生体組織の新しい硬さ評価指標 “Droplet Hardness”*

古川 功太^{*1}, 西尾 直人^{*1}, 秋山 直也^{*2}
山口 康隆^{*3}, 東森 充^{*3}, 金子 真^{*4}

Droplet Hardness for Living Tissues

Kota FURUKAWA^{*5}, Naoto NISHIO, Naoya AKIYAMA,
Yasutaka YAMAGUCHI, Mitsuru HIGASHIMORI and Makoto KANEKO^{*5} Department of Mechanical Engineering, Osaka University,
2-1 Yamadaoka, Suita-shi, Osaka, 565-0871 Japan

In tissue engineering, it is important to examine the hardness of cultivated tissues for evaluating their vitality. This paper proposes a new index, “Droplet Hardness”, defined by the representative plastic deformation in depth of tissue caused by collision with a droplet whose initial diameter and speed are 80 μm and 4 m/s, respectively. To understand the nature of physical phenomena of single droplet in collision with a tissue, we newly design and develop a dynamic active sensing system composed of a micro ink jet device for spouting out a micro water droplet and a high speed camera for capturing the dynamic behavior of the droplet after the collision. Through both computer simulation and experiments, we show that the Droplet Hardness is an essential parameter capable of nicely expressing a global hardness of tissue.

Key Words: Droplet Hardness, Vitality of Tissue, Active Sensing, Ink Jet, Tissue Engineering, Micro-Mechanism, Biomechanics

1. はじめに

再生医療や細胞組織工学の分野では生体組織の硬さは重要な情報のひとつである。たとえば、培養された細胞組織を移植する際に、細胞組織の硬さを指標として細胞組織の成熟度合いや新鮮さを知ることができる。一般に未熟な細胞や古い細胞は、成熟した新しい細胞と比べて弾力性に欠ける。材料工学の分野では、金属材料やプラスチックの硬さの指標として、Vickers 硬さ、Brinell 硬さ、Shore 硬さ、Knoop 硬さ、Mohs 硬さ、Herz 理論などが定義されている^{(1)~(9)}。たとえば図1(a)に示される Vickers 硬さは、対象物に直径 10 mm の球状の剛体圧子押し付けて生じる圧痕の面積の大きさで定義される。生体細胞に対しては、例えば原子間力顕微鏡(Atomic Force Microscope, AFM)を用いた硬さセンシングがよく知られている。ここではたわみはりの先端の探針すなわち圧子を対象に押し付け、はりのたわみ量および対象物へ

(a) Vickers hardness

(b) Droplet hardness

Fig. 1 Definition of hardness

* 原稿受付 2008年10月2日。

^{*1} 学生員, 大阪大学大学院工学研究科(☎ 565-0871 吹田市山田丘2-1)。^{*2} 大阪大学大学院工学研究科。^{*3} 正員, 大阪大学大学院工学研究科。^{*4} 正員, フェロー, 大阪大学大学院工学研究科。

E-mail: furukawa@hh.mech.eng.osaka-u.ac.jp

の押し込み量からそれぞれ加えた荷重と対象物の変位量を計測することで、対象物の荷重-変位曲線と弾性率を得ることができる。AFMは細胞一個レベルの局所的な硬さや粘性などの力学的特性の分布を高精度に計測することができる。しかしながら、AFMによる硬さ計測では対象物に直接剛体圧子を接触させるため細胞を傷つける恐れがある。また、広い範囲をセンシングしようとする膨大な時間がかかってしまうという問題がある。したがって再生医療分野では対象物への負担が少なく短時間で硬さを計測できる手法の開発が強く望まれている。このような背景を踏まえ本稿では図1(b)に示すような、生体組織に対する新しい硬さ指標として“Droplet Hardness”を提案する。Droplet Hardness(DH)は、インクジェットにより射出された直径80 μm 、速度4 m/sの微小液滴を、対象物に衝突させた時に生じる対象物の塑性変形量により定義される。衝突によって液滴自体も変形するため力の集中を避けることができ、剛体接触式に比べて対象への負担がはるかに小さいという利点があり、生体組織に対する非常に有効な硬さセンシング手法であるといえる。インクジェットは直径10~80 μm の液滴を最大速度6 m/sで打ち出すことのできる装置であり、これによって対象物にpNレベルの力を負荷することが可能である⁽¹⁰⁾。

