

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24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..... 橋本成広	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 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	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 体内埋込用ポンプ開発のための基礎的研究..... 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.バイオミメティクス・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	41
1.5.3 マイクロポーラス金属の材料特性評価..... 塩見誠規	43
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, 武沢英樹	45
応用生体医工学プロジェクト..... プロジェクト長 藤江 裕道	49
2.1.幹細胞を用いた組織再生工学..... 藤江裕道	51
2.1.1 幹細胞を用いた軟骨再生..... 藤江裕道	53
2.1.2 幹細胞を用いた靭帯, 腱の再生..... 木村雄二, 藤江裕道	55
2.2.マイクロバイオデバイスの開発..... 疋田光孝	57
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	59
2.2.3 バイオメトリクス環境センサの研究..... 疋田光孝	61
2.3.医療支援ロボットの開発..... 高信英明	63
2.3.1 歯科患者ロボット..... 高信英明	65
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	67
2.3.3 生体信号処理に基づく医療装置の開発と応用..... 中 荃 隆	69

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、それを工学に应用すること（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4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。

昨2010年度は、中間成果報告として、2010年度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一昨年度実施した独自の外部評価でも指摘されておおり、一昨年度は、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た。

今2011年度は、さらに前出の改善すべき点を強力に推進すべく、昨年度の外部評価委員の評価結果を反映し、『重点テーマの再検討』を行った。また、研究費の配分にも、昨年度以上のメリハリをつけた。

今後も、テーマの重点化と各中テーマ間との連携を計りつつ、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、残念ながら、2011年2月より、従事して頂いたPD、Anawati博士が、一身上の都合にて、2011年9月末日に退職し、離日しました。精力的に研究に従事して（国際学会で発表済み、かつ、現在論文執筆中）頂けたのですが、残念なご報告でした。しかしながら、幸いなことながら、次2012年4月より、Rashidi博士を迎えることができました。今年度同様、充実した研究体制が期待できることとなりましたことを加筆します。

2011年度は2008、'09および'10年度の成果を基にして、多くの成果が得られました。本報告書にて報告致します。

末筆に、昨2010年度は、東日本大震災の影響にて大変残念ながら、「第3回（2010年度）BERC研究成果報告会を中止」する判断行いました。関係各位には、改めましてお詫び申し上げます。

本年度は、皆様とお会いできることを楽しみお待ちしております。お願いします。

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
橋本成広

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，Anawati
- 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. 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 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. 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，武沢英樹

() 内所属先は 2011 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 橋本 成広

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、我々が腱や靭帯の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群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。しかし、scSAT は腱や靭帯にかかる荷重に耐えうるには強度が不足しているため、高強度化が要求されている。また、scSAT の組織は等方的に配向しているが、腱や靭帯は構造異方性を持つ組織である。したがって、scSAT に異方性を付与することで高強度化を図ることが期待できる。これらの解決を目指し、チタン表面上にフェムト秒レーザを用いてナノ周期構造を形成し、その上で滑膜由来細胞群を培養し、細胞の接着性や配向性について調査した。その結果、ナノ周期構造を形成したチタン表面は未加工の平滑な表面と比較して細胞接着性に優れ、溝方向への配向を促進することがわかった。したがって、ナノ周期構造表面で作製した scSAT は、平滑な表面で作製した scSAT と比較して、組織の配向方向に対する引張強度が向上できる可能性が期待できる。

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、細胞に力学的な刺激を加える *in vitro* 実験システムを開発すること、力学的な刺激に対する細胞の応答について実験的に調べることを目的としている。ガラスプレートに挟まれたシリコンゴムプレートに孔を空けて流路を構成し、マウス筋芽細胞、ラット骨格筋細胞、ラット大動脈平滑筋細胞、およびマウス繊維芽細胞を用いて平行平板間流路試験を行った結果、細胞の延伸、移動、剥離が観察され、その様子は細胞種によって異なることが明らかになった。さらに、継続的に流れ刺激を加えながら細胞の挙動を調査するために、培養皿底面に密着させたシリコンゴム円板の周囲にドーナツ型の流路を構成した。この培養皿をシェーカーの上に乗せて、シェーカーの動作によって、培養液が連続的に時計回りに流れるようにした。その結果、流れによる細胞の剥離、流れの遅い中心側から周辺側への細胞付着の進行が観察された。また、ラット大動脈平滑筋細胞とブタ大動脈血管内皮細胞は流れに沿った方向、マウス筋芽細胞、ラット骨格筋細胞、およびマウス線維芽細胞は流れに対して垂直な方向に配向する傾向が観察された。流れ刺激が細胞の分化・配向に影響を与え、その効果は細胞種によって異なることが実験的に明らかになった。

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, スキャフォールドを用いずに, 膝滑膜から採取した細胞に細胞外基質を自己生成させて作製される組織であり, 拒絶反応が起こらないという特徴がある (Fig.1). しかし, 腱や靭帯にかかる荷重に耐えるには強度が不足しているため, scSAT の高強度化が要求されている. そのためには scSAT を作製する基板の形状を制御し, 細胞の接着性を向上させることにより, この問題を解決できる可能性がある²⁾. また, 腱や靭帯は構造異方性を持つ組織であることから, scSAT に異方性を付与することで高強度化を図ることも可能である³⁾. そこで本研究では, フェムト秒レーザーによりナノ周期構造を形成したチタン表面上で膝滑膜由来細胞を培養し, ナノ周期構造表面における滑膜由来細胞の接着性および異方性について調べた.

※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.

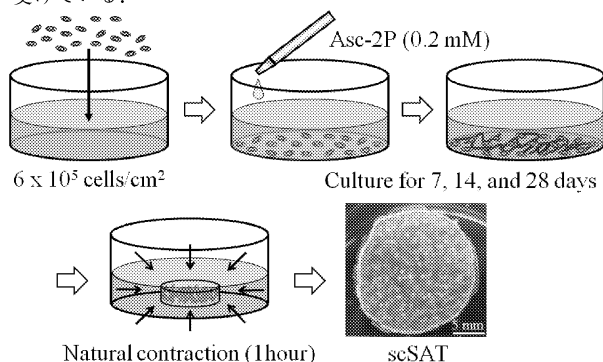


Fig.1 scSAT の作製方法

2. 材料および実験方法

2-1. ナノ周期構造表面作製

金属基板表面に加工閾値近傍のフルエンスでレーザーを照射することで, 基板表面に波長間隔でグレーティング上の微細周期構造が形成できる⁴⁾, エネルギー出力 700 mW, ステージ走査速度 10 mm/s, レーザ波長約 780 nm で JIS2 種の工業用純 Ti (CP Ti) 表面にフェムト秒レーザー (IFRIT, Cyber LASER) を照射し, ナノ周期構造を形成した. 走査型電子顕微鏡 (SEM: VE-8800S, KEYENCE) および原子間力顕微鏡 (AFM: VN-8000, KEYENCE) により, 加工後の表面を観察, 計測した.

2-2. 細胞接着性試験

ヒト膝関節の滑膜から, コラゲナーゼ処理により細胞を採取し, 継代培養を 4 回行った. 作製した基板上に初期細胞密度 3.0×10^3 cells/cm² で播種し, 1, 6, 24 h において, 蛍光染色によりアクチンとヴィンキュリンの観察, SEM により細胞の形態や仮足の伸展の観察を行った. また, 画像処理ソフト (ImageJ) を用いて, SEM 像から接着細胞の面積および細胞の短軸の長さと同軸の長さのアスペクト比を測定した. さらに, 24 h 後の接着細胞数を測定した. 以下では, ナノ周期構造を付与したチタンを Nano-Ti, 未加工のものを Ti と記述する.

2-3. 異方性解析

得られた像から画像解析ソフト (ImageJ) を用いて, 播種後 24 h における配向角度を測定し, 各基板における異方性を評価した. なお配向角度は溝と細胞の長軸が成す角度と定義した. Ti の配向角度については, Y 軸方向と細胞の長軸が成す角度とした.

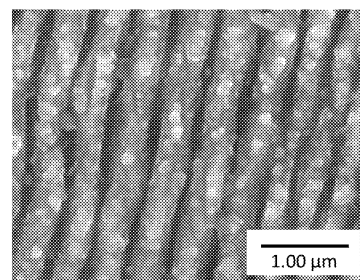
2-4. 統計学的検定

接着細胞の面積, アスペクト比, 配向角度の測定により得たデータの統計的な有意差の有無を判断するため, *t* 検定 (有意水準 0.05%) を用いた.

3. 結果

3-1. ナノ周期構造表面性状

加工後の表面を SEM 観察した結果, ナノ周期構造が形成されていることが確認できた (Fig.2). また, AFM により表面形状および粗さを計測した結果, 深さ; 99.1 ± 31.1 nm, ピッチ; 501 ± 100 nm, Ra; 39.9 ± 3.1 nm であった.



3-2. 細胞接着性試験

24 h 後の接着細胞数は, 二つの基板の間に有意差はなかった. 蛍光観察では, Nano-Ti 表面においてヴィンキュリンが全体に分布していたのに対し, Ti 表面では核の周辺とアクチンの先端部分にのみ分布していた. SEM 観察では, Nano-Ti 表面では播種後 1 h から伸展している細胞が多かったが, Ti 表面の細胞は伸展していなかった. 播種後 6 h においては, Nano-Ti 表面では紡錘型に伸展している細胞が確認できたが, Ti 表面では紡錘型の細胞は確認できなかった. 播種後 24 h では, 二つの基板の細胞は共に紡錘型に伸展した. また, Nano-Ti 表面の細胞は溝方向に伸展, 配向し, 仮足を溝方向に伸展しているものが多く見られた. 各時間における面積測定結果では, Nano-Ti 表面の細胞は Ti 表面の細胞と比べて播種後 1 h と 6 h において有意に大きく伸展していた (Fig.3, 4). アスペクト比測定結果では, Nano-Ti

表面の細胞は Ti 表面の細胞と比べて播種後 6 h において有意に大きな値を示した(Fig.5).

3-3. 異方性解析結果

配向角度を測定した結果, Nano-Ti 上で培養した細胞の配向角度は, Ti 上で培養した細胞の配向角度と比べて有意に低い値を示した(Fig.6).

4. 考察

細胞が溝を認識するためには 90 nm 以上の深さが必要であることが報告されている⁵⁾. この値と比較すると, 作製したナノ周期構造表面の溝深さは細胞が溝を認識するためには十分な深さだった. 接着面積およびアスペクト比測定結果より, Nano-Ti 上の細胞は Ti 上の細胞と比べて早期の段階から有意に大きく伸展していた. このことから, Nano-Ti 表面は膝滑膜由来細胞の伸展を促進する表面であり, Ti 表面と比較して細胞接着性に優れていることがわかった. また, Nano-Ti 上で培養した細胞は Ti 上で培養した細胞と比べて有意に小さい配向角度を示したことから, Nano-Ti 表面が膝滑膜由来細胞の配向を促すことがわかった.

以上より, ナノ周期構造を形成した表面は細胞接着性が向上し, さらに, その上で培養した細胞の異方性が付与されることがわかった. このことから, ナノ周期構造表面で幹細胞を培養することにより scSAT の細胞外基質の生成が促進され, 組織の配向方向に対する引張強度が向上する可能性が示唆された.

5. まとめ

フェムト秒レーザーによりナノ周期構造を形成した Ti 表面で膝滑膜由来の細胞を培養し, 形態観察を行った結果, 以下のことがわかった.

- 1) ナノ周期構造を形成した Ti 表面は未加工の Ti 表面と比べて細胞接着性に優れる.
- 2) ナノ周期構造表面は膝滑膜由来細胞の溝方向への配向を促進する.

以上のことから, ナノ周期構造表面で作製した scSAT は, 細胞培養皿で作製した scSAT と比較して, 組織の配向方向に対する引張強度が向上できると期待できる.

参考文献

- 1) Ando, Fujie *et al.*, *Biomaterials*, 2007.
- 2) Giancotti *et al.*, *Science*, 1999.
- 3) Sudama, Fujie *et al.*, *Proc of WCB*, 2010.
- 4) Sawada *et al.*, *The Japan Society for Precision Engineering*, 2003.
- 5) Fujita *et al.*, *J. R. Soc. Interface*, 2009.

論文投稿・研究発表等

- 1) 青木, 大家, 鈴木, 佐藤, 中村, 藤江, フェムト秒レーザーにより形成したナノ周期構造表面における滑膜由来幹細胞の接着性と異方性, 精密工学会 2012 年度春季大会, 2012.
- 2) 青木, 大家, 菅沼, 佐藤, 下村, 中村, 藤江, フェムト秒レーザーにより形成したナノ周期構造表面における間葉系幹細胞自己生成組織の力学特性, 第 33 回日本バイオマテリアル学会大会, 2011.
- 3) 大家, 菅沼, 青木, 田中, 諸貫, 下村, 中村, 藤江, ナノ構造付与 PDMS における滑膜由来幹細胞の接着性の向上, 第 33 回日本バイオマテリアル学会大会, 2011.
- 4) 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.

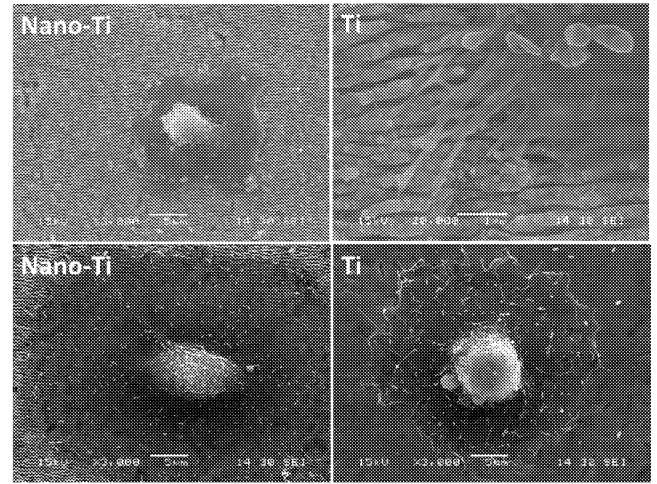


Fig.3 Nano-Ti, Ti における接着細胞の SEM 観察結果 (上: 培養 1 h, 下: 培養 6 h)

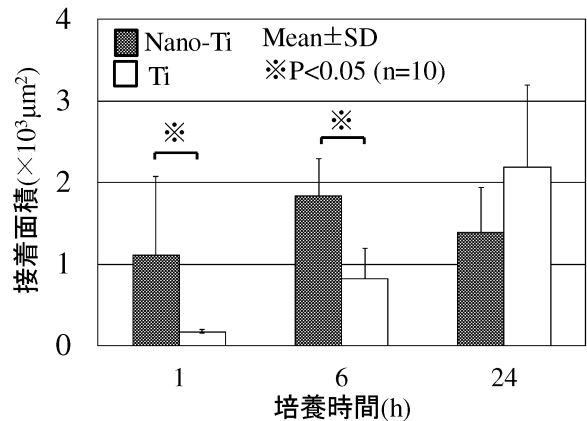


Fig.4 Nano-Ti, Ti における接着細胞の接着面積

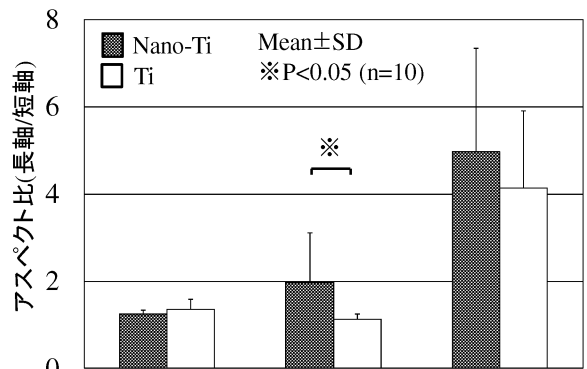


Fig.5 Nano-Ti, Ti における接着細胞のアスペクト比

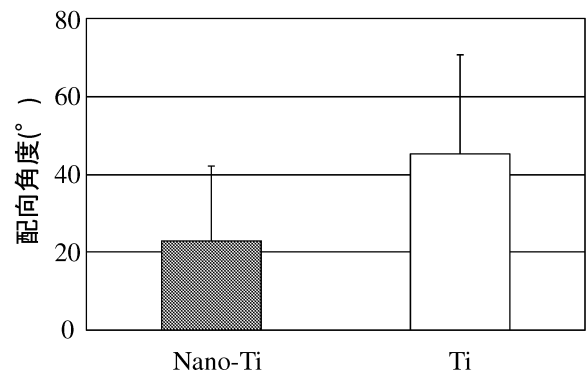


Fig.6 Nano-Ti, Ti における接着細胞の配向角度

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

Responses of Cells Cultured in Micro-channel under Fluid Shear Stress

橋本 成広

Shigehiro HASHIMOTO

Keywords: Cell, Micro-channel, Shear Stress

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。その発症と進展には、血液の流体力学因子が影響すると考えられている。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など血管を構成する細胞の機能が注目されている。細胞の機能は血流による機械的刺激と関係があると報告されている¹⁾。これまでに *in vivo* や *in vitro* の実験において、流体によるせん断応力と細胞の応答との間の関係が調べられている²⁾。他方、近年注目されている再生医療においては、*in vitro* において、細胞の分化・組織化を加速する技術が必要とされている。細胞は、電気³⁾・磁気⁴⁾・力学などの様々な刺激に応答して、増殖・分化・配向すると考えられている。

本研究では、マイクロ流体デバイスを用いて細胞に力学的な刺激を加える *in vitro* 実験システムを開発すること、力学的な刺激に対する細胞の応答について実験的に調べることを目的としている。

2. 材料と方法

平行平板間流路試験

せん断応力に対する細胞の挙動を観察するために、平行平板間流路を作成した。ガラスプレートに挟まれた厚さ 0.1 mm のシリコンゴムプレートに直方体の孔を空け、0.1 mm×2 mm×52 mm の流路を構成した。実験で使用した細胞は、マウス筋芽細胞 (C2C12)、ラット肋軟骨細胞、ラット骨格筋細胞 (L6)、ラット大動脈平滑筋細胞 (A7r5) である。培養液 (D-MEM) 中に分散された細胞を流路に導入して 24 時間培養し、細胞をガラス面に付着させた。シリンジポンプによって培養液を一定の流量 (Fr) で流すことにより、ガラス壁面に一定のせん断応力を発生させた (Fig.1)。平行平板間の放物線状の速度分布を仮定し、壁面せん断速度 (Sr) と流体の粘性係数からせん断応力を算出した (Fig.2)。流量 (4 ml/hour-60 ml/hour) を段階的に調節することによって、壁面せん断応力 (0.3 Pa-6 Pa) を変えながら、ガラス面に付着した細胞の挙動を光学顕微鏡で観察した (Fig.3)。細胞の付着の程度を比較するために、壁面せん断応力とせん断時間との積 (累積せん断) を算出した。流れによって剥離する重力による影響を観察するために、流れに対して垂直方向に平板を傾斜 (0.17 rad) させた。

持続流れ下培養

継続的に流れ刺激を加えながら細胞を培養するために、培

養皿底面に密着させたシリコンゴム円板の周囲にドーナツ型の流路を構成した。この培養皿をシェーカーの上に乗せて、シェーカーの動作によって、培養液が連続的に時計回りに流れるようにした。この装置をインキュベーター内に置いて、仔牛胎児血清 10% を含む D-MEM 中で細胞を 7 日間培養した (Fig.3)。実験で使用した細胞は、マウス筋芽細胞 (C2C12)、ラット骨格筋細胞 (L6)、ラット大動脈平滑筋細胞 (A7r5)、ブタ大動脈血管内皮細胞 (CS-2P2-C75)、マウス繊維芽細胞 (L929) である。

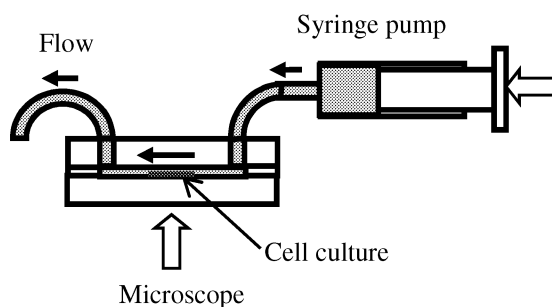


Fig.1 マイクロ流路への流れ供給

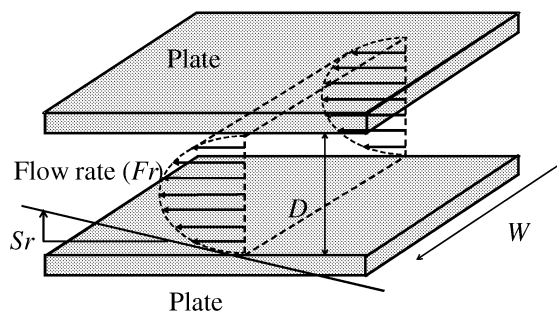


Fig.2 壁面せん断速度

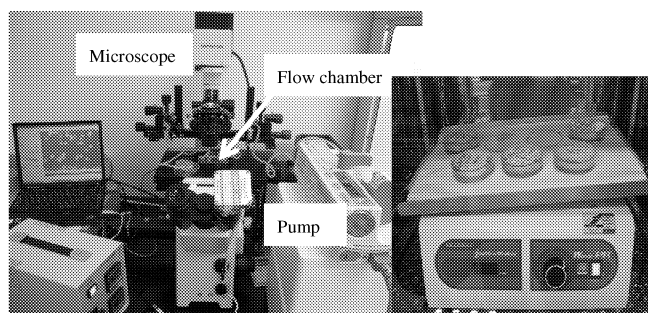


Fig.3 平行平板流路試験装置 (左)
持続流れ培養装置 (右)

3. 結果および考察

平行平板間流路試験において、細胞の延伸、移動、剥離が観察された。Fig.4では、C2C12の一つが0.3 Paのせん断応力下で30分間に10%延伸し、また、他の細胞は、傾斜に沿って下方へ移動している。剥離にいたるせん断応力と累積せん断の結果をTable 1にまとめた。ガラス面への付着の強いものから順に、C2C12、軟骨細胞、L6、A7r5であった。

持続流れ下培養において、流れによる細胞の剥離、流れの遅い中心側から周辺側への細胞付着の進行が観察された。A7r5とCS-2P2-C75は流れに沿った方向、C2C12、L6、L929は流れに対して垂直な方向に配向する傾向が観察された(Fig.5)。

Table 1. 剥離にいたるせん断応力と累積せん断

Cell	Shear stress [Pa]	Cumulated shear [Pa min]
C2C12	6	18
Cartilage Cell	3	9
L6	0.4	8
A7r5	0.3	4.5

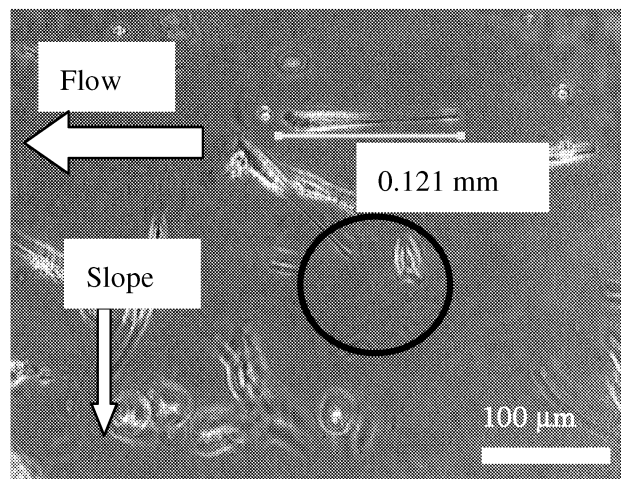
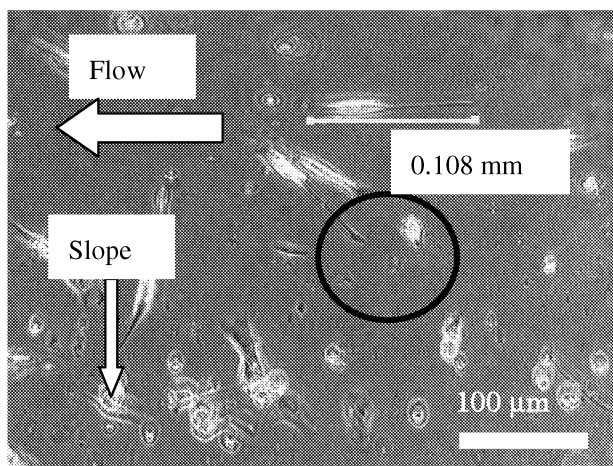


Fig.4 C2C12 流れ刺激前 (上) 刺激30分後 (下)

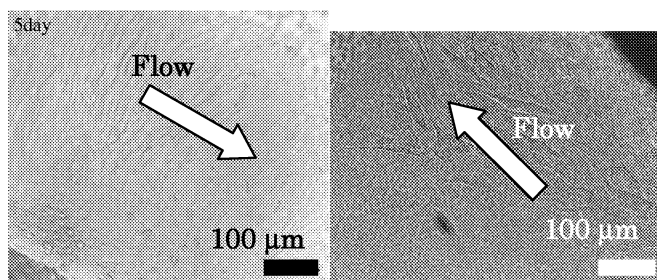


Fig.5 流れ刺激による細胞配向: C2C12 (左) CS-2P2-C75 (右)

4. 結言

「マイクロ流体デバイスを用いて細胞に力学的な刺激を加える in vitro 実験システム」を開発し、流れ刺激に対する細胞の回転、延伸、移動、剥離を観察できた。持続流れ下培養装置を用い、流れ刺激が細胞の分化・配向に影響を与えること、その効果は細胞種によって異なることを実験的に示した。

文 献

- 1) Pries, A. R., and Secomb, 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) Nakajima A., Uemura R., Hashimoto S., Susa T. and Sato Y., "Effect of pulsatile electric field on cultured muscle cells in vitro," *Proc. 15th World Multi-Conference on Systemics Cybernetics and Informatics*, Vol. 2, pp. 129-133 (2011)
- 4) Sakatani Y., Hashimoto S. and Yoriki J., "Effect of static magnetic field on muscle cells in vitro," *Proc. 14th World Multi-Conference on Systemics Cybernetics and Informatics*, Vol. 2, pp. 280-284 (2010)

論文投稿・研究発表等

- 1) Hashimoto S., Ooshima T., Sato F., Sakatani Y. and Nakajima A., "Effect of vortex flow on cultured cells in vitro," *Proc. 15th World Multi-Conference on Systemics Cybernetics and Informatics*, Vol. 2, pp. 112-117 (2011)
- 2) Motoda S., Hashimoto S., Iwagawa T. and Nakajima A., "Effect of excess gravitational force on cultured myotubes in vitro," *Proc. 15th World Multi-Conference on Systemics Cybernetics and Informatics*, Vol. 2, pp. 118-123 (2011)
- 3) Nakajima A., Iwata H., Hashimoto S., Susa T. and Sato F., "Effect of shear flow on cultured cartilage cells," *Proc. 15th World Multi-Conference on Systemics Cybernetics and Informatics*, Vol. 2, pp. 124-128 (2011)
- 4) Hashimoto S. and Okada M., "Orientation of cells cultured in vortex flow with swinging plate in vitro," *Journal of Systemics, Cybernetics and Informatics*, Vol. 9(3), pp.1-7 (2011)

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, アナワチ

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

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

—焼結リン酸カルシウム製人工骨と補強用チタンメッシュプレートの力学的特性—

何 建梅

2008 年のプロジェクト発足時、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開始した。共通する材料としては金属チタンあるいはその合金材料であり、いずれも生体内使用のインプラント材を研究対象として、生体組織適合性向上や力学的特性等を評価してきた。試料の作製方法は、小テーマごとに異なり、電気化学的手法あるいは超音速フリージェット PVD 法を用い、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上に構築する研究や、3 次元金属光造形加工法を用い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など、いずれの小テーマも積極的に研究を展開してきた。

前年度、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、研究は現在も継続して実施しており、本研究プロジェクトの進行に対して、担当者の所属変更自体の影響は無い（図 1）。

平成 23 年度（2011 年度）の研究成果として、小テーマ 1.2.1 では、メカニカルリング法と放電プラズマ焼結法を組み合わせで作製した高硬度の純 Ti、あるいは Ti-HAp 複合材料に対し、PD 研究員 Anawati 博士が基材の耐食性、耐アルカリ性、生体親和性に関して系統的に研究を進めた。関連成果の一部は 2011 年 9 月に開催された国際電気化学会で報告した。また前年度に引き続き、ナノポーラス構造を持つ足場材料上で細胞を培養し、細胞の接着性、増殖性に及ぼす皮膜構造と皮膜表面の濡れ性の影響などに関して、基礎的な知見を得た。細胞培養に関しては、1.1 グループの大家助教のサポートを受け、課題であった中テーマ間の連携に関しても、具体的な成果が出始めている。

小テーマ 1.2.2 では、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、アパタイト粒子分散 Ti 膜の形成を試みた。Ti 基材上に形成させたアパタイト粒子分散 Ti 膜は緻密であり、SBF に 14 日間浸漬させた結果、骨類似アパタイトの生成が確認され、本法によるアパタイト粒子分散 Ti 膜は生体活性能を有することを明らかとした。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測定し、界面破壊靱性値 Kc は $74.5\text{MPa}\cdot\text{m}^{0.5}$ であることを確認した。

小テーマ 1.2.3 では、焼結リン酸カルシウムの曲げ・圧縮試験を行い、焼結温度 1100°C 近傍で弾性率、強度において最高値を示すことを見出し、SEM 破断面観察結果から気孔径寸法による影響であると考えた。しかしながら、焼結温度 1100°C では 1 次粒子同士の結合が始まる温度であり、気孔径も数 μm と微細であることが曲げ強度に最高値を示した原因と考えられるが、結晶構造の変化による影響もまた議論が必要で、強度への影響を断定できていない。また、最弱環理論を用いることで実体品の安全設計を行うことができることを確認したが、これもまた実験によって妥当性を検討する必要がある。一方、六角形ポリコン形状をベースに異なるメッシュ線幅、S 字カーブ曲率を用いた基本メッシュ形状を独自で考案・設計し、純チタンプレートを用いてワイヤー放電加工による試作チタンメッシュプレートの面内圧縮特性を評価する圧縮試験方法を確立した。それに伴い、再現性の良いチタンメッシュプレート面内圧縮弾性係数が得られた。

これまで、担当者ごとに基礎的な技術の構築、基礎データの収集を中心に研究を進めてきたが、最終年度となる平成 24 年度（2012 年度）は、材料提供や技術提供などの連携を通じ、学会発表、論文発表を積極的に進める予定である。

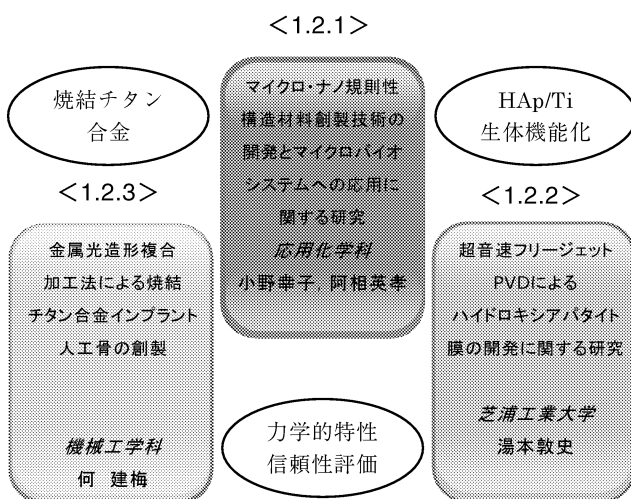


図 1: 中テーマ 1.2 のグループ構成

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, アナワチ
Sachiko ONO, Hidetaka ASOH, and Anawati

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

1. チタン-アパタイト複合材の耐食性, 生体親和性評価

1.1 はじめに 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を研究対象として, チタン多孔体, チタン-アパタイト (Ti-HAp) 複合材などの表面形態制御, 硬組織適合性の評価などを進めてきた。

本年度は, 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) 法を組み合わせることで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 複合材料に対し, PD 研究員 Anawati 博士が基材の耐食性, 耐アルカリ性, 生体親和性に関して研究を進め, 関連成果を 2011 年 9 月に開催された国際電気化学会で報告した。以下に代表的な結果を示す。

1.2 実験方法 固化成形した試料を樹脂埋め後, 露出面を機械研磨し, 0.9% NaCl 溶液中 5 mV s^{-1} の掃引速度でアノード分極した。対極は Pt 電極, 参照電極は Ag/AgCl をそれぞれ用いた。また, 5 mol dm^{-3} NaOH 水溶液 (333 K) 中に各種材料を 2.5 h 浸漬しアルカリエッチング¹⁾を行い, 耐アルカリ性を評価した。硬組織適合性は, 交互浸漬²⁾法でアパタイトを予備的に付与した基材を擬似体液(SBF)に一定期間浸漬し, 析出した HAp の形態及び分布を走査型電子顕微鏡(SEM)で観察した。

1.3 結果及び考察 電気化学的に評価した Ti-HAp 複合材料の耐食性を図 1 に示す。HAp 添加量が同じであれば MM 時間が長い試料ほど, 腐食電位が貴にシフトする傾向が見られた。貴な電位を持つ試料ほど高い耐食性を持つ試料であると考えた場合, ミリング処理は基材の耐食性向上に対して効果があると言える。しかしながら, 20%以上 HAp

を添加した基材の耐食性は純 Ti に比べ劣り, 電気化学的に評価した耐食性という観点では, Ti-10% HAp 材がもっとも高い耐食性を示した。

図 2 に, アルカリ処理を施した, 基材表面の典型的な SEM 像を示す。 5 mol dm^{-3} NaOH で処理した Ti-10% HAp 材では, MM 処理 4 h ならびに 8 h において, HAp 未添加の Ti 材 (MM4h) よりも細かな二酸化チタンからなる網目構造が観察された。特に, MM 処理を 8 h 施した試料では目が細かく, アルカリに溶解しにくい表面であった。ミリング時間が長い試料ほど, 基材の硬さが増加することを考慮すると, 硬い試料ほど耐アルカリ性に優れ, 耐食性が高いとも言えるが, 耐食性に及ぼす組織や結晶構造などの詳細は明らかではない。

アルカリエッチング後, 交互浸漬処理で HAp を予備析出させない試料においても, SBF 中における HAp の析出が確認されたが, 予め HAp を交互浸漬処理で付与した試料においては, SBF 中での HAp の成長が著しく促進された。短期間でも効率良くドーム状の連続した形態を持つ HAp 層が基材表面に形成されることから, Ti-HAp 複合材は良好な硬組織適合性を持つといえる。

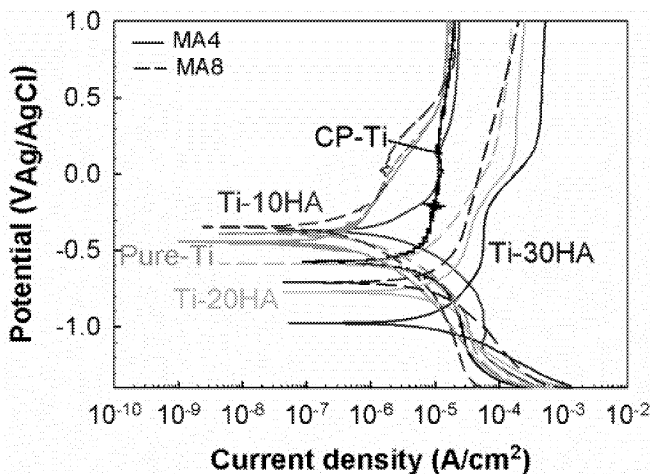


図 1 : 腐食電位に及ぼす HAp 添加量とミリング時間の影響

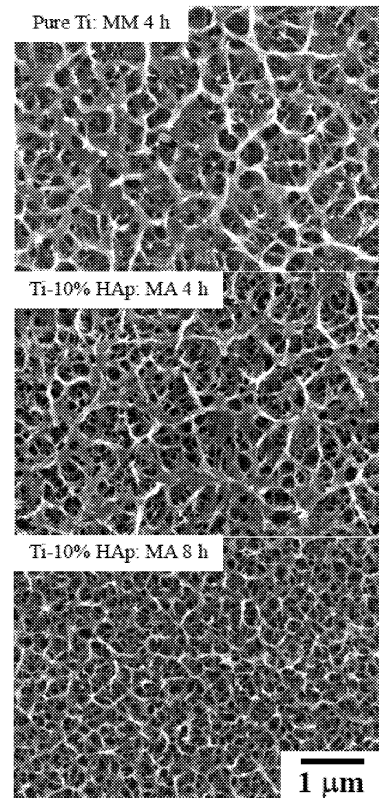


図 2 : アルカリエッチング後のチタンの表面形態に及ぼす HAp 添加量とミリング時間の影響 (5 mol dm^{-3} NaOH 水溶液, 333 K, 2.5 h)

2. 孔径, 膜厚を制御したポーラスアノード酸化皮膜ならびにポーラスシリコン上での細胞培養

2.1 はじめに 2009, 2010 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形態 (孔径, セル壁厚さ, 膜厚) 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, 増殖性に及ぼす皮膜構造と皮膜表面の濡れ性の影響を明らかにすることを目的に研究を進めた。

2.2 実験方法 純度 99.99 % の Al 板を 0.3 mol dm^{-3} シュウ酸水溶液中 5 V, 40 V あるいは 0.05 mol dm^{-3} シュウ酸水溶液中 80 V の条件で二段階電解を行い, 膜厚 $1 \mu\text{m}$ で孔径の異なるポーラスアルミナ皮膜を作製した。作製した試料に対し播種濃度 $5000 \text{ cells / cm}^2$ でヒト胎児肺由来線維芽細胞を播種し 7 日間細胞培養を行った。細胞核を蛍光染色後, 画像解析ソフトを用いて細胞数を測定し, 細胞接着性および増殖性を評価した。また, 各条件の基板を 5 wt % FITC-I コラーゲン溶液中に 1 時間浸漬させることでコラーゲンの吸着性を評価すると共に, 皮膜の表面濡れ性を水接触角計により評価した。

2.3 結果及び考察 平滑な Al 板, 孔径 5 nm 及び 40 nm の皮膜においては培養皿(control)より初期の接着細胞数は少ないものの増殖速度が高く, 孔径 5 nm の皮膜で最も高い増殖性を示した。一方, 孔径 100 nm の皮膜においては, 孔径 5 nm の皮膜および平滑な Al 板と比べ初期の接着細胞数は多いにもかかわらず, 他どの条件の培養基板より細胞増殖性が劣った。このことから孔径の大きい皮膜上に細胞は接着するものの接着後の細胞増殖が阻害されたと考えられる。図 3 に孔径の異なる皮膜における水滴接触角とコラーゲンの吸着面積率を示す。孔径 100 nm の皮膜以外においては表面が疎水性である程コラーゲンの吸着量が多く, 接着細胞数に及ぼす孔径の影響と同様の傾向が見られ, ポーラス皮膜の孔径あるいは表面積が細胞接着性タンパク質の接着量や分布に大きな影響を与える因子であることが示唆された。同様に, アノードエッチングにより Si 基板上に形成したナノポーラス構造の細胞適合性を評価した結果, 図 4 に示すように凹部(Si 上)に接着した細胞の仮足は全方向に伸展していたものの, 境界部付近ではポーラス層表面に向かいより多くの仮足が伸展していた。ポーラス Si は平坦な Si 表面に比べ細胞の接着性が高く細胞適合性が高いことから, ナノサイズのポーラス構造は, 材質によらず細胞の接着や伸展に大きな影響を及ぼす因子であるといえる。

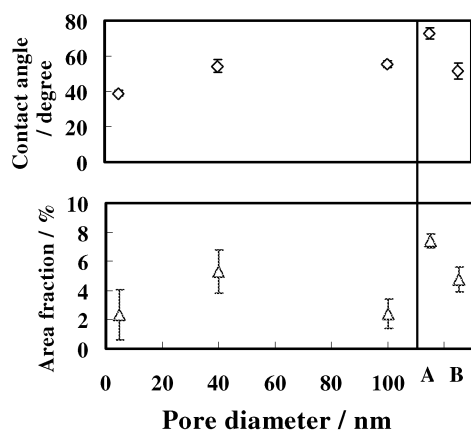


図 3: 孔径の異なる皮膜における表面濡れ性とコラーゲン吸着性 (A)Al plate, (B)Bio plate

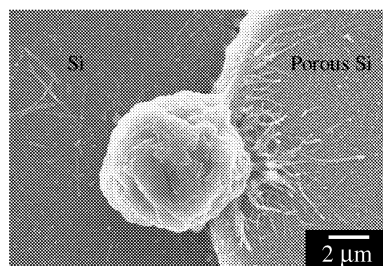


図 4: シリコン上で培養したマウス由来線維芽細胞(L929 細胞)

参考文献

1. 阿相英孝, 川目達也, 柴田稚子, 小野幸子, 無機マテリアル学会誌, **16**, 28 (2009).
2. A. Kodama, S. Bauer, A. Komatsu, H. Asoh, S. Ono and P. Schmuki, *Acta Biomaterialia*, **5**, 2322 (2009).

