ナノ振動細胞加振装置の開発研究

Development of nano vibration cell stimulus device

08NM417X 小林 亜美子

指導教員: 增澤 徹 教授

1. 緒言 我々は、振動振幅がナノメートルオーダで可聴周波数 域の振動をナノ振動と定義している。これまでの研究成果から、ナ ノ振動が種々の細胞機能に影響を与えることが分かっている。しか し、そのメカニズムは解明されておらず、その解明は、今後の再生 医療分野へのナノ振動刺激の有効利用に繋がる。ナノ振動と細胞へ の影響の関連性を検証するためには、広い周波数帯域にわたって振 動振幅が可変な装置が求められる。本研究では、振動方向を一方向 に制限するために弾性ヒンジ機構を採用し、振動周波数帯域 100~ 10k Hz、振動振幅が最大 100 nm のナノ振動を発生可能な装置を開 発した。

2. 方法

2.1 弾性ヒンジ型ナノ振動細胞加振装置の概要 開発した弾性 ヒンジ型ナノ振動細胞加振装置の概要図をFig.1に示す。上図は装 置を上から見た図、下図は一点破線における断面図である。破線で 囲った部分が振動部(細胞培養部)である。振動方向以外の振動を 抑制するために、弾性ヒンジ機構、振動駆動源にピエゾ素子を採用 した。ピエゾ素子を伸縮させることにより、振動部を水平方向に振 動させる。材料の弾性によりヒンジ部分がばねとして働き、ピエゾ 素子の押し出す力に対抗して振動部を押し戻す構造とした。ヒンジ は、振動部の左右にそれぞれ3枚とした。ピエゾ素子は、 NEC/TOKIN 製で大きさが 5×5×10 mm、最大発生力 850 N のもの を使用し、40Vで駆動する。そのとき発生力は226N、ピエゾ素子 と振動部の接触面に加わる圧力は9.04MPaとなる。ピエゾ素子は、 スペーサを介してねじで押さえつけることにより装置に組み込み 固定する。振動部には、直径15 mmの貫通穴をあけ、底部にカバ ーグラスを接着することにより、細胞を入れるための穴を形成した。 細胞のダイナミックな変化を顕微鏡下でリアルタイムに観察可能 な構造とした。装置の寸法は、ヒンジ幅 2.0 mm、ヒンジ長 5.0 mm、 振動部の縦横寸法 22 mm、装置全体の厚さ 12 mm とした。加工性 とヒンジの弾性を考慮して、材質は全てアルミニウムとした。

2.2 運動方程式 振動部の構造概要図を Fig. 2 に示す。図中の記号は、各パラメータを示しており、ピエゾ素子の発生力をF、ヒンジ長をl、振動部全体の変位量をdとする。ばね定数をkとすると、ヒンジに生じるトルクτは次式で表わされる^[1]2]。

 $\tau = k\theta$ (1) いま、0< $\theta <<1$ なので、

$$\theta \approx \tan \theta = \frac{d}{l}$$
 (2)

トルクの釣り合い式より、運動方程式は次式のように求まる。

$$\frac{F}{2}l = 3k\theta \tag{3}$$

 $F = \frac{6k\theta}{l} = \frac{6kd}{l^2} \tag{4}$

2.3 有限要素解析による装置の設計 本装置の設計目標を、周波 数全域にわたって強制振動を行い、安定的に振動振幅を得ることと した。よって、装置の共振周波数が使用域よりも高くなるように設 計を行った。汎用有限要素解析ソフト ANSYS を用い、解析周波数 域 100~30k Hz にわたって周波数応答解析を行い設計に反映した。 解析条件として、ピエゾ素子が振動部に与える圧力を 9.04 MPa、減 衰比を 0.001 とした。材料定数はアルミニウムの物性値、ヤング率 $E=70.6 \times 10^9$ Pa、密度 $\rho=2.68 \times 10^3$ kg/m³、ポアソン比 $\nu=0.33$ を用 いた。また、実際に使用するときは装置を固定するので、モデル側 面の把持部について、全自由度ゼロの拘束条件を与えた。Fig. 3 に 解析したメッシュモデルを示す。振動振幅を計測するセンサを設置 するために直径 10 mm の穴をあけてある (Fig. 3(b))。