微小液滴と細胞組織の衝突時に起こる現象の解析のため、本研究では微小液滴を生成するインクジェットと衝突後の液滴と、細胞組織のダイナミクスを観察するための高速カメラからなる新しいダイナミックアクティブセンシングシステムを開発した。液滴が対象物に衝突すると、対象物の変形とともに液滴自体も変形する。質量保存則により液滴の体積は不変なので、対象物の変形は定常状態における液滴の高さや幅などの形状から間接的に推定することができる。衝突過程はおおよそ0.1 msecという極めて短い時間で終わるため、液滴と対象物の変形を観察するために高速カメラを用いている。このセンシング手法は慣性力に基づいているので、時間に対する液滴の形状は対象物の剛性だけでなく塑性変形を生じさせるダンパ要素にも影響される。本研究では定常時の液滴の高さが対象物の硬さに応じて異なることを実験的に確認した。また、実験結果と比較するためにシミュレーションによって、高速カメラでは捉えることのできない液滴衝突時の力学的挙動についても調べた。

本稿の構成は以下のとおりである。2章では従来研究について述べる。3章では本研究で開発したセンシングシステムの概要と原理について述べる。4章では

実験条件および結果を示す。5章では本稿で提案する新しい硬さ指標であるDroplet Hardnessについて述べる。6・7章では液滴と対象物の衝突シミュレーションについて述べ、実験結果と単純バネ-ダンパ系モデルを比較しながら考察をする。最後に8章でまとめと今後の研究計画を述べる。

2. 従 来 研 究

材料工学では硬さ(剛性)を評価する指標としてVickers硬さ、Brinell硬さ、Shore硬さ、Knoop硬さ、Mohs硬さなどがある。たとえばVickers硬さは直径10 mmの硬い球状圧子を材料に押しつけ、試験体に生じる塑性変形による圧痕の面積で定義される。本研究ではこれと同様の理論で細胞組織に対する硬さ指標を提案する。硬さセンシング法は力の印加方法の違いから2つの手法に分けられる。ひとつはプローブ等を介して対象物に直接力を印加する接触法で、もうひとつは水や空気などの流体を介して対象物に力を印加する非接触法である。接触法では、プローブに印加する力そのまま対象物へと伝わり、対象物に生じる変形と印加する力が1:1に対応するので測定精度は高くなる。しかしプローブが凸形状の物体と接触すると、印加した力が一点集中するため対象を傷つける可能性があるという決定的なデメリットを有している。AFMは接触法の一例である^{(11)~(15)}。一方で流体を介して力を印加する非接触法では、流体自体が大きく変形し、印加した力は対象物を変形させる流れと、印加点の周囲へと流出し圧力分布を生じる流れに分散し、等価的に面接触状態となる。したがって、同じ力を加えたとしても局所的に大きな変形を作ることが難しく、接触法に比べて測定精度は低い。金子ら⁽¹⁶⁾⁽¹⁷⁾は眼球の剛性を非接触眼圧計で計測し、非接触法で得られた剛性が接触法で得られた値より10倍大きいことを示している。これは圧力分布の違いによるものである。すなわち対象物に印加する合力が等しくても、点接触をする直接法では急激な圧力増加が生じるのに対し、非接触法では流速分布により急激な圧力増加を防いでいるためである。これが接触法に比べ、非接触法が対象物に傷をつけにくい理由である。金子ら⁽¹⁸⁾⁽¹⁹⁾はまた、空気噴流により生体組織の硬さ分布を調べ、腫瘍が存在する部分の組織が周辺部に比べて硬いことに注目し、組織内の腫瘍を見つける方法に挑戦している。この場合、重要な点は、絶対的な硬さではなく相対的な硬さ変化である。ここで、対象となる組織の大きさをより小さくし、ミクロンオーダーの組織や細胞などの局所硬さを計測する場合を考える。このような