査読付論文

1. 阿相英孝, 小野幸子, 自己組織化材料を利用したナノ・マイクロファブリケーション ~ナチュラルリソグラフィ~ (解説), *表面技術*, **62**, 92 (2011)
2. 小野幸子, 鈴木弥生, 阿相英孝, Mg-Li-Y 合金の耐食性に対するアノード酸化処理条件の影響, *軽金属*, **61**, 60 (2011)
3. 小野幸子, マグネシウムの表面現象と酸化皮膜の成長 (解説), *表面技術*, **62**, 198 (2011)
4. H. Asoh, K. Uchibori and S. Ono, Anisotropic chemical etching of silicon through anodic oxide films formed on silicon coated with microspheres, *Semiconductor Science and Technology*, **26**, 102001/1 (2011)

学会発表

1. 阿相英孝, 谷川博昭, 大野卓哉, 久保田正広, 小野幸子, Ti-HAp 複合材料の耐食性および生体親和性におよぼすメカニカルアロイングの影響, 軽金属学会第 120 回春期大会 p.21 (2011.5)
2. 今村保忠, 黒田雄士, 阿相英孝, 小野幸子, 表面微細構造による金属材料の生体適合性制御, 第 167 回 東京医科大学医学会総会 (2011.6)
3. 阿相英孝, 小野幸子, チタン多孔体の硬組織適合性に及ぼす生体活性化処理の効果, 第一回医薬工 3 大包括連携推進シンポジウム (2011.7)
4. S. Ono, Y. Kuroda, H. Asoh and Y. Imamura, Cell Activation Characteristics on Structurally Controlled Surfaces of Aluminum, 62nd Annual Meeting of the International Society of Electrochemistry, Abstracts No.Ise112315 (2011.9)
5. Anawati, H. Tanigawa, H. Asoh, T. Ohno, M. Kubota and S. Ono, Effect of Mechanical Milling on Corrosion Resistance and Biocompatibility of Titanium-Hydroxyapatite Composites, 62nd Annual Meeting of the International Society of Electrochemistry, Abstracts No.Ise112316 (2011.9)
6. 小林大記, 阿相英孝, 小野幸子, アパタイト付与によるマグネシウムの耐食性の改善, 腐食防食協会第 58 回材料と環境討論会 p.361 (2011.9)
7. S. Ono and H. Asoh, Biocompatibility of Magnesium Controlled by Surface Structuring, 220th Meeting of the Electrochemical Society, Abstracts No.1801 (2011.10)
8. 小林大記, 阿相英孝, 小野幸子, 交互浸漬法によりアパタイトを付与したマグネシウムの生体親和性, 無機マテリアル学会第 123 回学術講演会 p.20 (2011.11)

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 (芝浦工業大学)

Atsushi Yumoto (Shibaura institute of Technology)

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に最も必要とされる機能は、生体内環境下（体液、細胞、体温など）において生体毒性（細胞刺激性、発がん性、突然変異誘発性、催奇性）が低く拒絶反応を起こさないことである。さらに日常生活において可動頻度の多い股関節や膝関節の代替材には、体重の2倍以上の荷重に耐え、かつ関節の摺動運動を可能とする磨耗特性も有していることが要求されている。現在、人工骨や人工関節などには、ステンレス鋼、Co-Cr合金、Ti合金などが広く活用されている。特に、Tiは生体毒性が最も低く生体親和性に優れている材料の一つであることが既に臨床的に証明されており、様々な部位の骨や関節への代替材としての利用が検討されている。しかし、生体内でイオンの溶出が少ないなど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、早期に骨と結合し、短期間で生体機能の回復が可能となることが要求されている。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）を皮膜としてコーティングする試みが多くの研究者によってなされているが、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解決しなければならない技術的課題が存在する。

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により膜形成させる新しいコーティング法である。本研究は、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、アパタイト粒子分散 Ti 膜を形成させ、疑似生体環境下での骨類似アパタイトの生成速度を評価することを目的とした。本研究の成果により、既存の成膜法による HAp 膜の技術的課題を克服し、生体組織活性性能の高く人工骨や人工関節などとして利用可能な新しい生体適合性膜の成膜法としての本法の確立を目指す。

2. 実験方法および条件

2.1 超音速フリージェット PVD 装置

超音速フリージェット PVD 装置の概略図を Fig 1 に示す。本装置は、ナノ粒子を生成する「ナノ粒子生成室」（Fig 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）、加振機の上に設置されたガラス製の分散粒子供給室（図中ナノ粒子生成室の左）、合計三つ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、各々の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。さらに、分散粒子供給室に充填されている粒子は、ガスを供給することによりキャリアガスと共に膜形成室まで搬送、基板上で生成室から搬送されるナノ粒子と混合し膜中に粒子が分散させることが可能である。本研究ではナノ粒子生成室に膜原料となる Ti を設置、市販の HAp 粉末を分散粒子供給室に充填することにより、生成室で生成させた Ti ナノ粒子と供給室からの HAp 粉末を膜形成室内の基板上で混合させ、Ti マトリックス中に HAp 粒子を分散させた膜の形成を試みる。従来技術と比較して基板温度を上げずに緻密な膜形成が可能となるなどの本法の特徴をいかり、緻密な Ti 膜中に生体適合性の高い結晶構造・組成の HAp 粒子を分散させることが可能となることを期待している。

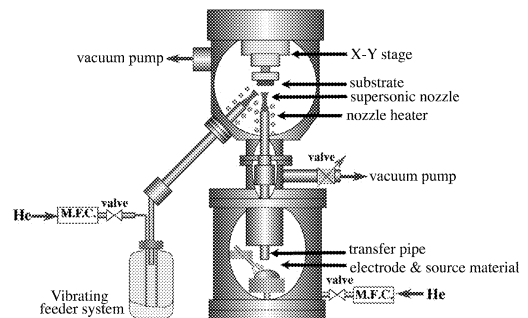


Fig 1: Schematic diagram of SFJ-PVD apparatus.

2.1 実験条件

Table 1: Preparation conditions of HAp/Ti coating films.

Supersonic Free-Jet PVD apparatus	
Source material	Pure Ti
Primary gas	He
Nozzle	Mach 4.2
Evaporation power	400W
Nozzle temperature	873K
Substrate material	CP-Ti , SUS304
Substrate temperature	423K
Vibrating feeder system	
Supplying powder	HAp powder
Carrier Gas	He
Carrier gas flow rate	0-4.25SLM
Vibration	0-1200rpm

基板には、20mm 角・板厚 1mm の JIS-2 種 Ti 板を用い、基板の前処理はアセトン中で 10 分間超音波洗浄のみ行った。また、皮膜原料には純 Ti (3N)、Ti マトリックス中に分散させ

るアパタイトは天然由来水酸アパタイト（粒径 0.7~0.3 μm ）を使用した。成膜条件を Table 1 に示す。成膜した皮膜は Table 2 に示す pH7.4 液温 37 $^{\circ}\text{C}$ の疑似体液（SBF）¹⁾ に 14 日間浸漬させ、骨類似アパタイトの生成の有無を観察した。

Table 2: Nominal ion concentrations of SBF in comparison with those in human plasma.¹⁾

Ion	Ion concentrations (mM)	
	Blood plasma	SBF
Na^+	142.0	142.0
K^+	5.0	5.0
Mg^{2+}	1.5	1.5
Ca^{2+}	2.5	2.5
Cl^-	103.0	147.8
HCO_3^-	27.0	4.2
HPO_4^{2-}	1.0	1.0
SO_4^{2-}	0.5	0.5
pH	7.2-7.4	7.40

また、密着性を評価するために SUS 基板上に Ti 膜を成膜し、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より検討した。圧子圧入法は、皮膜-基材断面の界面部に対してピ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。

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

$$\left(\frac{E_l}{H_l} \right)^{1/2} = \frac{(E/H)_s^{1/2}}{1+(H_s/H_T)^{1/2}} + \frac{(E/H)_T^{1/2}}{1+(H_T/H_s)^{1/2}} \quad (2)$$

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ピッカースで測定した値を用い、ヤング率は文献値²⁾ (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. 実験結果

Fig 2 は、Ti 基板上に形成させたアパタイト粒子分散 Ti 膜の表面写真である。皮膜表面にはき裂などの欠陥は確認されず Ti マトリックス中にアパタイト粒子が分散した緻密な皮膜が形成されていることが確認された。また、皮膜を XRD 分析した結果、皮膜から Ti と HAp のピークが確認された。

皮膜を SBF に 14 日間浸漬させた結果を Fig 3 に示す。SBF 浸漬による骨類似アパタイトの生成が確認された。

圧子圧入法により発生した界面き裂の代表例を Fig 4 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 K_c 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 以上のピ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。

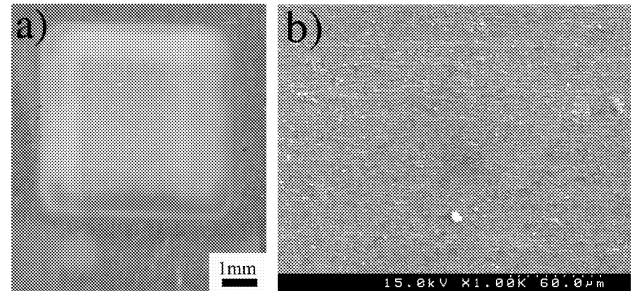


Fig 2: Photographs of surface of a graded HAp/Ti composite coating film. (a) Observation with OM and (b) higher magnification observation on (a) with SEM.

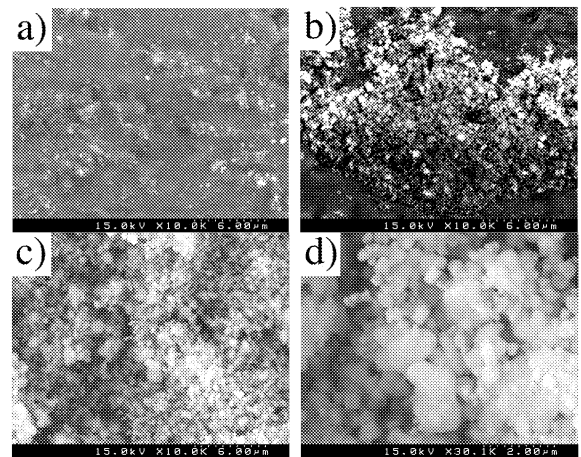


Fig 3: Surface morphology of composite coating films in SBF. (a) As deposited, (b) after 7 days, (c) after 14 days and (d) higher magnification for (c).

4. 結論

本研究は、超音速フリーズジェット PVD に分散粒子供給機構を組み込み、アパタイト粒子分散 Ti 膜の形成を試みた。Ti 基板上に形成させたアパタイト粒子分散 Ti 膜は緻密であり、SBF に 14 日間浸漬させた結果、骨類似アパタイトの生成が確認され、本法によるアパタイト粒子分散 Ti 膜は生体活性能を有することが明らかとなった。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 K_c は $74.5 \text{MPa}\cdot\text{m}^{0.5}$ であった。

参考文献

- (1) T. Kokubo, and H. Takadama, Biomater., 2006, 27, p.2907-2915.
- (2) 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

- A. Yumoto, T. Yamamoto, F. Hiroki, I. Shiota and N. Niwa, Science and Engineering of Composite Materials, vol. 18(2011), pp. 265-269.

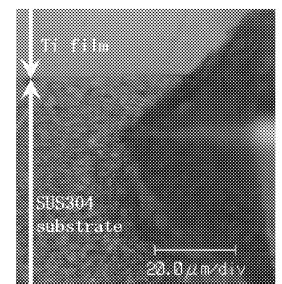


Fig 4: Interfacial cracks initiated by the indentation tests.

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 — 焼結リン酸カルシウム製人工骨と補強用チタンメッシュプレートの力学的特性 —

Development of Bone Implants Made of Titanium Alloys by Milling-Combined Laser Metal Sintering System (Meshed Titanium Plates for Reinforcement of Sintered α -Tricalcium Phosphate Bone Implants)

何 建梅
Jianmei He

Keywords: Meshed Titanium Plates, Sintered α -Tricalcium Phosphate Bone Implants, Reinforcement

1. 緒言

人や動物が病気や怪我で骨に欠損を負ってしまった場合、骨の移植手術を受ける。現状の骨移植手術には大きく分けて、自家骨移植（自分自身の骨）、他家骨移植（同じ動物種の骨）、人工骨移植（リン酸カルシウムなどの生体材料によるもの）がある。自家骨移植には摂取量の限界、他家骨移植にはドナー確保の問題、免疫反応による拒絶など、それぞれの制限・短所がある。人工骨移植では、骨主成分であるリン酸カルシウム製人工骨や生体親和性の良いチタン製人工骨などを用いる移植であり、自家骨移植と他家骨移植に比べ感染症のリスクや美観性の問題点がない。

リン酸カルシウム製人工骨は焼結の温度により強度が変化し、完全に焼結すると材料強度は上がるが新生骨に置換難くなることが挙げられる。現状のリン酸カルシウム人工骨は新生骨に置き換わる性質を持たせるため未完全焼結状態の構造で実用化され、強度不足で力のかからない顎や顔などの顔面骨にしか使われない制限がある。一方、現状のチタンメッシュプレートを人骨の表面である皮質骨の代わりに貼り付けて用いられているが伸縮性が乏しく追従性などの問題がある。本研究では、まず焼結条件による焼結リン酸カルシウムの材料力学的特性を把握した。それから強度補強用の3次元柔軟性を持たせるチタンメッシュプレートの設計検討を行い、試作したチタンメッシュプレートの引張・圧縮または曲げ特性を実験及び解析の評価を行い、チタンメッシュプレートの構造力学的特性を把握する実験及び解析方法を確立した。

2. 射出成形による焼結リン酸カルシウムの力学的特性

2.1 焼結リン酸カルシウムの曲げ特性評価

表1に示すリン酸カルシウムの焼結条件で作製した焼結リン酸カルシウム試験片を用いて三点曲げ試験を行った。焼結上昇温度とは、焼結時焼結炉内の1時間当たりの上昇温度のことである。焼結リン酸カルシウムの3点曲げ試験で支点間距離はすべて30mmに設定した。試験機にはオートグラフ試験装置を使用し、200Nのロードセルによる負荷荷重の計測を行った。得られた荷重-変位データから梁の理論に基づき、焼結リン酸カルシウムの曲げ弾性率と曲げ強度を算出した。

実験	焼結上昇温度	焼結温度				
1	50℃/h	900℃	1000℃	1100℃	1200℃	1300℃
2	100℃/h	1100℃	1150℃	1200℃	1250℃	1300℃
3	100℃/h	900℃	1000℃	1100℃	1200℃	1300℃

2.2 焼結リン酸カルシウムの圧縮特性評価

曲げ特性評価試験と同様な焼結条件で作製した焼結リン酸カルシウムの圧縮試験を行った。圧縮試験片形状は座屈しないように考慮して設定した。試験機にはオートグラフ試験装置を使用し、また試験片エッジの破壊を防ぐためク

ラック防止ラバーを使用した。試験速度はJIS規格に基づき0.5mm/minとして試験片が破壊されたときの荷重を測定して圧縮強度を算出した。

2.3 焼結リン酸カルシウムの材料特性評価結果

焼結リン酸カルシウムの曲げ・圧縮試験結果を図1～図3に実験結果を示す。実験の結果、曲げ弾性率、曲げ強度は焼結温度1100℃～1150℃の範囲でグラフピークを持ち、釣鐘型のグラフ傾向を示す。圧縮強度については1100℃近傍を境に数値が平均化されるという傾向を示した。

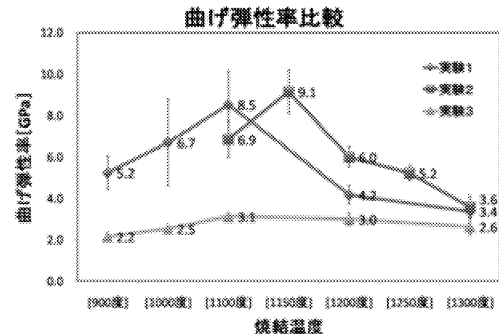


図1：焼結リン酸カルシウムの曲げ弾性率結果

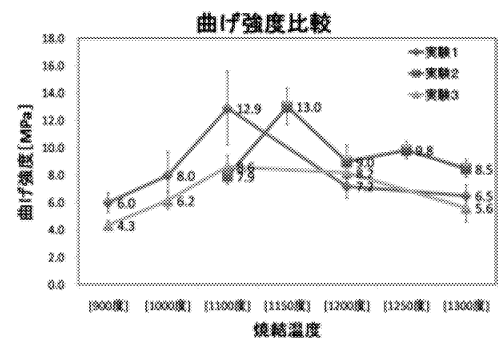


図2：焼結リン酸カルシウムの曲げ強度結果

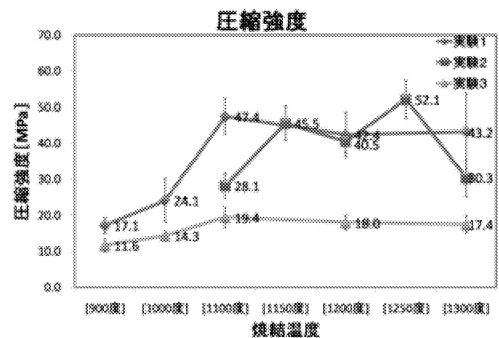


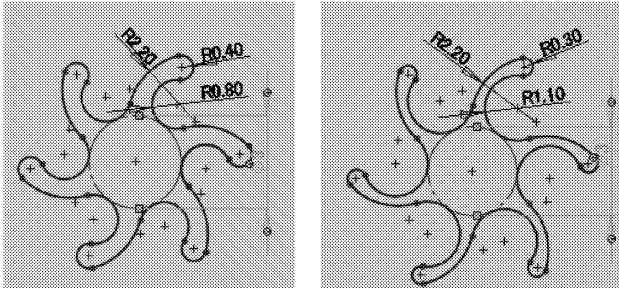
図3：焼結リン酸カルシウムの圧縮強度結果

3. 補強チタンメッシュプレート設計検討と力学的特性

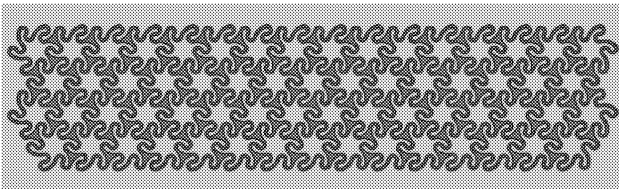
3.1 チタンメッシュプレート基本形状の設計検討

試作チタンメッシュプレートのため、下記に示す5つの観点からメッシュ形状に関する設計検討を行った。設計したメッシュ基本形状例と構成されるメッシュプレート例のCAD図面を図4と図5に示す。

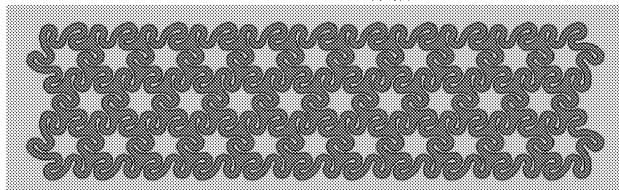
- ① 加工簡易化や低コストの観点から1つ基本形状にする
- ② メッシュ線幅の均一と角を無くすことで応力集中の回避
- ③ S字カーブの深さ変化で伸縮や曲げ特性に対応させる
- ④ 手術固定用ビスに合わせた空間の設置
- ⑤ 円弧のみを使用した形状設計



メッシュ線幅 0.4mm メッシュ線幅 0.8mm
図4：考案・設計したメッシュ基本形状



0.4mm メッシュ線幅



0.8mm メッシュ線幅

図5：メッシュ基本形状からなるメッシュプレート

3.2 チタンメッシュプレートの面内圧縮特性評価

考案・設計した各種メッシュ基本形状を用いて0.3mm厚と0.8mm厚のチタンプレートに適応してチタンメッシュプレートの試作を行った。今年度では得られたチタンメッシュプレートの面内圧縮特性を実験的及び解析的評価した。

具体的にJIS規格K7016, K7076(等方性及び直交異方性繊維強化プラスチックの面内圧縮)に基づいて実施した。試験片の寸法と治具の寸法制限でメッシュ線幅が0.4mmでプレート厚が0.3mmと0.8mmの2種類チタンメッシュプレートを対象にした。圧縮専用治具及び試験片装着した写真は図6に示す。またチタンメッシュプレートの面内圧縮試験で得られた荷重-変位線を図7と図8に示す。

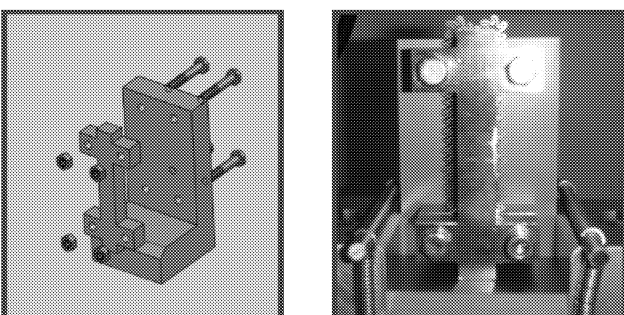


図6：薄板面内圧縮試験用治具と試験片の装着写真

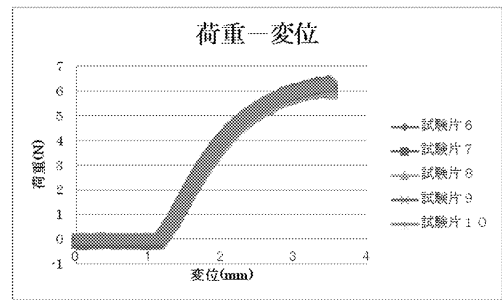


図7：プレート厚 0.3mm チタンメッシュプレートの圧縮結果

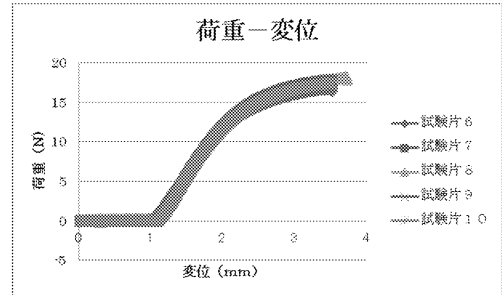


図8：プレート厚 0.8mm チタンメッシュプレートの圧縮結果

上記荷重-変位線の線形弾性範囲を取り出し、その荷重-変位線の傾きから算出したチタンメッシュプレートの面内圧縮弾性率を表2に示す。

表2：メッシュ線幅 0.4mm チタンメッシュプレート圧縮弾性係数

プレート厚 0.3mm 試験片 (MPa)	68.58±3.73
プレート厚 0.8mm 試験片 (MPa)	75.48±5.84

4. 結言

焼結リン酸カルシウムの曲げ・圧縮試験を行い、焼結温度1100℃近傍で弾性率、強度において最高値を示す。これはSEM破断面観察から気孔径寸法による影響であると考えられる。焼結温度1100度では1次粒子同士の結合が始まる温度であり、気孔径も数μmと微細であることが曲げ強度に最高値を示した原因と考えられるが、結晶構造の変化による影響もまた議論が必要で、強度への影響を断定できない。また、最弱環理論を用いることで実体品の安全設計を行うことができることを確認した。これは実験によって妥当性を検討する必要がある。

一方、六角形ポリゴン形状をベースに異なるメッシュ線幅、S字カーブ曲率を用いた基本メッシュ形状を独自で考案・設計し、純チタンプレートを用いてワイヤー放電加工による試作チタンメッシュプレートの面内圧縮特性を評価する圧縮試験方法を確立し、再現性の良いチタンメッシュプレート面内圧縮弾性係数が得られた。

文献

- 1) R.W.ダヴィジ, セラミックスの強度と破壊, 共立出版, 1981
- 2) 日本機械学会, 生体機械工学, 100-108, (1997)
- 3) 山田博: 人体の強度と老化 (1979) 他

査読付国際学会

R. Abiko, K. Zama, T. Sinoda, S. Suzuki, J. He, A Primary Study on the Meshed Titanium Plate Structures for Reinforcement of Tricalcium Phosphate Bone Implants, International Conference on Advanced Technology in Experimental Mechanics 2011 (ATEM'11)m, Kobe, Japan

学会発表

渡辺, 高根, 鈴木, 何, 日本機械学会 M&M2011 材料力学カンファレンス(2011)

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「マイクロリアクターの反応成績評価」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、上記の組織で4つの小テーマの研究が遂行されている。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

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マイクロバブルを利用したドラッグデリバリーシステム等を開発およびその技術を研究する。クライオプローブとは、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り冷却効果を生じさせる低温治療用の器具である。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を排出される。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。

今年度は、上記他、微細管を応用する各種医療機器の開発の基礎的研究として、マイクロ円管流路を用いて、単相流の圧力損失、単相流の熱伝達および沸騰熱伝達を定量的に検討するとともに、マイクロオーダーの円管内熱流体挙動に対する従来の各種相関式の適用限界を検討し、「内径0.15mmでも、熱伝達特性に対しても、従来スケールの相関式が適用できる。これは、流路代表寸法に比べ、分子の平均自由行程（液体の場合には、ホール間距離）に比べ、流路代表寸法が十分大きい」と結論づけた。

1.3.2. 体内埋込用ポンプ開発のための基礎的研究

構造が簡単で漏れ流量が小さく比較的高い吐出圧が期待できる円板型粘性マイクロポンプに着目して、性能特性の解明を試みた。本年度は、ポンプ形状の最適化を目指し、同一流路高さと同一流路断面積の2つの条件下でポンプ性能に及ぼす内外径比（流路アスペクト比に対応）の影響について理論解析、数値計算並びにモデル実験を行った。主として圧力分布、流速分布とポンプ性能との関係について

議論した。その結果、下記を明らかにした。性能曲線は右下がりの直線で表される、性能曲線では内外径比が大きくなるほど圧力係数の最大値（ゼロ流量での吐出圧）が大きく、流量係数の最大値（ゼロ圧力での流量）が小さくなっている。すなわち、内外径比が大きくなるほど性能曲線の勾配（負）が小さくなる。内外径比が小さい場合には三元流れとなることから、数値計算と理論解析とに傾向の違いを生じ、内外径比0.2付近が理論解析の適用限界と考えられる。

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呼ぶ。これと同じ反応を行う酵素をニトロゲナーゼといい、多くの窒素固定菌がこの酵素を持っている。一般に、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が、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。

前年度までの研究から、この微生物のニトロゲナーゼ複合体にあるSt2タンパク質を大腸菌に強制発現させ、組換え型St2タンパク質(rSt2)として簡易に精製する方法を確立したので、今年度はこのタンパク質の特性について解析した。現在のところSt1はStreptomyces thermoautotrophicus由来のものを使用しているが、我々がBERC発足時に提案したtiny bioreactorは完成したと思う。今後St1も組換えDNA技術により、大腸菌で生産することを試みる。

1.3.4. 酵素反応マイクロリアクタの反応成績

今年度は反応成績をより促進することを目的に、マイクロリアクターの流路について検討、特に、拡散律速反応系である中和反応実験による、直線流路に屈曲部を設けたときの反応特性の改善と、さらに変形した界面からの拡散モデルのシミュレーションでその要因を検討した。また、実験とシミュレーションで得られた知見より、改善に適した屈曲流路マイクロリアクターの設計指針も示した。その結果、直線流路に屈曲部を設けたとき、最大35%反応時間を短縮し、反応特性の改善がみられた。改善の要因は、反応の拡散律速段階部分の拡散距離の短縮である。この知見から、改善に適した屈曲流路マイクロリアクターの設計指針として、平均流速80mm/s前後で、曲率半径を小さくし屈曲部後の流路長を確保することが重要であると示唆された。

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 —マイクロ円管内の圧力損失と熱伝達に関する研究—

Study on Pressure Loss and Heat Transfer in Micro Circular Pipe

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: Micro circular pipe, Pressure drop, Heat Transfer, Boiling

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マイクロバブルを利用したドラッグデリバリーシステム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⁾。最近では、シミ等に代表される皮膚表面の治療にも利用されている。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。本報告は、この低温治療用クライオプローブシステムの開発他、微細管を応用する各種医療機器の開発の基礎的研究として、また血管内の流体力学的挙動および物質移動的挙動の基本的な研究として、代表寸法が小さい直径 0.15mm のマイクロ円管流路を用いて、単相流の圧力損失、単相流の熱伝達および沸騰熱伝達を定量的に検討するとともに、マイクロオーダーの円管内熱流体挙動に対する従来の各種相関式の適用限界を検討した。なお、ドラッグデリバリーシステムの開発に関する基礎的研究については、昨年度の報告書並びに巻末の学会発表原稿を参照頂きたい。

2. 実験装置および実験方法 Fig.1 に、本実験装置を示す。また、テスト部詳細図を Fig. 2 に、実際に使用したテスト部の写真を Fig. 3 に示す。Fig. 1 に示すように、実験装置は、テスト部 (Fig. 3)、液タンク、循環ポンプからなるループ系である。テスト部がマイクロ流路のために、循環ポンプには、吐出ヘッドの高いギアポンプを用いて、さらにこのギアポンプ 4 台を直列に接続して、循環系を形成した。

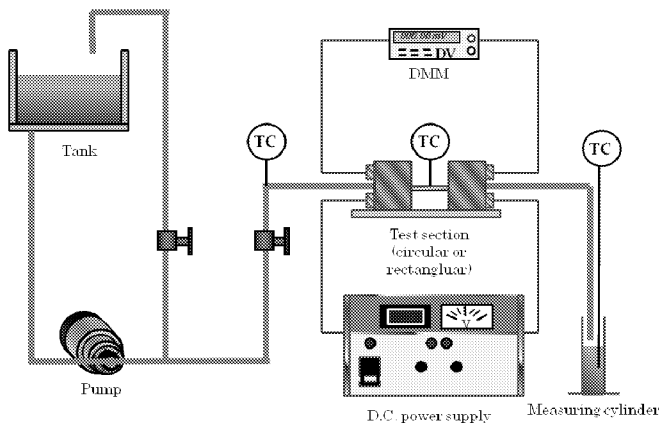


Fig. 1 Experimental apparatus

テスト流路は市販(特注)の内径 0.15mm の SUS304 円管であり、単面処理も施している。試験液には市販の純水(蒸留水)を使用した。試験液の温度は 25℃とした。計測は、流量および温度が十分安定した後に行った。すなわち、定常実験を行った。流量の測定にはテスト部出口から流出した試験液をメスシリンダーに溜め、電子天秤(分解能 0.01g)とストップウォッチにより、重量法で計測、実験後、流路平均流速を得た。微細管の加熱には、直流電源を用いて直接通電加熱(定電流条件)を利用した。なお、微細管左右部に電圧タップ線をスポット溶接にて設置し、この間の電位差、距離および電流値、それぞれの測定値(ジュール発熱量)より、熱流速を算出した。熱損失の実験も別途行ったが、熱損失が占める割合は 3%以下であった。温度計測に関しては、流路中心部付近の微細管表面に、直径 0.1mm のアルメルクロメル系(K型)熱電対素線をスポット溶接にて取り付け、その電圧で得られた温度を代表温度とした。圧力損失については、テスト部入口部と出口部に圧力タップを設置し、ダイヤフラム型圧力計にて計測した。試算によると、微細管での圧力損失が十分に大きく、出入口の形状損失の影響は小さいことを確認した。

