骨の間に新生骨が生成する必要があり新生骨生成の短縮化を狙い、Ti 基材に対して骨の主成分(人間の骨の約 65%)の一つであるハイドロキシアパタイト (Hydroxyapatite; $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$: 以下 HAp と略記) を皮膜形成することで解決する試みがなされているが、HAp 皮膜の組成、結晶構造を制御することが困難であること、HAp 膜の密着性が低いことなどが指摘されている。また、上記課題(2)に関しては、Ti 合金の組成制御や窒化物層による表面改質などが試みられているが、合金添加元素の体内での溶出が懸念されており、未だ克服されずにいる。

超音速フリージェット PVD (Supersonic Free-Jet PVD: SFJ-PVD) は、生成直後の活性なナノサイズの粒子 (ナノ粒子) を 5km/s 以上の超音速ガス流によって加速・基板まで搬送し、高い速度を付加したナノ粒子を基板上に堆積させることより膜形成させる新しいコーティング法である。昨年度までの研究成果として、超音速フリージェット PVD に分散粒子供給機構を組み込み、HAp 粒子分散 Ti 膜を形成に成功し、成膜した皮膜は疑似生体環境下で骨類似アパタイトの高い生成速度を有していることを明らかとした。

本研究は、超音速フリージェット PVD による Ti 膜の機械的特性および基材との密着性を評価検討した。

2. 実験方法

2.1 超音速フリージェット PVD 装置

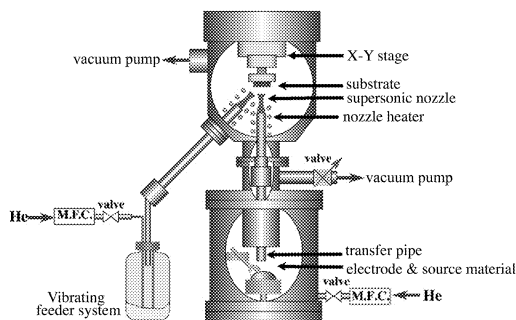


図 1: 超音速フリージェット PVD 装置概略図

超音速フリージェット PVD 装置の概略図を図 1 に示す。本装置は、ナノ粒子を生成する「ナノ粒子生成室」(図 1 中の下のチャンバ) と、基板上にナノ粒子を堆積、皮膜形成をおこなう「膜形成室」(上のチャンバ) および排気システムで構成されている。ナノ粒子生成室と膜形成室の間は、ナノ粒子を搬送するための「搬送管」により連結されている。不活性ガス雰囲気とした生成室内では、膜素材となる材料を加熱・蒸発させ、それに伴いナノ粒子の生成がおこなわれる。生成室と膜形成室の差圧により発生するガスの流れを超音速ノズルにより超音速に加速し、生成室で生成させたナノ粒子を搬送、基板上に堆積させ成膜させる。

2.2 実験条件

膜原料の純 Ti (JIS2 種) をナノ粒子生成室に設置し、アーク加熱により原料 Ti を蒸発させ Ti ナノ粒子を生成させた。生成させた Ti ナノ粒子は、マッハ 4.2 の超音速ノズルによる超音速ガス流により加速させ膜形成室内の SUS304 あるいは S45C の基板上に堆積、Ti 膜の形成を試みた。

成膜した Ti 膜の硬さをマイクロビッカース計により、膜表面の硬さを室温大気下で荷重 4.9N および保持時間 15 秒の条件で 12 点の測定を行い、得られたビッカース硬さの最小値および最大値を除いた 10 点の平均値として求めた。

Ti 膜と金属基材間の密着性を評価検討するため、本実験では引張試験片平行部に Ti 膜を成膜し、引張試験中の変形過程を試験片上部に取り付けた CCD カメラにより連続的に観察した。成膜した試験片は試験片が破断に至るまで 1mm/min の速度で変位させた。引張試験片両端から同時に荷重を負荷し、平行部は観察範囲内を移動することなく破断に至るように試験を行い、変位量の測定は CCD カメラにより撮影した画像から試験片ダンベル形状の肩部を目安とし、スケールを読み取ることによって行った。また、Ti 膜・SUS304 基材間の密着性を圧子圧入法による界面破壊靱性値から検討した。圧子圧入法は、皮膜-基材断面の界面部に対してビッカース圧子を押し込むことで界面にき裂を発生させ、き裂長さとし押し込み荷重から界面部の破壊靱性を評価する手法である。圧子圧入法による界面破壊靱性値 $K_c[\text{MPa} \cdot \text{m}^{0.5}]$ は、JIS R1607 の界面破壊靱性評価式を界面き裂に拡張した下記式(1)および式(2)を用いて求めた。

$$K_c = 0.018 \left(\frac{E_I}{H_I} \right)^{1/2} \frac{P}{c^{3/2}} \quad (1)$$

$$\left(\frac{E_I}{H_I} \right)^{1/2} = \frac{(E/H)_S^{1/2}}{1 + (H_S/H_T)^{1/2}} + \frac{(E/H)_T^{1/2}}{1 + (H_T/H_S)^{1/2}} \quad (2)$$

式中の P と c は圧子押し込み荷重とき裂長さであり、また E はヤング率、H は硬さで、各添え字は、T: 皮膜、S: 基材、I: 界面をそれぞれ表している。Ti 膜および SUS304 基板の硬さ H_T , H_S はそれぞれマイクロビッカースで測定した値を用い、ヤング率は文献値¹⁾(Ti 膜は $E_T=114.2 \times 10^9 \text{Pa}$, SUS304 は $E_S=199.1 \times 10^9 \text{Pa}$) を用いた。

3. 結果・考察

Ti 膜の断面 SEM 写真を図 2 に示す. 図 2 により, SUS304 基材上に形成させた Ti 膜の膜厚は約 55 μm であり, Ti 膜には膜中および基材界面にき裂などの欠陥は観察されず, 緻密な Ti 膜が形成されていることが確認された. Ti 膜と SUS304 圧延材および CP-Ti 圧延材のビッカース硬さを図 3 に示す. SUS304 の硬さ Hv 184.2, CP-Ti 圧延材 Hv132.8 と比較して, Ti 膜表面の硬さは Hv672.6 であり CP-Ti 圧延材の 5 倍程度高い硬さであることが明らかとなった.

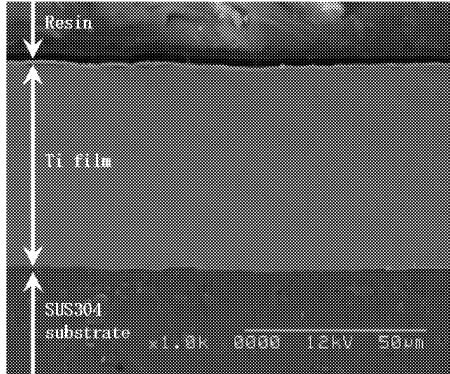


図 2 : Ti 膜断面写真

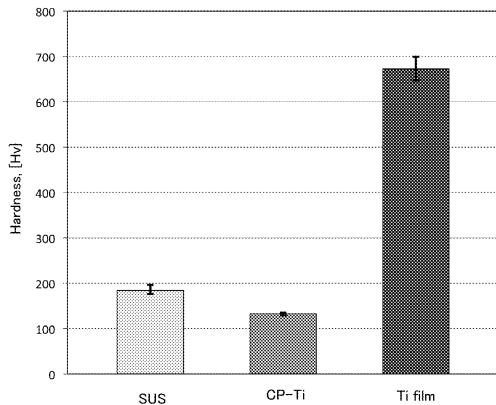


図 3 : ビッカース硬さ

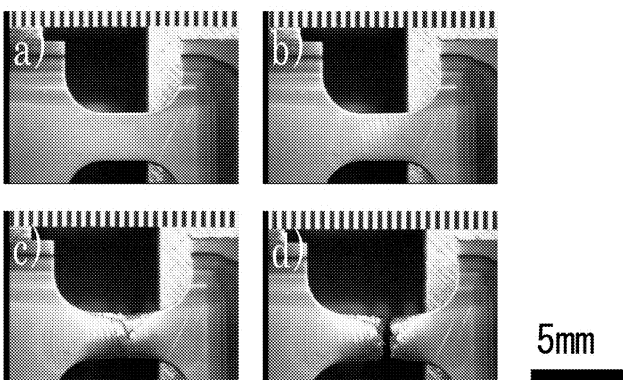


図 4 : Ti 膜の引張変形中のその場観察結果

図 4 に S45C 基材に成膜させた Ti 膜の引張試験による破壊の過程を示す. 図 4 の a), b), c), d) はそれぞれ変位量 0mm, 0.1mm, 1.0mm, 破断直後の試験片写真である. 図 4 より, 形成させた Ti 膜は金属光沢を有していることが観察される. 試験片が変形を始めると平行部中心付近の皮膜表面に引張方向と直行する方向に皺模様が現れ, 変位量の増加に伴い, 皺は平行部中心から試験片両端部に向けて広がるのが観察された. なお, 破断直前における試験片の変位量は約

1.4mm であり, 試験片が破断に至るほどの大きな変形を受けているにも関わらず S45C 基材からの Ti 膜の剥離・離脱は観察されなかった. 圧子圧入法により発生した界面き裂の代表例を図 5 に示す. き裂は界面と平行にのみ発生し, それと垂直方向には発生していない. 荷重 1.96N とした試験でき裂が観察され, 式(1), 式(2)を用いて求めた界面破壊靱性値 Kc は $74.5\text{MPa}\cdot\text{m}^{0.5}$ であった. 以上の結果は, 本法において形成される Ti 膜は Hv650 以上のビッカース硬度でありながら塑性変形能を有し, 金属基材との密着性に優れることを示唆していると考えられる.

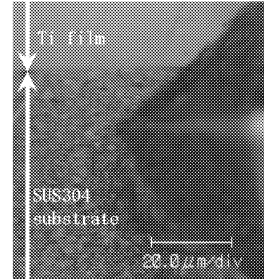


図 5 : 圧子圧入法により発生した界面き裂写真

4. 結 言

超音速フリージェット PVD により, SUS304 および S45C 基材上に Ti 膜を形成させ, 膜の硬さ, 密着性, 摩擦摩耗特性を評価検討し, 以下の知見を得た.

- (1) 超音速フリージェット PVD による Ti 膜は, 膜表面に金属光沢を有し, 膜断面および界面においてき裂などの欠陥が無い緻密な膜であった.
- (2) 形成させた Ti 膜は, ビッカース硬度が CP-Ti 圧延材と比較して 5 倍程度高い (Hv672.6) にも関わらず, 引張試験において Ti 膜は S45C 基材の変形に追従して変形し, 良好な密着性を有していることが確認された. また, Ti 膜-SUS304 基材間の界面破壊靱性値を圧子圧入法により求めた結果, 界面破壊靱性値 Kc は $74.5\text{MPa}\cdot\text{m}^{0.5}$ であった.

文 献

- 1) 日本金属学会, 改訂 4 版金属データブック, 丸善株式会社(2004).

査読付論文

- 1) 湯本敦史, 永山勝久, 西谷要介, 丹羽直毅: 超音速フリージェット PVD による Ti 膜の機械的およびトライボロジ特性, 材料技術 Vol. 29, No.1 (2011) pp 1-7.

学会発表

- 1) 湯本敦史, 山本剛久, 廣木富士男, 丹羽直毅: 超音速フリージェット PVD による軟磁性 Fe 膜の密着性, 表面技術協会第 122 回講演大会, 東北大学川内北キャンパス(宮城) 2010 年 9 月 6-7 日 (6 日), pp.161-162(6D-06)

出願特許

- 1) 発明者: 湯本敦史, 丹羽直毅, 廣木富士男, 井上誠, (出願タマティーエルオー株), 発明の名称: 超音速ノズルおよび切削工具, 出願番号: 特願 2010-083568
- 2) 発明者: 湯本敦史, 丹羽直毅, 廣木富士男, (出願タマティーエルオー株), 発明の名称: 物理蒸着装置及び物理蒸着方法, 出願番号: 特願 2010-082891
- 3) 発明者: 谷川茂穂, 峯村哲郎, 湯本敦史, 丹羽直毅 (出願日立金属株式会社, タマティーエルオー株), 発明の名称: 軟磁性金属膜, 出願番号: 特願 2010-033567

1.2.3 リン酸カルシウム人工骨補強用高柔軟性・長寿命チタンメッシュプレートの創製 Meshed Titanium Plate Structures with High-Flexibility and Long-life for Reinforcement of Tricalcium Phosphate Bone Implants

何 建梅
Jianmei He

Dept. of Mechanical Engineering, Kogakuin University, Tokyo, Japan

Keywords: Sintered Titanium Alloy Bone Implants, Tailor-made Tricalcium Phosphate Bone Implants, Mechanical Properties, High Flexibility, Long life

1. 緒言

本研究の対象となるインプラント用人工骨は、図1に示すように患者のCT画像から作成した骨欠損に対する3次元形状データを元にインクジェット粉末積層法によるリン酸カルシウム人工骨と、金属光造形複合加工法による内部形状をもつチタン合金製人工骨の二種類のカスタム人工骨である。これまでの研究では、まずCTスキャンデータを用いた様々な形状を有するインクジェット粉末積層法によるリン酸カルシウム製カスタム人工骨のモデル解析に評価で、強度向上の観点及び手術の時間短縮・患者への負担軽減という観点から、各種非荷重部位の骨欠損に対応するインプラント用人工骨の手術中拘束条件のパターン化・マニュアル化を行った。また金属光造形複合加工法による焼結チタン合金製人工骨の研究開発において、レーザ焼結条件（照射エネルギー密度、焼結炉機内酸素濃度など）や積層方向、オートクレープ処理の有無等の違いによる焼結チタン合金の材料・構造力学特性変化を把握した。

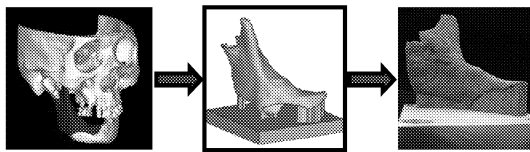


Fig.1 CTデータを用いたインプラント人工骨

これまで得られた研究結果から、リン酸カルシウム製人工骨を移植して骨欠損を補う場合、骨置換の観点から非焼結のリン酸カルシウムを用いるため人工骨の強度が弱く、非荷重部位にしか適用できない現状がある。一方、焼結チタン合金ではまだ強度・靱性が過剰で健康母骨への負荷でダメージを与える恐れがあるなどが挙げられる。今年度の研究では、これらの問題を解決するために図2に示すように人骨の表面である皮質骨のヤング率や体積密度などの力学的特性に合わせられるチタンメッシュプレートに注目した。メッシュ構造を用いることによって、チタンプレートにない3次元変形しやすさ（伸縮や面外曲げ・ねじり等）やメッシュパターンによって密度、曲げ弾性・剛性等の設計変更可能、またあらゆる人骨に対応可能等のメリットがある。

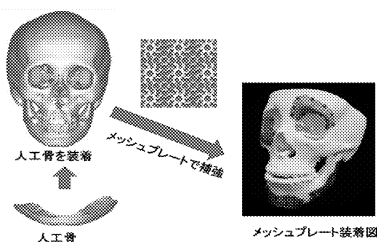


図2 チタンメッシュプレート

現在インプラントで使われているチタンメッシュプレ-

トでは、メッシュ線幅の不均一やシャープな形状で発生する応力集中による強度・寿命の低下やメッシュパターンによる3次元変形の柔軟性が欠けていること等が研究課題として挙げられる。本研究では、これらの研究課題に対して高柔軟性・長寿命のあるメッシュパターンを創製した。具体的に各年齢や骨欠損部位によった異なる皮質骨の力学的特性に近づくため、チタンメッシュプレートの厚みとメッシュ線幅またメッシュパターンの基本形状等を設計パラメータに取り上げ、応力集中の極力回避による高強度・長寿命と高柔軟性の観点から3種類のメッシュパターンの基本形状(三角形、四角形、六角形)を設計・試作し、3点曲げ試験及びモデル解析によってチタンメッシュプレートの力学的特性を把握した。

2. チタンプレートのメッシュ構造に関する考案

3次元CADソフトウェアSolidworksを用いて下記に示す観点から図3に示すような3種類のメッシュパターンの基本形状(三角形パターン、四角形パターンと六角形パターン)を考案・設計した。

- パターン形状1つの組合せで均一のメッシュ線幅が得られる
- スプライン（S字カーブ）だけの構成でシャープな形状を回避する
- S字カーブの曲率変化でメッシュプレートの伸縮や曲げ特性要求に対応できる
- 手術用ビスの固定できる空間(φ2mm~)を確保する

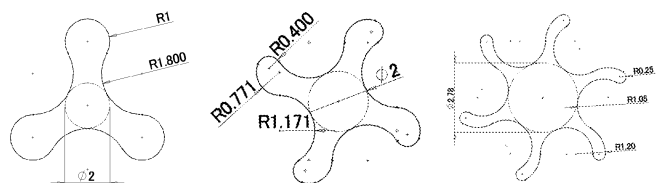


図3 各種メッシュパターンの基本形状

三角形、四角形と六角形パターンの基本形状では、それぞれ周方向に120°、90°と60°の回転対称性を持っている。これらの基本形状を用いて組み合わせた結果、図4に示すように均一線幅で自由な箇所ではビス固定できるスムーズなメッシュパターンが得られる。

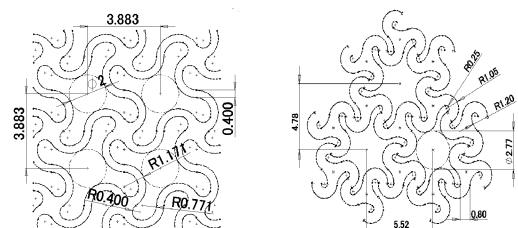


図4 基本形状によるメッシュパターン

3. チタンメッシュプレートの力学的特性評価

3-1 チタンメッシュプレートの試作及び重量特性評価

今年度では、3種類厚み(0.3mm, 0.5mmと0.7mm)の純チタンプレートを用いて、前項で示した3種類のメッシュ基本形状で2種類の線幅を持つチタンメッシュプレートを試作し、得られた試験片による体積密度や曲げ剛性等を実験によって測定し、人骨皮質骨の材料特性との比較評価を行った。図5にワイヤーカット放電加工機を用いて作成したメッシュパターンと線幅による6種類のチタンメッシュプレートの試験片を示す。プレートの厚みに合わせると全18種類のチタンメッシュプレートを作成した。表1に各種チタンメッシュプレートの体積密度、純チタンと人骨の材料密度を示している。これらの結果から、チタンプレートのメッシュパターン化によって人骨の重量特性に近づくことができたと考えられる。

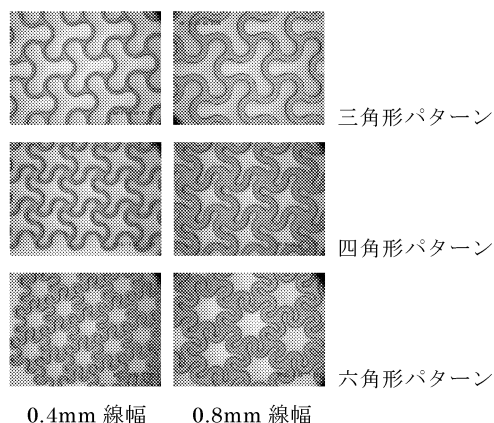


図5 チタンメッシュプレートの試験片

表1 チタンメッシュプレートの重量特性

	線幅 (mm)	板厚 (mm)	体積密(g/cm ³)
三角形パターン	0.4	0.3	0.9
		0.5	0.8
		0.7	0.8
	0.8	0.3	1.4
		0.5	1.3
		0.7	1.3
四角形パターン	0.4	0.3	1.1
		0.5	1.1
		0.7	1.1
	0.8	0.3	1.7
		0.5	1.6
		0.7	1.6
六角形パターン	0.4	0.3	1.4
		0.5	1.3
		0.7	1.3
	0.8	0.3	2.0
		0.5	1.8
		0.7	1.9
チタンプレート			4.51
人骨	20歳	0.81~1.05	
	50歳	0.78~0.95	
	70歳	0.57~0.81	

3-2 チタンメッシュプレート曲げ弾性率の実験評価

チタンプレートのメッシュパターン化により、チタンプレートにない高度な3次元柔軟性・追随性を得ることが考えられる。ここではメッシュパターン化されたチタンメッシュプレートの試験片を用いて、図6に示す3点曲げ試験によって曲げ特性を測定した。各種試験片を6個ずつで評価試験を行った。

3点曲げ試験で得られたチタンメッシュプレートの荷重・変位線図結果からチタンメッシュプレートの曲げ弾性率を算出し、純チタンプレートや焼結チタン合金または人骨皮質骨の対応材料特性データと一緒に表2に示す。これらの結果から、本研究で取り扱っているチタンメッシュプレートは純チタンプレートや焼結チタン合金よりはるかに柔らかくなって、プレート厚、パターン形状またメッシュ線幅

を調整し、リン酸カルシウム人工骨と一緒に使用することで人骨皮質骨の弾性係数に近づくことができると思われる。

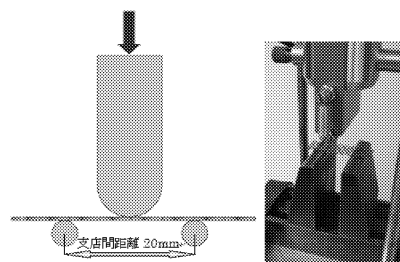


図6 チタンメッシュプレートの3点曲げ試験

表2 チタンメッシュプレートの曲げ弾性率評価

	線幅 (mm)	板厚 (mm)	曲げ弾性率(GPa)
三角形パターン	0.4	0.3	---
		0.5	0.73
		0.7	1.36
	0.8	0.3	---
		0.5	1.65
		0.7	3.70
四角形パターン	0.4	0.3	---
		0.5	---
		0.7	1.72
	0.8	0.3	---
		0.5	1.82
		0.7	4.31
六角形パターン	0.4	0.3	---
		0.5	0.82
		0.7	1.48
	0.8	0.3	---
		0.5	1.38
		0.7	2.56
純チタンプレート (ヤング率)			106.30
焼結チタン合金			65.76
人骨皮質骨 (ヤング率)			17.00

4. 結言

これまでの研究におけるリン酸カルシウム製人工骨の強度不足問題や焼結チタン合金における重量・強度・靱性の過剰などの問題を解決するため、チタンプレートにメッシュ構造を取り入れたチタンメッシュプレートの創製を試みた。設計・考案した試作試験片を用いてチタンメッシュプレートの重量特性及び曲げ弾性率の実験的評価から、プレート厚とメッシュパターンの基本形状及び線幅を調整することで、リン酸カルシウム人工骨の補強材として人骨皮質骨の材料特性に近づくことができると考えられる。今後の研究課題としてチタンメッシュプレートの引張試験による立て弾性率の評価、疲労試験による寿命評価、またリン酸カルシウム人工骨と一緒にするときの構造力学的特性評価等が挙げられる。

査読付論文

- 1) Igawa K, et al., He J, Chin augmentation with inkjet-printed custom-made tricalcium phosphate implant, M914C0611 135, MEDIMOND International Proceedings, 2010

学会発表

- 1) 片山一寿, 鈴木茂樹, 何建梅, 金属光造形複合加工法における焼結チタン合金製人工骨の創製—第1報: 焼結チタン合金の力学的特性, 第31回バイオメカニズム学術講演会 (SOBIM2010) 予稿集, pp. 219, 2010
- 2) 佐藤基矩, 鈴木茂樹, 何建梅, CT スキャンによる3次元形状を用いるカスタム人工骨, 第31回バイオメカニズム学術講演会 (SOBIM2010) 予稿集, pp. 215, 2010
- 3) 沖浮陽世, 鈴木茂樹, 高根勝久, 何建梅, 射出成形によるリン酸カルシウム人工骨ユニットの材料・構造検討, 第31回バイオメカニズム学術講演会 (SOBIM2010) 予稿集, pp. 117, 2010

1.3. 医用エネルギー工学 Medical Energy Engineering

1.3.1 マイクロスケール下の熱流体挙動、医用エネルギー機器およびマイクロエネルギー機器の開発に関する研究
大竹 浩靖（工・機械工学科）、小泉 安郎（信州大）、田中 学（千葉大）、木倉 宏成（東工大）

1.3.2 体内埋込用ポンプ開発のための基礎的研究
佐藤 光太郎（GE・機械創造工学科）、横田 和彦（名工大）

1.3.3 微生物による水素ガス生産
小野寺 一清（総合研究所）、志澤 泰彦（日大短大・生物資源学科）

1.3.4 酵素反応マイクロリアクタの反応成績
長本 英俊（工・環境化学工学科）、大島 榮次（東工大）

1. はじめに

1.3. 医用エネルギー工学は、『生体医工学研究センター』の先行プロジェクトである文部科学省ハイテク・リサーチ・センター整備事業『マイクロ先進スマート機械・マイクロバイオシステム実現へ向けてのテクノロジー開発：SMBC（平成15年度～平成19年度）』内の大テーマ4「マイクロエネルギーシステムに関する研究」および小テーマ3.2「マイクロリアクタの反応成績評価」の研究結果、すなわち、スマート機械システム創成技術に基づいて、生体医工学研究拠点の形成、特に、エネルギー工学分野の研究を推進するものである。

具体的には、下記の組織で4つの小テーマの研究が遂行されている。

1.3.1. マイクロスケール下の熱流体挙動、医用エネルギー機器およびマイクロエネルギー機器の開発に関する研究

大竹浩靖（工・機械工学科）、小泉安郎（信州大学）、田中 学（千葉大学）、木倉宏成（東工大）

1.3.2. 体内埋込用ポンプ開発のための基礎的研究

佐藤光太郎（GE・機械創造工学科）、横田和彦（名工大）

1.3.3. 微生物による水素ガス生産

小野寺一清（総合研究所）、志澤泰彦（日大短大・生物資源学科）

1.3.4. 酵素反応マイクロリアクタの反応成績

長本英俊（工・環境化学工学科）、大島榮次（東工大）

下記に、各小テーマの研究概要および今年度の成果をまとめる。

2. 各小テーマの研究概要

1.3.1. マイクロスケール下の熱流体挙動、医用エネルギー機器およびマイクロエネルギー機器の開発に関する研究

ドラッグデリバリーシステム（DDS：Drug Delivery System）とは薬物送達システムとも呼ばれ、体内における薬物放出の速度、時間、場所（空間）などをコントロールすることにより治療効果を改善するための処方または投与形態である。このDDSの歴史は、20世紀初頭に「薬物を体内の特定部位に送達しようとする最初の構想が提唱された」のを諸とし、現21世紀では、ナノテクノロジーとDDSとの融合や再生医療などの先端医療へのDDSの応用が積極的に行われている。

本年度は、この基礎的研究として、固気液三相流中の気体プラグ上昇速度および固相粒子の挙動、輸送特性に及ぼす流路径および粒子径の影響を実験的に検討した。

1.3.2. 体内埋込用ポンプ開発のための基礎的研究

本年度は、振動弾性板ポンプ開発のための基礎的研究と

して、ピッチング運動を伴う弾性平板を利用したポンプを試作し、性能を評価した。主として吐出圧に及ぼす振動数および弾性板形状、ヤング率などの影響について調べ、得られた結果を剛性比を考慮した圧力係数と無次元振動数により整理した。さらに可視化観察により、弾性板の振動形態と昇圧の関係について議論した。その結果、弾性板の挙動観察から振動形態と圧力特性との関係を明らかにした。

1.3.3. 微生物による水素ガス生産

空気中の窒素を還元して、アンモニアを生成する反応を窒素固定といい、工業的にはハーバー・ボッシュ法によって行われる。これが近代の化学工業(1913)の始まりである。これと同じ反応を行う酵素をニトロゲナーゼという。多くの窒素固定菌がこの酵素を持っている。この反応で生成される H_2 は水中のプロトンが還元されて生成されると表現される。この微生物からニトロゲナーゼを取り出して酵素そのものを用いるバイオリアクターを構築して水素を生産することが可能になれば、大変有益なものとなることが期待される。本年度は、この微生物のニトロゲナーゼ複合体St1/St2complexのうち、一般的なニトロゲナーゼのFeタンパク質に相当するSt2の遺伝子をクローニングし、大腸菌内に強制発現させ、簡易に精製する方法を検討した。その結果、St2遺伝子をクローニングし、大腸菌内に活性を維持した状態での誘導タンパク質として発現させることを目指し今回それに成功した。また、微生物の生理的特徴を最大限有効活用し、熱変性による精製を試行した。これによって、誘導発現させたSt2タンパク質は、nativeなものと同じアミノ酸配列を持った状態で精製することが可能となった。今回の実験結果は、再構成系を水素ガス産生に特化させるための、種々の生化学的条件を調べる上で大きな進展をもたらすものと期待される。

1.3.4. 酵素反応マイクロリアクタの反応成績

本年度は、直線流路のリアクターと屈曲部を含むリアクターに対して中和反応実験を行い、収率の差から界面歪曲との関係を明らかにすることを目的とした。シミュレーションの結果、直線リアクターの反応終了距離と平均流速の間に一次の相関があることがわかった。屈曲部付リアクターの界面に関して用いたカーブモデルの場合、第1カーブ後に界面積が3.11倍、第2カーブ後に1.01倍になった。単一カーブのような大きな増加率の場合、反応促進度も大きくなり、反応終了距離もかなり短くなると期待できる。

3. まとめ

次ページ以降に各小テーマ（1.3.1.～1.3.4.）の平成22年度の主な研究成果の詳細をまとめる。

1.3.1. マイクロスケール下の熱流体挙動、医用エネルギー機器および マイクロエネルギー機器の開発に関する研究 — ドラッグデリバリーシステムに関する基礎的研究（気液二相流を利用した固相粒子の輸送） —

Fundamental Study on Drug Delivery System (Transportation of Solid Particles by using Liquid-Gas Two-Phase Flow)

大竹 浩靖 (工・機械工学科)、小泉 安郎 (信州大学)、田中 学 (千葉大学)、木倉 宏成 (東工大)
Hiroyasu Ohtake,
Yasuo Koizumi (Shinshu Univ.), Gaku Tanaka (Chiba Univ.), Hiroshige Kikura (TITech)

Keywords: Drug Delivery System, Solid Particles, Liquid-Gas Two-Phase Flow, Plug Flow

1. 緒言 1.3.1 テーマは「マイクロスケール下の熱流体挙動、医用エネルギー機器およびマイクロエネルギー機器の開発に関する研究」と題し、低温治療用の液体窒素によるクライオプローブシステムや気泡を利用したドラッグデリバリーシステム、熱電発電素子等の開発を目的とする。クライオプローブとは、主として液体窒素を利用して、病理細胞を破壊する凍結手術用の器具である⁽¹⁾。このクライオプローブは、サブミリメートルの同軸二重パイプからなり、内側に液体窒素が流れ、先端で蒸発することによる冷却効果で治療を行う。蒸発後は窒素ガスとなり、外側の環状流路を経て外部へガスが排出される。すなわち、この器具は、マイクロスケール下の熱工学（蒸発、二相流動、流体力学）を積極的に利用したものである。近年、より小さな病変にも適用できるマイクロクライオプローブの開発が注目されている。

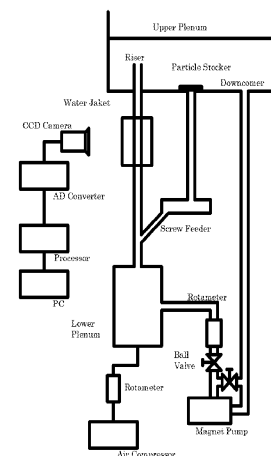
また、ドラッグデリバリーシステム (DDS: Drug Delivery System) は薬物送達システムとも呼ばれ、体内における薬物放出の速度、時間、場所 (空間) などをコントロールすることにより治療効果を改善するための処方または投与形態である。この DDS の歴史は、20 世紀初頭に「薬物を体内の特定部位に送達しようとする最初の構想が提唱された」のを諸とし、1970 年代になり DDS の概念が広まり、放出制御製剤やインスリン注入デバイスが開発された。1980 年代に入り、蛋白質 (ペプチド) をデリバリーするための研究が進展し、1990 年代に桂皮治療システムの開発並びに遺伝子治療が開始された。さらに 21 世紀に入ると、ナノテクノロジーと DDS との融合や再生医療などの先端医療への DDS の応用が積極的に行われている。DDS は、一般には、放出制御、吸収障壁の克服、標的指向性の 3 つに大別され、究極の DDS は、放出制御、吸収障壁の克服、ターゲティングを生体や病態にとって理想的な形で行い、最適な薬物療法を達成することとされている⁽²⁾。

本報告は、後者 (前者は昨年度参照) のドラッグデリバリーシステムの開発のための基礎的研究および固気液三相流動の基礎研究として、気液二相流、特に気体プラグ流を利用した固相粒子の輸送を検討したものである。特に、固気液三相流中の気体プラグ上昇速度および固相粒子の挙動、輸送特性に及ぼす流路径および粒子径の影響を実験的に検討した。

2. 実験装置および手順 内径 30mm、鉛直高さ 3,000mm と内径 5mm、鉛直高さ 1,000mm の 2 種類の透明アクリル製円管をテスト流路とし、気相に空気、液相に水 (水道水)、固相にガラス球およびステンレス鋼球を使用して実験を行った。

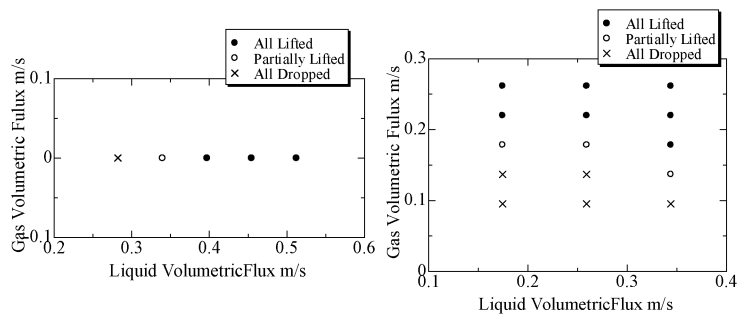
実験装置は、大気開放循環ループで構成される。その概略図を Fig. 1 に示す。主な装置構成要素は、上部プレナム、下部プレナム、テスト流路である上昇管、下降管、循環ポンプ、粒子貯蔵管、粒子スクリーフイーダおよび空気供給用のコンプレッサである。循環液流量、空気流量は浮き子式流量計

にて測定した。管内径 30mm での実験ではテスト流路上端から下方 1,200mm、管内径 5mm では上端から 400mm の位置にウォータージャケットを設置し、外部から CCD カメラにて流動挙動を撮影し、気体プラグ上昇速度の測定および固相粒子の挙動の観測を行った。固相粒子供給装置は螺旋状回転子 (木工用ドリル) とモータ (ハンドドリル) から成り立っている。モータ回転数の制御は電圧調整器にて行い、螺旋状回転子の回転数を制御することにより、任意の一定体積流束の固相粒子をテスト流路内へ供給した。実験手順は、テスト流路を水道水で満たし、循環ポンプを駆動させ、循環ループ内に一定流量の循環流を形成させる。次いで、空気コンプレッサから空気をテスト流路下部プレナム内空気吹き込みノズルに送り、テスト流路内に上昇気体プラグ流を形成させる。固相粒子供給装置から一定流束の固体粒子をテスト流路内へ供給する。なお、上昇できない粒子は、下部プレナムに蓄積される。一方、流れに乗って上昇した粒子は上部プレナムで流れから分離され、上部プレナム内に蓄積される。一定時間経過後、粒子供給および液循環を停止し、下部プレナムおよび上部プレナム内に貯められた固相粒子の質量を測定し、経過時間と測定されたそれぞれの蓄積粒子質量から、上昇粒子、落下粒子および正味の上昇粒子の体積流束を求めた。 Fig. 1 Experimental Apparatus