スケールでは空気噴流の粘性が支配的となり、直径を数ミクロンに制御された空気噴流を発生させることは実際にはきわめて困難である。そこで本稿では、空気の代わりに断続的に水を噴射する非接触式マイクロアクティブセンシングシステムを開発した。

3. マイクロダイナミックセンシングシステム

図2, 3はそれぞれ開発したマイクロダイナミックセンシングシステムの概念図と写真である。本システムはインクジェットシステム IJK-200 S [(株)Micro-jet] と高速カメラ MEMRECAM GX-1 [(株)ナックイメージテクノロジー] から構成されている。IJK-200 S は力印加系として液滴を射出するノズル、ノズルを開閉させるピエゾアクチュエータ、ピエゾアクチュエータの電圧と周波数を制御するドライバ、および液滴を観察するためのストロボシステムから構成されている。図4に液滴射出時の1 cycle の模式図を示す。はじめにノズル中の液体はピエゾアクチュエータの開動作によって吸い上げられる。次にアクチュエータが閉じるのと同時に液体がノズルから射出される。このピエゾアクチュエータ式インクジェットは20~300 pl のサイズの液体を最大速度6 m/s で毎秒

2 000発射出することが可能である。液滴のサイズと速度はアクチュエータに負荷する電圧と周波数によって調節される。一方、観測系である高速カメラは30~200 000 Hz での撮影が可能で、図2に示すようにインクジェットと座標軸を共有するように同じベース上に4軸マイクロステージを介して接続され、各方向への微調整による高精度のピント合わせが可能である。また、カメラには20倍のズームレンズを接続し撮影範囲 $200 \times 200 \mu\text{m}$ において分解能 $1.5 \mu\text{m}/\text{pixel}$ を実現している。またインクジェットと高速カメラを制御するためにそれぞれ独立にPCを接続している。射出される液滴のサイズと速度に関するインクジェットの再現性は極めて高く、ストロボシステムによるシンクロ撮影による映像から確認されている。

4. 実験

4.1 対象と方法 本実験では疑似的な細胞組織として生きた細胞に似た硬さをもつアガロースゲルを採用した。ゲルの硬さはゲル製作時に純水中に溶かすこむアガロースの質量で調節できる。実験対象として2種類の異なる硬さのアガロースゲルを調整した。硬いアガロース、柔らかいアガロースの質量%濃度は、それぞれ3%, 0.6%とした。これらの試験片に対し、マイクロダイナミックセンシングシステムを用いて実験を行った。常に一定の力を印加するために初期実験

Fig. 2 An overview of the developed sensing system

Fig. 3 A photo of the developed sensing system

Fig. 4 One cycle for spouting out droplets by piezo actuator

Fig. 5 Parameters of droplet shape

条件として液滴の直径と速度およびノズルと対象物の距離はそれぞれ $d_0=80\ \mu\text{m}$, $4\ \text{m/s}$, $2\ \text{mm}$ に保った。高速カメラの撮影速度は $200\ 000\ \text{Hz}$ である。図5に解析に用いる液滴パラメータを示す。 d_0 , h および b はそれぞれ液滴の初期直径, 時刻 t での液滴高さおよび幅を示している。スケールの違いによる影響をなくすためにそれぞれ正規化した液滴高さ h/d_0 , 正規化した液滴幅 b/d_0 を用いて解析した。