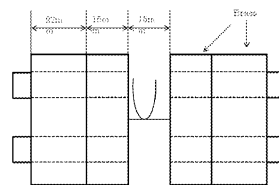


Fig. 2 Details of test section

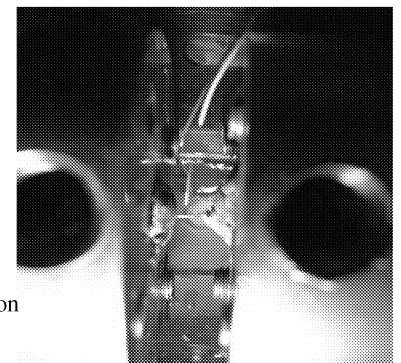


Fig. 3 Photograph of test section

3. 実験結果および考察 Fig.4 に、円管内水単相流の圧力損失に関する本実験結果 (λ -Re 線図) を示す。Fig.4 中には、円管内径 0.15mm に加え、内径 0.5mm の本実験条件も併せて記す。Fig.4 から、円管内径 0.15mm の管摩擦係数は、通常理論式($\lambda=64/Re$)で表現できることがわかる。また、層流から乱流への遷移域は $Re=2300$ 付近であることがわかる。乱流域に対しては、定量的に若干の差異が認められるものの、通常流路の相関式であるブラジウスの式 ($\lambda=0.3164/Re^{0.25}$) にてほぼ表現できることがわかる。これらの結果は、既報⁽²⁾の結論と一致しており、円管内径 0.15mm に対しては、通常スケールの流体力学が適用できることが確認された。

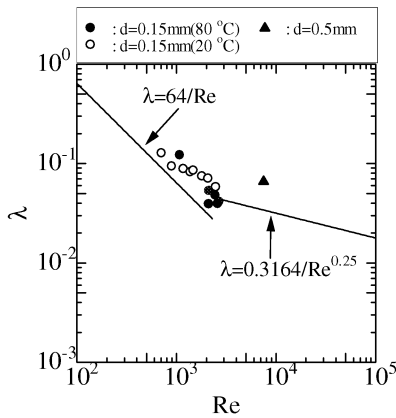


Fig. 4 λ vs. Re in circular channels

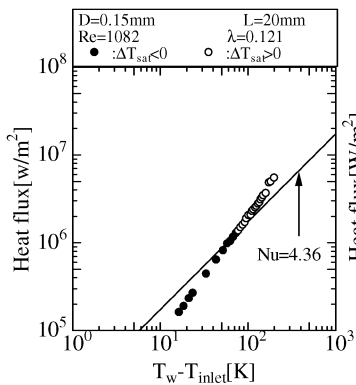


Fig. 5 Single phase flow heat transfer

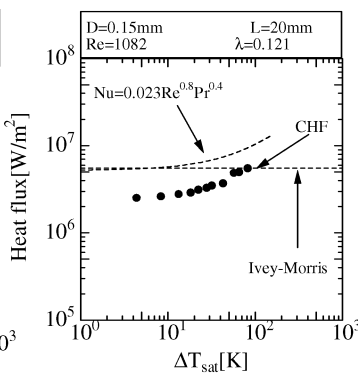


Fig. 6 Boiling curve

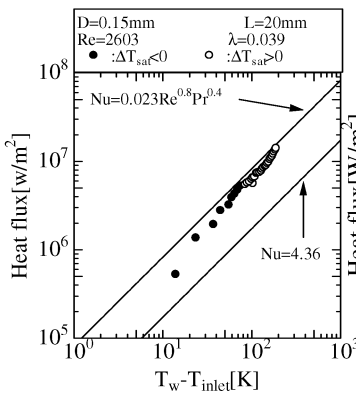


Fig. 7 Single phase flow heat transfer

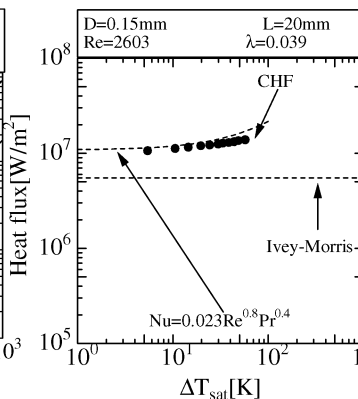


Fig. 8 Boiling curve

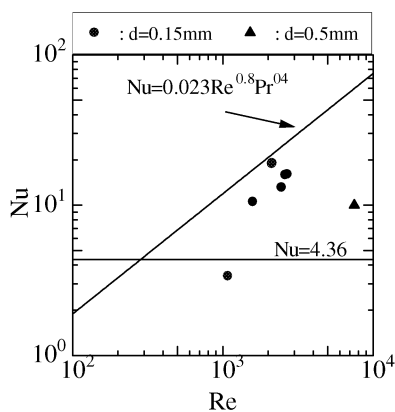


Fig. 9 Nu vs. Re in circular channels

Figs.5 および 6 に、微細管内径は 0.15mm に対する、層流域 ($Re=1082<2300$) の流動条件に関する加熱実験の結果を、Figs.7 および 8 に、乱流域 ($Re=1082>2300$) での加熱実験での結果を示す。Figs. 5 および 7 には、単相熱伝達の結果を、Figs. 6 および 8 には、沸騰熱伝達の結果を示す。Figs. 5 および 7 に示すように、内径 0.15mm の微細管に対しては、従来サイズの相関式である、層流に関する解析解 $Nu=4.36$ (円管流路、等熱流速面) および乱流に関する Dittus-Boelter の式で、それらの熱伝達特性は表現可能であることがわかる。この事実は、Choi ら⁽³⁾の論文を始め、多くの研究者が指摘している「マイクロ流路では、通常スケールの相関式に補正が必要となり、特に層流条件では、Nu が寸法の関数となる」との結論が、現状技術の実験系および測定系を用いることで、「内径 0.15mm でも、熱伝達特性に対しても、従来スケールの相関式が適用できる。これは、既報⁽²⁾で公表したように、流路代表寸法に比べ、分子の平均自由行程 (液体の場合には、ホール間距離: $\delta_{hole}=[V_m/N_A]^{1/3}$, ここで、 V_m : 分子の体積、 N_A : Avogadro 数) に比べ、流路代表寸法が十分大きい」と結論づけることができる。なお、Fig.9 に、その結論である Nu-Re 線図を示す。

また、Figs. 6 および 8 に、マイクロ円管条件の沸騰熱伝達特性を示すが、その実験結果は、従来の単相熱伝達の相関式に一致して推移した後、核沸騰 ($q \propto \Delta T_{sat}^3$) の傾向を経ずに、限界熱流束、すなわち、加熱面の焼損に至った。これは、過熱液相下での沸騰開始過熱度条件が、従来のプール沸騰の数 $K \sim$ 数十 K に比べ、百度近くまで達したため、沸騰気泡の発生と同時に加熱面全体が蒸気泡に覆われ、急激な加熱面上昇に至ったものと考えられる。なお、Fig.6 の低流速条件に関しては、従来のサブクールプール沸騰の相関式で表現可能であることがわかる。一方、Fig.8 の乱流条件に関しては、液流束の補正が必要とされる。

なお、本研究期間中、微細管内径 50 μ m の実験を試みたが、ポンプ能力が足りず (試算よると、約 10^7 Pa = 100 気圧必要)、実現不可能であった。実験機器の十分な安全を整えた上で、次年度試みる予定である。

4. 結言 直径 0.15mm のマイクロ円管流路を用いて、単相流の圧力損失、単相流の熱伝達および沸騰熱伝達を定量的に検討するとともに、マイクロオーダーの円管内熱流体挙動に対する従来の各種相関式の適用限界を検討し「内径 0.15mm でも、熱伝達特性に対しても、従来スケールの相関式が適用できる。これは、既報で公表したように、流路代表寸法に比べ、分子の平均自由行程 (液体の場合には、ホール間距離) に比べ、流路代表寸法が十分大きい」と結論づけることができることを示した。なお、通常スケールの熱輸送と物質輸送のアナロジーから、このスケールに対しても、物質輸送 (拡散) に対する従来相関式が適用できると考えられる。

参考文献 (1) 円山ほか、第 41 回伝熱シンポジウム講義集、(2004)、395. (2) H. Ohtake・ほか 3 名、ASME IMECE2007、(2007)、IMECE2007-44006. (3) S. Choi・ほか 2 名、Micromechanical Sensors, Actuators and Systems (Ed. By Cho, D. et al.), ASME, DSC-Vol. 32, (1991)、123.

査読付国際学会

N. Haraguchi and H. Ohtake, Study on Pressure Loss of Liquid Single-Phase Flow and Two Phase Flow in Micro- and Mini-Channels, 19th International Conference on Nuclear Engineering, (2011), ICONE19-43620, 1-4. ほか 1 編。

学会発表

小野昭人、大竹 浩靖、気液二相流を利用した固相粒子の輸送に関する研究、2011 年可視化情報学会全国講演会、(2011)、ほか 7 編。

1.3.2 体内埋込用ポンプ開発のための基礎的研究

— 回転円板型粘性マイクロポンプに関する研究 —

Study on a Disk Type Viscous Micro Pump

佐藤 光太郎, 横田 和彦 (青学大)

Kotaro SATO, Kogakuin University, Nishi-Shinjuku 1-24-2, Shinjuku-ku, Tokyo
Kazuhiko YOKOTA, Aoyama Gakuin University, 5-10-1, Fuchinobe, Chuo-ku, Sagamihara, Kanagawa

Keywords: Viscous Micro Pump, Rotating Disk, Performance Curves, Reynolds Number

1. 諸言

医用機器, 工業製品の小型化・軽量化の流れはもはや留まることを知らず, デバイスのマイクロ化が急速に進んでいる^{[1][2]}. マイクロポンプ開発も MEMS (Micro Electro Mechanical Systems), NEMS (Nano Electro Mechanical Systems) 分野におけるキーテクノロジーと位置付けられ, 医学, バイオテクノロジー, 化学, 機械工学など幅広い領域での応用が期待されている. これまでも様々な多様な原理に基づく液体輸送方法が考案されているが, 現時点で実用化されているマイクロポンプの主流は容積型ポンプである. しかし, 容積型ポンプにはポンプ出口速度変動の抑制, 高集積化などに課題が残されている. 一方, 粘性マイクロポンプでは回転円筒型やヘリカル型, 二重円筒型, スパイラル型などが考案され, 出口速度の脈動が極めて小さく連続送液に適していること, Re 数が小さくなるほどポンプ性能が向上することなどの利点がある反面, 容積型と比較して吐出圧が小さいこと, 性能が製作精度に大きく依存することなどの欠点がある^[2]. 特にヘリカル型, スパイラル型では流路間の漏れ流量が問題となる.

本研究では構造が簡単で漏れ流量が小さく比較的高い吐出圧が期待できる円板型粘性マイクロポンプに着目して, 性能特性の解明を試みる. ここではポンプ形状の最適化を目指し, 同一流路高さと同一流路断面積の2つの条件下でポンプ性能に及ぼす内外径比 (流路アスペクト比に対応) の影響について理論解析, 数値計算並びにモデル実験を行った. 主として圧力分布, 流速分布とポンプ性能との関係について議論した.

2. 主な記号

h : 流路高さ [m]	w : 流路幅 [m]
Q : 流量 [m^3/s]	Δp : 圧力差 [Pa]
r_1 : 内縁半径 [m]	p : 圧力 [P]
r_2 : 外縁半径 [m]	P : 無次元圧力 ($=p/(\rho U^2/2)$)
r_a : 平均半径 [m]	$\Delta\theta$: 入口出口角度 [rad]
h/w : アスペクト比	μ : 作動流体粘度
Re : Reynolds 数 ($=\rho U r_2/\mu$)	ω : 角速度 [rad/s]
s : 流路断面積 [m^2]	Φ : 流量係数 ($=Q/(U r_m^2 \pi)$)
U : 円板周速 ($=r_2 \omega$)	ψ : 圧力係数 ($=2\Delta p/\rho U^2$)

3. 理論解析, 数値計算および実験方法

図1に座標系を示す. 本図における $y=h$ に回転円板が存在し, 原点 O の回りを ω で回転する. すなわち, 上壁の移動速度は $r\omega$ となる. 本研究の理論解析では流路を直線とモデル化し, ストークス近似に基づく二次元流れを仮定して行なった. 性能予測式は(1)式で与えられる.

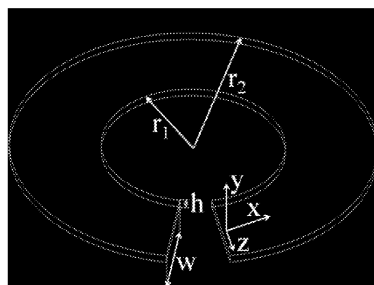


Fig.1 Coordinate system

$$\psi Re = \frac{3}{4} \frac{r_2^2}{h^2} \left(1 + \frac{r_1}{r_2}\right) \Delta\theta - \frac{3r_2^4 \pi}{wh^3} \left(1 + \frac{r_1}{r_2}\right) \Delta\theta \phi \dots (1)$$

数値シミュレーションには, 非構造格子系熱流体解析システム SCRYU/Tetra for Windows [(株)ソフトウェアクレイドル] を用いた. 本研究では層流・三次元非圧縮粘性流れを仮定して流れ場の解析を行った. 境界条件として入口境界では流速を与え, 出口境界では圧力一定条件 ($p=0$) を課した. 流路側壁, 下壁には no-slip 条件を適用し, 回転円板表面には流速を与えた. なお, y 座標方向には境界層を入れた. 計算グリッド数は 260 万程度である. 実験ではセンチスケールのモデルポンプを試作し, グリセリンを作動流体とすることで, 低 Re 数流れを実現した. ポンプ吐出圧は微差圧センサを用いて計測し, 流量は電子天秤による重量法で算出した.

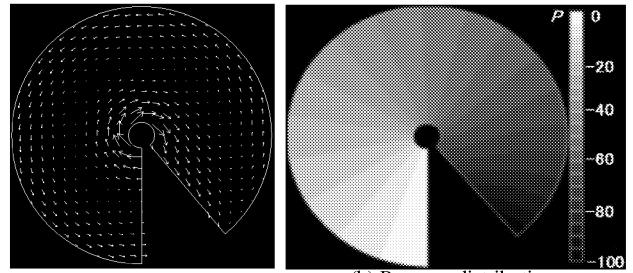


Fig.2 Flow patterns for $r_1/r_2=0.1, \phi=0$ ($h=0.001, w=0.0279, s=0.0000279$)

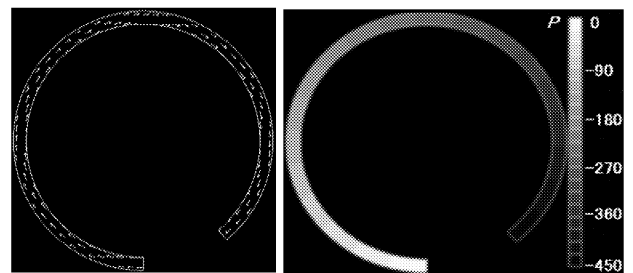


Fig.3 Flow patterns for $r_1/r_2=0.9, \phi=0$ ($h=0.001, w=0.0032, s=0.0000032$)

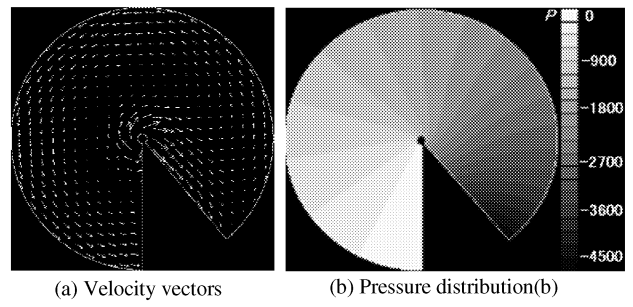


Fig.4 Flow patterns for $r_1/r_2=0.035, \phi=0$ ($h=0.000104, w=0.0032, s=0.0000032$)

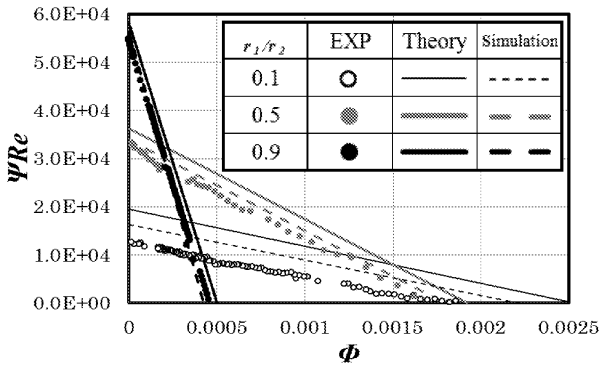


Fig.5 Relation between Φ and ψRe
($h=0.001$, $Re=125$)

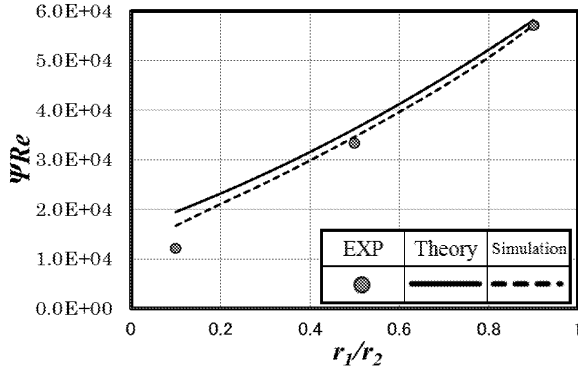


Fig.6 Relation between r_1/r_2 and ψRe
($h=0.001$, $Re=125$)

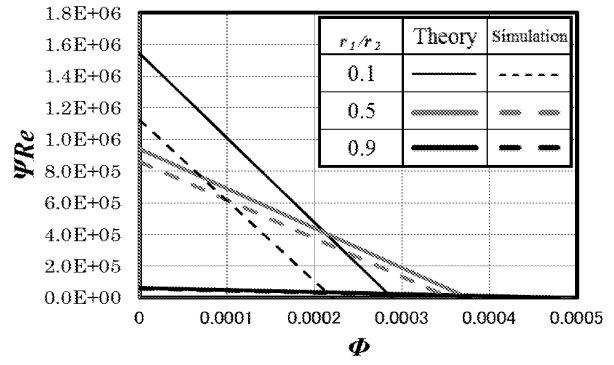


Fig.7 Relation between Φ and ψRe
($s=0.0000032$, $Re=125$)

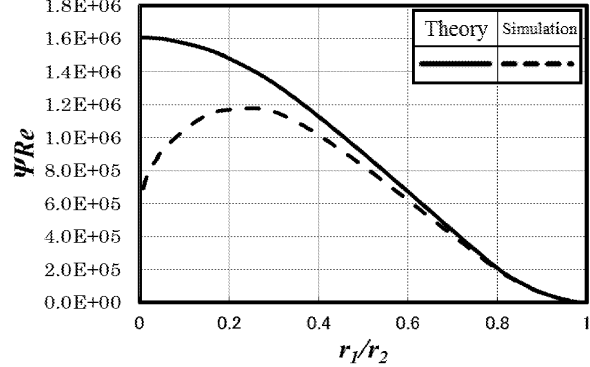


Fig.8 Relation between r_1/r_2 and ψRe
($s=0.0000032$, $Re=125$)

4. 結果と考察

図2~4に数値計算によって得られたフローパターンを示す。計算条件は $\phi=0$ であり、 $y/h=0.5$ 、 y 方向中央断面での(a)ベクトル図、(b)圧力分布である。図2は $r_1/r_2=0.1$ 、 $h=0.001$ 、 $w=0.0279$ 、 $s=0.0000279$ 、図3は $r_1/r_2=0.9$ 、 $h=0.001$ 、 $w=0.0032$ 、 $s=0.0000032$ 、図4は $r_1/r_2=0.035$ 、 $h=0.000104$ 、 $w=0.0032$ 、 $s=0.030769$ の場合である。すなわち、図2と図3は同一流路高さで異なる内外径比、図3と図4は同一流路断面積で異なる内外径比である。図2(a)と図4(a)の r_1/r_2 が小さい条件では外縁付近で順方向の流れ、内縁付近で逆流が見られるのに対して、図3(a)の r_1/r_2 が大きい条件では $y/h=0.5$ 中央断面の全領域で、概ね等しい周方向速度での逆流が見られる。すなわち、図3の $r_1/r_2=0.9$ では y 方向のみに速度分布が生じる準二次元流れであるのに対して、図2、4の $r_1/r_2=0.1$ 、 $r_1/r_2=0.035$ では y 方向のみならず、半径 r 方向にも速度分布を有する三次元流れとなっていることが推察される。これに対応して圧力分布も図3(b)では半径方向に圧力分布は確認できず、入口から出口にかけて周方向にほぼ一定増加しているが、図2(b)と図4(b)では入口に半径方向の圧力分布が認められる。なお、後述の性能評価には平均圧力を用いた。図5に流路高さ一定($h=0.001$)で流路幅、流路断面積が変化する場合である内外径比 $r_1/r_2=0.1, 0.5, 0.9$ に対する性能曲線を示す。実線は理論解析結果、破線は数値計算結果、点は実験結果を表す。いずれの条件でも他の粘性ポンプ同様、性能曲線は右下がりの直線で表される。本図では r_1/r_2 が大きくなるほど圧力係数の最大値(ゼロ流量での吐出圧)が大きく、流量係数の最大値(ゼロ圧力での流量)が小さくなっている。すなわち、 r_1/r_2 が大きくなるほど性能曲線の勾配(負)が小さくなる。なお、理論解析結果、数値計算結果と実験結果を比較すると、理論解析結果が数値計算、実験結果を上回っている。図6に流路高さ一定($h=0.001$)の条件下においてゼロ流量の無次元吐出圧 ψRe に及ぼす内外径比 r_1/r_2 の影響を示す。実線は理論解析、破線は数値計算、中実点は実験結果を表す。いずれの場合も概ね r_1/r_2 に正比例して ψRe が増加しており、定量的には理論解析結果が数値計算結果を上回っている。 r_1/r_2 が小さくなると平均半径が小さくなり、それに伴い回転円板の平均周速も小さくなるためと考えられる。なお、両者の差は r_1/r_2 が大きくなるにしたがって小さくなっていることから、両者の差異は理論解

析における二次元流れの仮定に起因するところが大きいことが伺える。図7に流路断面積一定で流路高さと流路幅(アスペクト比)が変化する場合である内外径比 $r_1/r_2=0.1, 0.5, 0.9$ に対する性能曲線を示す。本図の範囲では r_1/r_2 が大きくなるほどゼロ流量での吐出圧が大きく、ゼロ圧力での流量が小さくなっている。ただし、これは図5、6とは異なり流路高さ h が小さくなるためである。図8は流路断面積一定($s=0.0000032$)のままアスペクト比を変化させた場合の内外径比 r_1/r_2 とゼロ流量での無次元吐出圧 ψRe との関係である。理論解析では r_1/r_2 が小さくなるほど ψRe が上がり続けるのに対して、数値計算では内外径比 $r_1/r_2=0.2$ 付近に最大値が存在し、両者の傾向に違いがある。 r_1/r_2 が小さい場合には三次元流れとなることから、理論解析での二次元流れの仮定が主な原因であり、 $r_1/r_2=0.2$ 付近が理論解析の適用限界とも考えられる。

5. 結言

本研究では円板型粘性マイクロポンプの性能特性について理論解析、数値計算及びモデル実験により解明を試みた。

参考文献

1. M.I.Kilani, et al., Design and Analysis of a Surface Micromachined Mpiral-Channel Viscous Pump, J. Fluids Eng. 125(2003) 339-344
2. 西浦由華, Pressure Performance Characteristics of a Disk Type Viscous Micro Pump, 日本機械学会, 北信越支部, 第46期総会 1360(2009)507-508, in japan

査読付論文

1. Nishibe, K., Sato, K., Tsujimoto, Y. and Yoshiki, H., Control of Flow Instabilities Downstream of Radial Inlet Guide Vanes, Journal of Fluid Science and Technology Vol. 6 (2011), No.4, pp.651-661, 他2編

査読付国際会議

1. Tsunoda, R., Nishibe, K., Fujita, Y., Sato, K., Yokota, K. and Koso, T., Study on the Flow Characteristics of Synthetic Jets near a Rigid Plane Boundary, 9th Symposium on Fundamental, Issues and Perspectives in Fluid Mechanics, Hamamatsu, 2010.07.24

学会発表

1. 根本, 田中, 佐藤, 武沢, 横田, 日本機械学会年次大会 2011 (東京), 他4編

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

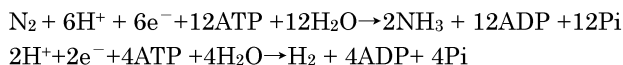
Yasuhiko SHIZAWA (Dept. of Bioresource Science, Nihon University Junior College)

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気圧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℃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。生化学の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 $4Fe_4S$ cluster

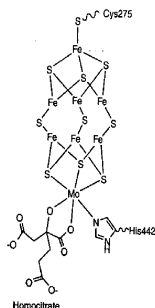


Fig.1 Structure of FeMoco active center of nitrogenase

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多種単離され、これらを carboxydrotroph という³⁾。

前年度までの研究から、この微生物のニトロゲナーゼ複合体にある St2 タンパク質を大腸菌に強制発現させ、組換え型 St2 タンパク質 (rSt2) として簡易に精製する方法を確立したので、今年度はこのタンパク質の特性について解析した結果を報告する。

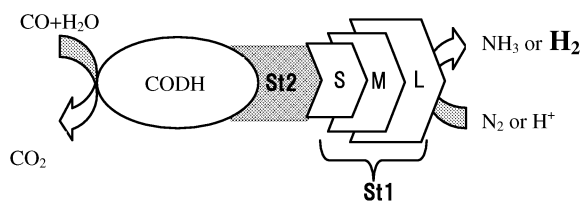


Fig. 2 *S. thermoautotrophicus* のニトロゲナーゼ複合体模式図
St1 は、ニトロゲナーゼ活性を持つ本体である。ヘテロ 3 量体で構成され、分子量の大きいものから順に sdnL, sdnM, sdnS と呼ばれている。

2. 実験結果

1) rSt2 の SOD 比活性の定量

Superoxide dismutase の活性測定には、多種多様な系がこれまで報告されているが、我々は比較的活性測定値が安定する riboflavin/ L-Met / NBT の光化学反応系を採用した。⁵⁾ 最初に、前年度に確立した rSt2 の熱処理精製法によって精製したタンパク質試料について、上記系を用いた活性染色によりその SOD 活性を確認したところ、200ng 程度のタンパク質で活性を可視化することが可能であった。(Fig.3)

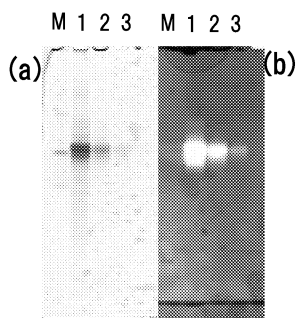


Fig.3 rSt2 のCBB染色 (a) とSOD活性染色 (b)

(a)(b)ともに精製したrSt2を12% native PAGEにて分離した. Lane1:5.0ug, Lane2:1.0ug, Lane3:0.2ug. (a)はCBB染色したもの. (b)はriboflavin/L-Met/NBTによる活性染色結果. 照射後rSt2が存在する場所ではNBTのO₂⁻による還元がrSt2のSOD活性によって阻害され, NBTがformazan (青色)に変化しなかったことを示している. Mは分子量マーカー兼コントロールとして, Chicken Ovoalbumin と Bovine serum albumin を泳動した.

この試料について, 75 μM NBT 13mM L-Methionine 50 mM KH₂PO₄/NaOH (pH7.5) 2 μM riboflavin に, LED 白色光を照射し活性測定すると⁵⁾, 平均 524units/mg の比活性を示した.

2) rSt2の熱耐性について

rSt2をバイオリクター化する場合, その酵素の耐久性についての情報は必要不可欠であると考えられる. 65℃での熱処理法によって精製したrSt2タンパク質がどの程度までの熱に耐性を示すかを検討した.

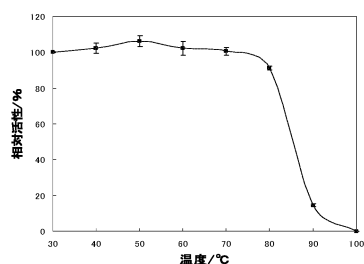


Fig.4 熱処理温度によるSt2のSOD活性の変化

0℃に保存したrSt2試料を30~100℃にて熱処理を30分間行った後, 通常の室温でのSOD活性測定を実施し比活性を測定し30℃のサンプルの活性540units/mgを100%としたときの相対値として算出した. (mean±S.D. n=3)

30~70℃での熱処理においては, 活性に影響を与えることはなかった(Fig.4). 一般的なSODと比較して, 熱に対して強い耐性をもつことが確認された. 80℃以上では熱変性による沈殿が確認され, 活性をもつタンパク質分子の割合が減少していると考えられる. また, 50℃による処理ではコントロールよりも若干であるが比活性が上昇することが確認された.

3) rSt2のpH変化による活性への影響について

*Streptomyces thermoautotrophicus*は, pH7.5を至適生育pHとする化学独立栄養微生物である. この微生物由来のSt2タンパク質が反応溶液のpH変化がどの程度酵素活性に影響を与えるかを調べた. 広範囲pHの変化に対して活性に対する影響は少ない傾向が観測された(Fig.5). pH6.5における活性の減衰は, このタンパク質のpIが6.4であることを考えると合理的である⁴⁾. 実際に長時間pH6.5緩衝溶液

にて放置すると等電点沈殿を起こすことが確認されている.

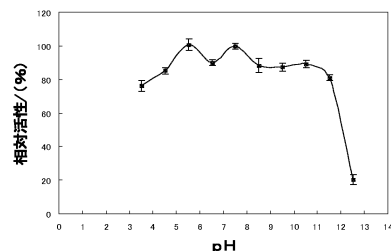


Fig.5 rSt2のSOD活性に対するpHの影響

酵素液を様々なpH環境におくために, 以下の100mM緩衝液を用意した. pH3.5:Glycine-HCl; pH4.5~5.5:CH₃COOH-CH₃COONa; pH6.5~7.5:KH₂PO₄-NaOH, pH8.5:Tris-HCl;pH9.5~12.5:Glycine-NaOH. これらに, 精製したrSt2を1.0mg/mLの濃度になるように溶解し, 30℃で1時間静置した後, 直ちにSOD活性測定を実施した. 結果はpH7.5のときの比活性の値524units/mgを100%とした相対値で示した. (mean±S.E. n=6)

3. 考察と展望

このように組換えDNA技術によりSt2のタンパク質を大腸菌に作らせることが出来て, 精製も65℃に加熱するだけで純品にする事が出来た事はバイオリクター構築にとって大きな進歩である. 現時点でバイオリクターの作成の手順は次のとおりである

1) St1の精製

Streptomyces thermoautotrophicus 無細胞抽出液をDEAEセルローズカラム(DE52)に吸着させる. 0.1M, 0.2Mの食塩水で良く洗う, 0.3Mの食塩水で溶出する.

2) St2の精製

St2の遺伝子を大腸菌に組み込み, St2タンパク質を大腸菌に作らせる, 無細胞抽出液を65℃で加熱処理をする. 遠心分離したのち上澄液に目的とするSt2が得られる.

3) リクターの組成

St1, St2の溶液にdithionite (還元剤), ATP (エネルギー)を加える.

現在のところSt1は*Streptomyces thermoautotrophicus*由来のものを使用しているが, 我々がBERC発足時に提案したtiny bioreactorは完成したと思う. 今後St1も組換えDNA技術により, 大腸菌で生産することを試みる.

