

平成 30 年 9 月 3 日現在

機関番号：12401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K05783

研究課題名(和文) レーザー誘起水中衝撃波高周波照射によるナノ粒子デリバリー

研究課題名(英文) Nano particle delivery by means of laser induced shock wave in water

研究代表者

平原 裕行 (HIRAHARA, Hiroyuki)

埼玉大学・理工学研究科・教授

研究者番号：20201733

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：金属の薄膜にレーザーを照射することによって発生する水中伝播衝撃波を形成して、これを操作することで微細粒子を搬送するシステムの構築に向けて研究を行った。本研究では、高繰り返しレーザーとファイバを用いて高周波水中衝撃波の生成とこれによって生じる流体の運動量輸送の研究、ならびにファイバーによる複数の衝撃波の発生によって可能となる衝撃波の干渉実験を行い、衝撃波の干渉の結果生じる交差衝撃波の計測を行い衝撃波の伝播特性を観察した。高周波衝撃波の発生は、約数10Hzでの発生が可能であることを確認したがそれ以上の周波数では生成されないことが確認された。またファイバーの使用では有効な衝撃波の伝播が確認された。

研究成果の概要(英文)：A system to transport the nano or fine particles by using an underwater shock waves generated by irradiating a thin film of metal with laser irradiation has been investigated experimentally. In this study, we investigated the generation of high frequency underwater shock waves and the momentum transport of the resulting fluid using highly repetitive laser and fiber, and the experiment of shock wave interference also conducted to realize multiple shock waves interaction by fiber. The cross shock waves generated as a result of interference were measured and the propagation characteristics of the shock waves were observed. It was confirmed that occurrence of high frequency shock wave can occur at about several 10 Hz, but it was confirmed that it was hard to generate it at higher frequency. Whereas, the propagation of effectiveness to generated the shock waves with a fiber has been confirmed.

研究分野：流体工学

キーワード：マイクロ衝撃波 レーザー誘起衝撃波 金属薄膜 圧縮性流れ ドラッグデリバリー

1. 研究開始当初の背景

近年の医療技術、再生医療技術、細胞工学、生体工学などの分野では、種々の非平衡的な物質の輸送やストレスの負荷が試みられて成果を上げている。この非平衡作用は、一つにはマイクロ領域での瞬間的な物質移動により結合を行わせたり、タンパク質へ刺激を与えることで、様々な変異を生じさせようとするものである。このような目的のために、近年では細胞の様々な機能性発現や細胞培養プロセスにおいて細胞内の種々のタンパク質等への刺激の印加が研究されている。これまでの単純な電気刺激や、熱的な刺激、化学的な刺激に加えて、その他の例では、例えば、Yano¹⁾らは、ナノ秒幅のパルス電圧を加える事によって細胞内のタンパク質への選別的な細胞死に至るプロセスを制御できることを示している。また、Gweon²⁾らの研究では、常温プラズマジェットによる細胞への刺激が、集合細胞組織の深部に浸透して、生体細胞の活性化に寄与することを示している。彼らの報告の中では、プラズマジェットが、物理的な刺激というよりも化学的な刺激として作用することが重要であることを示している。このように現在では、様々な刺激によってタンパク質が選択的な機能発現を示すことが明らかにされてきている。このような背景をもとに、力学的な刺激による機能の発現を目的としたマイクロ衝撃波の応用を図っていくことは非常に有意義なことであると考えられる。

注) 1) Kenichi Yano, Molecular Basis of Cellular Responses to Nanosecond Pulsed Electric Fields, 11th ICFD, 2014.

2) Bomi Gweon et al., Atmospheric Pressure Plasma Induced Alterations in Cellular Responses, 11th ICFD, 2014.

2. 研究の目的

このような様々な効果を用いた操作プロセスの中にあって、純粋に力学的な強い刺激を発生しうる手法が、マイクロ衝撃波を利用した加圧である。本研究ではこの利点を利用し、他の組織に目的外の不要な刺激を用いること無く、物理的な作用のみを生じることができるマイクロ衝撃波を使用する。マイクロ衝撃波に関しては、これまでに高強度のレーザー集光によって発生する、気体の絶縁破壊(プラズマ化)による気体中衝撃波、金属のアブレーションによって発生する気体中衝撃波について実験を重ねて来た。近年では、薄膜金属をレーザー照射した際に発生する熱弾性波を利用した水中衝撃波の研究に注力してきた。他の研究者による国内の研究としては、佐藤³⁾によって行われた実験があり、彼はこれをフォトメカニカル波と命名して、薄膜金属の代わりに天然ゴムを利用して衝撃波を発生させている。我々は独自に、レーザーエネルギーが金属に吸収されて、これが周囲に伝播する現象について、熱膨張を考慮