3. 実験結果および考察

まず、液単相流条件での、固相粒子のリフト限界、すなわち、投入した固相粒子の全量が落下する条件および全量が上昇する条件について検討を行った。Fig. 2 (a) に、管内径 5mm、ステンレス鋼粒子 $d_s = 1.58 \text{ mm}$ での固液二相流時のリフト限界を示す。プール水中 (すなわち、浮力と粘性力との平衡条件) での、 $d_s = 1.58 \text{ mm}$ のステンレス鋼粒子の沈降速度は約 0.56 m/s に対して、それよりも遅い液流速、 0.35 m/s 程度で固相粒子の上昇が認められた。これは流路径が小さく、管内の流れが層流となり、最大液流速が平均液流速の 2 倍となり、管内中心付近に存在する固相粒子が前出の沈降条件より大きな上昇速度を得られたためと考えられる。また、Fig. 2 (b) は、気液二相流条件での、固相粒子のリフト限界を示したものである。Fig. 3 に示すように、気相容積流束を増加させると固相粒子は上昇する。これは気相容積流束が増加するとポ



(a) Liquid Single Flow (b) Liquid-Gas Two-Phase Flow

Fig. 2 Limitation of Particle Lifting on Stainless Steel Particles

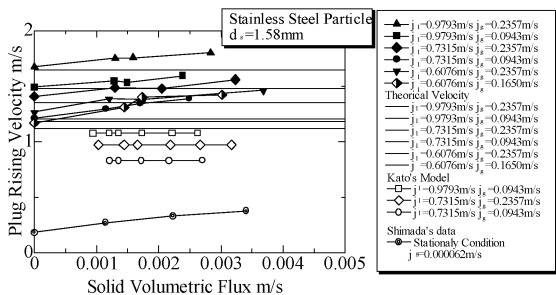


Fig. 3 Relation between Plug Rising Velocity and Solid Volumetric Flux on Stainless Steel Particles $d_p=1.58\text{mm}$

イド率が大きくなり、液相の流速が大きくなるためであり、この結果は管内径 30mm の結果と同様である。以上、管内径の微細化、すなわち管内の層流化および気相（あるいは、密度の小さい混ざらない液相）の添加は、固相粒子の輸送量を増加させる効果があることがわかる。

Fig. 3 に、管内径 30mm において、気相容積流速 0.7315~0.9794 m/s、液相容積流速 0.1415~0.2358 m/s、固相にステンレス鋼粒子 $d_p=1.58\text{mm}$ を用いた場合の気体プラグ上昇速度を示す。図中には、Nicklin の理論式より算出した気液二相流時の気体プラグ上昇速度、島田らによる静止液柱内を粒子が落下する場合の気体プラグ上昇速度測定値を比較のため示した。また、加藤らのモデル解析による固気液三相流中における気体プラグ上昇速度の計算値も併記した。Fig. 3 中に示されているように、測定された気体プラグ上昇速度は、固相体積流速 0 で気液二相流時の理論式に一致し、固相を加えることで上昇し、固相容積流速の増加とともに上昇していることがわかる。この傾向は、静止液柱内を粒子が落下する場合の島田らにより得られている気体プラグ上昇速度の落下固相流子束への依存性とほぼ同一である。なお、Fig. 3 中に示されているように、加藤らのモデル解析値と本実験結果とは大きな差異が見られた。加藤らは各相の体積分率を基として気体プラグ上昇速度の計算法を提案しているが、本実験では管軸方向に変化する体積分率を測定していないためと思われる、今後の検討課題である。

続いて、気体プラグ上昇速度に及ぼす流路径および粒子径の影響を検討した。前出のように管内径は 30mm および 5mm、固相粒子はステンレス鋼粒子 $d_p=1.58\text{mm}$ 、ガラス粒子 $d_g=2.08\text{mm}$ および 0.432mm である。Fig. 4 に、固相粒子の添加による各気体プラグ上昇速度の気液二相流時に対する上昇率と固相容積流速との関係を示す。Fig. 4 に示すように、多くの条件で、固相粒子の添加により気体プラグの上昇速度が増加していることがわかる。しかしながら、管内径 5mm、粒子径 1.58mm の条件では、気体プラグ上昇速度の増加は見られなかった。一方、同じ粒子径 1.58mm の条件でも管内径 30mm の場合、同じ管内径 5mm の条件でも粒子径 0.432 mm

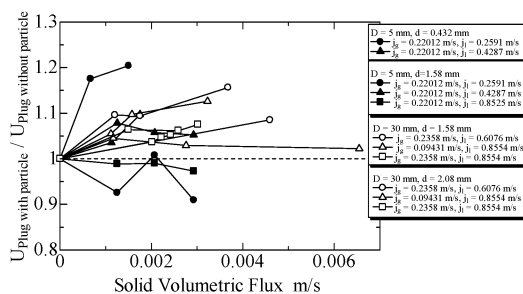


Fig. 4 Relation between Increasing Ratio of Plug Rising Velocity and Solid Volumetric Flux

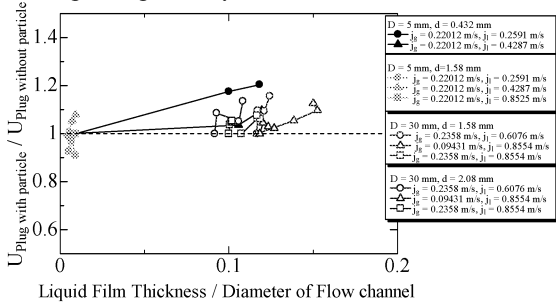


Fig. 5 Relation between Increasing Ratio of Plug Rising Velocity and Ratio of Liquid Film Thickness and Channel Diameter

の場合には、気体プラグ上昇速度の増加が認められる。これは流路径に対して粒子径が大きいためであると思われる。すなわち、気体プラグ上昇速度を律するのは、気体プラグ周りの液膜流れであることに起因する。つまり、流路径に比して粒子径が小さい場合にはこの気体プラグ周りの液膜に固相粒子が入り込み、気体プラグ周りからの下方への液体の運動量の増加を期待されるのに対し、流路径に比して粒子径が大きい場合にはこの液膜内に固相粒子が入り込めず、気体プラグ周りからの下方への液体の運動量の増加がないことが要因と思われる。事実、固相粒子の挙動の観察によると、管内径 30mm、粒子径 1.58 mm および管内径 5mm、粒子径 0.432 mm の条件では液膜内に固相粒子が認められたのに対して、管内径 5mm、粒子径 1.58 mm の条件では液膜内に固相粒子が認められなかった。

上記の事実を明確にするため、Fig. 5 に、固相粒子の添加による各気体プラグ上昇速度の気液二相流時に対する上昇率を液膜厚さの観測値（平均値）と管内径との比に対して示す。Fig. 5 より、明らかに、管内径 5mm、粒子径 1.58 mm の条件では液膜厚さと管内径との比が小さいことがわかる。なお、第 1 次評価として、気体プラグ上昇速度を増加させるためには、粒子径を管内径の 10%以下にする必要があることがわかった。

4. 結論 固気液三相流中の気体プラグ上昇速度および固相粒子の輸送特性に及ぼす流路径および粒子径の影響を実験的に検討し、気体プラグ周りの液膜に固相粒子が入り込むと液膜が厚くなり気相の上昇速度が上昇し、この現象は固相粒子径が流路径の 10%以下で起こることを確認した。

参考文献 (1) 円山ほか、第 41 回伝熱シンポジウム論集、(2004)、395. (2) 有馬、混相流、Vol.19-No.4、(2005)、312.

査読付国際学会

Koizumi, Y., Katsuta, A. and Ohtake, H., Flow and Heat Transfer of Micro-Tube Bank, 8th Int'l Conf. Nanochannels, Microchannels, and Minichannels, FEDSM-ICNMM2010-30711, (2010), pp. 1-8. ほか 2 編。

学会発表

大竹・本橋、第 15 期機械学会関東支部総会講演会 (2010)。ほか 3 編。

1.3.2. 振動弾性板ポンプの性能特性に関する研究

Study on Performance Characteristics of the Vibrating Elastic Plate Pump

佐藤光太郎, 横田和彦 (青山学院大)

Kotaro SATO, Kogakuin University, 1-24-2 Nishi-shinjuku, Shinjyuku-ku, Tokyo

Kazuhiro YOKOTA, Aoyama Gakuin University, 5-10-1 Fuchinobe, Chuo-ku, Sagamihara-shi, Kanagawa

Key Words: Fluid Machinery, Pump, Forced Vibration, Flow-elasticity, Flow Induced Vibration, Elastic Plate

1. 緒言

現在、使用されているポンプの多くは回転型ポンプあるいは容積型ポンプに属している。ところが体内埋め込み型ポンプなどの特殊な領域では、これまでのポンプとは異なる原理による液体輸送方法の開発が求められており、そのひとつに振動弾性板ポンプが挙げられる。近藤⁽¹⁾らは回転軸に設置された弾性板に磁石を付加し、外部磁界を周期的に変化させることによりピッチング運動を実現した。上記は非接触駆動型であることから医療分野への応用にも適しており、振動弾性板ポンプによる胎児水頭症治療が主な研究目的である。しかし、磁界印加パターンなどの駆動方法に主眼が置かれていることから、弾性板の振動形態とポンプ吐出圧との関係などについてはほとんど言及されていない。一方、振動弾性板を利用した送風機に関する研究では、山口ら⁽²⁾がヒービング運動する弾性平板による流れ発生器の流動特性を調べている。得られた結果は質量比、剛性比、無次元振動数等で整理されているが、これらの無次元量が性能曲線に及ぼす影響などに対する考察は十分とはいえない。

本研究は振動弾性板ポンプ開発のための基礎的研究であり、ピッチング運動を伴う弾性平板を利用したポンプを試作し、性能を評価する。主として吐出圧に及ぼす振動数および弾性板形状、ヤング率などの影響について調べ、得られた結果を剛性比を考慮した圧力係数と無次元振動数により整理した。さらに可視化観察により、弾性板の振動形態と昇圧の関係について議論した。

2. 実験装置及び概要

本研究で用いた実験装置概略を図1に示す。流路内にはリンク機構を伴う回転軸が設置され、回転軸に弾性板支持具が取り付けられている。さらに支持具に弾性板前方を埋め込むことで弾性板のピッチング振動を実現した。なお、リンク機構はモーターを動力としており、本研究では振動角は $\theta_A=15^\circ$ とした。

図2は本研究で試作したポンプモデル試験部である。ポンプ部は上記振動部と高さ $H=20\text{mm}$ 、幅 $W=40\text{mm}$ の亚克力製矩形流路から構成されている。また、ポンプ上流側は

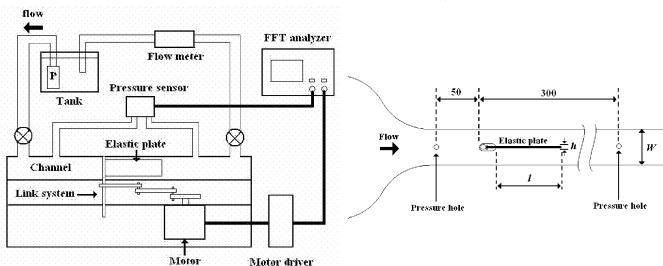


Fig.1 Schematic of experimental apparatus

Fig. 2 Schematic of test section

ノズル形状となっており流路内境界層の発達を抑制している。なお、流路側壁の2箇所に $\phi 1\text{mm}$ の圧力測定孔が設けられている。圧力測定孔は試験片支持具先端部より上流側に 50mm および下流側に 300mm の位置にあり、本研究ではこの差圧を微差圧センサ(GE Sensing Japan社製LPM-5481)で計測することにより、ポンプ吐出圧として評価した。

弾性板の形状は幅 $b=19\text{mm}$ 、長さ $l=70\text{mm}$ 、厚さ $h=1,2,3\text{mm}$ の直方体であり、弾性板材料には密度 $\rho_e=1200\text{kg/m}^3$ 、ヤング率 $E=2.2,5.4,8.9\text{MPa}$ のシリコンゴムシートを使用した。なお、流路高さは $H=20\text{mm}$ 、弾性板幅は $b=19\text{mm}$ であるため側壁と弾性板とのクリアランスは上下共に 0.5mm になるよう調整した。

作動流体には水道水を用い、流量はポンプの下流に取り付けた楕円ギヤ式流量計(愛知時計製OF05ZZF)と、浮子式流量計(大阪フローメーター製RG-3)で計測した。また、弾性板の挙動観察にはデジタルビデオカメラ(CASIO製EXILIM PRO EX-F1)を使用し、フレームレート 600fps で撮影した。

3. 結果および考察

図3、図4に $l=72\text{mm}$ 、流路幅 $W=40\text{mm}$ 、流量 $Q=0\text{m}^3/\text{s}$ の場合の結果を示す。図3は振動数 f と吐出圧(入口と出口の差圧) Δp_p の関係であり、ヤング率 E および弾性板厚さ h をパラメータとして示す。なお、剛性比が小さく、振動数が高い領域では弾性板の運動は波状ではなく後縁が上流側を指すほどの大変形を伴う運動となる。ここではこの状況下得られた結果は除外し、弾性板の挙動が定在波や進行波となる場合について報告する。図3ではいずれの場合も振動数 f の増加に伴い吐出圧 Δp_p は概ね増加する傾向にあるが、条件によっては Δp_p の値がほぼ横ばいとなる振動数帯が存在することがわかる。吐出圧 Δp_p がほぼ横ばいとなる振動数帯は E が大きいほど、 h が大きいほど高い振動数へシフトしている。また、その時の Δp_p の値も E と h に依存している。したがって、9種の実験条件に対して9つの曲線が得られることがわかる。

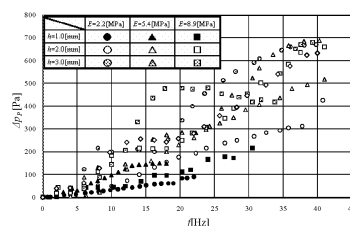


Fig.3 Relation between frequency f and pressure performance Δp_p . For various h and E . ($Q=0\text{m}^3/\text{s}$)

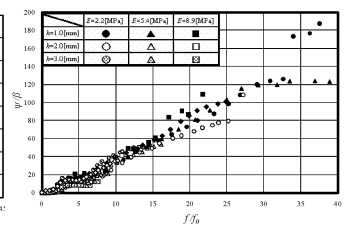


Fig.4 Influence of the reduced frequency f/f_0 on the non-dimensional pressure w/B ($\phi=0$)

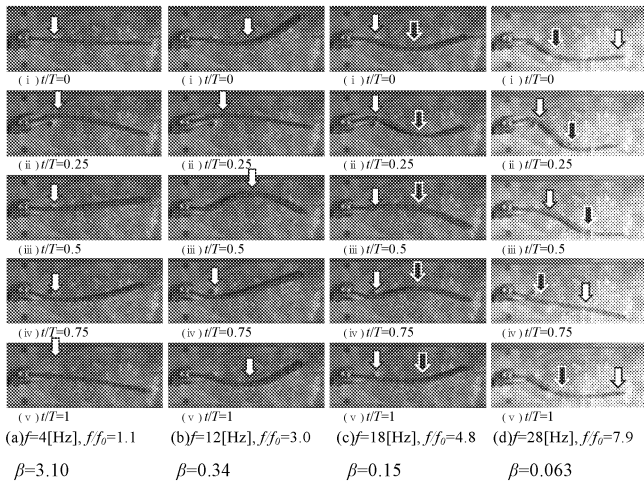


Fig.5 Photographs of elastic plate motion
($l=72[\text{mm}], h=2[\text{mm}], E=8.9[\text{MPa}], Q=0[\text{m}^3/\text{s}]$)

図4は図3で得られた結果を無次元振動数 ff_0 と無次元圧力 ψ/β で整理した図である。ここで f_0 は固有振動数, $\psi = \Delta p_P / \rho_w U_0^2$ は圧力係数, $\beta = EI / (\rho_w U_0^2 l^3 b)$ は剛性比である。なお, 固有振動数 f_0 は弾性板の水中タッピングテストにより求めた。本図では異なる実験条件であっても実験点は概ね一本の曲線上に分布している。すなわち, 全体的には右上がりの特性を示しているが, $ff_0=0\sim 2$ 並びに $4\sim 7$ 付近で ψ/β はほぼ一定値を示し, それぞれ $\psi/\beta \approx 0$ と $10\sim 20$ 程度となっている。ただし, 無次元振動数が高い領域, 特に $ff_0 > 20$ ではプロット点の分布範囲が大きくなっている。

ところで, 張力を無視した弾性板の曲げ方程式を $\rho_w U_0^2$ (ここで, ρ_w : 液体密度, U_0 : 弾性板変形を無視した時の終端周速) で無次元化し, β で除すると, 次式が与えられる⁽³⁾。

$$\frac{\mu}{\beta} \frac{\partial^2 y_s}{\partial t^2} + \frac{\partial^4 y_s}{\partial x^4} = \frac{\Delta P_L}{\beta} \quad (1)$$

ここで, $\mu = \rho_e h / (\rho_w l)$ は質量比, $\beta = EI / (\rho_w U_0^2 l^3 b)$ は剛性比, $\Delta P_L = \Delta p_L / \rho_w U_0^2$ は無次元圧力である。ただし, Δp_L は弾性板上下の圧力差を表す。すなわち上式は弾性板の運動特性が無次元振動数と $\Delta P_L / \beta$ で決定されることを示しており, 図4の結果と併せて考えると弾性板上下の圧力差 Δp_L がポンプ吐出圧 Δp_P に対応しているものと思われる。

図5, 6に $l=72\text{mm}$, $W=40\text{mm}$, $Q=0\text{m}^3/\text{s}$ の条件下で撮影された異なる剛性を有する弾性板の一周期の挙動観察例を示す。図5は $h=2\text{mm}$, $E=8.9\text{MPa}$, 図6は $h=1\text{mm}$, $E=2.2\text{MPa}$ の場合である。

図5では(a) $ff_0=1.1$, (b) $ff_0=3.0$, (c) $ff_0=4.8$, (d) $ff_0=7.9$ であり, 図6では(a) $ff_0=1.2$, (b) $ff_0=3.6$, (c) $ff_0=5.5$, (d) $ff_0=7.1$ で得られた結果を示す。図4の圧力特性から見れば(a), (c)は ψ/β が ff_0 に対してほぼ一定となる領域, (b), (d)は ψ/β が ff_0 の増加に伴って大きくなる領域で得られた挙動観察例である。

また, 参考のため図中には弾性板極率が最大となる位置を矢印で示した。本研究では, 回転方向が反時計回りで弾性板支持部が流路と平行になる時刻を $t=0\text{s}$ と定義し, 周期 T は画像解析より求めた。ところで, 渡辺ら⁽⁴⁾は, 節が固定される定在波 S と節が x 方向に移動する進行波 T と節の数により, $S1, S2 \dots$, 並びに $T1, T2 \dots$ のように振動形態を分類している。そこで本報告でも同様の定義を用いて議論する。図5, 図6のいずれの場合も(a)は $S1$ モード, (b) $T1$ モード, (c) $S2$ モード, (d) $T2$ モードと

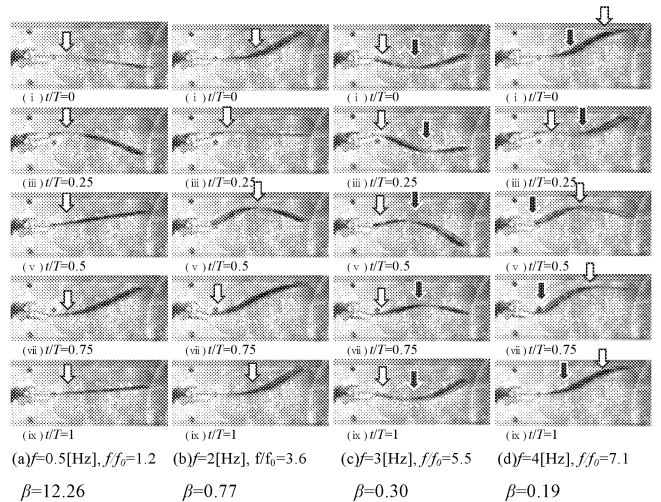


Fig.6 Photographs of elastic plate motion
($l=72[\text{mm}], h=1[\text{mm}], E=2.2[\text{MPa}], Q=0[\text{m}^3/\text{s}]$)

なっている。すなわち, 剛性が異なる場合でも無次元振動数が等しければ弾性板の振動形態は概ね一致し, 図4の圧力特性曲線を考慮すると弾性板の挙動が進行波となる場合に振動数に伴う圧力上昇が期待できることがわかる。なお, この結果は渡辺ら⁽⁴⁾の推進力に関する実験結果とも一致している。

4. 結言

本研究では弾性板ポンプの圧力特性に及ぼす振動数やヤング率など影響について調べ, 昇圧メカニズムについて議論した。また弾性板の挙動観察から振動形態と圧力特性との関係を明らかにした。

文献

- 1) 近藤, 本田, 山崎, 石井, “外部磁界で駆動可能な体内埋込用マイクロポンプの試作”, 日本応用磁気学会誌, Vol.26, No.4 (2002), pp612-615
- 2) 山口, 緒方, 齋藤, “振動弾性板流れ発生機の特性に関する実験研究”, 日本機械学会論文集 B 編, Vol.72, No.720(2006), pp1969-1976
- 3) 横田, 小林, 辻本, 山口, “一様流中で後縁を支持された柔軟シートの挙動に関する実験および線形安定解析”, 日本機械学会論文集 B 編, Vol.66, No.641(2000), pp.127-132
- 4) 渡辺, 林, 村松, 小林, 坂井, “柔軟な魚の尾ひれの運動をモデルにした弾性平板の進行波動的波動運動による推力特性 (第1報, 水中での推力測定)”, 日本機械学会論文集 C 編, Vol.67, No.655(2001), pp682-690

学会発表

- 1) Ryota Tsunoda, Koichi Nishibe, Yuki Fujita, Kotaro Sato, Kazuhiko Yokota and Toru Koso, Study on the Flow Characteristics of Synthetic Jets near a Rigid Plane Boundary, ASME-JSME-KSME Joint Fluids Engineering Conference 2011, 9th Symposium on Fundamental Issues and Perspectives in Fluid Mechanics, 発表予定
- 2) Koichi Nishibe, Yuki Fujita, Kotaro Sato, Kazuhiko Yokota and Toru Koso, Study on the Flow Structure of the Synthetic Jet, Int. Conf. on Jets, Wakes and Separated Flows, CD-ROM, 16-19, 2010
- 3) Koichi Nishibe, Kotaro Sato, Yoshinobu Tsujimoto and Haruo Yoshiki, Experimental and Numerical Study on the Control of Flow Instabilities Downstream of Radial Inlet Guide Vanes, Int. Conf. on Jets, Wakes and Separated Flows, CD-ROM, 16-19, 2010

1.3.3. 微生物による水素ガス生産 —新規ニトロゲナーゼを用いた水素ガス生産— Hydrogen production by a novel nitrogenase from CO-oxidizing bacterium

小野寺 一清

志澤 泰彦 (日本大学短期大学部 生物資源学科)

Kazukiyo ONODERA

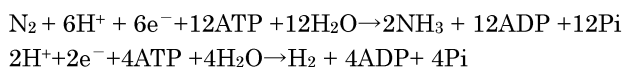
Yasuhiko SHIZAWA (Dept. of Bioresource Science, Nihon University Junior College)

Keywords: Hydrogen production, *Streptomyces thermoautotrophicus*, Nitrogenase, Bioreactor

1. 緒言

空気中の窒素を還元して、アンモニアを生成する反応を窒素固定といい、工業的にはハーバー・ボッシュ法によって行われる。これが近代の化学工業(1913)の始まりである。これと同じ反応を行う酵素をニトロゲナーゼという。多くの窒素固定菌がこの酵素を持っている。

$N_2 + 3 H_2 \rightleftharpoons 2NH_3$ の平衡は、系の圧力が高いほどアンモニア濃度が大きくなるので、アンモニア合成は数百 atm の高圧下で行われる。反応速度を高めるため反応温度は 400-500°C で、触媒としては鉄を主触媒とし、アルミナ、酸化カリウムを加えたものが用いられる。酵素は生体触媒であるから、これらの反応を行うためには金属を含むタンパク質であることが予想されるが、実際 2 種類の金属を含むタンパク質が関与している。ニトロゲナーゼといわれるタンパク質は Component I と Component II とに分離できる。活性測定用反応液には dithionite ($Na_2S_2O_4$) を還元剤として、Mg-ATP をエネルギーとして加えるので下記の反応は不可逆となる。



この反応で生成される H_2 は水中のプロトンが還元されて生成されると表現される。水が分解されて水素が発生していることは、 D_2O から D_2 が生成されることで確認されている。生化学的反応としては次のように表現される。



ここで n の値はどの微生物から得られたニトロゲナーゼによるかにより変化する。

ニトロゲナーゼは 2 つのタンパク質から構成されており、そこに含まれる金属により Fe タンパク質、FeMo タンパク質と呼ばれる。

Fe タンパク質は細胞内で代謝により生産される電子を集める働きがあり、electron sink と呼ばれる。FeMo タンパク質は N_2 および H^+ を還元する活性中心である。Fe タンパク質が Mg-ATP と結合して、ATP を分解して ADP を生成するとき発生するエネルギーを利用するとともに、FeMo タンパク質とドッキングして、電子を伝達することにより N_2 または H^+ を還元する。この反応は生化学反応の中でもっとも複雑なものの一つであろう。

FeMo タンパク質には Fe と Mo を中心とする cofactor と呼ばれる金属錯体がありこれは FeMo cofactor と呼ばれている (Fig.1) ¹⁾。Fe タンパク質には 1 個の 4Fe4S cluster

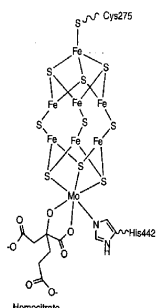


Fig.1 Structure of FeMoCo active center of nitrogenase

があり、これは鉄—硫黄タンパク質によく見られるものである。FeMo タンパク質には 2 個の金属—硫黄 cluster があり、それらは P cluster および FeMo cofactor である。P cluster は 8 個の Fe を含み、後者は 1 個の Mo と 7 個の Fe を含んでいる。ドッキングの際に電子は先ず P cluster に伝達され、その後 FeMo cofactor に伝達される。FeMo cofactor は基質である N_2 の結合部位と考えられている。このとき ATP は分解されて ADP となる。現象論的には以上のように説明されているが反応の機構は明らかではない。これらの基質の中で注目すべきものは、 H^+ 、 $CH \equiv CH$ である。 H^+ は 1 電子還元で H_2 を生成し、 $CH \equiv CH$ は 2 電子還元で $CH_2 = CH_2$ を生成する。この反応はニトロゲナーゼ活性の簡便な活性測定法としても用いられている。また一方では CO (一酸化炭素) はニトロゲナーゼの非拮抗的阻害剤であることが知られている²⁾。もし CO の存在下で生育する窒素固定微生物があればこれまで知られた微生物のニトロゲナーゼとは異なる性質を持つことが期待される。このような微生物は実際に存在していて、これらを carboxydrotroph という³⁾。

この微生物からニトロゲナーゼを取り出して酵素そのものを用いるバイオリクターを構築して水素を生産することが可能になれば、大変有益なものとなることが期待される。今回は、この微生物のニトロゲナーゼ複合体 St1/St2 complex (Fig.2) のうち、一般的なニトロゲナーゼの Fe タンパク質に相当する St2 の遺伝子をクローニングし、大腸菌内に強制発現させ、簡易に精製する方法を検討した。

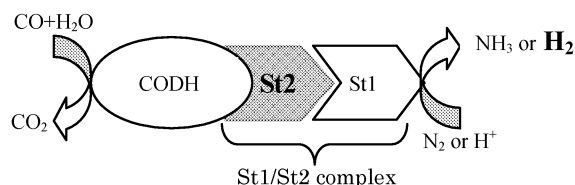


Fig.2 *S.thermoautotrophicus* のニトロゲナーゼ複合体模式図

2. 実験結果

1) St2 遺伝子のクローニング

St2ORF の塩基配列情報は、共同研究先であるドイツ・バイロイト大学の Gadkari 博士から供与された。これを参考にし、624bp の完全長 DNA を人工合成し、発現ベクター pET11a の *NdeI*/*BamHI* サイトに組み込んだ。これを用いて、*E.coli* BL21(DE3) を形質転換させ、Amp 耐性を指標として plasmid 保持菌をスクリーニングした。選択した菌体から plasmid DNA を抽出し、insert DNA の塩基配列を決定したところ St2ORF 完全長が正確にクローニングされていたことを確認し、この plasmid を pSt2 とした (Fig.3)。

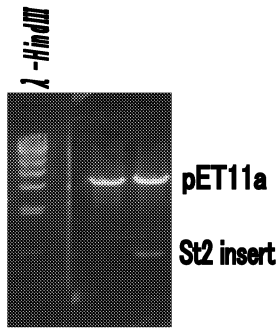


Fig.3 pET11a ベクターに挿入された St2 遺伝子断片 St2 遺伝子挿入した pET11a ベクターから *NdeI/BamHI* により 624bp の St2 遺伝子 insert DNA を切り出し、アガロース電気泳動で確認した結果。

2) 大腸菌菌体内での St2 タンパク質の発現

IPTG による St2 タンパク質の発現誘導を試みた。pSt2 から発現される St2 タンパク質の推定分子量は 24,000 である。誘導発現させた後、大腸菌内の総タンパク質を抽出し、SDS-PAGE を行った。予想された分子量の位置にタンパク質のバンドが確認された。この誘導タンパク質は可溶性画分に分離されることが示された。大量精製するために有効な発現誘導条件をさらに検討したところ、30℃において 0.1mM IPTG 4 時間の誘導培養で、St2 タンパク質が大腸菌全タンパク質の約 30~40% 程度の発現量を占めた。以後、この条件での発現誘導を行うこととした。

3) 熱処理による St2 タンパク質簡易精製法の検討

Streptomyces thermoautotrophicus は、65℃を至適生育温度とする好熱性の化学独立栄養微生物である。この微生物由来の St2 タンパク質は、65℃程度の熱環境においては熱に対して耐性があることが予想される。St2 タンパク質を強制発現させた大腸菌細胞質溶液を 65℃で熱処理し、大腸菌由来のタンパク質を熱変性させた。その後、遠心分離したところ上清に St2 タンパク質が高純度で回収された(Fig.4.)。

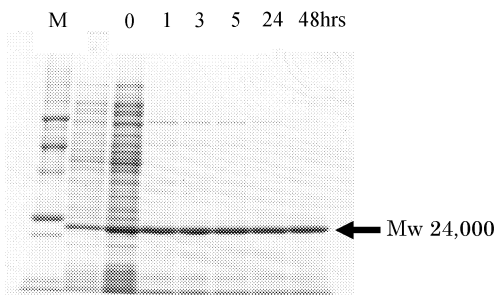


Fig.4 大腸菌内に発現させた St2 タンパク質の熱処理による精製過程の SDS-PAGE M; 分子量マーカー, 0~48 は 65℃での熱処理時間を示す。

4) 熱処理が St2 の SOD 活性に与える影響

NADH・PMS・NBT 系を用いた SOD 活性測定法⁵⁾を用いて、熱処理精製によって得られた画分の SOD 残存活性を調べた。この結果、65℃48 時間の熱処理においても、SOD 活性は減衰することなく 65℃程度の熱には極めて安定であることが示された (Fig.5)。

3. 考察

本研究の目的は、*Streptomyces thermoautotrophicus* のニトロゲナーゼ複合体を *in vitro* にて再構成して、アンモニア合成活性を極力抑制し、水素ガス産生に特化したバイオリクター系を構築することを目的としている。水素ガス産生は、ニトロゲナーゼにとって副次的な反応である。窒素還

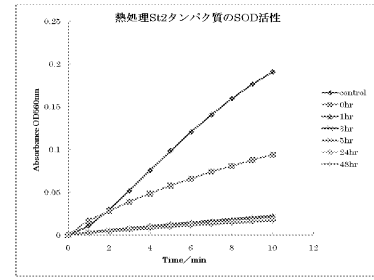


Fig.5 熱処理に時間による St2 の SOD 活性の変化

control では NADH/PMS によって生じた O_2^- イオンによる NBT の還元が進むが、3~48 時間 65℃で熱処理した大腸菌細胞抽出液中の SOD 活性は、いずれの場合も NBT の還元を阻害した。例外的に、未処理 (0hr) のものについては、大腸菌由来の還元活性物質による NBT の還元反応が同時進行している可能性がある。

元に使われる電子をプロトン還元に移行させるためには、その前段階の電子供与タンパク質の生化学的特徴に関する知見を得ること重要である。その解析には、酵素活性を維持した状態で大量に簡便に分離・分取できることが第一歩である。そこで、我々は遺伝子工学的に St2 タンパク質を大量にかつ迅速に取得する方法を検討した。そのために、St2 遺伝子をクローニングし、大腸菌内に活性を維持した状態での誘導タンパク質として発現させることを目指し今回それに成功した。

一般的には、大腸菌内に異種生物のタンパク質を誘導発現させ精製を考える場合、目的タンパク質の N 末端または C 末端に、後のアフィニティ精製のために有効な His tag などペプチドを挿入することが頻繁に行われる。しかし、本研究においては、微生物の生理的特徴を最大限有効活用し、熱変性による精製を試行した。これによって、誘導発現させた St2 タンパク質は、native なものと全く同一のアミノ酸配列を持った状態で精製することが可能となった。His Tag などのように金属キレート活性をもつ領域がタンパク質中に存在している場合に考えられる金属イオンによる酵素活性に対する影響を完全に遮断することができたことは、今後の実験系にとっても極めて有利である。

今後、本微生物から精製する予定のニトロゲナーゼ活性をもつ St1 タンパク質との再構成条件を検討し、その活性変化など、再構成系を水素ガス産生に特化させるための、種々の生化学的条件を調べる上で今回の実験結果は大きな進展をもたらすものと期待される。

参考文献

- 1) Louis Noodleman. et al: Quantum Chemical Studies of Intermediates and Reaction pathways in Selected Enzymes and Catalytic Synthetic Systems, Chem.Rev, 104, pp.459-508, 2004
- 2) J.R.Postgate.:"The Fundamentals of Nitrogen Fixation," p.39, Cambridge University Press 1982
- 3) Ortwin Meyer et al: Biology of Aerobic Carbon Monoxide-Oxidizing Bacteria ,Ann.Rev.Microbiol. 37,pp277-310,1983
- 4) D.Gadkari: A novel Nitrogenase: Superoxide-Dependent Nitrogen Fixation, Nitrogen Fixation at the millennium, Elsevier Science B.V. 2002
- 5) James F Ewing et al: Microplate Superoxide Dismutase Assay Employing a Nonenzymatic Superoxide Generator, Anal.Biochem,232,pp243-248,1995

