

ether, and the lung, heart, and testis were isolated. All animal experiments were performed based on the institutionally approved protocols of Tohoku University School of Medicine and Fukushima Medical University.

**Northern blot analysis.** Total RNA was extracted from the lung, heart, and testis and subjected to Northern blot analysis, as detailed previously [27]. The northern probe used for L-PGDS mRNA was the mouse L-PGDS cDNA fragment containing the entire protein-coding region (Accession No. X8922) [9]. The expression of  $\beta$ -actin mRNA was examined as an internal control [24,27]. These DNA fragments were labeled with [ $\alpha$ - $^{32}$ P] dCTP (Amersham Biosciences) by the random primer method and were used as hybridization probes, as described previously [27].

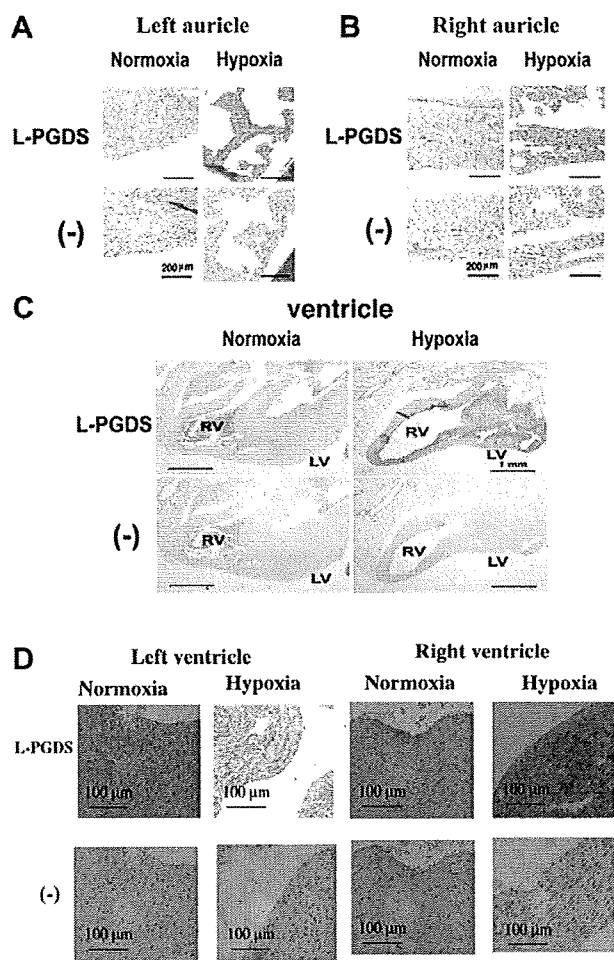
**Western blot analysis.** Tissue extracts were prepared from the hearts and lungs of wild-type mice exposed to normoxia or hypoxia, as detailed previously [24]. Tissue extracts were also prepared from the testes and hearts of HO-2<sup>-/-</sup> mice (10 weeks old) and age-matched wild-type mice. Each tissue sample was homogenized on ice in cold triple detergent lysis buffer [24,28]. Western blots were incubated with a rabbit polyclonal anti-mouse L-PGDS antibody [29]. The treatment with the primary antibody was per-

formed for 1 h at room temperature or overnight at 4 °C for L-PGDS antibody at a dilution of 1:20,000 in Tris-buffered saline with 0.1% Tween 20 and 1% non-fat milk. In some cases, the membranes (Western blots) were incubated with a rabbit polyclonal antibody against rat HO-1 [30] or mouse HO-2 (SPA-897, StressGen Biotechnologies Corp., Canada), as detailed previously [24]. The specific immunocomplexes were detected with a Western blot kit (ECL Plus, Amersham Biosciences). Expression of  $\alpha$ -tubulin was determined as an internal control with  $\alpha$ -tubulin antibody (Neo Markers, CA, USA).

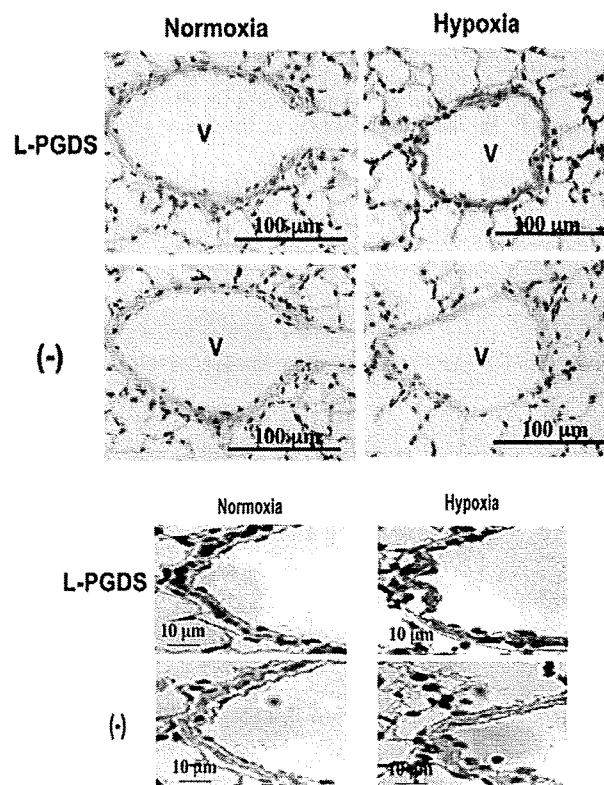
**Morphological analysis of the pulmonary vasculatures.** Isolated hearts and lungs were fixed in 4% paraformaldehyde and paraffin-embedded. Deparaffinized lung sections were stained by elastica-Masson staining method to evaluate the wall thickness and elastic lumina. Pathological changes of the small pulmonary arteries were assessed by the microscopic examination, as previously reported [31].

**Immunohistochemistry.** Paraffin-embedded tissues were sectioned at 2.5  $\mu$ m in thickness. Deparaffinized sections were digested with 0.1% trypsin in 0.1% CaCl<sub>2</sub> for 30 min at room temperature to retrieve immunoreactivity and then immunohistochemical study was performed on the tissue sections using a standard labeled streptavidin–biotin method (Nichirei, Tokyo, Japan). Rabbit polyclonal anti-mouse L-PGDS antibody [29] was used at a 1:2000 dilution. Nuclei on the tissue sections were visualized with hematoxylin.

**Statistical analysis.** Experimental data from each group are expressed as means  $\pm$  SEM. All results are derived from three animals per group. Statistical analyses were performed with two-way analysis of variance (factorial design) with a post hoc comparison test



**Fig. 2.** Expression of L-PGDS protein in the myocardium is increased under hypoxia. Tissue sections were prepared from mouse heart exposed to hypoxia or normoxia for 28 days, and were reacted with anti-L-PGDS antibody or control serum. (A) Expression of L-PGDS in the left auricle under normoxia (left panels) and hypoxia (right panels). (B) Expression of L-PGDS in the right auricle. (C) Expression of L-PGDS in left ventricle (LV) and right ventricle (RV). (D) Eight panels show the large magnification of ventricles shown in (c).



**Fig. 3.** L-PGDS protein increased in the pulmonary venous myocardium. The lung was isolated from mice exposed to hypoxia or normoxia for 28 days. Tissue sections were reacted with anti-L-PGDS antibody or control serum. V indicates the pulmonary vein. Lower panels show the large magnification of the pulmonary vein.

(Fisher's Protected Least Significant Difference exact test) with commercially available software (Statview 4.0, Carabaras, CA). Differences between mean values were considered significant when  $p < 0.05$ .

## Results and discussion

### Expression profiles of L-PGDS in the heart during normobaric hypoxia

We reported that C57BL/6 mice exhibited increased numbers of red blood cells and increased hematocrit during acclimatization to normobaric hypoxia (10% O<sub>2</sub>) [24]. We also confirmed the remodeling of the pulmonary vasculatures after 28 days of normobaric hypoxia; namely, the vascular wall of the small pulmonary artery (<50  $\mu\text{m}$  in diameter) was noticeably thickened in the hypoxia-exposed mice (data not shown). The thickening of the small pulmonary artery is a well-known feature of the muscularized artery, associated with pulmonary hypertension [31]. These results indicate that hemodynamic stress has been generated under normobaric hypoxia employed in the present study.

Using the same model of the normobaric hypoxia, we analyzed the expression profiles of L-PGDS mRNA and protein in the heart and the testis (Fig. 1). The testis, enriched with L-PGDS, was included as a positive control for Northern and Western blot analyses. The expression of L-PGDS mRNA in the heart tended to increase under hypoxia and reached the higher levels after 14 days, compared with the control level on 1 day under normoxia and with the level of age-matched control mice kept under normoxia (Fig. 1A). Likewise, the expression levels of L-PGDS protein were increased in the heart after 14 days of hypoxia (Fig. 1B). The time-dependent change in L-PGDS protein level is largely paralleled with that in L-PGDS mRNA level. In contrast, there were no significant changes in the expression levels of L-PGDS mRNA and protein in the testis during hypoxia (Fig. 1C and D). These results suggest that the induction of L-PGDS expression in the heart may be a consequence of hemodynamic stress generated by chronic hypoxemia. The increased expression of L-PGDS in the heart may reflect the

adaptation to the pressure overload. It should be noted that a certain amount of L-PGDS protein might be secreted into circulation, as reported in angina patients [10,12]. Incidentally, the time-dependent increase in L-PGDS protein parallels to the induction of HO-1 mRNA and protein in the heart under normobaric hypoxia [24].

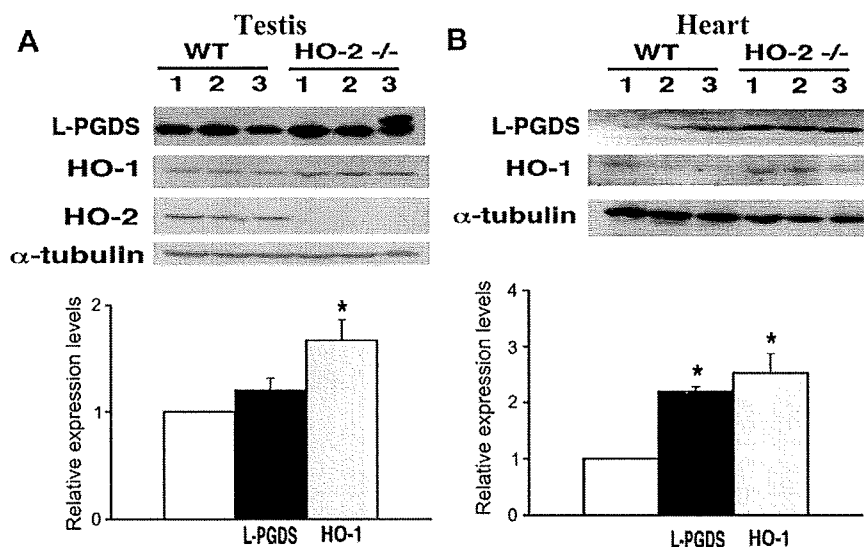
### Immunohistochemical analysis of L-PGDS in the myocardium

To identify the localization of L-PGDS in the heart, we performed the immunohistochemical analysis. L-PGDS is localized in the myocardium of the auricles and ventricles (Fig. 2). After 28 days of hypoxia, L-PGDS was increased in the left and right auricles (Fig. 2A and B) and ventricular myocardial cells (Fig. 2C and D). However, we were unable to detect the difference in the expression levels of L-PGDS between left and right ventricles.

Moreover, the immunoreactive L-PGDS was increased in the pulmonary venous myocardium after 28 days of normobaric hypoxia, compared with the normoxia-exposed mice (Fig. 3). It is noteworthy that L-PGDS is increased in the pulmonary venous myocardial cells. The pulmonary venous myocardium represents the extension of atrial myocardium into the vascular wall of the pulmonary vein [32,33]. These results suggest that the pulmonary vein is not a simple conduit but is rather actively involved in the regulation of pulmonary circulation. In contrast, expression of L-PGDS protein was not detectable in the alveolar architectures (Fig. 3) and the pulmonary artery (data not shown).

### Increased expression level of L-PGDS in the heart of HO-2<sup>-/-</sup> mice

To explore the mechanism for the induction of L-PGDS expression in the heart during hypoxia, we analyzed its expression in HO-2<sup>-/-</sup> mice, a model of chronic hypoxemia [17]. HO-2<sup>-/-</sup> mice, maintained under normoxia, manifest mild hypoxemia and blunted hypoxic ventilatory responses, suggesting the impaired function of oxygen sensing. In addition, HO-2<sup>-/-</sup> mice exhibit the hypertrophy of the pulmonary venous myocardium [17], which re-



**Fig. 4.** Increased expression level of L-PGDS protein in the heart of HO-2<sup>-/-</sup> mouse. Tissue extracts were prepared from the testis (A) and the heart (B) of wild-type mouse (WT) and HO-2<sup>-/-</sup> mouse (HO-2<sup>-/-</sup>), and analyzed by Western blot analysis with anti-mouse L-PGDS antibody, anti-HO-1 antibody or anti-HO-2 antibody (top panel,  $n = 3$ ). Each lane contains 20  $\mu\text{g}$  protein. Note that HO-2 protein was undetectable in the HO-2<sup>-/-</sup> mouse testis. To normalize the expressions levels of L-PGDS and HO-1 proteins, the same filter was used for anti- $\alpha$ -tubulin antibody. The intensity of the signals in the Western blot was normalized with respect to the intensity for  $\alpha$ -tubulin. The relative expression level of L-PGDS or HO-1 protein indicates the ratio of each normalized value to that of L-PGDS or HO-1 protein in the wild-type mouse (open column). Asterisks represent significant difference compared to the respective control ( $p < 0.05$ ).

flects adaptation to persistent hypoxemia [31,32]. Moreover, expression of HO-1 protein is increased in the thickened pulmonary venous myocardium of HO-2<sup>-/-</sup> mice [17].