4・2 実験結果 図6に(a)硬いアガロース(質量濃度 3%)および(b)柔らかいアガロース(質量濃度 0.6%)への衝突前後の液滴の運動を連続写真で示す。

Fig. 6 Series of continuous motion of droplet

これらの画像から液滴の衝突によって液滴と対象物のそれぞれが変形しているのが分かる。液滴の変形は対象物と接触後およそ6フレーム(0.06 msec)の間に起こっている。特筆すべき点が2点あり、ひとつは液滴が落ちた時に液滴の中央部が一度くぼみ凹面形状になったのち、パネのような挙動でもとに戻っていく点である。これは特に柔らかい対象物への衝突時に顕著な現象である。もうひとつは対象物の硬さによって定常時の液滴高さが異なる点である。ここでいう定常時とは、対象物との衝突による液滴の変形が終わり、液滴がドーム状になった状態のことである。具体的には時間に対する正規化された液滴高さの変化が $|dh/dt| < 2.0$ を満足したとき平衡状態とよぶ。また、液滴衝突時の変形量は、平衡状態での液滴の高さおよび幅の変形量に対し10倍程度速いので両者の判別は容易に行える。図7はそれぞれ(a)硬いアガロース(質量濃度 3%)および(b)柔らかいアガロース(質量濃度 0.6%)への衝突における液滴高さの時間履歴を示しており、縦軸が正規化した高さを表す。共通の傾向として、高さは急激に小さくなることが分かる。さらに興味深いのは対象物が硬いほうが、柔らかい場合に比べて平衡状態で液滴高さが高くなっていることである。もし、対象を単純なバネモデルと仮定すると平衡状態では完全にもとの形状に戻るはずである。しかしながら、図7が示すように、液滴高さの立ち直りは対象物の硬さによって異なっており、これは疑似モデルが塑性変形を引き起こすダンパ要素を含んでいることを示している。図8はそれぞれ(a)硬いアガロース(質量濃度 3%)および(b)柔らかいアガロース(質量濃度 0.6%)への衝突における正規化した液滴幅の時間履歴を示している。共通な傾向として、液滴幅は急激に広がる事が分かる。図8より、硬い対象物への衝突のほうが柔らかい対象物への衝突と比べて平衡状態での液滴幅は3%程小さくなっているものの、液滴高さのような

Fig. 7 Time history of the height of droplet

はっきりとした違いは見られないことが分かった。これらの結果から、硬さ指標を考えるには液滴高さに着目すべきであることが分かった。

5. Droplet Hardness

実験結果に基づき、Droplet Hardness(DH)を以下のように定義する。

$$\text{Droplet Hardness} = \frac{h}{d_0} \bigg|_{\text{equilibrium state}} \quad \dots\dots\dots (1)$$

ここでは、常に一定の力を印加するために初期実験条件として液滴の直径と速度およびノズルと対象物の距離はそれぞれ $d_0=80\text{ }\mu\text{m}$, 4 m/s , 2 mm に保っている。Droplet HardnessはVickers硬さ試験における塑性変形による圧痕に対応するものといえる。液滴との衝突によって対象物に生じる塑性変形の深さを直接測定することは困難であるため、液滴の体積が不変であることを考慮し、塑性変形の深さを対象物表面に残る液滴の形状から推定する。ここでは、対象物の硬さの違いを最も顕著に表すパラメータである液滴の高さをもとに新しい硬さ指標を定義した。たとえば、新鮮で新しい細胞組織は古い細胞組織より弾力性が強く、同じ印加力に対して塑性変形が小さくなり、Droplet Hardnessは大きくなると考えられる。

6. シミュレーション

液滴が対象物に衝突するとき、液滴の変形は高速カメラで観察できるが液滴と対象物の接触面は液滴で覆われてしまうので、対象物の変形を観察することはできない。本章では、液滴と対象物の衝突現象の力学的解析への手がかりを掴むために行ったシミュレーションの原理と結果を述べる。