Fig.1 Nano vibration cell stimulus Fig.2 Structure schematic of device utilizing flexure hinge structure vibrating part



2.4 振動特性計測実験 有限要素解析により設計した装置を製作し、実機を用いた振動特性計測実験を行った。Fig. 4 に実験系を示す。DC 電源からドライバに電圧を与え、ドライバで正弦波を発生させる。発生させた正弦波電圧を、装置内に組み込んだピエゾ素子に印加し、ピエゾ素子を伸縮させることによって、振動部を振動さる。このときの振動方向の振動振幅と垂直方向の振動振幅を静電

容量変位計で計測する。実験条件は、周波数 100~20k Hz、ピエゾ 素子の駆動電圧を 40 V、ピエゾ素子の発生力 226 N、与圧 80 N、締 め付けトルクを 0.117 N・m、計測回数を 3 回とした。

2.5 細胞実験 開発した弾性ヒンジ型ナノ振動細胞加振装置に より、生体細胞にナノ振動を付加して細胞の反応を調べる実験を行 った。細胞の接着機能に着目し、付加するナノ振動の振動振幅を一 定にして周波数を変えたときに細胞の反応に違いが現れるかどう かを調べた。装置は冶具により顕微鏡ステージ上に固定し、細胞は 播種後 60 分間ナノ振動を付加し、その後、培養液を除去して接着 した細胞数を数えた。Image Capture により静止画像を実験開始 0 分から1分ごとに記録した。また、周波数0 Hz(Static)のときを 基準として細胞の接着状況と接着率を評価した。実験には、ヒト間 葉系幹細胞を用い、播種密度を 5.0×10³ cells/cm²、懸濁液量 500µ1、 接着基材はガラスとし、室温条件下で実験を行った。実験は、ナノ 振動を与えない基準群と、1k Hz で 70 nm および 10k Hz で 70 nm のナノ振動をそれぞれ付加したときの3 種類について行った。

3. 結果および考察

3.1 有限要素解析による装置の設計 Fig. 5 に有限要素解析の結 果を示す。結果の観測点は、Fig. 1 の★印である。解析より、振動 方向について、周波数 100~4k Hz にわたって振動振幅 1200 nm で あった。共振周波数は 20k Hz であった。垂直方向については、周 波数 100~10k Hz にわたって振動振幅 1 nm であった。また、共振 周波数は 20k, 28k Hz であった。

3.2 振動特性計測実験 Fig.6 に実験結果を示す。Fig.6 (a) は振動方向、Fig.6 (b) は垂直方向の振動振幅のグラフである。振動方向 については、周波数 100~10k Hz において振動振幅 70 nm で安定し て振動可能であった。共振周波数は 19k Hz であった。垂直方向に ついては、周波数 100~5k Hz において振動振幅 10 nm で振動して いた。

3.3 細胞実験 基準群では443 cells、1k Hz 加振では461 cells、10k Hz 加振では101 cells の細胞が接着していた(Fig. 7)。トリパン ブルー染色により、いずれの条件下においても細胞の生存率がほぼ 100%であることを確認した。また、60分間にわたって1枚/分で 記録した静止画像より、1k Hz では細胞が接着して活発に仮足を伸 ばし、広がっていく様子が観察できた。一方、10k Hz では細胞が仮 足を伸ばすものの接着できずにいる様子が観察できた。このことか ら、10k Hz においては、ナノ振動が細胞接着を阻害している可能性 が考えられた。

4. 結言 有限要素解析を用いて、弾性ヒンジ機構を用いたナノ 振動細胞加振装置を設計、製作した。実機を用いた振動特性計測実 験より、振動方向に対して周波数 100~10k Hz にわたって振動振幅 70 nm で振動する装置が開発できた。共振周波数は 19k Hz と十分に 高いことが確認できた。また、生体細胞を用い、開発した装置によ りナノ振動を付加する実験を行った結果、振動周波数による細胞の 接着反応に差異が有ることが判明した。

参考文献

- Peng Gao, Shan-Min Swei and Zhejun Yuan, A new piezodriven precision micropositioning stage utilizing flexure hinges, Nanotechnology, 10, p. 394-398 (1999)
- [2] J. M. Paros and L. Weisbord, How to design: Flexure Hinges, Machine Design, p. 151-156 (1965)



Fig. 7 Adherent cell numbers