1.3.4. 酵素反応マイクロリアクターの反応成績

Reactor Performance on Microreactor with Enzyme

長本 英俊、大島 榮次 (東工大)

Hidetoshi Nagamoto and Eiji Ohshima (TITech)

Keywords : Micro-reactor, Reactor performance, Rapid reaction

1. 緒言

マイクロリアクター内で化学反応を行うと、通常の回分式反応器や管型反応器と比して高収率が得られるという報告¹⁾があり、我々のこれまでの研究により狭い反応流路に置ける反応物質の速やかな拡散によることを明らかにしてきた。

マイクロリアクターの設計を行うには、これまでのような物質収支と反応速度だけから推算するのではなく、反応物質の混合過程を考慮しなければならない。そのためには、実験的に反応収率の定量的なデータを取り、計算値と比較検討する必要がある。液液2相系の反応の場合、反応収率は2流体間の界面近傍が反応速度が大きく、迅速な反応の場合界面積が全体の反応速度を支配する予想される。より効果的にマイクロリアクターを用いるためには、界面積を増やす研究、即ち界面制御を主体とした研究を進める必要がある。山口ら²⁾は水-水2相矩形マイクロリアクターに屈曲部を設け、直線形状だった界面が二次流れによって歪み、混合が促進されると報告している。しかし、界面歪曲が反応収率に与える影響は定量的に明らかになっていない。

本研究では、直線流路のリアクターと屈曲部を含むリアクターに対して中和反応実験を行い、収率の差から界面歪曲との関係を明らかにすることを目的とした。

2. 実験

2.1 中和反応実験

収率比較方法として、中和反応に伴うフェノールフタレインの脱色を利用する。この実験で使用するPMMA製矩形マイクロリアクターをFig. 1に示す。B地点へフェノールフタレインを加えた0.03M-NaOH溶液、C地点へ0.03M-HCl溶液をシリンジポンプで供給し、流量を平均流速が0.021~0.104m/sの範囲になるように変化させた。フェノールフタレインの赤紫色が見えなくなるところを反応終了地点とし、リアクター合流部との距離を測定した³⁾。直線流路 L_{dir} 、屈曲部有のリアクター L_{mix} 、それぞれの値の差を屈曲部による反応促進効果とみなし、界面歪曲との相関を試みた。

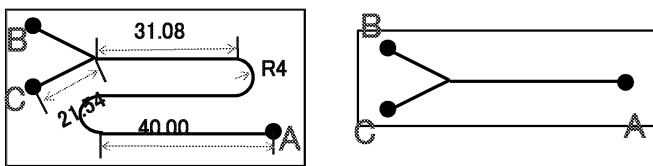


Fig. 1 PMMA製200×200 μ m矩形マイクロリアクター (単位: mm)

2.2 実験用マイクロリアクターの設計

Fig. 1のマイクロリアクターを反応実験に使用すると述

べた。しかし、屈曲部の高収率化を期待するには反応終了距離が第1カーブ終了後から流路出口、約44~97mmが条件となる。

まず直線リアクターの拡散反応距離を拡散方程式を解くことにより求める。次に屈曲部付リアクターの界面歪曲をCFD解析ソフト、StarCD(CD-adapco)でシミュレーションを行い、求められた界面歪曲度で直線部の反応距離を補正して、屈曲部付リアクターの拡散反応距離を求めた。これらの結果から、条件を満たしているか検証した。

A) 直線リアクターの反応距離の計算

層流中の拡散方程式をForward Euler法で解き、 x 方向の拡散を無視した近似的なモデルとして扱い、リアクター出口での深さごとの濃度分布と反応率を求めることとした。矩形流路の流速分布は理論式により求めたものを用いた。ここで、簡単のため二次元とし、 H^+ と OH^- の拡散係数は等しく($D=1.8\times 10^{-9}$ m²/s)、反応は瞬間反応とした。従って反応界面は流路中央から動かず、これを境界条件とした。

<拡散方程式>

$$\frac{\partial C}{\partial x} - \left(\frac{D}{U}\right) \frac{\partial^2 C}{\partial y^2} = 0$$

<差分方程式>

$$\phi = (C/C_0), X = m \Delta x, Y = n \Delta y$$

$$\phi(i+1, j) = \phi(i, j) + \left(\frac{DX}{UY^2}\right) \left(\frac{n^2}{m}\right) [\phi(i, j-1) - 2\phi(i, j) + \phi(i, j+1)]$$

$\phi[-]$ は無次元濃度、 D [m²/s]は拡散係数、 X [m]は流路長、 Y [m]は流路幅の半分、 U [m]は流速、 m, n はそれぞれ流路長と流路幅の分割数で、 $m=1000, n=10$ に設定した。

B) 屈曲部の界面シミュレーション

STARCDのVOF(自由表面流)モデルを使用し、界面シミュレーションを行った。モデルメッシュは屈曲部およびその前後1mmを細かくするように刻み、総数を78000とした。

流体物性は簡単に水-水2相系で、接触角は70°、拡散係数はゼロとして計算した。

歪みによる界面積の増加率は、第1カーブ前の流路の界面上に仮想粒子を置き、カーブ後のそれぞれの粒子間距離の総和 l を求める。そして、カーブ前の値 l_0 と比をとった l/l_0 を界面積の増加率とした。

3. 実験結果と考察

A) 直線リアクターの反応距離の計算

リアクター上壁面からの深さごとの濃度分布をFigs. 2, 3に示した。横軸は左右壁面からの水平距離で、グラフ左

上には合流点からの距離を示した。

また、反応率は濃度分布を積分することにより求めた。結果、収率は Fig. 2・3 共に左のグラフで 0.666、右のグラフで 0.944 となった。

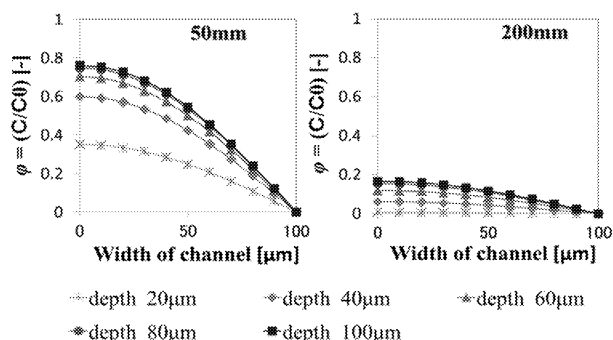


Fig. 2 平均流速 0.021m/s (Re=4.67) ときの濃度分布

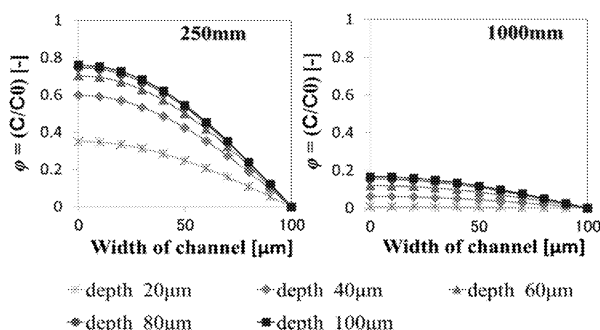


Fig. 3 平均流速 0.104m/s (Re=23.4) ときの濃度分布

平均流速 0.021m/s だと合流点から Fig. 2 より合流点から 1000mm 離れると反応率が 0.944 とほぼ完全に反応が終了している。この時、実験ではフェノールフタレインの赤紫色が完全に脱色していると予想される。

平均流速 0.104m/s のとき、平均流速 5 倍、滞留時間が 1/5 になった影響で反応終了まで距離が 5 倍に延びた。

さらに平均流速と反応距離は Fig. 4 のように比例関係にあり、(1)式で相関できた。

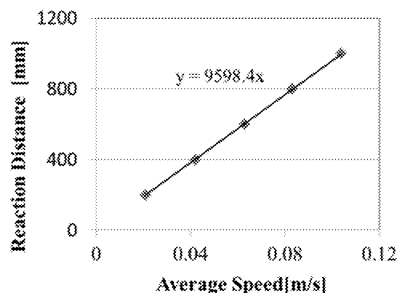


Fig. 4 平均流速と反応終了距離

$$L_{diff} = 9.60\bar{u} \quad (1)$$

L_{diff} : 反応終了距離 [m], \bar{u} : 平均流速 [m/s]

マイクロリアクターの大きさは縦 3cm 横 7cm なので、リアクターに収まらないような長い直線流路でも(1)式の関係により、推算可能だと示唆される。

B) 屈曲部の界面シミュレーション

最も長い反応終了距離を必要とする、最大平均流速 0.104m/s の時の界面を Fig. 5 (a)~(d)に示す。屈曲リアクターの各カーブ出口から 1mm の地点の画像である。水の相 2 の体積分率として表されており、黒の部分が水相その 2 で、白の部分が水相その 1 と定義されている。(b)まで直線状の界面だったが屈曲部により界面が歪んだ。(c)の歪んだ界面が第 2 カーブ入り口まで持続しているのを確認した。

(d)の界面もリアクター出口まで持続していた。(c)の歪んだ界面が(d)ではほぼ元の直線状に戻った。第 2 カーブで(c)を歪ませた二次流れとは、反対方向の 2 次流れが働いたと考えられる。

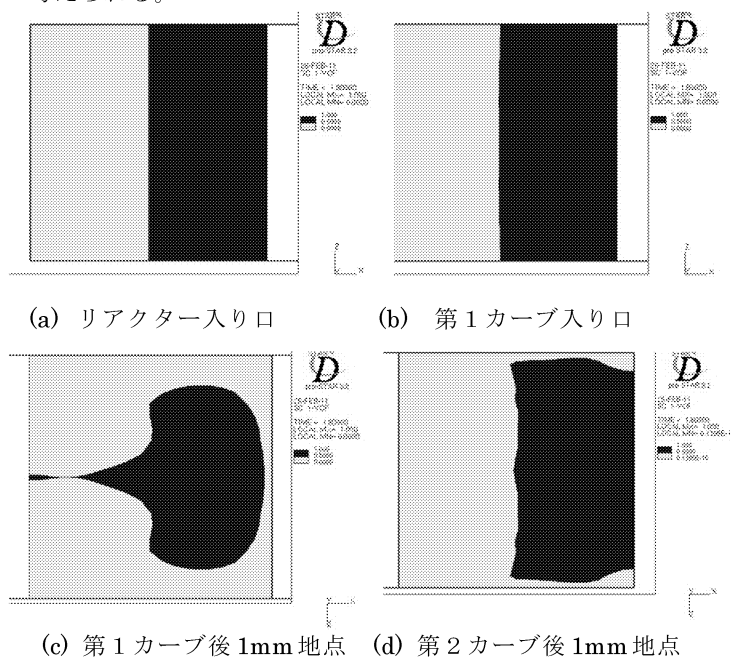


Fig. 5 屈曲部による界面歪曲

界面積の増加率 $1/\theta_0$ は(c), (d)の界面でそれぞれ 3.11、1.01 となった。大きな増加率を利用した屈曲部リアクターの反応終了距離の算出を今後行う予定としている。

山口らは界面積が α 倍になると拡散度は α^2 倍、反応終了距離は $1/\alpha^2$ と仮説を立てている。同様のことが示されれば、反応距離をかなり縮めることができ、現在の設計でも屈曲部の反応促進度が確認できるといえよう。

4. 結言

シミュレーションの結果、直線リアクターの反応終了距離と平均流速の間に一次の相関があることが分かった。屈曲部付リアクターの界面に関して用いたカーブモデルの場合、第 1 カーブ後に界面積が 3.11 倍、第 2 カーブ後に 1.01 倍になった。単一カーブのような大きな増加率の場合、反応促進度も大きくなり、反応終了距離もかなり短くなると期待できよう。

参考文献

- 1) 長本英俊、小林洋介、大友順一郎、大島榮次、化学工学論文集 32 (3), 293-296 (2006).
- 2) Y.Yamaguchi et al., Chem. Eng. J., 101, 367 (2004)
- 3) 山東篤生他、化学工学論文集 36 (1), 57-63 (2010).

1.4. バイオミメティクス・ロボティクス

Bio-mimetics and Robotics

1.4.1. 昆虫の機能に基づくマイクロ機械とそのロボット化に関する研究

鈴木 健司, 高信 英明, 三浦 宏文

1.4.2. 生物の水中運動メカニズムの解明とそのスマート機械による模倣

水野 明哲, 伊藤 慎一郎, 金野 祥久, 飯田 明由 (豊橋技術科学大学機械システム工学系)

本課題は、生物の優れた機能のメカニズムを工学的に解明し、その機能をスマート機械により実現することを目的としている。本課題は2つの小テーマにより構成されている。小テーマ1.4.1では、微小な生物である昆虫の機能に着目し、マイクロファブリケーション技術を用いてその機能を実現する機構や表面構造、センサ、アクチュエータ等を製作し集積化することにより、小型自立移動ロボットを開発することを目標としている。さらに、開発したロボットを、家庭内での監視や防犯、被災地、狭所、自然環境等での情報収集に応用することを目指す。小テーマ1.4.2では、生物の水中運動のメカニズムを流体力学的に解析し、その機能をスマート機械により模倣することを目標とする。特に、ウミガメやペンギンのように胴体の後方に推進機構を持たず、2対のヒレを横に配置した生物の遊泳を研究対象とし、人間との協調動作をしやすくすることで、水中ロボットによるリハビリテーション支援、スポーツレクリエーション支援等への応用を目指す。マイクロスケールや水中という人間とは異なる環境で動作する機械やロボットは、その環境で最適化された生物に学ぶことによって、より合理的で効率のよい設計指針が得られると考えられ、実用的なスマート機械の開発につながることを期待される。また、ロボットによる生体機能の実現を通して、生物自体の構造や動作原理の解明にもつながる可能性がある。

小テーマ1.4.1では、サイズの小さい昆虫に特有な運動機能や、反射などを利用した自律分散型の制御システムに着目し、MEMS技術を用いて昆虫の構造や機能を集積化して小型ロボットに埋め込むことにより、マイクロスケールに適した新しいロボットの開発を目指している。前年度までに、撥水性の脚を持ち、表面張力を利用して水面を移動するアメンボ型ロボット、アリの脚の付着機構を規範とした壁面歩行ロボットなどを開発してきた。

2010年度は、コオロギの感覚毛を規範とし、MEMS技術を利用して複数の微小な気流センサをロボットの表面に一体化して作り込むことにより、気流に反応して動く自立移動ロボットを開発した。本研究で製作したセンサは、感覚毛を模したカンチレバー構造のon-offスイッチとなっており、一定の強さ以上の一方向の風に反応して通電する。個々のセンサの機能は非常に単純であるが、長さや方向の異なる複数のセンサを集積化することにより、風量や風向の検知が可能となる。このセンサをロボットの材料となる薄板の表面にMEMS技術によりあらかじめ実装し、薄板を折り曲げてロボットの胴体を製作することにより、小型化、多機能化を実現した。風洞を用いてセンサの評価を行い、長さの異なるセンサにより風速の違いを認識できることを確認した。また、風速の違いによりロボットに2種類

の歩行動作を行わせることに成功した。今後、センサ、アクチュエータ、機構などを一体化した多機能表面を開発することにより、ロボットのさらなる小型化、高機能化が実現されると考えられる。

小テーマ1.4.2では、2010年度は(1)過去に開発してきた水中ロボットの機能を今後開発するロボットに容易に転用するための機能のユニット化、および関連する水深測定・制御装置の開発、(2)抗力型推進する水棲生物(主にカエル)の推進機構の解明とこれを模倣する実験装置の開発、(3)魚のヒレに代表される振動翼の性能解析のため羽ばたき運動実験装置の開発と性能評価、(4)羽ばたき翼後流の流れ場の可視化、および(5)羽ばたき翼の数値解析(2次元・3次元)などに取り組んだ。2009年度に回流水槽が導入され、この水槽を用いた実験を行えるようになったため、模型を用いた実験的研究が容易に行えるようになった。これに加えて、2009年度から開始した数値解析による研究が成果を出し始めている。

(1)水中ロボットのユニット化では、水深制御ユニット、推進ユニット、及びこれらの接続方法を開発し、これらのユニットが単独で、あるいは組み合わせて動作することを確認した。今後の開発期間の短縮、多機能ロボットの制作などに寄与することが期待できる。(2)抗力型推進機構の解明においては、規範となる水棲生物にアフリカツメガエルを選択し、このカエルの動作を映像により解析した。そしてこの動作を再現する実験装置を2種類作成してその推進力を測定するとともに、簡易モデルによる推力推定を試み、よい一致を得ている。(3)振動翼の性能解析においては、回流水槽に設置する羽ばたき翼性能測定装置を開発し、各試供翼における推力の測定を可能とした。平面形状が異なる3次元翼を用いた実験の結果、ヒービング運動(翼のひねりを伴わない運動)においては、円形翼の推力が流速によって大きく変化することを示しており、平面形状によって大きく推力が変化することが分かった。これは対象とする流速(推進速度)に応じて最適な形状が存在することを示唆している。同じヒービング幅で、ピッチング振れ角 10° の場合では、円形翼の傾向が異なるが、他はほぼ同様の傾向を示すことも分かった。(4)羽ばたき翼後流の流れ場の可視化においては、装置下流側からの観測が可能な小型回流水槽、白色アクリル絵の具、スリット光源を用い、翼の平面形状が異なることで推力と後流の渦構造違いをもたらすことを示した。(5)羽ばたき翼の数値解析では、OpenFOAMを用いた羽ばたき翼まわり流れ場の数値解析を可能とし、実験値(4)と定性的に一致する結果を得ている。

1.4.1. 昆虫の機能に基づくマイクロ機械とそのロボット化に関する研究 Micromachine and Its Robotization Based on Functions of Insects

鈴木 健司, 高信 英明, 三浦 宏文
Kenji SUZUKI, Hideaki TAKANBU, and Hirofumi MIURA

Keywords: MEMS, Robot, Biomimetics, Surface tension force

1. 緒言

マイクロスケールの機構では、体積に対する表面積の割合が増加するため、表面の性質が機構の運動に大きな影響を与えるようになる。微小な生物である昆虫は、脚の表面の細毛構造や体液の分泌等によって付着性や濡れ性を制御し、壁面歩行や水面移動などを実現している。また、昆虫の表面の無数の毛は、気流などを検知するセンサの役割を果たし、昆虫の行動の制御に用いられている。本研究では、昆虫の表面の構造や機能を規範とし、MEMS 技術を利用して基板表面に機能性の微細構造やセンサを集積化し、それをロボットの表面として用いることにより、表面機能を利用した小型移動ロボットを開発することを目的とする。ロボットの表面部材に様々な機能をあらかじめ実装しておくことによって、組み立て工程が不要になり、ロボットの小型化・多機能化が実現できる。

今年度は、ロボットの胴体となる金属の薄板にコオロギの感覚毛を規範とした気流センサを一体化し、折り曲げによりロボットを組み立て、自立移動を行わせることに成功したので報告する。MEMS 技術を用いた気流センサとして、Ozakiら^②によるピエゾ抵抗式、Wiegerinkら^③による静電容量式などが開発されているが、本研究では、昆虫の制御方式を模倣し、単純な構造の接触式センサを多数集積化することで多機能化を実現し、ロボットの表面にあらかじめ作り込むことによって小型化を目指す。

2. コオロギの感覚毛を規範とした気流センサ

コオロギの腹部末端には尾葉と呼ばれる 1 対の突起が存在し、その表面に太さ数ミクロンの感覚毛が数百本生えている(図1)。感覚毛は、気流によって一方方向のみに倒れるようになっており、長さや方向の異なる多数の感覚毛を用いることにより風向や風速を検知し、適切な逃避行動をとっている^④。このようなコオロギの感覚毛を参考に、タッチセンサ式の気流センサを開発した。ロボット胴体の材料となる真鍮

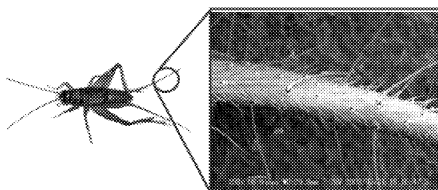


図 1: コオロギの尾葉と感覚毛

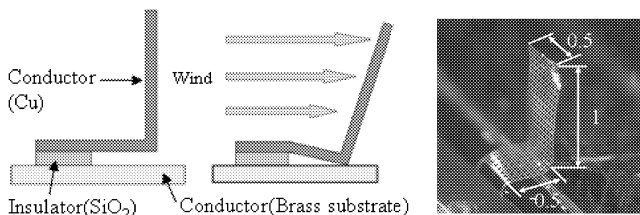


図 2: 接触式気流センサの構造と顕微鏡写真

の基板の上に、SiO₂の絶縁膜をはさんで銅薄膜によるカンチレバー構造をMEMS技術により製作し、気流を検出しやすくするために梁を直角に折り曲げた(図2)。梁に気流による外力が加わると、基板と梁の根元が接触して通電し、気流を認識する。1つ1つのセンサは単純であるが、長さや向きを変えた多数のセンサを集積化すれば、気流の強さや方向の検知が可能である。

3. 気流センサの評価

気流センサを評価するため、風洞装置の製作を行った。風洞装置は風速 1.2m/s 以下の測定を想定して設計を行った。また、気流を安定させるために吸風式を採用した。製作した風洞装置を図3に示す。風洞装置を評価するため、風洞装置の入り口 50mm のところに取り付けた熱線式風速計で測定した風速と流量センサで測定した流量の関係を調べた。その結果、図4のように、風量に対して風速がほぼリニアに増加していることが確認できた。

次に、実験結果より求めた 1 次近似曲線を用いて気流センサの評価を行った。風洞装置評価の際に使用した熱線風速計と同じ場所に製作した気流センサを設置し、梁の長さや風速の関係を調べた。実験結果を図5に示す。図5より、梁長さ 1mm、1.25mm、1.5mm のセンサを用いて、それぞれ 1.1m/s、0.7m/s、0.1m/s の気流を認識することができ、梁長さに応じて風速の違いを認識できることが確認できた。梁長さ 0.5mm については、風洞装置の最大風速である 1.2m/s 以下

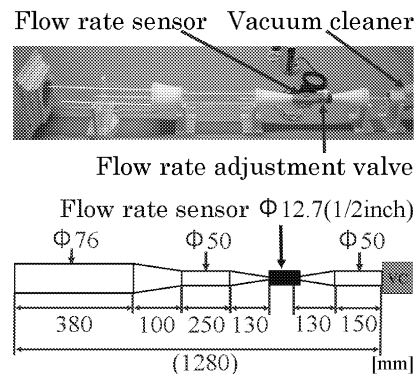


図 3: 風洞装置

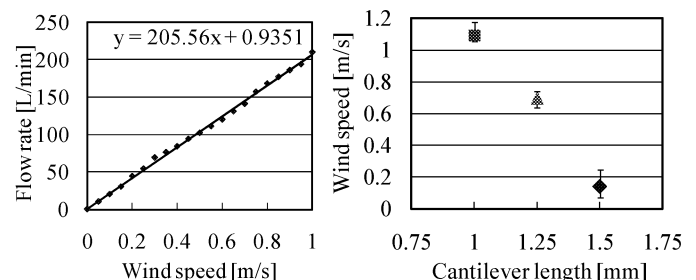


図 4: 風洞装置の評価

図 5: センサの特性評価

では反応しなかった。しかし、センサを手で強く仰ぐと反応することが確認された。梁長さ 1.5mm において測定値のばらつきが大きい理由としては、風洞装置の気流の不安定さがあげられる。

4. 気流センサを表面実装した小型歩行ロボット

本研究では、梁長さ 1mm, 1.5mm の 2 種類の気流センサをロボット表面に実装し、気流の強さにより 2 種類の歩行動作を行うロボットを製作する。ロボットの移動方式は、昆虫と同様な 6 脚歩行とし、常に 3 脚を接地して安定な姿勢を保つ交互 3 脚歩行を採用した。ロボットの小型化を実現するために、ロボット胴体部を展開した金属薄板の上にセンサと制御回路の配線を一体成型し、折り曲げることによってロボットを組み立てた。製作プロセスを図 6 に示す。まず、基板となる真鍮板を研磨、洗浄し、フォトレジストを両面から塗布し、ロボットの胴体を展開した形状をパターニングする (①)。次に SiO₂、銅をスパッタリングにより成膜し、センサと配線のパターニングを行う (②~⑤)。SiO₂ をフッ酸でエッチングし、センサのカンチレバー構造を基板から分離し、直角に曲げる (⑥)。最後に、真鍮基板を折り曲げてロボットの胴体を組み立て、脚部、PIC (Peripheral Interface Controller)、モータ、ギア、電池を搭載すれば、ロボットが完成する (⑦, ⑧)。ロボットの動作として、弱い風を認識したときは 2 秒間歩行し、強い風を認識したときは 5 秒間歩行するプログラムを作成した。

風洞装置を用いてロボットに搭載したセンサの評価を行った。測定の結果、梁長さ 1.5mm のセンサについては、0.3m/s の気流を認識した。梁長さ 1mm のセンサについては、風洞装置の最大風速である 1.2m/s 以下では反応しなかったが、センサを手で強く仰ぐと反応することが確認された。ロボット表面実装前後で気流センサの測定値に違いが生じた理由としては、梁の初期角度やセンサの周囲にある電子部品による気流の乱れが大きく影響したものと思われる。また、実際にロボットの動作実験を行い、弱い風に対して 2 秒間歩行し、強い風に対して 5 秒間歩行することを確認した。

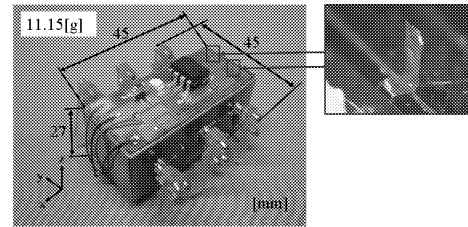


図 7 : 製作した歩行ロボット

6. 結言

- MEMS 技術を利用して、昆虫の持つ感覚毛を規範とした気流センサの設計・製作を行った。
- 風洞装置を製作し、気流センサの評価を行った結果、梁長さ 1mm, 1.25mm, 1.5mm のセンサで 1.1m/s, 0.7m/s, 0.1m/s の気流を認識することができ、梁長さに応じて風速の違いを認識できることが確認できた。
- 気流センサとロボット胴体部を一体成型するための製作プロセスの開発し、気流センサを表面実装したロボットを製作した。動作実験を行い、気流の強さにより 2 種類の歩行動作を行わせることに成功した。

今後、センサ、機能性微細構造、ヒンジなどの機構を一体化したロボット表面を製作することができれば、ロボットをさらに小型化、集積化、多機能化することが可能になると考えられる。

文 献

- 下澤樺夫, 針山孝彦: “昆虫ミメティクス～昆虫の設計に学ぶ～”NTS, pp111-118, 200-363, 2008
- Song Y. S. and Sitti M., IEEE Trans. on Robotics, Vol. 23, No. 3 2007, pp.578-589.
- Song Y. S., and Sitti, M., Proc. of IEEE Int. Conf. on Robotics and Automation, 2007, 980-984

査読付論文

- 山下, 島田, 鈴木, 高信, 三浦, トンボを規範としたはばたき機構の研究 (MEMS 技術を用いた機体の製作), 日本機械学会論文集 C 編, 76-768, 2010, pp.1949-1951
- 坂井, 小池, 鈴木, 高信, 三浦, 表面張力を利用した水面移動ロボットの研究 (脚への作用力の検討と水陸両用ロボットの試作・実験), 日本機械学会論文集 C 編, 76-768, 2010, pp.1952-1954.

図書

- Mukherjee A. (editor), Biomimetics, Learning from nature, Chap.18: Bio-inspired water strider robots with microfabricated functional surfaces, INTECH, 2010, pp.363-384

学会発表

- 佐々木, 鈴木, 高信, 三浦, 昆虫の反射を規範とした六脚歩行制御の研究, Proc. JSME Conference on Robotics and Mechatronics, 2010, 1A1-F21.
- 坂井, 鈴木, 三浦, 高信, 表面張力を利用した水面移動ロボットの研究 (微細構造を持つ脚の製作) 日本機械学会 2010 年度年次大会講演論文集(8), 2010, pp.223-224.
- 山下, 島田, 鈴木, 高信, 三浦, トンボを規範としたはばたき機構の研究 (MEMS 技術を用いた機体の製作), 日本機械学会 Dynamics and Design Conference 2010 CD-ROM 論文集, 2010.
- 關, 鈴木, 高信, 三浦, アリを規範とした壁面歩行ロボットの研究～付着パッドの特性評価～, 第 2 回マイクロ・ナノ工学シンポジウム, 2010, MNM-P5-5.
- 野中, 鈴木, 高信, 三浦, MEMS 技術を利用した気流センサの研究～昆虫型ロボットへの搭載～, 第 2 回マイクロ・ナノ工学シンポジウム, 2010, MNM-4B-6.

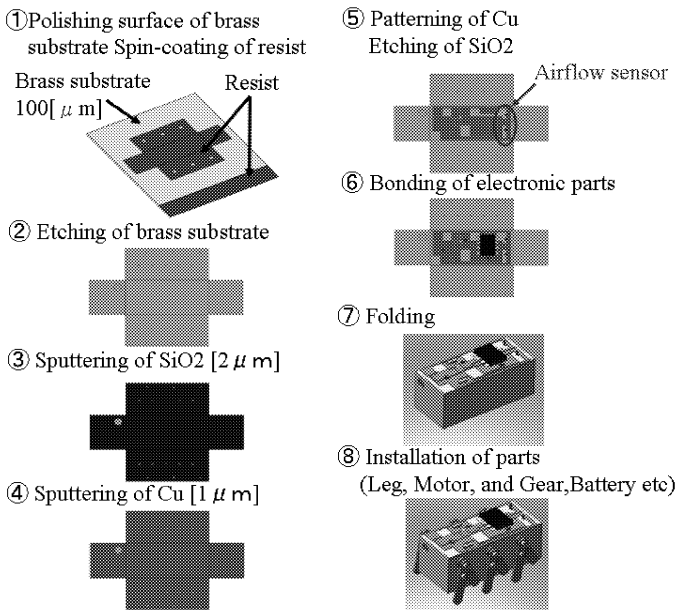


図 6 : センサを表面実装したロボットの製作プロセス

1.4.2. 生物の水中運動メカニズムの解明とそのスマート機械による模倣

Investigation of motion mechanism of underwater creature and its implementation with smart machine

水野 明哲, 伊藤 慎一郎, 金野 祥久, 飯田 明由 (豊橋技術科学大学機械システム工学系)
Akisato MIZUNO, Shinichiro ITO and Akihisa KONNO
Akiyoshi IIDA (Dept. of Mech. Eng., Toyohashi Univ. of Tech.)