6・1 シミュレーションモデル 柔らかい固体表面での液滴衝突の2次元SPH(Smoothed Particle

Hydrodynamics)シミュレーションを行った。SPH法では流体は粒子の集まりとして表現され、SPH粒子 a の密度は次式で評価される。

$$\rho_a^h = \sum_b m_b W_{ab}^h \quad \dots\dots\dots (2)$$

ここに ρ_b , m_b , W_{ab}^h はそれぞれ質量、密度、カーネルを表わす。カーネル関数 W_{ab}^h には距離依存3次スプライン形式を用いる。ただし h を平滑化距離とする。表面張力の評価には、表面をより精確にとらえるために平滑化距離 $H=1.5h$ を用いた密度を用いる。Navier-Stokes式に基づき、表面張力項 $\mathbf{a}_s$ を含んだ粒子 a のSPH運動量方程式は次のように表される。

$$\frac{d\mathbf{v}_a}{dt} = - \sum_b m_b \left[\left(\frac{P_a}{(\rho_a^h)^2} + \frac{P_b}{(\rho_b^h)^2} \right) \nabla_a W_{ab}^h - \Pi \right] + (\mathbf{a}_s)_a \quad \dots\dots\dots (3)$$

ここで、 $\mathbf{v}$, P はそれぞれ速度と圧力である。式(3)中の圧力は疑似非圧縮の状態方程式により得られる⁽²⁰⁾。一方で粘性力 Π は粘度 μ と相対速度 $\mathbf{v}_{ab}$ によって表される。

$$\begin{aligned} \Pi_{ab} = & \left(\frac{\mu_a}{(\rho_a^h)^2} + \frac{\mu_b}{(\rho_b^h)^2} \right) \\ & \times \frac{\mathbf{r}_{ab}(\mathbf{v}_{ab} \cdot \nabla_a W_{ab}^h) + \mathbf{v}_{ab}(\mathbf{r}_{ab} \cdot \nabla_a W_{ab}^h)}{|\mathbf{r}_{ab}|^2 + \eta^2} \quad \dots\dots\dots (4) \end{aligned}$$

$$P = P_0 [(\rho^h/\rho_0)^\chi - 1] \quad \dots\dots\dots (5)$$

ここで P_0 , ρ_0 はそれぞれ基準圧力と基準密度を表している。また $\chi=7$ とする。式(3)中の表面張力項 $\mathbf{a}_s$ は表面張力テンソル T_{ij} の勾配として定式化される。

$$\begin{aligned} (\mathbf{a}_s)_a = & \left(\frac{1}{\rho} \frac{\partial T_{ij}}{\partial x_j} \right)_a \\ = & \sum_b m_b \left[\frac{(T_{ij})_a}{(\rho_a^h)^2} + \frac{(T_{ij})_b}{(\rho_b^h)^2} \right] \nabla_{a,j} W_{ab}^h \quad \dots\dots (6) \end{aligned}$$

$$T_{ij} = \alpha \sigma |\mathbf{n}| (\delta_{ij} - \hat{\mathbf{n}}_i \hat{\mathbf{n}}_j) \quad \dots\dots\dots (7)$$

式(6)中の $\nabla_{a,j} W_{ab}^h$ は粒子 a のカーネル W_{ab} の j 方向への勾配である。一方式(7)中の α , σ , δ_{ij} , $\mathbf{n}$ および $\hat{\mathbf{n}}$ はそれぞれ強度パラメータ、表面張力係数、クロネッカーのデルタ、表面法線ベクトル、および単位表面法線ベクトルである。表面法線はカラー関数 c を利用して以下のように表わされる。

$$\mathbf{n}_a = \sum_b \frac{m_b}{\rho_b^h} (c_b - c_a) \nabla_a W_{ab}^h, \quad c_a = \sum_b \frac{m_b}{\rho_b^h} W_{ab}^h \quad \dots\dots\dots (8)$$

SPH法に関する詳細は参考文献⁽²¹⁾⁽²²⁾を参照されたい。

続いて対象となる固体表面を、隣り合うSPH粒子を付加的なバネで結合した標準的なSPH流体としてモデル化する。このバネの初期平衡距離を $r_{eq}=s_0$, バネ定数 k , および降伏ひずみ ε_y とし、この降伏ひず