に入れた波動方程式の数値解析から考察を行い、歪み、応力、加速度のいずれが最も大きな要因であるかの研究を推進する。この結果によって、衝撃波を効率よく発生させるための物理パラメータと衝撃波強度の増加法を構築する。また、本手法の具体的な応用として金ナノ粒子の細胞への導入についての検討を行う。金ナノ粒子は、近年、細胞工学、遺伝子工学などにおいて多く用いられるようになってきた粒子であり、化学的には無害のものであるが、表面プラズモンの特異性を利用して、分子マーカーや、局所的熱吸収体などとしての利用が図られ、その応用が非常に拡大されている素材である。この金ナノ粒子の細胞内への導入方法に関しては幾つかの手法が開発されている。中でも主流となっている手法は、インパクト法であり、これは、細胞を一旦空气中に晒し、その間に、インパクトで金ナノ粒子を射出して打ち込む方法である。この手法では、細胞が短時間であれ空气中に晒されるために、細胞がダメージを受け、最悪の場合には死に至る危険性がある。このような細胞の操作においてはストレスのない、または、適切なストレス負荷の制御ができるプロセス操作が望まれている。本研究ではこのような過負荷のストレスが無い操作プロセスを創成することを最終目標としているが、本研究ではそのドラッグデリバリーの基礎的な手段の構築を目的としている。

注) 3) 佐藤 俊一他、フォトメカニカル波を用いた内視鏡的分子デリバリーシステム、日本機械学会年次大会 2013 講演論文集, J023016.

3. 研究の方法

本研究では、金ナノ粒子の細胞への浸透の増大を目的として実験的な研究を行っていく。そのためには、第1番目に、局所的な物質移動を可能とする物質輸送のための局所的加速度場の形成を目指す。これは、薄膜コーティングした複数のファイバを用い、これにレーザーを照射することによって発生した衝撃波を収束させることによって実現する。薄膜の素材は、金属、ゲル、エラストマーを候補として、それぞれの利点を調査して、最適な素材を見出す。第2番目には、金ナノ粒子を懸濁した溶液中に細胞を置き、高頻度の繰返し周波数で、ナノ粒子をドライブすることで細胞内への浸透を促進する。

本研究で使用予定の光音響変換素子の概要を示した。これまでの本研究室の研究では、薄膜の金属を利用して衝撃波の発生を行ってきた。金属が光エネルギーを吸収してから縦弾性波とレーリー波を発生する状態の数値解析を行った。これによれば、光吸収媒質の縦弾性係数と媒質内音速の大きさが縦波の発生に大きく寄与しており、熱変形によるレーリー波は衝撃波の発生には関与しないと結論付けられる。また、縦波の強度には、レーザーの光強度の時間変動勾配が大きい

ほど先行縦波の強度が増大するとの確認が得られている。この初期段階の光エネルギーから縦波への波動エネルギーへの変換過程においては、変換のカップリング係数を調査して、その変換効率を高めることが重要である。そのエネルギー（または運動量）変換プロセスを解析することは困難を極める。今回の研究では、数種の材料に対して実験的な比較を行い、レーザー照射部分端面部にファイバからレーザー照射を行い、縦弾性波の発生状況を実験的に確認する。

細胞内へのナノ粒子の侵襲を試みる場合には、細胞膜に対して、法線応力成分と接線応力の作用の相互作用を巧みに利用することが重要となる。そこで単体のファイバにおいて衝撃波の発生強度を実験的に確認した後、複数のファイバを組み合わせて、マイクロ衝撃波の収束現象の実験を行う。表面凹凸が数ミクロンの薄膜から発生するマイクロ衝撃波の形状は、表面凹凸形状の影響を受けずに球面衝撃波として伝播する。そこでファイバの端面状況を変化させて衝撃波の収束を促進する実験を行い、加速度の非一様な偏局場を生成する。

4. 研究成果

衝撃波の伝播をシャドウグラフ撮影法によって画像観察した。取得画像から各時刻における衝撃波面位置を読み取り伝播速度を見積もった。さらに水の状態方程式である Tait の式を用いて水中の音速を算出し、衝撃波のマッハ数を求めたところ、曲率半径やレーザー強度によらずほぼマッハ 1 となった。水中衝撃波は一般的に音速程度の速度で伝播することからこれは妥当な値である。ここで、生成される衝撃波のサイズはレーザー照射スポット径程度であることを確認した。次に衝撃波強さの測定と収束効果の評価を行った。圧力測定で得られた各レーザー強度における水中衝撃波強さを求めたところ、衝撃波強さは照射レーザー強度に対してほぼ線形的に増加していることがわかる。また、曲率半径が小さくなるほど衝撃波強さは増加し、衝撃波形成金属薄膜面の曲率半径 $R=3.24$ mm の場合には、平面の場合の 2 倍程度の圧力が得られた。次に衝撃波伝播距離と衝撃波強さの関係を求めた。曲率半径 $R=3.24$, 6.48 mm の場合において、圧力のピークが各曲率半径程度または、それよりも短い距離で現れ、衝撃波の収束が起こっていると言えるが、 $R=12.92$ mm の場合には圧力のピークは得られなかった。また、収束の様子は実験画像からも確認でき、収束範囲を過ぎた後、球面波となり、広がって伝播していくことがわかる。この結果から衝撃波伝播領域を衝撃波形状が平面である、レーザー照射スポット径オーダーの近接場 (Near field) と衝撃波形状が球面となる遠方場 (Far field) に分けることができることが示された。さらに衝撃波が収束していく収束領域と拡散していく領