Keywords: underwater mechanism, biomimetics, smart machine

1. 緒言

本課題は、人間を含む生物の水中運動のメカニズムを流体力学的に解析し、その機能をスマート機械により模倣することを目標とする。これに基づき、水中生物を規範とし、人間との協調動作を容易にした水中ロボットの開発を目指している。2010年度は、(1)過去に開発してきた水中ロボットの機能を今後開発するロボットに容易に転用するための機能のユニット化および関連する水深測定・制御装置の開発、(2)抗力型推進する水棲生物(主にカエル)の推進機構の解明とこれを模倣する実験装置の開発、(3)魚のヒレに代表される振動翼の性能解析のため羽ばたき運動実験装置の開発と性能評価、(4)羽ばたき翼後流の流れ場の可視化、および(5)羽ばたき翼の数値解析(2次元・3次元)などに取り組んだが、紙面の都合からここでは(1)水中ロボットのユニット化と(3)振動翼に関連する実験について報告する。

2. 実験方法・装置

水中ロボットのユニット化においては、ロボット内部の体積の変化により浮力を増減させ水中で浮上・潜水する機能と、尾ヒレによる推進・旋回機能をユニット化する。水深調整ユニット(図1)はサーボモータとクランク機構によるピストン運動でジャバラを伸縮させ体積変化を行う(0° から 180° でストローク 38mm)。開発した水深調整ユニットを図1に示す。体積変化部をジャバラで覆うことで過去に研究されたものに比べ加工時間の短縮や要求精度の低下、変化速度の向上を実現した。また推進ユニット(尾びれユニット、図2)では前面にユニットを接続した際にサーボモータによる位相差のある2関節の運動ができ、推進・旋回動作を行い易くなっている。各ユニットには共通のマイコンをそれぞれ内蔵でき単独で動作するが、連結して使用することもできる。2つのユニットを連結した状態を図3に示す。ユニットの接続はシャフト・ロッドとその固定具のみで行い、配線の接続には防水コネクタを使用する。固定具は別パーツ化してありコネクタはネジでの固定で、取り外しと転用が容易な構造となっている。

これらユニットの性能を確認するため、まず水深調整ユニット単体では潜水・浮上を繰り返す実験、および水深(実際には水圧)計測とフィードバック制御による深度調整を試みる。またユニットを組み合わせた状態で、水中で潜水・浮上を繰り返しながら旋回する実験を行う。

振動翼の研究においては、ヒービング運動とピッチング運動を組み合わせた、羽ばたき運動を実験対象とするため、図3に示すような実験装置を製作し実験を行った。実験装置は、回流水槽、3分力検出器、電磁流速計、2個のサーボモータ、および平面形状の異なるヒレにより構成されている。喫水表面にはアクリル製の地面板を設置し、造波抵

抗の影響を抑えている。ピッチング運動とヒービング運動は、2軸のサーボモータにより制御されている。ヒービング運動はモータ動力をクランク機構に伝えて行っている。ピッチング運動は、モータ動力を3分力検出器に空いた貫通穴を通り直接、ピッチング運動を制御している。ピッチング駆動用のモータ軸の延長軸に厚さ 3mm の平板の試供翼を設置し、その流体力学的特性の違いを調査する。試供翼の平面形状は正方形、長方形(アスペクト比3)、円形、三日月形の4種類を用意する。それらの翼面積は等しく、 $172.5 \times 10^{-4}\text{m}^2$ とした。翼端の影響を考慮し、ヒレ上下端と地面板および、水槽底面との間にそれぞれ、最低 20mm の間隔を設けた。また、羽ばたき運動の周期性を示すストローハル数を、振れ幅 A を代表長さとして $St = fA/V_0$ と定義し、 $St = 0.2 \sim 0.4$ となるように測定条件を決定した。

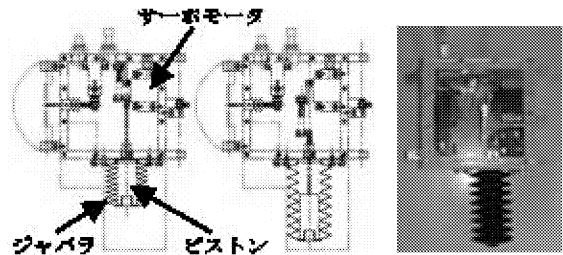


図1: 水深調整ユニットの構造と外観



図2: 推進ユニットの外観と接続方法

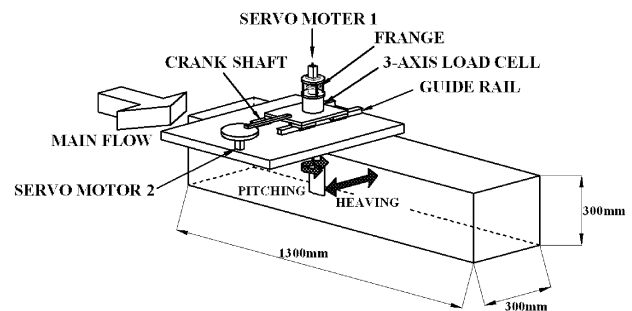


図3: 振動翼実験装置の概要

3. 実験結果および考察

水中ロボットのユニット化においては、水深調整ユニッ

ト単独および推進ユニットと組み合わせた状態のいずれの場合でも、水深 35 cm 付近までは 0.02 m/s で潜水、0.04 m/s で浮上を繰り返すこと、水深 40 cm を超えると水圧によりジャバラが潰れて十分な浮力がえられないことがあることを確認した。また推進ユニットを用い、単体または組み合わせた状態で約 0.04 m/s で直進または旋回できることを確認した(図 4)。フィードバック制御により水中ロボット(水深調整ユニットと推進ユニットを組み合わせたもの)を目標水深に制御できることも確認した(図 5)。ただし制御の評価や最適化には至っていない。

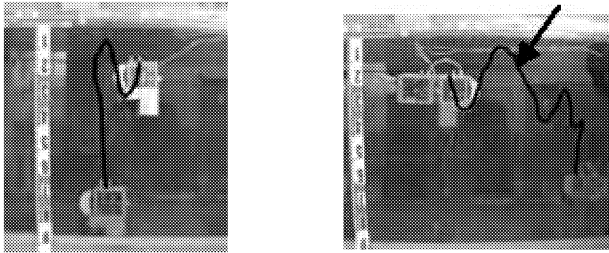


図 4：(左) 水深調整ユニット単独での深度調整動作時の運動軌跡／(右) 水深調整ユニットおよび推進ユニット組み合わせ時の運動軌跡

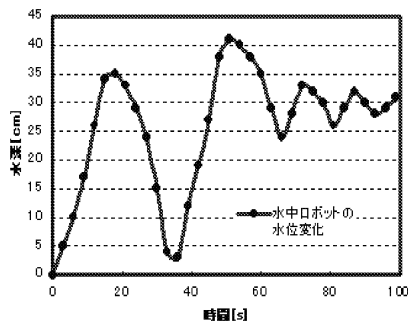


図 5：水深調整ユニットおよび推進ユニット組み合わせ時の水深変化(目標推進 30 cm にて推進制御時)

振動翼の研究においては、各試供翼における推力および投入エネルギーの測定、後流流れ場の可視化などを行っているが、ここでは推力と主流速との関係のみ報告する。ヒービング運動(図 6)においては、円形翼の推力が流速によって大きく変化することを示しており、平面形状によって大きく推力が変化すること、すなわち対象とする流速に応じて最適な形状が存在することを示唆している。同じヒービング幅で、ピッチング振れ角 10° の場合(図 7)では、円形翼の傾向が異なるが、他はほぼ同様の傾向を示す。

4. 結言

水中ロボットのユニット化においては、本研究で開発したユニットを転用することで、水中ロボットに潜水・浮上および推進・旋回機能を付加でき、今後の開発期間の短縮を図ることができる。

振動翼の研究においては、振動翼から発生する推力をヒービング幅、ピッチング振れ角と主流速度を変化させることによって、ヒレの平面形状が流体力に及ぼす影響を調査し、平面形状は羽ばたき運動において重要な要素であることを確認した。今後はそれぞれの平面形状に最適なストロ

ーハル数の実験的な評価や、異なる平面形状の翼をどのように流体力学的なパラメータとして評価するかなどヒレの評価手法の開発が必要である。

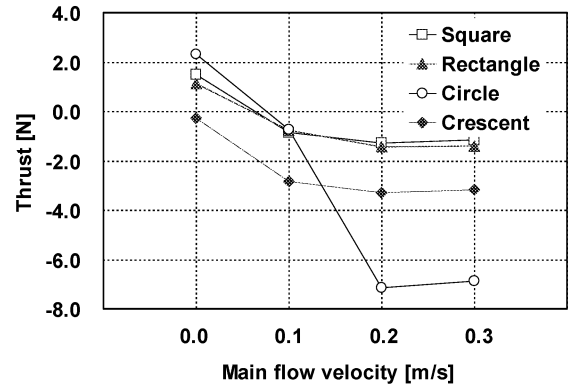


図 6：各試供翼における推力と主流速との関係、ヒービング運動のみの場合

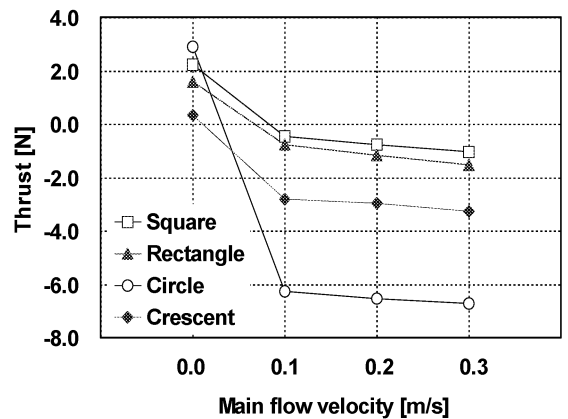


図 7：各試供翼における推力と主流速との関係、ヒービング運動+ピッチング運動(10°)の場合

学会発表

- 1) 伊藤, 高橋, 3次元振動翼平面形状の違いによる非定常流体力の評価, 日本流体力学会年会 2010 講演論文集, 2010.
- 2) 中村他 4 名, 平面形状の異なる振動翼後流の可視化, 可視化情報学会全国講演会 2010, 2010.
- 3) Suzuki 他 6 名, Development of Large Angle / High-Speed Orientation Control Technique for Underwater Vehicle, Proc. ISOPE-2010, CD-ROM, 2010.
- 4) 渡邊他 3 名, OpenFOAM を用いた羽ばたき翼まわりの流れ場解析手法の検討, 日本機械学会 2010 年度年次大会講演論文集第 6 巻, pp. 29-30, 2010.
- 5) 大久保他 6 名, 障害物を検出・回避する水棲生物規範水中ロボットの開発, 日本機械学会 2010 年度年次大会講演論文集第 6 巻, pp. 59-60, 2010.
- 6) 寺田他 3 名, OpenFOAM を用いた 2 次元ピッチング+ヒービング運動翼まわりの乱流流れ場解析, 第 24 回数値流体力学シンポジウム, USB Memory (B3-1), 2010.

1.5. マイクロ構造の評価・加工技術

Evaluation and Processing Technology of Micro Mechanisms

1.5.1 バイオマイクロ構造体における強度特性評価システムの開発と力学的特性評価

後藤 芳樹, 立野 昌義

1.5.2 マイクロスケール機構の製作と評価に関する研究

鈴木 健司, 小林 光男, 福田 勝己 (東京工業高等専門学校)

1.5.3 マイクロポーラス金属の材料特性評価

塩見 誠規

1.5.4 光造形による3次元マイクロ部品の成形加工と医用工学への応用に関する研究

西谷 要介, 佐藤 貞雄, 武沢 英樹

1. はじめに

マイクロスケール下のスマート機械システム創成技術に基づいた生体医工学向けマイクロ構造や機構の開発に必要な不可欠な評価および加工技術の構築, さらには, それらを用いた生体医工学向けマイクロマシンやマイクロシステムへの応用展開を目的に, 本中テーマ(1.5 マイクロ構造の評価・加工技術)は4つの小テーマを検討している. 具体的には, バイオマイクロ構造体における強度特性評価システムの開発と力学的特性評価(1.5.1), マイクロスケール機構の製作と評価に関する研究(1.5.2), マイクロポーラス金属の材料特性評価(1.5.3)および光造形による3次元マイクロ部品の成形加工と医用工学への応用に関する研究(1.5.4)の4つを中心に, マイクロ構造の評価・加工技術を構築する. 以下に, 本年度の成果を中心に, 4つの小テーマに分けて概要を示す.

2. バイオマイクロ構造体における強度特性評価システムの開発と力学的特性評価

本小テーマでは, 医療用 MEMS (微小電子機械システム: Micro Electro Mechanical Systems) の構造信頼性を確保するために必要な基盤技術の確立を目的に, マイクロサイズ試験片における力学的特性評価システムの構築, およびそれらを用いたマイクロサイズの材料および構造体の力学的特性を検討している.

本年度は, 単結晶シリコンに超微小押し込み硬さ試験機によりダイヤモンド製四角錐(Vickers)圧子を押し込んだ際に発生するき裂形態と破壊強度との関係を試験片厚さごとに明らかにすること, およびこの結果に基づいてウエハ主要面の低指数格子面における線形破壊力学で定義された破壊靱性値 K_{IC} (モード I の臨界応力拡大係数) を導き, 破壊応力および K_{IC} とき裂の幾何学形状との関係を明確にすることを検討した結果, 厚さの異なる単結晶シリコンウエハ主要面の破壊挙動の特徴および破壊靱性値を $0.30 \text{ mm} \leq t \leq 2.00 \text{ mm}$ の範囲で明らかにした. 特に, 単結晶シリコンにダイヤモンド製四角錐(Vickers)圧子を押し込んだ際に発生するき裂形状は楕円形状となり, き裂深さ d に対する表面き裂長さ c の比率が $c/d=1.10$ 程度となること, ま

た単結晶シリコンウエハの K_{IC} は板厚によらずほぼ同様な破壊挙動を示すことから内在するき裂の存在の影響を顕著に受けることなく, 代表厚さの試験片で評価できること, さらには予き裂導入破壊試験法 (CSF 法) で得られた破壊靱性値はほぼ $K_{IC}=0.68 \text{ MPa} \cdot \text{m}^{0.5}$ となることを明らかにした.

本小テーマに関連した基礎検討として, 板厚 1 mm 程度に加工したはんだ合金の小型試験片を対象として, 単軸引張試験法を開発した.

電子デバイスにおけるはんだ接合部の実寸法は $100 \mu \text{ m}$ 以下と標準試験片に対して極めて小さい. それゆえ小型はんだ試験片を用いた強度評価法を検討する必要がある. しかしながら, 小型試験片には標準試験片で用いられてきた固定方法が適用できない上に, 低降伏材料であるはんだ合金の試験片の小型化により, 弾性域データを十分に評価できない問題が顕在化していた.

これらの問題に対して, 試験片の剛性や変形挙動を考慮した簡易で安定に試験片を試験機に支持・固定する方法を開発し, その方法を実験に用いた. さらに低耐力材料であるはんだ試験片の弾性係数計測に対して, 加工硬化領域まで除荷・再載荷の荷重負荷パターンを設定することで, 低降伏材料であるはんだ合金の弾性域を適切に評価する手法を開発した. 上記手法に基づく力学的特性は既報の標準試験片を用いた結果および超音波速度法による結果とほぼ同等の値を得ており, 本研究で開発した手法の妥当性を示した. 加えて上記試験方法の最適条件並びに測定上の安定性を明確にし, 生体医工学におけるマイクロ電子機器の信頼性評価に関する指針を得た.

3. マイクロスケール機構の製作と評価に関する研究

本小テーマでは, 半導体加工技術を応用した微小な運動機構の開発, および微小液滴をハンドリングするデバイスの開発を目的に, EWOD (Electrowetting on Dielectric) により輸送される液滴の変形挙動の解析, および液滴を斜面や曲面上で輸送する3次元輸送デバイスの開発を検討している. ここでいう EWOD とは, 静電力により材料表面の濡れ性を制御することにより微小な液滴の輸送・操作を行

う技術である。本年度は、フレキシブルなポリイミド基板を用いて、EWODにより液滴を輸送するデバイスを製作し、曲面上で液滴を輸送させる実験を行った結果、曲率半径5mmの曲面の内側・外側で、重力方向には関係なく液滴の1次元の輸送が可能であること、また曲面の曲率半径が小さいほど液滴の接触角は大きくなること、および曲面を含む2つの液滴輸送デバイスを用いてデバイス間の液滴の移動と液滴の輸送方向の変換が可能であること、さらには電極の配列方向が異なる2つのデバイス間に液滴をはさみ、両方のデバイスに電圧を印加することにより2自由度の輸送が可能となることを明らかにした。これらの技術を組み合わせることにより、3次元空間内の任意の面方向、任意の輸送方向に液滴を輸送することが可能となり、これら技術の応用により、化学分析チップ、医療用デバイス等の3次元化の実現が期待される。

今後は、上述した4つの小テーマを継続して検討していくとともに、得られた知見をもとに小テーマ同士や他のテーマとも連携し、マイクロ構造の評価・加工技術を構築していき、生体医工学への応用などを更に推進していく予定である。

4. マイクロポーラス金属の材料特性評価

本小テーマでは、ポーラス構造を有する金属中の空孔が材料特性に与える影響について明らかにするとともに、ポーラス金属の内部構造設計および作製方法の確立を目的に、ポーラス構造を有する金属の作成および成形方法の検討、ならびに得られたポーラス構造を有する金属について材料試験を行い、微小空孔のサイズ、形状構造、密度などが機械的特性や変形挙動に及ぼす影響に関する検討、また多孔質体の力学を応用してマイクロポーラス金属の変形における構成則を構築し、有限要素法による解析手法、および空孔構造設計の方針を確立することなどを検討している。本年度は、ポーラス構造を有する金属の作製方法として、アルミニウム合金と発泡剤の混合粉末を用いて加熱発泡および成形の工程を一連して行い、鋼管を金型として発泡アルミニウムの充填成形を行った結果、相対密度が0.2~0.3の発泡アルミニウムを作製することができた。また、圧縮試験により作製した発泡アルミニウムの材料試験を行い、機械的性質を明らかにした。

5. 光造形による3次元マイクロ部品の成形加工と医用工学への応用に関する研究

本小テーマでは、3次元かつマイクロスケールの複雑形状を有する医用向けマイクロデバイスの開発を目的として、光造形を用いた3次元マイクロ部品の成形加工技術の構築を検討している。エポキシ樹脂系光造形用材料(PESP)の更なる高性能化を中心に、光造形による3次元マイクロ部品の成形加工技術の構築を検討した結果を報告する。具体的には、(1)PESPへの有機充填材の複合化による物性改善および(2)有機充填材用として物理的熔融法を用いたマイクロサイズのポリマー微粒子の製造法について実験的に検討した結果、摺動形態の違いにより改善効果率は異なるものの、有機充填材であるポリマー微粒子充填によりトライボロジー特性の改善に効果があることを明らかにした。また、および光造形樹脂の改質用有機充填材の製造方法として物理的熔融分散法を用いたポリマー微粒子製造技術の構築を検討した結果、PA6の微粒子製造に関する技術を構築した。今後は、更なるPESPの高性能化を目的に、物理的熔融分散法を用いて製造したポリマー微粒子充填系によるPESPの改質および3次元マイクロ部品製造のための成形加工技術や医用工学への応用などを検討していく予定である。

6. 今後の予定

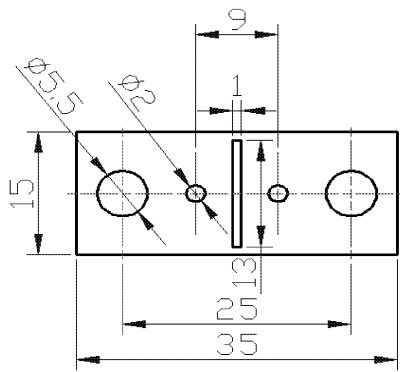


Fig.3 Dimensions of plastic tab

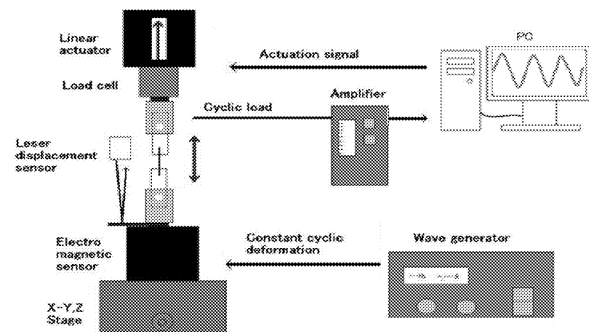


Fig.4 Schematic diagram of fatigue test system

2000Hz) は電磁式加振機を用いた。繰返し変位の測定はレーザー変位センサ ((株)KEYENCE) を用い、荷重はロードセル (株共和電業製、容量 500mN) で測定した。疲労試験は加振機で一定変位の正弦波を加え、片振り引張りの繰返し荷重を負荷した試験を行った。この疲労試験機は、最大荷重一定の制御を行っている。試験中に、最大荷重が設定値より低下すると、ロードセル上部に設置されたリニアアクチュエータが試験片に引張りの変位を加えることにより、最大荷重を一定に保つように制御している。また試験中における温度変化や風の影響を考慮し、試験機全体を恒温容器の中に設置した。

3.3 供試材料および試験片

試験片には田中貴金属 (株) 製の直径 $30\mu\text{m}$ の銅ボンディングワイヤを用いた。この Cu 線を所定の長さに切断して試験片とし、これをポリイミドタブに接着した。標点間距離は 1mm とした。接着剤にはシアノアクリレート系瞬間接着剤を用いた。試験片が固定されたタブを試験機に取り付けた後、Fig.3 のタブの両端を切り離した後、試験片にのみ荷重が加わる状態で試験に供した。

2.3 疲労試験方法

疲労試験は片振り引張り、繰返し速度 25Hz で行い、

繰返し数が 10^7 cycle に達しても破断しなかった場合はその時点で試験を終了した。

2.4 試験結果および考察

Fig.5 に S-N 線図を示す。Cu 細線の 10^7 回の疲労限度は 150MPa と求められた。以前に求めた Al 細線の疲労限度 280MPa に比べて 54%程度と、低い値となった。破断面は引張破断の破面と類似しており、通常のスケールの材料を用いた疲労破面のように、き裂の進展にり生成された破面とは異なるものとなった。

結 論・参考文献：省略

査読付論文：

- 1) 八戸英夫, 後藤芳樹 他 : 平均・分散検定を用いた小ねじの締付け試験における繰返し試験回数の妥当性について, 材料試験技術, Vol. 56, No. 1, pp. 25-31 (2011)
- 2) 井口卓也, 後藤芳樹 他 : アルミニウム細線の疲労試験, 材料試験技術, Vol. 55, No. 1, pp. 24-28 (2010)
- 3) 井口卓也, 後藤芳樹 他 : マイクロサイズ材料のための疲労試験機の製作と疲労試験, 材料試験技術, Vol. 54, No. 1, pp. 47-4 (2009), 4) 後藤芳樹 他 : マイクロサイズ材料の引張試験と強度評価, 材料試験技術, Vol. 53, No. 1, pp. 38-42 (2008)

- 学会発表: 1) 井口卓也, 後藤芳樹 他 : アルミニウム細線の疲労試験, 日本機械学会 2009 年度年次大会講演論文集 (8) (2009 年 9 月), 2) 井口卓也, 後藤芳樹 他 : マイクロサイズ材料の引張試験, 日本材料学会第 58 期学術講演会 (2009 年 5 月), 3) 小林謙介, 後藤芳樹 他 : マイクロサイズ材料の引張試験, 日本機械学会関東学生会第 47 回学生員卒業研究発表会 (2008 年 3 月)

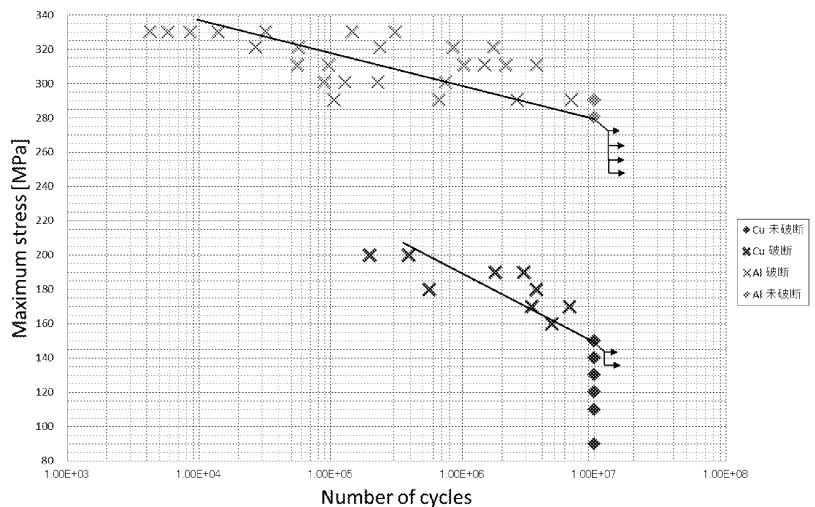


Fig.5 S-N diagram of Cu fine wire.

1.5.1 バイオマイクロ構造体における強度評価システムの開発と力学的特性評価 Development of evaluation system on strength for micro structure and materials

単結晶シリコンウエハ主要面における破壊挙動と破壊靱性評価

立野昌義, 後藤芳樹

Masayoshi TATENO and Yoshiki GOTOH

Keywords : Single crystal Silicon wafer, Fracture toughness, Controlled surface flaw

1. はじめに

単結晶シリコンは半導体プロセスが適用できることから微小構造体として期待されている。単結晶シリコンを構造体に適用する場合、加工中および動作運転中に生じた微小なき裂が、静的強度や機械の動作特性に影響をおよぼす可能性がある。単結晶シリコンは結晶方位異方性および低指数格子面に沿って破壊しやすい面(へき開面)を有することから固有な欠陥以外にへき開面を起点とした破壊現象を十分に理解しておく必要がある。

本研究では、単結晶シリコンに超微小押し込み硬さ試験機によりダイヤモンド製四角錐(Vickers)圧子を押し込んだ際に発生するき裂形態と破壊強度との関係を試験片厚さごとに明らかにする。この結果に基づいてウエハ主要面の低指数格子面における線形破壊力学で定義された破壊靱性値 K_{IC} (モード I の臨界応力拡大係数)を導く。破壊応力および K_{IC} とき裂の幾何学形状との関係を明確にする。

2. 破壊靱性評価方法

破壊靱性値とは材料のき裂進展に対する抵抗性を示す値である。破壊靱性値評価法の代表的な方法の一つとして予き裂導入破壊試験法 (CSF 法 : Controlled Surface Flaw Method)が定められている。この方法は、不安定破壊発生の臨界条件はき裂先端近傍の応力場における応力拡大係数の大ききで決まり、き裂の幾何学形状と破壊応力との関係から導かれる。セラミックスやガラスなどの脆性材料の開口型モード I の応力条件下における破壊靱性値は線形破壊力学に基づく CSF 法を基本とする。ただし、この方法を単結晶シリコンに用いる場合、き裂の導入方法や導入されたき裂の幾何学的な制約条件を満足するかや圧子導入における残留応力などの影響は明らかに

されていないため、本実験では CSF 法に基づく単結晶シリコンの K_{IC} を導き、 K_{IC} に及ぼす試験片厚さの影響を明らかにする。

供試材には株式会社フェローテック製の単結晶シリコンウエハ主要面(100)であり、厚さ $W=0.25$ mm, 0.30 mm, 0.75 mm, 1.20 mm, 2.00 mm 厚さを用いた。これらをダイシングマシン(株式会社ディスコ製)にて、圧子圧入によるき裂進展方向が $\langle 110 \rangle$ となるように長さ 11.5 mm \times 幅 5.0 mm の短冊状に切り出し、試験片とした。

破壊靱性評価は CSF 法に基づき行う。まず超微小押し込み硬さ試験機によりダイヤモンド製四角錐(Vickers)圧子を単結晶シリコン主要面上に垂直に圧入することにより、き裂を導入する。この時の圧子圧入荷重を $P=490$ mN および $P=980$ mN とし、圧子圧入時の保持時間を 1 sec とした。Fig.1 には圧子圧入方向および圧痕の頂角先端を基点とするき裂が進展する方向を矢印で示す。圧子圧入方向は主要面(100)に対する垂直方向)であり、き裂進展方向は $\langle 110 \rangle$ であり図中十字線で示した。き裂を破壊の起点として四点曲げ試験により破断させた。曲げ試験における支点間距離は上部 2.5 mm, 下部 7.5 mm およびクロスヘッド速度は 1 mm/min である。破断応力 σ_B および試験後の破断面から観察されるき裂形状長さ c と深さ d を計測し、式(1)~(3)に代入して破壊靱性値 K_{IC} を求める。式(2), (3)内 ϕ は第二種楕円積分である。

$$K_{IC} = 1.03\sigma_B \left(\frac{\pi d}{Q} \right)^{0.5} \tag{1}$$

$$Q \approx \phi^2 \tag{2}$$

$$\phi = \int_0^{\pi/2} \left\{ \cos^2 \theta + \left(\frac{d}{c} \right)^2 \sin^2 \theta \right\}^{0.5} d\theta \tag{3}$$

3. 実験結果および考察

3.1 破断面観察および予き裂形状

四点曲げ試験における単結晶シリコン試験片の破壊形態はほぼ全数において圧子圧入により生じた圧痕頂角から進展するき裂を起点として破断した。圧子圧入面{100}と破断面とのなす角度はほぼ直角であることから、単結晶シリコンの破断は単結晶シリコンのへき開面{110}に沿って進展していることを確認した。

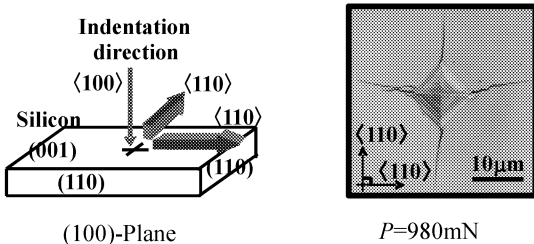


Fig.1 Indentation crack patterns on (100) of silicon introduced by a Vickers indenter. Arrows in figure show radial crack and direction of loads applied for measuring fracture toughness.

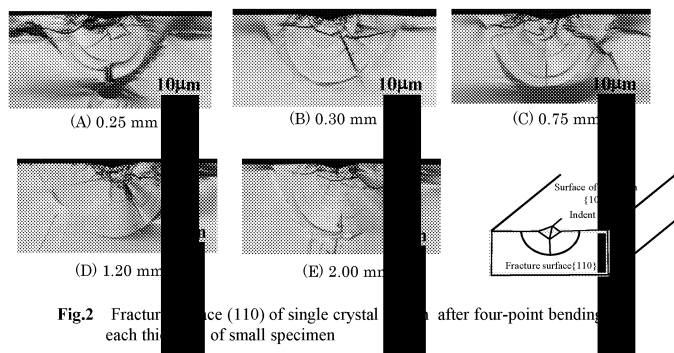


Fig.2 Fracture surface (110) of single crystal silicon after four-point bending of small specimen

Fig.2には圧子圧入荷重 $P=980\text{mN}$ で導入されたき裂を起点にした破断面を垂直に見据えた代表画像を示す。破断面で観察される圧子圧入により生じたき裂は楕円形状を有し、き裂形状は圧子圧入荷重条件によらずほぼ相似形状となる。観察された半楕円状のき裂を特徴付ける c/d (き裂深さ d に対する表面き裂長さ c の比率) の平均値は $c/d=1.10$ である。ここで、 $P=490\text{mN}$ および 980mN における d の平均値はそれぞれ $d=10.54\pm 1.30\mu\text{m}$ 、 $d=17.39\pm 1.95\mu\text{m}$ を示す。

3.2 破壊応力および破壊靱性値に及ぼす試験片厚さの影響

Fig.3には曲げ試験による破壊応力 σ_B とき裂深さ d との関係は圧子圧入荷重ごとに識別して示す。この図より、き裂の深さ d の増加に伴い σ_B は低下する。この傾向は試験片厚さによらず確認できる。

Fig.4にCSF法により求めた破壊靱性値 K_{IC} に及ぼす試験片厚さの影響を圧子圧入荷重毎に示す。図中 K_{IC} は実験条件毎

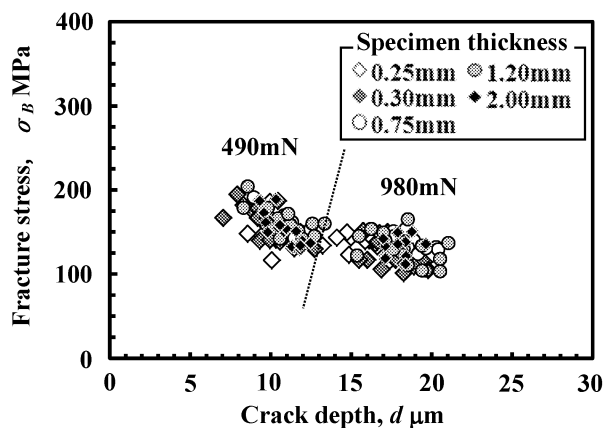


Fig.3 Relationship between fracture stress and crack depth.

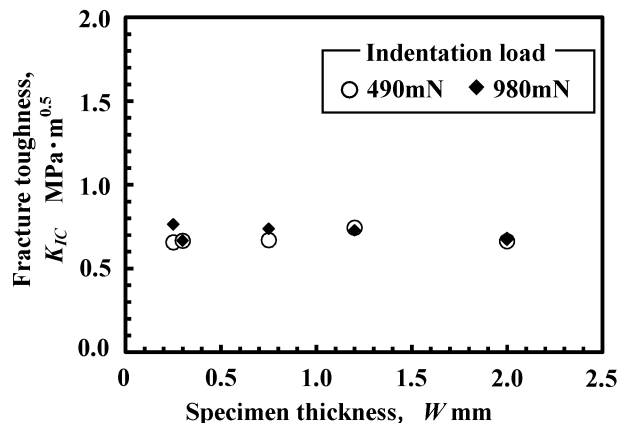


Fig.4 Relationship between fracture toughness and thickness of Silicon wafer.

の平均値を示す。

この結果から板厚 $0.30\text{mm} \leq t \leq 2.00\text{mm}$ では、 K_{IC} は t によらずあるいは圧子圧入条件によらずほぼ一定値 $K_{IC} = 0.68\text{MPa} \cdot \text{m}^{0.5}$ となる。単結晶シリコンウエハの K_{IC} はほぼ同等な破壊様式および破壊挙動を示すことから、内在するき裂の存在の影響を顕著に受けることなく、代表厚さの試験片で評価できる可能性がある。ただし、この値はすでに求めたIF法より導かれる $K_{IC} = 1.07\text{MPa} \cdot \text{m}^{0.5}$ より小さい。この原因は単結晶シリコンウエハ表面にき裂を導入する際に付加される残留応力によるものと推察される。今後、残留応力の影響を明らかにするために圧子導入後の表面層除去量と破壊靱性値との関係を明らかにする。

4. まとめ

厚さの異なる単結晶シリコンウエハ主要面の破壊挙動の特徴および破壊靱性値を $0.30\text{mm} \leq t \leq 2.00\text{mm}$ の範囲で明らかにした。得られた結果を以下に要約する。

- (1) 単結晶シリコンにダイヤモンド製四角錐(Vickers)圧子を押し込んだ際に発生するき裂形状は楕円形状となり、き裂深さ d に対する表面き裂長さ c の比率が $c/d=1.10$ 程度となる。
- (2) 単結晶シリコンウエハの K_{IC} は板厚によらずほぼ同様な破壊挙動を示すことから、内在するき裂の存在の影響を顕著に受けることなく、代表厚さの試験片で評価できる。CSF法で得られた破壊靱性値はほぼ $K_{IC} = 0.68\text{MPa} \cdot \text{m}^{0.5}$ となる。

参考文献

- (1) 林 國郎, 辻本真司, 岡本泰則, 西川友三, 単結晶 Si の破壊じん性, 材料, Vol.40, No.451, pp.405-410, 1991.
- (2) 西川友三, 岡本泰則, 稲垣茂樹, Mn-Zn フェライト単結晶の破壊靱性, 窯業協会誌, Vol.91, No.4, pp.150-156, 1983.

2010年度 査読付論文

- (1) 米山高史, 立野昌義, 後藤芳樹, 小久保邦雄, 小型試験片を用いた一軸引張試験によるはんだ合金の力学的特性, 日本材料試験技術協会, Vol.56, No.1, pp.18-24(2011年).

2010年度 学会発表

- (1) 横井栄一郎, 森川裕樹, 立野昌義, 「セラミック-金属接合体引張強度に及ぼす金属側界面端形状の影響」, 第12回日本材料学会フラクトグラフィシンポジウム, (2010年12月).
- (2) 横井 栄一郎, 森川 裕樹, 立野 昌義, 小久保 邦雄, セラミック-金属接合体強度に及ぼす金属側界面端形状の影響, 横井, 森川, 立野, 小久保邦雄, 日本機械学会山梨講演会, (2010年10月).
- (3) 須藤 聡, 宮坂 正義, 立野 昌義, 後藤 芳樹, 圧子圧入法による単結晶シリコンウエハのき裂形状と破壊靱性値, 日本機械学会山梨講演会, (2010年10月).
- (4) Masayoshi Tateno, Hiroki Morikawa, Relationship between bonding strength and singularity factors in Ceramic to metal Joint, Proceedings of PVP2010, 2010 ASME Pressure Vessels and Piping Division Conference, July, 2010.
- (5) 森川裕樹, 横井栄一郎, 三浦尚大, 立野昌義, セラミック/金属接合体強度に及ぼす界面端形状の影響, フラクトグラフィシンポジウム, (2010年7月).