Fig. 8 Time history of the width of droplet

み以下では標準的なフックの法則にしたがうものとする。つまり降伏変位 $|r_{ab}| - r_{eq}$ 以下の変位 $||r_{ab}| - r_{eq}| < \varepsilon_y s_0$ に対して $F_{spring} = -k(|r_{ab}| - r_{eq})$ が成り立つ。一方で、バネの変位が降伏距離を上回ると、バネの平衡距離は $r_{eq} = |r_{ab}| - \text{sign}(|r_{ab}| - r_{eq})\varepsilon_y s_0$ となりばねに生じる力 $F_{spring} = -\text{sign}(|r_{ab}| - r_{eq})k\varepsilon_y s_0$ に保たれる。このモデル化によって、疑似非圧縮性を保ったヒステリシス効果を含む塑性変形を表すことが可能である。バネ定数はヤング率では 1.0×10^6 Pa に相当する 1.0×10^6 N/m とし、降伏ひずみを 0.01 とした。本研究で模擬した細胞組織については、ヤング率、降伏ひずみ等の機械的物性に関して既存の計測データが存在しない、あるいはデータの信頼性が乏しいが、ここではシミュレーションの第一段階として、ヤング率を弾性ゴムと同程度のオーダー⁽²³⁾ に設定し、二次元系において定性的な現象再現の可能性を検証した。

シミュレーションでは粒子間の初期距離 s_0 は液滴と同じく $0.26 \mu\text{m}$ とした。実験データを参照し、粘度は計算の安定のため 1.0×10^{-2} Pa·s と高めに設定し、直径 $80 \mu\text{m}$ の液滴を衝突速度 4 m/s で液体表面に衝突させる。衝突後の平衡状態、即ち流体運動の無い状態での最終的な形状を主な着目対象とするため、これに対する粘度の影響は微小である。対象物は水平、鉛直方向それぞれ 200×30 の粒子からなり、左右両端と底の境界で粒子の運動は固定されている。メッシュフリー法である SPH 法における初期粒子間隔および粒子数はメッシュ法における格子間隔、即ち解像度に相

当するが、ここで用いた値は二次元系における変形挙動の解析に十分であることが確認されている。

6・2 シミュレーション結果 図9に(a)剛体表面および(b)柔らかい表面での液滴衝突のシミュレーション結果を示す。予想されたように柔らかい固体表面に塑性変形によるくぼみが生じ、最終的な液滴高さは剛体表面での衝突に比べて低くなっていることが分かる。さらに、剛体表面に比べて柔らかい表面では曲率が小さくなっており、図6に示される実験結果とよく一致する。

7. 考 察

前章では対象物を疑似的にごく単純なバネ、ダンパによってモデル化して行ったシミュレーション結果を示した。ここではその結果と実験結果を比較しながら考察を加える。ダンパ要素なしで行ったシミュレーションでは対象物のくぼみは、定常時には初期状態に戻ってしまうが、本実験で用いたアガロースは定常時の変化がアガロースゲルの濃度によって異なることが実験により分かった。これは、対象物にダンパ要素が含まれることを意味している。対象物を図10に示される単純なモデルで表す。ダンパおよび対象物表面の変位をそれぞれ x_1, x_2 と表すと外力 $F(t)$ に対する運動方程式は次のように表せる。

$$F(t) = c \left(\frac{dx_1}{dt} \right) = k(x_2 - x_1) \quad \dots\dots\dots (9)$$

ここで c および k はそれぞれダンパ定数およびバネ定数である。式(9)においてバネに生じる変位は定常時に完全に元に戻るのに対し、ダンパに生じた変位は次式で表され、塑性変形として残る。

$$x_{1p} = \int_0^\infty \frac{F(t)}{c} dt \quad \dots\dots\dots (10)$$

Droplet Hardness は図10に示される x_{1p}/d_0 と等価である。

今回定義した Droplet Hardness は同じ条件の液滴

Fig. 9 Snapshots of the SPH simulation of a liquid droplet impact on (a) rigid object, and (b) soft object