Consequently, using HO-2<sup>-/-</sup> mice as a model of chronic hypoxemia, we analyzed the expression of L-PGDS protein in the heart by Western blot analysis. HO-2 protein was undetectable in the tissue extracts from the testis of HO-2<sup>-/-</sup> mouse (Fig. 4A). Moreover, HO-1 protein was higher in the testis of HO-2<sup>-/-</sup> mice, compared to the level in wild-type mice, as reported previously [17]. These results confirm the identity of the HO-2<sup>-/-</sup> mouse. The expression level of L-PGDS protein was similar in the testis between HO-2<sup>-/-</sup> and wild-type mice, except for the L-PGDS protein of larger size, seen in one sample of HO-2<sup>-/-</sup> testis, which may be due to the different degree of glycosylation [4]. In contrast, the level of L-PGDS protein was increased twofold in the HO-2<sup>-/-</sup> heart (Fig. 4B). Moreover, the level of HO-1 protein was higher in the heart of HO-2<sup>-/-</sup> mice by more than twofold, compared to the level in wild-type mice (Fig. 4B), which may reflect the presence of hypoxemia in HO-2<sup>-/-</sup> mice. In fact, we reported that HO-1 protein was increased twofold in the mouse heart after acclimatization to normobaric hypoxia [24]. These results also support our proposal that the expression of L-PGDS is induced in the heart by hemodynamic stress.

It has been reported that shear stress induces transcription of the L-PGDS gene [13,14]. Taken together with the present study, we propose that L-PGDS expression is induced in the myocardium to cope with hemodynamic stress that is generated by hypoxemia.

#### Acknowledgments

The authors are grateful to Dr. Takayuki Masuda for encouragements and helpful discussion during early phase of the present study. This study was supported in part by Grants-in-Aid for Scientific Research (B) from the Ministry of Education, Science, Sports, and Culture of Japan.

#### References

- [1] J.P. Dumas, M. Bardou, F. Goirand, M. Dumas, Hypoxia pulmonary vasoconstriction, *Gen. Pharmacol.* 33 (1999) 289–297.
- [2] J.L. Wright, R.D. Levy, A. Churg, Pulmonary hypertension in chronic obstructive pulmonary disease: current theories of pathogenesis and their implication for treatment, *Thorax* 60 (2005) 605–609.
- [3] S. Shibahara, F. Han, B. Li, K. Takeda, Hypoxia and heme oxygenases: oxygen sensing and regulation of expression, *Antiox. Redox Signal.* 9 (2007) 2209–2225.
- [4] Y. Urade, O. Hayaishi, Biochemical, structural, genetic, physiological, and pathophysiological features of lipocalin-type prostaglandin D synthase, *Biochim. Biophys. Acta* 1482 (2000) 259–271.
- [5] C.T. Beuckmann, M. Aoyagi, I. Okazaki, T. Hiroike, H. Toh, O. Hayaishi, Y. Urade, Binding of biliverdin, bilirubin, and thyroid hormones to lipocalin-type prostaglandin D synthase, *Biochemistry* 38 (1999) 8006–8013.
- [6] M. Ujihara, Y. Urade, N. Eguchi, H. Hayashi, K. Ikai, O. Hayaishi, Prostaglandin D<sub>2</sub> formation and characterization of its synthetases in various tissue of adult rats, *Arch. Biochem. Biophys.* 260 (1988) 521–531.
- [7] B. Blodorn, M. Mader, Y. Urade, O. Hayaishi, K. Felgenhauer, W. Bruck, Choroid plexus: the major site of mRNA expression for the beta-trace protein (prostaglandin synthase) in human brain, *Neurosci. Lett.* 209 (1996) 117–120.
- [8] C.T. Beuckmann, W.C. Gordo, Y. Kanaoka, N. Eguchi, V.L. Marcheselli, D.Y. Geraschenko, Y. Urade, O. Hayaishi, N.G. Bazan, Lipocalin-type prostaglandin D synthase (beta-trace) is located in pigment epithelial cells of rat retina and accumulate within interphotoreceptor matrix, *J. Neurosci.* 16 (1996) 6119–6124.
- [9] K. Takeda, S. Yokoyama, H. Aburatani, T. Masuda, F. Han, M. Yoshizawa, N. Yamaki, H. Yamamoto, N. Eguchi, Y. Urade, S. Shibahara, Lipocalin-type prostaglandin D synthase as a melanocyte marker regulated by MITF, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 339 (2006) 1098–1106.
- [10] Y. Eguchi, N. Eguchi, H. Oda, K. Seiki, Y. Kijima, Y. Matsuura, Y. Urade, O. Hayaishi, Expression of lipocalin-type prostaglandin D synthase (beta-trace) in human heart and its accumulation in the coronary circulation of angina patients, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94 (1997) 14689–14694.
- [11] R.L. Gerena, D. Irikura, Y. Urade, N. Eguchi, D.A. Chapman, G.L. Killian, Identification of a fertility-associated protein in bull seminal plasma as lipocalin-type prostaglandin D synthase, *Biol. Reprod.* 58 (1998) 826–833.
- [12] Y. Urade, Y. Eguchi, N. Eguchi, Y. Kijima, Y. Matsuura, H. Oda, K. Seiki, O. Hayaishi, Secretion of lipocalin-type prostaglandin D synthase (beta-trace) from human heart to plasma during coronary circulation, *Adv. Exp. Med. Biol.* 469 (1999) 49–54.
- [13] Y. Taba, T. Sasaguri, M. Miyagi, T. Abumiya, Y. Miwa, T. Ikeda, M. Mitsumata, Fluid shear stress induces lipocalin-type prostaglandin D (2) synthase expression in vascular endothelial cells, *Circ. Res.* 86 (2000) 967–973.
- [14] M. Miyagi, Y. Miwa, F. Takahashi-Yanaga, S. Morimoto, T. Sasaguri, Activator protein-1 mediates shear stress-induced prostaglandin D synthase gene expression in vascular endothelial cells, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 25 (2005) 970–975.
- [15] I.M. Robbins, R.J. Barst, L.J. Rubin, S.P. Gaine, P.V. Price, J.D. Morrow, B.W. Christman, Increased levels of prostaglandin D<sub>2</sub> suggest macrophage activation in patients with primary pulmonary hypertension, *Chest* 120 (2001) 1639–1644.
- [16] A. Barceló, M. de la Peña, F. Barbé, J. Pierola, M. Bosch, A.G.N. Agustí, Prostaglandin D synthase (beta trace) levels in sleep apnea patients with and without sleepiness, *Sleep Med.* 8 (2007) 509–511.
- [17] T. Adachi, K. Ishikawa, W. Hida, H. Matsumoto, T. Masuda, F. Date, K. Ogawa, K. Takeda, K. Furuyama, Y. Zhang, T. Kitamuro, H. Ogawa, Y. Maruyama, S. Shibahara, Hypoxemia and blunted hypoxic ventilatory responses in mice lacking heme oxygenase-2, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 320 (2004) 514–522.
- [18] P. Ortega-Saenz, A. Pascual, R. Gomez-Díaz, J. Lopez-Barneo, Acute oxygen sensing in heme oxygenase-2 null mice, *J. Gen. Physiol.* 128 (2006) 405–411.
- [19] E.E. Lack, Carotid body hypertrophy in patients with cystic fibrosis and cyanotic congenital heart disease, *Hum. Pathol.* 8 (1977) 39–51.
- [20] K. Furuyama, K. Kaneko, P.D. Vargas, Heme as a magnificent molecule with multiple missions: heme determines its own fate and governs cellular homeostasis, *Tohoku J. Exp. Med.* 213 (2007) 1–16.
- [21] J. Kuesap, B. Li, S. Satarug, K. Takeda, I. Numata, K. Na-Bangchang, S. Shibahara, Prostaglandin D<sub>2</sub> induces heme oxygenase-1 in human retinal pigment epithelial cells, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 67 (2008) 413–419.
- [22] S. Satarug, R. Wisedpanichkij, K. Takeda, B. Li, K. Na-Bangchang, M.R. Moore, S. Shibahara, Prostaglandin D<sub>2</sub> induces heme oxygenase-1 mRNA expression through the DP2 receptor, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 377 (2008) 878–883.
- [23] K. Takeda, N.-H. Takahashi, S. Shibahara, Neuroendocrine functions of melanocytes: beyond the skin-deep melanin maker, *Tohoku J. Exp. Med.* 211 (2007) 201–221.
- [24] F. Han, K. Takeda, S. Yokoyama, H. Ueda, Y. Shinozawa, K. Furuyama, S. Shibahara, Dynamic changes in expression of heme oxygenases in mouse heart and liver during hypoxia, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 338 (2005) 653–659.
- [25] K.D. Poss, M.J. Thomas, A.K. Ebraldize, T.J. O'Dell, S. Tonegawa, Hippocampal long-term potentiation is normal in heme oxygenase-2 mutant mice, *Neuron* 15 (1995) 867–873.
- [26] D. Katayose, S. Ioyama, H. Fujita, S. Shibahara, Separate regulation of heme oxygenase and heat shock protein 70 mRNA expression in the rat heart by hemodynamic stress, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 191 (1993) 587–594.
- [27] E. Hara, K. Takahashi, T. Tominaga, T. Kumabe, T. Kayama, H. Suzuki, H. Fujita, T. Yoshimoto, K. Shirato, S. Shibahara, Expression of heme oxygenase and inducible nitric oxide synthase mRNA in human brain tumors, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 224 (1996) 153–158.
- [28] S. Shibahara, M. Yoshizawa, H. Suzuki, K. Takeda, K. Meguro, K. Endo, Functional analysis of cDNAs for two types of human heme oxygenase and evidence for their separate regulation, *J. Biochem.* 113 (1993) 214–218.
- [29] M. Taniike, I. Mohri, N. Eguchi, C.T. Beuckmann, K. Suzuki, Y. Urade, Perineuronal oligodendrocytes protect against neuronal apoptosis through the production of lipocalin-type prostaglandin D synthase in genetic demyelinating model, *J. Neurosci.* 22 (2002) 4885–4896.
- [30] Y. Masuya, K. Hioki, R. Tokunaga, S. Taketani, Involvement of the tyrosine phosphorylation pathway in induction of human heme oxygenase-1 by hemin, sodium arsenite, and cadmium chloride, *J. Biochem. (Tokyo)* 124 (1998) 628–633.
- [31] A. Keegan, I. Morecroft, D. Smillie, M.N. Hicks, M.R. MacLean, Contribution of the 5-HT(1B) receptor to hypoxia-induced pulmonary hypertension: converging evidence using 5-HT(1B)-receptor knockout mice and the 5-HT(1B/1D)-receptor antagonist GR127935, *Circ. Res.* 89 (2001) 1231–1239.
- [32] D. Jarkovska, B. Ostadal, Intermittent high altitude hypoxia-induced structural changes in the pulmonary myocardium in young mice, *Virchows Arch. B Cell Pathol.* 43 (1983) 327–336.
- [33] C.A. Wagenvoort, N. Wagenvoort, Pulmonary venous changes in chronic hypoxia, *Virchows Arch. A Pathol. Anat. Histol.* 372 (1976) 51–56.

## ACOUSTIC CHARACTERISTICS OF ULTRASOUND IN WATER CONTAINING LIPID MICROBUBBLES

R. Imai, H. Nakagawa, T. Kanagawa, M. Watanabe and S. Fujikawa\*

Division of Mechanical and Space Engineering,  
Graduate School of Engineering, Hokkaido University, Sapporo, 060-8628, Japan

**ABSTRACT.** The resonant frequencies of lipid bubbles are measured from attenuation of ultrasound pulse propagating through the test cell filled with normal saline or lipid bubble solution. The attenuation spectrum has two dominant peaks in the frequency range of 0 through 15 MHz due to the energy absorption by lipid bubble resonant oscillations. The two peaks of attenuation spectrum are observed near the bands of 1.4 MHz and 11.5 MHz, respectively. The peaks of attenuation spectrum decrease with the decrease in the concentration of the lipid bubble solution. Furthermore, the strong attenuation is confirmed to be hardly affected by the length through the lipid bubbles. We conclude that the two peaks in the attenuation spectrum obtained are related to the effect of the existence of lipid bubbles.

**Keywords:** *Ultrasound, Lipid microbubble, Drug delivery system*

### INTRODUCTION

Bubbles have been widely used in various fields, for instance, from marine engineering to medical engineering. One of the most characteristic features observed in the practical bubble application is a wide range of bubble diameter. Diameters of bubbles are of the order of millimeters when bubbles are used for the drag reduction of large vessel. On the other hand, they are of the order of nanometers when bubbles are used for clinical applications such as the contrast agents.

In the field of medical engineering, the application of bubbles to Drug Delivery System (DDS) has attracted great attention as the administration of next generation. DDS with bubbles of nanometer size is expected to be a noninvasive clinical treatment. Capsules of nanometer size, which contain exogenous gene such as anticancer drug, are administered in blood. These capsules are transported to target sites and impregnate in the disorder cells efficiently.

There exist bubbles wrapped in biomedical materials, i.e., lipid. The lipid bubbles are used as the transport carrier of DDS. However, dynamic properties of these lipid bubbles are not yet made clear. DDS with lipid bubbles uses actively the resonance of bubbles in order to increase the efficiency of gene injection in the disordered cell, because oscillations of lipid bubbles are easily excited with sufficiently small driving forces at resonant conditions.

In this study, acoustic characteristics of lipid bubbles are experimentally investigated in the vicinity of the resonance. The resonant frequencies of lipid bubbles are evaluated by measuring the attenuation of the propagating broadband ultrasound waves through the water containing lipid bubbles.