1.5.2. マイクロスケール機構の製作と評価に関する研究 Study on Fabrication and Evaluation of Microscale Mechanisms

鈴木 健司, 小林 光男, 福田 勝己 (東京工業高等専門学校)

Kenji SUZUKI, Mitsuo KOBAYASHI, Katsumi FUKUDA (Tokyo National College of Technology)

Keywords: MEMS, Electrowetting on Dielectric, Contact angle, Flexible device

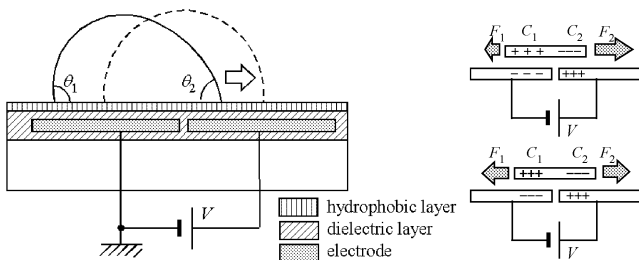
1. 緒言

マイクロ機構においては、スケール効果により静電力、表面張力などの表面間に働く力が大きな影響を及ぼすようになる。このため、これらの力を積極的に利用したデバイスの研究が盛んに行われている。本研究では、静電力により材料表面の濡れ性を制御することによって微小な液滴の輸送やマニピュレーションを行う EWOD (Electrowetting on Dielectric)¹⁾ と呼ばれる技術に着目した。マイクロ化学チップ、マイクロ医用デバイスなどの分野では、EWOD を利用して基板上での微量の試料や薬液の移動、生成、分離、混合などを行う研究が盛んに行われており、各種検査、ヘルスケアなどへの応用が期待されている²⁾。また、液滴により微小物体を支持して搬送するマイクロ搬送システムの研究も行われている³⁾。

EWOD デバイスをバイオ、医療などの分野に応用するためには、液滴を水平面上だけでなく、あらゆる方向に3次元的に移動させることが必要になる。そこで本研究では、フレキシブル基板上に EWOD デバイスを形成し、3次元空間内で任意の方向に液滴を輸送させることを目的とする。

2. EWOD による液滴輸送の原理

EWOD を利用した液滴輸送の原理を図 1 に示す。液滴の下部の基板には、導体の電極層、絶縁層、撥水層が順に成膜されている。液滴の下の 2 枚の電極間に電圧を印加すると、電極と液滴との間に図 1(b) のように 2 つのコンデンサ C_1 , C_2 が形成され、電界の強さの差により基板に平行な方向に静電力が働き液滴が移動する。このとき、移動する側の液滴は静電力により変形し接触角が小さくなる ($\theta_1 > \theta_2$)。このこ



(a) EWOD デバイス (b) 等価回路

図 1: EWOD による液滴輸送の原理

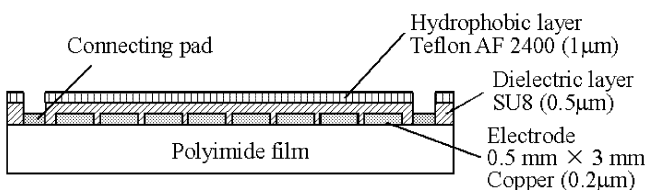


図 2: EWOD デバイスの構造

とより、基板表面の濡れ性に勾配が生じるために液滴が移動すると解釈することもできる。液滴が 2 つの電極の中央に移動したとき、左右の静電力が等しくなり、液滴は平衡状態に達して静止する。液滴を連続的に移動させるためには、多数の電極をアレイ状に並べ、その間隔 (ピッチ) を液滴の幅の半分以下とし、電圧を印加する電極を順次切り替えていけばよい。

3. フレキシブルデバイスの製作

製作した液滴輸送デバイスの構造を図 2 に示す。フレキシブルなポリイミドフィルムの上に厚さ $0.2\mu\text{m}$ の銅をスパッタリングにより成膜し、フォトリソグラフィとエッチングにより直線状の電極アレイを形成した。電極のサイズは $3\text{mm} \times 0.5\text{mm}$ 、電極ピッチは 0.6mm 、電極数は 24 枚とした。昨年度までの平面のデバイスでは、電極材料としてクロムを用いていたが、フレキシブル基板では電極に銅を用いることにより曲げに強くクラックなどが入りにくい電極を形成することができた。次に絶縁膜として厚さ $0.5\mu\text{m}$ の SU8 レジストを塗布し、さらに撥水膜として厚さ $1\mu\text{m}$ のテフロン AF 2400 (三井デュポンフロケミカル(株)) をスピニングにより成膜した。24 の電極を 8 極ずつ 3 組に分け、各組それぞれに隣り合う 3 つの電極が同時にオンになるような電圧パターンを印加し、切り替え周波数 2Hz で印加電極を 1 極ずつ移動させた。液滴には純水を用い、液滴量は $0.6\mu\text{l}$ 、電圧値は 100V とした。

4. 曲面輸送実験

製作したフレキシブルデバイスを使用して、曲率半径 5mm の曲面の内側、外側で水滴の輸送実験を行った。その結果、曲面上での輸送が可能であることが確認された (図 3)。逆さの面であっても水滴は静電力によりデバイスに付着し、落ちることはなかった。

また、図 4 に示すように、曲面上の液滴は内側、外側ともに平面に比べて接触角が大きくなり、曲率半径が減少 (曲率が増加) するほど接触角は増加することが確認された。これは、曲率半径が減少すると、固液界面が湾曲し面積が増加するためと考えられる。

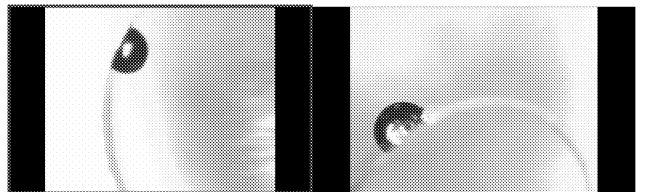


図 3: 液滴の曲面輸送

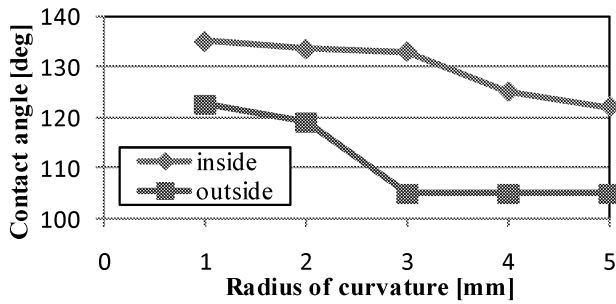


図4：曲面上の水滴の接触角

5. 2つのデバイス間の液滴の移動

次に、図5に示すように、曲面を含む2つのEWODデバイスを用いて、デバイス間で液滴を移動させる実験を行った。図5のように、片方を平面、もう一方を曲面とした場合と、2つの曲面デバイスを用いた場合の実験を行った。平面の基板には透明なガラス基板を用いて水滴を観察しやすくした。2つのデバイスが重なる部分の間隔は水滴の直径より狭い約1mmとし、水滴が両方の基板に接触するようにした。また、上下のデバイス間で液滴の輸送方向が同じ場合と、方向が変わる場合の実験を行った。最初に1つめの基板のみに電圧を印加して液滴を移動させ、液滴が2つめの基板に接触した時点で、電圧を与える基板を切り替えた。電圧は100Vとし、液滴は純水を使用し、液滴量は0.6 μ lとした。

図6に実験中の液滴の写真を示す。液滴が2つの基板に接すると、両方の基板から引力を受け液滴が引き伸ばされるが、最終的には、重力方向に関係なく、電圧を印加している方の基板に液滴が移動することを確認した。2つの基板間で電極列の方向が異なる場合、液滴の輸送方向を変換することも可能であった。さらに、上下の基板に液滴が接しているとき、2つの基板に同時に電圧を印加すると、各基板の輸送方向のベクトル和の方向に液滴が輸送されることを確認した。このことから2つの基板間に液滴を挟むことで、液滴の2自由度輸送が可能であることが確認された。

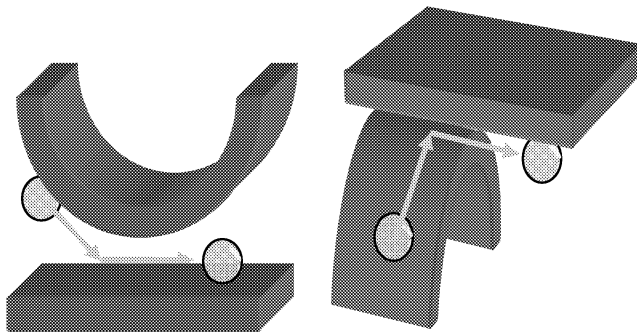


図5：2つのデバイス間の液滴の移動

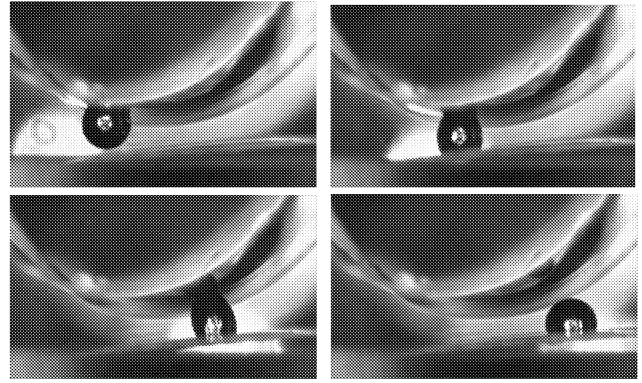


図6：実験結果

6. 結言

フレキシブルなポリイミド基板を用いて、EWODにより液滴を輸送するデバイスを製作し、曲面上で液滴を輸送させる実験を行い、以下の知見が得られた。

- (1) 曲率半径5mmの曲面の内側、外側で、重力方向には関係なく液滴の1次元の輸送が可能である。
- (2) 曲面の曲率半径が小さいほど液滴の接触角は大きくなる。
- (3) 曲面を含む2つの液滴輸送デバイスを用いて、デバイス間の液滴の移動と、液滴の輸送方向の変換が可能である。
- (4) 電極の配列方向が異なる2つのデバイス間に液滴をはさみ、両方のデバイスに電圧を印加することで、2自由度の輸送が可能となる。

以上の技術を組み合わせることにより、3次元空間内の任意の面方向、任意の輸送方向に液滴を輸送することが可能となる。この技術を応用することにより、化学分析チップ、医療用デバイス等の3次元化の実現が期待される。

文献

- 1) Fair R. B., Microfluid Nanofluid, Vol.3 (2007) pp11-17
- 2) Cho S. K., Moon H. and Kim C-J., J. Microelectromechanical Systems, 12, 1, 2003, pp.70-80.
- 3) Moon I. and Kim J., Sensors and Actuators A, Vol.130-131, 2006, pp.537-544.

学会発表

- 1) 福田, 鈴木, 村山, 三浦, エレクトロウエットティングを利用した液滴の生成デバイスの研究, 日本機械学会2010年度年次大会講演論文集(8), 2010, pp.221-222.
- 2) 福田, 鈴木, 高信, 三浦, エレクトロウエットティングを利用した液滴の3次元輸送に関する研究, 第2回マイクロ・ナノ工学シンポジウム, 2010, MNM-P5-6.
- 3) 福田, 小林, 鈴木, 堤, 石塚, 微小領域における摩擦特性(第2報), 第52会日本学会会議材料工学連合講演会講演論文集, 2010, p.125-126.
- 4) 鈴木, エレクトロウエットティングによる微小液滴の操作と応用技術, 日本機械学会情報・知能・精密機器部門講演会キーンノート講演, 2011.

1.5.3. マイクロポーラス金属の材料特性評価

Assessment of material properties of micro-porous metal

塩見 誠規
Masanori SHIOMI

Keywords: Micro-porous metal, Foamed Aluminium,
Fabrication process, Deformation behaviour

1. 緒言

金属などで作製される人工骨は中実固体であるため骨に比べて非常に重く、使用範囲も限定される。実際の骨と同様にポーラス構造で作製されることが望まれるが、その特性は空孔のサイズ、形状、密度などに依存する。そこで本研究では、ポーラス構造を有する金属中の空孔が材料特性に与える影響について明らかにするとともに、ポーラス金属の内部構造設計および作製方法の確立を目的とする。

本報告では、ポーラス構造を有する金属の作製および成形する方法を検討するために、アルミニウム合金粉末に発泡剤を混合して加熱、発泡、成形の工程を一連して行う実験を行った。銅管を金型として発泡アルミニウムの充填成形を行い、得られた発泡アルミニウムの密度分布、機械的特性について調べた。

2. 実験方法

Fig. 1 に粉末を圧粉して押し出し、加熱発泡させながら型に充填して成形する実験装置を示す。本装置では発泡剤を混合した粉末の側方押し出しと発泡アルミニウムの金型成形を連続で行う。コンテナ内にアルミニウム合金 A6061 粉末と発泡剤として用いる TiH_2 粉末の混合粉末を入れ、コンテナより圧粉固化体を側方に押し出す。そして、A6061 合金の液相線温度以上に加熱された発泡ダイス内に押し込み、発泡ダイスからの伝熱により圧粉固化体を熔融、発泡させながらヒータにより加熱、保温する金型内へ押し出し、成形する。

混合粉末の圧粉側方押し出しを行うコンテナは入口径 30mm、出口径 16.5mm、押し出し比 3.30 である。圧粉固化体を熱間で押し出すため、上コンテナに棒状ヒータ (375W) を、コンテナには棒状ヒータ (400W) を二本、

台座に棒状ヒータ (500W) を取り付け加熱する。ヒータ部の出力はコンテナ表面の温度を測定して制御する。

発泡ダイスの形状は全長 93mm、入口径は 17mm、内に 45° のテーパを付け、出口部は内径 16mm、ランド部長さは 28mm である。発泡ダイスの加熱には高周波誘導加熱装置を用い、出力は熱電対をダイス出口部から 8mm の位置に取り付けて制御する。

金型部の詳細を Fig. 2 に示す。金型には内径 25mm、長さ 100mm のステンレスパイプを用いる。金型は、断熱材を挟みホルダでダイス出口部に固定し、ヒータ (1000W) を巻き付けて内径 43mm、肉厚 1mm の銅管で覆い、銅管の外側に断熱材を巻き付け加熱、保温する。成形後金型を冷却するために、銅管の長手方向中央部に直径 10mm の冷却孔を 1カ所開けており、コンプレッサを用いて冷却孔より圧縮空気を吹きつけ、ヒータの周囲を循環させて金型を冷却する。実験中の金型温度は、金型入口からの距離 40mm、60mm、90mm の位置で測定する。

実験は、1mass% TiH_2 を混合した粉末をコンテナ内に入れ、冷間圧粉 (圧粉圧 100MPa) 後、金型部が無い状態でコンテナを 420°C に加熱し、熱間側方押し出しを行い、発泡ダイス内に押し出す。発泡ダイスを 740°C に加熱して、一旦発泡アルミニウムを押し出し、加熱を停止して先端を切除する。以上の準備を行った後、金型部を取り付けて加熱し、成形する。発泡ダイスの加熱温度 740°C 、パンチ速度 0.45mm/s で金型内に充填した後、加熱を停止し、冷却孔より送風して金型冷却を行う。測定点における金型の最高温度が、加工後からアルミニウム合金の固相線温度 (582°C) に達するまでの時間を冷却時間と定義し、冷却時間が発泡アルミニウムの密度分布に及ぼす影響について調べた。

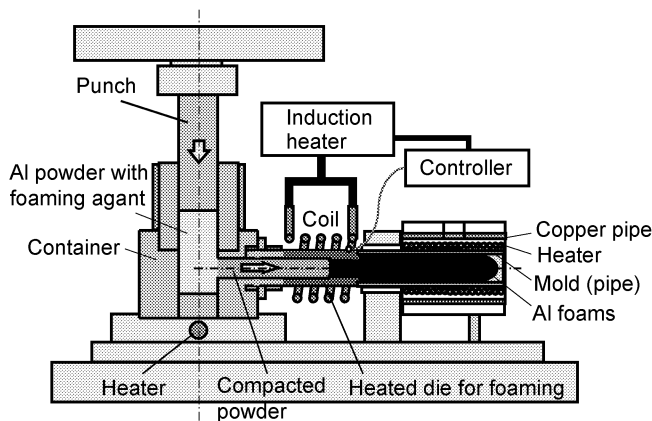


Fig. 1: Experimental equipment of foaming and moulding of aluminium powder

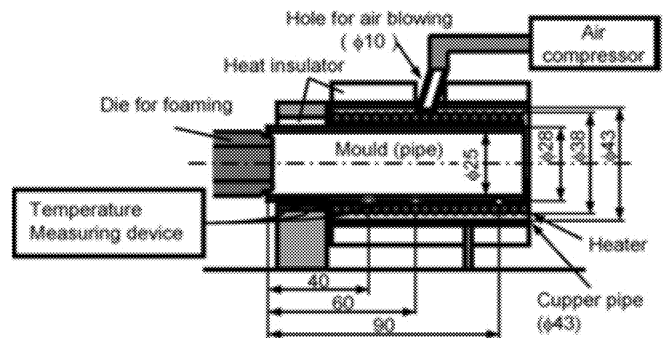


Fig. 2: Mould part with heating and cooling system

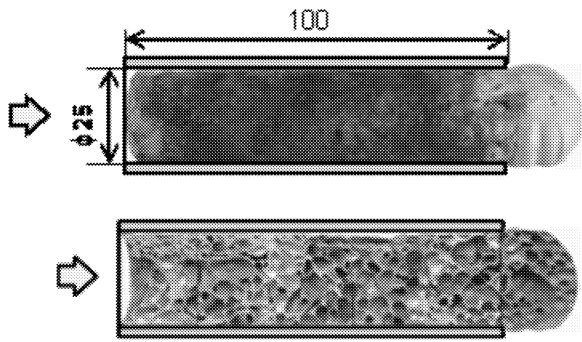


Fig. 3: Surface and cross-section of foamed aluminium

3. 発泡アルミニウムの密度分布

Fig. 3 に冷却時間 40s で作製した発泡アルミニウムの表面および断面を示す。発泡アルミニウムはステンレスパイプに十分充填しており、長さ 119mm の発泡アルミニウムが得られた。発泡アルミニウムの表面に気泡が抜けた跡は見られず、断面から気泡の粗大化も見られない。金型の送風冷却を行わず、加熱を停止した状態で放置した場合、冷却時間は 125s になり、発泡アルミニウムの中央部で気泡の粗大化が見られ、出口付近では気泡が潰れた状態が観察された。金型に充填後速やかに冷却することにより発泡アルミニウムの形状は良くなる。本方法により得られた発泡アルミニウムを 20mm ごとに切断して密度測定を行った。

Fig. 4 に冷却時間による相対密度分布の相違を示す。冷却時間 70s, 125s の場合、ダイス内に残存する発泡アルミニウムが過剰に入り、金型入口付近で高密化が生じている。また中央部では、気泡の漏出、粗大化が生じて密度が低下している。冷却時間が 40s の場合、平均相対密度は 0.24、相対密度のばらつきは 0.2~0.3 となり、ほぼ均一な密度分布を持つ発泡アルミニウムが得られている。発泡アルミニウム全体を短時間で凝固させることで密度のばらつきが抑制されている。

4. 圧縮試験

本実験により作製した発泡アルミニウムの機械的特性を調べるために、プレスによる圧縮試験を行った。試験片は、Fig. 3 に示すように、発泡アルミニウムをステンレスパイプに充填し、冷却時間 40s で密度分布の均一化を行ったものを長さ 40mm に切断して作製した。また比較のために、パイプに充填した状態の発泡アルミニウムと、発泡アルミニウムを充填する場合と同じ温度履歴を与えたステンレスパイプのみについても試験を行った。試験に用いたパイプ形状は内径 26mm、肉厚 0.2mm である。圧縮試験における初期ひずみ速度は $4.75s^{-1}$ である。

Fig. 5 に各試験片の圧縮における応力とひずみの関係を示す。曲線(d)はステンレスパイプのみと発泡アルミニウムのみを加えた結果である。ステンレスパイプを含む試験片では圧縮初期において高い応力を示し、その後パイプの座屈により応力が急激に減少して変形するのに対し、発泡アルミニウムだけでは初期の高い応力は発生せず、最初から低い応力で変形している。発泡アルミニウムの圧縮応力はひずみが約 0.3 までは 2~3MPa で、それ以降上昇している。また変形中の応力値の増減はポーラス構造体の局所的な座屈現象によるものと考えられる。

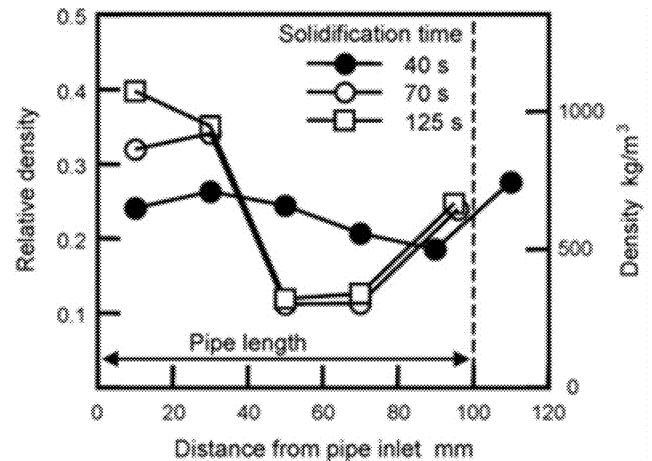


Fig. 4: Density distribution within aluminium foams for different cooling time

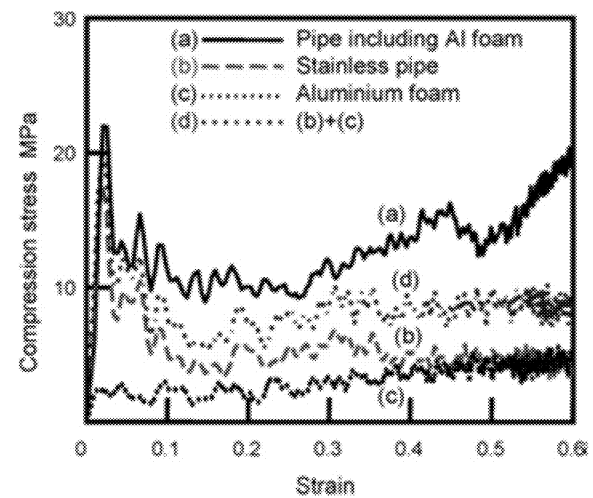


Fig. 5: Relationship between stress and strain in compression test of aluminium foams and pipe with foams

5. 結言

ポーラス構造を有する金属の作製方法として、アルミニウム合金と発泡剤の混合粉末を用いて加熱発泡および成形の工程を一連して行い、鋼管を金型として発泡アルミニウムの充填成形を行った結果、相対密度が 0.2~0.3 の発泡アルミニウムを作製することができた。また、圧縮試験により作製した発泡アルミニウムの材料試験を行った。

参考文献

- 1) Shima, M. et al.: Int. J. Mech. Sci., 18(1976), 285.
- 2) Ashby, M.F. et al.: Metal Foams, 2000, Butterworth-Heinemann.

査読付き論文

- 1) Shiomi, M. et al.: Journal of Materials Processing Technology, vol. 210, 2010, 1203-1208.

学会発表

- 1) 谷野孝高, 塩見誠規: 61回塑性加工連合講演会講演論文集, (2010), 229-230.

1.5.4. 光造形による3次元マイクロ部品の成形加工と医用工学への応用に関する研究 Study on fabrication of 3-dimensional micro part using stereolithography and its application to medical engineering

西谷 要介, 佐藤 貞雄, 武沢 英樹
Yosuke NISHITANI, Sadao SATO, Hideki TAKEZAWA

Keywords : Stereolithography, 3-dimension, Micro part, Mechanical properties

1. 緒言

光造形¹⁾をはじめとした積層造形法は、複雑な3次元形状をCADデータより直接造形可能なため様々な分野で使用されているが、マイクロサイズの構造物や部品を造形するための造形技術や、それらに適した材料に関する基礎データが不足しているのが現状である。本研究では光造形による3次元マイクロ部品の開発および医用工学への応用を目的として、3次元マイクロ部品の成形加工法の確立およびそれらに適した高性能材料開発を検討している。昨年度までに、光造形用エポキシ樹脂に各種無機および有機充填材を充填することにより、機械的およびトラス色ポロジの性質をバランス良く高性能化できること、特に超高分子量ポリエチレン(UHMWPE)を用いることが有効であることを明らかにしてきた。また、塗り潰し間隔、積層間隔、造形速度およびレーザー出力などの造形条件が寸法精度に及ぼす影響を検討し、マイクロ造形に最適な造形条件を明らかにした。これらの結果を踏まえ、本年度はエポキシ樹脂系光造形用材料(PESP)の更なる高性能化を中心に、光造形による3次元マイクロ部品の成形加工技術の構築を検討した結果を報告する。具体的には、(1)PESPへの有機充填材の複合化による物性改善および(2)有機充填材用として物理的溶解法を用いたマイクロサイズのポリマー微粒子の製造法について実験的に検討した結果を報告する。

2. 有機充填材を用いたPESPの高性能化

2-1 背景

光造形用エポキシ樹脂(PSEP)の物性改善検討において、使用するレーザー径よりも形状が大きな充填材を添加すると硬化不良を起こす原因となるため、マイクロサイズもしくはそれ以下の充填材を用い、さらには微量な添加量による改質が重要となる。本年度は、昨年度までの検討結果より、最も高い改善効果を示す有機充填材に注目し、UHMWPE充填系の物性に関する詳細な検討およびUHMWPE以外の有機充填材を用いた物性改善に関する検討について実験的に検討した結果を報告する。

2-2 実験

光造形用エポキシ樹脂(PSEP, ディーメック社, SCR-751)をベース材として用いた。有機充填材としては超高分子量ポリエチレン(UHMWPE, 旭化成ケミカルズ, UH-950)およびシリコンパウダー(SIMP-S, 信越化学工業, KMP-600)の2種類を充填材として用いた。ただし、SIMP-Sの表面は、シリコンゴムで表面コートしたものである。物性評価用試料は、PESPに充填材を微量添加(0~1.5wt.%)し、攪拌機を用いて攪拌した後、注型成形法により製作した。金型注型後、水銀灯(i線)を表裏各30分間照射して硬化させて実験用試料とした。物性は、曲げ特性、衝撃特性およびトラス色ポロジ特性などを評価した。トラス色ポロジ特性は、摺動形態の異なる2種類のすべり摩耗試験および歯車試験により評価した。すべり摩耗試験としては摺動形態が連続式であるリングオンプレート型および間欠型であるピンオンプレート型すべり摩耗試験の2種類を行った。リングオン型すべり

摩耗試験は、平板状試験片(30×30×3mm)と相手材として機械構造用炭素鋼(S45C)のリング(φ20×φ25.6mm)を用いて、JIS K 7218-Aに準拠して評価した。一方ピンオンプレート型すべり摩耗試験は、ピン状試験片(2×2×30mm)と相手材として機械構造用炭素鋼(S45C)のプレート(30×30×3mm)を用いて評価した。歯車特性は、ピッチ円直径11mmの小型歯車を注型法により成形した平板状試験片から機械加工により製作し、筆者らの研究室で設計製作した耐久試験機²⁾を用いて疲労特性を評価した。

2-3 実験結果と考察

図1に摺動形態が連続式であるリングオンディスク型すべり摩耗試験のフィラー充填量C依存性を示す。図1(a)は平均摩擦係数 μ 、図1(b)は比摩耗率 V_s の結果である。UHMWPEおよびSIMP-S充填系ともに充填量Cの増加に伴い μ は単調に低下するが、UHMWPE充填系の方が効果は高い。一方、 V_s はUHMWPEおよびSIMP-S充填系ともに充填量Cの増加に伴い単調に低下するが、1.5wt.%の高充填系ではSIMP-S充填系の方が改善効果は高い。次に、図2に摺動形態が間欠的なピンオンディスク型すべり摩耗試験のフィラー充填量依存性を示す。図2(a)は平均摩擦係数 μ 、図2(b)は比摩耗率 V_s の結果である。ピンオンディスク型すべり摩耗試験においては、C=0.5wt.%で μ は若干上昇するが、その後Cの増加に伴い低下する傾向を示し、高充填量系ではUHMWPE充填系の方がより低下する。一方、 V_s もCの増加に伴い単調に低下す

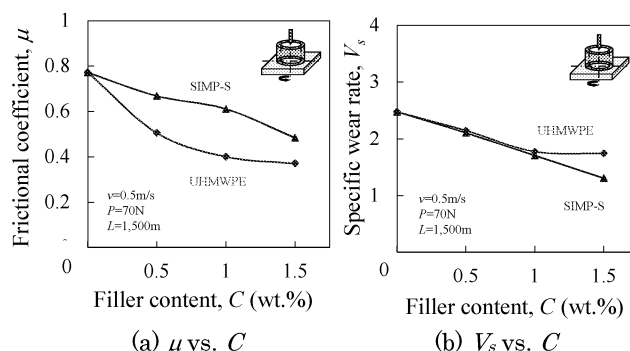


図1: リングオンディスク型すべり摩耗試験結果

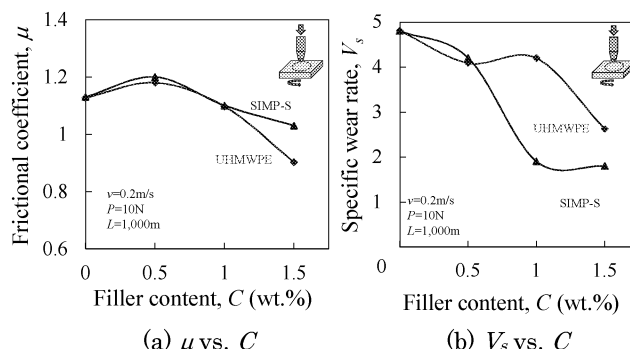


図2: ピンオンディスク型すべり摩耗試験結果

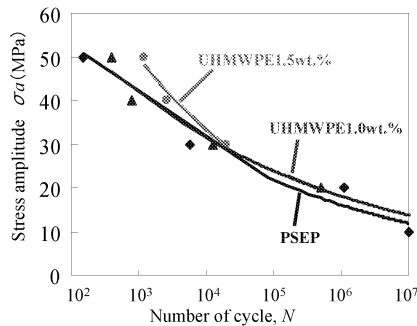


図3：歯車疲労試験結果（ $S-N$ 線図）

るが、UHMWPE 充填系よりも SIMP-S 充填系の方の改善効果大きい。これらの結果から、摺動形態の違い（連続的であるか間欠的か）により改善効果率は異なるものの、ポリマー微粒子充填によりトライボロジー特性の改善に効果があることわかる。

次に動力吸収式歯車装置を用いて測定した歯車疲労試験における応力振幅 σ_a と回転数 N の関係（ $S-N$ 線図）を図3に示す。UHMWPE 充填により $S-N$ 曲線はわずかではあるが右上方向にシフトし、歯車耐久性が向上することがわかる。今後は SIMP-S 充填系を用いた歯車特性や、これら有機充填系 PESP 複合材料の光造形による成形性などを検討する予定である。

3. 有機充填材用ポリマー微粒子の製造法に関する検討

3-1 背景

前章で示した様に有機充填材を用いると PESP のトライボロジー特性などの各種物性を改善することが可能である。しかしながら、超高分子量ポリエチレン(UHMWPE)などのポリマー微粒子はサイズや種類が限定的であり、任意の粒径や性能を持つオリジナルのポリマー微粒子が必要と思われる。そこで、光造形樹脂改質用のオリジナルな有機充填材を製造することを目的とし、簡便な方法でかつ有機溶媒を用いない二軸押出機を用いた物理的溶融分散法によるポリマー微粒子の製造技術を実験的に検討した結果を報告する。

3-2 実験

物理的溶融分散法は、二軸押出機にて水溶性樹脂と対象となる熱可塑性樹脂を溶融混練し、水溶性樹脂中に熱可塑性樹脂を分散させてポリマー微粒子を製造する方法の一つである。³⁾ 分散媒として用いる水溶性樹脂にはポリエチレングリコール (PEG, 三洋化成工業, PEG-2000) およびポリエチレンオキシド (PEO, 明成化学工業, R-150) を用い、微粒子化を目的とする樹脂としてはポリアミド 6 (PA6, ユニチカ, A1030JR) および UHMWPE (旭化成ケミカルズ, UH950) を用いた。具体的な製造法としては、水溶性樹脂と熱可塑性樹脂を二軸押出機 (日本製鋼, TEX30H96) にて溶融混練し、水溶性樹脂中に熱可塑性樹脂を分散させた混練物を調整し、その混合物を精製水中に投下し、水溶性樹脂を溶解させ、ろ過を行うことにより、熱可塑性樹脂微粒子を分離し、十分に乾燥させたのちにふるいを用いて分級した。この物理的溶融分散法の概略図を図4に示す。

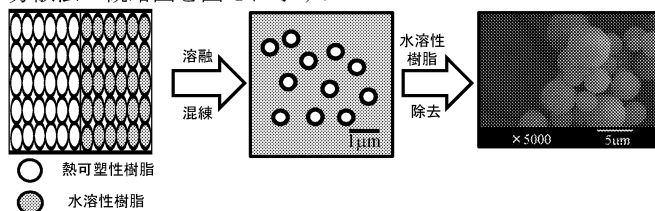


図4：物理的溶融分散法のイメージ図

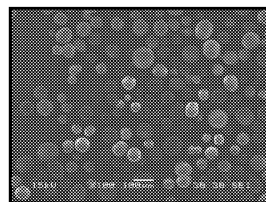


図5：物理的溶融分散法を用いて製造した PA6 の SEM 写真

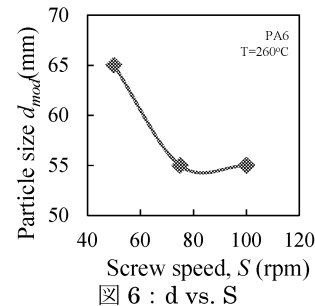


図6： d vs. S

3-3 実験結果と考察

図5に物理的溶融分散法を用いて製造した PA6 微粒子の SEM 画像を、図6にその SEM 写真より求めた粒径 d と二軸押出機のスクリュ速度 S の関係を示す。 S の増加に伴い d は低下し、75rpm 以上で一定となる。今後はスクリュ速度以外の製造条件を最適化すること、および他のポリマーを用いた微粒子製造を行い、光造形用樹脂の改質に適したポリマー微粒子の開発を行っていく予定である。

4. 結言

エポキシ樹脂系光造形用材料 (PESP) の更なる高性能化を中心に、光造形による3次元マイクロ部品の成形加工技術の構築を検討した結果、次の知見を得た。

- 1) 摺動形態の違いにより改善効果率は異なるものの、有機充填材であるポリマー微粒子充填によりトライボロジー特性の改善に効果があることわかった。
- 2) 光造形樹脂の改質用有機充填材の製造方法として、物理的溶融分散法を用いたポリマー微粒子製造技術の構築を検討した結果、PA6の微粒子製造に関する技術を構築した。

今後は、更なる光造形用樹脂 (PESP) の高性能化を目的に、物理的溶融分散法を用いて製造したポリマー微粒子充填系による PESP の改質および3次元マイクロ部品製造のための成形加工技術や医用工学への応用などを検討していく予定である。

参考文献

- 1) 丸谷洋二: 積層造形技術資料集, 2002, オプトロニクス
- 2) 堀口真裕, 鈴木健介, 高瀬一也, 佐藤貞雄, 成形加工, Vol.20 pp.131, 2008
- 3) 金原幸雄: プラスチックス, Vol.60 pp.42-45, 2009

2010 年度学会発表

- 1) 齋木直樹, 西谷要介, 関口勇, 北野武, 光造形物の寸法精度に及ぼす造形条件と紫外線吸収剤の影響, 成形加工'10 (プラスチック成形加工学会第 21 回年次大会), D201 (SP16), 2010
- 2) 海野起久, 西谷要介, 小久保邦雄, 関口勇, 北野武, フィラー充填による光硬化性樹脂のトライボロジー特性の改質, 日本トライボロジー学会トライボロジー会議 2010 秋福井, pp233-234, 2010
- 3) 海野起久, 齋木直樹, 西谷要介, 関口勇, 北野武, 光造形用樹脂のトライボロジー特性に及ぼす有機フィラー充填の影響, 成形加工シンポジウム'10 神戸 (プラスチック成形加工学会第 18 回秋季大会), P-62, 2010
- 4) 海野起久, 西谷要介, 小久保邦雄, 関口勇, 北野武, UHMWPE/PESP 複合材料のトライボロジーおよび歯車特性, 2010 年度材料技術研究協会討論会, pp177-178, 2010

応用生体医工学プロジェクト

応用生体医工学プロジェクト

Applied Project of the Biomedical Engineering Research Center (BERC)