Fig. 10 A simple object model

に対する対象物の塑性変形量の深さである。しかし、衝突後の液滴の高さの目標値をあらかじめ決めておけば、Droplet Hardnessを応用した別の硬さ評価指標が得られる。つまり、液滴直径を固定し液滴速度を変化させる、あるいは液滴速度を固定し液滴直径を変化させれば、それぞれ平衡状態で液滴高さが目標値になった時の液滴速度、あるいは液滴直径を硬さ指標とすることが可能である。

また、今回対象物として用いたアガロースは、いずれも95%以上が水分であるため、液滴の形状に対する試験片の透水性の影響は小さいといえる。透水性がないと液滴形状は表面張力に強く影響を受けるようになる。今後透水性の異なる試験片に本システムを適用する際には、対象物の透水性を考慮する必要がある。

8. ま と め

本研究では生体組織の新しい硬さ評価指標について考察した。以下に本研究で得られた結果をまとめる。

(1) 直径 80 μm 、速度 4 m/s の液滴との衝突によって細胞組織に生じる塑性変形の深さに起因する液滴高さをもとに “Droplet Hardness” を定義した。(2) インクジェットと高速カメラを組み合わせたダイナミックアクティブセンシングシステムを開発し、高速カメラによる 100 000 Hz の撮影により、液滴と対象物の衝突ダイナミクスについて観察した。実験結果より、Droplet Hardness は対象物の硬さと相関があることが分かった。そして対象物の塑性変形が対象物中のダンパ要素の存在によって説明できることを示した。(3) シミュレーションを通して、実験と同様に衝突後の液滴にくぼみができることや、硬さに準じて対象物の変形が起こることを確認した。

今後は、Droplet Hardness が組織工学に適用できるかを確認するために、生きた細胞の健全度と Droplet Hardness の相関について検証していく。本研究は、g-COE「医・工・情報学融合による予測医学基盤創成—in silico medicine を指向したオープンプラットフォームの構築」の支援によって行われている⁽²⁴⁾。