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) Stewart RC et al :Lipid peroxidation associated with accelerated aging of soybean axes, Plant Physiol,65,pp245-248,1980

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 (工・環境エネルギー化学科)、大島 榮次 (東工大)
Hiroyasu Ohtake and Eiji Oshima (TITech)

Keywords : Micro-reactor, Reactor performance, Rapid reaction

1. 緒言

「酵素反応マイクロリアクターの反応成績」に関してこれまでいくつかの反応を試みて、回分式の反応器と比べて矩形流路のマイクロリアクターは数倍以上に反応速度が増大することを示してきた。今年度は反応成績をより促進することを目的に、マイクロリアクターの流路について検討を行った。今年度はマイクロリアクター流路に屈曲部を付けて、これによる反応特性の改善と、屈曲流路マイクロリアクターの設計指針を示すことを目的とした。

マイクロリアクターは装置全体が小さく、流路が μ mオーダーで拡散距離が短いため、分子拡散による迅速な混合が行える。この特徴を生かして、マイクロ流路を高機能化し、混合を促進する装置設計が求められている。屈曲流路マイクロリアクターには、流体が屈曲部を通過するときに遠心力に因る二次流れが発生し、反応界面を変形させる作用がある。変形により界面積が拡大すると、拡散混合が起きる所が増えるため、反応特性の改善が期待される。しかし、界面形状が反応に与える影響とその要因は明らかにされていない。

本報告は、拡散律速反応系である中和反応実験による、直線流路に屈曲部を設けたときの反応特性を改善と、さらに変形した界面からの拡散モデルのシミュレーションでその要因を検討したものである。¹⁾また、実験とシミュレーションで得られた知見より、改善に適した屈曲流路マイクロリアクターの設計指針も示した。

2. 実験

2.1 反応実験

Fig. 1 に示す、幅 $202\mu\text{m}$ × 深さ $186\mu\text{m}$ の流路を有するCOP(シクロオレフィンポリマー)製マイクロリアクター(マイクロ化学技研)を用いた。リアクターに 0.003M-HCl 、 0.003M-NaOH を別々の入口から供給し、反応実験を行った。各流体が1回屈曲部を通過し、PT区間で反応が終わるように、リアクター内の平均流速 $\bar{u}=15.1\sim 24.6\text{ mm/s}$ ではE, F \rightarrow A、 $32.2\sim 41.7\text{ mm/s}$ ではA, B \rightarrow C方向へ供給した。NaOHをフェノールフタレインで紫に呈色し、反応を可視化する。反応の様子をデジタルマイクロスコープ(VHX200, KEYENCE)で観察した。観察画像から紫色 \rightarrow 無色にほぼ完全に变化した所を反応終了点として、合流部との距離を測定した。これを反応距離 L と定義した。

屈曲流路リアクターの反応距離 L_{cuw} と直線流路リアクターの反応距離 L_{str} と比較する。これは平均流速が同じとき、反応終了時間 t で比較となる。よってEq. (1)から屈曲部による反応時間の短縮率 t^* を求めることで、反応特性の改善を検討した。

$$t^* = \frac{t_{str} - t_{cuw}}{t_{str}} = \frac{L_{str} - L_{cuw}}{L_{str}} \quad (1)$$

なお、 L_{STR} はFig. 1のリアクターでは屈曲流路の実験と同じ平均流速で測定できないため、2.2節のシミュレーションで求めた。 L_{cuw} 、 L_{STR} は、実測値(シミュレーション)に合流部と

屈曲部の距離 L_0 で引いた値を使用した。

さらに反応特性の改善に、界面積が関与すると仮定し、屈曲部により変化した界面形状を、汎用熱流体解析ソフトウェアSTARCD(CD-adapco)で計算した(Fig. 2)。変形前の界面の境界長さ l_0 と変形後の境界長さ l の比をとり、界面積拡大率 α ($=l/l_0$)を算出した。遠心力の関係上、 α は平均流速に比例する(Fig. 3)。よって、 α と反応時間の短縮率 t^* を相関することで改善の要因を検討した。

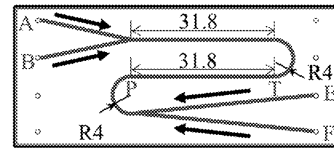


Fig. 1 マイクロリアクター(単位: mm)

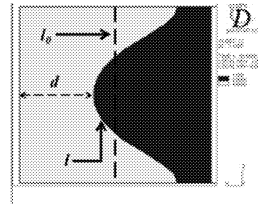


Fig. 2 界面形状
($\bar{u}=24.6\text{ mm/s}$, $\alpha=1.45$)

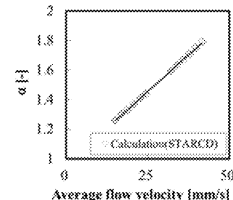


Fig. 3 平均流速と界面積拡大率の関係

2.2 シミュレーション

層流中の2次元拡散方程式をForward-Euler法で解き、得られた濃度分布より反応率を計算した。反応モデルとして、 OH^- 、 H^+ の拡散律速で反応が進行するとした。界面の境界条件として、直線流路では互いの拡散流束のつり合いで、流路中央から反応に伴い界面が($x=x_0$)へ移動する。屈曲部ではSTARCDで計算した形状($x=x_2$)へ移動し、屈曲部を通過した後、二次流れがすぐに減衰し、形状は変わらないとした²⁾。

観察画像で無色とみなせる反応率を98.4%とした。それに達する反応距離を計算し、実測値と比較した。

<拡散方程式>

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

<差分式>

$$\begin{aligned} \phi_{i,j,k+1} &= \phi_{i,j,k} \\ &+ U_x (\phi_{i+1,j,k} - 2\phi_{i,j,k} + \phi_{i-1,j,k}) \\ &+ U_y (\phi_{i,j+1,k} - 2\phi_{i,j,k} + \phi_{i,j-1,k}) \\ &- v_x^* (\phi_{i+1,j,k} - \phi_{i,j,k}) \\ &- v_y^* (\phi_{i,j+1,k} - \phi_{i,j,k}) \end{aligned} \quad \begin{aligned} \phi &= C/C_0 \\ X &= m\Delta x \\ Y &= n\Delta y \\ Z &= o\Delta z \end{aligned}$$

<境界条件>

- $z = 0, \quad -X \leq x \leq 0, \quad -Y \leq y \leq Y, \quad C_a = C_0, \quad C_b = 0$
 $z = 0, \quad 0 \leq x \leq X, \quad -Y \leq y \leq Y, \quad C_a = 0, \quad C_b = C_0$
- $0 < z < Z, \quad x = \pm X, \quad -Y \leq y \leq Y, \quad \frac{\partial C}{\partial x} = 0$
- $0 < z < L_0, \quad x = x_0(y, z), \quad -Y \leq y \leq Y, \quad C_a = C_b = 0, \quad v_x = v_y = 0$
 $D_a \left(\frac{\partial C_a}{\partial x} \right) = -D_b \left(\frac{\partial C_b}{\partial x} \right)$
 $L_0 < z < Z, \quad x = x_2(y, z), \quad -Y \leq y \leq Y, \quad C_a = C_b = 0$

$$U_x = \frac{D \Delta z}{U \Delta x^2}, \quad U_y = \frac{D \Delta z}{U \Delta y^2}, \quad v_x = \frac{v_x \Delta z}{U \Delta x}, \quad v_y = \frac{v_y \Delta z}{U \Delta y}$$

ϕ [-]は無次元濃度、 D [m²/s]は拡散係数、 X [m]は流路幅の半分、 Y [m]は流路深さの半分、 Z [m]は流路長、 U [m/s]は流速、 v_x, v_y [m/s]は二次流れの速度成分、 x_0, x_2 [m]は界面位置、 $\Delta x, \Delta y, \Delta z$ はそれぞれ流路幅と流路の深さと流路長の分割幅で $m=20, n=20, o=40000$ とした。

3. 実験結果と考察

3.1 屈曲流路リアクターの反応特性

実測値とシミュレーションの L_{curv} から、各々の反応時間の短縮率 t^* を Eq. (1) で計算し、界面積拡大率 α との相関を Fig. 4 に示した。実測値から、界面積が拡大すると反応時間の短縮率 t^* も上がり、最大 35% 短縮した。また、実測値とシミュレーションがほぼ一致した。シミュレーションの拡散モデルから、改善の要因を検討可能と言える。 $\alpha=1.28\sim 1.44$ で多少の差異がみられたのは、低流速だと遠心力が弱く、表面張力の影響を受け、二次流れ形成の要因の圧力勾配が小さくなる。よってシミュレーション通りに界面形状が変化しなかったからと考えられる。

Fig. 5 に変形後の界面凹側 (HCl) の反応過程を、その上段のグラフがリアクター断面の濃度分布を示した。時間の経過とともに反応が進み、Fig. 5 上段左で、反応がほぼ終了した状態になる。このとき、二次流れは完全に減衰しているため、拡散のみで物質移動が起こり反応は進む。そこで $\phi=0.032$ の濃度等高線に着目し、断面上の各部分の拡散の速さを分析した。Fig. 5 下段にリアクター断面の一定時間ごとの等高線を示した。等高線は、時間の経過、反応の進行と共に左へ移動し、終了時には左壁面へほぼ到達する。断面の上下壁面付近 ($y/\Delta y \sim 8, -8$) では等高線が疎で、拡散が速く進んでいる。変形した界面と壁面の距離も短いためである。対して深さ中央部 ($y/\Delta y=0$) は、等高線が密で拡散が遅い。従って界面が変形すると、上下壁面付近で拡散が速く進むが、最終的に反応は深さ中央部の幅方向への拡散律速段階であると考えられる。

深さ中央部の界面の頂点と壁面の拡散距離を変形前は d_0 、変形後を d とする (Fig. 2)。界面が変形すると短くなり ($d/d_0 = 1/\alpha^{0.793}$)、反応時間の短縮に影響する。そこで反応終了時間 t が拡散距離 d に比例と仮定する。

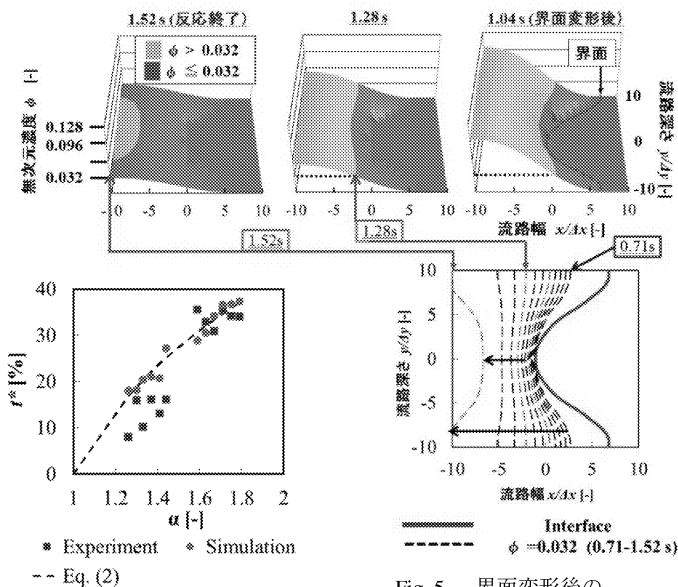


Fig. 5 界面変形後の HCl の反応過程 ($\bar{u}=24.6$ mm/s)

反応時間の短縮率は d を用いた式(2)で表せ、Fig. 4 に曲線で挿入すると、実測値、シミュレーションとほぼ一致した。

$$t^* = \frac{t_{str} - t_{curv}}{t_{str}} = \frac{d_0 - d}{d_0} = 1 - 1/\alpha^{0.793} \quad (2)$$

これは、直線流路の反応特性である Fick の拡散則 $t \propto d^2$ と、界面変形後の流路中央部以外の拡散に関係していると思われる。界面変形後の上下壁面付近での迅速な反応は、領域全体の HCl 濃度を低下させる。この現象が起きない直線流路の時と比べて、濃度勾配も小さくなるため、Fick の拡散則ではなく $t \propto d$ が成立したと考えられる。

従って屈曲流路による反応特性の改善は、界面積が直接関係するのではなく、拡散距離 d の短縮が起因である。また、拡散距離 d で特性の改善をシミュレーション可能と示唆された。

3.2 屈曲流路リアクターの設計指針の検討

3.2 節より、拡散距離 d を短縮することを指針として、改善に適した設計の検討を行った。まず、平均流速を実験の上限、41.7mm/s よりも速い場合を考えた。STARCD で計算した屈曲部後の界面形状から、流速を上げた時の、特性の改善をシミュレーションした。流速を上げると、二次流れが強まる影響で界面が変形し、拡散距離 d が短くなり、反応時間の短縮率 t^* が増えていく (Fig. 6)。しかし、平均流速 100mm/s 時の界面形状から、拡散律速段階が、深さ中央部の界面の頂点と壁面部分から他の部分へ変わる可能性がある (Fig. 7)。従って、距離 d を利用したシミュレーションでは 80 mm/s 前後で、反応終了時間を約 68% 短縮できると示唆するに留まる。

次に曲率半径を実験時の 4mm から、大きさを変えた。しかし、界面形状にほとんど変化はみられなかった。曲率半径は小さくすると、二次流れは強くなるが、その分作用する流路長さは短くなるからである。逆に曲率半径を小さくすることに対して、デメリットはほとんどない。曲率半径を小さくすることは、屈曲部後の流路長を伸ばすため、改善に有効と考えられる。

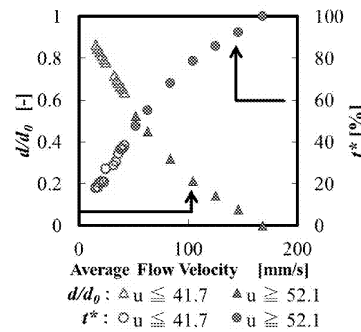


Fig. 6 平均流速と拡散距離 d 、反応時間短縮率 t^* の関係

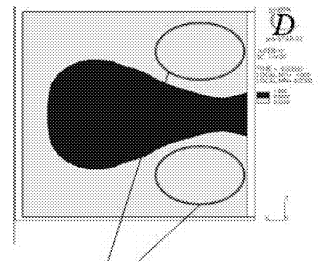


Fig. 7 平均流速 100mm/s 時の屈曲部後の界面形状

4. 結論

直線流路に屈曲部を設けたとき、最大 35% 反応時間を短縮し、反応特性の改善がみられた。改善の要因は、反応の拡散律速段階部分の拡散距離の短縮である。

この知見から、改善に適した屈曲流路マイクロリアクターの設計指針として、平均流速 80mm/s 前後で、曲率半径を小さくし屈曲部後の流路長を確保することが重要であると示唆された。

引用文献

- 1) 小林 洋介, 工学院大学修士論文 (2004)
- 2) Y.Yamaguchi et al., *Chem. Eng. J.*, 101, 367 (2004)

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 (豊橋技術科学大学工学部)

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事が期待される。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、コオロギの感覚毛を規範とした気流センサをロボットの表面に集積化し、気流の強さに応じて行動するロボットなどを開発してきた。

2011年度は、アメンボ型の水面移動ロボットを改良し、脚表面に微細構造を加工することによって撥水性を高め、推進に用いる中脚の軌道を最適化することによって、より高速に水面を移動可能なロボットを開発した。脚表面の撥水化については、2010年度にBERCの研究費により導入したフェムト秒レーザー加工機を用いて、直径0.5mmの真鍮線の表面に、軸方向の溝を25 μ m間隔で加工し、撥水剤を塗布することにより撥水性を付与した。加工した表面を評価した結果、接触角155度、転落角20度となり、曲面上でも高い撥水性が得られることを確認した。水面移動ロボットに関しては、水面における脚の推進力の測定結果に基づき、推進力最大となる深さ3.5mmで中脚を駆動す

るように機構設計を行った結果、ロボットの平均移動速度を59.2 mm/secまで高速化することができた。水面移動ロボットは、被災地や危険な場所での水質調査等への応用が期待される。

小テーマ1.4.2では、2011年度は、(1)これまでの研究成果を統合し、複数の水中ロボットが協調して動作する群行動ロボットの実験システムの開発、(2)水泳など水中運動を解析・評価するためのシステム構築、および(3)羽ばたき運動の数値解析などに取り組んだ。

東日本大震災後、本サブテーマ内で研究テーマの設定に関して再検討した。その結果、水中ロボットの研究開発においては(1)群行動水中ロボットの開発を目的とすることにした。具体的には、アジなどの小型魚類のように群行動させることで、単機体よりも高効率、低コスト、低リスクの水中探査を可能にすることを最終的な目標とし、2011年度は群行動水中ロボットの性能やアルゴリズムの妥当性を検証するための実験システムの開発を目的と設定した。

過去の研究成果を統合し、群行動を実現するための水中実験用ロボットおよび動作確認のための地上実験用ロボット、可視光通信に基づく通信装置、位置計測手法及び装置、制御アルゴリズムを含めた制御システムを開発した。地上にて5体のロボットを制御することで、群行動を再現することが出来た。また水中にて最大2体の機体を制御し、指示した目標地点まで移動させることが出来た。本制御システムが、動作アルゴリズムの開発及び検証に対して有効な手段であることを示し、実機で生じる問題に対してどのような制御、対策が有効であるか検討、考察することが可能であることを示した。ただし水中での実験においては、水中ロボットの不具合や不適切な通信プロトコル、および不完全な制御に起因する意図しない動作が観察され、これらの改善が必要である。

(2)水中運動を解析・評価するためのシステム構築では、映像データに基づき位置、速度、ストロークなどを短時間に解析するための解析ソフトウェアを構築した。これにより水泳などの水中運動の解析をオンサイトで実施できる。(3)羽ばたき翼の数値解析では、2009年度から取り組んでいるOpenFOAMを用いた羽ばたき翼まわり流れ場の数値解析を進展させ、翼周りの解析格子の歪みを最小限に抑えた翼運動解析手法を開発した。流れ場解析の結果、翼周りの解析格子を歪めることなく解析を実施でき、定性的には過去の実験結果との一致を見た。ただし詳細に観察すると翼境界層付近の流れ場に非物理的な逆流が発生していることが分かった。この原因は流れ場解析手法の不具合に起因すると考えているが、まだ特定できておらず、課題として残されている。

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、脚の表面が無数の毛で覆われており、さらに体液の分泌することによって付着性や濡れ性を制御し、壁面歩行や水面移動を実現している。また、表面の毛は、気流などを感知するセンサの役割も果たしており、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している。

今年度は、アメンボの水面移動を規範とし、表面に微細構造を持つ高撥水の支持脚を製作し、さらに脚の軌道を最適化することによって、水面上を高速で移動可能なロボットの製作を行った。

2. 高撥水性の脚の製作

材料表面の撥水性は、材料の化学的な性質だけではなく、表面の微細構造によって大きな影響を受ける。本研究では、フェムト秒レーザー加工機を用いて、真鍮線の表面に微細な凹凸加工を施すことによって、撥水性の高い支持脚の開発を行う。その準備として、加工の容易な真鍮平板上に、フェムト秒レーザー加工機を用いて一定間隔の直線状の溝加工を行った。レーザー出力は 0.1 W、送り速度 16.7mm/s、1つの溝の加工回数を 50 回とし、溝の間隔 d は 20~50 μm の間で変化させた。加工した表面に撥水剤 FS-1010 (フロロテクノロジー社製) をディップ法により塗布し、撥水性を高めた。Fig. 1 に製作した撥水面 ($d = 30 \mu\text{m}$) の SEM 画像と、表面に置かれた $0.5 \mu\text{l}$ の水滴の画像を示す。また、表面の接触角、転落角の測定結果を Fig. 2 に示す。間隔 d を変化させると、 d が 25~30 μm の時に接触角が約 155° で最大となり、転落角は約 20° で最小となった。これは、前述の加

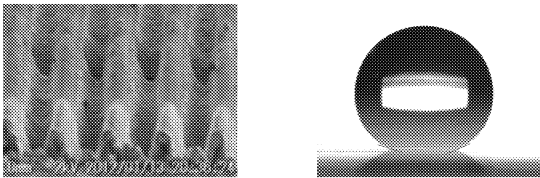


Fig.1 A hydrophobic surface machined by femtosecond laser

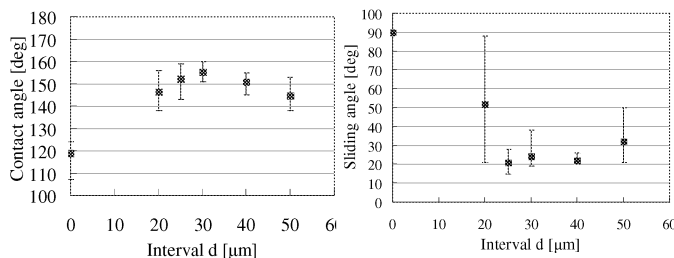


Fig. 2 Contact angles and sliding angles

工条件では 1 本の溝の幅が 25 μm 程度となり、間隔 d が 25~30 μm の時に、溝どうしが重なることなく、最も密に加工が行えるためである。

以上の結果に基づき、ロボットの脚となる直径 0.5 mm の真鍮線の表面に、フェムト秒レーザー加工機を用いて、加工間隔 25 μm の微細な凹凸加工を行い、撥水剤 FS-1010 を塗布することによって、高撥水性の脚の製作を行った。真鍮線を直線状に伸ばしてステッピングモータの回転軸上に固定し、間隔が 25 μm になるようにステッピングモータを回転させながら、フェムト秒レーザーを用いて真鍮線の軸方向に溝を加工した。Fig. 3 に真鍮線の表面構造と、表面に霧吹きで水滴を付着させたときの様子を示す。

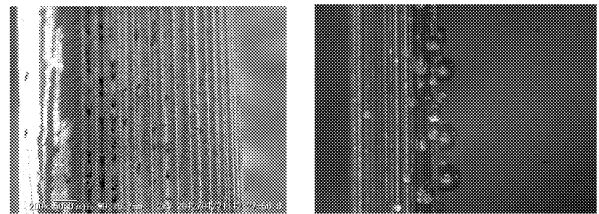


Fig. 3 Hydrophobic surface of a brass wire machined by femtosecond laser

3. 脚の支持力、引き離し力の測定

製作した撥水脚を用いて、水面に脚を押し付ける際の支持力と、水面から引き上げる際の引き離し力の測定を行った。実験はレーザー変位計とばね定数 $k = 98.9 \text{ N/m}$ の平行平板ばねを用いて、ばねの先端に取り付けた脚を水面に押し付けてゆっくり沈めていき、水没させた後に再び引き上げ、その間のばねの変位量から支持力、引き離し力を算出した。測定を行う脚は、直径 0.5 mm、長さ 25 mm の真鍮線にレーザー加工を施し、撥水剤 FS-1010 を塗布した撥水脚と、比較対象として PTFE 微粒子を含むフッ素系撥水剤 HIREC 1450NF (NTT アドバンステクノロジー社製) をスプレーで塗布した脚、表面加工をせずに撥水剤 FS-1010 を塗布した脚の 3 種類を用意した。Fig. 4 に測定結果を示す。

支持力の結果は、3 種類の脚の違いはほとんど見られず、水没直前に約 6mN の最大支持力が得られた。支持力の理論¹²⁾によれば、撥水性の脚であれば表面張力による支持力は材料によらず一定となることが知られており、本実験結果は理論とよく一致した。

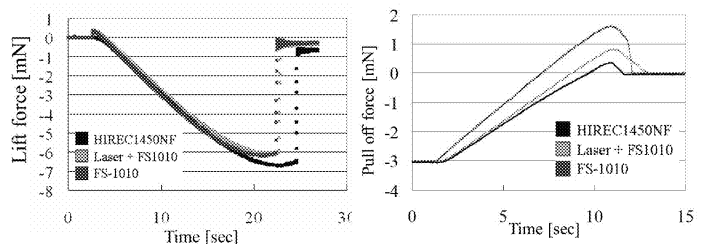


Fig. 4 Lift force and pull-off force

HIREC1450NF を塗布した脚の支持力がわずかに大きくなっているのは、撥水膜の厚さにより直径が増加し、浮力成分が増加したためと考えられる。

一方、引き離し力は HIREC1450NF が最も小さく、レーザー加工有り、レーザー加工無しの順に大きくなっている。撥水性の高い脚ほど、引き離し力は小さくなったと考えられる。レーザー加工を施した支持脚は、HIREC1450NF よりはやや劣るものの、高い撥水性を示すことが確認できた。

4. 水面移動ロボットの製作

水面移動ロボットは6本の脚を持ち、アメンボと同様に前・後脚は水面上での支持に用い、中脚を推進用として、チェビシェフリンク機構を一部改良した機構により駆動した。チェビシェフリンク機構は、リンクの先端が D 字形の軌道を描き、直線部が低速、曲線部が高速で動くのが特徴である。先行研究³⁾によれば、脚を水没させずに水深 3.5mm の位置で水を速く掻くことにより、大きな推進力が得られることが実験的に確かめられている。この結果に基づき、水深 3.5mm において高速で水を掻き、水面より上を低速で戻す軌道を描くようにリンクの長さを調整した。設計した中脚の機構と先端の軌道を Fig. 5 に示す。

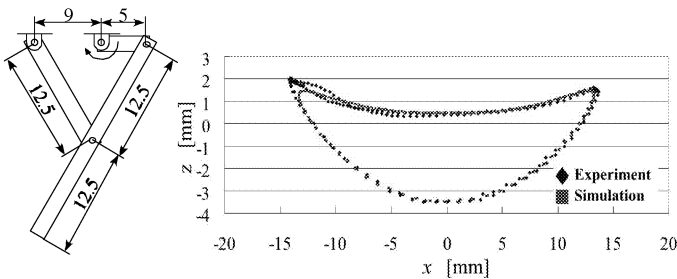


Fig.5 Mechanism and trajectory of the midleg.

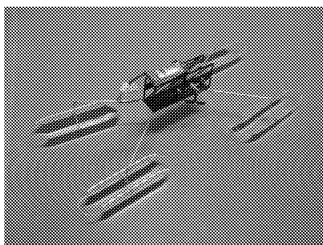


Fig. 6 Water strider robot

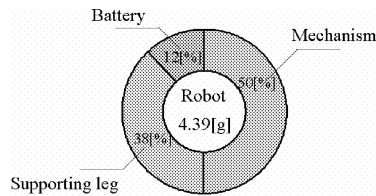


Fig.7 Mass distribution

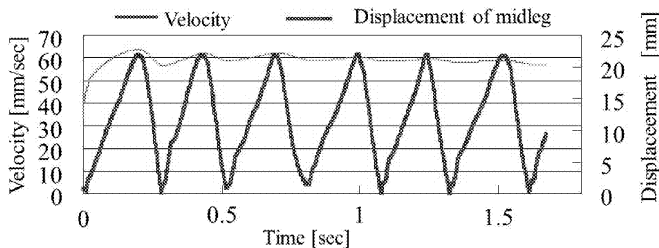


Fig. 8 Velocity of the robot and displacement of the midleg

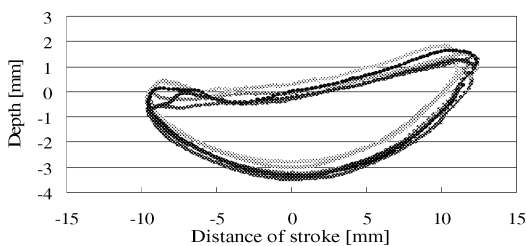


Fig. 9 Trajectory of the rowing midleg on the surface of water

ロボットの外寸法は 20×40×10 mm であり、機体のフレームは、厚さ 0.5mm のカーボン板を用い、フェムト秒レーザーで加工することにより軽量化を行った。DC モーターとバッテリーを搭載し、自立移動が可能であり、全体の質量は 4.39 g である。Fig. 6 に製作した水面移動ロボットの写真、Fig. 7 に質量分布を示す。

水面移動実験を行った結果、ロボットは表面張力で水面上に浮き、移動することができた。ロボットの移動速度の時間変化と中脚の変位を Fig. 8 に、水面移動時の中脚の軌道を Fig.9 に示す。ロボットの平均速度は 59.2 mm/sec となり、従来のロボット¹²⁾に比べて移動速度を高めることができた。また、速度の時間変動も少ないことが確認された。水面移動時には、体軸が傾いているために中脚は右上がりの軌道を描いているが、水面上でもシミュレーションとほぼ同じ軌道を描くことが確認された。

5. 結言

直径 0.5mm の真鍮線の表面にフェムト秒レーザー加工機を用いて微細な凹凸加工を施し、表面に撥水剤を塗布することで撥水性の高い支持脚を製作した。また、ロボットの推進に用いる中脚には、チェビシェフリンク機構を応用し、大きな推進力が得られるように機構の設計を行った。また、この機構を組み込んだ水面移動ロボットを製作し、表面張力を利用して水面上を平均速度 59.2 mm/sec で自立移動させることができた。

文献

- 1) 鈴木健司, 小池裕之, 高信英明, 三浦宏文, 日本機械学会論文集 (C 編), Vol.75, No.751, 2009, pp.656-665.
- 2) Y. S. Song and M. Sitti, IEEE Transactions on Robotics, Vol. 23, No.3, 2007, pp.578-589.
- 3) 坂井恵盛, 小池裕之, 鈴木健司, 高信英明, 三浦宏文, 日本機械学会論文集 (C 編), Vol. 76, No.768, 2010, pp.1952-1954.

学会発表

- 1) 工藤憲作, 鈴木健司, 高信英明, 三浦宏文, 共振を利用した小型はばたき飛翔ロボットの研究, [No.11-5] Proceedings of the 2011 JSME Conference on Robotics and Mechatronics (ROBOMECH 2011), Okayama, Japan, 2011/5/27, 1A2-O05 (1)-(4)
- 2) 工藤憲作, 鈴木健司, 高信英明, 三浦宏文, 共振を利用したはばたき飛翔ロボットの研究 —共振する翅の飛翔特性評価—, 第 26 回エアロ・アクアバイオメカニズム研究会講演会資料集, 東京, 2011/3/26, pp.21-22.
- 3) 野中昂平, 鈴木健司, 高信英明, 三浦宏文, 気流センサを表面実装した昆虫規範型ロボットの研究, 日本機械学会 [No.11-9] IIP2011 情報・知能・精密機器部門講演会講演論文集, 東京, 2011/3/23, pp.165-170.
- 4) 山下瑛礼, 島田裕司, 鈴木健司, 高信英明, 三浦宏文, トンボを規範としたはばたき機構の研究, 日本機械学会 [No.11-9] IIP2011 情報・知能・精密機器部門講演会講演論文集, 東京, 2011/3/23, pp.175-180.
- 5) 丸山雄也, 鈴木健司, 高信英明, 三浦宏文, 超撥水表面を用いた水面移動ロボットの研究 —表面微細構造と撥水性について—, 日本機械学会 [No.11-9] IIP2011 情報・知能・精密機器部門講演会講演論文集, 東京, 2011/3/23, pp.199-204.
- 6) 野中昂平, 鈴木健司, 高信英明, 三浦宏文, 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 16 回ロボティクスシンポジウム, 鹿児島, 2011, pp.329-334.

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。2011年度は、(1)これまでの研究成果を統合し、複数の水中ロボットが協調して動作する群行動ロボットの実験システムの開発、(2)水泳など水中運動を解析・評価するためのシステム構築、および(3)羽ばたき運動の数値解析などに取り組んだが、紙面の都合からここでは(1)群行動ロボットの実験システムの開発について報告する。

東日本大震災後、本サブテーマ内で研究テーマの設定に関して再検討した。海中での放射線計測やプール内の温度計測など、水中ロボットのニーズは震災前よりも高まっていると考えられる。一方、実用水中ロボットは例えば琵琶湖の湖底探査に用いられるような小型のものでも数億円オーダーの開発費・維持費が必要であり、本研究の範囲を超える。本研究では簡易で低コストの水中ロボットを複数使い、アジなどの小型魚類のように群行動させることで、単機体よりも高効率、低コスト、低リスク(ロボットをロストした際のリスクが小さい)の水中探査を可能にすることを最終的な目標とし、2011年度は群行動水中ロボットの性能やアルゴリズムの妥当性を検証するための実験システムを開発することを目的とする。

2. 実験方法・装置

群行動ロボットの多くは、センサによって他機体の位置情報を得、また場合によっては互いに通信し、その情報に基づいて比較的簡便なアルゴリズムで自分の行動を決定する。群は個々のロボットの行動の結果として形成される。しかし本研究では、水中でのセンサによる計測や通信は困難であることや、目的がロボット性能やアルゴリズムの妥当性の検討であることから、上記の方法は用いず、位置計測を外部から行い、それに基づいてロボットの行動を外部から指示するシステムを開発することにした。

具体的には、ビデオカメラによりロボットを撮影し、画像解析により各機体の位置情報を取得する。そして位置情報から各機体の動作を決定し、通信装置によって各機体に動作信号を送る。つまり各機体が個別に動作を判断するのではなく、外部で機体の動作を決定し動作を制御することで、擬似的に群れを形成させる。このようなシステムでも、水中ロボットの性能やアルゴリズムの妥当性を検討することは可能であり、特に水中ロボットではよく用いられているシミュレーションに基づく検討よりも、実機で生じる様々な問題、課題を見つけるのに適すると判断している。

Fig. 1 に制御システムの概要を示す。画像処理ソフトウ

ェアを用いて各機体を識別し3次元座標、回転角を位置情報として取得する。この位置情報を用いて各機体の動作を決定する。位置情報を用いてどのような動作を行わせるかは、検証したい動作アルゴリズムや実現したい動作に依る。本研究では制御システムの動作を確認するために、機体同士の接触を避ける、また予め設定された任意の目的地点に対応して動作を決定する実験用動作アルゴリズムを開発し用いている。

画像から位置を取得するためにはQPToolkitを用いている。このソフトは予め登録した画像パターン(マーカ)をロボットに貼り付け、そのマーカの識別番号、並進ベクトル、回転ベクトルをTCP/IP通信により出力する画像解析ソフトウェアである。複数のマーカを用いて複数の機体の位置情報を取得する。

水中での通信手段としては可視光通信を用いることとし、送信機、受信機を開発した。具体的にはPCからLEDの点滅パターンを制御し、水中ロボットはフォト・トランジスタによりその点滅パターンを取得する。なお通信速度は最大で9600bpsである。

制御プログラムは、QPToolkitとのTCP/IP通信により各機体の位置情報を取得し、各機体の動作を決定する。動作決定後、動作画面上に機体と機体の動作情報を描画し、各機体の動作信号をシリアル通信により可視光通信装置に送る。制御プログラムの動作画面をFig. 7に示す。

この制御システムとともに用いる簡易実験用水中ロボットを開発した。推進用モータ2基、上下動用モータ2基を用いて直進、斜め直進、旋回、そして潜水、浮上動作をする。この実験用水中ロボットに、可視光通信受信機(フォト・トランジスタ)を搭載し、動作信号を受信させる。実験用水中ロボットの内部構造をFig. 2に示す。

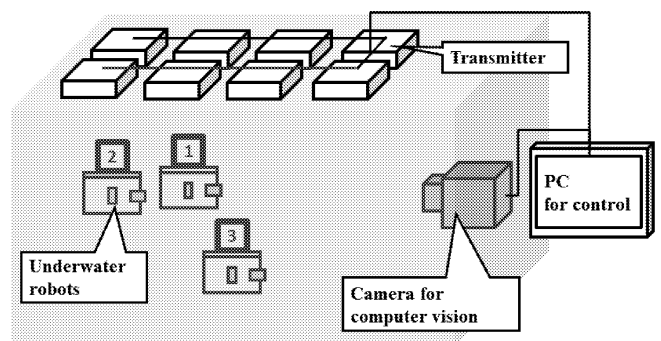


Fig. 1 Control system of swarming robots.

3. 実験結果および考察

水中での実験に先立ち、地上で簡易ロボットによる動作を確認している。その結果、本研究で構築した制御システ

ムと通信装置を用い、5体のロボットを制御して、異なる隊列を連続して形成させることが出来た。このことから、制御システムは画像解析や通信等に不具合が無ければ、複数のロボットを適切に制御できることが分かった。

地上と同様の動作が可能か水中にて動作実験を行った。実験の結果、最大2体のロボットを用いて任意の位置まで動作させることが出来た。2体で動作している様子を Fig. 3 に示す。この結果から、本研究で開発した制御システムは、水中でもロボットの位置を取得し、また制御信号をロボットに送信できることが分かる。

3体以上では、指示した通りに動作しない機体が生じた。これは主として簡易実験用水中ロボット側の不具合が原因であり、長時間の水中実験に耐えうるロボットを開発する必要がある。

ただし水中通信のアルゴリズムに起因する不具合もあることが分かった。実験時には水中ロボットそれぞれに異なる信号を送るのではなく、複数のロボットへの命令をつなぎ合わせたものをまとめて送信し、各機体はその信号から自機体への命令を抽出している。この方法では機体数が増えると命令が長くなり、そのため通信の一部を受け取れなかった場合に、次の信号を受け取るまでの待ち時間が長くなるため、適切に動作しない時間が長くなっていた。

また、本研究では位置の制御に単純な ON/OFF 制御しか用いていないため、水中ロボットが目標地点に到達した際、目標地点で止まることが出来ずに通り過ぎる。これは陸上の実験では観察されない不具合であり、水中での運動に適した制御を取り入れる必要がある。

本研究はシミュレーションではできない実機での群行動形成の検討を行うことを目的としている。上記の不具合を含め、実機の都合に起因する意図しない動作の検討を行っていることは、本システムの目的に沿っている。

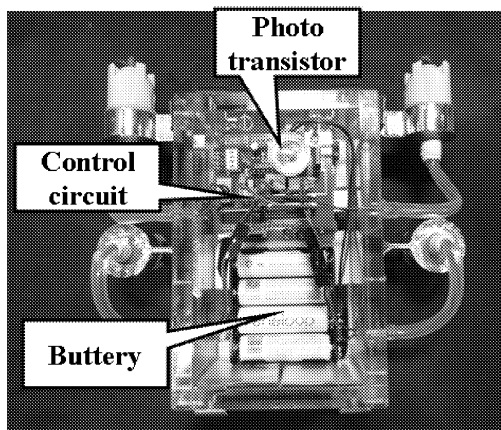


Fig. 2 Internal structure of underwater robot, top view

4. 結言

水中で群行動を実現するためのロボット、通信装置、位置計測手法及び装置、制御アルゴリズムを含めた制御システムを開発した。地上、水中での制御システム動作実験から以下の知見を得た。地上にて5体のロボットを制御することで、群行動を再現することが出来た。また水中にて最大2体の機体を制御し、指示した目標地点まで移動させることが出来た。本制御システムが、動作アルゴリズムの開発及び検証に対して有効な手段であることを示し、実機で生じる問題に対してどのような制御、対策が有効であるか検討、考察することが可能であることを示した。

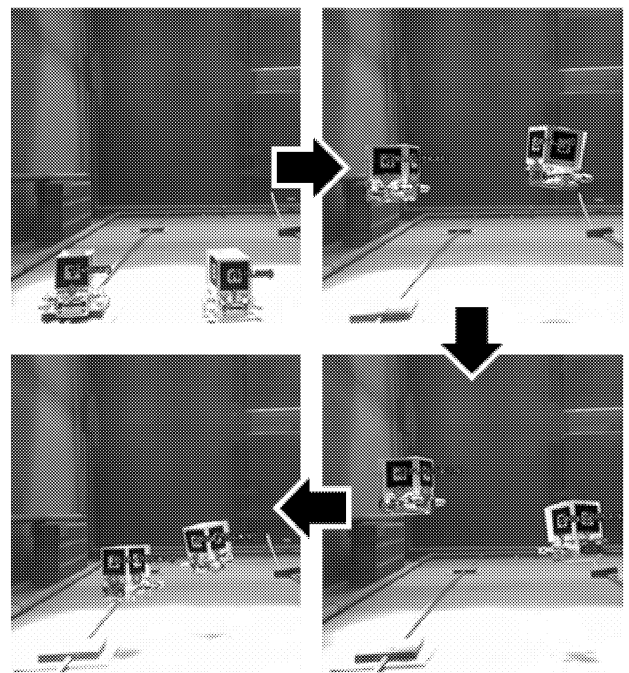


Fig. 3 Motion of two underwater robots with markers. Marker positions are recognized by QPToolkit.