\* Corresponding author: Prof. S. Fujikawa  
Phone: + (81)-11-706-6429, Fax: + (81)-11-706-6429  
E-mail address: fujikawa@eng.hokudai.ac.jp

## EXPERIMENTAL METHOD

### Lipid bubble

We use lipid bubbles in a liquid. A lipid bubble is composed of a kind of shell made of lipid layer, in which both gas and liquid are contained. The lipid bubble is made from a liposome. Figure 1 shows schematic diagrams of a lipid bubble. The liposome used in the present experiment is first made of lipid with DSPC (DiStearoyl Phosphatidyl Choline) and then modified by PEG (PolyEthen Glycol Distearate). With the treatment, the liposome can exist stably in blood. The liposome becomes easily incorporated with ligand that is able to bind disease-related markers on bubble surfaces.

The liposome is produced by the reverse phase evaporation method. The inside of liposome produced by this method is liquid phase (Figure 1 (a)); hence liquid should be replaced by  $C_3F_8$  (Perfluorocarbon) gas (Figure 1 (b)). The  $C_3F_8$  gas is first injected into a glass receptacle containing a liposome solution, and then the receptacle is wobbled using an ultrasonic cleaner (Ultrasound cleaner 2510-J-DTH, Branson Co., Ltd.) until the solution in the receptacle becomes opaque. As shown in Figure 1 (b), it is supposed that replacement from the contained liquid to the gas within the liposome is attained by micelle formation inside the liposome [1]. The  $C_3F_8$  gas enables lipid bubbles containing this gas to be used as an ultrasound contrast agent [2]. It is also necessary to equalize the size distribution of lipid bubbles by using the 20 kHz ultrasound probe. The lipid bubbles with larger diameters are assumed to be destroyed by this procedure. Figure 2 shows the distribution of lipid bubble diameter.

The solution containing lipid bubbles is diluted with the PBS (Phosphate Buffered Saline), and thus, solutions of different concentrations are obtained. The stock solution of lipid bubbles before diluted contains DSPC of 1 mg in its 1 ml. In this study, lipid bubble solutions with the concentration of 1000 ppm, 1333 ppm, 2000 ppm, and 4000 ppm are used. The experimental test cell which is the container made of the Polyvinylidene Chloride film (Saran Wrap, Asahi Kasei Co., Ltd.) is filled with lipid bubble solution. Ultrasound passes through this film.

Figure 3 shows the scanning electron micrograph of the liposome.

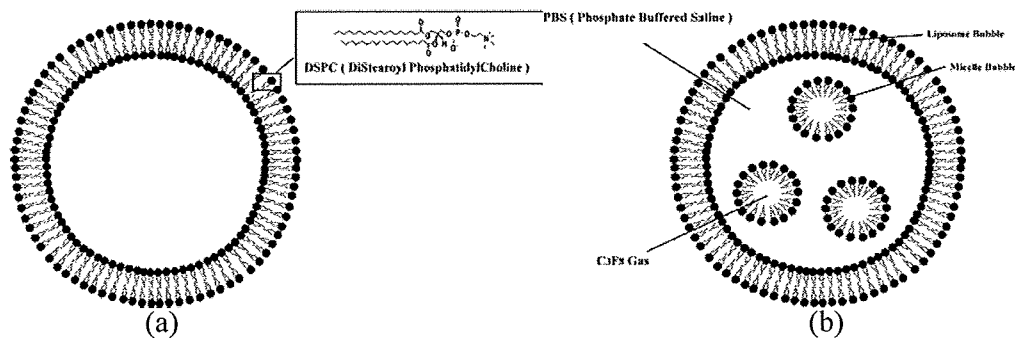


Figure 1. Schematic diagrams of a lipid bubble: (a) before gas replacement, (b) after gas replacement of liquid phase inside a liposome.

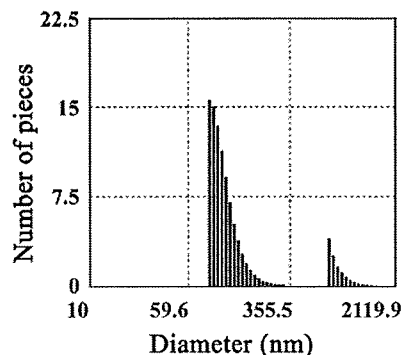


Figure 2. Distribution of lipid bubble diameter.

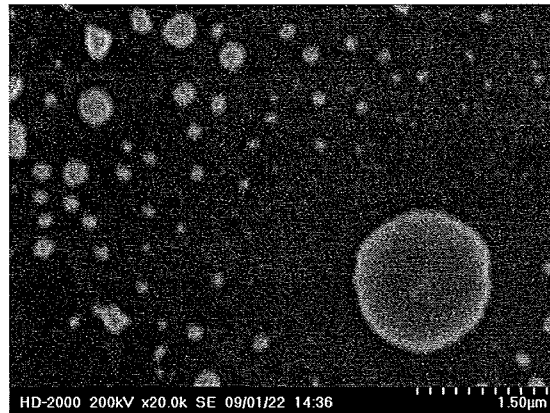


Figure 3. The scanning electron micrograph of the liposome.

## Experimental apparatus and method

### *Experimental apparatus*

Figure 4 shows the experimental apparatus, which is similar to that used by Hoff et al. [3]. This apparatus consists of a pulser/receiver, a coaxial cable relay for selecting transducers, four transducers (Panametrics Videoscan V306-SU, V382-SU, V326-SU and V312-SU), and a digital oscilloscope (LeCroy9410, LeCroy Co., Ltd.). The pulser/receiver and oscilloscope were connected to a PC.

Central frequencies of four types of broadband ultrasound transducers are 2.25MHz, 3.5MHz, 5.0MHz, and 10.0MHz, respectively. The four transducers are unfocused, 2.25 MHz with 13 mm aperture diameter, 3.5 MHz with 13 mm aperture, 5.0 MHz with 10 mm aperture, and 10.0 MHz with 6 mm aperture diameter. They are mounted in parallel in a water tank made of acrylic.

The test cell is filled with normal saline or the diluted lipid bubble solution. The lengths of the cell are 31.5 mm or 15.0 mm, and the distances from transducers to the experimental cell are 100 mm. The back wall of the water tank acts as an acoustic reflector, and is placed 150 mm from the transducer faces as shown in Figure 4. This acoustic reflector is made of steel.

### *Experimental method*

The transducers are excited by the pulser which sends broadband ultrasound short pulses at 50 pulses per second. These pulses propagate through the experimental cell containing a lipid bubble solution separated from the ambient water by a very thin plastic film. These pulses are reflected at the back wall of the water tank, and then received by the transducer again. That is, the pulses pass through the cell twice; hence the total sound path lengths through the cells of 31.5 mm and 15.0 mm become 63.0 mm and 30.0 mm, respectively. The received pulses are amplified by the receiver and transferred to the oscilloscope. The oscilloscope is set to display only the reflection off the back wall of the chamber. The pulses are digitized in the oscilloscope at a sampling rate of 20 GS/s, and transferred to PC.

Signal processing of the received pulses is carried out using MATLAB software (The Math Works, Inc., Natick, MA). The power spectra are calculated by the Fast Fourier Transformation of received pulses in the cases of with and without lipid bubbles in the cell, respectively. Figure 5 shows an example of received pulses and their power spectra, without and with lipid bubbles in the cell with 31.5 mm in length. The attenuation spectra are calculated by the normalization, i.e., dividing the difference of power spectra both with and without lipid bubbles by the total sound path length through the cell, which is either 63.0 mm or 30.0 mm.

The evaluation ranges of broadband ultrasound transducers are from 1.4 to 3.0MHz, from 2.0 to 5.0MHz, from 3.0 to 8.0MHz, and from 6.0 to 14.0MHz, respectively, which correspond to their central frequencies 2.25MHz, 3.5MHz, 5.0MHz, and 10MHz. The overlaps of the curves obtained by different transducers assure the consistency of the experiment.

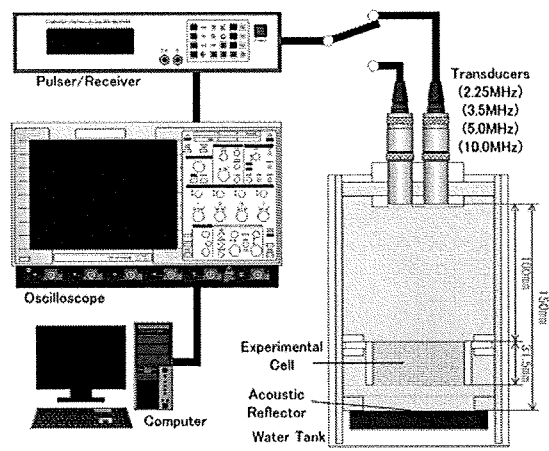


Figure 4. Schematic of the experimental apparatus.

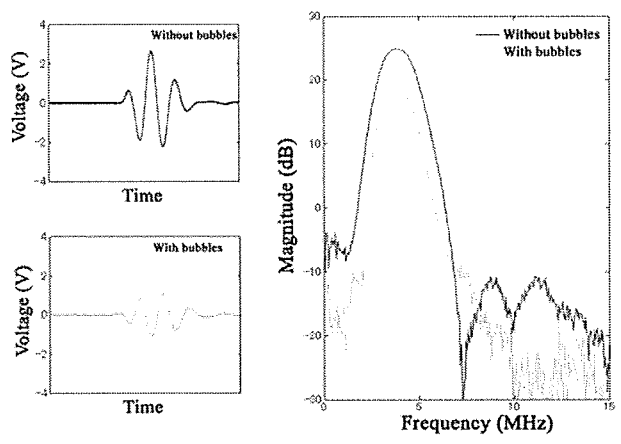


Figure 5. An example of received pulses and their power spectra measured with 3.5 MHz transducer. The left diagrams show received pulses passed through the cell twice: The upper and lower figures shows received pulses without and with lipid bubbles, respectively. The right diagram shows their power spectra, without and with lipid bubbles in the experimental cell.

## RESULTS

First, we measured power spectra both with and without lipid bubbles, and calculated the attenuation spectrum, which is defined as the division of the difference between them by the total sound path length through the experimental cell, with both acoustic energy and the path length of the experimental cell fixed as 100  $\mu$ J and 31.5 mm, respectively. The attenuation spectrum, which is used as the index of the difference of the acoustic characteristics between with and without lipid bubbles, is shown in Figure 6 in the case of the lipid bubble solution concentration of 1333 ppm.

Figure 6 is a typical example of the attenuation spectrum. It should be emphasized that, in this frequency range (0-15 MHz), this attenuation spectrum has two peaks. The larger attenuation is observed around the frequency of 1.4 MHz, the other is observed around the frequency of 11.5 MHz. It is understood that the existence of these peaks in the attenuation spectrum is due to the acoustic energy absorption by the lipid bubbles with resonant oscillations; hence the resonant frequencies of the solution of lipid bubbles are evaluated as approximately around the frequencies of 1.4 MHz and 11.5 MHz. These two peaks should be closely related with the distribution characteristics of the lipid bubble diameter, as already shown in Figure 2. Thereafter, these two peaks of the attenuation spectrum are discussed in the context of the acoustic characteristics of the lipid bubbles.

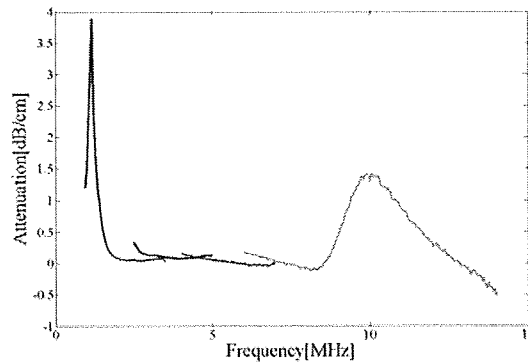


Figure 6. Acoustic attenuation spectra: with acoustic energy of 100  $\mu$ J, cell thickness of 31.5 mm, concentration of 1333 ppm.

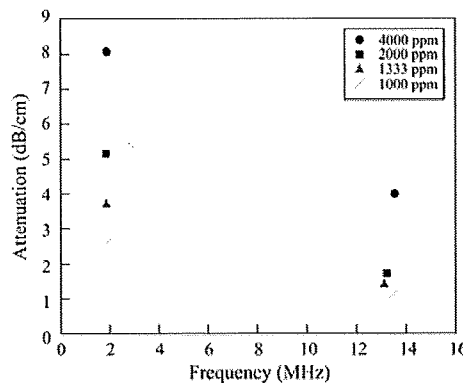


Figure 7. Peak attenuation with acoustic energy of 100  $\mu$ J, cell thickness is 31.5 mm, concentrations of 1000 ppm, 1333 ppm, 2000 ppm, and 4000 ppm.

Figure 7 shows the effects of concentration of the lipid bubble solution on the magnitudes of the attenuation at the two peaks of the attenuation spectrum. Here, the acoustic energy and the length of the experimental cell are fixed as 100  $\mu$ J and 31.5 mm, as before. Four types of lipid bubble solutions with the concentration of 1000 ppm, 1333 ppm, 2000 ppm, and 4000 ppm are used. It should be noted that the magnitudes of the attenuation at both of the two peaks decrease with the decrease in the concentration of the lipid bubble solution. The concentration of the solution is proportional to number of lipid bubbles per unit volume, and consequently to the amount of energy absorbed by the resonant frequencies of the lipid bubbles.

In order to discuss the effects of the total sound path length, we compare the attenuation spectra obtained by using two cells with different lengths of 31.5 mm and 15.0 mm, respectively. Figure 8 shows the effects of cell length on the magnitude of the attenuation at the two peaks of the attenuation spectrum, in the case that the acoustic energy is 100  $\mu$ J and the concentration of the lipid bubble solution is 2000 ppm. There exist little influences of the difference in the cell length; hence the magnitude of the attenuation peak is independent of the total path length through the lipid bubble solution.