文 献

- (1) Gong, J., Wang, J. and Guan, Z., A Comparison between Knoop and Vickers Hardness of Silicon Nitride Ceramics, *Materials Letters*, Vol. 56, Issue 6 (2002), pp. 941-944.
- (2) Pan, X. F., Zhang, H., Zhang, Z. F., Stoica, M., He, G. and Eckert, J., Vickers Hardness and Compressive Properties of Bulk Metallic Glasses and Nanostructure-dendrite Composites, *Journal of Materials Research*, Vol. 20, No. 10 (2005), pp. 2632-2638.
- (3) Sugimoto, T. and Kawaguchi, T., Development of an Automatic Vickers Hardness Testing System Using Image Processing Technology, *Industrial Electronics*, Vol. 44, Issue 5 (1997), pp. 696-702.
- (4) Tsukizoe, T. and Hisakado, T., On the Theoretical Analysis of Shore Hardness, *Bulletin of JSME*, Vol. 8, No. 29 (1965), pp. 20-27.
- (5) Wang, R. and Weiner, S., Human Root Dentin: Structural Anisotropy and Vickers Microhardness Isotropy, *Connective Tissue Research*, Vol. 39, Issue 4 (1998), pp. 269-279.
- (6) McBurney, J. W., The Relation of Brinell Hardness and Transverse Strength to the Compressive Strength of Building Brick, *Journal of the American Ceramic Society*, Vol. 13, Issue 11 (2006), pp. 823-830.
- (7) Fedorchenko, I. M., Kushchevskii, A. E., Mozol, T. F. and Reitor, V. A., An Analysis of the Reliability of Brinell Hardness Test Results of Powder Metallurgy Materials, *Powder Metallurgy and Metal Ceramics*, Vol. 24, No. 3 (1985), pp. 245-248.
- (8) Useinov, A. S., A Nanoindentation Method for Measuring the Young Modulus of Superhard Materials Using a NanoScan Scanning Probe Microscope, *Instruments and Experimental Techniques*, Vol. 47, No. 1 (2004), pp. 119-123.
- (9) Vaidya, N., Joshi, M. J., Shah, B. S. and Joshi, D. R., Knoop Hardness Studies on Anthracene Single Crystals, *Bulletin of Materials Science*, Vol. 20, No. 3 (1997), pp. 333-336.
- (10) <http://www.microjet.co.jp/>, 17 Mar 2009.
- (11) Kidoaki, S., Matsuda, T. and Yoshikawa, K., Relationship between Apical Membrane Elasticity and Stress Fiber Organization in Fibroblasts analyzed by Fluorescence and Atomic Force Microscopy, *Biomechanical Model Mechanobiol*, No. 5 (2006), pp. 263-272.
- (12) Wojcikiewicz, E. P., Zhang, X. and Moy, V. T., Force and Compliance Measurements on Living Cells Using Atomic Force Microscopy (AFM), *Biological Procedures Online*, Vol. 6 (2004), pp. 1-9.
- (13) Yan, L., Li, W., Yang, J. and Zhu, Q., Direct Visualization of Straw Cell Walls by AFM, *Macromolecular Bioscience*, Vol. 4, Issue 2 (2004), pp. 112-118.
- (14) Kwon, E. Y., Kim, Y. T. and Kim, D. E., Study on the Elastic Characteristics of Living Cells using Atomic Force Microscope Indentation Technique, *KSTLE International Journal*, Vol. 7, No. 1 (2006), pp. 10-13.
- (15) Lam, A., Wilbur, J., Rosenbluth, M. and Daniel, A. F., Chemotherapy Exposure Increases Leukemia Cell Stiffness, *BLOOD*, Vol. 109, No. 8 (2007), pp. 3505-3508.
- (16) Kempf, R., Kurita, Y., Iida, Y., Kaneko, M., Mishima, H. K., Tsukamoto, H. and Sugimoto, E., Understanding Eye Deformation in Non-contact Tonometry, *2006 IEEE Engineering In Medicine and Biology Annual Conference (EMBC 2006)*, (2006), pp. 5428-5431, New York, USA.
- (17) Katakura, S., Tsukamoto, H., Sugimoto, E., Kobayashi, K., Kurita, Y., Iida, Y., Kempf, R., Okude, J., Kaneko, M. and Mishima, H. K., Ocular Stiffness Measurement Using Goldmann Applanation Tonometer, *XVII International Congress of Eye Research (ICER2006)*, MO 24 (2006).
- (18) Kawahara, T., Tanaka, S. and Kaneko, M., Non-Contact Stiffness Imager, *The Int. J. of Robotics Research*,

- Vol. 25, No. 5/6 (2006), pp. 537-549.
- (19) Kaneko, M., Toya, C. and Okajima, M., Active Strobe Imager for Visualizing Dynamic Behavior of Tumors, *Proceedings of the 2007 IEEE International Conference on Robotics and Automation*, (2007-4), pp. 3009-3014.
- (20) Monaghan, J. J., Simulating Free Surface Flows with SPH, *Journal of Computational Physics*, Vol. 110 (1994), pp. 399-406.
- (21) Morris, J. P., Simulating Surface Tension with Smoothed Particle Hydrodynamics, *International Journal for Numerical Methods in Fluids*, Vol. 33 (2003), pp. 333-353.
- (22) Nishio, N., Yamana, K., Yamaguchi, Y., Inaba, T., Kuroda, K., Nakajima, T., Ohno, K. and Fujimura, H., Large-Scale SPH Simulations of Droplet Impact onto a Liquid Surface, *Proceedings of the 7th JSME-KSME Thermal and Fluid Engineering Conference*, (2008-10), pp. H 211-1-2.
- (23) National Astronomical Observatory of Japan, *Chronological Scientific Tables (Rika nenpyou)*, (1998), p. 451, Maruzen.
- (24) <http://www.mei.osaka-u.ac.jp/gCOE/english/index.html>
-