学会発表

- 1) 伊藤, 金野, 尾作, 水中及び空中の生物の進行に関わる羽ばたき周波数と翼長の関係について, エアロ・アクアバイオメカニズム研究会第27回定例講演会資料集 (2011), pp.11-12.
- 2) 伊藤, 金野, 富田, カブトムシの飛翔に関する実験的考察エアロ・アクアバイオメカニズム研究会第27回定例講演会資料集 (2011), pp.13-14.
- 3) S. Watanabe, S. Terada, A. Konno, Investigation of Analysis Method of Flow Field around Flapping Wing by OpenFOAM, Proc. 21st International Offshore and Polar Engineering Conference Vol. 2 (2011), pp. 209-214.
- 4) H. Morikawa, R. Mori, Q. Sun, M. Nakashima, S. Ito, K. Ueda, H. Miyahara, Analysis on Swimming Behavior of Dolphin with Artificial Tail Flukes, Proc. 21st International Offshore and Polar Engineering Conference (2011), pp. 246-249.
- 5) Y. Ohkubo, K. Suzuki, S. Suzuki, A. Konno, K. Hirata, Y. Niki, Y. Ichikawa, Development of Fishlike Underwater Robot Aimed for the Study of Swarm, Proc. 21st International Offshore and Polar Engineering Conference Vol. 2 (2011), pp. 269-273.
- 6) 伊藤, 生物の遊泳に学ぶ水中推進技術, 日本機械学会2011年度年次大会講演論文集 (2011), DVD-ROM 全2頁.
- 7) 伊藤, カブトムシの飛翔に関する考察, 可視化情報学会誌 Vol, 31, Suppl.No.2 (2011), pp.115-116.
- 8) 中村, 伊藤, 野口, 仰木, 中島, 樋口, 「科学的アプローチによる水泳教室」実施報告, 日本水泳・水中運動学会2011年次大会論文集 (2011).

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, 医療用として広く用いられているチタン材料の微小機械要素への実用的な応用として, M0.5 チタンねじの生体環境内における耐久性について調べるとともに, これまで研究してきた金属細線の引張り試験方法をさらに改良して試験の精度を向上させ, より信頼性の高い試験方法の確立などを試みた結果, M0.5 純チタンねじの 10^7 回の疲労限度 90MPa となり, 引張り強さの約 63% となることを明らかにした. また, 雰囲気環境の影響について検討した結果, 空気中と生理食塩水中における疲労強度の差は認められないことも明らかにした. 一方, 銅細線を用いた引張り試験を検討した結果, 直径 20, 30 および $40\mu\text{m}$ の銅細線の各線径において, 引張り速度が小さくなるほど破断ひずみは増加する傾向を示した. さらに, 引張り速度が

引張り強さへ及ぼす影響はほとんど認められないことを明らかにした.

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, EWOD を利用した搬送システムで問題となる液滴と固体表面の摩擦力の評価に関する研究を行った. 具体的には, 液滴を用いて物体を搬送するためには, 固体と液体の界面での摩擦により駆動力を効率良く伝達し, かつ輸送の妨げとなる摩擦を抑える必要がある. そこで, 搬送台の表面に様々な微細凹凸構造を製作し, 液滴との間の摩擦力を測定し, 搬送台の表面性状が摩擦力に及ぼす影響を実験的に調べるとともに, また製作した搬送台を液滴上に載せて搬送実験を行い, 搬送に適した表面形状を調べた結果, 表面に適度な凹凸があり, 水滴との摩擦力が大きくなる場合に, 印加周波数 21Hz まで搬送が可能となり, 搬送に適していることを明らかにした.

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および成形

する方法を検討するために、発泡剤を混合したアルミニウム合金粉末を固化させ、加熱、発泡させながら金型内に充填して成形する実験を行った結果、水平方向充填の場合、発泡用ダイスの出口径に対する金型内径の比が大きいときは自重の影響により十分に充填させることはできず、また小さい場合は摩擦の影響により充填が困難であった。金型のアスペクト比 H/D が小さい場合は鉛直方向の充填が有効であるが、 H/D が大きくなると摩擦の影響により鉛直方向でも充填は困難である。しかし発泡用ダイス出口径と金型内径の比を考慮することにより H/D が大きい場合でも充填の可能性のあることを明らかにした。

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。

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)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とそれら微粒子充填系の物性評価、および(2)リバースエンジニアリング (RE) 技術を用いた3次元マイクロ部品の開発について実験的に検討した結果、物理的溶解分散法を用いて各種ポリマー微粒子の製造が可能なこと、特に UHMWPE 微粒子は市販品の半分以下に微粒子化できること、またその製造した UHMWPE 微粒子により PESP のトライボロジー特性を改善できることを明らかにした。さらに、リバースエンジニアリング技術 (RE) の構築を行い、最適な X 線 CT 撮影条件などを明らかにし、3次元マイクロ部品を RE により造形できることを示した。今後は、更なる PESP の高性能化を目的に、物理的溶解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

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。

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

Development of Evaluation System on Strength for Bio-Micro Mechanisms

後藤芳樹 (工・機械工学科)、立野昌義 (工・機械工学科)

Yoshiki GOTOH, Masayoshi TATENO

Keywords: Cu fine wire, Tensile test, Fatigue test, Titanium small screw

1. はじめに

医療機器の微小化は、患者の負担を低減することができるためその進展が強く望まれている。機器を微小化することにより、これまでの体外設置型 (extracorporeal) から、体内埋め込み型 (implantable) へとその可能性が広がりつつある。しかし、このような微小機器が、生体環境内において長期間の使用に耐えられるように設計するためには、構成される微小機械要素の強度や耐久性についての知識が不可欠である。

本研究は、医療用として広く用いられているチタン材料の微小機械要素への実用的な応用として、M0.5 チタンねじの生体環境内における耐久性について調べる。また、これまで研究してきた金属細線の引張試験方法^{1) 2)}をさらに改良し、試験の精度を向上させ、より信頼性の高い試験方法が得られたのでこれについて報告する。

2. M0.5 チタン微小ねじの生体環境中における耐久性

2.1 供試材料および試験方法 M0.5 チタンねじの耐久性を調べるために、空気中および生理食塩水中において疲労試験を行った。供試材料は、JIS 2種純チタンねじおよびナットを使用した。表1に形状寸法を示す。このチタン材料の引張強さは570MPaである。Fig. 1に疲労試験機を示す。試験機は(有)旭製作所製のWave Maker 05に自作のステンレス製ホルダーを固定し、これに微小ねじを取り付けて試験を行った。試験機の加振力49N、最大荷重100N、繰返し周波数20Hz、繰返し変位一定の片張り引張疲労試験を実施した。

生体内環境内における疲労試験は、試験機に腐食液槽を取付け、試験片全体が生理食塩水につかるようにし、約4リットルの液を循環させながら液温を37℃一定に保った状態で試験を行った。

Table 1 Dimensions of M0.5 Titanium screw (mm)

ネジの呼び ×ピッチ	山の高 さ	外径	有効系	谷の径	有効断面 積
M0.5×0.125	0.068	0.500	0.419	0.365	0.115

2.2 実験結果および考察 空気中における疲労試験結果をFig. 2に示す。試験の結果、 10^7 回の疲労限度は90MPaとなり、引張り強さの約63%となった。データのばらつきは大きくなっているが、この原因としては試験片が小さいためにホルダーへの取付け時に荷重が掛かったり、ねじ中央部で破断しているものも有るので、偏心による曲げ荷重が加わっていることも原因と考えられる。

Fig. 3に生理食塩水中での疲労試験結果を示す。生理食塩水中の試験本数は8本で、十分なデータが得られていないが、

高い繰返し数の領域で比較すると、空気中と生理食塩水中との差は見られない。試験時間が最長でも6日間程度であり、腐食時間が短いことも考えられるので、生体内での使用を前提にすると、更に高サイクル数・長時間領域での試験を行う必要があると思われる。

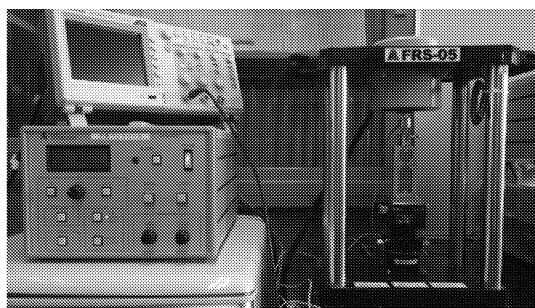


Fig. 1 Fatigue tester for titanium small

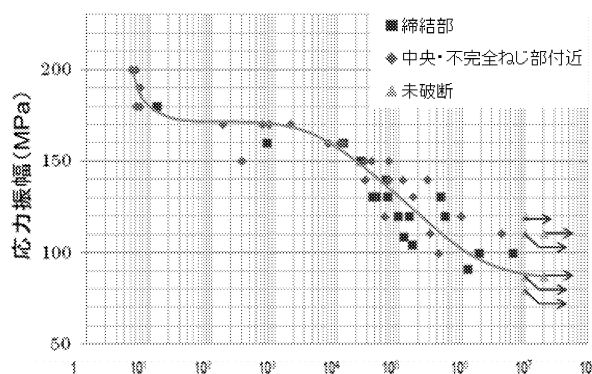


Fig.2 S-N diagram of M0.5 titanium small screw.

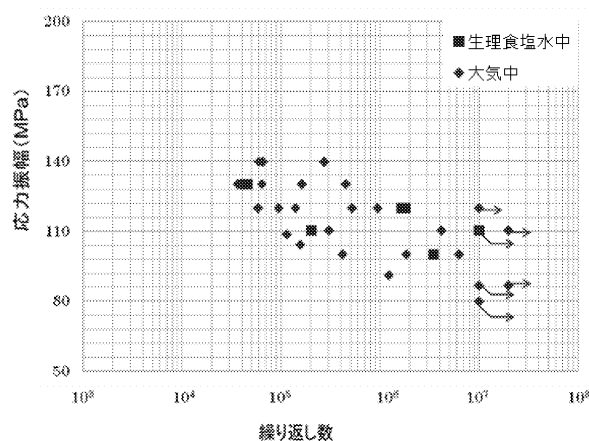


Fig.3 S-N diagram in physiological saline.

3. 銅細線の引張試験

3.1 供試材料および試験片 供試材料として直径 20, 30, 40 μ m の Cu ボンディングワイヤを使用した。これらの材料を適当な長さに切断し、厚さ 0.2 mm のプラスチックタブに接着する。タブはレーザー加工機を用いてシートから切り出しており、寸法のバラつきを少なくしている。伸びの計測を行う際、基準となる標点は試験片に使用する細線と同じものを用い、試験片に接着して取り付ける。標点距離は 1.5 mm とした。標点を取付けた細線を Fig.4 に示す。

3.2 引張試験システム 荷重計測にはロードセル (容量:500mN) を使用した。伸びの計測は CCD カメラ (画素数:192 万画素) によるデジタル画像センサーを使用し、非接触で測定した。アクチュエータは、0.1 μ m/s \sim 10mm/s の範囲で一定の速度で引張変位を加えることができる。パソコンからアクチュエータに信号を送り、試験片

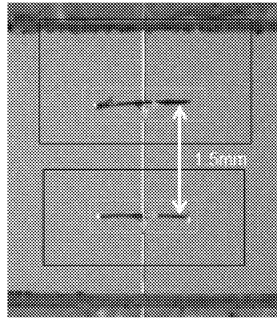


Fig.4 Gauge length on fine wire

に引張荷重を加える。計測された荷重と伸びの信号はパソコンに取り込まれ、荷重-伸び線図を描くようになっている。試験中の様子は随時モニター画面で観察することができる。なお試験機は防振台上に設置され、その周囲をアクリル板で囲むことで防振・防風の対策が施されている。

3.3 引張試験 作製した試験片タブを試験機チャック部にピンで装着し、XYZ ステージを操作し、試験片に偏心荷重が加わらないように位置を調整してから、タブ両端部を熱したカッターナイフで溶かし切り、細線だけに負荷が掛る状態にして試験を行う。引張速度は 0.1, 0.3, 0.5 μ m/s とした。

3.4 試験結果および考察 直径 20, 30, 40 μ m の銅細線の応力-ひずみ線図を、それぞれ Fig.5, 6, 7 に示す。いずれの線径においても、金線の場合と同様に、引張速度が小さくなるほど破断ひずみは大きくなる傾向を示した。引張強さとヤング率の平均値を Table.2 に示す。各線径において、引張速度が引張強さに及ぼす影響はほとんどみられない。ヤング率については、引張速度との明瞭な関係はみられなかった。

直径の大きさと引張強さの関係については、引張強さは 0.2 μ m $>$ 0.4 μ m $>$ 0.3 μ m の順に大きくなった。これについては、メーカーのカatalogによれば、素材の強度もこの順となっていることから、妥当な結果が得られたと思われる。

4. 結論

4.1 M0.5 純チタンねじの疲労試験

- 1) M0.5 純チタンねじの 10⁷ 回の疲労限度 90MPa となり、引張り強さの約 63% となった。
- 2) 空気中と生理食塩水中との疲労強度の差は見られない。

4.2 銅細線の引張試験

- 1) 直径 20, 30, 40 μ m の銅細線の各線径において、引張速度が小さくなるほど破断ひずみは増加する傾向を示した。また、引張速度が引張強さへ及ぼす影響はほとんどみられないことがわかった。

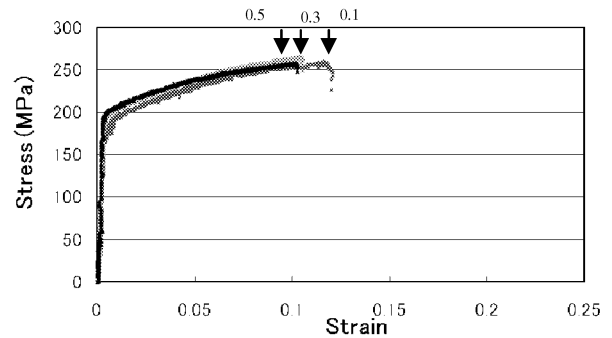


Fig.5 Stress-strain diagram (Cu : 20 μ m)

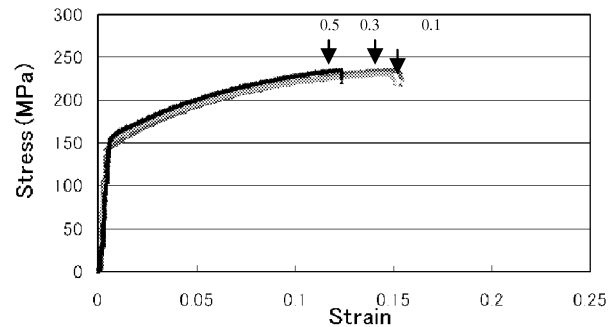


Fig.6 Stress-strain diagram (Cu : 30 μ m)

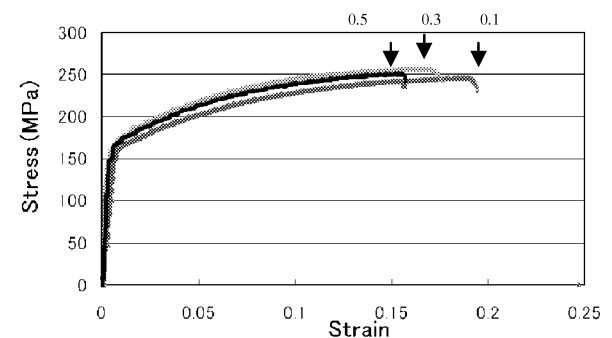


Fig.7 Stress-strain diagram (Cu : 40 μ m)

Table 2 Tensile strength and Young's modulus of Cu wire

Diameter	Tensile strength / Young's Modulus	Tensile rate μ m/s		
		0.1	0.3	0.5
20 μ m	Tensile strength	261	266	265
	Young's modulus	122	118	115
30 μ m	Tensile strength	234	237	237
	Young's modulus	93.8	125	100
40 μ m	Tensile strength	246	251	252
	Young's modulus	109	111	110

参考文献: (1) 小林, 後藤, 他 4 名, 日本材料学会第 58 期学術講演会講演論文集(2009), 363. (2) 後藤, 新井, 4 名, 材料試験技術, Vol.53, No.1, (2008), 38

査読付論文:

- (1) 羅ほか, 材料, Vol.61, No.2, 掲載決定 (2011).
- (2) 井口ほか, 材料試験技術, Vol. 55, No.1, (2010), 24.
- (3) 井口ほか, 材料試験技術, Vol. 54, No.1, (2009), 47.
- (4) 後藤ほか, 材料試験技術, Vol.53, No.1, (2008), 38

学会発表: 須藤ほか, 機械学会講演会(2011.10)他 3 編, 小林ほか, 日本材料学会学術講演会 (2010.5). ほか 5 編.

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, Micro conveyor system

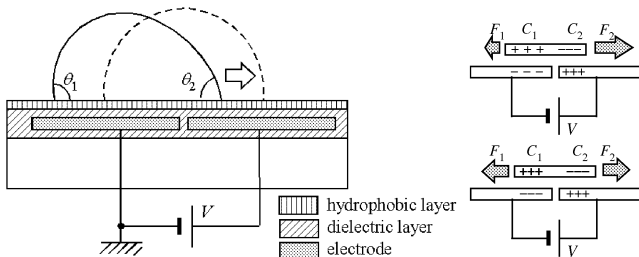
1. 緒言

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ハンドリングを行う EWOD (Electrowetting on Dielectric) と呼ばれる技術に着目した。マイクロ流体デバイス、化学分析チップなどの分野では、EWOD を利用して基板上での微量の薬液の移動、生成、分離、混合などを行う研究が盛んに行われており、化学、医療、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⁾⁴⁾。

今年度は、EWOD を利用した搬送システムで問題となる、液滴と固体表面の摩擦力の評価に関する研究を行った。液滴を用いて物体を搬送するためには、固体と液体の界面での摩擦により駆動力を効率良く伝達し、かつ輸送の妨げとなる摩擦は抑える必要がある。そこで、搬送台の表面に様々な微細凹凸構造を製作し、液滴との間の摩擦力を測定し、搬送台の表面性状が摩擦力に及ぼす影響を実験的に調べた。また、製作した搬送台を液滴上に載せて搬送実験を行い、搬送に適した表面形状を調べた。

2. EWOD を用いた物体搬送デバイス

EWOD を用いた液滴輸送の原理を Fig. 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 Fig. 1 (b) のように 2 つのコンデンサ C_1 、 C_2 が形成され、左右の電界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 ($\theta_1 > \theta_2$)。このことから、基板表面の濡れ性が電界により変化し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すると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、多数の電極列を形成し、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。



(a) EWOD デバイス (b) 等価回路
Fig. 1 Principle of EWOD device

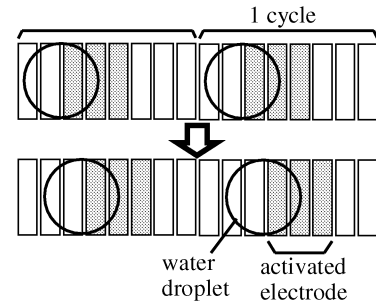


Fig. 2 Pattern of applied voltage

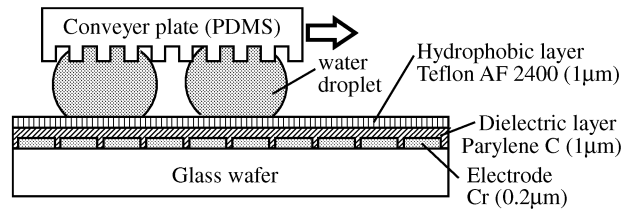


Fig. 3 Structure of the conveyor device using EWOD

本研究では液体として純水を用い、Fig. 2 に示すように 8 枚 1 セットの電極の内、3 枚の電極に電圧を印加し、印加電極を 1 極ずつ移動させた。電極のピッチは 0.53mm である。

また、EWOD によって輸送される水滴の上に撥水性の搬送台を載せると、水滴は凸形状となり、水滴内にラプラス圧力が発生するため、水滴上に搬送台を支持して輸送させることができる。搬送システムの構成を Fig. 3 に示す。

下部のデバイスは、ガラスウェハ上に Cr の電極層を成膜し、フォトリソグラフィにより電極アレイを形成した。絶縁層には Parylene C を蒸着し、撥水面には Teflon AF2400 を塗布した。搬送台は、直径 8mm の円形とし、シリコンゴムの材料である PDMS (Polydimethylsiloxane) を使用した。搬送台の撥水性を高め、摩擦特性を変化させるため、液滴との接触面に凹凸加工を施し、その表面に Teflon AF2400 を塗布した。表面の凹凸は、シリコンウェハ上に厚膜フォトレジスト (SU-8) を塗布し、フォトリソグラフィにより凹凸の型を作り、PDMS を流し込み剥離することで加工した。

凹凸の形状 (円柱形、円錐形)、大きさ、高さなどの異なる 5 種類の搬送台を製作し、摩擦力の測定と EWOD による搬送実験を行ない、表面の微細構造が、摩擦力や搬送に及ぼす影響を調べた。5 種類の搬送台を Table 1 に示す。No. 5 の搬送台は、水滴の位置を固定するため、表面の一部に凹凸加工を施していない部分を設けたものである。

3. 摩擦力の測定

微小な摩擦力を測定するために、厚さ $40\mu\text{m}$ のフィラゲージによる平行平板ばね (ばね定数 1.3N/m) を用いた摩擦

力測定装置を製作した。装置の概略図を Fig. 4 に示す。前述した搬送台を板ばね先端部に固定し、 $1\mu\text{l}$ の水滴上に垂直荷重 $128.3\ \mu\text{N}$ で押し付け、EWOD により水滴を移動させた。印加電圧を 100V 、印加周波数は 1Hz とした。水滴が移動する際に搬送台が引っ張られて板ばねが変位し、その変位量から摩擦力を算出した。

5 種類の搬送台を用いた摩擦力の測定結果を Table 1 に示す。実験結果より、凹凸形状が直径 $100\ \mu\text{m}$ の円柱形で、凹凸高さの高い No.3 の搬送台が摩擦力最大となった。摩擦力の時間変化を Fig. 5 に示す。水滴は 1 秒ごとに電極ピッチ $530\ \mu\text{m}$ で移動するのに対し、搬送台およびばねの変位は最大 $15.3\ \mu\text{m}$ であるため、搬送台と水滴の間の「動摩擦力」が測定されていることになり、その最大値は $21.3\ \mu\text{N}$ となった。搬送台 No.3 の摩擦力が大きいのは、Fig. 6 に示すように表面の凹凸により搬送台と水滴の接触面積が増加したためと考えられる。また、無加工部を持つ搬送台 No.5 も、水滴が無加工部に留まろうとするため摩擦力が大きかった。一方、凹凸形状が円錐形で直径が小さく、凹凸高さが高い No.4 の搬送台は、接触角が高く、かつ摩擦力が最も小さくなった。これは、Fig. 6 のように円錐の頂点部分のみが水と接した状態になり、接触面積が減少したためと考えられる。

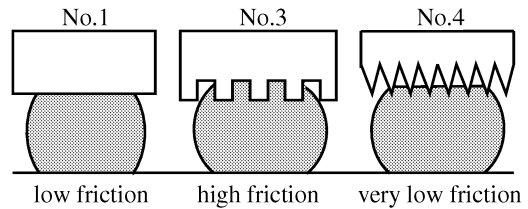


Fig. 6 Surface structures and friction force

4. 物体搬送

摩擦力測定実験に使用した搬送台を用いて物体搬送実験を行った。Fig. 7 に示すように、 $1\ \mu\text{l}$ の水滴 4 個の上に搬送台を載せ、物体搬送を行った。印加周波数を 1Hz ずつ上げていき、搬送を行えた最大搬送周波数を調べた。搬送実験の結果を表 1 に示す。最大搬送周波数が高かったのは、摩擦力の大きい搬送台 No.3 と No.5 であり、 21Hz (11.1mm/s) まで搬送が可能であった。一方、摩擦力の小さい搬送台 No.4 では液滴だけが輸送されてしまい高周波数で搬送を行うことができなかった。また、撥水性が低い搬送台 No.1 では液滴と搬送台との吸着が強く、電圧を印加しても液滴が移動せず、搬送することができなかった。

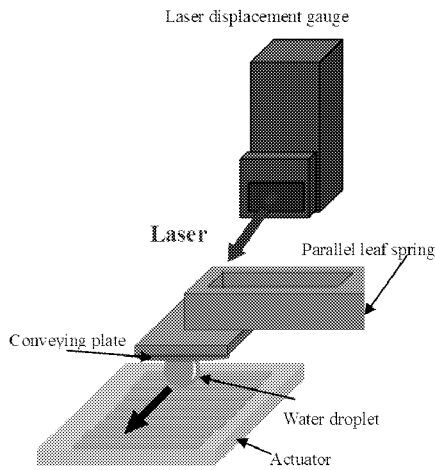


Fig. 4 Setup for measuring friction force

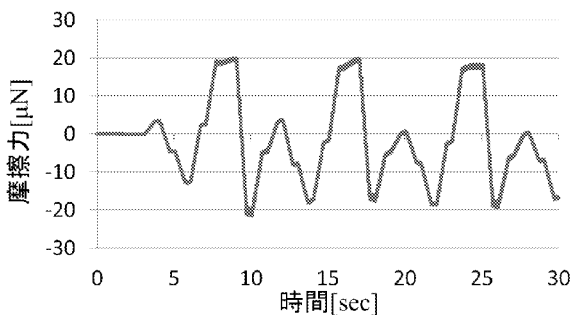


Fig. 5 Experimental results (Plate No.3)

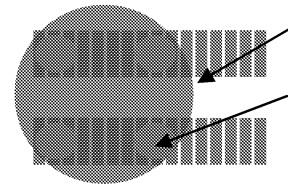


Fig. 7 Experiment of conveyor device

5. 結言

EWOD を用いた搬送に適する搬送台の表面性状を調べた結果、表面に適度な凹凸があり、水滴との摩擦力が大きくなる場合に、印加周波数 21Hz まで搬送が可能となり、搬送に適していることが確認された。

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.
- 4) Kenji Suzuki, Hiroaki Homma, et al., JSME Journal of Advanced Mechanical Design, Systems, and Manufacturing, 4, 1, 2010, pp.365-372.

学会発表

- 1) 福田 聡, 鈴木健司, 高信英明, 三浦宏文, エレクトロウエッティングを利用した液滴の3次元輸送 ~フレキシブルデバイスを用いた多自由度化~, 日本機械学会情報・知能・精密機器部門講演会講演論文集 (IIP2011), 2011, pp.195-198.

Table1 Specifications of conveyor plates

No.	Micro structure	Diameter	Pitch	Height	Diameter of flat area	Mass	Contact angle	Friction force	Maximum conveying frequency
1	flat	—	—	—	—	27.1 g	108°	$6.5\ \mu\text{N}$	1 Hz
2	column	$100\ \mu\text{m}$	$150\ \mu\text{m}$	$24\ \mu\text{m}$	—	12.6 g	136°	$11.1\ \mu\text{N}$	6 Hz
3	column	$100\ \mu\text{m}$	$150\ \mu\text{m}$	$71\ \mu\text{m}$	—	18.3 g	99°	$21.3\ \mu\text{N}$	20 Hz
4	cone	$30\ \mu\text{m}$	$90\ \mu\text{m}$	$40\ \mu\text{m}$	—	21.1 g	140°	$6.1\ \mu\text{N}$	10 Hz
5	cone	$30\ \mu\text{m}$	$60\ \mu\text{m}$	$27\ \mu\text{m}$	1.5 mm	27.2 g	114°	$21.1\ \mu\text{N}$	15 Hz

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、発泡剤を混合したアルミニウム合金粉末を固化させ、加熱、発泡させながら金型内に充填して成形する実験を行った。

2. 実験方法

母材粉末にはアルミニウム合金 A6061 を使用し、発泡剤に水素化チタン TiH_2 を用いた。アルミニウム粉末に TiH_2 を 1mass% 混合し、122MPa で冷間圧粉して 450℃ で熱間押出した後、直径 10mm、高さ 10mm の円柱形の発泡前駆体を作製した。Fig. 1 に前駆体を発泡させなが

ら金型に充填する実験の概要を示す。発泡用ダイスに前駆体を挿入し、IH ヒータにより 5 分間で所定の温度まで加熱した後一定温度に保持した。金型充填は一定温度で約 2 分間保持した後、パンチにより前駆体を発泡させながら金型内に押し出して行った。発泡用ダイスの入口径は 11mm、出口径 D_{out} は 9mm で、加熱された前駆体がダイスに密着して十分加熱されるようにした。発泡用ダイスの加熱温度は予備実験において最も低い密度の発泡アルミニウムが得られた 720℃ とし、発泡用ダイスの温度は出口から 3mm の位置で熱電対を使用して測定して一定になるように制御した。

金型の形状を Fig. 2 に示す。図中上部を発泡用ダイスに取り付け、下部に蓋を付けて密閉型とした。金型容積はほぼ同じで直径 D と高さ H を変化させて充填実験を行った。金型および発泡用ダイスはともに SUS304 で作製し、金型充填は水平方向で行った。

3. 実験結果

3.1 水平方向充填

金型内容積に対する発泡アルミニウムの体積比率より求めた体積充填率を Fig. 3 に示す。金型形状のアスペクト比 H/D が 1.25 の場合に体積充填率は 0.76 となった。 $H/D=0.45$ の場合、体積充填率は 0.64 と低くなり、 $H/D=5$ では充填率は 0.39 と最も低くなった。

Fig. 4 に発泡アルミの金型内での充填のようすを示す。 $H/D=0.45$ の場合、水平方向に充填しているため発泡用ダイス出口から金型の底部までに段差が生じ、発泡アルミが金型の下側にたまり自重の影響により金型の上側への発泡膨張が十分にできず、充填率は低くなったと考えられる。金型の直径が発泡ダイスの出口径に比べて大きい場合、水

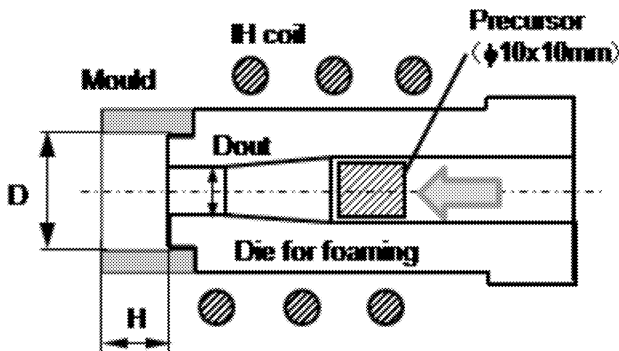


Fig. 1: Mould and die for foaming of aluminium with foaming agent

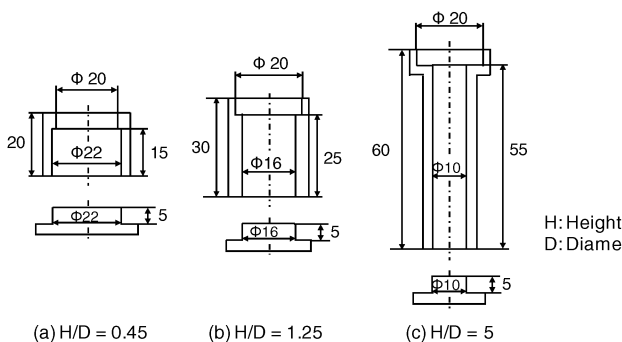


Fig. 2: Shape and size of mould

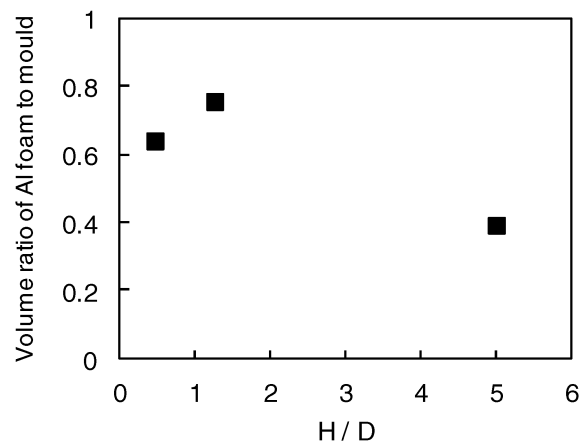


Fig. 3: Influence of mould shape on volume ratio of Al foam to mould

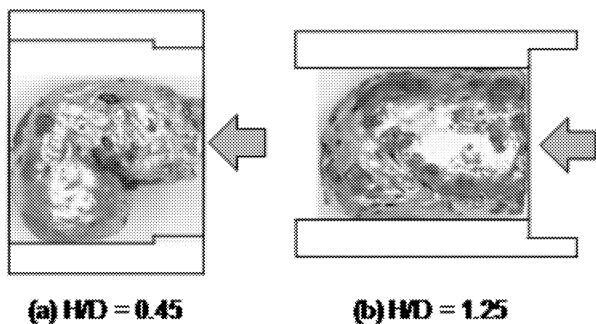


Fig. 4: Shape of Al foam in mould for different aspect ratio H/D

平方向充填では自重の影響が大きくなることわかる。アスペクト比 H/D が 1.25 の場合は金型の直径が小さく段差も小さくなり、発泡膨張により金型上部にまで達している。小さい段差で自重の影響が小さくなり充填率が上がっている。水平方向充填により発泡アルミの成型が可能であると考えられる。得られた発泡アルミの相対密度は 0.24 であった。 $H/D=5$ の場合、金型入口部で発泡アルミが詰まり、金型に固着した。発泡アルミの相対密度は 0.51 であった。

3.2 金型内発泡

アスペクト比 $H/D=0.45$ の金型内に発泡アルミニウムを水平方向で充填させる場合、自重の影響で充填が困難であるため、アスペクト比 H/D が小さい金型への充填方法として、金型を縦向きにした鉛直方向での充填について考える。鉛直方向充填には金型上部からと下部からの 2 通りの充填があるが、上部からでは自重の影響が大きくなるので、本報告では下部からの充填を考え、金型内に発泡前駆体を入れて金型を加熱することにより発泡充填させる実験を行った。

Fig. 5 に型内発泡における体積充填率と金型アスペクト比 H/D の関係を示す。アスペクト比 H/D が小さい場合、十分な充填率が得られた。しかしながら、アスペクト比が $H/D=5$ と断面積が小さく、細長い金型内への充填では体積充填率は約 0.6 と低い値となった。本条件では前駆体の直径と金型内径は同じであるため、発泡における圧力によりアルミは金型に密着し、膨張は鉛直方向のみとなる。このため自重の影響とともに金型との摩擦の影響も大きくなったためと考えられる。

3.3 発泡用ダイスの出口直径の影響

Fig. 6 に水平方向充填における発泡用ダイスの出口直径に対する金型内径の比 D/D_{out} と体積充填率の関係を示す。 D/D_{out} が大きく、発泡用ダイス出口径に対して金型内径が大きい場合、金型入口部に段差ができるため自重の影響が大きくなり、水平方向での金型充填は困難で、鉛直方向充填が有効である。また D/D_{out} が 1 に近く、発泡用ダイス出口径と金型内径がほぼ同じ大きさの場合、摩擦により発泡アルミが金型の入口付近で詰まり、金型充填が困難であった。鉛直方向においてもアスペクト比 H/D が大きく摩擦の影響により充填は困難である。 D/D_{out} が 1.8 の場合、水平方向では金型入口付近での段差による自重の影響は小さく、膨張しながらの充填により発泡アルミの充填率が高くなったと考えられる。したがって、金型アスペクト比 H/D が大きい、細長い金型に充填させる場合は金型内径に対して発泡用ダイス出口直径を小さくすることにより充填の可能性があると推測される。金型形状に応じて発泡

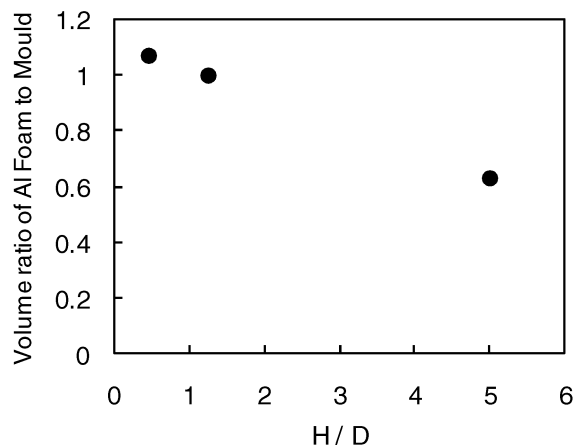


Fig. 5: Relationship between mould shape and volume ratio of foam for foaming in mould inside

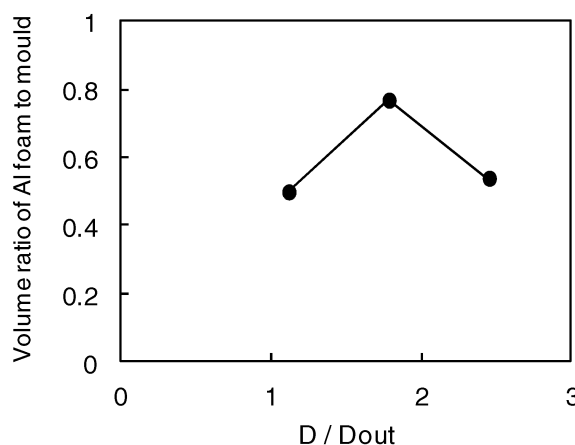


Fig. 6: Influence of size of die outlet on volume ratio of Al foam to mould

用ダイスの出口径も考慮する必要がある。

4. 結言

発泡剤を混合したアルミニウム合金粉末を固化し、加熱、発泡させながら金型内に充填する実験を行った結果、水平方向充填の場合、発泡用ダイスの出口径に対する金型内径の比が大きいときは自重の影響により十分に充填させることはできず、また小さい場合は摩擦の影響により充填が困難であった。金型のアスペクト比 H/D が小さい場合は鉛直方向の充填が有効であるが、 H/D が大きくなると摩擦の影響により鉛直方向でも充填は困難である。しかし発泡用ダイス出口径と金型内径の比を考慮することにより H/D が大きい場合でも充填の可能性がある。

参考文献

1) Ashby, M.F. et al.: Metal Foams, 2000, Butterworth-Heinemann.