プロジェクト長：藤江 裕道（工学院大学総合研究所客員教授）

本プロジェクトでは、基礎生体医工学研究プロジェクトで得られた多くの成果・知見、および整備済みの種々のマイクロ加工装置や計測・評価装置を有効に活用して、生体医工学研究の応用面を進展させる。また、医療デバイス開発やロボット技術などを用いて、医学研究機関、医療系企業等との連携を行う。

プロジェクトを構成する中テーマおよび中テーマ内の小テーマと担当者は以下のとおりである。

応用生体医工学研究プロジェクト

2.1. 幹細胞を用いた組織再生工学

2.1.1. 幹細胞を用いた軟骨再生

藤江裕道，中村憲正（阪大医），中田 研（阪大医）

2.1.2. 幹細胞を用いた靭帯，腱の再生

木村雄二，藤江裕道，中村憲正（阪大医），中田 研（阪大医）

2.2. マイクロバイオデバイスの開発

2.2.1. Ni-Ti 形状記憶合金のバイオデバイスへの適用

木村雄二，山内 清（東北大先進医工学研）

2.2.3. バイオメトリクス環境センサの研究

疋田光孝，竹内正男（玉川大）

2.3. 医療支援ロボットの開発

2.3.1. 歯科患者ロボット

高信英明，高西淳夫（早大），横宏太郎（昭和大学歯）

2.3.2. 6軸ロボットシステムを用いた関節再建術の評価

藤江裕道，大坪英則（札医大），坂根正孝（筑波大医），史野根生（大阪府立大総合リハ）

2.3.3. 生体信号処理に基づく医療装置の開発と応用

疋田光孝，石井千春（法政大学），橋本洋志（産業技術大院）

() 内所属先は2010年4月1日時点の所属
(表記なしは工学院大学所属)

2.1. 幹細胞を用いた組織再生工学 Tissue Engineering Using Stem Cells

2.1.1. 幹細胞を用いた軟骨再生

藤江 裕道, 中村 憲正 (大阪大学医学部), 中田 研 (大阪大学医学部)

2.1.2. 幹細胞を用いた靭帯・腱の再生

木村 雄二, 藤江 裕道, 中村 憲正 (大阪大学医学部), 中田 研 (大阪大学医学部)

関節軟骨や、靭帯、腱などの線維性組織は、生体運動に重要な役割を果たしている。軟骨は関節の潤滑性を良好に保ち、靭帯は関節の動きを拘束し、腱は筋力を骨に伝え、ともに四肢の運動精度と効率を高めることに貢献している。これらの生体組織に共通している特徴は血行に乏しいということである。軟骨は青みがかった白色をしているが、これは血行がほとんどないことを意味している。靭帯や腱も白色に近く、軟骨ほどではないが血行に乏しい。そのため、これらの生体組織が変性、損傷すると、組織修復のための様々な生体因子が運搬されず、自己修復はきわめて難しい状況に追い込まれる。

これらの生体組織を治療するため、様々な方法について研究が行われている。最も一般的なものは、損傷した軟骨や靭帯に代わり、これらと似た組織を体の別の場所から採取し、患部に移植する方法である。軟骨であれば軟骨形成術、靭帯であれば靭帯再建術と呼ばれ、一定の成績を上げている。しかし、再建組織を採取する部位で痛みが発生したり、機能不全が起こる、などの問題がある。また、再建組織の機能回復に限界があるという問題もある。関節の変性や損傷が重度の場合は、関節全体を機械式の軸受けに置き換える人工関節置換術が適応されるが、適合性の低い膝関節などでは臨床成績は必ずしも良くなく、また、人工関節を構成する金属とポリエチレンの摩耗粉が生体にさまざまな悪影響をおよぼすという問題もある。

これらの治療法に代わって、現在、再生医療が注目されている。患者の体内から細胞や組織を取り出し、適当な足場材（スキャフォールド）に播種して培養し、患部に置換して治療するという方法である。その中で、幹細胞を用いた方法が脚光を浴びている。幹細胞は分化能と増殖能を併せ持つ細胞であるが、その高い分化能により治療対象組織の細胞を創り出し、かつ高い増殖能でその効果を長く保つことが可能である。幹細胞の能力を最大限活用することで、さまざまな生体組織の再生、修復を高効率で達成できると考えられ、多くの研究者がしのぎを削って研究を行っている。

本研究では、我々が再生医療用材料として開発した、幹細胞を含む滑膜由来細胞を自己生成させた scSAT に注目した。scSAT は、関節滑膜から採取した幹細胞を含む細胞塊を取り出し、4~7 回程度の継代培養によって幹細胞密度を高め、アスコルビン酸により線維生成を促進させ、自然収縮により肥厚させたて生成した組織である。組織の強度を

担うタイプ I およびタイプ III のコラーゲン線維や、周辺組織との連結を担うフィブロネクチンなどで構成されており、組織修復に打って付けの材料である。

2.1.1. では、共同研究先の大阪大学で開発された人工骨 (Neobone) に我々の scSAT を組み合わせて、動物軟骨の修復実験を行った。その結果、scSAT を用いずに Neobone だけで修復させた場合に比べ、scSAT と Neobone を併用させて修復させた軟骨は、組織学的に優れ、有意差はないものの剛性も高く、正常軟骨に近いことを突き止めた。軟骨の再生における画期的な研究成果であると考えられる。また、研究を進めていく上で得られた様々な結果を基に、軟骨の潤滑メカニズムに関する考察、検討を行った。その結果、軟骨接触領域の大部分を占める見かけ上の境界潤滑領域であっても、軟骨内水分の働きにより、流体が荷重担荷を行っており、そのために低摩擦状態が実現されていることを数値的に明らかにした。バイオトライボロジー理論の根幹に係わる重要な研究成果であると考えられる。

2.1.2 では、靭帯、腱の修復を目的として、1.5「マイクロ構造の評価・加工技術」を応用して、培養皿にマイクロパターン加工を施し、細胞と生成組織を配向させ、靭帯・腱様 scSAT の創成を行った。その結果、細胞よりも一けた大きな幅 100 μm 、深さ 30 μm の溝パターンを培養皿に加工して培養を行うと、溝方向に細胞が配向し、細胞内骨格であるアクチンフィラメントも溝方向に綺麗に配向することが分かった。また、生成された scSAT は、コラーゲン線維に異方性が認められ、剛性と強度が有意に増大することが分かった。そして、この異方性を具備させた scSAT に繰り返し引張荷重をあたえて培養を行うと、剛性と強度がさらに向上し、特に強度は無処置の scSAT に比べて 5 倍弱まで増大することを明らかにした。バイオ研究とナノ・マイクロ工学の融合がもたらした、靭帯、腱の組織再生工学における画期的な研究成果であると考えられる。

2.1.1. 幹細胞を用いた軟骨再生

Application of stem cell-based self-assembled tissues (scSAT) to cartilage repair

藤江 裕道, 中村 憲正 (阪大医学部), 中田 研 (阪大医学部)

Hiromichi FUJIE

Norimasa NAKAMURA, Ken NAKATA (Osaka University Medical School)

Keywords : Stem cell-based self-assembled tissue(scSAT), Tissue engineering, Cartilage repair

1. はじめに

関節軟骨は自然治癒能力が低いため、スポーツ事故や変形性関節症などで損傷、変性すると外科的処置により修復させる必要が生じる。我々は患者の滑膜より採取した滑膜由来細胞を培養することで生成した幹細胞自己生成組織 (scSAT) (軟骨修復を目的に限定する場合は組織再生材料 (TEC) とも呼ぶ) を用いた軟骨修復の方法について研究を進めている¹⁾。本研究では、ブタの滑膜由来細胞を用いて生成した scSAT と骨補填材の複合体をウサギ膝蓋大腿関節面に作製した骨軟骨欠損部に移植し、修復した軟骨の力学的特性を評価する。今年度は修復軟骨のミクロスケール圧縮特性評価を行い、scSAT/骨補填材複合体による軟骨修復の手法について評価した。また、線維強化多孔質弾性体モデルを用いて、軟骨の潤滑様式に関する検討を行った。

2. ミクロ、マクロスケール圧縮特性評価

24 週齢以上の成熟ウサギ膝関節の片方の膝蓋大腿関節面に、直径 5 mm、深さ 6 mm の全層骨軟骨欠損を作製し、scSAT/NEOBONE 複合体を移植した。手術後 24 週で屠殺し、修復部と非手術側の膝の膝蓋大腿関節面から直径 4 mm の円柱状に切り出した組織を試験片とした (図 1)。その後、原子間力顕微鏡 (NanoscopeIIIa, Veeco) を用いて、バネ定数 0.06 N/m の標準プローブ (DNP-S, Veeco) で修復軟骨の表面観察および 5.12 μ m/s でインデンテーション試験を行い、剛性を求めた。

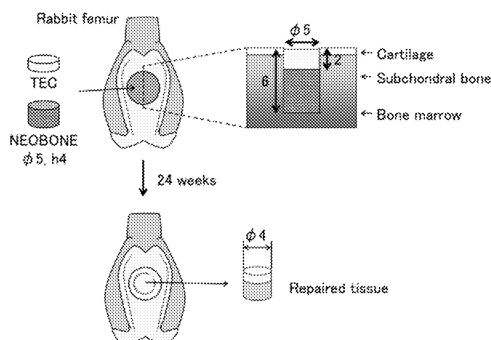


図 1 : 試験片作製の手順



図 2 : トルイジンブルー染色結果

術後 24 週の肉眼所見およびトルイジンブルー染色結果を図 2 に示す。NEOBONE のみを移植した群では、骨様組織、軟骨様組織および線維性の組織が混合して存在していた。NEOBONE/scSAT 複合体を移植した群では、周囲正常部との連続性が不整であったものの、欠損作製部は軟骨下骨様組織

および軟骨様組織で満たされた。AFM による表面形状計測結果を図 3 に示す。NEOBONE のみを移植した群および NEOBONE/TEC 複合体を移植した群の表面には、小さな突起やうねりが観察され、正常軟骨と同様の表面形状を示した。インデンテーション試験によって得られた修復組織の最表層の剛性を図 4 に示す。NEOBONE/TEC 複合体を移植した群の剛性 (16.8 \pm 10.0 mN/m) は正常軟骨の剛性 (23.2 \pm 12.5 mN/m) に比べ低い傾向を示したものの、NEOBONE のみを移植した群に比べて高剛性であった。

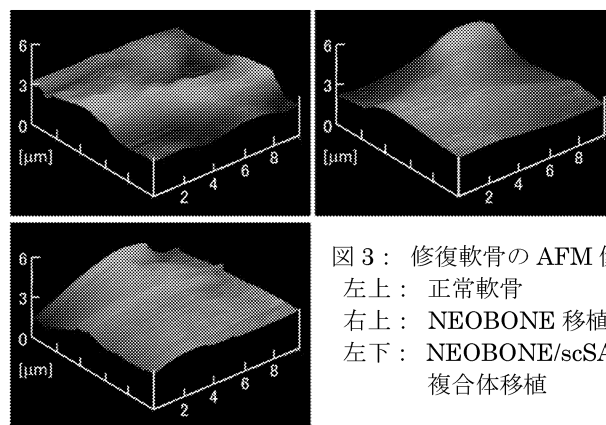


図 3 : 修復軟骨の AFM 像
左上 : 正常軟骨
右上 : NEOBONE 移植
左下 : NEOBONE/scSAT 複合体移植

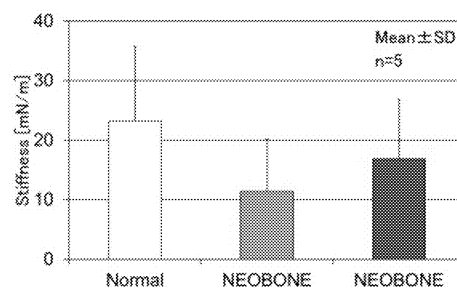


図 4 : 修復軟骨の最表層における剛性

NEOBONE/scSAT 複合体を移植して修復した軟骨は、最表層の剛性、トルイジンブルー染色結果ともに良好な成績が得られた。しかしながら、周囲正常軟骨との癒合が不完全であり、この点の改善が必要である。また、マクロスケールでの圧縮特性や摩擦特性は調べられていないため、今後の検討課題である。

3. 球状圧子往復摺動時の摩擦挙動解析

線維強化多孔質弾性体要素²⁾を用いて要素サイズを 100 \times 100 μ m とし、幅 8 mm、厚さ 1.5 mm の軟骨 2 次元モデルを作製した (図 5)。軟骨下部を完全固定し、軟骨側面への変形を拘束した。また、軟骨上部および側面からの水分の流入は行われなかった。軟骨モデルの各物性値は応

力緩和データ³⁾と解析データとのフィッティングを行い、求めた(表1)。なお、実験定数 M はSusaらによって求められた値(2.64)³⁾を用い、初期透水率 k_0 は透水性試験によって得られたひずみ30%における透水率より算出した($2.22 \times 10^{-15} \text{ m}^4/\text{Ns}$)。また、プロテオグリカンのポアソン比 ν_m はLiらの報告に従って $\nu_m=0.42$ とした²⁾。球形の圧子($\phi 10$)を剛体要素(Rigid body)で表現し、剛体参照点は圧子の中心とした。圧子と軟骨の接触面における固体間の摩擦係数は0.1とした。圧子の参照点に0.5 N/mmの圧縮荷重を2秒および60秒のランプ関数状で与え、その後圧縮荷重を0.5 N/mmに保ったまま、ストローク4 mm、速度1 mm/sの往復摺動を60秒間行った。この時の圧子と軟骨の接触面における接触圧と摩擦せん断応力より、摩擦係数を求めた。また、接触圧のうち流体が支える圧力の百分率を(流体間隙圧)/(接触圧)×100で求め、流体荷重分担比とした。

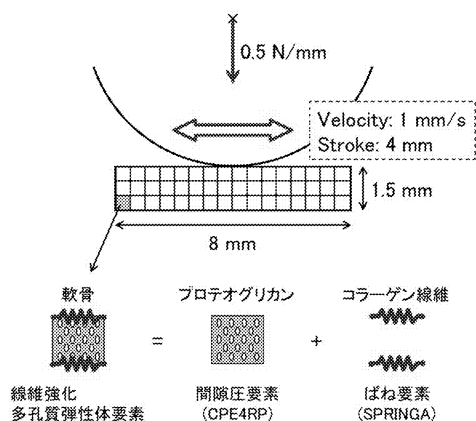


図5：摩擦モデル概要

表1：軟骨モデルの材料特性

プロテオグリカン				コラーゲン線維	
ヤング率 (MPa)	ポアソン比	透水率 ($10^{-15} \text{ m}^4/\text{Ns}$) $k = k_0 \exp(M\varepsilon)$	M	ヤング率 (MPa)	$E_f = E_\varepsilon \varepsilon_f + E_0$
E_m	ν_m	k_0	M	E_0	E_ε
1.8	0.42 ²⁾	2.22	2.64 ³⁾	0.01	3400

往復摺動中の流体荷重分担比と摩擦係数を図6に示す。荷重分担比および摩擦係数は、摺動開始から、圧子が軟骨中心軸を通過する4秒ごとに算出した。初期荷重が2秒の場合、流体荷重分担比は摺動開始時に89%であり、ほぼ一定で推移した。初期荷重が60秒の場合の流体荷重分担比は、摺動開始時には40%まで低下したが、摺動開始後に増大し、60秒後には86%まで回復した。摺動中の摩擦係数は流体荷重分担比に対応する変化を示した。すなわち、初期荷重2秒の場合は0.01程度で推移したのに対し、初期荷重60秒の場合は、起動摩擦後、時間経過とともに低下して、摺動60秒では0.01程度となった。軟骨の圧縮変形量は、初期荷重2秒の場合、摺動開始時に36 μm であり、摺動60秒までほぼ一定で推移した。

一般に軟骨の潤滑状態は、軟骨間に流体膜が介在する流体潤滑部分と、軟骨実質部が直接接触する境界潤滑部分が共存する混合潤滑状態になっていると説明されている。流体潤滑部分の摩擦係数はほぼ0であり、境界潤滑部分の摩擦係数は0.1程度と考えられるため、軟骨全体の摩擦係数はその中間となることになる。しかし、振り子試験で得られている軟骨の摩擦係数は0.001程度であり、これから換算すると、流体潤滑部分が大部分を占め、軟骨が直接接触する境界潤滑部分は、軟骨摺動面の1%以下しかないことになる。本研究の結

果から、見かけ上軟骨同士が直接接触していると思われる領域でも流体による荷重支持が行われることで境界潤滑部分が少なくなり、低摩擦状態が維持されることが分かった。

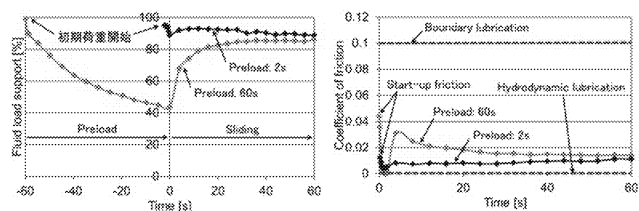


図6：流体荷重分担比(左)および摩擦係数(右)

4. まとめ

NEOBONE/scSAT複合体を移植して修復した軟骨は、最表層の剛性、トルイジンブルー染色結果ともに良好な成績が得られた。また、多孔質弾性体モデルを用いた摩擦解析の結果、軟骨同士が見かけ上、直接接触している部分においても、流体による荷重支持が行われることで境界潤滑部分が少なくなり、低摩擦状態が維持されることが可能であることが分かった。scSATによる修復組織では最表層の剛性が低く、透水率が大きくなること報告されており、今後は、現実の修復軟骨の構造をより反映させたモデルを開発し、解析を進めていく必要がある。

文献

- 1) Ando W., Fujie H., Biomaterials 28, et al., pp. 5462-5470, 2008
- 2) Li et al., Clinical Biomechanics 14, 673-682, 1999.
- 3) Susa T. Fujie H., et al., Proc. 6th WCB, pp.428, 2010.

論文投稿, 学会発表等

- 1) 南斉, 中村, 藤江, 滑膜由来間葉系細胞より生成した組織再生材料(TEC)による修復軟骨のマイクロ・マクロスケール圧縮特性, 日本機械学会論文集(C編) 76, pp.2340-2344, 2010.
- 2) 藤江, 南斉, 中村, 体性幹細胞ベース・スキャフォールドフリー組織再生材料による軟骨修復, 日本材料科学会誌「材料の科学と工学」 Vol.47, pp.280-284, 2010.
- 3) Nansai R, Nakamura N, Fujie H, et al., Surface morphology and stiffness of cartilage-like tissue repaired with a scaffold-free tissue engineered construct, accepted.
- 4) Shimomura K, Fujie H, Nakamura N, The influence of skeletal maturity on allogenic synovial mesenchymal stem cell-based repair of cartilage in a large animal model, Biomaterials Epub 7/31, 2010.
- 5) Nansai R, Fujie H, et al., Compressive property of cartilage-like tissues repaired with an interconnected porous hydroxyapatite containing bone morphogenetic protein, Proc. 6th WCB, pp.426, 2010.
- 6) Susa T, Fujie H, Nakamura N, et al., Finite element analysis of cartilage-like repaired tissue using a fiber-reinforced poroelastic model, Proc. 6th WCB, pp.428, 2010.
- 7) Nansai R, Nakamura N, Fujie H, et al., Depth-dependent healing strength of cartilage-like tissue to host cartilage: Application of a stem cell-based tissue engineered construct, Proc. 9th ICRS, pp.266, 2010.
- 8) 南斉, 中村, 藤江, 他, 間葉系幹細胞を用いた修復軟骨の力学特性, 2010年度年次大会講演論文集 Vol.6, pp.229-230, 2010.
- 9) 南斉, 藤江, 他, 有限要素解析による関節軟骨内水分移動の解析, 第37回日本臨床バイオメカニクス学会抄録集, pp.150, 2010.
- 10) 南斉, 藤江, 他, 繊維強化多孔質弾性体モデルを用いた関節軟骨の荷重時間依存摩擦特性解析, 第31回バイオトライボロジシンポジウム抄録集, 2010.

2.1.2. 幹細胞を用いた靭帯・腱の再生

Application of stem cell-based self-assembled tissues (scSATs) to ligament and tendon repair

木村 雄二, 藤江 裕道, 中村 憲正 (阪大医学部), 中田 研 (阪大医学部)

Yuji KIMURA, Hiromichi FUJIE

Norimasa NAKAMURA, Ken NAKATA (Osaka University Medical School)

Keywords : Stem cell-based self-assembled tissue(scSAT), Tissue engineering, Ligament and tendon repair

1. 緒言

近年、臓器不全や難治性疾患、あるいは激しいスポーツや交通事故などにより生じる生体組織損傷に対し、遺伝子工学や細胞組織工学を用いて治療する再生医療が注目されている。再生医療は、臓器提供者の不足を問題としない点など、従来の治療法における様々な困難を克服できる可能性がある。我々の研究室では、損傷した腱や靭帯などの線維性組織を修復することを目的に、幹細胞を含む自己生成組織である scSAT(stem cell-based Self-Assembled Tissue)¹⁾に関する研究を行っている。scSAT は、動物由来のコラーゲンや人工化合物からなるスキャフォールドが不要であるため、生体内に埋入した際に拒否反応等を起こしにくい特徴がある。しかし、正常な腱や靭帯で観られる力学的・構造的異方性材料とは異なり、細胞やコラーゲン線維などが方向性を持たずに二次元的に分布している面内等方性材料であることや、力学的強度が劣っているという問題点がある。scSAT を腱、靭帯の再生用材料として用いる場合、生体外の培養時において、細胞から生成される線維の配向性と組織の強度を向上させる必要がある。そこで本研究では、マイクロ加工技術を応用して微小な溝を培養皿に施し、線維の生成方向を限定させ、scSAT の線維配向と高強度化培養を可能とする培養法を開発し、新たな scSAT を生成した。さらに、線維配向・高強度化培養を行った後に、動的な引張荷重を付与して培養を行い、scSAT のさらなる高強度化を図った。

2. 実験方法

2-1. マイクロパターン加工培養皿の作製

培養皿となるガラス板表面にクロム膜を成膜した後、フォトレジストを均一に塗布した。スリット状のパターンが描かれたマスクを介して露光し、現像処理により露光部分のレジストを除去した。金属エッチング液によりクロムをエッチングしてパターンを形成し、フッ化水素酸によるガラスのエッチングで幅 100 μm 、ピッチ 200 μm を一定にして、深さ 10 または 30 μm の 2 種類の溝を作製した。最後に、ガラス板表面のフォトレジストとクロム膜を除去してマイクロパターン培養皿を作製した (図 1)。

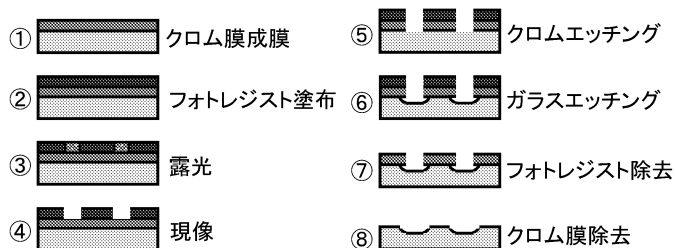


図 1 マイクロパターン加工培養皿の作製方法

2-2. scSAT の生成

ヒト膝滑膜から細胞を採取して数回継代培養し、初期細胞

密度を一定にして培養皿に播種し、数週間培養を行った。培養皿底面に生成された基質を剥離し、1 時間の収縮時間を与え、scSAT を生成した (図 2)。マイクロ加工を施した培養皿で生成した scSAT を MG10(溝の深さ 10 μm)、MG30(溝の深さ 30 μm) とし、通常培養皿による Control 群と比較した。

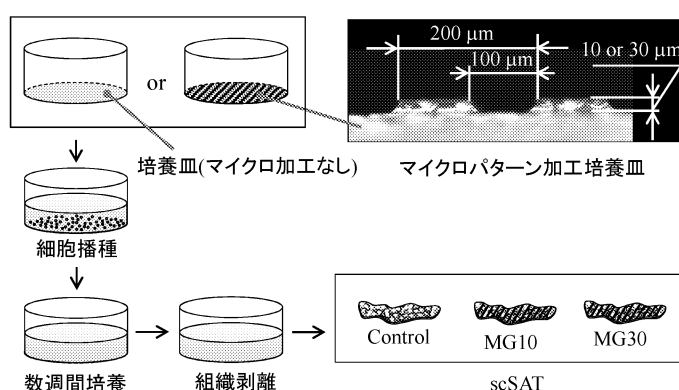


図 2 scSAT の生成方法

2-3. 組織観察, 配向解析, 厚さ測定

組織観察は、蛍光顕微鏡を用いて scSAT 内部の細胞核とアクチンフィラメントを観察した。組織観察画像からフーリエ変換-極座標変換-振幅スペクトル平均の手法で線維組織配向解析を行い、線維配向角度および配向強度を求めた²⁾。試験片をスライドガラスとカバーガラスで挟みマイクロスコープを用いて、厚さを計測した。

2-4. 動的引張培養

マイクロパターン加工培養皿(溝の深さ 30 μm)で生成した scSAT を動的引張培養装置³⁾のチャック部に把持し、5-10% のひずみを与え、その時の荷重を記録した。ひずみ 5-10% における荷重域で 1 日 1 時間(残り 23 時間は無荷重下での培養)、0.05 m/s の速度で動的引張培養を 3 日間行った。組織を培養皿から剥離し、1 時間自己収縮させた scSAT を Loaded 群、3 日間無荷重下で培養したものを Non-loaded 群とした。

2-5. 引張破断試験

本研究で開発された引張試験装置³⁾を用いて引張試験を行った。37°C 一定に保たれた PBS 中で、試験片をチャック部に把持し、試験片の幅を 6 mm に整えた。荷重チャック部に設置したひずみゲージにより荷重を検出しながらリニアアクチュエータにより引張速度 0.05 mm/s で引張った。MG30 群、Non-loaded 群は溝の方向に引張荷重を与えた。

3. 結果

3-1. 組織観察および配向解析結果

蛍光顕微鏡による細胞観察結果を図 3 に示す(青色: 細胞

核, 赤色:アクチンフィラメント). 細胞やアクチンフィラメントが, Control 群では一様に分布していたのに対し, MG30 群では溝方向に配向していた. 配向解析の結果, Control 群は等方的構造と判断されたが, MG10, 30 群の配向角度と配向強度はそれぞれ 10.9°, 1.21, -4.91°, 1.34 であり, scSAT のアクチンフィラメントが溝方向に配向することが分かった.

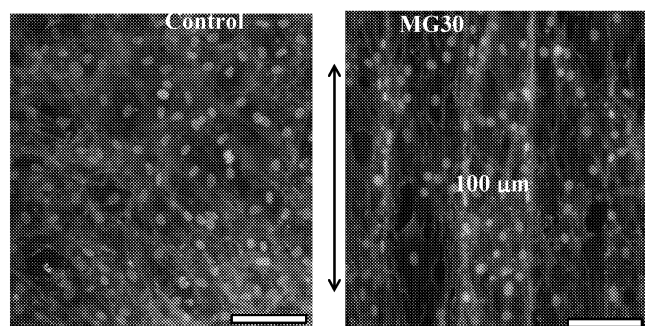


図3 組織観察結果 (矢印:荷重方向)

3-2. 厚さ測定結果

Control 群 (53±10 μm)(平均±標準誤差)に比べ, MG10, 30 群はそれぞれ 67±6.9 μm, 68±6.7 μm と有意に厚かった. また Non-loaded 群が 117±6.1 μm, Loaded 群が 119±9.8 μm となり, Time 0 群 (74±7.9 μm) に比べて有意に厚かった.

3-3. 引張試験結果

Control と MG10 群に比べ, MG30 群は応力が急に立ち上がり, 破断強度が向上した. 破断強度は, MG30 群が 0.34±0.09 MPa となり, すべての群間で有意差(p<0.05)があった. 動的引張培養を行った Loaded 群の破断荷重(0.76±0.13 MPa)は他よりも有意(p<0.05)に高かった.

図4に, Control 群に対する破断強度比率を示す. MG10 群は 144%, MG30 群は 322%, Non-loaded 群は 256%, Loaded 群は 467%に, それぞれ強度が向上した.

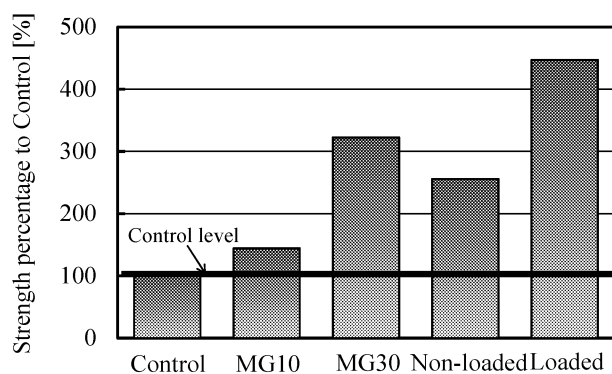


図4 破断強度結果

4. 考察

組織観察の結果, Control 群は細胞とアクチンフィラメントが一様に分布したが, MG 群は溝の方向に配向していた. Wangら⁴⁾は細胞のスケールと同程度の数μm幅の溝構造を有する培養座で培養を行うと, 細胞が溝の方向に配向し, 細胞の配向方向と同じ方向にコラーゲン線維も同方向に配向することを報告している. これらの結果より, scSAT 内部のコラーゲン線維は, 溝方向に配向していることが示唆され, MG 両群は破断強度が Control 群に比べ, 有意に向上したと考えられる. また, MG30 群は, MG10 群よりも破断強度が

有意に向上した. これは, MG30 群の溝部分に多くの細胞が集積することで細胞密度が密になり, 線維配向強度が増大したことで, 破断強度が向上したためと考えられる. 動的引張培養を行った, Loaded 群は Time0 群, Non-loaded 群に比べ, 破断強度が有意に向上した. 動的引張培養を行うことで, scSAT のコラーゲン量が増大することが分かっている³⁾. これより, Loaded 群は scSAT 内部に新たなコラーゲン線維が生成され強度が向上したと考えられる. マイクロパターン加工培養皿を用い scSAT を生成すると構造的, 力学的異方性を付与することが可能であり, 強度が向上することが分かった.

5. 結言

マイクロ加工技術を応用し作製した培養皿を用いて scSAT の線維配向・高強度化培養を行い, 引張試験, 組織観察を行った結果, 以下のことが分かった.

1. マイクロパターン加工培養皿で scSAT を生成すると, 力学的・構造的異方性が付与されて, 破断強度は 3.2 倍に向上する.
2. マイクロパターン加工培養皿の培養の後に動的引張培養を行うと, scSAT の破断強度は 4.7 倍に向上する.
3. マイクロパターン加工培養皿で培養された scSAT 内のアクチンフィラメントは, 溝の方向に強く配向する.

文 献

- 1) Ando W. et al: Biomaterials, 2007.
- 2) 江前 敏晴:紙パルプ技術タイムズ, 2005.
- 3) 齊藤 佳 他:日本臨床バイオメカニクス学会誌, 2009.
- 4) Wang J. et al: Journal of Biomechanics, 2003.