As has been already discussed, the two dominant peaks in the attenuation spectrum obtained by this experiment are related to the resonance of the lipid bubbles. A resonant frequency increases with the decrease in the diameter of bubbles. Therefore, the resonant frequency observed in the vicinity of 1.4 MHz and 11.5 MHz may be contributed by lipid bubbles with diameter of 1.5  $\mu$ m of 200 nm, respectively. It should be noted that this discussion should be improved by incorporating the multiple bubble effects.



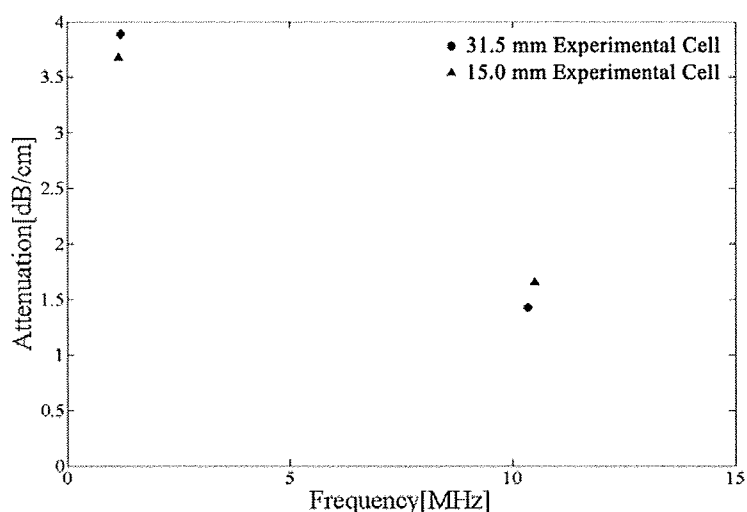


Figure 8. Acoustic attenuation spectra with acoustic energy of 100  $\mu$ J concentration of 1333 ppm, cell thickness of 31.5 mm and 15.0 mm.

## CONCLUSIONS

We have experimentally studied the resonant frequencies of the lipid bubbles and obtained the following results:

(1) The attenuation spectrum, which is defined as the division of the difference of power spectra between with and without lipid bubbles by the total sound path length through the experimental cell, has two dominant peaks.

(2) The strong attenuations are observed at two different frequencies, around 1.4 MHz and 11.5 MHz, respectively.

(3) The strong attenuation decreases with the decrease in the concentration of the lipid bubble solution.

(4) The strong attenuation is independent of the path length through the lipid bubbles.

## ACKNOWLEDGEMENTS

This work was carried out by the aid of Research on Advanced Medical Technology, Ministry of Health, Labor and Welfare (H19-nano-010). The authors would like to express their deepest gratitude towards this grant. Authors would also like to express their gratitude for the help of Hokkaido Innovation through NanoTechnology Support (HINTS, Nanotechnology Network Project Supported by the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology).

## REFERENCES

1. Suzuki, R., Oda, Y., Namai, E., Takizawa, T., Negishi, Y., Utoguchi, N., Tachibana, K., and Maruyama, K., Development of Site Specific Gene Delivery System with Sonoporation, *J. Pharm. Soc. Jpn.*, Vol. 128, No. 2, pp 187-192, 2008.
2. Maruyama, K., Suzuki, R., Takizawa, T., Utoguchi, N., and Negishi, Y., Drug and Gene Delivery by "Bubble Liposomes" and Ultrasound, *J. Pharm. Soc. Jpn.*, Vol. 127, No. 5, pp 781-787, 2007.
3. Hoff, L., Sontum, P. C., and Hovem, J. M., Oscillations of Polymeric Microbubbles: Effect of the Encapsulating Shell, *J. Acoust. Soc. Am.*, Vol. 107, No. 4, pp 2272-2280, 2000.

# 脂質気泡群を含む液体中を伝播する超音波の音響特性

## Acoustic Characteristics of Ultrasound Propagating in Liquid Containing Lipid Bubbles

○学 今井 亮介 (北大院) 学 中川 浩哉 (北大院) 学 桜井 康介 (北大院)

正 渡部 正夫 (北大工) 正 藤川 重雄 (北大工)

Ryosuke IMAI, Hokkaido University, N13-W8, Kita-ku, Sapporo, Hokkaido 060-8628

Hiroya NAKAGAWA, Hokkaido University

Kousuke SAKURAI, Hokkaido University

Masao WATANABE, Hokkaido University,

Shigeo FUJIKAWA, Hokkaido University

In the field of medical engineering, the application of bubbles of nanometer size to Drug Delivery System (DDS) has attracted great attention as the administration of next generation. DDS with bubbles is expected to be a noninvasive clinical treatment. As the transport carrier of DDS, there exists bubble encapsulated in a lipid bilayer, generally called as a lipid bubble. However, dynamic properties of these lipid bubbles are not yet made clear. In this study, acoustic characteristics of lipid bubbles are experimentally investigated. The resonant frequencies of lipid bubbles are evaluated from attenuation of ultrasound pulse propagating through the experimental cell filled with lipid bubble solution. It is found that the attenuation spectrum has two dominant peaks in the frequency range of 1.0 through 14.0 MHz due to the acoustic energy absorbed by lipid bubble with resonant oscillations.

*Key Words:* Ultrasound, Lipid bubble, Drug delivery system

### 1. 序論

気泡を利用した技術は様々な分野で広く用いられているが、特に医療工学分野においては、次世代の投薬形態として注目されている Drug Delivery System (DDS) への応用が期待されている。DDS とは、ナノスケールのカプセルに抗がん剤などの外因性遺伝子を封入し、血液中に投与して標的部位のみに到達・集積させ、効率良く薬剤を疾患細胞へ浸透させる非侵襲的医療技術<sup>[1]</sup>である。

DDS の輸送媒体として、脂質膜を殻に持つ微細気泡(脂質気泡)がある。このとき、脂質気泡の役割として、薬物の内包、患部への運搬、患部での薬物放出がある。しかし、これらの重要な役割を担う脂質気泡の力学的特性に関して未解明な点が多い。脂質気泡は、気泡の共振周波数を含む広帯域の超音波を照射すると共振するという特性をもつ。この性質を利用することで、外部からの超音波エネルギーが小さくても大きな振動を引き起こすことができるため、非侵襲的に疾患細胞への遺伝子導入を効率良くすることができると考えられている。

本研究では、気泡の共振の性質に着目し、脂質気泡の基本的な特性を解明するために、脂質気泡の音響特性を明らかにすることを目的としている。液体中において脂質気泡群に広帯域周波数の超音波を照射し、気泡の存在による音波の減衰を解析することで、脂質気泡の共振周波数を考察する。

### 2. 実験装置および実験方法

本研究では、脂質気泡としてリポソームを使用した。Fig.1 は、リポソーム模式図を示す。本実験で使用するリポソームは逆相蒸発法で作成され、リン脂質二重膜からなる形状を持ち、内部が PBS (Phosphate Buffered Saline) で満たされている。リポソームは血中安定性・滞在性に優れ、標的志向性を容易に付加可能な気泡である。脂質気泡は、リポソーム内部の液相を  $C_3F_8$  ガスで置換することにより得る。 $C_3F_8$  ガスは高輝度ガスであるため、これを封入する事で、超音波造影剤としても用いる事が可能になる<sup>[2]</sup>。脂質気泡の径分布を Fig.2 に示す。このようにして内部がガス

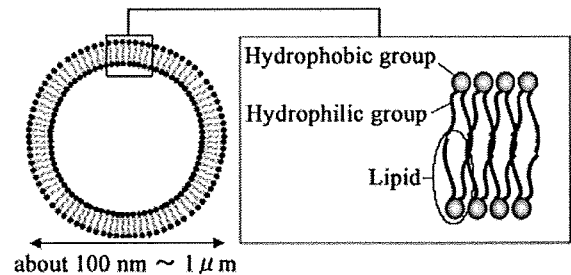


Fig.1 Schematic diagram of a lipid bubble.

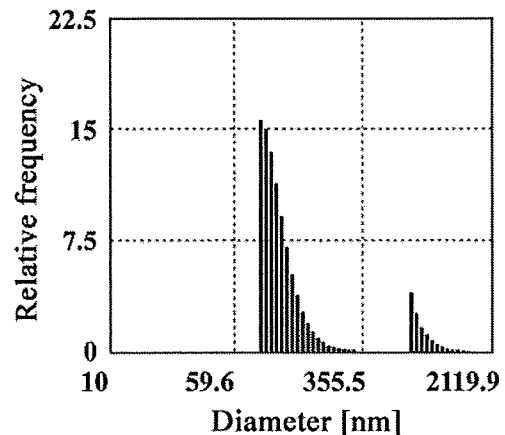


Fig.2 Distribution of lipid bubble diameter.

で満たされた脂質気泡を含んだ懸濁液を PBS で希釈し、異なる濃度の脂質気泡群水溶液を得た。本実験では、脂質濃度は 0.0010 mg/ml, 0.0013 mg/ml, 0.0020 mg/ml, 0.0040 mg/ml とした。

実験装置模式図を Fig.3 に示す。本実験装置は、Hoff ら<sup>[3]</sup>の実験装置を参考にした。主に Pulsar/Receiver, Transducer, Experimental cell, Oscilloscope, Water tank から構成される。Transducer は広帯域の超音波を発信し、異なる中心周波数

2.25 MHz, 3.5 MHz, 5.0 MHz, 10.0 MHz の4つを用いることにより 1.0~14.0 MHz の周波数範囲について評価する。Experimental cell は幅 66 mm, 奥行き 40 mm の長方形断面であり, ポリ塩化ビニリデンフィルムを超音波通過膜とする。Experimental cell の高さは 31.5 mm である。Transducer 表面より Experimental cell 前面までの距離は 100 mm, Water tank 後方の反射壁 (Steel) までの距離は 150 mm である。

実験方法を以下に述べる。Transducer は Pulser/Receiver によって励起され, パルス波を発信する。パルス波は Water tank 内の PBS 中を伝播し, Experimental cell を通過する。反射壁で反射したパルス波は, 再度 Experimental cell を通過し, Transducer によって受信される。受信波は Pulser/Receiver で増幅され, Oscilloscope 上でデジタル化される。受信波の周波数解析には MATLAB を使い, 高速フーリエ変換することによりパワースペクトルを求めた。Experimental cell 中が PBS のみの場合と, 脂質気泡群水溶液の場合との2つのパワースペクトルの差を Experimental cell を通過した長さ (6.3 cm) で割ることにより, 脂質気泡の存在による減衰スペクトルを算出した。

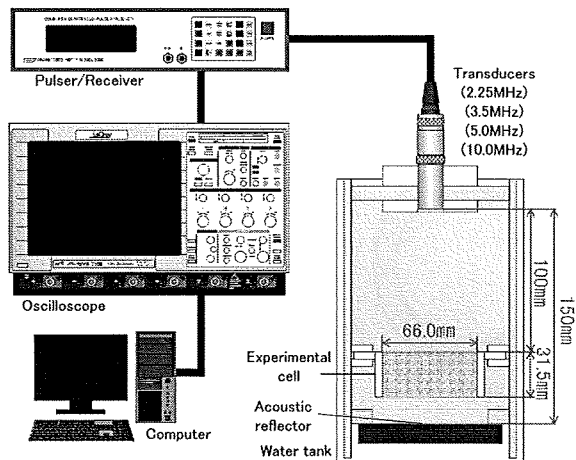


Fig.3 Schematic of the experimental apparatus.

### 3. 実験結果および考察

Fig.4 は, 脂質濃度 0.0013 mg/ml における周波数に対する減衰スペクトルの変化を示す。この図より, 減衰スペクトルはある特定の周波数でピークを持ち, そのピークは2つ存在することがわかる。1つは 1.2 MHz 付近に現れ, もう一方は 10.5 MHz 付近に現れる。気泡は, その径の関数として得られる共振周波数を持ち, この共振によりある特定の周波数のエネルギーが減衰することが知られている。それゆえ, 脂質気泡群の共振周波数は 1.2 MHz, 10.5 MHz 付近と推測できる。これは, Fig.2 に示したように, 脂質気泡の径分布において2つのピークを持つことと良い相関性がある。

Fig.5 は, 減衰スペクトルの2つのピークに及ぼす脂質濃度の影響を示す。この図より, 脂質濃度が小さくなるにつれて, どちらのピークの減衰スペクトルも小さくなっていることがわかる。これは, 脂質濃度が小さくなること, すなわち, 単位体積当たり存在する脂質気泡の数が減少することにより, 共振による脂質気泡群の吸収した超音波のエネルギーが減少したためだと考えられる。

本実験で得られた2つの強い減衰スペクトルは脂質気泡群によるものと推測できる。一般に, 気泡径が小さいほどその共振周波数は大きくなることが知られている。それゆえ, 大きい脂質気泡の共振周波数は 1.2 MHz 付近であり,

小さい脂質気泡の共振周波数は 10.5 MHz 付近であると考えられる。

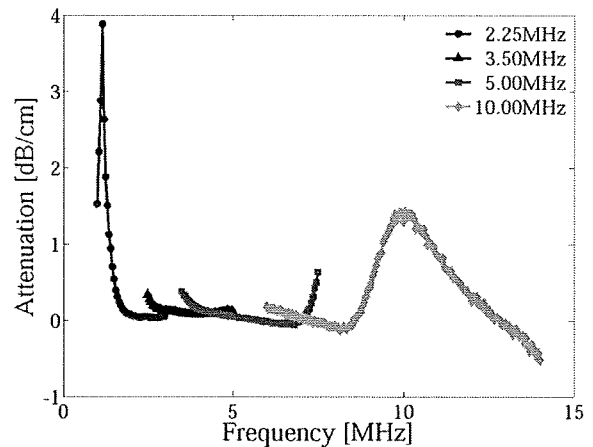


Fig.4 Attenuation spectra: concentration of 0.0013 mg/ml

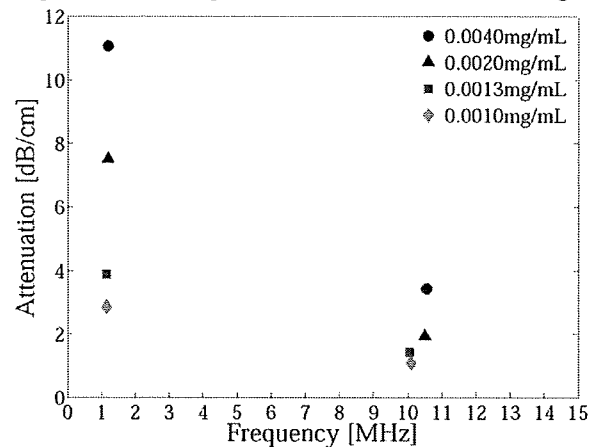


Fig.5 Effect of concentrations on peak attenuation.