査読付き論文

1) Shiomi, M. and Tanino, Y.: Proc. MetFoam 2011, 2011.

学会発表

1) 塩見誠規, 谷野孝高: 日本機械学会 2011 年度年次大会 DVD-ROM 論文集, 2011.

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, 武沢 英樹
Yosuke NISHITANI, Hideki TAKEZAWA

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

1. 緒言

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技術の確立およびそれらに適した高性能光硬化性樹脂系材料の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 (PESP) に有機充填材を充填することにより、機械的およびトライボロジー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、また物理的溶融分散法を用いてポリアミド (PA6) 系のポリマー微粒子を製造し、それらを PESP に充填することにより改質できることを明らかにした。さらには、光造形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)物理的溶融法を用いたマイクロサイズのポリマー微粒子の製造とそれら微粒子充填系の物性評価、および(2)リバースエンジニアリング (RE) 技術を用いた3次元マイクロ部品の開発について実験的に検討した結果を報告する。

2. 有機充填材用ポリマー微粒子の製造法

2-1 背景

昨年度までに、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²⁾を検討し、マイクロサイズのポリアミド (PA6) 系微粒子を開発した。本年度はトライボロジーの性質に優れた熱可塑性樹脂として、ポリアセタール (POM) および超高分子量ポリエチレン (UHMWPE) の微粒子製造および、製造した微粒子をエポキシ樹脂系光硬化性樹脂に充填し、それらのトライボロジーの性質などを検討した結果を報告する。

2-2 実験

物理的溶融分散法における分散媒として水溶性樹脂の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セタール (POM, 旭化成, TENAC-C4520) 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、十分に乾燥させた後にふるいを用いて分級した。この方法で製造した3種類のポリマー微粒子 (PA6, POM および UHMWPE) を充填材とし、光造形用エポキシ樹脂 (PESP, ディーメック社, SCR-751) をベースとした高性能光硬化性樹脂系複合材料を注型法により成形し、各種物性評価を行った。評価用試験片の成形方法および各種物性評価方法は昨年度と同じため、ここでは省略する。

2-3 実験結果と考察

図1に物理的溶融分散法を用いて製造した UHMWPE 系ポリマー微粒子の SEM 写真を示す。ただし、図1(a)は市販の UHMWPE 微粒子であり、図1(b)が本法で製造した微粒子である。市販品は平均粒径 100~150 μm 程度であるのに対し、本法で製造した微粒子は平均粒径が 65 μm 程度であり、溶融粘度が非常に高い UHMWPE でも本法により微粒子化できることがわかる。

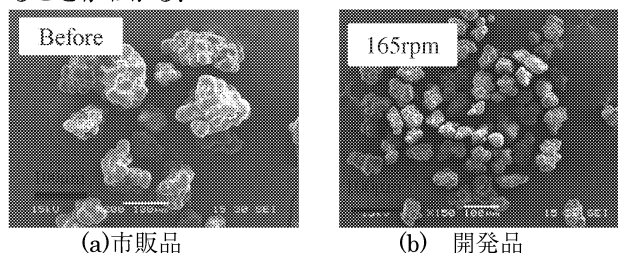


図1: 物理的溶融分散法を用いて製造した UHMWPE 微粒子

図2に物理的溶融分散法を用いて製造した各種微粒子を PESP に充填した系のリングオンディスク型すべり摩耗試験による摩擦係数 μ および比摩耗率 V_s とフィラー充填量 C 依存性を示す。摩擦係数および比摩耗率とも POM > PA6 > UHMWPE の順に改質し、特に UHMWPE が著しく改質効果が高いことがわかる。今後は最も改善効果の優れた物理的溶融分散法を用いて製造した UHMWPE 微粒子を充填した高性能材料の歯車特性や、開発した材料の成形性について実際の光造形機を用いて検討する予定である。

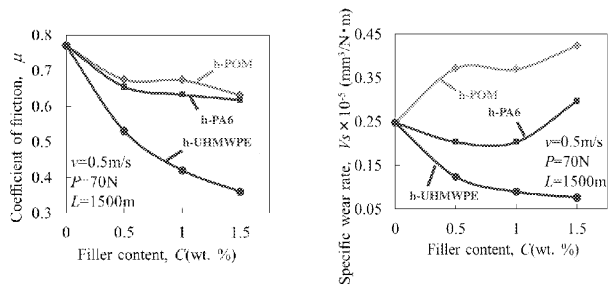


図2: すべり摩耗試験結果

3. リバースエンジニアリング技術の構築

3-1 背景

光造形によるマイクロ機械部品の開発のため、マイクロサイズのリバースエンジニアリング技術の構築を目的とし、光造形を中心としたリバースエンジニアリングの技術構築および、それらを用いてマイクロ機械部品の開発を検討した結果を報告する。具体的には、マイクロサイズの試作モデルを産業用 X 線 CT 装置により計測し、その画像から3次元形状を抽出してデータ解析を行うことにより再構築モデル (CAD データ) を製作し、その再構築モデルを用いて光造形装置により造形を行うリバースエンジニアリングについて、造形物の

寸法誤差低減のための造形条件や処理方法を実験的に検討した結果を報告する。

3-2 実験

図3に示すリバースエンジニアリング法(RE)を検討した。試作モデルの測定には産業用CT(コムスキャンテクノ(株), ScanXmate) およびX線検出器(浜松ホトニクス(株), C7921CA-02)を用い, スライス画像(16bitTIFF形式)を506枚撮影し, 撮影したX線CT画像から3次元モデリングデータの構築を行った。3次元モデリングは, ボリュームレンダリングソフト(日本ビジュアルサイエンス(株), VGStudio Max)を用い, 3次元モデリングデータからリバースエンジニアリングソフト(日本ビジュアルサイエンス(株), Point Master)を用いて三角形, 四角形メッシュを施すことによりSTL(Stereo Lithography)データとして3D-CADデータ構築をし, この構築した3D-CADデータを光造形用作成データとした。なお, X線CT画像から3D-CADデータを製作する工程において, 精密な造形を行うためには, CT撮影条件(管電流・管電圧), 撮影対象物やデータ変換ソフトウェアが寸法精度に及ぼす影響があるため, それらの基礎データの蓄積を行った。

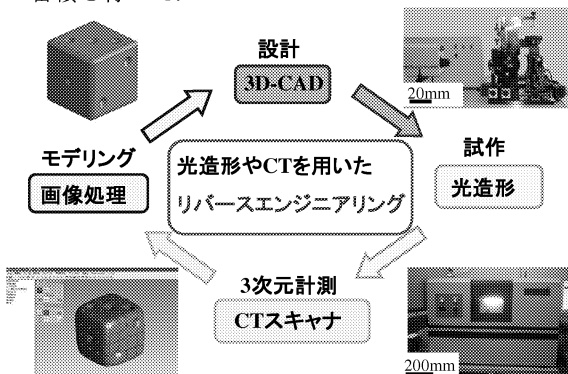


図3：リバースエンジニアリング (RE)

3-3 実験結果と考察

図4にリバースエンジニアリング技術により取得したCADデータのイメージ図, およびそれらの寸法誤差(実際の形状とCADイメージとの寸法の差)に及ぼすX線CT撮影時の管電圧の影響を示す。管電圧の違いにより複雑な挙動を示すものの, 30kVで最も寸法誤差が小さくなることからわかる。図は省略するが, 同様に管電流やX線照射量などについても検討し, REにおけるCADデータ取得のために最適なX線CT撮影条件を明らかにした。これらの知見をもとに, 実際の3次元マイクロ部品の一例として, 樹脂ボルトをREにより製作した結果を図5に示す。今後は, これまでの知見をもとに, 複雑な3次元形状を有するマイクロ部品等の開発を行っていく。

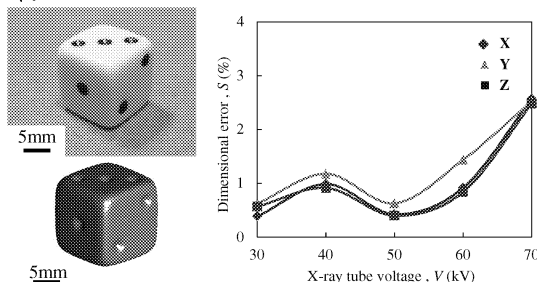
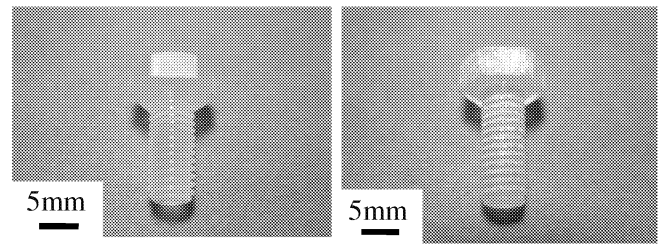


図4：REにより取得したCADデータおよび寸法誤差に及ぼすX線CTの管電圧の影響



(a) 市販品のボルト (b) REにより造形したボルト

図5：REを用いた造形例

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) 物理的熔融分散法を用いて各種ポリマー微粒子の製造が可能で, 特にUHMWPE微粒子は市販品の半分以下に微粒子化できることを明らかにした。
- 2) 製造したUHMWPE微粒子によりPESPのトライボロジー特性を改善できること。
- 3) リバースエンジニアリング技術の構築を行い, 最適なX線CT撮影条件などを明らかにした。

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) 金原幸雄: プラスチックス, Vol.60 pp.42-45, 2009

研究報告

- 1) 佐藤貞雄, 齋木直樹, 堀口真裕, 片岡誉, 西谷要介, 光硬化性樹脂複合材の疲労強度とトライボロジー特性に及ぼす充填材の影響, 工学院大学研究報告, vol.111 (2011), pp.7-13

学会発表

- 1) Unno, T., Nishitani, Y., Kokubo, K., Sekiguchi, I., Kitano, T., "Effect of Addition of Various Organic Fillers on Tribological Properties of Stereolithography Resin and Their Gear Strength", *Proceedings of International Tribology Conference Hiroshima 2011*, (2011), P05-09 (Student Excellent Presentation Awards 受賞)
- 2) 海野越久, 西谷要介, 小久保邦雄, 関口勇, 北野武, "ポリマー微粒子光硬化性樹脂のトライボロジー特性", 日本トライボロジー学会トライボロジー会議 2011 春 東京, Vol.2011-5 (2011), pp.185-186
- 3) 齋木直樹, 海野越久, 雨宮朝宏, 西谷要介, 北野武, "光造形を中心としたリバースエンジニアリングを用いたマイクロ機械部品の開発", 2011年度材料技術研究協会討論会, vol.2011 (2011), pp.69-70
- 4) 海野越久, 高橋佑太, 西谷要介, 小久保邦雄, 北野武, "熔融分散法を用いて製造したポリマー微粒子を用いたエポキシ系光硬化性樹脂の改質", 2011年度材料技術研究協会討論会, vol.2011 (2011), pp.103-104
- 5) 市村佳大, 鈴木達也, 武沢英樹, 平尾篤利, 毛利尚武, "永久磁石の熱加工における磁気特性の変化", 2011年度精密工学会秋季大会, (2011), pp.723
- 6) 鈴木達也, 市村佳大, 武沢英樹, 毛利尚武 "熱加工による永久磁石の表面磁束密度パターンニング", 2011年度電気加工学会全国大会, (2011), pp.67
- 7) 市村佳大, 鈴木達也, 黒田洋平, 武沢英樹, 毛利尚武, "永久磁石に対する放電加工で形成される熱的影響層", 2011年度電気加工学会全国大会, (2011), pp.69

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。

研究プロジェクト（5年間）の4年目となり、多くの研究が引き続き推進される一方、研究成果の収穫期が始まった。査読付論文等が数多く発行され、また、開発された技術や材料等の臨床応用が開始されている。

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

中荻 隆，橋本洋志（産業技術大院）

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)

関節には軟骨や、靭帯、腱が存在する。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、修復のための必要物質が運搬されにくく、自己修復はきわめて難しい。

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 を用いた検討を行った。scSAT は、本研究プロジェクトの 1.1 で詳述されているように、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、組織修復への応用が期待されている。特に、軟骨部分欠損の治療の場合、構造強度がさほど必要でないため、スキャフォールドを用いずに scSAT を欠損部に詰めるだけで移植治療が行え、移植後の成績も良好であることが分かっている。

2.1.1. では、前年度までに修復組織の圧縮特性と摩擦特性が正常軟骨に比肩することを明らかにした。本年度は、修復組織にとってもう一つの重要な性質である、周囲の正常組織との癒合強度について、独自の試験法を開発して調べた。修復組織と正常組織の境界部を円筒状に切り取り、表層、中層、深層の 3 層に薄切して、それぞれの層の引張破断試験を行った。その結果、scSAT による修復組織の癒合強度は正常軟骨の強度には劣るものの、scSAT を用いない修復組織の強度に比べ、有意に高いことが分かった。また、正常軟骨も scSAT による修復軟骨も、深さに依存して（癒合）強度が変化し、深層が強度が高く、表層はその 1/3 程度であることが分かった。また、昨年度に引き続き、軟骨の潤滑メカニズムを解明し、修復軟骨の特性を解明する目的から、固液二相性を考慮した多孔質弾性体モデルを改良し、解析を行った。その結果、モデル内のコラーゲン線維に 5% 程度の緩みをもたせると、解析モデルの精度が向上することが分かった。さらに、モデルを用いて修復軟骨の摩擦解析を行った。scSAT 修復軟骨では、プロテオグリカンの透水率の低下が、起動摩擦係数を増大させるものの、プロテオグリカンの弾性率の低下により摩擦係数が低下し、全体としては摩擦係数がさほど変化しないことが分かった。

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 ）で、深さを 30 μm にすると scSAT の強度が最も高まることが分かった。さらに、矩形型、U 字型、三角型の溝パターンを培養皿に加工して scSAT の培養を行ったところ、いずれの場合もアクチンフィラメントおよびコラーゲン線維の配向が起こり、矩形型の場合に最も強度が高まることが分かった。次年度は、細胞接着に関する力学モデルの作成に着手し、scSAT 生成にとって最も良い培養表面を明らかにすると同時に、細胞接着のメカニズムについて 1.1 のテーマと合同で検討していく。

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, Bi-phasic model

1. はじめに

関節軟骨は自然治癒能力が低いいため、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おり、昨年度までに修復軟骨の圧縮特性や摩擦特性について、解析も交えて調べてきた¹⁻³⁾。本年度は、scSAT で修復した組織の周囲の正常軟骨に対する癒合度について実験的検討を行った。また、前年度に引き続き、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. 幹細胞由来生体材料による軟骨修復組織の癒合強度

3 週齢の未成熟ブタの膝関節滑膜から関節包組織を取り出し、継代培養を行った (Fig. 1)。細胞密度が 4 百万個/cm² になった時点で 0.2 mM のアスコルビン酸溶液を添加し、4 日~14 日たった時点で培養組織を剥離し、scSAT を生成した。3 週齢の未成熟ウサギ膝関節の片方の膝蓋大腿関節面に、直径 6 mm、深さ 2 mm の軟骨下骨に到達しない軟骨部分欠損を作製し、scSAT を他家移植した。6 ヶ月後に屠殺し、修復部と周囲の正常軟骨の境界部を直径 4 mm の円柱状に切り出した (Fig. 2)。この円柱状試験片をマイクロトームで 300 μm に薄切し、特殊加工した打ち抜き機によるダンベル型に成型した。試験部分の幅 (約 0.5 mm) と厚さ (約 300 μm) を実測した後、特製の引張試験機にクランプした (Fig. 3)⁴⁾。この試験機のクランプは、パンタグラフチャックを参考に作成したもので、引張力の増加とともに締め付け力が増大する仕組みとなっている。室温の生理食塩水に浸した状態で、0.2 MPa の引張力をあたえた状態をひずみ 0 と定義し、引張速度 0.01 mm/s で破断するまで引っ張った。引張試験中の引張応力とひずみを計測した。

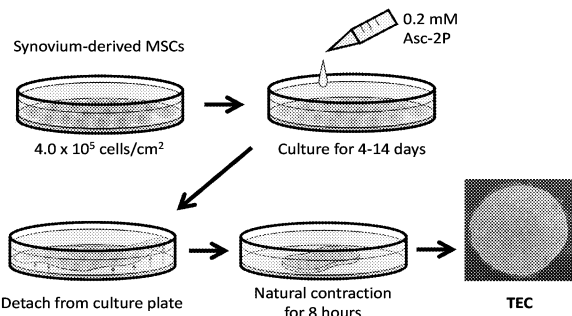


Fig. 1: 3 週齢のブタ滑膜組織より生成した scSAT (TEC)

修復軟骨の組織観察結果を Fig. 4 に示す。scSAT を用いた修復部は、肉眼所見より、欠損部が修復組織で満たされ、断面像より、サフランin O 染色が強く (濃赤色)、関節軟骨様

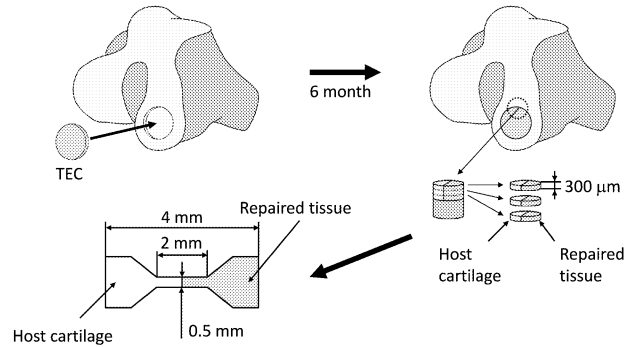


Fig. 2: scSAT(TEC)の未成熟ブタ大腿骨軟骨部分欠損部への移植と 6 カ月後の修復組織/周囲正常組織結合部の採取

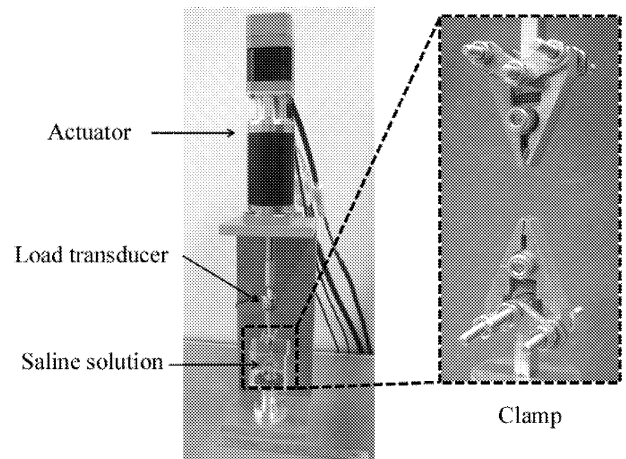
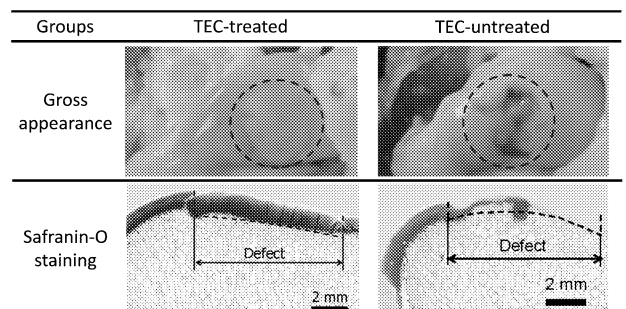


Fig. 3: パンタグラフチャックを用いた生体組織引張試験機

組織が修復部表面を覆っていることが分かった。scSAT を用いない場合に比べて、修復組織の量も質も優れていることが分かった。引張強度の結果を Fig. 5 に示す。正常軟骨の引張強度は、表層で 5 MPa、中層と深層では 12 MPa 以上であった。scSAT を用いない場合は、ほぼすべての試料がダンベ

Fig. 4: 軟骨部分欠損修復部の肉眼所見と断面組織観察



ル型に成型する際に破断してしまった。そのような試料については、破断強度を0として計算した。これに対し、scSATを用いた場合は、正常軟骨よりも低強度ではあるものの、scSATを用いない場合よりも強度が高い傾向にあり、深層においては有意に高強度であった。

軟骨修復組織の周囲軟骨組織との癒合強度について層別に調べた研究は存在しない。軟骨修復においては、細胞の配置やコラーゲン線維の走行などから、深さに依存した治癒過程を経ることが分かっており、癒合強度も深さ依存性を有することが予想されていた。本研究は、そのことを初めて定量的に明らかにした。検討の結果、scSATを用いると、正常軟骨には劣るものの、癒合強度が増大することが分かった。治癒中に様々な荷重が癒合部境界で作用することが予想されるが、scSATにより、癒合組織の剥離が低減される可能性が示唆された。昨年度までの検討で、scSATを用いた修復軟骨の圧縮特性と摩擦特性が、正常軟骨と比べて遜色ないことが分かっている。これに加え、本研究では癒合強度も優れていることが分かり、本修復法の優位性が改めて示された。

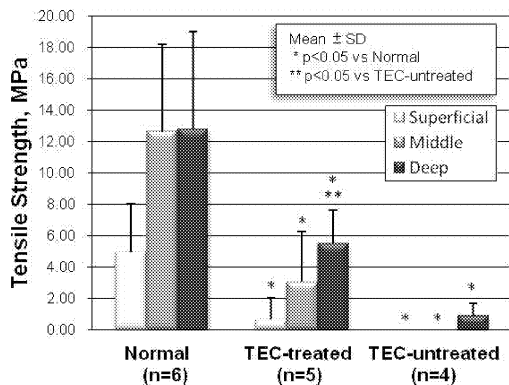


Fig. 5: 修復軟骨の表層, 中層, 深層の癒合強度

3. 正常軟骨・修復軟骨の圧縮・摩擦挙動解析

本研究でこれまでに行った軟骨の解析では、軟骨構成要素のコラーゲン線維を、ひずみに依存して接線係数が高まる弾性体と仮定している⁵⁾。昨年度までは、コラーゲン線維に緩みがないと考え、ほんのわずかでもひずみが生じると張力が発揮するように設定していた⁶⁾。しかし、実際のコラーゲン線維は、無荷重時に弛緩することが観察されているため、これをモデルに取り込み、5%以下のひずみには反応しないとしました。その結果、圧縮時の解析挙動を実験結果に精度よくフィッティングできることとなった。この設定で、これまでに解析誤差の大きかった動的圧縮時の応力の時間変化を解析すると、実験結果にほぼ等しい応力変化が得られた (Fig. 6)。解析モデルの精度が向上したことが確認された。

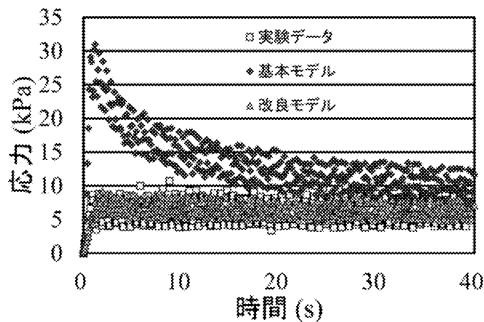


Fig. 6: 弛緩を考慮したモデルの動的圧縮挙動変化の解析

scSATによる修復軟骨の摩擦解析では、Susaの報告⁵⁾を参考にして、モデルのプロテオグリカンの透水性を2倍に、接線係数を1/2にした。その結果、透水性増大により摩擦係数

が増大するものの、接線係数の低下により摩擦係数が低下し、結果的に摩擦係数に大きな変化が生じないことが分かった (Fig.7)。

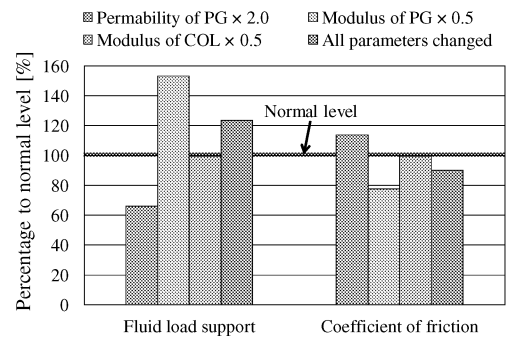


Fig. 7: 修復軟骨モデルの間隙圧と摩擦係数

4. まとめ

修復軟骨の癒合強度を層別に求めることに成功した。その結果、scSATによる修復の場合、癒合強度が向上することが分かった。また、軟骨解析モデルの修正を行ったことで解析精度の向上がはかられ、修復軟骨の摩擦特性の検討が行えるようになった。

文献

- 1) Ando W, et al, Biomaterials 28, 2008. Shimomura K, et al, Biomaterials 31, 2010. 3) Katakai D, et al, Clinical Biomechanics 21, 2009. 4) Nansai R, et al, 9th ICRS, 2010. 5) Susa T, 6th WCB, 2009. 6) Fujie H, 2010年度 BERC 報告書 2.1.1., 2011.

査読付き論文

- 1) Nansai R, Nakamura N, Fujie H, et al, Surface morphology and stiffness of cartilage-like tissue repaired with a scaffold-free tissue engineered construct, J Biomech Sci Eng 6, 40-48, 2011.
- 2) Ando W, Fujie H, Nakaamura N et al, Detection of abnormalities in the superficial zone of cartilage repaired using a scaffold-free tissue engineered construct (TEC) derived from synovial mesenchymal stem cells in a porcine model: Micro-scale biomechanical and biological assessments, Biomaterials, submitted.
- 3) Fujie H, Nakamura N, et al, Depth-dependent integration strength of cartilage-like tissue repaired with a stem cell-based tissue engineered construct, J Biomech, submitted.

学会発表

- 1) Susa T, Fujie H, Nakamura N, et al, Influence of permeability on the compressive property of articular cartilage: A scaffold-free, stem cell-based therapy for cartilage repair, ASME SBC, 2011 June, Farmington.
- 2) Nansai R, Fujie H, Nakamura N, et al, Porelastic fiber-reinforced biphasic model predicts the start-up friction behavior of cartilage, International Conference on Bio-Tribology (ICoBT), 2011 September, London.
- 3) 藤江, 諺佐, 他, 線維強化多孔質弾性体モデルによる軟骨起動摩擦挙動の解析, 第22回バイオフィロンティア講演会(日本機械学会バイオエンジニアリング部門), 2011 10月, 津
- 4) Fujie H, et al, Interstitial fluid decreases boundary contact area and contributes to low friction in cartilage, Fukuoka International Forum: Biotribology Fukuoka 2011 "Biotribology for Life Innovation at Multi-scales", 2011 November, Fukuoka.
- 5) 藤江, 中村, 他, 幹細胞ベース組織再生材料による修復軟骨の深さ依存癒合強度, 第38回日本臨床バイオメカニクス学会, 2011 11月, 神戸.
- 6) 藤江, 他, 多孔質弾性体モデルによる軟骨起動摩擦の解析, 第38回日本臨床バイオメカニクス学会, 2011 11月, 神戸.

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

関節に存在する腱や靭帯は、軽量、コンパクトでありながら、日常動作で生じる高荷重に耐えることができる優れた特性を有している。しかし、血行に乏しい組織であるため、一度怪我や事故等で損傷すると自己修復が困難であるという問題がある。我々は損傷した腱や靭帯を修復するため、幹細胞自己生成組織(stem cell-based self-assembled tissue: scSAT)に関する研究を行っている¹⁾。scSATは構成成分が腱や靭帯と類似しているが、腱や靭帯の再生医療用材料として用いる場合、異方性を付与して強度を向上させる必要がある。そこで本研究では異方性付加のため培養皿にマイクロパターン加工を施しscSATを作製した²⁾。四角型、U字型、V字型の溝形状を持つ3種類のマイクロパターン培養皿を作製し、溝形状がscSATの力学的特性に及ぼす影響を調べた。

2. 材料および実験方法

2-1. マイクロパターン培養皿作製

シリコンウエハにレジストを均一に塗布し、ソフトベークを経た後に幅 100 μm のスリット状のフォトマスクを介して露光した。露光部分は現像液を用いて融解させ、シリコンウエハにパターンを形成した。シリコンウエハ上に深堀ドライエッチング装置(MUC-21, 住友精密工業)により深さ 30 μm 、山と溝の幅 100 μm のパターンをエッチングした後、シリコンウエハ上に残留しているレジストを全て除去して四角型形状の型を作製した。U字型は、四角型と同様のフォトリソグラフィ技術とウエットエッチング法を用いてガラス上に作製した。V字型はフェムト秒レーザーにより型であるガラスを加工することで作製した。形成された3つの型にPDMSを滴下し、オープンで90 $^{\circ}\text{C}$ 、1時間焼き固めることにより、マイクロパターンをPDMSに転写した。滅菌処理と親水化のためのプラズマ処理を行い培養皿とした。走査型電子顕微鏡(SEM: VE-8800S, KEYENCE)を用いて転写後の溝断面構造をそれぞれ観察した。四角構造を転写したPDMSをP(R)群、U字構造を転写したPDMSをP(U)群、V字構造を転写したPDMSをP(V)群と表記する。パターンのないPDMSと市販のポリスチレン製の組織培養皿(PS dish)を比較材とし、それぞれPDMS群、PS dish群とした。

2-2. scSAT 作製

ヒト膝関節の滑膜から、コラゲナーゼ処理により細胞を採取し、継代培養を4回行った。各培養皿上に初期細胞密度 6.0×10^5 cells/cm 2 で播種した。細胞外基質の生成を促進させるためアスコルビン酸2リン酸を0.2 mM添加した。培養28日後に、培養皿底面に生成した基質を剥離し、1時間自己収縮させ、厚みを増大させた組織を試験片 scSAT とした。

2-3. 組織観察

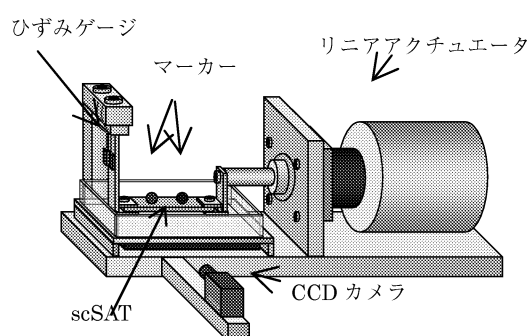
細胞骨格であるアクチンと接着に関わるタンパク質であるヴィンキュリンをそれぞれ蛍光染色し、蛍光顕微鏡を用いて組織の配向の様子や接着の様子を観察した。

2-4. 引張試験

マイクロパターン培養皿上で作製した scSAT の力学的特性を求めるため、Fig.1 に示す試験機を用い、引張試験を行った。

Fig.1 引張荷重下培養装置

2-4. 統計処理



scSAT 引張試験により得られたデータの統計的な有意差の有無を確認する為ため、*t*検定(有意水準 0.05)を用いた。

3. 結果

3-1. マイクロパターン培養皿の表面観察結果

加工後の表面をSEMにより観察した結果、3種類のマイクロ溝構造が形成されていることを確認した(Fig.2)。

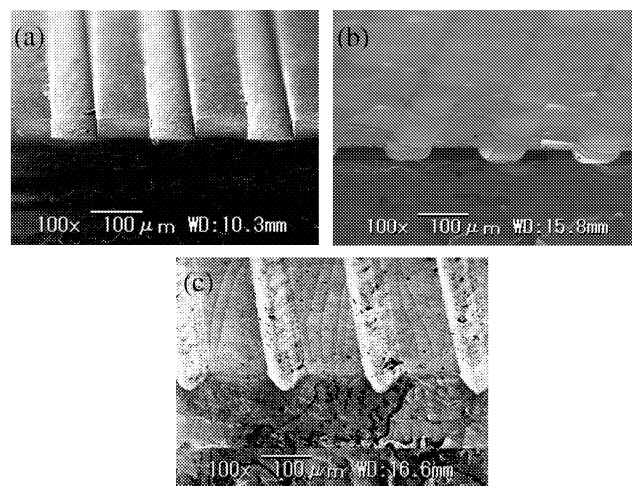


Fig.2 マイクロ溝構造を転写したPDMSのSEM観察結果
a: P(R)群 b: P(U)群 c: P(V)群

3-2. 組織観察結果

蛍光染色により scSAT の組織を観察した結果、マイクロ加工群は溝と平行方向にアクチンフィラメントやヴィンキュリン、核の配向が観察された。また、P(V)群に比べ P(R)

群は高い配向性を示した。PS dish 群, PDMS 群は組織の配向性は観察されず, 等方的に組織が分布している様子が観察された。

3-3. 引張試験結果

引張試験より得られた応力-ひずみ線図を Fig.3 に示す。PS dish, PDMS, P(V)群は応力が緩やかに増大したのに対して, P(R), P(U)群はひずみ 0.1 あたりで応力が大きく増大した。

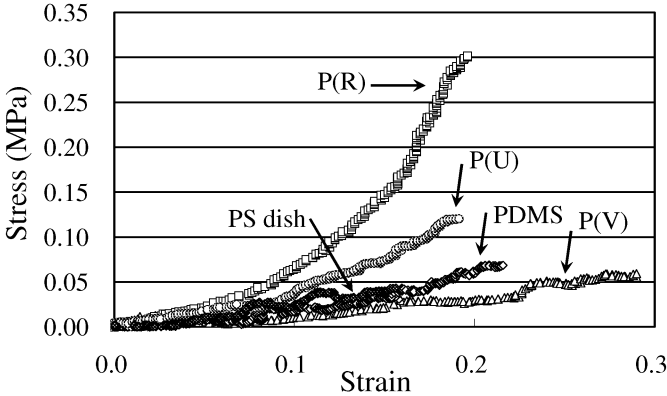


Fig.3 scSAT の応力-ひずみ線図

Fig.4 に各 scSAT の引張強度を示す。P(V), P(U)群の引張強度は, PS dish 群に比べ高い傾向を示し, PDMS 群に比べ有意に高かった。P(R)群は他のすべての群と比べ, 有意に引張強度が高かった。

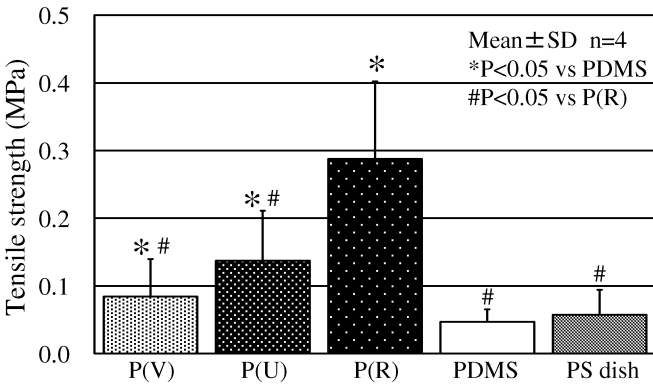


Fig.4 scSAT の引張強度

Fig.5 にひずみ 5~10% 時の接線係数を示す。PDMS, PS dish 群に比べ, P(U), P(R)群は接線係数が高い傾向を示したが, 全ての群間に有意な差は見られなかった。

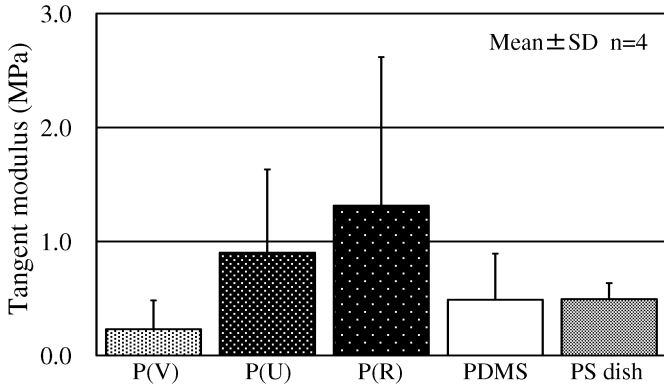


Fig.5 scSAT の接線係数

Fig.6 に破断点のひずみ~5%の接線係数を示す。PDMS, PS dish 群に比べ P(R)群は有意に接線係数が高かった。

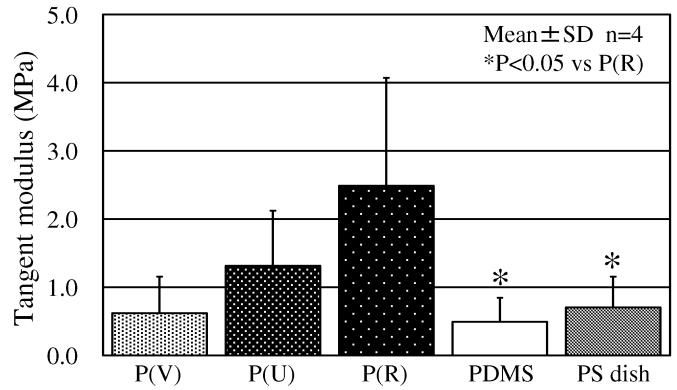


Fig.6 ひずみ(B.P. ~5%)の接線係数

4. 考察

蛍光観察の結果より, マイクロ加工群は溝方向に配向している様子が観察され, P(V)群に比べ P(U), P(R)群の配向性が高かった。また, 引張試験の結果より, P(R)群の力学特性が他の群と比べ最も高かった。ここでマイクロ加工群それぞれの培養皿の溝の断面積比を求めると P(V):P(U):P(R)=1:1.74:2 となる。更に, scSAT 作製時の細胞密度に変化がなかった。したがって, P(R)群は P(U), P(V)群と比べ溝に入り込む細胞密度が高くなり, 基質生成量が高く, 力学的強度に有意な差が現れたと考えられる。

以上より, 溝形状が四角型のマイクロパターン培養皿上で細胞を培養することにより, 高強度な scSAT の作製が可能であることがわかった。

5. まとめ

溝形状が四角型, U字型, V字型マイクロパターン培養皿上で, ヒト滑膜由来幹細胞の自己生成組織(scSAT)を作製し, 引張試験, 組織観察を行った結果, 以下のことが明らかとなった。

- 1) 四角溝構造上で生成した scSAT は基質生成量が多く, scSAT の力学的強度が高い。
- 2) 断面積が多い溝形状では, 細胞密度の増加と共に組織の配向性が向上し, 高強度な scSAT が作製できる。

参考文献

- 1) Ando, W. *et al.*, Biomaterials, 2007.
- 2) 熊谷 賢一: 修士論文, 工学院大学, 2007.