論文投稿・研究発表等

- 1) Sudama H., Nakamura N., Fujie H., et al., Anisotropic properties of stem cell-based self-assembled tissues cultured on a micro pattern-processed glass plate, Int. Sympo. on Ligament & Tendon -X, pp. 59, 2010
- 2) Sudama H., Nakamura N., Fujie H. et al., Effect of microgroove depth of a micro pattern-processed glass plate on the tensile properties of stem cell-based self-assembled tissues (scSAT), IFMBE Proceedings 31, pp.131 - 134, 2010
- 3) 須玉, 中村, 藤江, 他, マイクロパターン加工培養皿により異方性を付与した幹細胞自己生成組織 (scSAT) の動的引張荷重に対する応答, 第 37 回日本臨床バイオメカニクス学会抄録, pp.84, 2010
- 4) 須玉, 中村, 藤江, 他, マイクロパターン加工培養皿による幹細胞自己生成組織(scSAT)の異方性付与, 臨床バイオメカニクス, pp.7-12, 2010
- 5) Sudama H., Nakamura N., Fujie H., et al., Tensile property of stem cell-based self-assembled tissues (scSAT) cultured on micro-pattern processed glass plates with various microgroove depth, Int. Sympo. on Ligament & Tendon -XI, pp.74, 2011
- 6) Sudama H., Nakamura N., Fujie H., et al, Tensile property of stem cell-based self-assembled tissues (scSAT) depends on the microgroove depth of micro pattern-processed glass plate. Orthopaedic Research Society, pp.158, 2011

2.2. マイクロバイオデバイスの開発 Development of Micro-Bio-Devices

2.2.1. Ni-Ti 形状記憶合金のバイオデバイスへの適用
木村 雄二, 山内 清 (東北大学先進医工学研究機構)

2.2.3. バイオメトリクス環境センサの研究
疋田 光孝, 竹内 正男 (玉川大学工学部知能情報システム学科)

半導体 LSI や液晶ディスプレイなどで開発された微細化技術、新素材技術などのいわゆるハイテク技術がバイオ分野に対しても大きな波及効果をもたらしている。本中テーマ「マイクロバイオデバイスの開発」では、これ等の新技術に独自開発技術を加えた「Ni-Ti 形状記憶合金のバイオデバイスへの適用」、「バイオメトリクス環境センサの研究」を取り上げて進めている。

「Ni-Ti 形状記憶合金のバイオデバイスへの適用」では、形状記憶効果、超弾性効果というユニークな特性を有する Ni-Ti 合金に着目し、耐食性、耐摩耗性をバイオマテリアルとして利用することを目指している。しかし、Ni-Ti 合金は、組成の約半分を占める Ni の毒性が懸念されている。生体への Ni イオンの溶出を抑制することで炎症反応を抑制し、生体適合性の向上につながることを期待されている。

先行研究では大気酸化による TiO₂ 薄膜形成により Ni イオン溶出が抑制されることを確認した。しかし、薄膜の極表面層に Ni の残留が認められ、イオンとして生体内に溶出することが懸念される。生体適合性について評価が必要となる。平成 22 年度は、Ni イオン存在下の TiO₂ 薄膜付与 Ni-Ti 合金上で培養した細胞の形態および増殖量を評価した。細胞への Ni イオン濃度の影響を把握、その結果を基に TiO₂ 薄膜を付与した Ni-Ti 合金の生体適合性評価を行うことを試みた。

各 Ni イオン濃度の条件または TiO₂ 薄膜付与 Ni-Ti 合金存在下で 72h 培養を行った後の接着細胞数を求めた。いずれの条件下においても細胞の増殖は問題なく起こり、接着細胞数について有意差は見られなかった。本来細胞に対して毒性が高い環境であれば、細胞増殖の抑制が起こるが、それが確認されなかったことから、Ni イオン濃度が 2ppm までは増殖・接着に対しては影響が認められないことが確認された。

TiO₂ 薄膜を付与した Ni-Ti 合金は薄膜の極表面層からの Ni イオン溶出の可能性のあるものの Ni イオンの溶出による影響は確認されなかった。24、48、72h 培養後に位相差顕微鏡による細胞の形態観察を行った。細胞の形態観察の結果、濃度 0.25ppm 以下の環境では、いずれの培養時間でも細胞の形態に変化は見られず、毒性が認められなかった。Ni イオン濃度 0.5ppm 以上では培養時間 48h 以降で細胞の形態が細長くなる変化が確認された。通常 MC3T3-E1 は球状に近い形状を示すが、毒性が高い環境では細胞の線形化が起こる。本結果で確認された細胞の線形化の程度では、明確に毒性があったとは言い難い。0.5ppm 以上では Ni イオンにより細胞の形態に影響を及ぼす可能性があるが、その影響は低いことが示唆された。72h 培養後の蛍光顕微鏡による観察結果、Ni イオン 0.5ppm 以上でアクチンフィラメントが線形化することが確認されたが、その程度は位相差

観察時の結果と同様であった。アクチンフィラメントは異物である Ni により変性が起こった可能性が考えられるが、その影響は低いと考えられる。以上の結果から、蛍光観察においても Ni イオン 0.5ppm 以上では細胞の形態に影響を及ぼす可能性があるが、その影響は低いことが示唆された。

TiO₂ 薄膜付与 Ni-Ti 合金上で 72h 培養後の蛍光観察およびギムザ染色後の観察結果を 0ppm の結果、形態の変化が確認された 0.5ppm の結果と比較したところ、いずれも Ni イオン 0.5ppm に見られたような細胞の線形化はなく、形態への影響は無い。以上の結果から、細胞の存在下では薄膜の表面層から多少の Ni イオンの溶出も懸念されるが、細胞への影響は無いと考えられる。したがって、感度の高い評価によっても TiO₂ 薄膜付与 Ni-Ti 合金の優れた生体適合性が確認出来た。

「バイオメトリクス環境センサの研究」では、将来の介護ロボット等を想定し、「高度センシング技術」の一つとして要求される、「病室や部屋において」、「病人、老人の体臭や口臭」の変化などの嗅覚検知法を研究対象としている。介護ロボットや病室に設置されたセンサネットワークがこれ等の微量分子を常時センシングすることで、環境の維持、病状の変化等に対処するものである。従来の装置は大型である、電力消費が大きいなどの問題があり、ロボットやセンサネットワーク等には採用出来なかった。

弾性表面波 (SAW: Surface Acoustic Wave) センサで先行する EST (Electronic Sensor Technology) 社の装置は、温度特性の良い水晶基板を用い、厳密な温度制御の元で使用する。研究の前半で提案した装置は自己温度補償機能を有する。従って、水晶基盤以外の強圧電基板の採用が可能で、使用温度に対する制限もない。BERC 装置による設計/試作結果、上記温度に関する自己保証機能を確認した。しかし、SAW 素子の本質的な欠点である SAW の励振、伝搬に伴う損失が大きい。ロボットやセンサネットワーク等に採用するには損失特性を抜本的に改善する必要があることが分かった。本研究の後半は、上記の自己温度補償機能を保ちながら、損失特性を大幅に改善する更に高度な機能の実現を目指すものである。

今回新たに、トランスデューサの両側に SAW の反射器を導入することでエネルギーの漏洩を防ぐ、すなわち SAW 共振器に着目した。SAW 共振器をラチス回路構成に組み低損失遅延線を提案し、シミュレーションにより低損失化の可能性を示した。今後、上記の自己温度補償機能との両立を図りつつ具体的な設計/試作を行う予定である。更に、2.2 のグループ内の相互協力を図り、高感度な特定分子感応薄膜等の検討も開始する。

2.2.1. Ni-Ti 形状記憶合金のバイオデバイスへの適用 Application of Ni-Ti Shape Memory Alloy to Bio-Devices

木村 雄二, 山内 清 (東北大学先進医工学研究機構)

Yuji KIMURA, Kiyoshi YAMAUCHI (Tohoku Univ. Biomedical Engineering Research Organization)

Keywords : Ni-Ti alloy, Bio device, Corrosion resistance in quasi-human body environment, Surface modification, TiO₂ thin film, Air oxidation, Ni free surface layer, Biocompatibility

1. 緒言

Ni-Ti 合金は形状記憶効果、超弾性効果というユニークな特性を有し、耐食性、耐摩耗性に優れるため有用なバイオマテリアルとして利用されている。しかし、Ni-Ti 合金を生体内利用する場合、組成の約半分を占める Ni の毒性が懸念されている。この問題点については生体への Ni イオンの溶出を抑制することで Ni イオンに起因する炎症反応を抑制し、生体適合性の向上につながることを期待されている¹⁾。

先行研究では大気酸化による TiO₂ 薄膜形成により Ni イオン溶出が抑制されることが確認されている²⁾。しかし、薄膜の極表面層に Ni の残留が認められ、この Ni がイオンとして生体内に溶出することで生体に毒性を及ぼす事が懸念されているため、生体適合性について評価が必要となる。

そこで平成 22 年度では、Ni イオン存在下および TiO₂ 薄膜付与 Ni-Ti 合金上で培養した細胞の形態および増殖量を評価することにより、細胞への Ni イオン濃度の影響を把握、その結果を基に TiO₂ 薄膜を付与した Ni-Ti 合金の生体適合性評価を行うことを試みたのでこれらについて報告する。

2. 供試材料および実験方法

2.1 細胞に及ぼす Ni イオン濃度の影響の把握のための実験

供試材料として Pure Ni(純度 99.0%、株式会社ニラコ社)の板材を使用し、27×27×1.0mm に加工した後研磨等による表面処理は行わず、エタノール中での超音波洗浄を行ったものを試験片とした。希釈して種々の濃度の Ni イオン溶液を得るため、高濃度の Ni イオン溶液を三電極装置 (WE: 試験片, CE: 白金電極, RE: 飽和カロメル電極) を用いて 975mA の定電流アノード溶解を行い準備した。環境溶液には 1.0M リン酸 Buffer を用いた。温度は生体環境を想定し 37°C に設定した。

Ni-Ti 合金の生体内利用において硬組織への利用を想定した場合、硬組織においては骨芽細胞による骨形成、マクロファージによる免疫反応などの反応が起きるため、これらの細胞を用いて評価が可能となる。特にマクロファージは炎症性サイトカインを産生するため炎症反応の観点からの評価が行える。先行研究ではヒト由来単球様細胞 U937 をマクロファージに分化させて研究を行っていたが、U937 のマクロファージへの分化はすべてがマクロファージにならず複合的な集団になるため、実験再現性に懸念が残る。以上の点を考慮し、細胞を単一にすること、細胞種を骨芽細胞に変更することで実験再現性が向上するとともに材料における骨形成の評価に繋げることが可能になる。そこで、実験に使用する細胞としてマウス由来骨芽細胞様細胞 MC3T3-E1 を選択し、継代培養し実験に用いた。

前述のようにして得られた Ni イオン溶液を、濃度が 0.125, 0.25, 0.5, 1, 2 ppm となるように調製し培養培地に添加した。対照条件として Ni イオンを含まない通常の培養条件で培養を行った。これら各条件で MC3T3-E1 細胞を 72h 培養した。培養容器は 12 well Tissue Culture Dish を用いた。

2.2 TiO₂ 薄膜付与 Ni-Ti 合金の生体適合性評価

供試材料には Ni-Ti 合金を用い、φ14mm×2mm に加工した。また、試験片は表面処理として #1200 番までのエメリー研磨、粒径 0.3 μm のアルミナを用いたバフ研磨により鏡面仕上げ、エ

タノール中での超音波洗浄を行った。超高速昇温電気炉を用い、供試材料を 773K、30min で大気雰囲気中高温酸化を行い、TiO₂ 薄膜を成膜した。成膜を上記の条件で行った理由は、先行研究で高耐食性であることが示され、電気化学的腐食試験において Ni イオンの溶出量が特に低かった(0.00ppm)ことからである。

生体適合性評価は、TiO₂ 薄膜付与 Ni-Ti 合金上で 72h 培養した細胞の観察を行い実施した。

3. 実験結果および考察

3.1 細胞増殖に及ぼす Ni イオンの影響

Fig.1 に各 Ni イオン濃度の条件または TiO₂ 薄膜付与 Ni-Ti 合金存在下で 72h 培養を行った後の接着細胞数を示す。図中の赤線は播種細胞数を示す。播種細胞数は 5600cells/cm² である。これらの結果より、いずれの条件下においても細胞の増殖は問題なく起こり、接着細胞数について有意差は見られなかった。

本来細胞に対して毒性が高い環境であれば、細胞増殖の抑制が起こるが、結果ではそれが確認されなかったことから、Ni イオン濃度が 2ppm までは増殖・接着に対しては影響が認められないことが確認された。

TiO₂ 薄膜を付与した Ni-Ti 合金においては薄膜の極表面層からの Ni イオン溶出の可能性のあるものの増殖及び接着の結果に対して、Ni イオンの溶出による影響は確認されなかった。

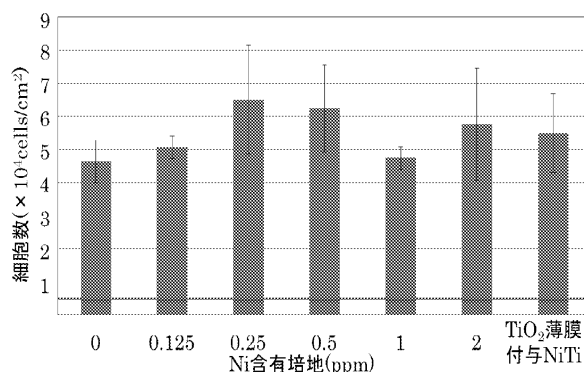


Fig.1 72h 培養後の接着細胞数

3.2 細胞形態に及ぼす Ni イオン濃度の影響

3.2.1 位相差観察

24, 48, 72h 培養後に位相差顕微鏡による細胞の形態観察を行ったが、その内の 72h 経過後の観察結果を Fig.2 示す。

これら細胞の形態観察の結果、濃度 0.25ppm 以下の環境では Ni イオンを含まない条件と比較して、いずれの培養時間でも細胞の形態に変化は見られず、毒性が認められなかった。

これに対して、Ni イオン濃度 0.5ppm 以上では培養時間 48h 以降で細胞の形態が細長くなる変化が確認された。通常 MC3T3-E1 は球状に近い形状を示すが、毒性が高い環境ではその活性の低下により本来の形態を失い、細胞の線形化が起こる。しかしながら、本結果で確認された細胞の線形化の程度では、明確に Ni による毒性があったとは言い難い。このことより、0.5ppm 以上では Ni イオンにより細胞の形態に影響を及ぼす可能性が懸念されるが、その影響は低いことが示唆された。

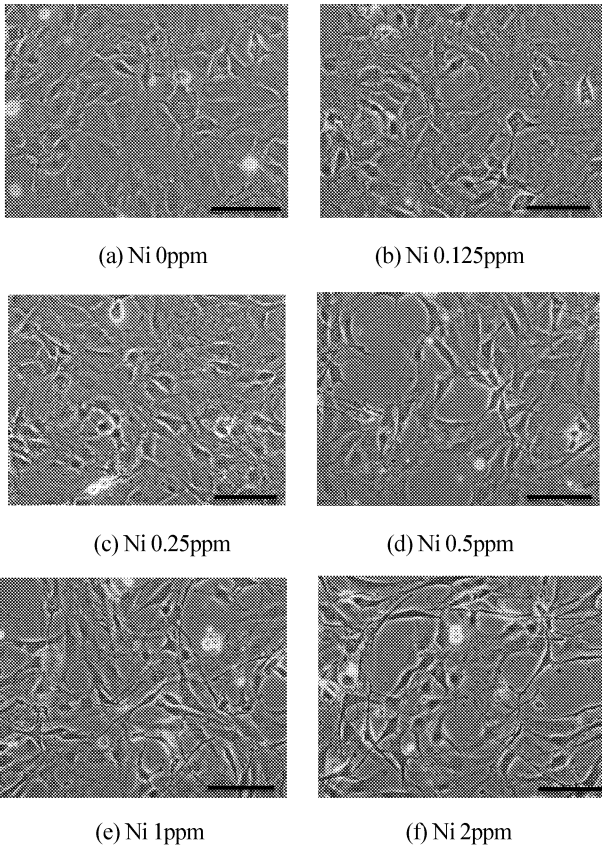


Fig.2 72h 培養後の細胞の形態(— : 100 μ m)

3.2.2 蛍光観察

Fig.3 に 72h 培養後の蛍光顕微鏡による細胞の形態観察結果を示す。茶褐色がアクチン、青色が細胞核を示す。

蛍光観察の結果、Ni イオン 0.5ppm 以上で位相差観察の結果

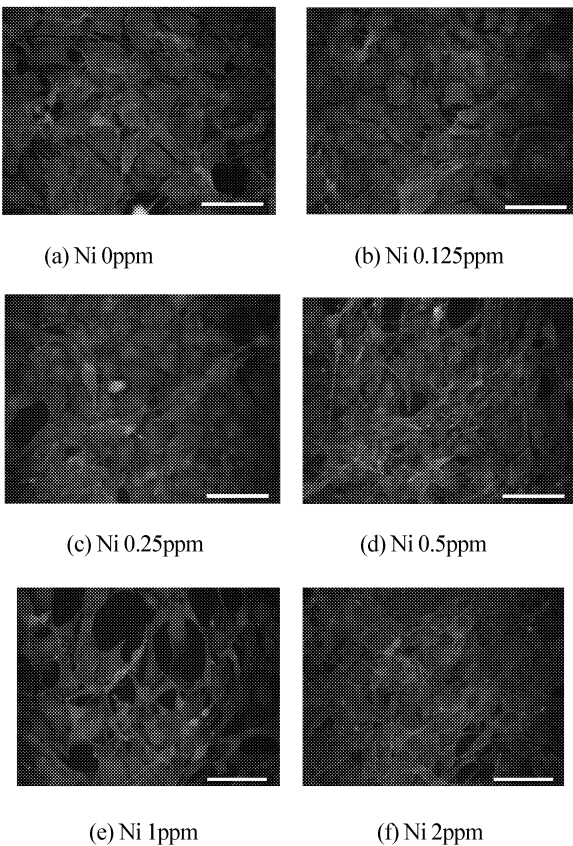


Fig.3 各条件で 72h 培養した細胞の蛍光観察(— : 100 μ m)

と同様アクチンフィラメントの形状が線形化していることが確認されたがその程度は位相差観察時の結果と同様であった。アクチンフィラメントはタンパク質の集合体であるため異物である Ni により変性が起こった可能性が考えられるが、その影響は低いと考えられる。以上の結果から、蛍光観察においても 0.5ppm 以上では Ni イオンにより細胞の形態に影響を及ぼす可能性が懸念されるが、その影響は低いことが示唆された。

3.3 形態の比較による TiO₂ 薄膜付与 Ni-Ti 合金の評価

Fig.4 に TiO₂ 薄膜付与 Ni-Ti 合金上で 72h 培養した細胞の観察結果を示す。また、Fig.5 に Ni イオン 0ppm, 0.5ppm の条件で 72h 培養した細胞の蛍光観察結果を示す。

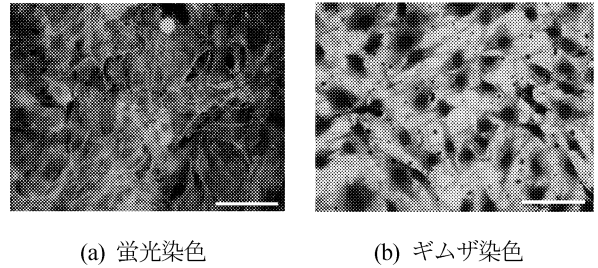


Fig.4 供試材料上の細胞の形態(— : 100 μ m)

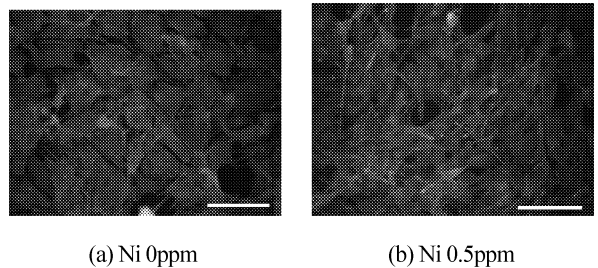


Fig.5 各条件における細胞の形態(— : 100 μ m)

TiO₂ 薄膜付与 Ni-Ti 合金上で 72h 培養後の細胞の蛍光観察結果およびギムザ染色後の観察結果を 0ppm の観察結果、形態の変化が確認された 0.5ppm の観察結果と比較したところ、いずれの結果でも Ni イオン 0.5ppm に見られたような細胞の形態の線形化は確認されず、形態への影響は確認されなかった。以上の結果から、細胞の存在下では薄膜の表面層から多少の Ni イオンの溶出も懸念されるが、細胞への影響は確認されなかった。

4. 結言

1. マウス由来骨芽細胞様細胞 MC3T3-E1 を用いた Ni イオンの細胞毒性評価を行った結果、2ppm までの濃度では、72h 培養後の接着細胞数の変化は認められなかった。また、蛍光観察においても 0.5ppm 未満では変化が無く、0.5ppm 以上では Ni イオンにより細胞の形態に影響を及ぼす可能性が認められたが、その影響は大きくないことが示唆された。
2. TiO₂ 薄膜付与 Ni-Ti 合金上で 72h 培養後の細胞の蛍光観察結果およびギムザ染色後の観察結果、接着細胞数ならびに細胞の形態の線形化は確認されず、形態への影響は確認されなかった。したがって、感度の高い評価によっても TiO₂ 薄膜付与 Ni-Ti 合金の優れた生体適合性が確認された。

参考文献

- 1) 角田方衛, 筏義人, 立石哲也, 金属系バイオマテリアルの基礎と応用, アイピーシー, 平成 12 年.
- 2) 内山肇, 木村雄二, 先進機能材料・生体材料としての形状記憶合金の新しい用途開発, 形状記憶合金シンポジウム, pp.49-50, 2008, 形状記憶合金協会.

研究発表等

- 1) Yuji Kimura, Improvement of Biocompatibility of Medical Ni-Ti Alloys Through Forming TiO₂ Thin Film, Proc. of International Conference on Structural Integrity and Failure, SIF 2010, July 4th - 7th 2010.

2.2.3. バイオメトリックス環境センサの研究 Study on biometrics sensor for environment

疋田 光孝、 竹内 正男 (玉川大学工学部知能情報システム学科科)

Mitsutaka HIKITA, Masao TAKEUCHI (Dept. of Intel. & Info. System., Faculty of Eng., Tamagawa University)

Keywords: Network robot, Care robot, Health-care environment, Sensor technology, Smell sensor, Surface acoustic wave (SAW) sensor

1. 緒言

嗅覚に関する研究が盛んに成っている。本研究では、将来の介護ロボット等を想定し⁽¹⁾、それに採用する要介護者の住環境の中でも特に「におい」をセンシングする装置の研究を進めている。「病室や部屋のにおい」、「病人、老人の体臭や口臭」などに関する情報を介護ロボットや病室に設置されたセンサネットワークが常時センシングすることで、環境の維持、病状の変化等に対処するものである。従来の装置は大型である点、更に電力消費が大きいなど、ロボットや極端な低消費電力化が要求されるセンサネットワーク等には採用出来ない。

非常に微量な空気中のガス分子等をセンシング出来る新しい弾性表面波(SAW: Surface Acoustic Wave)センサを提案し、特許出願した⁽²⁾。先行する EST (Electronic Sensor Technology)社は温度特性の良い水晶基板の弾性表面波(SAW)を用い、厳密な温度制御の下で使用する⁽³⁾。我々の提案は自己温度補償機能を有する。水晶基盤以外の圧電効果の強い任意の圧電基板が採用出来、かつ温度制御も不要で使用温度に関する制限はない。BERC プロセス装置による設計/試作の結果、上記温度に関する自己保証機能を確認した。しかし、弾性表面波デバイスの本質的な欠点である弾性表面波の励振、伝搬に伴う損失が大きく、ロボットやセンサネットワーク等に採用するには損失特性を抜本的に改善する必要があることが分かった。本研究の後半は、上記の自己温度補償機能を保ちながら、損失特性を大幅に改善する更に高度な機能の実現を目指すものである。

2. 嗅覚センサ用弾性表面波遅延線の設計/試作結果

Fig. 1 に本研究の前半で提案し、検討して来た自己温度補償機能を持つ嗅覚センサの構造を示す。SAW は、圧電基板の表面のみに沿って伝搬する機械的な振動波であり、1GHz 程度の高周波ではその振動周期(波長)は約 $4\mu\text{m}$ と極めて小さい。図に示すように、特定の嗅覚分子に特異的に反応する感応薄膜(入出力トランスデューサ間部分)を形成すると、吸着成分の質量負荷効果により、SAW の伝搬速度が僅かに変化する。これは出力信号の位相変化となって表れる。この変化は、外気と遮断した基準の直交位相を生成する遅延線(D-2、D-3)の出力信号の位相と比較することで求まる。また、D-1-1~D-1-n は検知すべき嗅覚成分数に対応する。

Fig. 2 に出力の位相関係を示す(左図は基本周波数、右図は3倍周波数)。温度に対しては、基準位相とセンサ出力位相の間で相対位相関係は不変である。基準位相に対する各出力の射影成分を求めることで、センシング物質のみを検知することが出来る⁽²⁾。

Fig. 3(a)に試作遅延線の周波数特性を示す。基本波と3倍波がほぼ同程度励振可能なトランスデューサを開発

した。Fig. (b)に各波の温度に対する位相の変化を示す。温度に対してD-2、D-3の位相は常に 90° 分離しており、上記の予想を裏付ける結果が得られた。

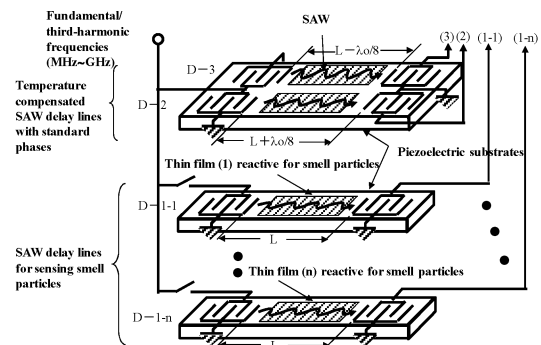


Fig. 1 Basic structure of previously proposed SAW smell sensor used in care environment

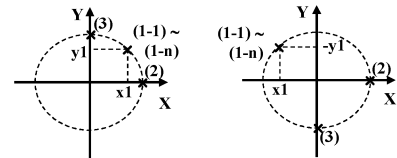


Fig. 2 Expected phase constellations for outputs (2), (3), and (1-1) ~ (1-n). Left: fundamental frequency, Right: third-harmonic frequency.

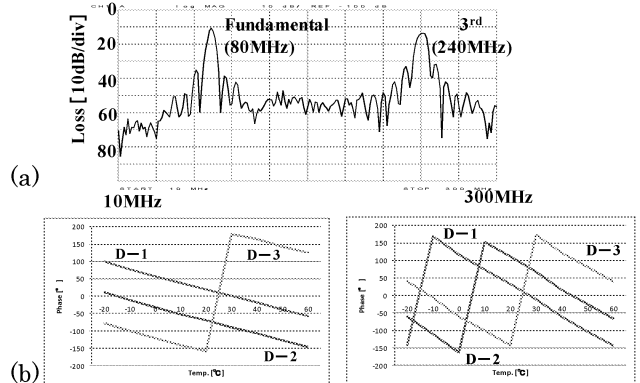


Fig. 3 Experimental results for SAW sensor delay line. (a) Frequency characteristics. (b) Temperature characteristics for output phases. Left: fundamental frequency. Right: third-harmonic frequency.

3. 課題と新構造の提案

Fig.3(a)の結果から、Fig.1の構造はSAWの励振伝搬に伴う損失が10数dBあることが分かる(エネルギーの伝達効率は5%程度)。これはロボットやセンサネットワーク等に採用するには、特にパワー消費の要求からは重要な課題である。主な原因は、トランスデューサから左右へ励振されるSAWの内、一方のみし

か利用していないことに起因する。本研究の後半は、上記の自己温度補償機能は維持しかつ損失がロボットやセンサネットワーク等に採用可能な2~3dBを実現することである（エネルギーの伝達効率は50%以上）。

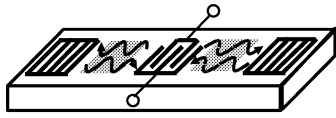


Fig. 4 SAW resonator with reflectors at both sides of transducer.

Fig. 4にトランスデューサの両側にグレーティングで構成されたSAWの反射器を導入したSAW共振器を示す。本構成は、左右に励振されるSAWを反射器で折り返すため、原理的にエネルギー損失は無い。以下、共振器をベースとし、等価的にFig. 1の遅延線と同じ機能を低損失に実現することを考察する。

Fig. 5(a), (b)に1組のSAW共振器を示す。(a)はトランスデューサと反射器の間隔がPでそのインピーダンスをZ1、(b)は間隔が $P \pm \lambda/4$ でそのインピーダンスをZ2とする。Fig. 6に横軸に周波数を取り、反射器の反射特性と予想されるZ1、Z2の虚数部を示す（共振周波数の近傍では、インピーダンスはほぼ純虚数となる）。Z1、Z2は、周波数の変化と共にインピーダンスがほぼゼロと成る共振現象とほぼ無限大となる反共振現象を交互に繰り返す。ここで、Z1とZ2は互いにトランスデューサと反射器の間隔が $\lambda/4$ だけ異なっている。この違いにより、Fig. 6に示すようにZ1の共振周波数（インピーダンスがほぼゼロ）では、Z2は反共振周波数（インピーダンスがほぼ無限大）となり、Z1の反共振周波数ではZ2の共振周波数となることが予想される。また、この関係は交互に繰り返される。

以上の関係に着目し低損失SAW遅延線を実現する手段としてFig. 7に示すラチス型の回路構成を提案した。本構成の遅延線は、Z1の共振周波数近傍ではインピーダンスはほぼゼロ、Z2は無敵大のため信号は上下のZ1を通過して入力から出力へ伝わる。逆にZ2の共振周波数近傍ではインピーダンスはほぼゼロ、Z1は無敵大のため信号はZ2を介して入力から出力へ伝わる。これを交互に繰り返すため、Fig. 6に示す反射器の反射係数が1に近い（すなわち信号がほぼ完全に反射する）周波数帯域では、信号のエネルギーは外部へ漏れることなく入力側から出力側へ伝搬することが予想される（すなわち、極めて低損失な遅延線が実現出来る可能性がある）。

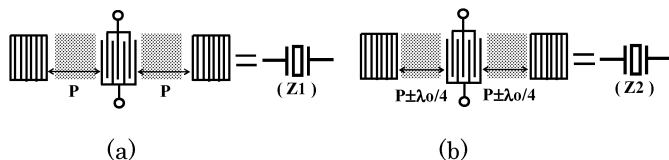


Fig. 5 SAW resonators. (a) Z1 with space of P. (b) Z2 with space of $P \pm \lambda/4$.

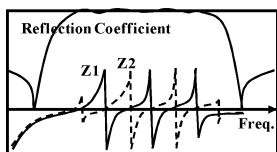


Fig. 6 Frequency characteristics for reflection coefficient, $\text{Im}(Z1)$ and $\text{Im}(Z2)$.

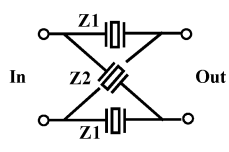


Fig. 7 Proposed Lattice-circuit low-loss delay line.

4. シミュレーションによる可能性確認

上記提案の遅延線構造に対して周波数特性をシミュレーションにより求めた。圧電結晶基板は、Fig. 3の実験と同様128°Y-X LiNbO3を仮定した。周波数はFig. 3の実験では、基本周波数は80MHz、3倍周波数は240MHzで行ったが、センサとしての感度は周波数に比例して増加するため、後半の設計/試作は400MHzを想定した（2011年1月に入荷のレーザー直接描画装置を使用予定）。

シミュレーション結果をFig. 8に示す。当初予想した通り、反射器の反射周波数帯域では、伝搬に伴う入出力間の損失は1dB以下の特性が得られた。本遅延線は、Fig. 1のセンサの一つの遅延線、例えばD-2またはD-3等に相当する。同様に他の遅延線、例えばD-1-1~D-1-nを形成することにより、原理的にFig. 1と同様の機能でかつ伝搬に伴う損失は極めて小さいセンサが実現可能と考えられる。

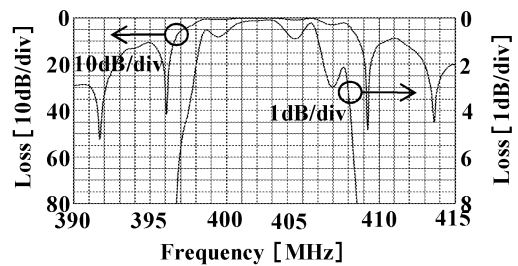


Fig. 8 Simulation results for Fig. 7's new delay line.

5. 結論

介護環境を想定し、ロボットやセンサネットワーク等に導入するSAWを用いた「においセンサ」の研究を進めている。研究の前半で提案したセンサは自己温度補償機能を有することを実験評価により確認した。後半は、自己温度補償機能を維持しつつ損失特性の抜本的な改善を目指す。新たに、SAW共振器をラチス回路構成に組み込む低損失遅延線を提案し、シミュレーションにより実現の可能性を得た。2.2のグループ内の相互協力を図り、高感度な特定分子感応薄膜等の検討も開始する(4)。

参考文献

- 1) 萩田紀博：“ネットワークロボット概論、”電子情報通信学会誌 Vol. 91, no. 5, pp.346-352, 2008.
- 2) 疋田、“弾性表面波ガス・センサ装置”特願2007-280020
- 3) Electronic Sensor Technology HP: “Chemical sensor for the 21st century”, (<http://www.estcal.com/>)
- 4) 平成17年度次世代計測・分析システムに必要となるシステム化技術に関する調査研究報告書、日本機械工業連合会・日本分析機器工業会

論文投稿・研究発表等

- 1) Y. Kato, J. Hosaka, M. Hikita, in 2010 IEEE Ultrasonics Symposium Proceedings. (San Diego, Oct. 2010)
- 2) Y. Kato, J. Hosaka, T. Shimizu, M. Hikita, in Proceedings of 2010 Symposium on Ultrasonics Electronics. vol. 31, pp. 347-348. (Tokyo, Dec. 2010)
- 3) M. Hikita, Y. Kato, J. Hosaka, in Proceedings of 2010 Asia-Pacific Microwave Conference. pp. 2180-2183. (Yokohama, Dec. 2010)

2.3. 医療支援ロボットの開発 Development of Medical Assistance Robot

2.3.1. 歯科患者ロボット

高信 英明, 高西 淳夫 (早稲田大学), 榎 宏太郎 (昭和大学歯学部)

2.3.2 6軸ロボットシステムを用いた関節再建術の評価

藤江 裕道, 大坪 英則 (札幌医大医学部)

坂根 正孝 (筑波大医学部), 史野根生 (大阪府立大総合リハビリテーション学部)

2.3.3 生体信号処理に基づく医療装置の開発と応用

石井 千春 (法政大学), 橋本洋志 (産業技術大学院大学創造技術専攻)

2.3 では医療支援を目的としたロボット開発について研究している。具体的には、歯科患者ロボット、6軸ロボットを用いた関節再建術の評価、筋電を用いた指機構制御である。

2.3.1 歯科患者ロボット

倫理上の観点から歯学教育における臨床実習は困難であるため、実習用ファントムとよばれる簡単な構造の人工頭部模型を用いて治療の実技実習を行っている。しかし、模型は実際の患者治療とはかなり差異があるため、正確な実技訓練は難しい。そこで本研究では、開発中のヒューマノイドロボットに実際の患者動作や機能を再現し、各種センサを取り付けた。これにより、治療行為に対して患者反応を再現し、より実習者が実際の患者を治療しているような臨場感を持たせることを目的とする。類似した研究として、日本歯科大学の患者ロボットがある。これは口腔内に各種センサが組み込まれ、誤操作により、顔をしかめる、声をあげる、嘔吐反応を見せるなどの「不快感」を示す。本ロボットは全身モデルであり、全身運動の拡充を行った。

2.3.2 6軸ロボットシステムを用いた関節再建術の評価

前十字靭帯(ACL: Anterior Cruciate Ligament)は膝関節の安定性を保つためのもっとも重要な靭帯である。ACLは事故やスポーツ等で損傷してしまう頻度が高いが、その修復にはACL再建術を行うのが一般的である。しかし、現在のACL再建術には様々な方法があり、確立した術式は存在しない。この要因の一つとしてACLの機能がいまだ完全に解明されていないことが挙げられる。そこで本研究ではACLの機能解析および再建術の評価のために、新たなロボットシステムを開発した。また、6軸力センサの出力をもとにしたACL張力作用位置解析を行った。さらに、再建術における骨孔作成時のランドマークとして用いられる Resident's Ridge²の形成の理由をバイオメカニクスの観点から解明することを試みた。その結果、開発した新型ロボットシステムは、従来のシステムよりも高精度の試験が可能であることが分かった。ACL張力作用位置解析では、高精度の作用位置解析が行なえるようになり、屈曲位ではACL内の前内側側に張力がかかることが分かった。そして、Resident's Ridgeの形成が、圧縮ひずみ

を起因とした骨のリモデリング則により説明可能であることが分かった。

2.3.3 生体信号処理に基づく医療装置の開発と応用

本研究では、以下の3テーマについて研究を行った。

- (1) 多自由度ロボット鉗子の全方位バイラテラル制御の設計
- (2) 低コスト化を目指した筋電義手の開発と制御
- (3) 表面筋電位を用いた手術手技における特異状態の判別

(1)では、これまでに開発した新しい屈曲機構を搭載した全方位屈曲型多自由度ロボット鉗子(DSD鉗子)に対して、安全性のために術者の操作量に対して鉗子の動きを縮小・拡大できるモーションスケールリングを有し、手術支援ロボットの遠隔操作における時変の通信遅延に対して制御系の安定性を保証するバイラテラル制御系を設計し、遠隔操作システムに対して制御実験を行い、提案したバイラテラル制御則の有効性を確認することができた。

(2)では、拇指と示指の2指を有するワイヤ駆動型の筋電義手用ロボットハンドを製作し、測定部位3箇所において計測された筋電位信号により、MP関節における拇指屈曲、拇指伸展、示指屈曲、示指伸展の4つの動作の識別するニューラルネットワークを構成し、指動作の識別を行った。各動作の平均の識別率は60%を上回る結果を得ることができ、実際にオンラインで筋電義手用ハンドの動作を制御することに成功した。

(3)では、手術針を組織へ刺入する手技(刺入手技)を対象とし、操作者の前腕部3箇所の表面筋電位、持針器の4カ所に貼り付けられたひずみゲージ、力覚デバイス PHANTOM Omniから測定されたデータから特徴量を抽出し、操作の分類、特異状態の判別を行った。通常状態と特異状態それぞれにおいて刺入手技を繰り返して行い、自己組織化マップを用いて手術手技における通常状態と特異状態の判別を試みた。その結果、刺入手技操作に対して通常状態と特異状態ともに約8割の確率で判別することができた。なお、本小テーマにおける(1)-(3)のテーマそれぞれに対して目標としていた成果が得られたので、本年度で本小テーマは終了とする。

2.3.1. 歯科患者ロボット

Dental Patient Robot

高信 英明, 高西 淳夫 (早稲田大学), 槇 宏太郎 (昭和大学歯学部)

Hideaki TAKANOBU, Atsuo TAKANISHI(Waseda Univ.), Kotaro MAKI(Showa Univ.)