### 4. 結論

本研究では, ナノスケールの脂質気泡を対象として, 脂質濃度を変化させながら減衰スペクトルの変化を実験的に調べるとともに, 脂質気泡群の共振周波数について以下のことが確認された。

- (1) 脂質気泡の存在による減衰スペクトルは, ある特定の周波数においてピークを持つ。
- (2) 音響減衰のピークは, 1.2 MHz と 10.5 MHz 付近に存在する。
- (3) 脂質濃度が薄いほど, 減衰スペクトルのピークは減少する。

### 謝辞

本研究は, 平成 21 年度厚生労働省科学研究費補助金 (医療機器開発推進研究事業: ナノメディシン研究 (H19-nano-010)) によりなされたものである。ここに記して謝意を表す。

### 参考文献

- [1] 微細気泡の最新技術, 双文社, (2006).
- [2] 丸山 一雄, 鈴木 亮, 滝澤 知子, 宇都口 直樹, 根岸 洋一, バブルリポソームと超音波を用いた薬物・遺伝子送達システム, 薬学雑誌 127(5), (2007), pp.781-787.
- [3] L.Hoff, et al., Oscillations of polymeric microbubbles: Effect of the encapsulating shell, Journal of the Acoustical Society of America, 107(4), (2000), pp.2272-2280.

## 気泡流中における準単色波の弱非線形伝播

### Weakly Nonlinear Propagation of Quasi-Monochromatic Waves in Bubbly Liquids

○ 金川 哲也, 北大工, 札幌市北区北 13 条西 8 丁目, E-mail: kanagawa@mech-me.eng.hokudai.ac.jp

矢野 猛, 阪大工, 吹田市山田丘 2-1, E-mail: yano@mech.eng.osaka-u.ac.jp

渡部 正夫, 北大工, 札幌市北区北 13 条西 8 丁目, E-mail: masao.watanabe@eng.hokudai.ac.jp

藤川 重雄, 北大工, 札幌市北区北 13 条西 8 丁目, E-mail: fujikawa@eng.hokudai.ac.jp

Tetsuya Kanagawa, Div. Mechanical & Space Engineering, Hokkaido University, Sapporo, 080-8628

Takeru Yano, Div. Mechanical Engineering, Osaka University, Suita, 565-0871

Masao Watanabe, Div. Mechanical & Space Engineering, Hokkaido University, Sapporo, 080-8628

Shigeo Fujikawa, Div. Mechanical & Space Engineering, Hokkaido University, Sapporo, 080-8628

One-dimensional nonlinear dispersive waves in a liquid containing a number of small spherical gas bubbles are theoretically studied based on a set of two-fluid averaged equations composed of the conservation laws of mass and momentum for gas and liquid phases, and the Keller equation for the bubble dynamics. The liquid compressibility is taken into account, and this leads to the wave attenuation due to bubble oscillations. By using an appropriate scaling of physical parameters and the method of multiple scales, we can derive the nonlinear Schrödinger equation with an attenuation term due to the acoustic radiation and the liquid viscosity. This equation describes a far field of a quasi-monochromatic wave train in the bubbly liquid, which evolves into a slowly modulated wave packet as a result of long range propagation of weakly nonlinear waves with the strong dispersion effect.

#### 1. はじめに

気泡を含む液体中においては、単相媒質中に比べ、音波の挙動が著しく異なる。そのひとつに、波の伝播速度が周波数あるいは波数に依存する“分散性”が挙げられる<sup>(1)</sup>。

われわれは、液体の圧縮性を考慮し、さらに気泡壁近傍の局所的高圧を記述可能な 2 流体モデルに基づく独自の気泡流の支配方程式を導出した<sup>(2)</sup>。また、これを基礎として、線形波動伝播の解析を行ってきた<sup>(2,3,4)</sup>。

弱非線形波動への拡張として、最近われわれは、周波数や波長といった代表的な物理パラメータの適切なスケールと多重尺度法を用いて、低周波数および長波長領域 (図 1 の A) が、Korteweg-de Vries-Burgers 方程式で記述されることを示した<sup>(5,6)</sup>。これは、比較的分散性の弱い領域に着目しているといえる。

本稿では、高周波数および短波長領域 (図 1 の B) に着目する。これは、前者と比較するならば、比較的分散性の強い領域に相当する。準単色波列、すなわち特定の波数および周波数まわりに狭帯域スペクトルを有する波列の弱非線形伝播過程が、液体粘性および音響放射減衰に起因する散逸項を含む非線形 Schrödinger 方程式で記述されることを示す。

このような、代表的なパラメータの場合分けと独自の方程式に基づく理論構築<sup>(5,6,7)</sup>によって、気泡流中の弱非線形波動の体系化を目指している。

#### 2. 問題の定式化

多数の微細な球形気泡を含む静止液体中における、有限振幅の 1 次元進行波問題 (平面波問題) を考える。液体の圧縮性を考慮するが、気泡内気体の粘性、液体と気体の熱伝導性、気液界面を通じた相変化、エネルギー輸送および物質輸送を無視する。

##### 2.1 支配方程式

気泡流の運動は、質量・運動量の保存則、気泡壁の運動方程式、状態方程式などによって記述される<sup>(2,3)</sup>。

まず、1 次元流れに対する気相および液相に対する質量・運動量の保存則として、Egashira らが提示した 2 流体モデルに基づく

空間平均化方程式<sup>(2)</sup>を用いる：

$$\frac{\partial}{\partial t^*}(\alpha \rho_G^* u_G^*) + \frac{\partial}{\partial x^*}(\alpha \rho_G^* u_G^{*2}) = 0, \quad (1)$$

$$\frac{\partial}{\partial t^*}[(1-\alpha)\rho_L^* u_L^*] + \frac{\partial}{\partial x^*}[(1-\alpha)\rho_L^* u_L^{*2}] = 0, \quad (2)$$

$$\frac{\partial}{\partial t^*}(\alpha \rho_G^* u_G^*) + \frac{\partial}{\partial x^*}(\alpha \rho_G^* u_G^{*2}) + \alpha \frac{\partial p_G^*}{\partial x^*} = F^*, \quad (3)$$

$$\frac{\partial}{\partial t^*}[(1-\alpha)\rho_L^* u_L^*] + \frac{\partial}{\partial x^*}[(1-\alpha)\rho_L^* u_L^{*2}] + (1-\alpha) \frac{\partial p_L^*}{\partial x^*} + P^* \frac{\partial \alpha}{\partial x^*} = -F^*, \quad (4)$$

ここに、 $t^*$  は時間、 $x^*$  は 1 次元空間座標 (波面に垂直)、 $\alpha$  は気相の体積分率 (ボイド率)、 $\rho^*$  は密度、 $u^*$  は流速、 $p^*$  は圧力であり、添え字  $G$  と  $L$  はそれぞれ気相および液相に付随する体積平均化された変数であることをあらわす (“\*”は有次元量を意味する)。

圧力に関して、気相および液相の体積平均圧力  $p_G^*$ 、 $p_L^*$  に加えて、面積平均によって定義される気液界面近傍の液相圧力  $P^*$  を導入している。なお、運動量保存則 (3)、(4) において、Reynolds 応力に対応する項と粘性応力項は無視されている。

界面での運動量輸送項  $F^*$  には、液相の圧縮性を考慮に含めた

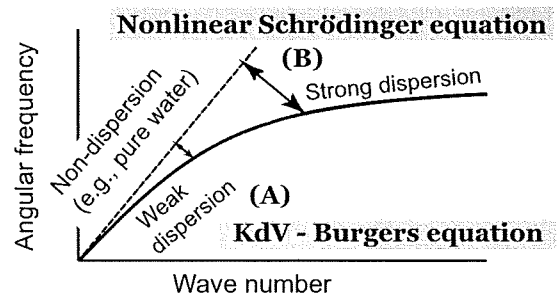


Fig. 1 Conceptual diagram of the dispersion relation<sup>(2,3,6)</sup>.

Eames らのモデル<sup>(8)</sup>を改良した付加慣性力<sup>(3)</sup>

$$F^* = -\beta_1 \alpha \rho_L^* \left( \frac{D_G u_G^*}{Dt^*} - \frac{D_L u_L^*}{Dt^*} \right) - \beta_2 \rho_L^* (u_G^* - u_L^*) \frac{D_G \alpha}{Dt^*} - \beta_3 \alpha (u_G^* - u_L^*) \frac{D_G \rho_L^*}{Dt^*}, \quad (5)$$

を用いる。付加慣性係数  $\beta_1, \beta_2, \beta_3$  は、球形気泡を扱う場合、ふつう  $1/2$  とおかれる。また、演算子  $D_G/Dt^*$  および  $D_L/Dt^*$  は、それぞれ以下のように定義される：

$$\frac{D_G}{Dt^*} \equiv \frac{\partial}{\partial t^*} + u_G^* \frac{\partial}{\partial x^*}, \quad \frac{D_L}{Dt^*} \equiv \frac{\partial}{\partial t^*} + u_L^* \frac{\partial}{\partial x^*}.$$

気泡壁の運動方程式として、圧縮性液体中における気泡の膨張・収縮運動を記述する Keller らの方程式<sup>(9)</sup>を用いる：

$$\left( 1 - \frac{1}{c_{L0}^*} \frac{D_G R^*}{Dt^*} \right) R^* \frac{D_G^2 R^*}{Dt^{*2}} + \frac{3}{2} \left( 1 - \frac{1}{3c_{L0}^*} \frac{D_G R^*}{Dt^*} \right) \left( \frac{D_G R^*}{Dt^*} \right)^2 = \left( 1 + \frac{1}{c_{L0}^*} \frac{D_G R^*}{Dt^*} \right) \frac{P^*}{\rho_{L0}^*} + \frac{R^*}{\rho_{L0}^* c_{L0}^*} \frac{D_G}{Dt^*} (p_L^* + P^*), \quad (6)$$

ここに、 $R^*$  は平均化された気泡半径であり、式(6)の右辺第2項は音響放射による気泡半径の振動の減衰の効果をあらわす。

多数の未知変数を含む方程式系(1)–(6)は、以下に示す4つの方程式を導入することによって閉じられる：(i) 気泡内気体のポルトロップ変化の関係式、

$$\frac{p_G^*}{\rho_{G0}^*} = \left( \frac{\rho_G^*}{\rho_{G0}^*} \right)^\gamma, \quad (7)$$

( $p_{G0}^*$  と  $\rho_{G0}^*$  はそれぞれ初期状態における気泡内気体の圧力および密度、 $\gamma$  はポルトロップ指数)、(ii) 液相に対する Tait の状態方程式、

$$p_L^* = p_{L0}^* + \frac{\rho_{L0}^* c_{L0}^{*2}}{n} \left[ \left( \frac{\rho_L^*}{\rho_{L0}^*} \right)^n - 1 \right], \quad (8)$$

( $p_{L0}^*$  と  $c_{L0}^*$  はそれぞれ初期状態における液相圧力および液単相音速、また水の場合  $n = 7.15$ )、(iii) 気泡内気体の質量保存則、

$$\frac{\rho_G^*}{\rho_{G0}^*} = \left( \frac{R_0^*}{R^*} \right)^3, \quad (9)$$

( $R_0^*$  は初期気泡半径)、(iv) 気液界面における力のつりあい、

$$p_G^* - (p_L^* + P^*) = \frac{2\sigma^*}{R^*} + \frac{4\mu^*}{R^*} \frac{D_G R^*}{Dt^*}, \quad (10)$$

( $\sigma^*$  は表面張力、 $\mu^*$  は液体の粘性係数)。

## 2.2 物理パラメータのスケールリング

図1のBに示す高周波数・短波長の強分散性領域を特徴づけるため、代表的な物理パラメータのスケールリングをおこなう。

波の代表的な無次元振幅  $\epsilon (\ll 1)$  を用いて、波の代表的な速さスケール  $U^*$ 、長さスケール  $L^*$ 、時間スケール  $T^*$  に対して以下

$$\frac{U^*}{c_{L0}^*} \equiv O(\epsilon^2) = V\epsilon^2, \quad (11)$$

$$\frac{R_0^*}{L^*} \equiv O(1) = \Delta, \quad (12)$$

$$\frac{\omega^*}{\omega_B^*} \equiv T^* \omega^* \equiv O(1) = \Omega, \quad (13)$$

スケールリング(13)において、代表的な時間  $T^*$  は、単一気泡の固有角振動数  $\omega_B^*$  を用いて  $T^* \equiv 1/\omega_B^*$  と定めている。 $\omega^*$  は入射波の角振動数であり、固有振動数  $\omega_B^*$  は以下のように定義する：

$$\omega_B^* \equiv \frac{1}{R_0^*} \sqrt{\frac{3\gamma p_{G0}^* - 2\sigma^*/R_0^*}{\rho_{L0}^*}}. \quad (14)$$