論文投稿・研究発表等

○論文

- 1) 須玉, 藤江, 齊藤, 江村, 下村, 中村, . 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学会誌 31, pp. 7-12, 2010. ※学会奨励賞受賞

○研究発表

- 1) 佐藤, 大家, 鈴木, 須玉, 青木, 中村, 藤江, マイクロ周期構造表面が幹細胞の基質生成に及ぼす影響, 精密工学会 2012 年度春季大会, 2012.
- 2) Sato Y., Sudama H., Emura R., Oya K., Nakamura N., Suzuki K., Fujie H., Effect of micropattern-processed array of groove on the tensile properties of stem cell-based self-assembled tissues. ASME 2011 Summer Bioengineering Conference, 2011.
- 3) Sudama H., Emura R., Sato Y., Shimomura K., Nakamura N., Fujie H., Tensile property of stem cell-based self-assembled tissues (scSAT) depends on the microgroove depth of micro pattern-processed glass plate, ORS, 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)

微細加工技術、新素材技術等は半導体 LSI、MEMS 更に液晶ディスプレイなどの高性能化に向けて、今後も絶えることなく研究開発される。これ等の所謂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」を取り上げて研究/開発を進めている。

「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することを目指しており、また JIS にバイオデバイス用のマテリアルとしての使用が制定されるなど、これが実現されつつある。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ので、前年度までに大気酸化などによる 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。さらに、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 イオン濃度の影響の把握を通じて、TiO₂ 薄膜付与 Ni-Ti 合金の優れた生体適合性の確認を行った。

本年度は、生存維持させた状態の線維芽細胞が材料に付着した状態における腐食挙動を電気化学的手法を用いた加速試験により評価し、細胞の存在が腐食を加速させるか否かの検討を行った。そして、生体適合性の実現を意味するさらなる耐食性改善に向けた最適な表面改質法確立の可能性について検討を加えた。

線維芽細胞を共存させることにより Ni-Ti 合金の擬似生体環境下における腐食が加速されるか否かを検討した結果、実験室環境で行った結果、線維芽細胞を $3 \times 10^5 \text{ cells/cm}^2$ と多く金属表面に付着し、細胞を培養液中に存在させることで評価を試みた。その結果、分極曲線の不働態保持電流密度の値から判断すると、不働態を安定維持させたものと考えられ、このことにより劣化の進行が遅くなり同材料の耐食性より改善された。

インキュベータ内で細胞密度を変化させ実験を行った結果、高密度である $1 \times 10^5 \text{ cells/cm}^2$, $3 \times 10^5 \text{ cells/cm}^2$ については実験室環境で行った結果と同様、耐食性が改善された結果が得られた。しかし低密度である $5 \times 10^4 \text{ cells/cm}^2$ の密度で行った結果は逆に劣化が促進されたことが確認された。これは細胞が覆われていない部分の存在により細胞が付着する部分で隙間腐食が発生したことと同時に、細胞が活発に酵素物質を産出させこれにより不働態維持を阻害し腐食が促進したものと判断される。今後の課題として、細胞を付着させた状態での腐食すきま再不働態化電位測定法による確認などが必要とされる。

種々の複合的な手法による表面改質の可能性を検討した結果、773K-30min.の大気酸化に先立ち電解研磨を実験片において不働態保持電流密度に一層の低下が認められ、さらなる耐食性の改善に実現された。

「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開発を進めている。特に要介護者の住環境の中でも「におい」に着目し、それをセンシングする研究を行っている。「病室や部屋のにおい」、「病人、老人の体臭や口臭」などの情報を介護ロボットやセンサネットワークが検知し、環境の維持、病状の変化等に対処する。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。自己温度補償機能を有し、任意の強圧電基板が採用出来、温度制限の無いセンサ構造を既に特許出願している。平成 23 年度は以下の 2 点を開発した。(1) 周波数が高い程 SAW の波長は短く、匂い分子の吸着による振動も大きいいためセンサの感度も向上する。今年度新たに BEREC に導入した「レーザービーム直接描画装置」を用い、微細化プロセスの条件を特定し、センサ高周波化の見通しを得た。(2) センサネットワーク等へ採用するためのセンサ低損失化には、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 SAW 共振器を用いるセンサ(遅延線)構造を提案した。シミュレーションと試作実験により大幅な損失低減の可能性を得た。来年度更に、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予定である。

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, Biocompatibility, fibroblast

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¹⁾。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ので、前年度までに大気酸化などによる 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⁾。さらに、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 イオン濃度の影響の把握を通じて、TiO₂ 薄膜付与 Ni-Ti 合金の優れた生体適合性の確認を行った。

そこで、平成 23 年度は、生存維持させた状態の線維芽細胞が材料に付着した状態における腐食挙動を電気化学的手法を用いた加速試験により評価し、細胞の存在が腐食を加速させるか否かの検討を行った。そして、生体適合性の実現を意味するさらなる耐食性改善に向けた最適表面改質法確立の可能性について検討を加えた。

2. 供試材料および実験方法

2.1 供試材料・使用細胞

供試材料である Ni-Ti 合金の化学成分は Ti が 55.6wt% であり Ni が 44.4wt% のものであり、試験片形状は 10mm×10mm×2mm の板材を使用し表面を研磨紙 #3000 まで使用し研磨を行った後、アルミナ粉末を用いてバフ研磨を行い、鏡面仕上げを施した。細胞密度は飽和状態のコンフルエントで行った。

実験に使用した細胞は Fig.1 に示すマウス由来の L929 細胞(線維芽細胞)である。

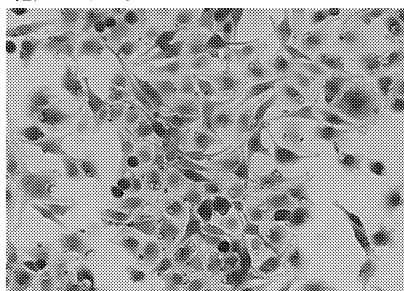


Fig.1 Murine fibroblasts

2.2 電位掃引試験

JIS T0302 に基づく掃引速度 20mV/min、掃引電位範囲 -1V ~ 2V 電位掃引試験によるアノード分極測定を設定温度 310K の環境溶液中で実施した。

環境溶液を一般的な擬似生体環境である乳酸リンゲル溶液と線維芽細胞を培養する際に用いるイーグル MEM 培養液とで比較した。

3. 実験結果および考察

3.1 Ni-Ti 形状記憶合金の腐食挙動の擬似生体環境依存性

乳酸リンゲル溶液とイーグル MEM 培養液で電位掃引試験を行ったアノード分極曲線測定結果を Fig. 2 に示す。

結果として、不働態皮膜が保持される電流密度および孔食電位を比較すると 2 つの溶液では劣化に顕著な差異は認められな

かったが、タンパク質を含むイーグル MEM 溶液の方がタンパク質による薄膜が形成され、これによる隙間腐食により劣化が進行されるため過不働態領域で電流密度が急激に上昇したと考えられる。

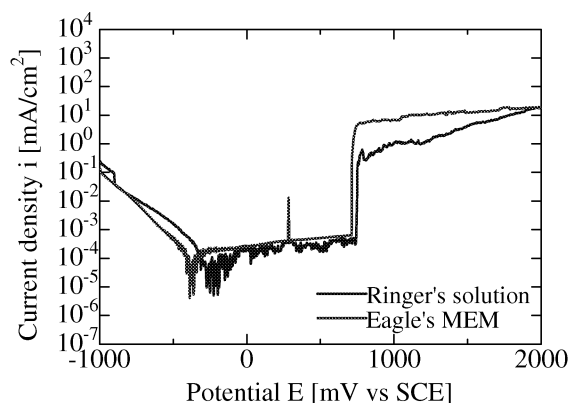


Fig.2 Polarization curves of Ni-Ti alloy in lactic Ringer's solution and Eagle's MEM at 310K

ICP により Ni イオンの溶出量を比較すると乳酸リンゲル溶液で掃引試験を行った場合より、イーグル MEM 培養液で掃引試験を行った場合の方が、溶出量が多く、イーグル MEM 培養液の方が、劣化が促進されてしまうことが明らかとなった。

そこで、Ni-Ti 合金をイーグル MEM 溶液に 24 時間予浸漬させた場合の耐食性の比較を行った結果を Fig. 3 に示す。

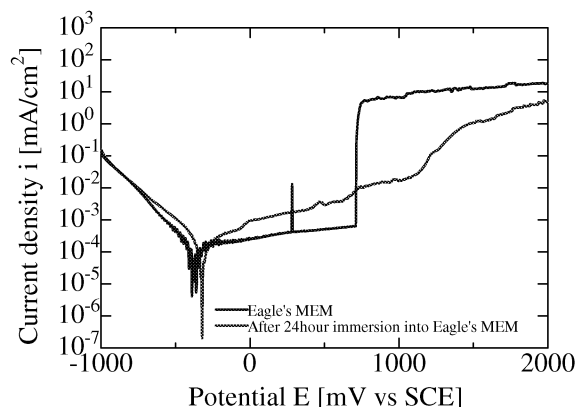


Fig.3 Polarization curve of NiTi alloy in Eagle's MEM and after 24-hour pre-immersion into Eagle's MEM at 310K

その結果、予浸漬させた試験片ではタンパク質による薄膜の密着性が向上したと考えられ緩やかに劣化が進行した。

さらに、Ni-Ti 合金に線維芽細胞を 24 時間付着させた状態のもの Ni-Ti 合金をイーグル MEM 溶液に 24 時間浸漬させた試験片の耐食性の比較を行った。細胞数は $3 \times 10^5 \text{ cells/cm}^2$ のコン

フルエントの状態金属表面に付着させた。
これらのアノード分極曲線測定結果を Fig. 4 に示す。

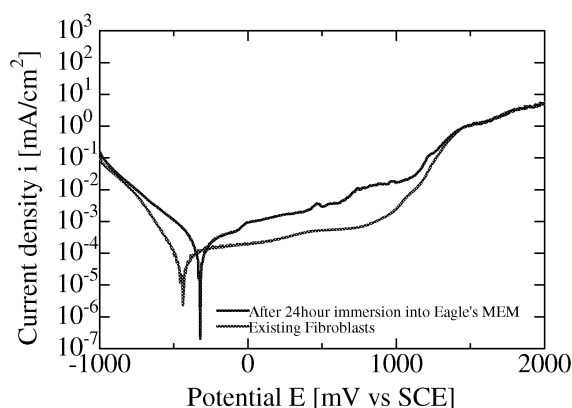


Fig.4 Polarization curves of Ni-Ti alloy after 24hour immersion into Eagle's MEM at 310K with and without fibroblasts

両者の不動態保持電流密度および孔食電位を比較すると線維芽細胞を付着させたものの方が、耐食性が優れることが明らかとなった。これは線維芽細胞がコラーゲン繊維を産出することにより金属表面とタンパク質膜の密着性をさらに向上させ不動態皮膜を安定化させたため耐食性が向上したものと考えられる。このような腐食挙動の差異は、溶出金属イオン濃度のICPによる測定結果からも支持された。

3.3 インキュベータ内における擬似生体環境の細胞共存での腐食挙動の差異の評価

細胞密度を $5 \times 10^4 \text{ cells/cm}^2$, $1 \times 10^5 \text{ cells/cm}^2$, $3 \times 10^5 \text{ cells/cm}^2$ として密度変化を観察した結果、 $3 \times 10^5 \text{ cells/cm}^2$ ではほとんど隙間が発生していないことが確認でき、また $5 \times 10^4 \text{ cells/cm}^2$ では細胞が広範囲に散らばっており表面が露出していることが確認できた。

そこで、細胞密度を 0 cells/cm^2 , $5 \times 10^4 \text{ cells/cm}^2$, $1 \times 10^5 \text{ cells/cm}^2$, $3 \times 10^5 \text{ cells/cm}^2$ として密度変化による腐食挙動を測定した結果を Fig.5 に示す。 $1 \times 10^5 \text{ cells/cm}^2$, $3 \times 10^5 \text{ cells/cm}^2$ については実験室環境で行った結果と同様、耐食性が改善された結果が得られた。しかし $5 \times 10^4 \text{ cells/cm}^2$ の密度で行った結果は逆に劣化が促進されたことが確認できた。これは細胞で覆われていない部分が存在し、細胞が付着する部分で隙間腐食が発生したのではないかと考えられる。また、高密度で付着させるよりも低密度であれば細胞が活発に酵素を産出させこれにより腐食が促進したのではないかと判断される。

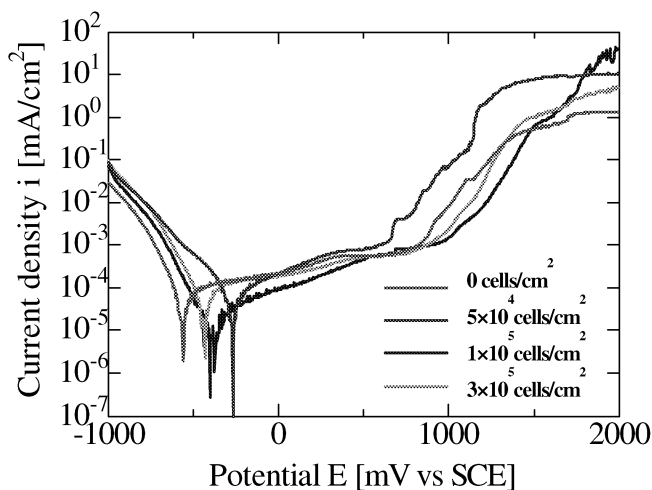


Fig.5 Polarization curves of Ni-Ti alloy after 24hour immersion into Eagle's MEM at 310K with fibroblasts

3.4 耐食性改善に向けた最適な表面改質法確立の可能性

ここでは、低酸素分圧下での大気酸化ならびに複合的な手法による表面改質の可能性を検討した。耐食性の改善が実現された 773K-30min.の大気酸化に先立ち電解研磨を実質試験片に対する分極測定結果を Fig.6 に示す。

その結果、不動態保持電流密度に一層の低下が認められ、さらなる耐食性の改善に実現が認められている。

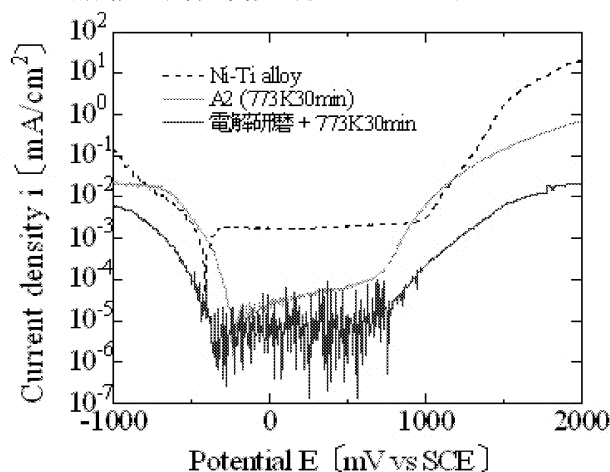


Fig. 6 Polarization curves of complexly surface modified Ni-Ti alloy in Lactic Ringer's Solution of 310K

4. 結言

1. 線維芽細胞を共存させることにより Ni-Ti 合金の擬似生体環境下における腐食が加速されるか否かを検討した結果、実験室環境で行った結果、線維芽細胞を $3 \times 10^5 \text{ cells/cm}^2$ と多く金属表面に付着し、細胞を培養液中に存在させることで評価を試みた。その結果、分極曲線の不動態保持電流密度の値から判断すると、不動態を安定維持させたものと考えられ、このことにより劣化の進行が遅くなり同材料の耐食性より改善された。
2. インキュベータ内で細胞密度を変化させ実験を行った結果、高密度である $1 \times 10^5 \text{ cells/cm}^2$, $3 \times 10^5 \text{ cells/cm}^2$ については実験室環境で行った結果と同様、耐食性が改善された結果が得られた。しかし低密度である $5 \times 10^4 \text{ cells/cm}^2$ の密度で行った結果は逆に劣化が促進されたことが確認された。
これは細胞で覆われていない部分の存在により細胞が付着する部分で隙間腐食が発生したことと同時に、細胞が活発に酵素物質を産出させこれにより不動態維持を阻害し腐食が促進したものと判断される。
今後の課題として、細胞を付着させた状態での腐食すきま再不動態化電位測定法による確認などが必要とされる。
3. 種々の複合的な手法による表面改質の可能性を検討した結果、773K-30min.の大気酸化に先立ち電解研磨を実質試験片において不動態保持電流密度に一層の低下が認められ、さらなる耐食性の改善に実現された。

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 TiO_2 Thin Film, Advanced Materials Research Vol. 275, pp. 182-185, 2011.
- 2) Yuji Kimura, Improvement of corrosion resistance and biocompatibility of medical Nickel-Titanium alloys through forming TiO_2 thin film, WIT Transactions on Engineering Sciences, Vol.71:Surface Effects and Contact Mechanics X, pp.149-158, 2011.

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

本研究では、将来の介護ロボット等を想定し⁽¹⁾、高度センシング技術を開発している。特に要介護者の住環境の中でも「におい」に着目し、それをセンシングする研究を行っている。「病室や部屋のおい」、「病人、老人の体臭や口臭」などの情報を介護ロボットやセンサネットワークが検知し、環境の維持、病状の変化等に対処する。従来の装置は大型で電力消費も大きく、極端な低消費電力化が要求されるこれ等の用途には採用出来ない。

微量なガス分子等をセンシングする弾性表面波(SAW: Surface Acoustic Wave)センサでは、EST社が先行する。しかし、温度特性の良い水晶基板のSAWを用い、厳密な温度制御の元で使用する⁽²⁾。自己温度補償機能を有し、任意の強圧電基板が採用出来、温度制限の無いセンサ構造を特許出願した⁽³⁾。周波数が高い程SAWの波長は短く、匂い分子の吸着による摂動も大きいためセンサの感度も向上する。平成23年度は以下の2点を開発した。(1)今年度新たにBERCに導入した「レーザービーム直接描画装置」を用い、微細化プロセスの条件を特定し、センサ高周波化の見通しを得た。(2)センサネットワーク等へ採用するためのセンサ低損失化には、新たにSAW共振器を用いるセンサ(遅延線)構造を提案した。シミュレーションと試作実験により大幅な損失低減の可能性を得た。

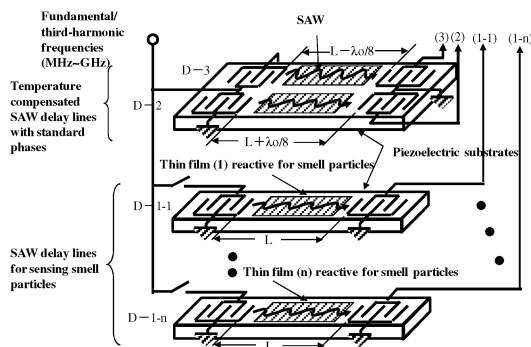


Fig.1 Basic structure of SAW sensor with self temperature compensation

2. 「レーザービーム直接描画装置」による設計/試作

自己温度補償型嗅覚センサをFig. 1に示す。SAWは圧電基板表面を伝搬する振動波で、400MHzで波長は約10 μ mである。トランスデューサ間に特定の嗅覚分子に反応する感応薄膜を形成すると、分子の質量負荷効果により、SAWの伝搬速度が僅かに変化し、センサ遅延線(D-1-1~D-1-n)の出力信号の位相変化となる。変化は外気と遮断した遅延線(D-2、D-3)の出力信号の位相(基準直交位相)と比較し求める(Fig.2)。温度では基準位相とセンサ出力位相間の相対関係は不変で、各出力の基準位相への射影成分から、センシング物質を検知出来る⁽³⁾。

Fig. 3(a)にレーザー直接描画装置、Fig.(b)に条件出しした4 μ mライン/スペースのトランスデューサ電極を示す。試作センサ遅延線の周波数特性をFig.4(a)、3出力の位相の温度特性をFig.(b)に示す。従来より高周波の100MHzを確認した。また、温度に対してD-2、D-3の位相は常に90°分離しており、温度保証効果も期待出来る。新プロセスによる高周波化の見通しを得た。

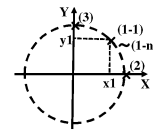


Fig.2 Expected phase constellations for outputs (2), (3), and (1-1) ~ (1-n).

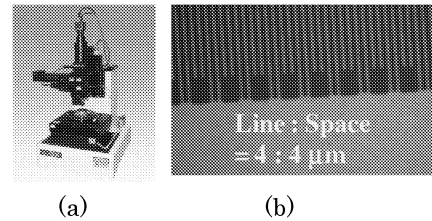


Fig.3 Experimental results for SAW sensor delay line. (a) Laser-beam direct drawing machine. (b) SAW transducer with 4- μ m lines and spaces.

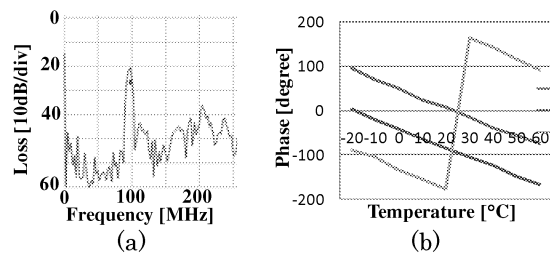


Fig.4 Characteristics for experimental SAW sensor delay line. (a) Frequency responses. (b) Temperature characteristics for three outputs.

3. 新構造の提案によるSAWセンサの低損失化

Fig.4(a)の結果から、Fig.1の遅延線の損失は約20dBである(エネルギーの伝達効率率は2~3%程度)。パワーコンセンションの要求から採用は難しい。原因はトランスデューサから左右へ励振されるSAWの一方しか利用しない点にある。上記の自己温度補償機能は維持しつ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を目指す(エネルギーの伝達効率率は50%以上)。

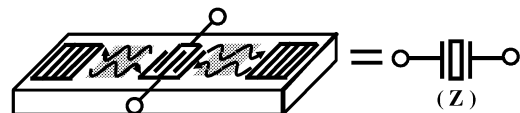


Fig.5 SAW resonator with reflectors at both sides.

Fig.5 にトランスデューサの両側に SAW のグレーティング反射器を導入した SAW 共振器を示す。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。Fig.6(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 $P+\lambda_0/4$ (λ_0 は SAW の波長)でそのインピーダンスを $Z2$ とする。共振器 $Z1$, $Z2$ を用いて、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。入力側に $+Vi/2$, $-Vi/2$ の信号を加えると、出力側に $+Vo/2$, $-Vo/2$ の信号が得られる。本構成が Fig.1 の各遅延線と同じ機能を有するであろうことは、以下の考察から導いた。

Fig.5 の共振器に電圧を印加すると、信号は 2 つパスで伝達する。トランスデューサは櫛の歯状に電極がかみ合っているため、電極間の容量が大きい。1 つのパスは Fig.8(a)に示す容量を通して直接伝達するパスである。しかし、この信号は、Fig.(b)のようにラチス回路の性質から出力の各端子では逆位相の 2 信号の和(すなわち差)となるため出力には表れない。2 つ目のパスは Fig.9(a)に示す一旦 SAW に変換され、反射器で反射し再び戻ってくる信号のパスである。この場合、 $Z1$ の共振器を通る信号は、Fig.6(a)に示すようにトランスデューサと反射器間は P のため SAW として約 2 倍の $2P$ 伝搬する。 $Z2$ の共振器を通る信号は、Fig.6(b)に示すように $P+\lambda_0/4$ の約 2 倍、すなわち $2P+\lambda_0/2$ だけ伝搬するが、伝搬路差 $\lambda_0/2$ により出力信号は反転する。Fig.9(b)に示すように出力の各端子では同位相の 2 信号の和となり、2 倍の出力が得られる。以上より、入力から出力へは後者の SAW を介してしか伝搬されないため、Fig.1 と同じ遅延線が構成出来る(本構成は、自己温度補償と同様特許出願済⁽³⁾)。

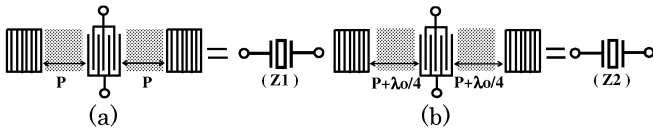


Fig. 6 SAW resonators. (a) Z1 with space of P . (b) Z2 with space of $P+\lambda_0/4$.

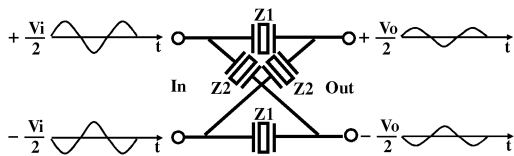


Fig.7 Proposed Lattice-circuit low-loss delay line with SAW resonators.

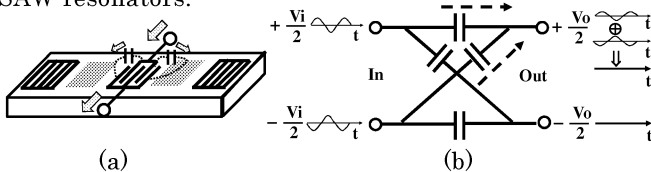


Fig.8 Transmission through capacitance. (a) Signal flow via capacitance. (b) Cancellation of two signals at output.

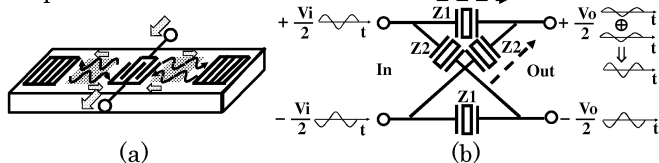


Fig.9 Transmission as excited SAW. (a) Signal flow within SAW resonator. (b) Addition of two signals at output.

4. シミュレーション設計と基礎実験による確認

上記提案の低損失遅延線のシミュレーション設計を Fig.10 に示す。Fig.4 と同様圧電結晶は $128^\circ\text{Y-X LiNbO}_3$ を用いた。基本試作結果を Fig.11 に示す。損失は $4\sim 5\text{dB}$ で目標にはわずかに不足であるが、抜本的な損失改善の可能性を確認した。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 $D-1-1\sim D-1-n$ 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。

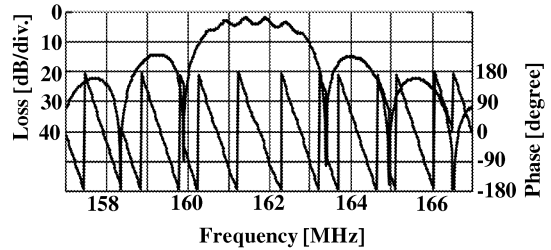


Fig.10 Simulation design for low-loss delay line with SAW resonators.

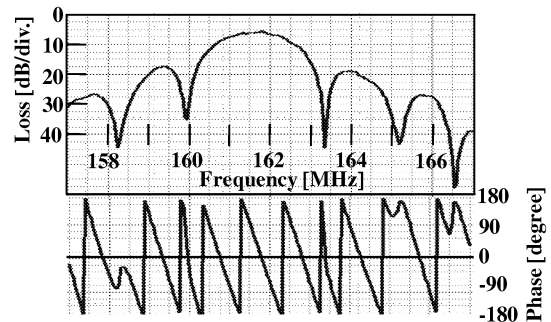


Fig.11 Fundamental experimental results for low-loss delay line with SAW resonators.

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「おいセンサ」を研究している。新プロセス「レーザービーム直接描画」を導入し、感度向上のための高周波化の可能性を得た。新提案の SAW 共振器ラチス回路型の遅延線を設計し、実験により抜本的な損失改善の可能性を示した。更に、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) Electronic Sensor Technology HP: “Chemical sensor for the 21st century”, (<http://www.estcal.com/>)
- 3) 正田、“弾性表面波ガス・センサ装置”特願 2007-280020
- 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) J. Hosaka, M. Hikita, in 2011 IEEE Ultrasonics Symposium Proceedings. (Orlando, USA), Oct. 2011.
- 2) M. Hikita, J. Hosaka, to be published in IEE Electronics Letter.
- 3) 正田、JST 新技術説明会資料、2011 年 7 月

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

中荃 隆, 橋本洋志 (産業技術大学院大学)

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。具体的なテーマとして、患者の全身運動を再現する歯科患者ロボット、6軸ロボットを用いた関節再建術の評価、そして生体信号の応用である。

2.3.1 歯科患者ロボット

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なため、歯学部の研修医師は実習用ファントムとよばれる頭部だけのモデルを用いて治療実習を行っている。歯科医師を目指す歯学部生は、実習用ファントムを用いた治療の実技実習および筆記のみの歯科医師国家試験で審査を受けている。

しかし、この実習用ファントムは静的モデルであるため、危険予測の実習が不可能である。よって実践的な実技訓練が困難なことから、医師免許を取得した直後の医師が行う治療では比較的事故が多い。

そこで本研究では、各種センサを取り付けた患者ロボットで実際の患者動作や機能を再現した。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創出することを目的とする。よって、本ロボットでは、全身モデルであることを活かし、口腔内の機能以外に、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。

実験の結果、人間に近いロボット動作を実現した。

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

社会の高齢化やスポーツの興隆により、関節損傷の件数が高まり、大きな問題となっている。なかでも膝の主要な靭帯である前十字靭帯(ACL: Anterior Cruciate Ligament)はもっとも損傷頻度の高い靭帯であり、その再建手法について様々な検討が行われている。本年度は、ふたつのACL再建術に関して評価検討を行った。一つ目は、史野らが開発した、膝蓋腱(BTB)から作成した腱グラフトを用い、ACL付着部に長方形の骨孔をあけ、再建する手法(長方形骨孔再建法)である1)。二つ目の方法は、六崎、坂根らが開発した、腱グラフトをリン酸カルシウム(CaP)に浸漬させて再建する方法(CaP法)である2)。本年度は、この二つの手法でACL再建を行った膝関節の剛性と、再建後のグラフトに生じる荷重

等を、本プロジェクトで開発したロボットシステムを用いて測定し、再建法の評価を行った。

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、主に表面筋電位を用いたスマートな医療装置の開発を目指している。これまで、表面筋電位信号とその処理システムを利用した筋電義手や外科鉗子ロボットの開発を行い、一定の成果(学術論文掲載や賞の受賞など)を得ている。今年度は、これまでのノウハウを活かして、新たな医療機器の開発を行う。本報告は、「介護従事者の腰痛予防のためのパワーアシストスーツ」と「脊髄損傷患者のための新しいヒューマンインターフェース」について説明する。

現在、日本では総人口に占める65歳以上の割合は23.1%であり、本格的な超高齢社会に突入している。今後、日本では2055年には4人に1人が75歳以上になるという試算もある。政策面においても高齢社会対策へのてこ入れが推進されており、一般会計予算における高齢社会対策関係予算は、平成18年度の13兆267億円に対し、今年度は18兆861億円と5年続けて予算規模が拡大している。介護は一般に重労働であり、慢性的な腰痛に苦しむ介護従事者も少なくない。そこで本研究では、腰部の負担を低減させ、介護者が少ない力で介護を行うことを可能にするパワーアシストスーツの開発を行う。今年度は、主に機体の機構設計を行った。

脊髄損傷は、脊柱に対して強い外力が加わることで、脊椎が損壊、損傷を受けた状態であり、現代医学では治療不可能とされている。日本の脊髄損傷者は、年5000人以上、総患者数は約10万人といわれている。本研究の対象者は、頭部以外を自分の意思で動かすことができない患者とする。現在、身体の一部の機能が失われた患者向けに様々なヒューマンインターフェースが開発されている。そこで本研究では、首の表面筋電位図に着目し、レスポンスが早く、他入力チャンネルを有するヒューマンインターフェースの開発を行う。今年度は、システムのフィージビリティを確認するための基礎的なデータ収集を行った。

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なため, 歯学部の研修医師は実習用ファントムとよばれる頭部だけのモデルを用いて治療実習を行っている. 歯科医師を目指す歯学部生は, 実習用ファントムを用いた治療の実技実習および筆記のみの歯科医師国家試験で審査を受けている.

しかし, この実習用ファントムは静的モデルであるため, 危険予測の実習が不可能である. よって実践的な実技訓練が困難なことから, 医師免許を取得した直後の医師が行う治療では比較的事故が多い(Fig.1)1).

そこで本研究では, 各種センサを取り付けた患者ロボットで実際の患者動作や機能を再現した. 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創出することを目的とする. よって, 本ロボットでは, 全身モデルであることを活かし, 口腔内の機能以外に, 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.2(a))は身長 1700[mm]の全身モデルで, 低圧圧縮空気を用いるアクチュエータにより駆動する. 空気圧を ON/OFF 制御が可能な電磁弁や, 圧縮制御が可能な電空レギュレータで制御することで駆動する. 組立図を Fig.2 (b)に示す. 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, 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できる. 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. 動作においてはポテンシオメータを各関節部に取り付け, 動作角度を検知することで, 眼球の左右動作, 口の開閉, 首の傾き動作, 首の左右動作, 肩や肘の動作を再現した.

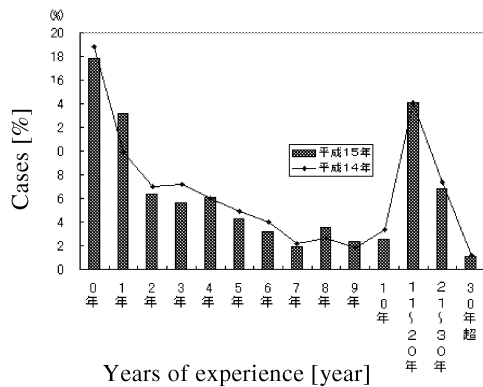


Fig. 1 Tense moment number of cases

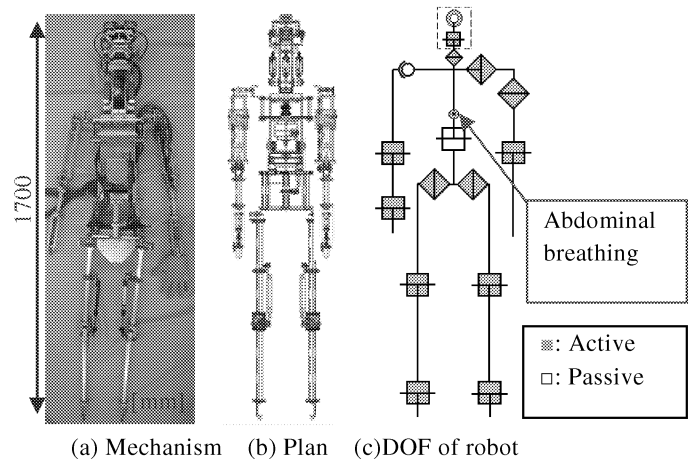


Fig. 2 Patient Robot

3. 容体変化機能の開発

歯科医師は歯の治療, 保健指導, 健康管理などを業務としている. 特に, 歯科治療では, 全身偶発症に遭遇する可能性があるため, 健康管理は重要である(Fig.3).

Fig.3 より, 既往症を持たない患者に対して歯科治療を行うときに生じる頻度の高い全身偶発症として, 精神的な緊張が引き起こす過換気症候群, 一般に脳貧血と呼ばれる神経性ショック, 歯科用局所麻酔薬のなかに含まれる血管収縮薬によって引き起こされるアドレナリン過敏症などがあげられる. 何れの症状も患者の示すバイタルサインを知ることによって, 身体状態を把握することが可能となる. バイタルサインは主に, 呼吸数, 脈拍数, 血圧, 酸素飽和度で示される.

本研究では, 患者ロボットにバイタルサインを示させ, 過換気症候群, 神経性ショック, アドレナリン過敏症を再

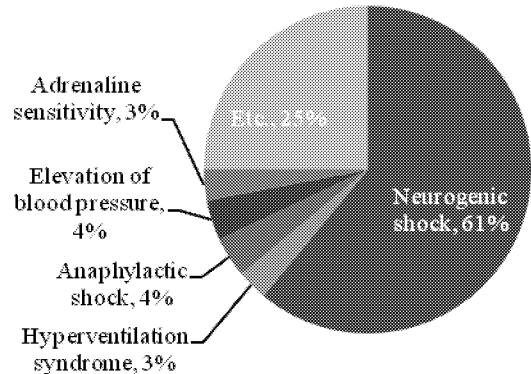


Fig.3 Immortal systemic illness in odontotherapy[2]

現する。

3.1 呼気機能の開発

本研究では、高温多湿な呼気を再現するため、蒸気を含んだ空気を口腔内に送気する。温・湿度の保持はポリプロピレンボトルに、ボトルヒータを装着し、温度センサでボトル内の温度を監視する。方法としては、コンプレッサから送気される空気を PC、電空レギュレータによって制御し、その空気を湯が入ったペットボトルに通すことで蒸気をウレタンチューブで口腔まで送気する。

3.2 脈拍機能の開発

本研究では、コンプレッサから供給される空気によって脈拍を擬似的に再現する。脈拍機構の仕組みとしては、脈点部の熱収縮チューブに空気を連続的に供給し、その伸縮によって拍動を再現する。頸動脈部、撓骨動脈部は、アルミをフレーム材料とし、製作した。また、熱収縮チューブの損傷を防ぐため、チューブ周囲を軟質ウレタンフォームで被覆した。製作した患者ロボットの脈拍機構部を Fig.4 に示す。Fig.4(a)の管が熱収縮チューブで、Fig.4(b)の熱収縮チューブは軟質ウレタンフォームで被覆することで顔面表皮に固定している。また、脈拍数の制御は、呼気の制御と同様、コンプレッサから送気される空気を PC、電空レギュレータによって制御する。

3.3 容体変化プログラムの開発

呼気、脈拍機能は、何れも単体の動作では、全身偶発症の再現が不可能である。よって、複数のバイタルサインを組み合わせ、Table1 に示す合併症を患者ロボットに再現させるため、容体変化プログラムを開発した。

4. 容体変化実験

製作した容体変化機能が実習に使用できるかを評価するために、昭和大勤務医 6 名に対してアンケート(5 点満点)を実施した。アンケート結果を Table2 に示す。

結果として、患者の容体正解率は 50[%]と低かったが、原因の判断が困難であるが、多くの評価者が安静時脈拍

数に対する増減を確認でき、評価者全てが患者ロボットに容体変化を再現させることは有用であると評価した。

5. 結言

- ・ボトルヒータと温度センサを用いた呼気機能を開発した。
- ・空気圧を利用した脈拍機能を開発した。
- ・容体変化プログラムを構築した。
- ・昭和大にて機能評価を行った結果、容体変化機能の有用性が確認できた。

参考文献

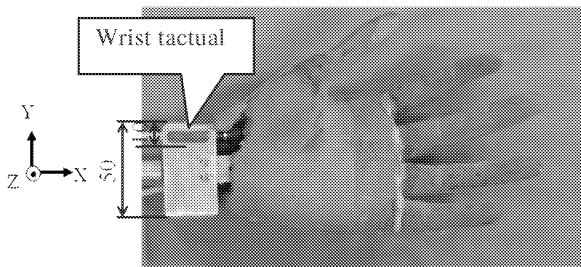
- 1)厚生労働省：平成15年全般コード化情報集計結果 <http://www.mhlw.go.jp/topics/bukyoku/isei/i-anzen/1/code03/4a.html>, 2011年7月22日
 - 2)金子譲, 一戸達也：“計る・観る・読む モニタリングガイド-安心・安全な歯科治療のために-”, 医歯薬出版株式会社, pp.10, 2004
- 論文投稿・研究発表等
- 1) 高信英明: 歯科患者ロボットを用いた危機管理実習, 日本設計工学会誌, 46 卷 9 号, pp.501-506, 2011.
 - 2) 高信英明 他: 歯科患者ロボット, 第 29 回日本ロボット学会学術講演会, 講演概要集, 2011.

Table 1 Vital sign of sudden changes in the condition

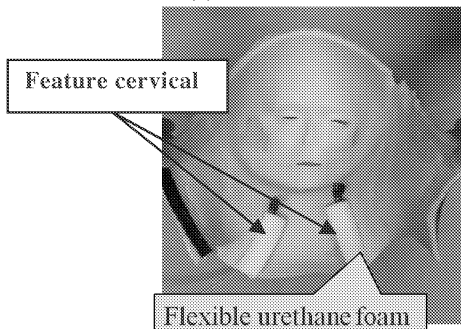
Vital sign	At rest	Hyperventilation syndrome	Neurogenic shock	Adrenaline sensitivity
Major complaint	-	Be hard to breathe	Feel sickly	Be a ball of nerves
Breathing (times/min)	16	30	14	16
Pulsebeat (times/min)	70	100	48	120
SBP/DBP (mmHg)	120/80	110/70	90/50	130/78
Oxygen saturation(%)	100	98	98	98

Table2 Result of a questionnaire (N=6)

varieties of questions		Average score or Accuracy rate
Exhaled breath	Reproducibility of exhaled breath	3.5/5
	Reproducibility of intraoral structure	3.67/5
Pulsebeat	Reproducibility of cervical tactual sense	4.17/5
	Reproducibility of wrist tactual sense	4.5/5
	Reproducibility of pulsebeat	4.33/5
Accuracy rate of whole body accidental symptom	Name of illness	50%
	number of breathing	100%
	pulse rate	17%
Sudden changes in the condition experiment	Usability of sudden changes in the condition	4.83/5
	Usability of exhaled breath	4.83/5
	Usability of pulsebeat	4.83/5



(a) Wrist tactual



(b) Skin of facial surface

Fig.4 Feature pulsebeat

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 : Six-axis robot system, Joint reconstruction, Anterior cruciate ligament (ACL)

Rectangular bone-tunnel reconstruction, Calcium phosphate-hybridized tendon reconstruction

1. はじめに

社会の高齢化やスポーツの興隆により、関節損傷の件数が高まり、大きな問題となっている。なかでも膝の主要な靭帯である前十字靭帯(ACL: Anterior Cruciate Ligament)はもっとも損傷頻度の高い靭帯であり、その再建手法について様々な検討が行われている。本年度は、ふたつの ACL 再建術に関して評価検討を行った。一つ目は、史野らが開発した、膝蓋腱 (BTB) から作成した腱グラフトを用い、ACL 附着部に長方形の骨孔をあけ、再建する手法 (長方形骨孔再建法) である¹⁾。二つ目の方法は、六崎、坂根らが開発した、腱グラフトをリン酸カルシウム (CaP) に浸漬させて再建する方法 (CaP 法) である²⁾。本年度は、この二つの手法で ACL 再建を行った膝関節の剛性と、再建後のグラフトに生じる荷重等を、本プロジェクトで開発したロボットシステム (Fig.1)^{3,4)}を用いて測定し、再建法の評価を行った。

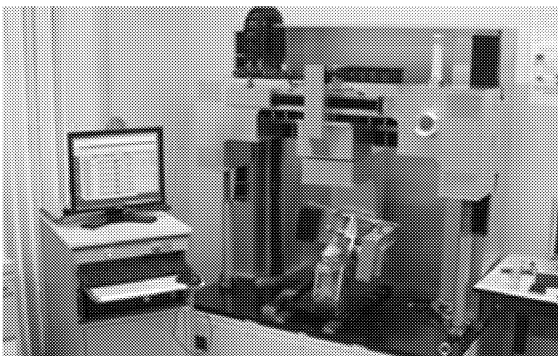


Fig. 1: 昨年度までに開発した関節力学試験ロボットシステム

2. 長方形骨孔再建法の評価

札幌医科大学整解剖学教室において、ヒト切断・屍体膝 (n=5, 60-82 歳) を用い、同大学のヒト組織等の実験に関する倫理委員会の承認を得、規定を遵守して実験を行った。膝試料の大腿骨と脛骨を、関節面から 15 cm の位置で切断し、関節包外の軟組織を切除した。大腿骨と脛骨を骨セメントで円筒状に補強し、ロボットシステム^{3,4)}のクランプに固定した。膝の屈曲角度を 0~90°に設定して、大腿骨に対する脛骨の前方後方と屈曲伸展以外の自由な動きを許容しつつ、前方方向に強制的に引き出す、前方試験を行った。また、同屈曲角度において、大腿骨に対する脛骨の回旋と屈曲伸展以外の自由な動きを許容し、強制的に内旋させる内旋試験を行った。このときの膝 6 自由度の動きと荷重・モーメントを記録した。ついで、ACL をメスで切離し、健常膝と同条件の前方試験と内旋試験、および健常膝の 3 次元動作を再現してあたえる再現試験を行った。このときの前後方試験により ACL 切離による膝の緩みを求め、再現試験により健常状態の ACL に作用する力を求めた⁵⁾。

同膝の BTB の中央 1/3 を、両端に骨を含むようにして切離し、

ACL 再建用のグラフトとした。膝脛骨の ACL 附着部に外科用ワイヤーを二本刺乳し、脛骨前面に向けて貫通させた。この二本のワイヤーをガイドとして、長方形断面の骨切り具を用いて骨孔を長方形に拡大させた。大腿骨の ACL 附着部に対しても同様の処置を行い、長方形の骨孔を大腿骨後面まで貫通させた (Fig.2)¹⁾。先に取り出したグラフトを両骨孔に通し、大腿骨側は孔内でねじ止めし、脛骨側は孔外に引き出して荷重計に連結し、0~50 N の初期張力で固定した。健常膝と同様の前方試験と内旋試験を行い、再建膝の前方と内旋方向の緩み、およびそれらの負荷時に ACL グラフトに作用する張力を求めた。比較対照のため、前らの報告した従来位置⁶⁾に円形断面の骨孔を作孔し、BTB グラフトを用いて再建を行い、同様に再建膝の緩みと再建グラフトの張力を求めた。

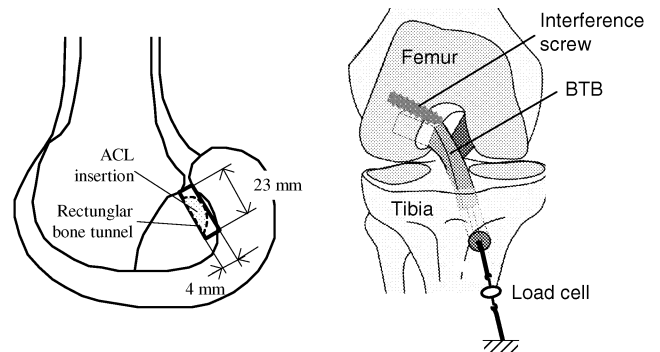


Fig. 2: 長方形骨孔再建における大腿骨骨孔 (左) と再建膝 (右)

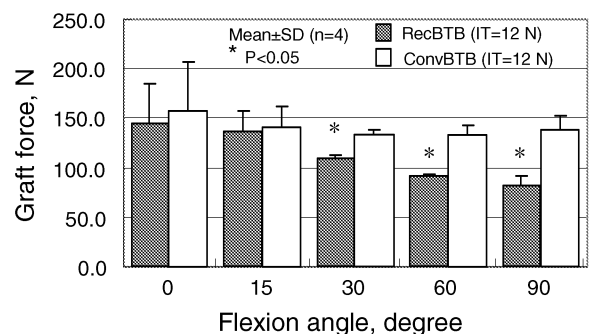


Fig. 3: 長方形骨孔再建法と従来再建法で初期張力 12 N で再建された膝に 100 N の前方力をあたえたときの ACL グラフト張力

再建膝が 30°屈曲位において健常膝と同程度の緩みをもつためのグラフト初期張力は、長方形骨孔再建では 10.2±5.0 N (平均±標準偏差) であり、従来再建法の 32.2±10.6 N に比べて有意に低かった。膝に 100 N の前方力が生じるときのグラフト張力は、両再建法とも 150 N 程度であり、正常膝の 90 N に比べて有意に

高かった (Fig.3). しかし, 従来再建法のグラフト張力が屈曲角度に関わらず高値を示したのに対し, 長方形骨孔再建では, 膝屈曲につれて張力が減少し, 屈曲角度 30°以上では, 健常膝と同程度の 100 N 前後となった. 長方形骨孔再建では, 小さな初期張力で健常膝と同程度の膝剛性が得られ, 伸展位以外では, グラフト張力が適度に作用していることが分かった. 内旋試験でも同様に, 長方形骨孔再建の方が従来再建法に比べ, 初期張力とグラフト張力の面で優れていることが分かった.

3. リン酸カルシウム浸漬グラフトによる ACL 再建術の評価

骨格的に成熟したザーネン種メスヤギ(体重 50-70 kg) (n=18) を用い, これを 6 匹ずつ, リン酸カルシウム再建群 (CaP 群), 従来再建群 (Control 群), および健常群 (Intact 群) に分けた. CaP 群の膝関節後部からハムストリング腱を採取してループ状にし, 脛骨側は縫合糸に縫いこみ, ループ状の大腿骨側はポリエステルテープに縫いこんで, 再建用グラフトとした (Fig.4). グラフト中央を, ゴムバンドでカバーし, グラフト全体を 100 mM の塩化カルシウム溶液 100 ml に 30 秒間, 浸漬させ, ついで 116.4 mM のリン酸水素ナトリウム溶液 100 ml に 30 秒間, 浸漬させ, 最後に生理食塩水でかるく洗浄した²⁾. この浸漬と洗浄のサイクルを 10 回くり返した. 対照群は溶液への浸漬は行わず, 生理食塩水に 10 分間浸漬した. その後, ACL を切離し, 筑波大学整形外科の手術方法に従って大腿骨と脛骨に骨孔を作成した. 再建グラフトを両骨孔に通し, 20 N の張力をかけた状態で外科用ネジに固定した. 術後, ヤギを 50 m² のケージ内で自由に運動させ, 52 週後に屠殺した. 膝関節を軟組織ごと取り出し, 生理食塩水に浸した状態で, -20℃で冷凍保存した.

試験の 24 時間前に膝を冷温で解凍した. 関節包外の軟組織を切除し, 骨周囲に外科用骨セメントを円筒状に塗布して, ロボットシステム (Fig.1)^{3,4)} に固定した. システムの力制御機能を用いて, 伸展位, 60°屈曲位, および 90°屈曲位に膝を屈曲させ, 膝の前方方向に最大 50 N をあたえる前方試験, および膝の内旋方向に最大 2 N·m をあたえる内旋モーメント試験を行った. 試験中の膝の 3 次元運動と全荷重・モーメントを記録した. その後, CaP 群と Control 群の再建グラフト, Intact 群の ACL を切離して, 同様の試験を行い, 切離により膝がどの程度緩んだかを調べた. さらに, 先に記録した切離前の膝関節の 5 回目の運動を再現し, 切離前後の膝の全荷重・モーメントの差から, 再建グラフトまたは ACL の張力を求めた⁵⁾.

3 群からそれぞれ 1 関節を用いて, CT 撮影, および組織学的検討を行った.

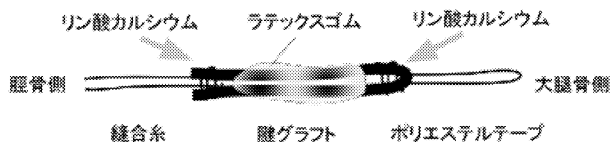


Fig. 4: CaP 浸漬用の ACL グラフト

前方力 50 N 負荷時の前方移動量は, 伸展位では CaP 群, Control 群ともに, Intact 群よりも有意に大きく, 膝が緩んでいることが分かった. しかし, 60°屈曲位では CaP 群は健常膝との有意差がなくなり, Control 群に比べて適度な剛性を有することが分かった. 前方力 50 N 負荷時のグラフト張力は, CaP 群では Intact 群に近い大きさであり, Control 群に比べてグラフトが適度に効いていることが分かった (Fig.5). 内旋モーメント試験でも, 前方試験と同様の結果が得られた. 組織観察の結果, Control 群ではグラフトと骨の間に線維性組織が介在するのに対し, CaP 群では部分的に軟骨様組織が介在し, 正常靭帯付着部に似た形態であることが分かった (Fig.6).

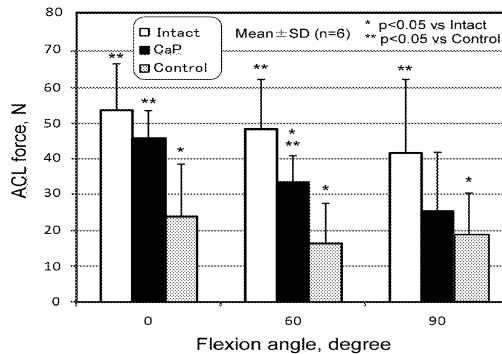


Fig. 5 前方力 50 N 負荷時のグラフト張力 (右)

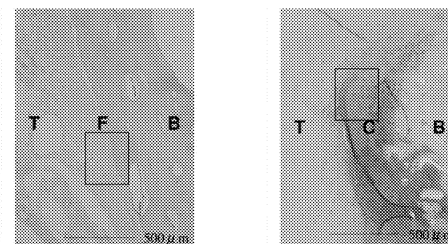


Fig. 6 再建グラフト (T) と骨 (B) の結合部の組織写真 (Control 群(左)では線維性組織 (F) で満たされているのに対し, CaP 群 (右) では部分的に軟骨様組織 (C) で満たされている)

4. その他の検討

ロボットシステムの機械的剛性等の計測を行うとともに, 速度インピーダンス制御におけるパラメータの最適化について検討した. また, 昨年度に引き続いて, Resident's ridge 形成のメカニズムについて解析的検討を行った.

5. まとめ

ロボットシステムを用いて, 二つの ACL 再建法の評価を行った. その結果, 両手法とも従来の再建法に比べて, 膝の剛性を適度に高め, グラフト張力を適正に保つことが分かった. この評価結果に基づいて, 二つの再建手法が, 関連医療機関における ACL 再建術に適用されている.

文 献

1) Shino K, et al Arthroscopy 24, 1178-1183, 2008, 2) Mutsuzaki H, et al J Biomed Mater Res A 70, 319-327, 2004, 3) Fujie, et al, J Biomech Eng (ASME) 126, 54-61, 2004, 4) Fujie H, et al, Proc of the ORS, 2010, 5) Fujie H, et al, J Biomech Eng (ASME) 117, 1995, 6) Mae, et al, Arthroscopy 17, 708-716, 2001.

査読付論文

1) Fujie H, Otsubo H, Shino K, et al, Mechanical functions of the three bundles consisting of the human anterior cruciate ligament, Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc (KSSTA) 19, 47-53, 2011. 2) 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, Am J Sports Med (AJSM) 39, 1059-1066, 2011.

学会発表

1) Fujie H, et al, Novel robotic system for joint mechanical tests using velocity-impedance control (Tutorial lecture), ASME SBC, 2011 June, Farmington. 2) Fujie H, et al, Resident's ridge formation can be explained by ACL force-induced bone remodeling, ASME SBC, 2011 June, Farmington. 3) 藤江, 他, Resident's ridge 形成のメカニズム, 第 38 回日本臨床バイオメカニクス学会, 2011 11 月, 神戸.

2.3.3. 生体信号処理に基づく医療装置の開発と応用
 —介護従事者の腰痛予防のためのパワーアシストスーツの開発—
 —脊髄損傷患者のための新しいヒューマンインターフェースの開発—

Development of Waist Power Assist Suit for Lumbago Prevention
 Development of Surface EMG-based Human Interface for Spinal Cord Injuries

中荃 隆 (工・機械システム工学科), 橋本 洋志 (産業技術大学院大学)
 Takashi Nakakuki, Hiroshi Hashimoto (AIIT)

Keywords: Surface EMG, Motion Discrimination, Machine Learning, Signal Processing

1. 緒言

「2.3.3 生体信号処理に基づく医療装置の開発と応用」では、主に表面筋電位を用いたスマートな医療装置の開発を目指している。これまで、表面筋電位信号とその処理システムを利用した筋電義手や外科鉗子ロボットの開発を行い、一定の成果（学術論文掲載や賞の受賞など）を得ている。信号処理システムで重要となる技術は、表面筋電位信号のフィルタリングと学習器の構築であるが、今年度は、これまで提案してきた信号処理のノウハウを活かして、新たな医療機器の開発を行う。

本報告は、「介護従事者の腰痛予防のためのパワーアシストスーツ（第2節）」と「脊髄損傷患者のための新しいヒューマンインターフェース（第3節）」について説明する。

2. 介護従事者の腰痛予防のためのパワーアシストスーツの開発

2.1 研究の背景と目的

現在、日本では総人口に占める65歳以上の割合は23.1%であり、本格的な超高齢社会に突入している。今後、日本では高齢化率はさらに上昇することが予想され、2055年には4人に1人が75歳以上になるという試算もある。政策面においても高齢社会対策への取り組みが推進されており、一般会計予算における高齢社会対策関係予算は、平成18年度の13兆267億円に対し、今年度は18兆861億円と5年続けて予算規模が拡大している。少子化も同時に進んでいる日本においては、要介護者数（需要）と介護従事者数（供給）の不均衡は深刻であり、介護従事者に掛かる身体的・精神的負担をどのように低減するかは、高齢社会が抱える主要な問題の一つとなっている。

介護は一般に重労働であり、慢性的な腰痛に苦しむ介護従事者も少なくない。今日の介護現場において、介護者が被介護者を車椅子からベッドや便座へ移乗させる際に、前屈みの姿勢で力作業を行うことにより、筋肉が持続的に緊張して筋膜性腰痛を発症したり、椎間板に無理な荷重が掛かり椎間板ヘルニアを発症する事例が報告されており問題となっている。

そこで本研究では、腰部の負担を低減させ、介護者が少ない力で介護を行うことを可能にするパワーアシストスーツの開発を行う。今年度は、主に機体の機構設計を行ったが、装着者の腰動作を表面筋電位信号に基づいて識別する処理システムについても概説する。

2.2 腰用パワーアシストスーツの機構

現在、原理試作中のスーツを Fig.1 に示す。本スーツは、本体ユニット (Fig.2a) が装着者の腰にポシェットのように固定され、また、肩ユニット (Fig.2b) も装着者の肩に固定される。装着者の脚との固定を避けることで、歩行への影響を低減している。本体ユニットの両側には2つのDDモータ (Fig.2c; 日機電装社製) が独立に設置されており、後述す

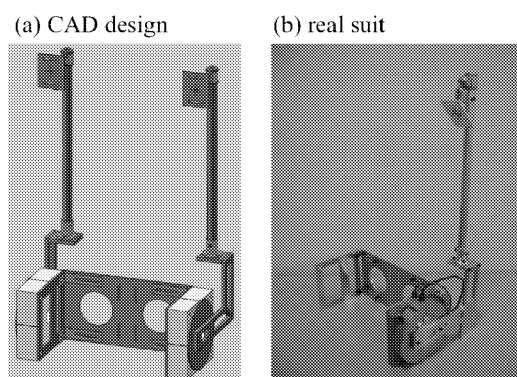


Fig.1 Overview of the power assist suit

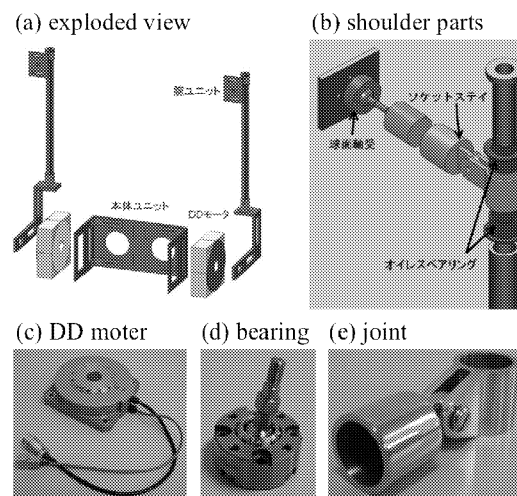


Fig.2 Components of the power assist suit

るように装着者の腰の4動作（前後屈、左右捻り）のアシストが可能である。本体の構造をなるべく簡単にするため、既製品の軸受やジョイントが使われている (Fig.2de)。

本スーツがアシストする腰動作は、腰の前後屈、左右捻りの4動作である。左右2つのDDモータを独立に回転させることで擬似的に2自由度系を実現している。Fig.3aに腰の前屈と右捻りに対応する本体動作を示す。各軸の回転角度を適切に設定することで、捻りながら前屈するといった4動作の組み合わせも可能である。前後屈系と左右捻り系の2軸の回転動作を共通のアクチュエータで行うことも本スーツの特徴であり、姿勢の自由度が少ない反面、最少数のアクチュエータでシステムを構築できる。また、作業負荷が大きい前後屈系では、2つのDDモータを同時に駆動することで大きなトルクが得られる。例えば、腰の後屈（腰を90°曲げた状態か

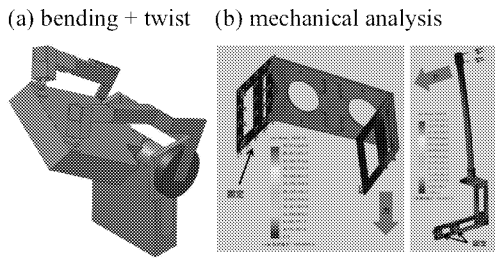


Fig.3 Examples of motion and mechanical analysis

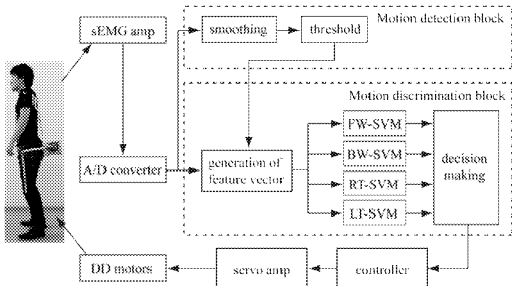


Fig.4 Signal processing for motion discrimination

ら起立状態への動作)に必要なトルクを算出すると、身長170cm、体重70kgの人間が、30kgの錘を持ち上げるケースでは、最大181Nmとなる⁽¹⁾。今回使用しているDDモータの最大トルクは27 Nmであるため、同時駆動により54 Nmのサポートが得られる。

機構設計に際し、CADによる力学解析を行い、本体重量の軽量化を行っている (Fig.3b)。本体重量は、機体4.5 kg+アクチュエータ11 kg=15.5 kgであるが、DDモータは、産業用ロボット向けに重厚なベースに埋め込まれているため、大幅な軽量化の余地は残されている。

2.3 表面筋電位を利用した腰動作識別器

Fig.4に、腰動作識別信号処理の流れを示す⁽²⁾。A/D変換後の表面筋電位 (sEMG) 信号は動作検出ブロックと動作識別ブロックへ送られる。まず、動作検出ブロックでは、sEMG信号から筋活動 (動作) の有無を判定し、動作識別ブロックに動作中のみHighとなるフラグを送る。動作識別ブロックでは、フラグがLowからHighに遷移したときのみ特徴ベクトルの生成及びSVMによる動作判定が行われる。ここで、各動作の有無のみを判定する2クラス分類SVM (動作有:1, 動作無:0) を個別に用意し、各SVMからの出力を集約することで、最終的な動作判定をしている。Fig.4において、FW-SVM、BW-SVM、RT-SVM、LT-SVMはそれぞれ前屈、後屈、右捻り、左捻り用のSVMである。このような構成にすることで、各SVMの学習がし易くなるとともに、例えば前屈+右捻りといった組み合わせ動作の識別も可能となる。

2.4 まとめ及び今後の課題

平成23年度は、主にパワーアシストスーツの機構設計及び製作を行った。平成24年度は、すでに構築が進められている動作識別器を導入し、機構とシステム両方の完成を目指す。

3. 脊髄損傷患者のための新しいヒューマンインターフェースの開発

3.1 研究の背景と目的

脊髄損傷は、脊柱に対して強い外力が加わることで、脊椎が損傷、損傷を受けた状態であり、現代医学では治癒不可能とされている。日本の脊髄損傷者は、年5000人以上、総患者数は約10万人といわれている。脊髄損傷は損傷部位によって症状が異なるが、本研究の対象者は、頭部以外を自分の意思で動かすことができない患者とする。現在、身体の一部

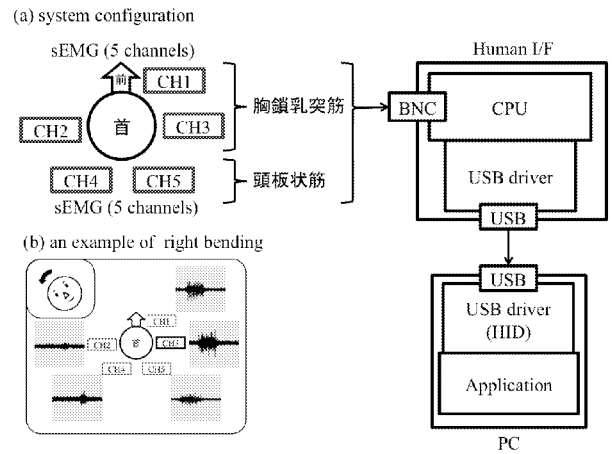


Fig.5 System configuration and an example of sEMG signals in right bending

	ch1	ch2	ch3	ch4	ch5
	ON	OFF	ON	OFF	OFF
	OFF	ON	OFF	ON	OFF
	OFF	ON	ON	OFF	ON
	ON	ON	ON	ON	OFF
	OFF	OFF	OFF	ON	ON
	ON	OFF	OFF	OFF	OFF

Fig.6 Results of the feasible study

の機能が失われた患者向けに様々なヒューマンインターフェースが開発されている。例えば、ナースコールにも採用されているプレスセンサを始め、タッチセンサ、コールセンサ、脳波センサ、アイトラッキングシステムなど枚挙にいとまがない。脊髄損傷患者向けのヒューマンインターフェースとしても、用途によってはこれら既存のインターフェースが有用であるが、早いレスポンスが可能な多入力チャンネルを有するヒューマンインターフェースは確立していない。また、患者のQOL向上という観点からエンターテインメント用途に適したヒューマンインターフェースの確立も重要な技術的な課題と考えた。

そこで本研究では、首の表面筋電位図に着目し、レスポンスが早く、他入力チャンネルを有するヒューマンインターフェースの開発を行う。今年度は、システムのフィージビリティを確認するための基礎的なデータ収集を行った。

3.2 システムの概略及びフィージブルスタディ

システムの概略をFig.5aに示す。首側面左右の胸鎖乳頭筋、頭板状筋からの計5チャンネルのsEMG信号は、マイコンで動作識別処理が行われる。識別結果は、予め用意された対応表に従って所望のアプリケーション上の動作としてUSBドライバを経由して、PCのアプリケーション側に送られる。首を右に傾けたときの各sEMG信号の時系列波形の例をFig.5bに示す。現在、Fig.6に示されるように、単純な5chのsEMG信号レベルの判定処理だけで、首の6動作の判別が可能であることが分かっているため、学習器を導入することできめ細かな識別器の構築を行う予定である。

参考文献

- (1) 則次ほか:日本フルードパワーシステム学会論文集, 36, 6, 143-151, 2005. (2) K. Kashiwagi, T. Nakakuki, et al: CDC-ECC2011, Florida, USA, December, 2011.

学会発表

- 柏木・中荻:日本機械学会2012年度年次大会 (投稿予定)
栗田・中荻:日本機械学会2012年度年次大会 (投稿予定)