Keywords : Patient robot, Odontology department, Education, Air pressure, Medical treatment welfare, Practice

1. 緒言

現在, 倫理上の観点から歯学教育における臨床実習が困難であるため, 実習用ファントムとよばれる簡単な構造の人工頭部模型を用いて治療の実技実習を行っている。しかし, 模型は実際の患者治療とはかなり差異があるため, 正確な実技訓練は難しい。また, 医療分野の実習治療においては問診のためのシミュレータ開発が主であり, ロボット開発の研究はなされた例が少ない¹⁾。そこで本研究では, 開発中のロボットに実際の患者動作や機能を再現し, 各種センサを取り付けた。これにより, 治療行為に対して患者反応を再現し, より実習者が実際の患者を治療しているような臨場感を持たせることを目的とする。類似した研究として, 日本歯科大学の患者ロボット²⁾がある。これは口腔内に各種センサが組み込まれ, 誤操作により, 顔をしかめる, 声をあげる, 嘔吐反応を見せるなどの「不快感」を示す。本ロボットでは, 全身モデルであることを最大限に活かすため, 口腔内の機能以外に患者が行う身体の危険動作を多く取り込むことで, 実習において危険認識を学習することが可能である。

2. 患者ロボット

患者ロボット(Fig. 1(a))は身長 1700[mm]の全身モデルであり, 空気圧を電磁弁や電空レギュレータで制御することで駆動する。実際の治療時にはシリコン素材の皮膚を被せ, 洋服を着せた状態で行う。治療実習を直接行う歯列モデルは実際に歯を削ることができ簡単に取り外しが可能である。これにより, 研修医師や歯学部生の歯の切削方法を監督医師が評価することが可能である。また, 口腔内は防水対策を行っており歯を切削する際に必要不可欠な水の利用も可能である。治療時の臨場感を出すために, まばたきや呼吸の動きも再現している。患者ロボットの自由度を

Fig. 1(c)に, 動作と開発年度一覧を Table 1 に示す。

Table 1 Robot function

Robot function	Development year
Blink	2005
Opening, closing of mouth	
Neck motion	
Raising, lowering of hand	
Cough, Sneeze	
Eyeball Camera	
Vomiting	
Conversation	2006
Saliva, Hemorrhage	
Motion of tongue	2007
Brushed off motion	2008
Pulse	2008

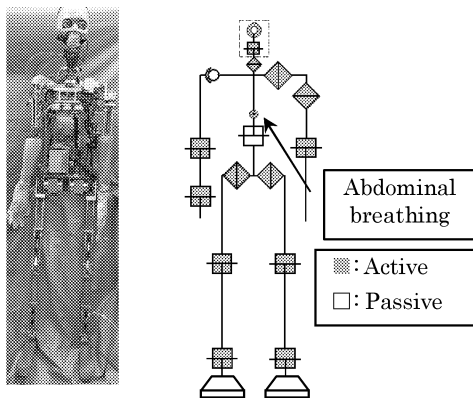
3. 全身動作

3.1. 不意の動作

歯科医が治療時に考慮すべきことの一つに患者が起こす動作がある。例として咳やくしゃみ, 苦痛による治療妨害動作である。これを本研究では不意の動作と呼ぶ。この動作は治療中に突然起こるため, 実習者が対応困難な動作である。この不意の動作への対応は歯科医に求められるスキルであるが, これを実際の治療で覚えるには長い経験を要する。そこで患者ロボットに不意の動作を取り入れて実習をすることで, 実習生が効果的な対応を学習することが可能である。

従来研究では, 本患者ロボットの開発は不意の動作に着目し, 再現可能な動作は上半身に集中していた(Table. 1)。しかし, 実際の患者には下半身における不意の動作も現れ, それに伴って前兆動作が現れることがある。この動作は, 全身で行う動作であり, 患者が発する痛み, 不安の兆候である。小児患者を例にとると, 膝を曲げる行為が顕著である。歯科医師は患者の容態に常に気を配る必要があるため, 患者ロボットに前兆動作を再現させることで, 効果的な治療実習が期待できる。

3.2. 脚部製作と全身動作の再現



(a) Mechanism (b) DOF of robot

Fig. 1 Patient Robot

本研究では、下半身の動作を再現するために空気圧アクチュエータを搭載した脚部を製作した。アクチュエータは各関節に搭載し、股関節は最も負荷がかかるため、最大トルク $9.0[\text{Nm}]$ のロータリアクチュエータを採用した。また、脚部機構は脚先端に近づくにつれ、動作時に関節部にかかる負荷は軽減されるため、膝部は最大推力 $140.7[\text{N}]$ 、足関節部は最大推力 $49.1[\text{N}]$ のシリンダを採用した。脚の自由度は人間の脚部を規範とし、バタ足動作を再現する上で最低限必要な自由度を設定した。脚部全体にかかる負荷を低減するために、フレーム材料はアルミ材、外装は軟質ウレタンフォームを使用した。製作した脚部を患者ロボットに装着し、実習中に使用する状態を Fig.1 に示す。また、角度検知のためにポテンシオメータを股関節に取り付けた。角度検知はアクチュエータ動作部に歯車を取り付け、歯車の回転角をペーンに取り付けたポテンシオメータで検知している。

4. ロボットのハードウェアと実験

開発した脚部が実習に使用できるかを評価するためには、実際に、歯科医師が Fig. 2 に示すインターフェイスを操作し、動作を見て評価する必要がある。また様々な人間が操作することを前提として考え、評価を依頼するユーザは、歯科医師だけでなく、本研究室の研究員も対象とした。これは、多視点から動作を評価して、様々な意見を得るためである。実習では以下に示す3機能を使用し、実習後に、ユーザに対してアンケートを実施した。実習風景を Fig. 3 に示す。

- ・脚上げ動作
- ・バタ足動作
- ・痛み感知動作

アンケート結果を Table 2 に示す。質問番号3の痛み感知動作に関する質問が4.4点で最高点となり、質問番号2のバタ足動作の再現性についての質問が3.1点で最低点であった。これは、バタ足動作の速度が遅かったことが原因であると考えられる。

痛み機能に関する質問は高評価であった。これは実習生がその動作に驚くためである。一方、前兆動作とするには動作が大きすぎるため、実習生がぎりぎり確認できる程度の細かい動作を再現する必要もあると考えられる。例とし

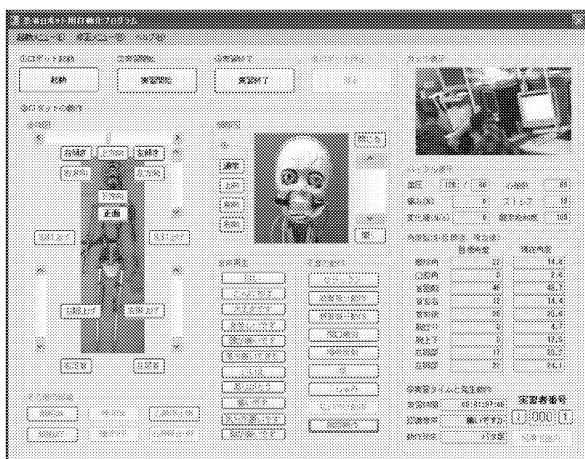


Fig. 2 Control interface

て、精神が緊迫している際のこわばりなどがこれにあたる。

5. 結言

以下の3点を実現した。

- ・脚部の製作およびバタ足動作の再現
- ・全身動作を効果的に使用方法の検討および実装
- ・実用実験を行い、動作の評価

参考文献

- 1) 後藤多郎他：“問診練習用アナログロボット”，日本バーチャルリアリティ学会第8回大会，2003.
- 2) 株式会社ココロ，<http://www.kokoro-dreams.co.jp/>

論文投稿・研究発表等

- 1) Hideaki Takanobu et al.: Dental Patient Robot-Whole Body Motion and Automation of Practice-, International Conference on Advanced Mechatronics 2010(ICAM2010), 2010.
- 2) 高信英明 他：ヒューマノイドロボットを応用した歯科偶発症シミュレーション教育，日本シミュレーション外科学会誌，Vol. 18, No. 1, pp. 1-10, 2010

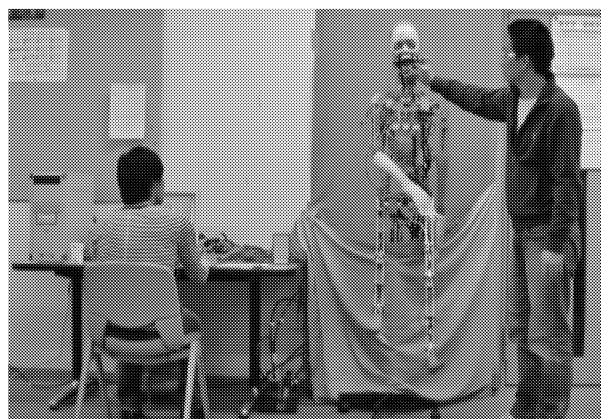


Fig. 3 Experiment scenery

Table 2 Result of the questionnaire

質問番号	質問内容	平均点 (5点満点)
1	脚上げ動作の再現性	3.9
2	バタ足動作の再現性	3.1
3	痛み感知動作の再現性	4.4

2.3.2.6 軸ロボットシステムを用いた関節再建術の評価 Assessment of Joint Reconstruction Surgery using a 6-axis Robot System

藤江 裕道, 大坪 英則 (札幌医大医学部)

坂根 正孝 (筑波大医学部), 史野根生 (大阪府立大総合リハビリテーション学部)

Hikomichi FUJIE, Hidenori OTSUBO (Sapporo Medical Univ.)

Masataka SAKANE (Tsukuba Univ. Medical School), and Konsei SHINO (Osaka Prefecture Univ.)

Keywords : 6-Axis Robot System, Joint Reconstruction, Anterior Cruciate Ligament (ACL)
Point of Application of Ligament Force, Resident's Ridge

1. はじめに

前十字靭帯(ACL: Anterior Cruciate Ligament)は膝関節の安定性を保つ機能を有している。ACLは事故やスポーツ等で損傷してしまう頻度が高いが、その修復にはACL再建術を行うのが一般的である。しかし、現在のACL再建術には様々な方法があり、確立した術式は存在しない。この要因の一つとしてACLの機能がいまだ完全に解明されていないことが挙げられる。そこで本研究ではACLの機能解析および再建術の評価のために、新たなロボットシステムを開発した。また、6軸力センサの出力をもとにしたACL張力作用位置解析を行った。さらに、再建術における骨孔作成時のランドマークとして用いられる Resident's Ridge²⁾の形成の理由をバイオメカニクスの観点から解明することを試みた。

2. 新型関節力学試験ロボットシステムの開発

本研究で開発した新関節力学試験ロボットシステムをFig.1に示す。基本的な機構は旧システム¹⁾と同様とした。装置全体を箱型構造とすることで、剛性の向上をはかった。また、上部機構を支持するためにエアシリンダを取り付けた。制御PCとマンピュレータとの通信にはMechatrolink-II(安川電機)を用いた。これにより、旧システムよりも高速な制御が可能となった。

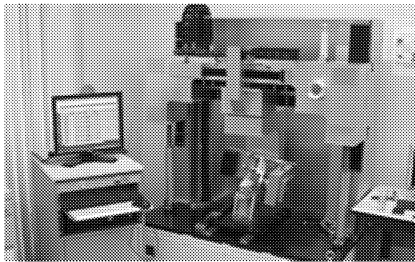


Fig.1 新関節力学試験ロボットシステム

計測対象である膝関節の質量、剛性、粘性を[M], [S], [C], ロボットの速度を v , 微小変位を Δx , 負荷を F とすれば、膝関節の運動方程式は(1)式のようになる。

$$[M] \frac{dv}{dt} + [K]\Delta x + [C]v = F \quad (1)$$

ここで、 v の変化を微小として(1)式を離散値的に表現すると、

$$v = [M]^{-1} \int (F - [K]\Delta x - [C]v) dt \quad (2)$$

となる。(2)式に従って力制御/変位制御のプログラムを作成し、計測、計算、ロボット運動の一サイクルを5msで繰り返すように設定して、制御コンピュータに実装した。

旧ロボットシステム¹⁾と比較するため、プタ膝関節を用いた実験を行った。関節に対して5 deg/sで0°~90°まで他動的屈曲伸展試験を行った。この時、他の5自由度の力/モーメントが0になるよう力制御した。試験中の近位-遠位自由度の制御結果を

Fig.2に示す。制御開始時に、旧システムでは約6.5Nの荷重が発生したのに対し、新システムでは約1.5Nと小さな荷重だった。また、試験中に発生する偏差が、新システムでは旧システムと比べて減少することが分かった。

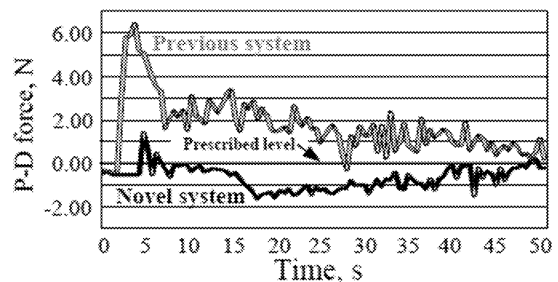


Fig.2 近位-遠位自由度荷重(関節圧縮力)の変化

2. ACL張力作用位置解析

6軸力センサの出力を元に荷重作用位置を同定する手法³⁾を応用し、ACL張力作用位置解析を行った。6軸力センサは、通常センサ原点付近で最適化されている。しかし、関節をセンサに取り付けると、センサ原点からACL付着部が離れるため、解析誤差が増大するという問題があった。そこで、センサ上の任意位置で正確な測定が行えるように、新たなキャリブレーション方法を開発した。

センサ座標系に沿った3力・3モーメントを列ベクトル F で表す。センサに固定された剛体に荷重 F_{in} が負荷された時の荷重出力を F_{out} とすると、その関係は、6行6列の変換行列 A を用いて(3)式で表される。ただし、 F_{in} と F_{out} は線形関係にあるとする。

$$F_{out} = AF_{in} = \begin{pmatrix} a_{11} & \dots & a_{16} \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ a_{61} & \dots & a_{66} \end{pmatrix} F_{in} \quad \dots(3)$$

Fig.3に示すようにセンサに剛体を取り付け、剛体上の任意の点 $P_1(x, y, z)$ にセンサ座標系のZ軸と並行な荷重 f を負荷する。この時の力/モーメント F_{1in} は(0, 0, f , $-yf$, xf , 0)^Tとなる。上付きの^Tは転置を表す。次に、

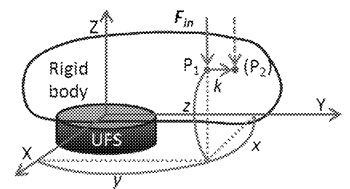


Fig.3 キャリブレーション概要図

荷重をY軸と並行に距離 k だけ移動した点 $P_2(x, y+k, z)$ に負荷する。この時の力/モーメント F_{2in} は(0, 0, f , $-(y+k)f$, xf , 0)^Tとなる。ここで、 F_{1in} から F_{2in} を引くと(0, 0, 0, kf , 0, 0)となり、変換係数

$$F_{1out} - F_{2out} = A(F_{1in} - F_{2in}) = \begin{pmatrix} a_{11} & \dots & a_{16} \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ a_{61} & \dots & a_{66} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} 0 \\ 0 \\ 0 \\ kf \\ 0 \\ 0 \end{pmatrix} = k \quad (4)$$

k の値を変化させて、それぞれの k に対する(2)と同様の関係を求め、 kf と $F_{1out} - F_{2out}$ の関係において近似直線を最小二乗法で求めた。その傾きは(2)式の列ベクトルであり、変換行列 A の 4 列目に相当する。同様の手法を X 軸方向と Y 軸方向にそれぞれ荷重を負荷して行い、変換行列 A の 5, 6 列目が求められる。

次いで、変換行列 A の 3 列目を求めるために、再度 P_1 に荷重 f を負荷する。この時の力/モーメント F_{in} は式(3)で示される。

$$F_{1out} = AF_{1in} = \begin{pmatrix} a_{11} & \dots & a_{16} \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ a_{61} & \dots & a_{66} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} 0 \\ 0 \\ -f \\ -yf \\ xf \\ 0 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} -a_{13} - a_{14}y + a_{15}x \\ -a_{23} - a_{24}y + a_{25}x \\ -a_{33} - a_{34}y + a_{35}x \\ -a_{43} - a_{44}y + a_{45}x \\ -a_{53} - a_{54}y + a_{55}x \\ -a_{63} - a_{64}y + a_{65}x \end{pmatrix} f \dots(3)$$

(3)式の中で a_{i4} と a_{i5} はすでに求められているので、荷重 F_{in} と変換行列 A の 3 列目の関係が得られる。ここで、荷重 F_{in} を変化させて、それぞれの F_{in} と F_{1out} の関係を求め、最小二乗法で近似し、その傾きを変換行列 A の 3 列目として求める。同様の手法を、荷重を X 軸方向と Y 軸方向に負荷して行い、 A の 1, 2 列目の値を求める。

求めた変換行列 A の逆行列 A^{-1} を求め、(4)式より入力された力/モーメントを求めることができる。

$$F_{in} = A^{-1}F_{out} \dots(4)$$

開発した方法の評価を行った。センサに剛体を固定して荷重を負荷し、荷重作用点を求めた。その結果、原点付近で最適化されている場合は誤差が 66 mm 程度であったのに対し、新手法を適用すると誤差が 1 mm 以下に減少した。

次いで、ブタ膝関節を用いて ACL 張力作用位置解析を行った。関節力学試験ロボットシステムを用いて膝関節を 90°屈曲位に固定し、前方引出試験を行い ACL に張力を与えた。その時の 6 軸力センサの出力をもとに張力作用位置解析を行った。その結果、張力作用線が ACL の配向方向と同方向に算出された (Fig.4)。また、張力作用位置が前内 (AM) 束付着部近傍であることが分かった。

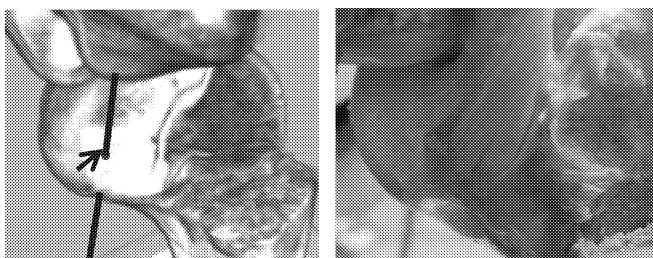


Fig.4 張力作用位置解析結果

3. Resident's Ridge 形成の生体力学的解析

ACL 付着部近傍の皮質骨を 3 次元で表現するため、Abaqus6.7 で、500×500×500 μm の 3 次元ソリッド(連続体)voxel 要素 (C3D8R)を幅 40 mm, 厚さ 5 mm, 奥行き 30 mm に配置した。解剖学的結果⁴⁾から、付着部面積を 124 mm², 付着部形状を楕円形状とし、楕円内の要素表面に靭帯が付着して引張荷重が作用するものとした。骨は、等方性の弾性体と仮定し、ヤング率 $E = 11$ GPa, ポアソン比 = 0.3 とした。

解析を伸展位状態、屈曲位状態の順で行った。まず、伸展位状態での解析条件⁵⁻⁷⁾(Table1)を定め、解析を行った。解析結果から算出された圧縮ひずみの値が $0.002 < \epsilon < 0.00082$ ⁸⁾の表面要素には、表面要素を付加した。解析と要素付加を 3 回行った。その後、伸展位で得られた骨形態に対し、屈曲位状態での解析を解析条件 (Table1) に従って行った。

解析で得られた骨形状 (Fig.5 左と中央)が、ACL 付着部近傍の骨形状の解剖学的特徴^{9,10)} (同右) とよく一致していることが

わかる。このことから、ACL 大腿骨付着部近傍に存在する Resident's ridge と Bifurcation ridge が応力・ひずみに起因する骨のリモデリングにより形成されることが示唆される。

Table1 解析条件⁵⁻⁷⁾

	引張荷重 (N)	走行方向と角度 (°)	力の割合 (AM:PL)
伸展位	630 ⁵⁾	前遠方, 7	50:50 ⁶⁾
屈曲位	630 ⁵⁾	後遠方, 30	84:16 ⁷⁾

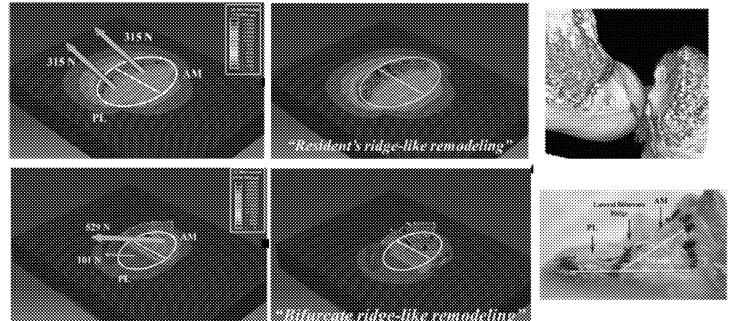


Fig.5 伸展位 (上), 屈曲位 (下) の解析結果と形態観察結果^{9,10)}

4. まとめ

新型ロボットシステムを開発し、従来のシステムよりも高精度の試験が可能となった。ACL 張力作用位置解析の結果、屈曲位では AM 束近傍に張力がかかることが分かった。また、有限要素解析を用いて、Resident's Ridge の形成を力学的要因から説明した。

文 献

- 1) Fujie H, et al., ASME J Biomech Eng 129, 2004,
- 2) Shino K, et al., Operative Techniques in Orthop 15, 2005,
- 3) Fujie H, et al., ASME J Biomech Eng 117, 1995,
- 4) Hutchinson MR, Ash SA, Arthroscopy 19, 2003,
- 5) Chen EH, Black J, JBMR 14, 1980,
- 6) Sakane M, et al., JOR 15, 1997,
- 7) Fujie H, et al., ORS 2010,
- 8) Frost HM, CORR 175, 1983,
- 9) Parnell ML, et al., AJSM 28, 2008,
- 10) <http://blog.livedoor.jp/soshi-sports/archives/348023.html>

論文投稿・研究発表等

- 1) Mutsuzaki H, Sakane M, Fujie H, et al., Effect of calcium phosphate-hybridized tendon graft on biomechanical behavior in ACL reconstruction in a goat model: Novel technique for improving tendon-bone healing, AJSM, 2011 (online publish)
- 2) 藤江, ロボットシステムを用いた関節バイオメカニクスの研究, 日本臨床バイオメカニクス学会抄録, 119, 2010
- 3) 八木, 史野, 藤江, 前十字靭帯張力作用位置の解析, 日本臨床バイオメカニクス学会抄録, 108, 2010
- 4) 八木, 藤江, 原, ロボットシステムを用いたイヌ脛骨プラトー水平化骨切り術の評価, 日本臨床バイオメカニクス学会抄録, 77, 2010
- 5) Fujie H, Otsubo H, Shino K, Biomechanical assessment of the anatomical rectangular tunnel ACL reconstruction using a BTB graft, Proc. of the 2011 Annual Meeting of the ORS, 2011
- 6) Fujie H, Yagi H, Matsuda S, A novel robotic system capable of simulating physiological knee motions using a high-speed displacement/force control, Proc. of the ISLT X, 45, 2011
- 7) Fujie H, Resident's ridge formation is explained by stress/strain-induced bone remodeling, Proc. of the ISLT X, 63, 2011
- 8) Yagi H, Fujie H, High-accurate analysis of the point of application of ligament force: A novel calibration method of the universal force-moment sensor Proc. of the ISLT X, 78, 2011

2.3.3. 生体信号処理に基づく医療装置の開発と応用

Development of Medical Device Based on Bio-signal Processing and Its Application

石井 千春 (法政大学), 橋本洋志 (産業技術大学院大学創造技術専攻)

Chiharu ISHII (Hosei University)

Hiroshi HASHIMOTO (Advanced Institute of Industrial Technology)

Keywords : Bilateral control, Myoelectric prosthetic hand, Surface EMG, Distinction of singularities

1. 緒言

本研究では、以下の3テーマについて研究を行った。

- (1) 多自由度ロボット鉗子の全方位バイラテラル制御の設計
 - (2) 低コスト化を目指した筋電義手の開発と制御
 - (3) 表面筋電位を用いた手術手技における特異状態の判別
- 以下ではそれぞれのテーマに対する成果を報告する。

2. 多自由度ロボット鉗子の全方位バイラテラル制御

手術支援ロボットにおいて、術者に臓器の反力などの力覚を伝える事ができれば、より安全に手術を行う事ができると考えられる。また、通信手段としてインターネットなどが用いられる場合、マスタとスレイブ間の通信時間遅れは時間毎に変化し、制御系が不安定に陥ってしまう可能性がある。そこで本テーマでは、これまでに開発した新しい屈曲機構を搭載した全方位屈曲型多自由度ロボット鉗子 (DSD 鉗子) に対して、安全性のために術者の操作量に対して鉗子の動きを縮小・拡大できるモーションスケールリングを有し、手術支援ロボットの遠隔操作における時変の通信遅延に対して制御系の安定性を保証するバイラテラル制御系を設計した。

はじめに1自由度のマスタスレイブロボットに対して、時変の通信遅延に対して操作の安定性を保証する新しいバイラテラル制御則を提案し、このバイラテラル制御系を独立に2つ構成することにより、DSD 鉗子の屈曲動作および力覚の検出を全方位に拡張させた。時変の通信遅延が存在する遠隔操作システムに対して制御実験を行い、本研究で提案したバイラテラル制御則の有効性を確認することができた。図1に全方位への屈曲実験の結果を示す。

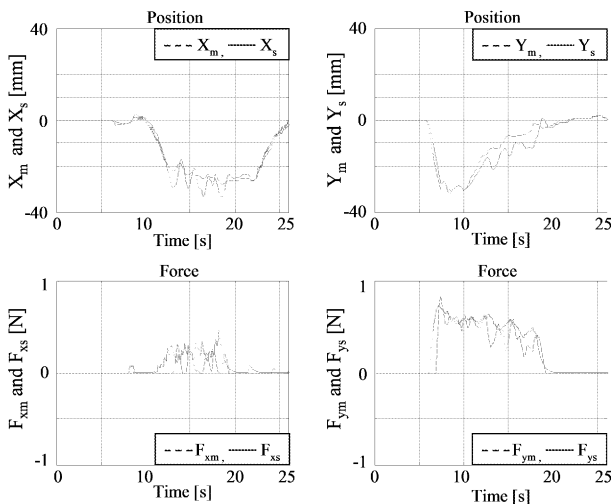


図1 : バイラテラル制御実験結果

3. 筋電義手の開発と制御

本テーマでは、安価で機能的な筋電義手用ロボットハンドを開発し、比較的単純な構造のニューラルネットワークと制御方法で複数の指の動作を識別し、筋電義手を駆動させることを目的としている。具体的には、ワイヤ駆動により DIP, PIP が連動してなじみ動作が可能となる拇指と示指を装着した2指の筋電義手用ロボットハンドを製作した。筋電位信号の測定部位は、前腕部の筋3箇所とし、測定動作は健常腕でのMP関節の屈曲・伸展をそれぞれ拇指と示指において、計4動作とした。筋電位信号はサンプリング周波数1000Hzで測定し、高速フーリエ変換 (FFT) を行い、交流雑音の影響が最も少ないと考えられる100Hzでの振幅値を識別に利用した。

各動作に対し、3箇所の筋で測定された筋電位信号をFFT処理して得られた3つの振幅値をニューラルネットワークへの入力信号とし、誤差逆伝搬法によりニューラルネットワークを学習させた。MP関節における拇指屈曲、拇指伸展、示指屈曲、示指伸展の4つの動作の識別率を向上させるため、図2に示すようにニューラルネットワークを接続し、屈曲と伸展を判別した後に拇指と示指を判別する方法を採用した。

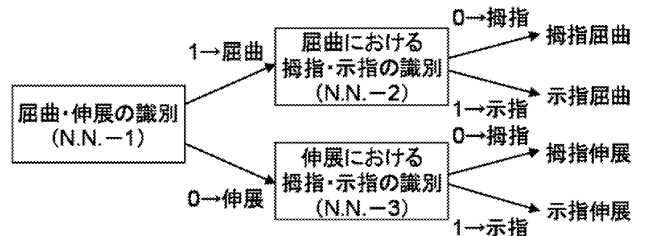


図2 : 識別方法

各動作30個のデータに対する識別率を表1に示す。

表1 : 識別結果

動作	拇指屈曲	拇指伸展	示指屈曲	示指伸展	平均
識別率 [%]	66.7	33.3	83.3	63.3	61.65

各動作の平均の識別率は60%を上回る結果を得ることができ、実際にオンラインで筋電義手ハンドの動作を制御することに成功した。

4. 表面筋電位を用いた手術手技における特異状態の判別

手術支援ロボットなどの作業機器において、オペレータの操作の適正を判断し、不適切な操作を抑制するシステムの開発が要求される。本テーマでは、そのようなシステムを構築するため、操作時のオペレータの筋の状態に着目し、表面筋

電位を用いて手術手技における操作の識別を行い、さらに特定の操作に対して特異状態を抽出し、操作の適正を判断する手法を提案する。

手術針を組織へ刺入する手技（刺入手技）を対象とし、鉗子は持針器と補助鉗子を用い、主に持針器に注目して操作の分類、特異状態の判別を行う。持針器には加えられた力をセンシングするために4箇所にはひずみゲージが貼り付けられている。また、力覚デバイス PAHTOM Omni が持針器に接続されており、持針器の位置センシングを行う。操作の分類には、ひずみゲージ及び PHANTOM Omni のデータに対する平均値を特徴量として用い、各特徴量に対してそれぞれに設けた閾値により、刺入手技操作の実施を判別する。特異状態の判別においては、自然に操作を行う通常状態と特殊な状態で操作を行う特異状態を考え、特異状態には、肘を広げた状態 (Posture)、力んだ状態 (Straining)、突発的な荒い操作を行う状態 (Sudden) を想定した。操作者の前腕部3箇所の表面筋電位から各電極の絶対平均値、重心値、スペクトル比を特徴量として算出し、これらを要素に持つ特異性特徴ベクトルを定義し、これを用いて操作中の手技を各状態へ分類する。通常状態と特異状態の判別には、自己組織化マップ (SOM) を用いる。

通常状態と特異状態それぞれにおいて刺入手技を繰り返し、手術手技における特異状態の判別を試みた。学習した SOM 上に、実験での操作により得たデータ（六角形形状）を分布させた図を図3に示す。また、各状態で正しい領域に分布した確率を表2に示す。

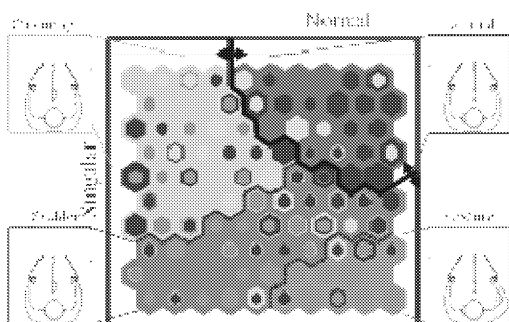


図3：学習後の SOM と実験による分布

表2：分布の正答率

	Recognition rate[%]	
Normal	76.5	(39/51)
Singular	81.8	(193/236)
Posture	30.8	(24/78)
Straining	33.3	(23/69)
Sudden	25.8	(23/89)

表2より、刺入手技操作に対して通常状態と特異状態ともに約8割の確率で判別する事が出来た。

なお、本小テーマにおける(1)～(3)のテーマそれぞれに対して目標としていた成果が得られたので、本年度で本小テーマは終了とする。

査読付論文

1) C. Ishii, K. Kobayashi, Y. Kamei and Y. Nishitani, "Robotic Forceps Manipulator with a Novel Bending Mechanism" IEEE/ASME Transactions on

Mechatronics, Vol.15, No.5, pp.671-684, 2010.

2) 石井千春, 小林宏輔, 西谷要介, 中荃隆, DOUBLE-SCREW-DRIVE 機構を用いた低侵襲手術用多自由度ロボット鉗子, 日本機械学会論文集 C 編, Vol.76, No.771, p.3042-3050, 2010

著書

1) C. Ishii, K. Kobayashi, Y. Kamei, Y. Nishitani and H. Hashimoto, "Passivity Based Bilateral Control for Double-Screw-Drive Forceps Teleoperation System with Constant Time Delay; Theory and Applications of Complex Systems and Robust Control", Jie Huang et.al (Editors), Tsinghua University Press, pp.191-205, 2010.
 2) C. Ishii, "Robust Bilateral Control for Teleoperation System with Communication Time Delay - Application to DSD Robotic Forceps for Minimally Invasive Surgery -, Robust Control, Theory and Applications", INTECH, 2011.

研究発表

1) 中屋友佑, 石井千春, 中荃隆, 疋田光孝, 表面筋電位を用いた手指の動作識別とその特異性の判別手法の提案, 日本機械学会 ロボティクス・メカトロニクス講演会 2010, 2010
 2) 原田昆寿, 石井千春, 中荃隆, 疋田光孝, 表面筋電位による指の動作識別に関する研究, 日本機械学会 ロボティクス・メカトロニクス講演会 2010, 2010
 3) 三上央晋, 石井千春, 西谷要介, 疋田光孝, 橋本洋志, DSD 鉗子の遠隔操作システムに対する2自由度力フィードバック制御, 日本機械学会 ロボティクス・メカトロニクス講演会 2010, 2010
 4) Y. Nakaya, C. Ishii, T. Nakakuki and M. Hikita, "A Practical Approach for Recognition of Hand Gesture and Distinction of Its Singularity", Proc. of 2010 IEEE International Conference on Automation and Logistics, 2010.
 5) A. Harada, C. Ishii, T. Nakakuki and M. Hikita, "Robot Finger Design for Myoelectric Prosthetic Hand and Recognition of Finger Motions via Surface EMG", Proc. of 2010 IEEE International Conference on Automation and Logistics, 2010.
 6) H. Mikami, C. Ishii, Y. Nishitani, M. Hikita and H. Hashimoto, "Bilateral Control for Omnidirectional Bending Motion of the DSD Forceps Teleoperation System with Time Varying Delay", Proc. of 2010 IEEE International Conference on Automation and Logistics, 2010.
 7) 中屋友佑, 石井千春, 中荃隆, 疋田光孝, 手指の動作識別とその特異性に対する表面筋電位に基づく判別方法の提案, 電気学会 産業計測制御研究会, 2010
 8) 原田昆寿, 石井千春, 中荃隆, 疋田光孝, ニューラルネットワークを用いた筋電義手のための指動作識別に関する研究, 電気学会 産業計測制御研究会, 2010
 9) 三上央晋, 石井千春, 西谷要介, 疋田光孝, 橋本洋志, 2自由度の屈曲動作に対する遠隔操作型 DSD 鉗子の力フィードバック制御, 電気学会 産業計測制御研究会, 2010
 10) C. Ishii, "Bilateral Control for Double-Screw-Drive Robotic Forceps Teleoperation System with Time Varying Delay", Proc. of the 3rd Israeli Conference on Robotics 2010, 2010.