式(14)は、Keller 式(6)および界面での力のつりあい式(10)において、減衰項と粘性項を無視し線形化することによって導かれる。それゆえ、固有振動数(14)は、非粘性液体に対する線形化された Rayleigh–Plesset 式から得られる固有振動数と等しい。後述するように、本研究において粘性および減衰の効果はきわめて小さいことから、固有振動数にこれらの効果は含めていない。

また、 $V, \Delta, \Omega$  はすべて  $O(1)$  の量である。 $\Omega$  は波の無次元振動数を意味し、のちに波数と関係付けられる(3.2項)。

つづいて、液体の粘性  $\mu^*$  について、以下の関係を定める：

$$\frac{\mu^*}{\rho_{L0}^* R_0^* U^*} \equiv O(\epsilon^2) \equiv \mu\epsilon^2, \quad (15)$$

ここに、 $\mu$  は液体の無次元粘性係数であり、 $O(1)$  の定数である。さらに、初期状態の気体と液体の密度の比を  $\rho_{G0}^*/\rho_{L0}^* \equiv O(\epsilon^3)$  と定める。

## 2.3 摂動展開

時間  $t^*$  と空間座標  $x^*$  を無次元化する：

$$t = \frac{t^*}{T^*}, \quad x = \frac{x^*}{L^*}. \quad (16)$$

つづいて、小さなパラメータ  $\epsilon (\ll 1)$  を用いて以下のような6つの独立変数を導入する：

$$t_m = \epsilon^m t, \quad x_m = \epsilon^m x \quad (m = 0, 1, 2), \quad (17)$$

ここで  $t_0 = t$  および  $x_0 = x$  は fast scales を、一方  $t_1 = \epsilon t$ ,  $x_1 = \epsilon x$  などは slow scales を意味する。式(17)と chain rule から、偏微分演算子は以下のように展開される<sup>(10)</sup>：

$$\frac{\partial}{\partial t} = \frac{\partial}{\partial t_0} + \epsilon \frac{\partial}{\partial t_1} + \epsilon^2 \frac{\partial}{\partial t_2}, \quad \frac{\partial}{\partial x} = \frac{\partial}{\partial x_0} + \epsilon \frac{\partial}{\partial x_1} + \epsilon^2 \frac{\partial}{\partial x_2}. \quad (18)$$

従属変数として、 $\alpha, u_G^*, u_L^*, R^*$  を  $\epsilon$  のべき級数に展開する：

$$\alpha/\alpha_0 = 1 + \epsilon\alpha_1 + \epsilon^2\alpha_2 + \dots, \quad (19)$$

$$u_G^*/U^* = \epsilon u_{G1} + \epsilon^2 u_{G2} + \dots, \quad (20)$$

$$u_L^*/U^* = \epsilon u_{L1} + \epsilon^2 u_{L2} + \dots, \quad (21)$$

$$R^*/R_0^* = 1 + \epsilon R_1 + \epsilon^2 R_2 + \dots, \quad (22)$$

ここに、 $\alpha_0$  は初期ボイド率である。式(19)–(22)から、先述のように、 $\epsilon$  とは波の代表的な無次元振幅に対応していることがわかる。

さらに、液相の密度  $\rho_L^*$  と圧力  $p_L^*$  は以下のように展開される：

$$\rho_L^*/\rho_{L0}^* = 1 + \epsilon^5 \rho_{L1} + \epsilon^6 \rho_{L2} + \dots, \quad (23)$$

$$p_L^*/(\rho_{L0}^* U^{*2}) = p_{L0} + \epsilon p_{L1} + \epsilon^2 p_{L2} + \dots, \quad (24)$$

ここに、 $p_L^*$  の展開式(24)における展開係数  $p_{Li}$  ( $i = 1, 2, 3, 4, 5$ ) は、液相密度の展開係数  $\rho_{Li}$  および  $V$  を用いて定義している：

$$p_{Li} \equiv \frac{\rho_{Li}}{V^2} \quad (i = 1, 2, 3, 4, 5). \quad (25)$$

なお、本稿では  $p_{L3}$  までしか現れないが、 $i \geq 6$  の展開係数の表式は式(25)とは異なることを注意しておく(たとえば、 $p_{L6}$  は、 $\rho_{L1}$  と  $\rho_{L6}$  の両方に依存する)。

気相・液相の無次元初期圧力  $p_{G0}$  と  $p_{L0}$  は以下のように定義している：

$$p_{G0} \equiv \frac{p_{G0}^*}{\rho_{L0}^* U^{*2}} \equiv O(1), \quad p_{L0} \equiv \frac{p_{L0}^*}{\rho_{L0}^* U^{*2}} \equiv O(1). \quad (26)$$

液相の圧力  $p_L^*$  および密度  $\rho_L^*$  の展開式 (23), (24) は、以下の3点を考慮して得られるものである：(i) 無次元液相密度  $\rho_L^*/\rho_{L0}^*$  の変動量は他変数の変動量よりも小さい、すなわち、 $O(\epsilon)$  より小さいとすること、(ii)  $\rho_L^*$  と  $p_L^*$  が Tait の状態方程式 (8) で関係づけられること、(iii) 代表速度のスケージング (11) を満たすこと。

### 3. 準単色波の弱非線形伝播

基礎方程式系 (1)–(10) に、パラメータのスケージング (11)–(13) や従属変数の摂動展開 (19)–(24) を代入し、 $\epsilon$  の恒等式として整理してゆく。

#### 3.1 近傍場を記述する分散性の波動方程式 (4)

まず、 $O(\epsilon)$  の方程式として以下の線形方程式系が導かれる (順に、気相・液相の質量保存則、気相・液相の運動量保存則、Keller の式に対応する)：

$$\frac{\partial \alpha_1}{\partial t_0} - 3 \frac{\partial R_1}{\partial t_0} + \frac{\partial u_{G1}}{\partial x_0} = 0, \quad (27)$$

$$\alpha_0 \frac{\partial \alpha_1}{\partial t_0} - (1 - \alpha_0) \frac{\partial u_{L1}}{\partial x_0} = 0, \quad (28)$$

$$\beta_1 \frac{\partial u_{G1}}{\partial t_0} - \beta_1 \frac{\partial u_{L1}}{\partial t_0} - 3\gamma p_{G0} \frac{\partial R_1}{\partial x_0} = 0, \quad (29)$$

$$(1 - \alpha_0 + \beta_1 \alpha_0) \frac{\partial u_{L1}}{\partial t_0} - \beta_1 \alpha_0 \frac{\partial u_{G1}}{\partial t_0} + (1 - \alpha_0) \frac{\partial p_{L1}}{\partial x_0} = 0, \quad (30)$$

$$\frac{\partial^2 R_1}{\partial t_0^2} + R_1 + \frac{p_{L1}}{\Delta^2} = 0. \quad (31)$$

式 (27)–(31) を  $R_1$  を未知変数とする単一方程式にまとめる：

$$\mathcal{L}_1[R_1] = 0, \quad (32)$$

ここに  $\mathcal{L}_1$  は線形偏微分演算子である：

$$\mathcal{L}_1 \equiv \frac{\partial^2}{\partial t_0^2} - \left[ \frac{\Delta^2}{3\alpha_0} + \frac{(1 - \alpha_0 + \beta_1)\gamma p_{G0}}{\beta_1(1 - \alpha_0)} \right] \frac{\partial^2}{\partial x_0^2} - \frac{\Delta^2}{3\alpha_0} \frac{\partial^4}{\partial x_0^2 \partial t_0^2}. \quad (33)$$

式 (32), (33) は、分散項を有する線形波動方程式である。この解として、準単色波列解、すなわち特定の波数近傍に  $O(\epsilon)$  で特徴付けられる狭い幅を有するゆっくりと変調してゆく波束解を仮定する<sup>(11)</sup>：

$$R_1 = A(t_1, t_2, x_1, x_2)e^{i\theta} + \text{c.c.}, \quad (34)$$

位相関数  $\theta$  は

$$\theta \equiv k^* x_0^* - \omega^*(k^*) t_0^* = k x_0 - \Omega(k) t_0, \quad (35)$$

$A$  は slow scales に依存してゆっくりと変化する複素振幅であり、 $k \equiv k^* L^*$  は無次元波数である ( $k^*$  は有次元波数)。

解 (34) を  $O(\epsilon)$  の方程式系 (27)–(31) に代入し、 $t_0$  および  $x_0$  で積分して無限遠の境界条件と初期条件を考慮すれば、 $\alpha_1, u_{G1}, u_{L1}, p_{L1}$  の陽な表式を得る。それらは、すべて、 $R_1$  の定数倍で表される。

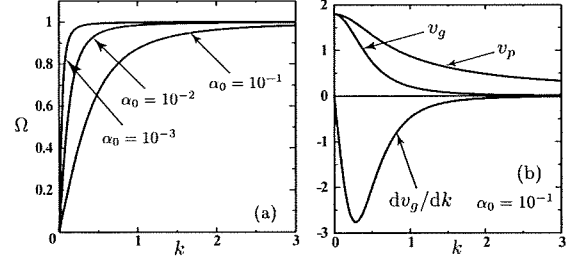


Fig. 2 (a) The dispersion relation  $\Omega(k)$  ( $\alpha_0 = 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}$ ) and (b) The phase velocity  $v_p(k)$ , the group velocity  $v_g(k)$ , and the derivative of the group velocity with respect to the wave number  $dv_g/dk$  ( $\alpha_0 = 10^{-1}$ ) in the case of  $\Delta \simeq 1$ ,  $p_{G0} \simeq 0.33$ ,  $\beta_1 = 0.5$ , and  $\gamma = 1$  ( $\rho_{L0}^* = 998 \text{ kg/m}^3$ ,  $p_{L0}^* = 101325 \text{ Pa}$ ,  $\sigma^* = 0.0728 \text{ N/m}$ , and  $R_0^* = 1 \text{ mm}$ ).

#### 3.2 分散関係式、位相速度、群速度

無次元気泡径の第1近似解 (34) を式 (32) に代入すれば、線形分散関係式が得られる：

$$D(k, \Omega) = \frac{\Delta^2 k^2 (1 - \Omega^2)}{3\alpha_0} + \frac{(1 - \alpha_0 + \beta_1)\gamma p_{G0}}{\beta_1(1 - \alpha_0)} k^2 - \Omega^2 = 0. \quad (36)$$

あるいは、周波数  $\Omega(k)$  について解くと

$$\Omega(k) = \pm k \sqrt{\frac{\Delta^2}{3\alpha_0 + \Delta^2 k^2} + \frac{3\alpha_0(1 - \alpha_0 + \beta_1)\gamma p_{G0}}{\beta_1(1 - \alpha_0)(3\alpha_0 + \Delta^2 k^2)}}. \quad (37)$$

なお、負号すなわち  $\Omega < 0$  のモードは、 $\Omega > 0$  と同じ特性で負の方向に伝播してゆく波を意味しており、以後このモードは考えないこととする。

分散関係 (37) から、無次元の位相速度  $v_p$ 、群速度  $v_g$ 、および群速度の波数に関する1階導関数  $dv_g/dk$  が計算される：

$$v_p = \frac{\Omega(k)}{k} \geq 0, \quad (38)$$

$$v_g = \frac{d\Omega}{dk} = \frac{3\alpha_0 \Omega(k)}{k(3\alpha_0 + \Delta^2 k^2)} \geq 0, \quad (39)$$

$$\frac{dv_g}{dk} = \frac{d^2 \Omega}{dk^2} = -\frac{9\alpha_0 \Delta^2 \Omega(k)}{(3\alpha_0 + \Delta^2 k^2)^2} \leq 0. \quad (40)$$

ここで、代表的な速さスケール  $U^*$  と長さスケール  $L^*$  の決定を行う。代表的な波の伝播速度  $U^*$  として、 $\Omega = 1$  のもとで位相速度  $v_p = 1$  となるような速度を採用する。すなわち、 $\Omega = k = 1$  を分散関係 (36) に代入し整理することで以下を得る：

$$U^* \equiv \sqrt{\frac{(1 - \alpha_0 + \beta_1)\gamma p_{G0}^*}{\beta_1(1 - \alpha_0)\rho_{L0}^*}}. \quad (41)$$

時間スケールは、すでに  $T^* \equiv 1/\omega_B^*$  と定めているから、長さスケールも、ただちに  $L^* \equiv U^* T^*$  と定まる。同時に、これら  $U^*$  と  $L^*$  の表式が、スケージング (11), (12) も満たす必要がある。

図2に、分散関係  $\Omega(k)$ 、位相速度  $v_p(k)$ 、群速度  $v_g(k)$  および  $dv_g/dk$  のふるまいを示す。

#### 3.3 $O(1/\epsilon)$ スケールの遠方場

つづいて、 $O(\epsilon^2)$  の方程式系を導出し、単一方程式にまとめる操作を行う。すなわち、5本の方程式から  $\alpha_2, u_{G2}, u_{L2}, p_{L2}$  を消去し、 $R_2$  および  $O(\epsilon)$  の解析から得られている低次の変数からなる単一の非同次方程式を得る：

$$\mathcal{L}_1[R_2] = H_2(x_0, x_1, t_0, t_1). \quad (42)$$

非同次項  $H_2$  は,  $R_1, \alpha_1, u_{G1}, u_{L1}, p_{L1}$  から構成される. それらの表式を  $H_2$  に代入し整理することで, 以下を得る:

$$H_2 = \Gamma A^2 e^{2i\theta} + i \left( -\frac{\partial D}{\partial \Omega} \right) \left( \frac{\partial A}{\partial t_1} + v_g \frac{\partial A}{\partial x_1} \right) e^{i\theta} + \text{c.c.}, \quad (43)$$

$\Gamma$  は実数係数であり, その陽な関数形は複雑ゆえ省略する.

非同次項 (43) には  $e^{i\theta}$  に比例する項とその複素共役が含まれており, このままでは永年項が生じて漸近展開 (19)–(24) が一様に有効とはならない. したがって, 可解条件より,  $e^{i\theta}$  の係数をゼロとおくことから,  $O(1/\epsilon)$  の時空間スケールでの包絡波のふるまいを支配する方程式を得る:

$$\frac{\partial A}{\partial t_1} + v_g \frac{\partial A}{\partial x_1} = 0. \quad (44)$$

式 (44) から, 非同次方程式 (42), (43) は

$$\mathcal{L}_1[R_2] = \Gamma A^2 e^{2i\theta} + \text{c.c.}, \quad (45)$$

と簡化され, この一般解は以下のように定まる:

$$R_2 = \frac{\Gamma}{D(2k, 2\Omega)} A^2 e^{2i\theta} + \text{c.c.} \quad (46)$$

ここで, 同次方程式の一般解は省略した. なお,  $D(2k, 2\Omega)$  は以下のようにあらわされる:

$$D(2k, 2\Omega) = -\frac{4\Delta^2 k^2 \{\Omega(k)\}^2}{\alpha_0}. \quad (47)$$

解 (46) を  $O(\epsilon^2)$  の方程式系に代入し整理することで, 2 次の展開係数  $\alpha_2, u_{G2}, u_{L2}, p_{L2}$  の陽な表式を得る.

### 3.4 $O(1/\epsilon^2)$ スケールの遠方場と非線形 Schrödinger 方程式

$O(\epsilon^2)$  と同様の手順から,  $O(\epsilon^3)$  の単一方程式を得る:

$$\mathcal{L}_1[R_3] = H_3(x_0, x_1, x_2, t_0, t_1, t_2). \quad (48)$$

可解条件にしたがって, 非同次項  $H_3$  の中に含まれる  $e^{i\theta}$  に比例する項の係数をゼロとおくことから

$$i \left( \frac{\partial A}{\partial t_2} + v_g \frac{\partial A}{\partial x_2} \right) + \frac{1}{2} \frac{dv_g}{dk} \frac{\partial^2 A}{\partial x_1^2} + \nu_1 |A|^2 A + i\nu_2 A = 0, \quad (49)$$

を得る. ここに, 散逸効果を意味する左辺第 4 項の係数  $\nu_2$  は

$$\nu_2 = \frac{\Delta k^2}{2(3\alpha_0 + \Delta^2 k^2)} (4\mu + V\Delta^2) \geq 0, \quad (50)$$

であり, 液体の粘性, および, 気泡振動による音響放射に基づく波の減衰を表現する. 非線形項の実数係数  $\nu_1$  の陽な形は省略する.

$O(\epsilon^2)$  および  $O(\epsilon^3)$  の可解条件 (44), (49) と, 微分展開の表式 (18) を用いて, 独立変数  $x$  と  $t$  に関する方程式

$$i \left( \frac{\partial A}{\partial t} + v_g \frac{\partial A}{\partial x} \right) + \frac{1}{2} \frac{dv_g}{dk} \frac{\partial^2 A}{\partial x^2} + \epsilon^2 (\nu_1 |A|^2 A + i\nu_2 A) = 0, \quad (51)$$

を得て, さらに, 式 (51) は以下のように書き直される:

$$i \frac{\partial A}{\partial \tau} + \frac{1}{2} \frac{dv_g}{dk} \frac{\partial^2 A}{\partial \xi^2} + \nu_1 |A|^2 A + i\nu_2 A = 0, \quad (52)$$

ただし, 以下の変数変換を用いている:

$$\tau \equiv \epsilon^2 t = t_2, \quad \xi \equiv \epsilon(x - v_g t) = x_1 - v_g t_1. \quad (53)$$

$O(1/\epsilon^2)$  の時空間スケールの遠方場において, 包絡波の挙動は, 非線形 Schrödinger 方程式 (52) によって記述される<sup>(12)</sup>. 初期ポイド率  $\alpha_0$  を適当な値に選んだときの式 (52) の係数の波数  $k$  依存性を図 3 に示す. 非線形項係数  $\nu_1$  は負の値を, 散逸項係数  $\nu_2$  は正の値をとる.

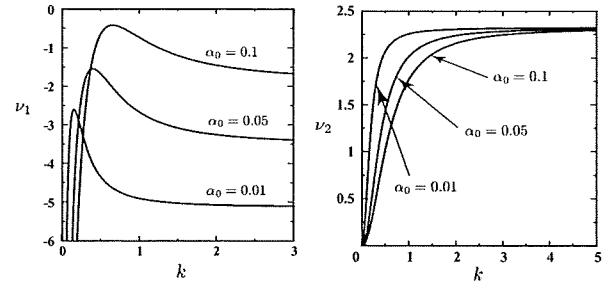


Fig. 3 Dependences of the coefficients of Eq. (52)  $\nu_1$  and  $\nu_2$  on the wave number  $k$  in the case of  $\alpha_0 = 0.1, 0.05, 0.01$ ,  $\epsilon = 0.05$ ,  $\beta_1 = 0.5$ ,  $\gamma = 1$ ,  $\rho_{L0}^* = 998 \text{ kg/m}^3$ ,  $p_{L0}^* = 101325 \text{ Pa}$ ,  $\sigma^* = 0.0728 \text{ N/m}$ ,  $\mu^* = 1 \text{ mPa} \cdot \text{s}$ ,  $c_{L0}^* = 1540 \text{ m/s}$ , and  $R_0^* = 1 \text{ mm}$ .

## 4. おわりに

Egashira らによる気泡流の支配方程式系を起点とし, 代表的な物理パラメータの適切なスケールリング, および, 多重尺度法を利用して 3 次までの漸近解析を行った. 得られた結果を要約する:

1. 近傍場は分散項を有する線形波動方程式で記述される.
2.  $O(1/\epsilon)$  遠方場において, 包絡波は複素振幅  $A$  に対する線形方程式に従う.
3.  $O(1/\epsilon^2)$  遠方場において, 包絡波は非線形性, 散逸性, 分散性の寄与を受け, そのふるまいは非線形 Schrödinger 方程式で記述される.

## 謝辞

本研究は, 平成 21 年度厚生労働省科学研究費補助金 (医療機器開発推進研究事業: ナノメディシン研究 (H19-nano-010)) によりなされたものである. ここに記して謝意を表す.

## 参考文献

- (1) たとえば, van Wijngaarden, L., *Ann. Rev. Fluid Mech.*, **4**, 369 (1972).
- (2) Egashira, R., Yano, T. and Fujikawa, S., *Fluid Dyn. Res.*, **34**, 317 (2004).
- (3) Yano, T., Egashira, R. and Fujikawa, S., *J. Phys. Soc. Jpn.*, **75**, 104401 (2006).
- (4) Haga, T., Yano, T. and Fujikawa, S., *Proc. 7th JSME-KSME Thermal and Fluids Engineering Conference*, (2008).
- (5) 金川哲也, 矢野 猛, 渡部正夫, 藤川重雄, 日本流体力学会年會 2008, (2008).
- (6) Kanagawa, T., Yano, T., Watanabe, M. and Fujikawa, S., *Proc. 7th International Symposium on Cavitation*, (2009).
- (7) 金川哲也, 矢野 猛, 渡部正夫, 藤川重雄, キャビテーションに関するシンポジウム (第 14 回), (2009).
- (8) Eames, I. and Hunt, J. C. R., *J. Fluid Mech.*, **505**, 349 (2004).
- (9) Keller, J. B. and Kolodner, I. I., *J. Appl. Phys.*, **27**, 1152 (1956).
- (10) Jeffrey, A. and Kawahara, T., *Asymptotic Methods in Nonlinear Wave Theory*, (Pitman Advanced Pub. Program, Boston, 1982).
- (11) Nayfeh, A. H., *J. Acoust. Soc. Am.*, **57**, 803 (1975).
- (12) Gumerov, N. A., *J. Appl. Math. Mech.*, **56**, 50 (1992).

# 気泡流中の弱非線形波動

北海道大学 大学院工学研究科<sup>1</sup> 金川 哲也 (Tetsuya KANAGAWA)  
大阪大学 大学院工学研究科<sup>2</sup> 矢野 猛 (Takeru YANO)  
北海道大学 大学院工学研究科<sup>1</sup> 渡部 正夫 (Masao WATANABE)  
北海道大学 大学院工学研究科<sup>1</sup> 藤川 重雄 (Shigeo FUJIKAWA)

<sup>1</sup> Graduate School of Engineering, Hokkaido University

<sup>2</sup> Graduate School of Engineering, Osaka University

## 1 はじめに

気泡を含む液体中においては、単相媒質中に比べ、圧力波のふるまいが著しく異なる。その特徴のひとつに、気泡振動によって誘起される波の分散性が挙げられる。弱非線形のレジームにおいては、van Wijngaarden による Korteweg–de Vries (KdV) 方程式の導出 [1] を皮切りに、これまで多くの研究がなされてきた (たとえば, [2, 3])。

本稿では、物理パラメータのスケーリング、すなわち波の代表的な伝播速度、波長、周期の適切なオーダー評価を起点とした、気泡流中における異なる種類の弱非線形波動の統一的な取り扱いを可能にする理論を提示する。

著者らのグループが提出した2流体モデルに基づく気泡流の支配方程式 [4, 5]、および、多重尺度法を用いた漸近解析をおこなう。その結果、図1に示すように、低周波数領域が KdV–Burgers 方程式で、比較的高周波数領域が非線形 Schrödinger (NLS) 方程式で、それぞれ記述される。

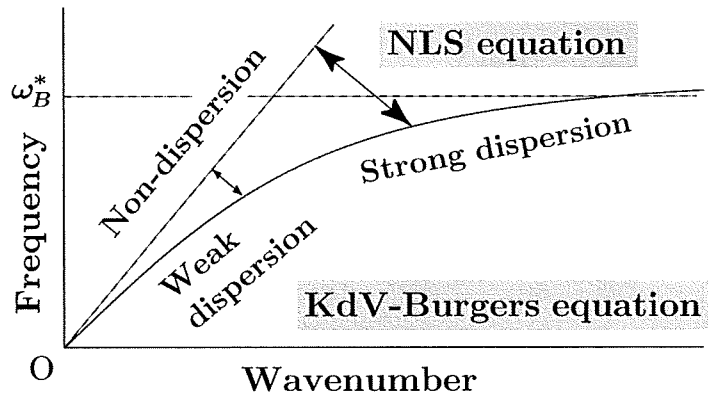


Fig. 1: Weakly nonlinear propagation of pressure waves in two frequency bands: the low frequency band and moderately high frequency band are governed by the KdV–Burgers and NLS equations, respectively. Here  $\omega_B^*$  denotes the eigenfrequency of a single bubble.



## 2 問題設定および基礎方程式

多数の微細気泡を一様に含む静止液体中における、有限振幅の1次元進行波(平面波)問題に取り組む。従来の多くの研究で無視されてきた(たとえば, [1, 2]) 液体の圧縮性を考慮するが, 簡単のため, 気体の粘性, 気体と液体の熱伝導性, 気液界面を通しての相変化およびエネルギー輸送, さらに Reynolds 応力を無視する。

### 2.1 基礎方程式系

気泡流の支配方程式系は, 気相と液相それぞれに対する質量および運動量の保存則, 気泡壁の運動方程式, また, 状態方程式などから構成される [4, 5]。まず, 2流体モデルに基づく質量および運動量の保存則は, 以下のように与えられる (“\*” は有次元量を意味する):

$$\begin{cases} \frac{\partial}{\partial t^*}(\alpha\rho_G^*) + \frac{\partial}{\partial x^*}(\alpha\rho_G^*u_G^*) = 0, & (1) \\ \frac{\partial}{\partial t^*}[(1-\alpha)\rho_L^*] + \frac{\partial}{\partial x^*}[(1-\alpha)\rho_L^*u_L^*] = 0, & (2) \\ \frac{\partial}{\partial t^*}(\alpha\rho_G^*u_G^*) + \frac{\partial}{\partial x^*}(\alpha\rho_G^*u_G^{*2}) + \alpha\frac{\partial p_G^*}{\partial x^*} = F^*, & (3) \\ \frac{\partial}{\partial t^*}[(1-\alpha)\rho_L^*u_L^*] + \frac{\partial}{\partial x^*}[(1-\alpha)\rho_L^*u_L^{*2}] + (1-\alpha)\frac{\partial p_L^*}{\partial x^*} + P^*\frac{\partial\alpha}{\partial x^*} = -F^*. & (4) \end{cases}$$

ここに,  $t^*$  は時間,  $x^*$  は空間座標,  $\alpha$  はボイド率(気相の体積分率),  $\rho^*$  は密度,  $u^*$  は流速,  $p^*$  は圧力であり, 添え字  $G$  および  $L$  はそれぞれ気相および液相に付随する体積平均化された変数を意味する。なお, 体積平均圧力  $p_G^*$  と  $p_L^*$  に加え, 気液界面における面積積分によって定義された局所的な液体圧力  $P^*$  が導入されている。相関の運動量輸送項  $F^*$  としては, 以下の付加慣性力のモデルを用いる [5, 6]:

$$F^* = -\beta_1\alpha\rho_L^*\left(\frac{D_G u_G^*}{Dt^*} - \frac{D_L u_L^*}{Dt^*}\right) - \beta_2\rho_L^*(u_G^* - u_L^*)\frac{D_G\alpha}{Dt^*} - \beta_3\alpha(u_G^* - u_L^*)\frac{D_G\rho_L^*}{Dt^*}. \quad (5)$$

ここに, 付加慣性係数  $\beta_i$  ( $i = 1, 2, 3$ ) は球形気泡の場合  $1/2$  とおかれるが, 本稿では具体的な値を与えぬまま進める。また,  $D_G/Dt^*$  と  $D_L/Dt^*$  は以下のように定義される:

$$\frac{D_G}{Dt^*} \equiv \frac{\partial}{\partial t^*} + u_G^* \frac{\partial}{\partial x^*}, \quad \frac{D_L}{Dt^*} \equiv \frac{\partial}{\partial t^*} + u_L^* \frac{\partial}{\partial x^*}.$$

圧縮性液体中における気泡の膨張・収縮運動をあらわす方程式として, Keller 方程式を用いる [7]:

$$\begin{aligned} & \left(1 - \frac{1}{c_{L0}^*} \frac{D_G R^*}{Dt^*}\right) R^* \frac{D_G^2 R^*}{Dt^{*2}} + \frac{3}{2} \left(1 - \frac{1}{3c_{L0}^*} \frac{D_G R^*}{Dt^*}\right) \left(\frac{D_G R^*}{Dt^*}\right)^2 \\ & = \left(1 + \frac{1}{c_{L0}^*} \frac{D_G R^*}{Dt^*}\right) \frac{P^*}{\rho_{L0}^*} + \frac{R^*}{\rho_{L0}^* c_{L0}^*} \frac{D_G}{Dt^*} (p_L^* + P^*). \end{aligned} \quad (6)$$

ここに,  $R^*$  は平均化された気泡半径である。右辺第2項は, 気泡振動にともなう周囲液体への音波の放射に基づく気泡振動の減衰項である。

方程式系 (1)–(6) は、以下に示す、気相のポリトロプ変化の関係式、液相の Tait 状態方程式、気泡内気体の質量保存則、気液界面における法線方向応力のつりあい式によって閉じられる:

$$\begin{cases} \frac{p_G^*}{p_{G0}^*} = \left( \frac{\rho_G^*}{\rho_{G0}^*} \right)^\gamma, & p_L^* = p_{L0}^* + \frac{\rho_{L0}^* c_{L0}^{*2}}{n} \left[ \left( \frac{\rho_L^*}{\rho_{L0}^*} \right)^n - 1 \right], \\ \frac{\rho_G^*}{\rho_{G0}^*} = \left( \frac{R_0^*}{R^*} \right)^3, & p_G^* - (p_L^* + P^*) = \frac{2\sigma^*}{R^*} + \frac{4\mu^*}{R^*} \frac{D_G R^*}{Dt^*}. \end{cases} \quad (7)$$

ここに、 $\gamma$  はポリトロプ指数、 $n$  は物質定数、 $\sigma^*$  は表面張力、 $\mu^*$  は液体の粘性係数である。  
添え字 0 が付いた量は初期静止状態における値であり、すべて定数であることを注意しておく。

## 2.2 多重尺度法による解析

現象を特徴付ける代表的な時間  $T^*$  と長さ  $L^*$  を用いて、時間  $t^*$  と空間座標  $x^*$  を、 $t = t^*/T^*$ 、 $x = x^*/L^*$  と無次元化する。

小さなパラメータとして、波の代表的な無次元振幅  $\epsilon (\ll 1)$  を用いて、独立変数  $t$  および  $x$  に対する複数のスケール

$$t_m = \epsilon^m t, \quad x_m = \epsilon^m x, \quad (m = 0, 1, 2, \dots, N), \quad (8)$$

を導入する [8]。これよりただちに、偏微分演算子が展開される:

$$\frac{\partial}{\partial t} = \sum_{m=0}^N \epsilon^m \frac{\partial}{\partial t_m}, \quad \frac{\partial}{\partial x} = \sum_{m=0}^N \epsilon^m \frac{\partial}{\partial x_m}. \quad (9)$$

従属変数として、まず、 $\alpha$ ,  $u_G^*$ ,  $u_L^*$ ,  $R^*$ ,  $p_L^*$  を  $\epsilon$  のべき級数に展開する:

$$\alpha/\alpha_0 = 1 + \epsilon\alpha_1 + \epsilon^2\alpha_2 + \dots, \quad (10)$$

$$u_G^*/U^* = \epsilon u_{G1} + \epsilon^2 u_{G2} + \dots, \quad (11)$$

$$u_L^*/U^* = \epsilon u_{L1} + \epsilon^2 u_{L2} + \dots, \quad (12)$$

$$R^*/R_0^* = 1 + \epsilon R_1 + \epsilon^2 R_2 + \dots, \quad (13)$$

$$p_L^* = p_{L0}^* + \epsilon \rho_{L0}^* U^{*2} p_{L1} + \epsilon^2 \rho_{L0}^* U^{*2} p_{L2} + \dots. \quad (14)$$

ここで、 $U^* (\equiv L^*/T^*)$  は代表的な波の伝播速度である。

つづいて、液相密度  $\rho_L^*$  の展開を以下のように定める:

$$\rho_L^*/\rho_{L0}^* = \begin{cases} 1 + \epsilon^2 \rho_{L1} + \epsilon^3 \rho_{L2} + \dots, \\ 1 + \epsilon^5 \rho_{L1} + \epsilon^6 \rho_{L2} + \dots. \end{cases} \quad (15)$$

すなわち、 $\rho_L^*/\rho_{L0}^*$  の変動は他変数 (10)–(14) よりも小さいと仮定しており、1 行目が KdV–Burgers 方程式 (3 節)、2 行目が NLS 方程式 (4 節) の導出においてそれぞれ用いられる。なお、 $p_L^*$  と  $\rho_L^*$  は先述の Tait 式を満足せねばならず、それゆえ、これらの摂動も Tait 式によって関係づけられる。その具体形、たとえば  $p_{L1}$  と  $\rho_{L1}$  の間に存在する陽な関係は、後の解析においてあらわれる。

初期状態における, 気相および液相の圧力ならびに密度比を

$$p_{G0} \equiv \frac{p_{G0}^*}{\rho_{L0}^* U^{*2}} \equiv O(1), \quad p_{L0} \equiv \frac{p_{L0}^*}{\rho_{L0}^* U^{*2}} \equiv O(1), \quad \rho_0 \equiv \frac{\rho_{G0}^*}{\rho_{L0}^*} \equiv O(\epsilon^3), \quad (16)$$

と定義する. 本解析において,  $\rho_0$  の寄与はないことを述べておく.

最後に, 単一気泡の固有角振動数  $\omega_B^*$  の定義を与える:

$$\omega_B^* \equiv \sqrt{\frac{3\gamma(p_{L0}^* + 2\sigma^*/R_0^*) - 2\sigma^*/R_0^*}{\rho_{L0}^* R_0^{*2}}}. \quad (17)$$

### 3 Korteweg–de Vries–Burgers 方程式

まず, 長波長および低周波数領域に着目し, KdV–Burgers 方程式を導くための物理パラメータのスケーリングを  $\epsilon (\ll 1)$  を用いて, 以下のように設定する:

$$\frac{U^*}{c_{L0}^*} \equiv O(\sqrt{\epsilon}) \equiv V\sqrt{\epsilon}, \quad \frac{R_0^*}{L^*} \equiv O(\sqrt{\epsilon}) \equiv \Delta\sqrt{\epsilon}, \quad \frac{\omega^*}{\omega_B^*} \equiv O(\sqrt{\epsilon}) \equiv \Omega\sqrt{\epsilon}. \quad (18)$$

ここに,  $V, \Delta, \Omega$  はすべて  $O(1)$  の定数であり,  $\omega^* \equiv 1/T^*$  は音源の角振動数をあらわす. スケーリング (18) は, 代表的な波の位相速度が初期液単相音速にくらべて  $O(\sqrt{\epsilon})$  だけ小さく, 代表的な長さが初期気泡径にくらべて  $O(1/\sqrt{\epsilon})$  だけ大きく, さらに, 入射波の振動数が気泡の固有振動数にくらべて  $O(\sqrt{\epsilon})$  だけ小さいことを意味する.

基礎方程式系 (1)–(4) と (6) に対応する,  $\epsilon$  に対する最低次の方程式は, 以下の線形方程式系である:

$$\begin{cases} \frac{\partial \alpha_1}{\partial t_0} - 3 \frac{\partial R_1}{\partial t_0} + \frac{\partial u_{G1}}{\partial x_0} = 0, & (19) \end{cases}$$

$$\begin{cases} \alpha_0 \frac{\partial \alpha_1}{\partial t_0} - (1 - \alpha_0) \frac{\partial u_{L1}}{\partial x_0} = 0, & (20) \end{cases}$$

$$\begin{cases} \beta_1 \frac{\partial u_{G1}}{\partial t_0} - \beta_1 \frac{\partial u_{L1}}{\partial t_0} - 3\gamma p_{G0} \frac{\partial R_1}{\partial x_0} = 0, & (21) \end{cases}$$

$$\begin{cases} (1 - \alpha_0 + \beta_1 \alpha_0) \frac{\partial u_{L1}}{\partial t_0} - \beta_1 \alpha_0 \frac{\partial u_{G1}}{\partial t_0} + (1 - \alpha_0) \frac{\partial p_{L1}}{\partial x_0} = 0, & (22) \end{cases}$$

$$\begin{cases} R_1 + \frac{\Omega^2}{\Delta^2} p_{L1} = 0. & (23) \end{cases}$$

同様に  $O(\epsilon^2)$  の方程式系も得る. これらは, それぞれ, 無次元気泡径の第 1 近似解  $R_1$  および第 2 近似解  $R_2$  を未知変数とする単一方程式にまとめることができる:

$$O(\epsilon): \quad \frac{\partial^2 R_1}{\partial t_0^2} - v_p^2 \frac{\partial^2 R_1}{\partial x_0^2} = 0, \quad (24)$$

$$O(\epsilon^2): \quad \frac{\partial^2 R_2}{\partial t_0^2} - v_p^2 \frac{\partial^2 R_2}{\partial x_0^2} = K(t_0, t_1, x_0, x_1). \quad (25)$$

ここに, 位相速度  $v_p$  は

$$v_p = \sqrt{\frac{3\alpha_0(1 - \alpha_0 + \beta_1)\gamma p_{G0} + \beta_1(1 - \alpha_0)\Delta^2/\Omega^2}{3\beta_1\alpha_0(1 - \alpha_0)}}, \quad (26)$$

で与えられ、以後、 $v_p \equiv 1$  となるように代表速度  $U^*$  を定める。

式 (24) と (25) において、右向き進行波のみに着目する。非同次方程式 (25) に対する可解条件

$$K(\varphi_0, t_1, x_1) = 0, \quad (\varphi_0 \equiv x_0 - t_0), \quad (27)$$

を用い、いくらかの操作を経て、KdV–Burgers 方程式が導かれる：

$$\frac{\partial f}{\partial \tau} + \Pi_1 f \frac{\partial f}{\partial \xi} + \Pi_2 \frac{\partial^2 f}{\partial \xi^2} + \Pi_3 \frac{\partial^3 f}{\partial \xi^3} = 0. \quad (28a)$$

ここに、以下のような変数変換をおこなった：

$$\tau \equiv \epsilon t, \quad \xi \equiv x - (1 + \epsilon \Pi_0)t. \quad (28b)$$

さらに、係数  $\Pi_0, \Pi_2, \Pi_3$  は以下のように与えられる：

$$\Pi_0 = -\frac{(1 - \alpha_0)\Delta^2 V^2}{6\alpha_0\Omega^2}, \quad \Pi_2 = -\frac{1}{6\alpha_0} \left( 4\mu + \frac{\Delta^3 V}{\Omega^2} \right), \quad \Pi_3 = \frac{\Delta^2}{6\alpha_0}. \quad (29)$$

散逸係数  $\Pi_2$  は負値、分散係数  $\Pi_3$  は正値である。また、非線形係数  $\Pi_1$  は負値であるが、その陽な形は複雑ゆえ省略する。

式 (24) より、 $t_0$  と  $x_0$  で特徴付けられる近傍場においては、圧力波は線形波動方程式にしたがう。いっぽう、式 (25) より、 $O(1/\epsilon)$  の時間空間スケールの遠方場においては、弱い分散性、弱い非線形性および弱い散逸性の発現・競合によって、減衰をともなうソリトンが形成される。

## 4 非線形 Schrödinger 方程式

つづいて、前節に比較して高周波数および短波長領域を記述する以下のスケージングを起点として、NLS 方程式の導出をおこなう：

$$\frac{U^*}{c_{L0}^*} \equiv O(\epsilon^2) \equiv V\epsilon^2, \quad \frac{R_0^*}{L^*} \equiv O(1) \equiv \Delta, \quad \frac{\omega^*}{\omega_B^*} \equiv O(1) \equiv \Omega. \quad (30)$$

ここで、代表的な時間を  $T^* \equiv 1/\omega_B^*$  と定めた。代表的な位相速度は前節よりも小さく設定されており、初期気泡径は代表的な長さと同程度 (短波)、さらに気泡の固有振動数と入射波の振動数が同程度であることを規定している。

まず、 $O(\epsilon)$  の方程式系のうち、質量および運動量保存則の形は式 (19)–(22) と同じであるが、式 (23) に対応する線形 Keller 方程式は

$$\frac{\partial^2 R_1}{\partial t_0^2} + R_1 + \frac{pL_1}{\Delta^2} = 0, \quad (31)$$

となり、時間に関する 2 階導関数、すなわち分散項を含む。それゆえ、式 (24) に対応する  $R_1$  についての線形方程式には 4 階導関数がふくまれる：

$$\mathcal{L}_1[R_1] \equiv \frac{\partial^2 R_1}{\partial t_0^2} - \left[ \frac{\Delta^2}{3\alpha_0} + \frac{(1 - \alpha_0 + \beta_1)\gamma p G_0}{\beta_1(1 - \alpha_0)} \right] \frac{\partial^2 R_1}{\partial x_0^2} - \frac{\Delta^2}{3\alpha_0} \frac{\partial^4 R_1}{\partial x_0^2 \partial t_0^2} = 0. \quad (32)$$