域を考えると、収束点となる R の位置が近接場にある場合に衝撃波の収束が起こるが、遠方場にある場合には収束は起こらない。このように衝撃波の収束には、レーザー照射スポット径に依存する近接場と遠方場の二つの領域が重要であると考えられる。また、衝撃波強さの減衰率は曲率半径が小さいほど大きくなり、遠方場における減衰は凹面レンズの場合にのみ大きく見られる。これは、熱伝導や粘性による減衰ではなく、衝撃波が球面状に広がっていく幾何的な減衰が支配的であるためだと考えられる。要約すると、衝撃波発生面に凹面レンズを用いることで、直接的に衝撃波を収束する水中衝撃波生成法を考案し、実験的に収束効果が確認され、発生した衝撃波は、発生面から曲率半径程度の距離の位置に収束し、曲率半径が 3.24 mm の凹面レンズを用いた場合に、平面ガラスの場合の 2 倍程度の圧力が得られた。また、衝撃波発生面となる凹面レンズの曲率半径を小さくすることでより高い収束効果が得られるが、収束距離は曲率半径の減少に伴って短くなり、収束後は幾何形状による減衰が大きくなることがわかった。ならびに、衝撃波の収束には曲率半径以外に、レーザー照射径が重要となることが示唆された。

ファイバを用いた実験においては、ファイバ表面の研磨を行い、これにスパッタによる金属薄膜の蒸着を行って、衝撃波面の生成ドライバを作成した。レーザーを照射した結果では、ガラス面に蒸着したドライバに比較すると、衝撃波の強さは、やや弱くなった。これは想定上の挙動であるが、ファイバの集合体を用いることによって衝撃波の干渉によって衝撃波を強めることが実験の目的でありこれのための衝撃波の干渉実験を行った。

これらの実験結果について数値シミュレーションを行い、金属面内の縦弾性波と水中で形成される水中衝撃波の生成過程の再現を行った。シミュレーションでは、縦弾性波の持つ運動量伝達によって衝撃波が発生することが明確に捉えられた。また、金属薄膜の厚さに依存した金属内部の波動の往復によって衝撃波の強さが強まったり弱まったりする条件が存在することが推定された。そこで、金属薄膜の厚さに関しても再調査を行った。金属薄膜の厚さは、本研究の開始当初、縦弾性波の伝達時間と減衰に関係するものと考えていたが、金属と水との境界面における反射膨張波の伝播とそのさらなる反射によって共鳴を起こすことが予測され、衝撃波の強度を更に増強することができる可能性が示唆された。そこで、境界面での計算精度の向上を図り、かつ、内部の波動の伝播特性を正確に表現することで、その可能性を確認し、これを実証するための実験を行った。実験の結果においては、そのことに関する事実は、今回は確認されず今後の研究の課題としなければならない結果となった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 3件)

1) R.A. Hemel, H. Hirahara, K. Takahashi, Momentum Transfer through Longitudinal Wave to Generate Underwater Shock Wave Induced by Pulsed-Laser, European Journal of Scientific Research, Vol.141, 2016, pp51-64.

2) R.A. Hemel., H. Hirahara, K. Takahashi, Momentum Transfer on Underwater Shock Generation Induced by Pulsed Laser Irradiation with Thin Metal, Open Journal of Fluid Dynamics, Vol.6, 2016, pp166-181.

3) R.A. Hemel, H. Hirahara, Experimental observation of immediate focus of underwater shock wave by using concave emitter induced by nano-pulsed laser, Journal of Visualization, Vol.20,2017 pp765-775

〔学会発表〕(計 3件)

1) K. Takahashi, H. Hirahara, R.A. Hemel, 凹面から発生したレーザー誘起衝撃波の収束日本機械学会 第94期 流体工学部門 講演会, 2016, Yamaguchi.

2) R.A. Hemel, K. Takahashi, H. Hirahara, Momentum Coupling Effect of Underwater Shock Wave Generation by Pulsed-Laser, 44th visualization information Symposium, 19-20 July, 2016, Tokyo.

3) R.A. Hemel, K. Takahashi, H. Hirahara, Development of Liquid Micro Jet Pulsed Laser Aiming for Effective Drug Delivery Symposium on Shock Wave, 7-9 March, 2016, Kumamoto

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

取得状況(計 0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

取得年月日:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

<http://park.saitama-u.ac.jp/~fdl/>

6. 研究組織

(1)研究代表者

平原裕行 (HIRAHARA, Hiroyuki)

埼玉大学・理工学研究科・教授

研究者番号: 20201733

(2)研究分担者

()

研究者番号:

(3)連携研究者

()

研究者番号: