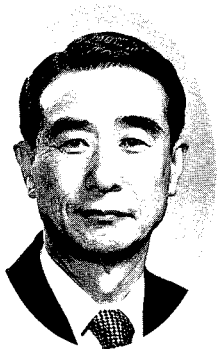
年　報

13　号

目　　次

設立の趣意 …… 2
役員・評議会および事業の概要 …… 3
Ⅰ．技術開発に対する助成事業 …… 4
技術開発研究助成金贈呈式の開催状況 …… 6
Ⅱ．技術交流に関する支援事業 …… 10
平成８年度（第13回）技術開発助成研究成果報告 …… 11
平成10年度技術交流助成成果報告 …… 67
技術開発に関する研究助成状況 …… 74
技術交流に関する助成状況 …… 83

設 立 の 趣 意



中谷太郎初代理事長

わが国経済社会の高度化は、1970年代以降急速に進展しています。これは、わが国の唯一の資源でもある恵まれた頭脳資源を、十分に活用することで達成されたものです。特にコンピュータを初めとするエレクトロニクス技術の発展が重要な役割を果してきました。

これらのエレクトロニクス技術の発展は、優れた電子計測技術の基盤の確立が無くしてはありえません。今後わが国のエレクトロニクス技術の一層の発展を実現する上で、電子計測技術基盤の一層の強化が大切であります。電子計測機器がエレクトロニクスのマザー・ツールであるといわれる所似でもあります。

政府におかれましても、その重要性を十分認識され、電子計測技術基盤の確立のためにいろいろな施策を展開されております。

このような客観的諸情勢から東亜医用電子株式会社の創立者、故中谷太郎初代理事長は、電子計測技術の発展を推進し、産業基盤の確立に貢献することを強く念願され、昭和59年4月に財団法人「中谷電子計測技術振興財団」が設立されました。

当財団は、技術開発・技術交流の推進、技術動向等の調査研究等を行うことにより、電子計測技術の基盤の確立に微力をつくす所存でございます。このような主旨をご理解の上、当財団にご指導、ご協力を賜りますようお願い申し上げます。

財団法人 中谷電子計測技術振興財団

設立年月日　　昭和59年４月24日
基　　金　　６億４千万円

役員

理事長
三輪史朗　㈶沖中記念成人病研究所所長・理事長
専務理事
橋本禮造　シスメックス株式会社顧問
理事
梅垣健三　元奈良県立医科大学学長・名誉教授
宇都宮敏男　東京大学名誉教授
浅野茂隆　東京大学医科学研究所附属病院院長・教授
中谷　正　シスメックス株式会社取締役
栗山榮治　当財団事務局長
監事
麻植　茂　公認会計士
秋山純一　多摩大学・同大学院教授（公認会計士）

評議員

川越裕也　東大阪市立中央病院名誉院長
藤井克彦　大阪大学名誉教授
齋藤正男　東京電機大学工学部教授　東京大学名誉教授
屋形　稔　新潟大学名誉教授
八幡義人　川崎医科大学教授
戸川達男　東京医科歯科大学生体材料工学研究所教授
家次　恒　シスメックス株式会社代表取締役社長
雪本賢一　シスメックス株式会社専務取締役

事業の概要

電子計測技術の発展を推進し、産業基盤の確立を図ることにより、わが国経済社会の発展および国民生活の向上に資することを目的として、次の事業を行います。

■電子計測技術分野における技術開発に対する助成
電子計測技術分野における先導的技術開発活動を促進するため、これに助成します。

■電子計測技術分野における技術動向等の調査、研究
電子計測技術分野の実態および種々の問題について調査研究を行い、または、助成します。

■電子計測技術分野における技術交流に関する支援
電子計測技術分野における技術の交流を推進するため、内外の研究者等の交流に対する助成、シンポジウムの開催等を行います。

■電子計測技術分野に関する情報の収集、提供
電子計測技術に関する情報文献、資料等を収集整理し、その広汎な利用を図るための種々の活動を行います。

I　技術開発に対する助成事業

国際経済社会において、大きな位置づけにある我が国にとって、国際的協調をはかりつつ、経済産業の発展を進めてゆくには、新たな局面に対処するための産業構造の変換をはかるとともに先導的技術開発の創出が急がれている。

このため、当財団においては、中核事業として電子計測技術分野における先導的技術開発活動を促進するため、大学及びこれに準ずる研究機関に対して研究助成を昭和59年度から実施してきたが、平成10年度の実施概要は、次のとおりである。

1．助成対象研究の募集

産業技術の共通的・基盤的技術である電子計測は極めて広凡な分野に亘るが、その中で、健康で明るい人間社会を築くために重要な役割を果すと考えられる技術開発分野として、理学・工学と医学・生物学の境界領域としての学際的研究である「生体に関する電子計測技術」の進展がますます要請されている。

かかる状況を勘案し、当財団では対象を次のように定め、９月末日を締切りとして助成対象研究を募集した。

対象研究課題　生体に関する電子計測技術

助成対象　独創的な研究であって、実用化が期待されるもの。または、実用化のための基盤技術となるもの。

2．審査委員会

応募のあった助成研究申請書の内容について、菅野允委員長ほか７名の学識経験者からなる審査委員会において、再三にわたる慎重かつ、厳正な審査を行い、助成対象研究テーマを選定した。

3．研究助成金の贈呈式

審査委員会の審査を経て選出された夫々の研究開発テーマの研究責任者に対して、技術開発研究助成金の贈呈式を、平成11年２月26日、芝浜松町にある世界貿易センタービルにおいて、多数の関係者、来賓を迎えて盛大かつ厳粛裡にとり行った。

この際、各研究者より研究内容の概要を発表していただき、好評を博した。

また、研究助成金の贈呈式後、祝賀を含めて、記念懇談会を開催し、相互に、よろこびと意見の交歓を行った。

なお、平成10年度の研究助成件数は10件、助成金総額は1,700万円であった。

第15回（平成10年度）技術開発研究助成対象研究

研　究　題　目	研究責任者 氏　名	所属機関・職名	研究助成金額 （万円）
マイクロチャンネル微小血管モデルのマイクロマシーニングと血球細胞の変形・凝集能の画像解析システムに関する研究	南谷　晴之	慶應義塾大学理工学部 物理情報工学科　教授	２００
超高感度４倍速テレビカメラの開発と心筋細胞内カルシウムイオン動態の高速３次元画像解析	石田　英之	東海大学医学部 生理科学　講師	１８０
蛋白質構造異常症のソフトイオン化質量分析による臨床検査技術の開発	清水　　章	大阪医科大学 病態検査学教室　教授	１８０
遺伝子結合性タンパク計測のためのバイオセンサの研究・開発	片山　佳樹	九州大学大学院工学研究科 材料物性工学専攻 助教授	１５０
表面プラズモン共鳴と２光子励起蛍光を用いた高感度単一生体有機分子イメージング	田中　拓男	大阪大学 大学院基礎工学研究科 物理系専攻　助手	１６０
カルシウム依存性蛋白分解酵素活性とカルシウム濃度の細胞内同時測定システムの開発	楠岡　英雄	国立大阪病院 臨床研究部　部長	１８０
携帯型酸素解離曲線自動解析装置の開発	今井　清博	大阪大学大学院医学系研究科 情報伝達医学専攻 助教授	１４０
電気的細胞接着度解析法を用いた癌細胞浸潤度に関する定量的検討	野入　英世	東京大学医学部附属病院 腎臓・内分泌内科　助手	１６０
ラット用運動負荷時エネルギー代謝測定装置の開発およびその適用 —糖尿病性腎症に対する運動処方に関する研究—	鈴木　政登	東京慈恵会医科大学 臨床検査医学講座　講師	１７０
糖尿病治療のための自律型微小インスリン注入システムの研究	長倉　俊明	鈴鹿医療科学技術大学 医用工学部 医用電子工学科　助教授	１８０

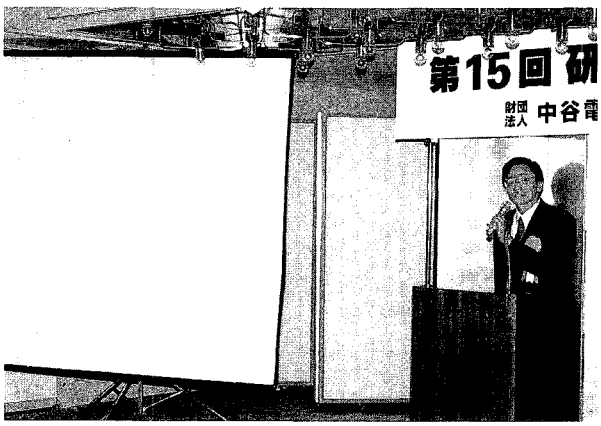
技術開発研究助成金贈呈式の開催状況

ご挨拶する
三輪理事長

審査経過を報告する
菅野審査委員長

受賞者を代表してご挨拶する
慶應義塾大学南谷教授

贈呈書の授与・研究計画の発表



記念懇親会

ご挨拶する橋本専務理事

ご祝詞をのべられる
電子機器課内田振興班長

乾盃の音頭をとられる
藤井評議員

II　技術交流に関する支援事業

1．技術交流助成事業

電子計測技術を促進するため、国際化時代に対応して、内外の研究者相互の先端技術の国際的交流が不可欠である。このため、平成10年度は下表のとおり、国際会議等への出席者３名に対して助成を行った。これらの会議等において活潑な技術交流活動が行われた。

技術交流に関する助成金贈呈者

氏　　名	所属機関・職名	会　議　名	時期	国　　名
岡　田　徳　次	新潟大学工学部 教授	ロボティクスと自動化に関する電気電子学会国際会議	５月	ベルギー・ ルーベン
橋　本　大　定	東京警察病院 外科部長	(1)第６回世界内視鏡外科学会 (2)腹膜鏡下手術シンポジウム	６月	(1)イタリア・ ローマ (2)ドイツ・ トリットリンゲン
松　本　健　志	川崎医療短期大学 助教授	第71回米国心臓学会学術集会	11月	アメリカ・ ダラス

2．技術交流研究事業

理・工学と医学とに関連する７名の専門家が交流し、新たな観点から生体電子計測技術に関する研究課題について討議を行ない、問題点と今後の方向を探求するための研究会が平成９年４月に発足した。平成10年度は、電子技術総合研究所の守谷哲郎超分子部長を主査として「近赤外分光計測と光CT」「不整脈研究のための心臓興奮計測システム」等の研究課題について討議を行った。

21生体電子計測研究会メンバー（平成11年３月末現在・敬省略）

守　谷　哲　郎　　通商産業省工業技術院電子技術総合研究所　超分子部長
伊　関　　洋　　東京女子医科大学脳神経外科センター　脳神経外科　専任講師
岡　田　英　史　　慶應義塾大学理工学部電子工学科　専任講師
木　村　　聡　　昭和大学医学部臨床病理学教室　専任講師
佐久間一郎　　東京大学大学院工学系研究科精密機械工学専攻　助教授
田　村　光　司　　東京女子医科大学心臓血圧研究所循環器内科　助手
中　井　敏　晴　　通商産業省工業技術院電子技術総合研究所
　　超分子部生体機能研究室主任研究官

平成８年度（第13回）
技術開発助成研究成果報告

低コヒーレンス光干渉計測による生体表皮下組織の構造検出と
計測系の小型化に関する研究 …… 12

細菌解析フローサイトメーターの開発と実用検査手法の確立 …… 16

コンピュータ支援による尿検査バリデーションシステムの研究 …… 23
── 尿一般検査の検証システム開発に関する基礎的研究 ──

体内埋込が可能な微小循環観察プローブの開発 …… 33

全血試料および毛細管内細胞電気泳動法を用いた血液型および
クロスマッチ判定 …… 38

超音波ドプラ法による局所脈波速度計測法の新開発 …… 42

医療用マイクロバイオセンサーシステム …… 47

バイオミメティック有機素子を用いた血中コレステロール計測用
センサーの開発 …… 53

バイオリアクターを中核とするＦＩＡ法による糖尿病関連物質の
高感度化学発光分析法の開発に関する研究 …… 58

全血のアドミッタンス計測による赤血球凝集（連銭形成）計の試作 …… 62

顔写真は研究責任者です。

低コヒーレンス光干渉計測による生体表皮下組織の構造検出と計測系の小型化に関する研究

研究責任者　大阪大学医学部保健学科　教授　春名正光
共同研究者　大阪大学大学院工学研究科電子工学専攻　教授　西原浩
大阪大学医学部保健学科　助手　近江雅人

1．まえがき

臨床現場ではより低侵襲な診断法が切望されており，光計測に対する期待は大きい。生体光計測分野の最近のトピックスの一つは低コヒーレンス光干渉計測であり，これは光の伝搬軸に沿って約10μmの分解能で反射面を特定できるという利点がある[1,2]。本研究では，この利点を活かして，生体表皮下組織の屈折率と厚さを分離測定して，高分解能な光イメージングを行うことを目的としている。我々はまず干渉光学系と微動ステージを融合した測定システムを構築して，高精度な屈折率と厚さ同時測定法を提案・実証した[3,4]。これをベースに，各種生体組織の屈折率測定を行うと共に[5]，その生理学分野および臨床診断への応用について検討してきた[6-8]。さらに，微小光学部品を用いて実用的な小型測定光学系を実現した[9]。本稿ではこれら一連の研究成果について述べる。

2．測定システムの構成および測定原理

2-1　干渉光学系と微動ステージの融合

低コヒーレンス光干渉計の特長は光源の可干渉距離（コヒーレンス長）で反射面を特定できることにある。この干渉計の参照光ミラーおよび測定サンプルを微動ステージに搭載して移動すれば，ステージの分解能で反射面の位置を決定でき，より高精度の光干渉計測が可能となる。図1に干渉光学系と1μm／ステップ微動ステージを融合した測定システムの構成を示す。光源は中心光波長850nm，コヒーレンス長～12μm，出力<3mWのスーパルミネッセントダイオード（SLD）であり，ピエゾトランスデューサ（PZT）上に蒸着ミラーを付着して参照光を500Hzで位相変調し，干渉光信号をフォトダイオード（PD）でヘテロダイン検波する。ステージの移動に同期して干渉信号を検出，サンプルホールド回路でピーク値検出を行い，コンピュータに信号データを取り込む。

2-2　屈折率と厚さ同時測定

図1の測定システムを用いて生体の屈折率測定と断層像検出（光イメージング）が行なえる。本節では，屈折率と厚さ同時測定の原理について述べる。まず，SLD光をレンズでサンプル前面に集光し，この状態で干渉信号出力が最大となるように参照光ミラーの位置を調整する（図1の$x=x_F$）。次に，サンプルを距離$\triangle z$移動してSLD光をサンプル後面に集光し，再び干渉信号出力が最大となるように参照光ミラーを移動する（$x=x_R$）。ここで，サンプル移動距離$\triangle z$とこれに対応する干渉計の光路長差$\triangle L$（$=x_R-x_F$）を測定できる。これらの実測量と波長分散を考慮したサンプルの位相屈折率n_p，群屈折率n_gおよび厚さtは，集光レンズの開口数をξとして，次式で関係付けられる。

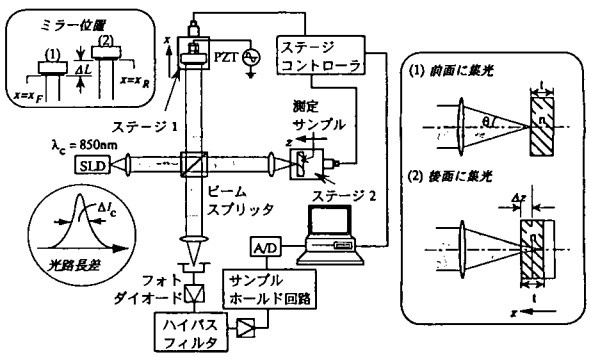


図1　低コヒーレンス干渉計と微動ステージを融合した測定システム

$$n_p = \sqrt{\xi^2 + (1-\xi^2)\left(\frac{L}{\triangle z}\right)^2} \qquad (1)$$

$$n_g = \frac{\triangle L + \triangle z}{t} \qquad (2)$$

厚さ t はサンプルを間隔t_0なる二枚のガラス板の間に固定して測定できる(図2)。サンプルとガラス板の空隙t_1, t_2は測定できるので,

$$t = t_0 - (t_1 + t_2) \qquad (3)$$

である。

図2のサンプルホルダーを用いて厚さ t を求め，次に実測量△Lと△zをもとに式(1), (2)から屈折率n_p, n_gを算出する。このとき，干渉信号出力が最大となるサンプルおよび参照光ミラーの位置を特定するために，ミラーステージを数μm間隔で変えながら，サンプルステージを繰り返し走査する(測定サンプル走査法)。厚さ～1mmのZカットサファイア板の測定結果を図3に示す。 t およびn_p, n_gの測定精度は各々0.1%, 0.2%であり，予想どおり高精度の屈折率と厚さ同時測定が実証できた[3, 4]。

上述の測定法を利用した生体屈折率測定については次章で述べる。

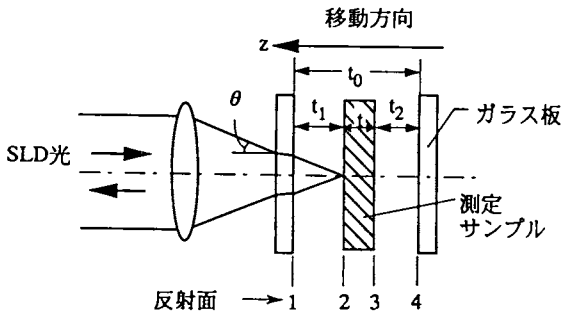


図2　測定サンプルホルダーの構造

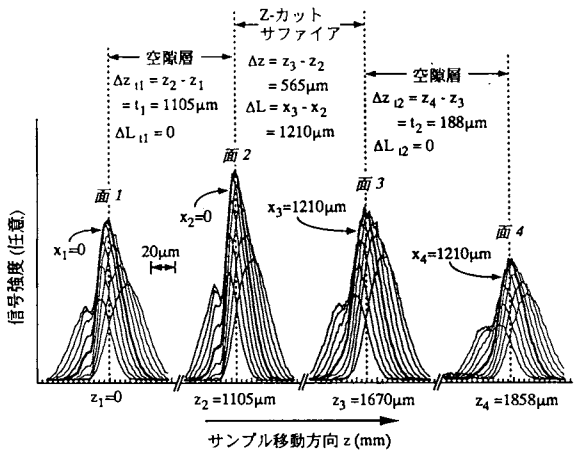


図3　Zカットサファイアにおける干渉信号強度パターン群

2-3　光イメージング

図1の測定系において，サンプルへの照射SLD光の位置を光伝搬軸に垂直な方向に変えながら，参照光ミラーを走査することによって，サンプルの光伝搬軸を含む断層像を容易に可視化できる。この断層像はSLD光のコヒーレンス長で決まる空間分解能(～10μm)で識別された光反射面を画像化したものである。したがって，生体内における異なる組織の境界，例えば血管壁や神経繊維網あるいは硬化した組織表面などをイメージングできる。

この光イメージングについては，目下，擬似生体の断層像検出を試みている。図4は数10μmオーダーの層状構造をもつ玉葱の中に，125μm径の光ファイバ素線を埋め込んだときの断層像である。検出感度が低く表層部0.5mm以内が見える程度であるが，微細な玉葱の層状構造が捕らえられている。また，光ファイバの断層像から明らかなように，光伝搬軸方向には光路長(n×t)でイメージングされる。したがって，表皮下の構造を10μmの分解能で検出するには屈折率と厚さの分離測定が必要である。

データ数100×100　、8μm／ステップ

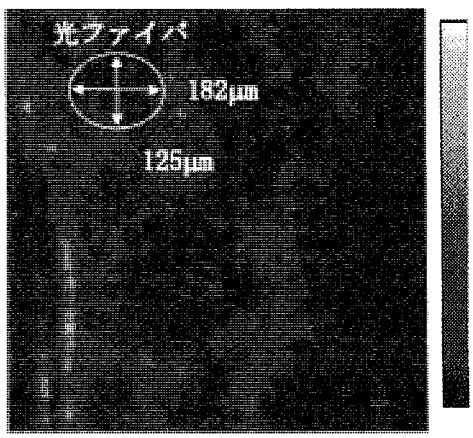


図4　光ファイバ素線を埋め込んだ玉葱の断層イメージ

3．生体屈折率の測定

3.1　軟・硬組織

第1次近似として，生体組織における屈折率nの波長分散を無視すれば，式(1)，(2)より，$n_p \fallingdotseq n_g = n$として

$$n^2 = \frac{1}{2}\left\{\xi^2 + \sqrt{\xi^2 + 4(1-\xi^2)\cdot\left(1+\frac{\triangle L}{\triangle z}\right)^2}\right\} \qquad (4)$$

である。前章で述べたとおり，開口数ξのレンズを用いてSLD光を生体サンプルに照射し，測定サンプル走査法で△zと△Lを実測すれば，上式からその屈折率nを算出できる。

軟組織の場合には，生体サンプルをガラス板で挟み込んで屈折率を測定した。鶏肉の測定結果を図5に示す。厚さ1mm以下であれば，容易に直進光成分を検出でき，n=1.441を得た。しかし，in vitro測定では水分の蒸発に伴なって屈折率が変化する。

一方，骨，歯牙などの硬組織では，光散乱が大きく，サンプルを薄片に研磨してその屈折率を測定した[5]。ヒト歯牙の測定結果を図6に示す。n, tの測定精度は1％以下であり，歯の表面のエナメル質と内部の象牙質の屈折率を明確に分離することができる。なお，骨のようにランダムな構造の硬組織では，一般に直進光を検出するのは困難である。これに対して，貝殻のように比較的規則正しい構造をもつ硬組織では，散乱が一様であるので直進光を捕らえ易く，屈折率測定も可能である。

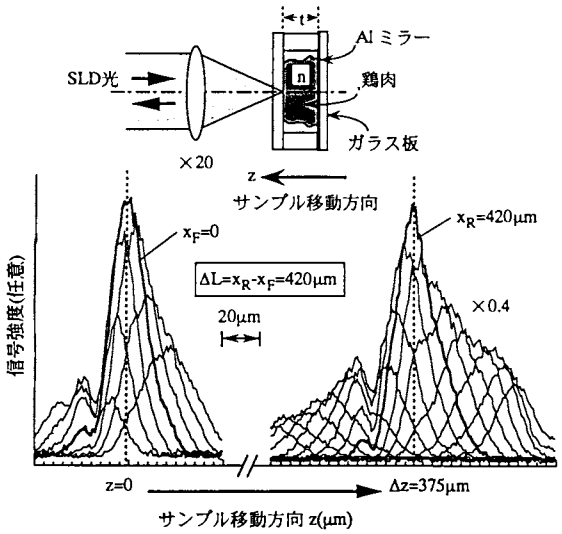


図5　鶏肉の屈折率測定結果

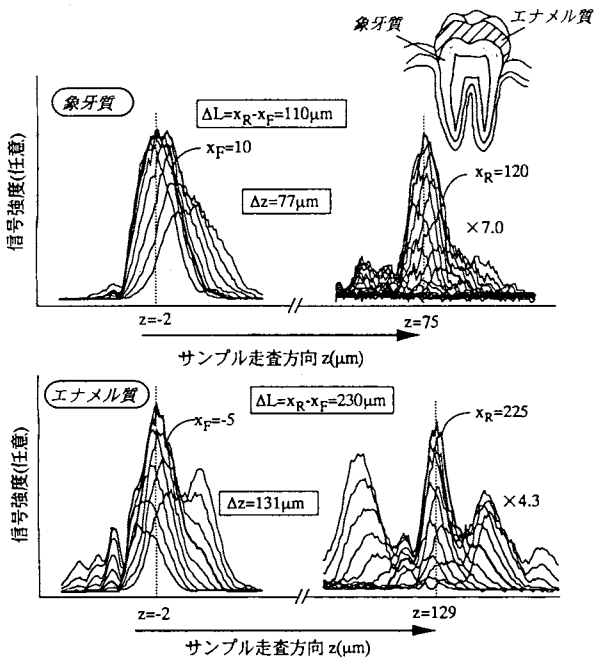


図6　歯牙の象牙質とエナメル質の屈折率測定

3.2　層状組織

概して，生体組織は組成の異なる（屈折率の異なる）層がいくつか重なり合って構成されている。このような層状構造の屈折率測定においては，各層の境界面からの反射光を全て検出し，これら反射面の位置（△z）とこれに対応する干渉計の光路長差（△L）を実測する。これによって，式(4)および前章の式(1)あるいは(2)を用いて，各層の屈折率と厚さを決定することができる。二層構造のカニの殻における前面，後面および内部境界面からの干渉反射信号を図7に示す。この結果をもとに各層の屈折率と厚さを精度～2％で決定した。

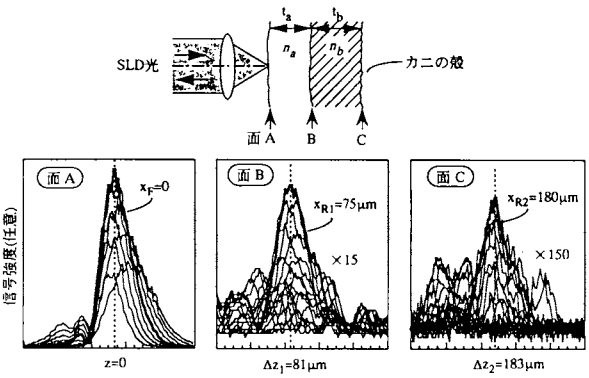


図7　層状組織（カニ殻）の屈折率と厚さの決定

3.3　生理学および診断への応用

生体組織の組成，密度などが変化するとその屈折率が変化する。したがって，前述の屈折率測定を利用して病変部と正常部の識別，あるいは生体組織の構造・密度変化の検出が期待できる。とくに，後者に関連して，最近我々はラット腸間膜（生体膜）が固相から液相に転移するときの屈折率変化を測定している。これによって，in vivoで生体膜の機能を分析する新たな生体光計測法の手掛かりが得られたといえる[6-7]。

4．測定光学系の小型化

生体組織の屈折率測定および表皮下構造の光イメージングのための装置（図1）を小型化する上で，当初は光

導波路・ファイバを用いた光集積化を意図していた。しかしながら，導波路・ファイバは波長分散が大きく，また干渉系の光路内に部品の挿入ができない等の不都合がある。そこで，微小光学部品を組み合わせて40×50cm²の光学ベンチ上に小型測定光学系を構成した(図８)。この光学系には，共焦点光学系と干渉光学系を分離するための電磁シャッタ，および数10μm厚の薄板測定に不可欠な分散補償素子が組み入れられている。本装置では，厚さ10μm～数mmの広範囲に渡って，n_p, n_g, t の自動測定が可能であり，t >0.1mmでは測定精度0.2%，t ～10μmでも精度は約１%である[9]。

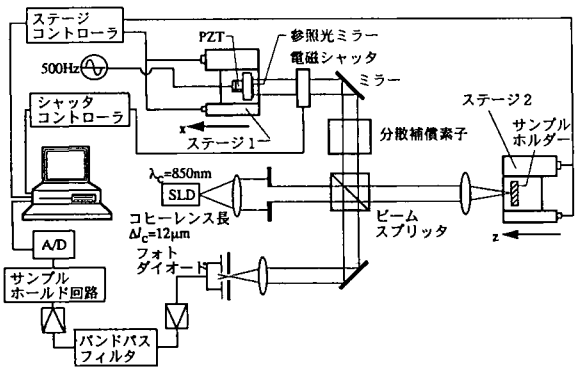


図８　実用的な小型測定装置の構成

５．まとめ

低コヒーレンス光干渉をベースとする生体表皮下の構造検出を目的として，研究を進めてきた。その結果，高分解能光イメージングを実現するために生体組織の屈折率と厚さ同時測定について検討し，精度～１%で軟・硬組織の屈折率を測定できることを実証した。この生体屈折率測定は，病変部と正常部の識別以外に，生体膜のin vivo機能計測・分析の有力な手段として生理学分野で活用されることが期待できる。さらに，屈折率と厚さ同時測定を考慮した光イメージングについて継続して検討を行っている。

文献

１）春名正光，　近江雅人，白石偉久，　田尻秀幸：光干渉による生体内部構造の検出，日本ME学会雑誌 BME，Vol.11，No.5，pp.34-40（1997）.

２）春名正光：生体光計測の現状と将来，光学，Vol.22，No.9，pp.456-460（1997）.

３）満山照樹，近江雅人，丸山英樹，春名正光：低コヒーレンス光干渉による屈折率と厚さ同時測定―位相・群屈折率の導入―，応用物理学会・光波センシング技術研究会，講演論文集，LST20-12，pp.85-92（1997）.

４）M. Haruna, M, Ohmi, T. Mitsuyama, H. Tajiri, H. Maruyama and M. Hashimoto: Simultaneous measurement of the phase and group indices and the thickness of transparent plates by low coherence interferometry, Optics Letters, Vol. 23, No.12, pp.966-968 (1998).

５）近江雅人，満山照樹，大西康仁，　余田浩次，永徳光照，春名正光：低コヒーレンス光干渉による薄板状生体硬組織の屈折率と厚さ同時測定，平成10年春応用物理学関係連合講演会，講演予稿集No.3，p.1008（1998）.

６）春名正光：医用光学の進展，応用物理学会・日本光学会（OPTICS JAPAN'98），講演論文集，19aC01，pp.245-246（1998）.

７）余田浩次，近江雅人，精山明敏，春名正光：低コヒーレンス光干渉による屈折率測定を用いた腸間膜の主相転移の検出，38回日本エム・イー学会大会，論文集，1B1-2，P.68(1999).

８）M. Haruna: Refractive index measurement of biological tissue by low coherence interferometry toward a new analysis / diagnosis in biomedical optics, Conf. Laser & Electro-Optics / Pacific Rim (CLEO/PR'99), Korea, Aug. 1999 (to be presented as an invited paper).

９）春名正光，近江雅人，井上将吾，丸山英樹，紙中伸征：低コヒーレンス光干渉による屈折率と厚さ同時測定，応用物理学会・光波センシング技術研究会，講演論文集，LST21-21，pp.145-152（1998）.

細菌解析フローサイトメーターの開発と実用検査手法の確立

研究責任者　広島大学大学院医学系研究科　教授　小澤孝一郎
共同研究者　広島大学医学部総合薬学科　教授　升島　努
広島大学医学部総合薬学科　教授　杉山政則
広島大学医学部総合薬学科　講師　田村敦史
広島大学医学部総合薬学科　技官　池田佳代

1．はじめに

1960年代後半から70年代にかけてフローサイトメトリーが開発されて以来，この技術は様々な分野に応用されており，とりわけ細胞生物学，細胞免疫学などの研究発展はこの技術に負うところが大きい。この測定原理は，蛍光色素で染色した細胞を，ラミナフローの原理（レイノルズの原理）を利用し，1個1個遊離した形で細い管（フローセル）中を一定の速度で通過させ，これにレーザー光を当て，それにより発した蛍光や散乱光の強度を電気信号に変換し，その細胞の大きさや性質を測定しようとするものである。この手法の開発により，1秒間に5,000という驚異的な数の細胞の計測が可能となった。

一般に，細胞の生死判別は，trypan bulue染色により顕微鏡下の計数で行われているが，最近，短時間で大量の計測が可能であるフローサイトメトリーによる細胞の生死判別も多く試みられており，抗癌剤の治療効果判定といった応用もなされている[1]。一方，細菌類の生死判別は，細胞に対し，その大きさ，細胞膜の構造の違いから，顕微鏡下による計数は困難であった。生細菌数の計数は，培地中で一定時間置き，コロニー数を数えるといった培養計数が一般的であったが，これにはある一定の時間を要することから，より迅速に計数を行う技術が模索され，フローサイトメトリーによりダイレクトに計数する方法もいくつか試みられている[2)~4)]。また，腎盂腎炎，膀胱炎などの疾患の診断に対して行われる細菌検査も，尿培養検査による培養計数が一般的であり，数種の培地を用い，尿を塗抹し，原因菌を検出する方法が特別な設備，器具を必要としないため普及している。しかし，これは抗菌剤など投与薬物の影響を直接受けるという欠点を併せ持つ。

尿沈渣は，腎・尿路系疾患の診断において重要な検査の一つであり，循環血由来の血球成分，剥離した腎尿路系上皮細胞類，腎の尿細管・集合管内で形成された円柱類，尿路感染に伴う微生物類，体内に摂取された物質や代謝産物に由来する結晶，塩類を含む。尿沈渣は，非侵襲の検査であるという利点を持つが，尿物性により経時変化を受けやすく，結果にかなりのばらつきが生じるという欠点を合わせ持つ。また，遠心分離などの前処理が煩雑であるうえ，鏡検による成分の同定，計数技術の習得には，多くの時間を要する。以上のような理由から，自動化による迅速処理が切望されていたが，その成分の多様性から自動化が遅れていた分野であった。

最近，フローサイトメトリー方式を応用して，全自動尿中有形成分分析装置（UF-100，東亞医用電子株式会社）が開発された[5,6]。UF-100は，前処理を必要とせず，1時間に100検体という高速分析が可能であり，簡便性，迅速性，高精度が要求される臨床現場での使用に適している。この装置は，尿中成分を2種類の蛍光色素で染色し，それぞれの粒子にレーザー光を照射して得られる前方散乱光と蛍光信号を測定することにより，多様な尿中有形成分の同定，計数を可能にした。

細菌計数において，UF-100では10^7/mlまで直線性が得られているが，UF-100では陽性であるが，尿培養検査では陰性となる偽陽性の例が報告されており，実際の臨床現場では解決されるべき問題であった。

以上のような理由から，本研究では，まず蛍光染色による尿中細菌類の生死判別を試み，これをUF-100に応用することにより，臨床現場で適用可能なシステムの開発を行った。

2．尿中細菌生死判別法の基礎的検討

2.1　実験方法

2.1.1 各種細菌の培養

Escherichia coli (*E. coli*)はLuria-Bertani培地(LB培地, 1g/l trypton, 5g/l east extract, 10g/l NaCl, pH 7.2)中で, *Staphylococcus aureus*(*S. aureus*)及び*Serratia marcescens*(*S. marcescens*)はNutrient培地(5g/l meat extract, 10g/l polypeptone, 2.5g/l NaCl, pH 7.1)中で, *Candida albicans*(*C. albicans*)はGlucose-Nutrient培地(10g/l glucose, 5g/l meat extract, 10g/l polypeptone, 2.5g/l NaCl, pH 7.1)中で, 各々37℃において, 一晩振とう培養し, 実験に用いた。

2.1.2 細菌の計数

細菌の計数は, バクテリアカウンター(萱垣医理科工業)での計数結果と, 分光光度計(UV-180, Shimadzu)での600nmにおける濁度の測定結果を合わせ, 予め検量線を作成し, 濁度を測定することにより行った。

2.1.3 蛍光顕微鏡による生菌及び死菌の観察及びUF-100による生菌及び死菌の計測

*E. coli*を70℃, 30分間加熱処理群と非処理群とに分け, それぞれを bis-(1,3-dibutylbarbituric acid)trimethine oxonol (DiBaC$_4$(3)), 5-or6-(N-succiimidyloxycarbonyl)-3', 6-O, O'-diacethylfluorescein (CFSE), calcein hexaacetoxymethyl ester (Calcein AM), 3'-O-acetyl-2', 7'-bis(carboxyethyl)-4- or 5-carboxyfluorescein (BCECF AM), acridine orange (AO), propidium iodide (PI), 4', 6-diamino-2-phenylindole (DAPI) で染色し, 蛍光顕微鏡下において観察した。また, *E. coli*, *S. aureus*, *S. marcescens*, *C. albicans*の非処理群及び70℃, 30分間加熱処理群の各々をDiBaC$_4$(3)を用いて染色し, UF-100で計測を行い, 蓄積されたデータをもとに再解析を行い, 比較検討した。さらに, LB培地中の10^6～10^7/mlの*E. coli*に, 尿路感染症治療薬として汎用されているオフロキサシン(OFLX)あるいはセファロチンナトリウム(CET)を尿中排泄濃度(OFLX 115mg/ml, CET 1.4g/ml)となるよう加え, 37℃, 1時間インキュベートした後, DiBaC$_4$(3)で染色し, UF-100により計測した。

2.1.4 尿中無形成分及び有形成分のDiBaC$_4$(3)染色後のUF-100による計測

0.2μmメンブランフィルター(ADVATEC)で尿を濾過し, 0.2μm以上の血球成分, 円柱や上皮細胞類, 微生物類などの尿中有形成分を除き, これを尿中無形成分サンプルとし, また, コントロール尿(ユリノコントロール, 東亜医用電子)を尿中有形成分サンプルとして各々DiBaC$_4$(3) で染色し, UF-100により計測を行った。

2.1.5 尿中細菌領域の解析

尿中細菌領域の解析は, UF-100からデータをコンピュータープログラム(IDA, P5-120/GATEWAY2000)上に移し, ヒストグラム・スキャッタグラムに変換し, 解析を行った。

2.2 結果

2.2.1 蛍光色素の選択

各種蛍光色素で染色した*E. coli*の蛍光顕微鏡写真を図1に示す。死菌はDiBaC$_4$(3), 生菌はCFSEにより, 選択的かつ効率的に染色された。DiBaC$_4$(3)で染色後, UF-100で測定し作成した生菌及び死菌のヒストグラムを図2に示す。死菌は, 生菌より蛍光強度の高い領域に分布していた。なお, *E. coli*及び*S. aureus*, *S. marcescens*は同じ感度で測定を行ったが, *C. albicans*は, これらとは異なり, 低めの感度で測定することにより生菌及び死菌の弁別が可能であった。また, 生菌および死菌を同量混合し, 作成したヒストグラム(図3)より, ピークの2つあるヒストグラムが得られた。尿中排泄濃度のOFLX及びCETで処理した*E. coli*は, UF-100で測定後, 作成したヒストグラム中で蛍光強度の高いところに分布していた(図4)。

2.2.2 DiBaC$_4$(3)染色による尿中他成分の染色状況

濾過尿をDiBaC$_4$(3)で染色後UF-100で計測を行った結果(図5)は, 超純水の測定結果とトータルカウント蛍光強度ともにほぼ同じであった。また, コントロール尿をDiBaC$_4$(3)で染色後UF-100で計測を行った結果(図6)より, 尿中他有形成分はDiBaC$_4$(3)で染色されるものもあったが, スキャッタグラム中で尿中細菌の出現する位置とは異なった位置に出現した。

これらの結果より, 細菌類の他に様々な成分を含む尿においても, 我々の開発した方法で尿中細菌類の生死判別が可能であると考えられた。

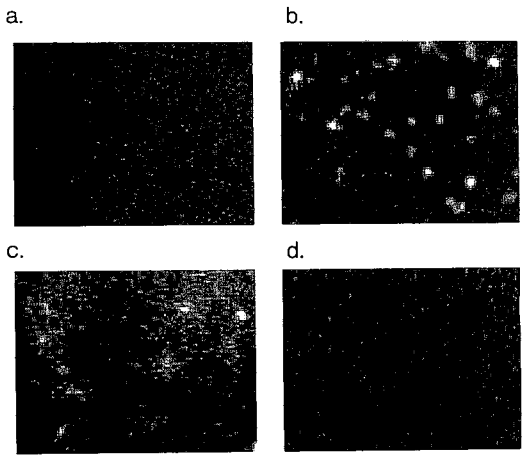


図1 蛍光染色した *E. coli* 像
*E. coli*の非処理群(a, c)および70℃, 30分間加熱処理群(b, d)を各々 DiBaC$_4$(3) 染色(a, b), CFSE染色した(c, d)。

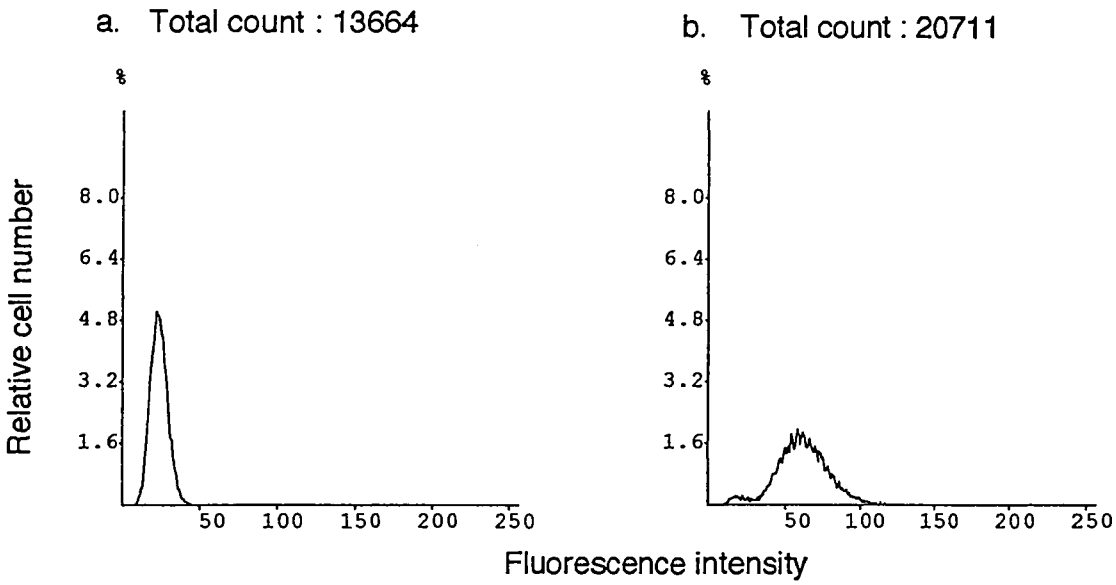


図 2　DiBaC₄(3) 染色による *E. coli* 生菌・死菌の計測
E. coli の非処理群(a)および70℃，30分間加熱処理群(b)の各々を1μM DiBaC₄(3) で染色し，UF-100による計測を行った。ヒストグラムの縦軸は，total count値に対する割合で表した(以下，全て同様)。

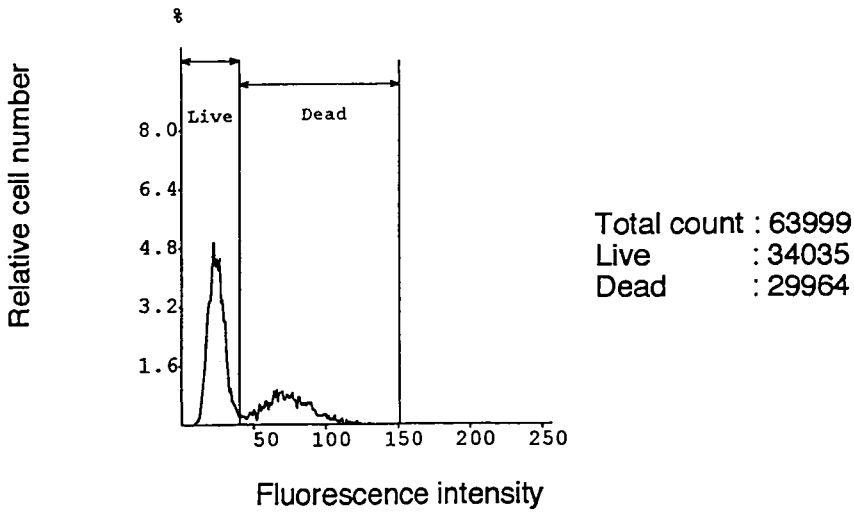


図 3　DiBaC₄(3) 染色による生菌・死菌混在時の計測
E. coli の非処理群および70℃，30分間加熱処理群の各々を 10^7/mlずつ混合し，1μM DiBaC₄(3) で染色し，UF-100による計測を行った。

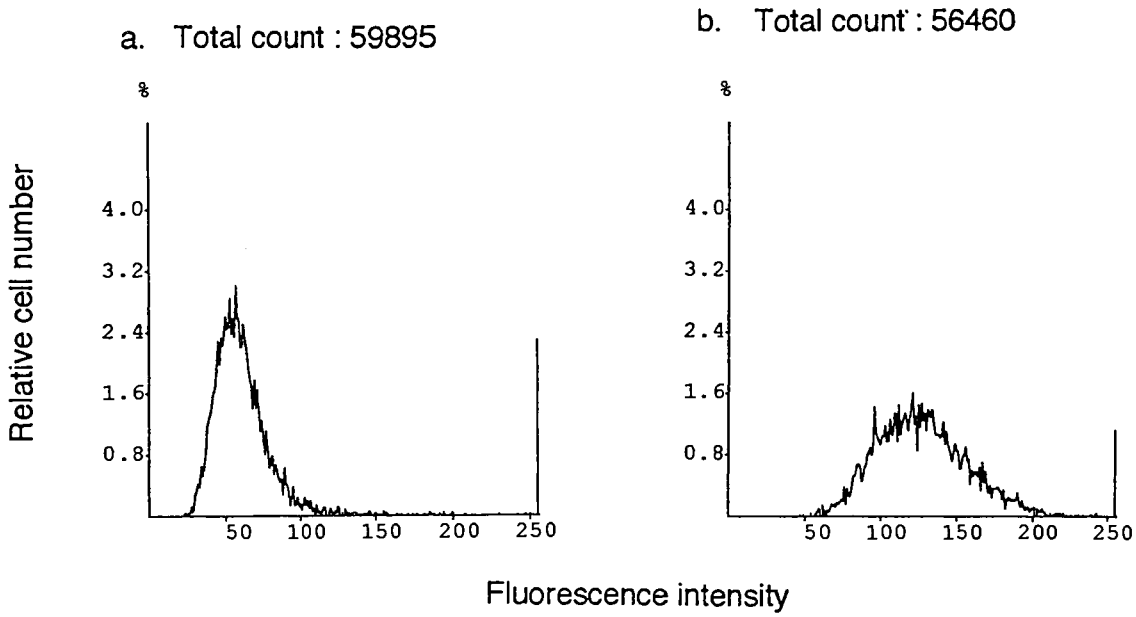


図 4　抗菌剤処理による *E. coli* の計測
E. coli を OFLX(a)および CET(b)で処理し，1μM $DiBaC_4(3)$ で染色し，UF-100による計測を行った。

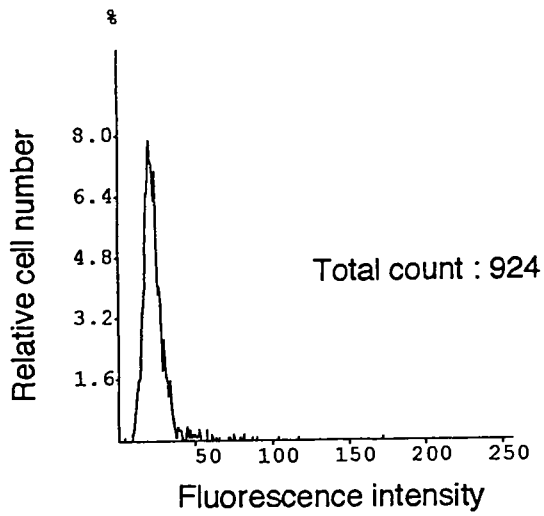


図 5　$DiBaC_4(3)$ 染色による濾過尿の計測
0.2μmメンブランフィルターで濾過した尿を，1μM $DiBaC_4(3)$ で染色し，UF-100による計測を行った。

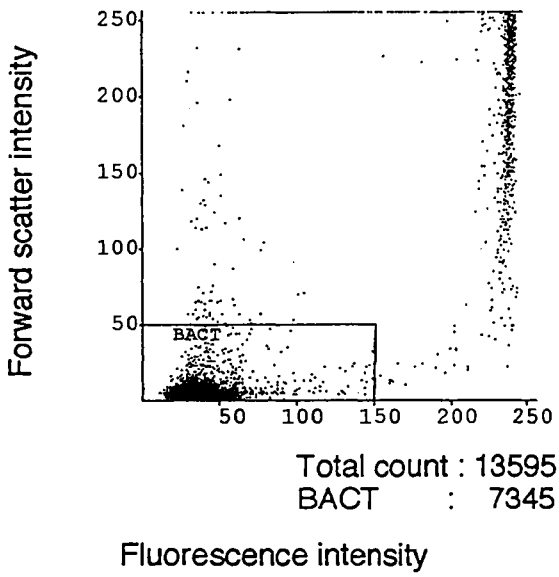


図 6　$DiBaC_4(3)$ 染色によるコントロール尿の計測
コントロール尿を，1μM $DiBaC_4(3)$ で染色し，UF-100による計測を行った。

3．UF-100における偽陽性例の検討

広島大学医学部総合薬学科3年生59名において，平常時尿と運動後尿を採取し，UF-100での計測ならびに，尿定量培養，$DiBaC_4(3)$染色による尿中細菌の生死判定を行い，UF-100での計測において偽陽性となった例を省くことができないか検討を行った。

3.1. 実験方法

3.1.1 尿の採取方法及び尿の解析方法

広島大学医学部総合薬学科3年生59名(20～22歳の男子19名，女子40名）の随時中間尿と，約10～15分間のマラソン後，運動後中間尿を採取した。ここで運動後尿の検討も行ったのは，運動により新陳代謝が促進され老廃物の尿中排泄が高まること，発汗が高まり尿が濃縮されると考えられること等の理由による。

各々の尿で，UF-100による尿中有形成分の計測を行った。

次に，1mM $DiBaC_4(3)$で，室温10分間染色後，UF 100による計測を行い，尿中細菌領域の生死解析を行った。また，尿中有形成分の測定で，白血球数と尿中細菌数が陽性となったものについて，尿定量培養を実施した。尿定量培養は，市販のディップスライド(ウリカルトE，第一化学薬品工業)を用いて行った。これは，CLED培地，MacConkey培地，Enterococcus培地の三種類の培地から構成されたディップスライドで，CLED培地では大部分の病原性細菌の検出が，MacConkey培地ではグラム陰性桿菌の検出が，Enterococcus培地では腸球菌類の検出が可能である[7]。

3.2 結果

59名の平常時中間尿及び運動後中間尿の118例中，尿中有形成分測定で，白血球数，尿中細菌数共に陽性となった例は，25例であった。そのうち，定量培養で細菌数が10^5/ml以下，つまり定量培養で陰性，UF-100による計測で陽性となった例，すなわち偽陽性と考えられた例は，19例であった。19例中，$DiBaC_4(3)$染色による尿中細菌領域の生死解析で，細菌領域に出現する成分の90%以上が死菌領域に現れたものは18例，生菌領域・死菌領域混合型が1例であった。また，定量培養で細菌数が10^5/ml以上，すなわち，定量培養でも陽性，UF-100による計測でも陽性となったものは6例であった。6例中，$DiBaC_4(3)$染色による尿中細菌領域の生死解析で，細菌領域に出現する成分の85%以上が生菌領域に出現したものは2例であった。また，生菌・死菌混合型と判定されたものが4例であった。

前述のように，定量培養で陰性，UF-100による尿中有形成分の測定で尿中細菌が10^5/ml以上となった偽陽性の19例について，19例全てにおいて$DiBaC_4(3)$染色による尿中細菌領域の生死解析により死菌領域に粒子が出現したことから，偽陽性の例は我々の方法により排除可能であると判断される。

4．フローサイトメトリーによる尿中細菌の生死判別とその臨床応用

腎盂炎，膀胱・尿道炎など腎尿路系の感染症を疑う場合や新鮮尿にも関わらず混濁が見られ，尿沈渣中にも白血球あるいは細菌類が多数出現していれば，無菌的に採取した新鮮中間尿の細菌塗抹・培養・同定・感受性試験を行う。この際，まず最初に塗抹標本のグラム染色で，グラム陽性，陰性，球菌，桿菌かを確認し，抗菌薬選択の参考にする。定量培養で菌数が10^5/ml以上，あるいは10^4/mlでも同じ菌が繰り返し検出されれば尿路感染症と診断できる。起炎菌は単性尿路感染症の場合，大腸菌がもっとも多い。また，尿路感染症の迅速診断のために，尿中白血球と細菌の代謝産物とを検出する生化学的なスクリーニング検査もいくつか試みられている。

白血球の判定は，好中球のエステラーゼ活性を紫色のアゾ色素の産生で判定する。尿試験紙で容易に判定できるが，腫瘍，尿路結石などの非感染性炎症疾患でも増加する。

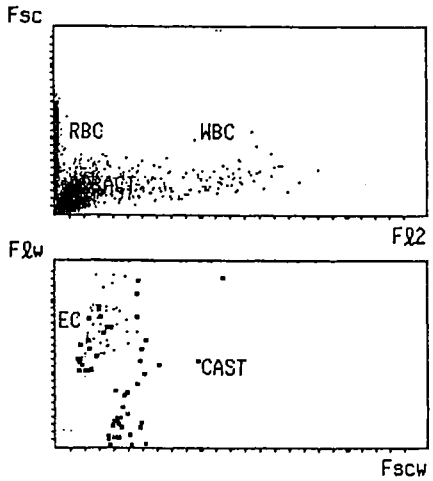
細菌の代謝産物を検出する方法としては，亜硝酸塩試験，triphenyl tetrazolium chloride(TTC)還元試験，カタラーゼ試験がある。亜硝酸塩試験では，尿中の細菌が尿中の硝酸塩を還元して亜硝酸塩にし，亜硝酸塩はその後のジアゾ反応で赤色に発色する，という原理により検出を行っているが，尿試験紙で容易に検査できるが，偽陰性は，硝酸塩が存在しない尿，硝酸塩還元能陰性の細菌(腸球菌類など)による尿路感染症で見られる。TTC還元試験は，無色のTTCが細菌の代謝産物により還元されて赤色～レンガ色のtriphenyl formazanの沈殿を生じることによる。カタラーゼ試験は，細菌が産生するカタラーゼが過酸化水素を分解して酸素を発生し，この気泡の有無から細菌尿を判定する。レンサ球菌や，腸球菌は，カタラーゼ活性が陰性なので，偽陰性となる。反対に，上皮細胞，血球などの有形成分はカタラーゼを産生するので，偽陽性となる。しかし，結局これらの試験法は信頼性が低いので，定量培養法に頼っているのが実際である。そこで，フローサイトメトリーによる尿中細菌の計数が可能となれば，迅速な診断につながり，かつ細菌類の生死まで判定できれば，抗菌剤の効果が培養の結果を待たずに迅速に判定できるのではないかと考えられる。

ここでは，広島大学医学部附属病院泌尿器科との共同研究により，我々が開発した尿中細菌類の生死判別法を利用して，本法の臨床応用の可能性を探るため，慢性的複雑性の例も含め，様々な症例において検討を行った。

症例

性別：男	年齢：70	入院
基礎疾患	膀胱癌 (膀胱全摘除術および回腸導管造設術施行後)	
留置カテーテル	なし	
採尿法	回腸導管	
抗菌剤	Fosfomycin	
その他	腸液混入	

尿中有形成分測定結果



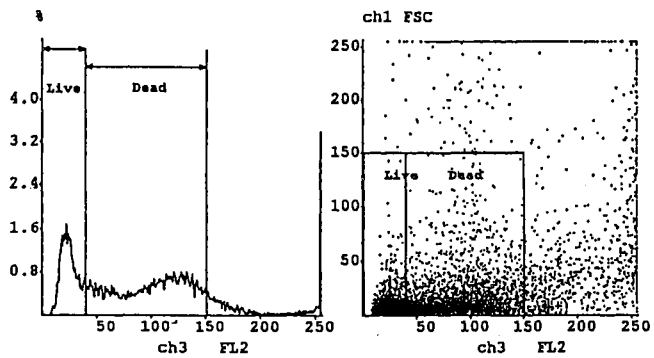
RBC	417.2+	[/μL]	75.1[/HPF]
WBC	30.4+	[/μL]	5.5[/HPF]
EC	12.0	[/μL]	2.2[/HPF]
CAST	4.34+	[/μL]	12.59[/LPF]
BACT	41807.5+	[/μL]	7525.4[/HPF]

Path.CAST +	X'TAL
SRC	SPERM
YLC	

RBC-Info. Dysmorphic ?

OB/Hb	PRO
L.Est.	NIT

尿中細菌領域生死解析



Total count : 12475
Live : 3744
Dead : 3053

定量培養結果
CLED 培地 : 10^5/ml
MacConkey 培地 : 10^4/ml
Enterococcus培地 : (-)

図 7　泌尿器科患者症例における抗菌剤投与時の生菌・死菌の計測
提示症例患者尿を1μM $DiBaC_4(3)$ で染色し，UF-100による計測を行った。

4.1 実験方法

広島大学泌尿器科入院・外来各患者から採取した尿(採尿方法は，各々中間尿，カテーテル尿など各検体の情報とともに結果に示す)を用い，UF-100での尿中有形成分の計測と$DiBaC_4(3)$染色による尿中細菌領域の生死解析を行った。また，あわせて尿簡易定量培地・ウリカルトEによる培養計数を実施し，比較した。この時，抗菌剤の投与のある検体については，10～20倍に希釈して培養に用いた。

4.2 結果

今回測定を行った11症例は，尿中有形成分測定で全て細菌尿と判定された。このうち1例については，定量培養結果で陰性となった。定量培養で陽性となった10例について尿中細菌領域の生死解析で生菌領域に現れたものが2例，生菌領域と死菌領域に混在して現れたものが8例であった。定量培養で陰性となったものについては，尿中細菌の生死解析では，生菌死菌混在型であった。また，$DiBaC_4(3)$染色による細菌の生死判別を行った場合，抗菌剤投与患者においては，投与量及び投与期間と生菌／死菌の比率とは正の相関を示した（抗菌剤投与の1例を図7に示す)。

5．結語

フローサイトメトリーによる尿中細菌の生死判別とその臨床応用を試みた結果，以下の成果を得た。

①尿中細菌生死判別法の確立

$DiBaC_4(3)$染色法を用い，UF-100における尿中細菌の生死判別が可能なシステムの開発に成功した。

②UF-100における偽陽性例の検討

UF-100では，尿中有形成分の測定において尿中白血球数，尿中細菌数が高い値を示すにも関わらず尿定量培養で陰性となる例が存在するが，我々の開発した$DiBaC_4(3)$染色法により，この偽陽性の排除が可能となった。

③臨床応用

我々の開発した$DiBaC_4(3)$染色による尿中細菌の生死解析の臨床応用の可能性を検討した結果，尿中細菌の生菌数は，抗菌剤投与と良い相関を示しており，臨床現場での迅速判定への応用が可能となった。

本研究成果は，第12回生体成分の分析化学シンポジウムにおいて発表した。

文献

1．高橋　克俊，海老原　和雄，本田　恭成，西川　清広，喜多　瑞子，大村　美奈子，芝崎　千恵子（1982）〝cis-dich-lorodiammineplatinum(II)の抗腫瘍効果及び細胞周期内進行に及ぼす作用〞癌と化学療法**9**，624-631.

2．Mason, D.J., Lopéz-Amorós, R., Allman, R., Stark, J.M. and Lioyd, D.（1995）"The ability of membrane potential dyes and calcafluor white to distinguish between viable and non-viable bacteria" *Journal of Applied Bacteriology* **78**, 309-315

3．Diaper, J. P., Tither, K.,Edwards, C.（1992）"Rapid assessment of bacterial viability by flow cytometry" *Appl Microbiol Biotechnol* **38**, 268-272

4．Kaneshiro, E. S., Wyder, M. A., Wu, Y-P, and Cushion, M. T.（1993）"Reliability of calcein acetoxymethyl ester and ethidium homodimer or propidium iodide for viability assessment of microbes" *Journal of Microbiological Methods* **17**, 1-16

5．鳥居　国雄，岡田　敏春，飛田　征男，井村　敏雄，市川　雅彦，鈴木　亨，下条　文武（1997）"全自動尿中有形成分分析装置UF-100の基礎的検討" *JJCLA* **22**，107-112.

6．勢納　八郎，海川　義夫（1996）"尿中有形成分分析装置「UF-100」の使用体験"新医療8月号，112-116.

7．内田　幸江，小堀　一乃，望月　一雄，森　三樹雄（1993）"尿簡易定量培地"ウリカルトE"についての検討" 埼玉県臨床検査技師会誌 **40**，89-92.

コンピュータ支援による尿検査バリデーションシステムの研究

—尿一般検査の検証システム開発に関する基礎的研究—

研究責任者：川崎医科大学検査診断学　教授　松田信義
共同研究者：川崎医科大学検査診断学　助教授　市原清志
川崎医科大学検査診断学　講師　石田博
川崎医科大学検査診断学　加藤卓司
川崎医科大学検査診断学　富山由紀
川崎医療短期大学臨床検査科　助手　岸本光代

日常診療で最も多用されている尿一般検査については，健常群と病態（疾患）群の振り分け基準がなく，その有効性は未だ計量的に評価されていない。そのため診療に携わる医師は，各自が診療経験や学習・研修によって培った，経験則（ノウハウ）を用いて，徴候や検査値から病態（疾患）を読み取っているのが実状である。それ故，同じ患者の徴候や検査値に対しても，各医師によって，その疾患読み取りには大きな差違が生じ，そのために異なった判断につながることすらある。そして，このような尿検査をめぐる諸問題は早急に解決すべき課題とされながらも今日に至っている。一方，近年におけるコンピュータとソフトウェアの進歩は目覚ましく，その一端は，PentiumやWindows, Internet, そして各種の市販アプリケーション・ソフトに見られる。そして今では，大規模な検査データを適切に処理し得る程のコンピュータとそれに必要な高性能のアプリケーション・ソフトを利用できる環境が整っている。

そこで当研究室では，尿一般検査による診断支援の実現化を目指して，尿検査の検証システム開発に関する基礎的な研究をすすめることにした。本研究開発の目的は，1．ハズレ値（論理的にあり得ない異常値，矛盾値）の点検と対策，2．健常群，保留群，糖尿病・腎尿路系の各疾患群の大枠振り分け，3．マルチメディア医学専門知識の検索・参照・閲覧の3機能を実現することとした。

【対象及び方法】

1．対象検査と測定法

検討対象は尿一般検査で，肉眼的な判定の3項目（種類，色調，混濁），自動分析装置（ユニフレットII-8C，スーパーオーションアナライザーII：京都第一科学）による8項目（PH，蛋白定性，糖定性，潜血反応，比重，ケトン体，ビリルビン，ウロビリノゲン），及び沈渣鏡検（標本作製：日臨技の尿沈渣検査法[6]）による9項目（赤血球，白血球，扁平上皮，非扁平上皮：移行上皮＋小円形状上皮，硝子円柱，非硝子円柱，細菌，粘液糸，その他（脂肪球，真菌，精子など）とした。

2．検査値のスコア化

検討対象の各検査値の表示とそのスコア化は表1に示す基準に従って行った。

3．検討用の尿一般検査データ・ベースの作成

1）尿一般検査データの収集

検討用のデータとして，平成4・5年に川崎医科大学附属病院の中央検査部で行った，検査データ・ベースより男性152,597件，女性185,904件，総計338,501件の尿一般検査データを抽出して集めた。

2）病名データ付き尿一般検査データ・ベースの作成

今回の検討疾患は，尿一般検査にしばしば異常をきたし，日常診療においても有病率の高い糖尿病と腎尿路系疾患（12種類）を対象とした。そして各疾患の症例は，平成4年と5年度のICD9（国際疾病分類，第9版）に準拠した病名データ・ファイルから総数1,450症例を選び出した。次いで，これらの各疾患群の各患者に対して行われた全ての尿検査データをリンクさせて，病名データ付き尿一般検査データ・ベースを作成した(図1)。その際，各疾患の初回新鮮尿についての尿一般検査データは累積スコアの計算式及び判別関数の誘導とその有効性を検証するために利用した。一方，各疾患群の時系列の尿一般検査データは累積スコア法による検体取り違い点検用カットオフ値の設定及びその検証のために利用した。

表1　検査結果の表示とそのスコア化

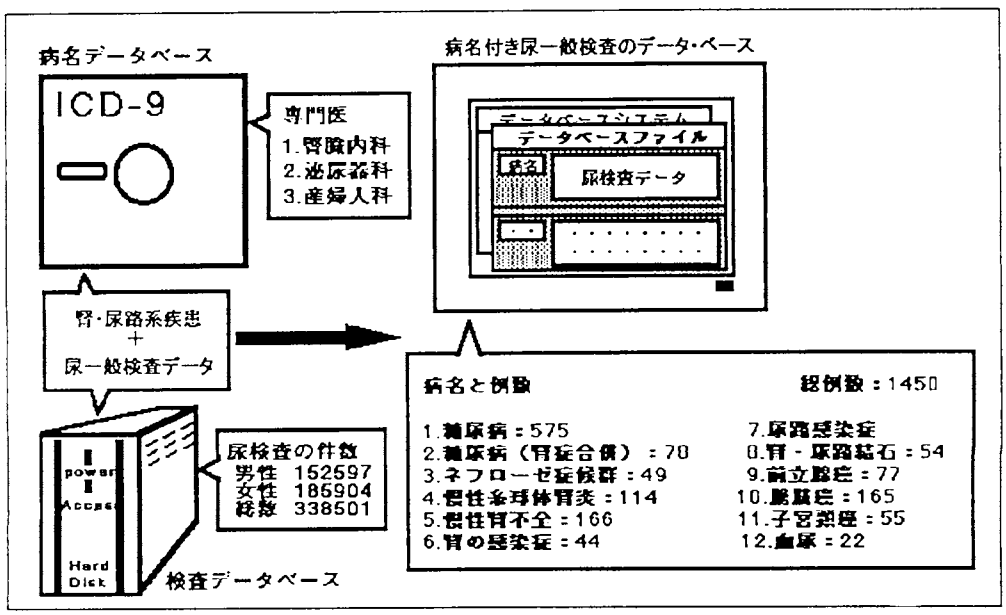
性別		種類		色調		混濁		pH	蛋白定性		糖定性	
値	スコア	値	スコア	値	スコア	値	スコア	数値	値	スコア	値	スコア
M	1	新	1	麦わら	1	1＋	1		1＋	1	1＋	1
F	2			赤黒	2	2＋	2		2＋	2	2＋	2
				赤	3	3＋	3		3＋	3	3＋	3
				黄	4	ナシ	0		ー	0	ー	0
				蛍光	5	±	0.5		±	0.5	±	0.5

ケトン体		ビリルビン		潜血		ウロビリノーゲン		比重	非扁平上皮	
値	スコア	値	スコア	値	スコア	値	スコア	数値	値	スコア
1＋	1	1＋	1	1＋	1	1＋	1		ー	0
2＋	2	2＋	2	2＋	2	2＋	2		＋	1
3＋	3	3＋	3	3＋	3	3＋	3		※非扁平上皮: 移行上皮 小円形細胞	
ー	0	ー	0	ー	0	4＋	4			
±	0.5			±	0.5	ー	0			
						N	0.5			

赤血球			白血球			結晶		非硝子円柱		粘液糸	
値		スコア	値		スコア	値	スコア	値	スコア	値	スコア
0	0～3	1	0	0～7	1	ー	0	ー	0	1＋	1
1, 1～8	2～10	2	1～8	3～10	2	多いものから3つとその他	1	1＋～3＋	1	2＋	2
6～40	12～50	3	1～45	15～50	3					3＋	3
35～80	55～90	4	40～85	60～95	4					ー	0
多数		5	多数		5					±	0.5

細菌		その他	
値	スコア	値	スコア
1＋	1	ー	0
2＋	2	多いものから3つとその他	1
3＋	3		
ー	0		
±	0.5		

図1　病名付き尿一般検査データベースの概念図



4．多項目尿検査の潜在基準値標本の作成

1）潜在基準値標本を抽出するための尿検査とそのカットオフ値

尿一般検査データ・ベースの中に混在している各検査の潜在基準値標本を抽出するための尿検査とそのカットオフ値は，表2に示すように各検査の基準値に近似した値を用いた。

2）尿一般検査データ・ベースの中に混在している潜在基準値標本の抽出方法（図2）

表2　潜在している基準値抽出のためのカットオフ値

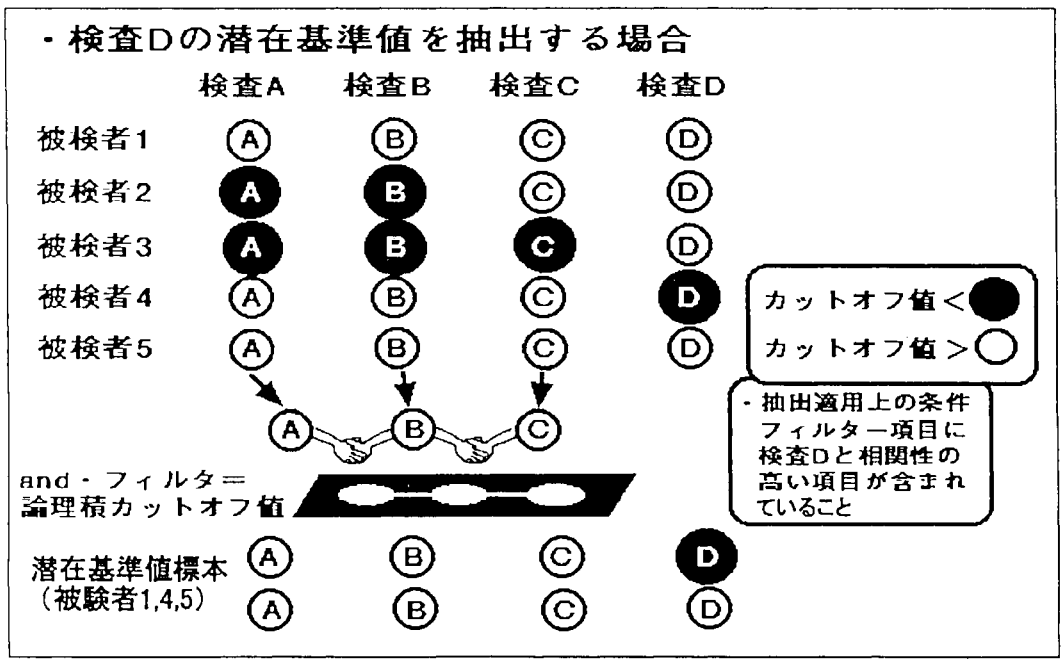
項目	カットオフ値
種類	新鮮尿
色調	麦わら色
混濁	なし
比重	1035以下
pH	5.5～7.5
蛋白	ー、±
糖	ー
アセトン	ー
ビリルビン	ー
ウロビリノーゲン	±
潜血	ー、±
扁平上皮	0～3
赤血球	0～3
白血球	0～3
円柱	0/全視野
粘液	ー、±
細菌	ー

ここでは簡単のため，A，B，C，Dの4種類の検査よりなる患者のデータ・ベースの中から検査Dの潜在基準値標本を抽出する場合を想定して解説する。まず，A，B，C，Dの検査値が，全て各検査のカットオフ値より小さくなるようなA，B，C，Dの検査データのセット（潜在基準値標本）を抽出する。しかも，検査Dが検査A，B，Cのどれか1項目以上と有意な相関性を示す場合を想定すると，抽出された検査データ・セットは検査Dの潜在基準値標本とみなすことができる。同じような手順で検査A，B，Cの潜在基準値標本を作成した。

3）多項目尿検査の潜在基準値標本の作成

今回は10項目（混濁，蛋白定性，糖定性，潜血反応，赤血球，白血球，粘液，細菌，上皮細胞及び円柱）の潜在基準値標本より，それぞれ40件のデータ・セットを選びだし，それらをMIX-UPして400件からなるデータ・ファイルを作成した（多項目尿検査の潜在基準値標本）。この手順により，世代別（学童，青年，成人，高齢者）・男女別による8群の潜在基準値標本（健常相当群）を準備し，散布図を作成した。これらのデータ・ファイルは累積スコア法の特異性（度）を評価する際に利用した。なお，上記の10項目以外の尿検査の陽性率はどの疾患群においても低値であったので，今回は検討項目から除外した。

図2　潜在基準標本を抽出する方法



5．累積スコア法とその評価法

ここでは便宜上，健常相当群と慢性糸球体腎炎群を振り分ける事例で累積スコア法の考え方とその評価法について解説する（図3）。先ず，尿一般検査10項目（経験によって対象疾患の振り分けに有効とわかっている検査項目）の検査値をスコアに変換する。ついで，患者の各尿検査値のスコアに対し，おおよそ基準値の上限にカットオフ・スコアを設定して，各検査における感度（陽性率）を調べた。その結果，真陽性率（感度）が上位の2項目は蛋白定性と潜血反応であった。即ち，蛋白定性の基準値（正常値）はマイナスであり，そのスコアは0となる。そこで，これをカットオフ値にとると感度は90.4％となった。潜血反応は基準値のスコアが0.5以下であるので感度は71.9％となった。その際，潜在基準値標本（健常相当群）の陰性率（特異度）は95％以上が得られた。次いで，これら2項目の検査値のスコアを各患者について累積（加算）してその分布をとると，カットオフ値が0.5で感度は98.2％，1.0で96.5％となり，1項目より有意に高い感度が得られ，しかも高い特異度が維持できることが明らかとなった。以上のように健常者と患者を効率的に振り分けるためには，各検査値のスコアを累積（加算）することにより，特異度を低下させることなく，有意に高い感度を得ることができることが判明した。

そこで上記の手順にそって，健常者相当群と各疾患患者を振り分けるための適正な検査項目を選択し，次いで累積スコアを計算し，その分布図を作成した。

6．12疾患の多変量解析

1）クラスター分析

尿一般検査10項目の平均スコアを用いて，12種類の疾患群間の類似度をユークリド平方距離により，各クラスター群の併合をウォード法により，クラスター分析して，疾患群間の類似度分析を行った。

2）正準判別分析

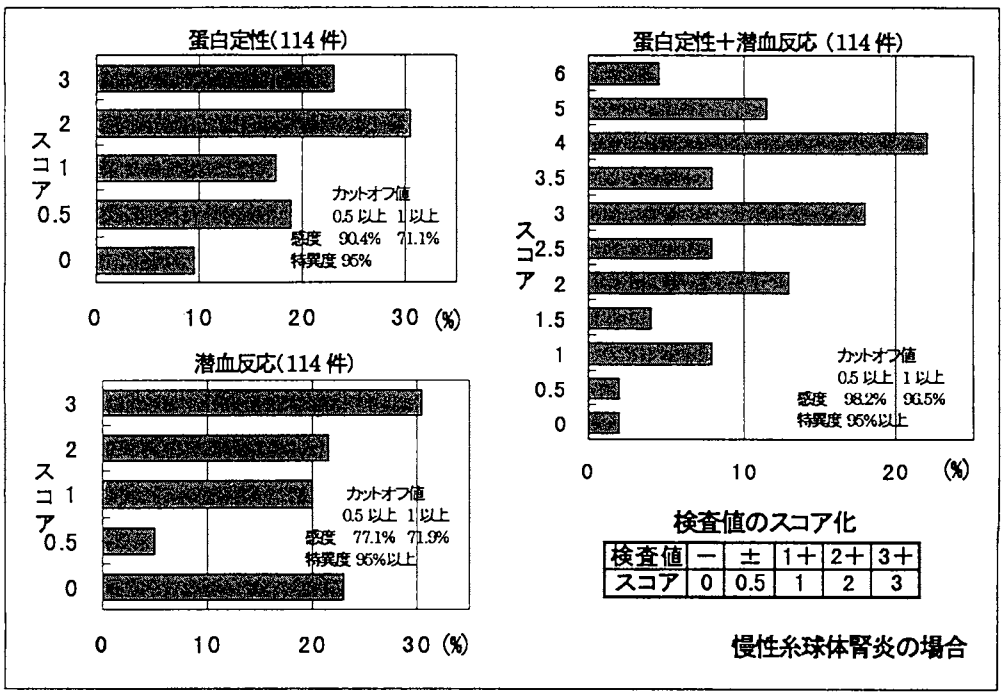
クラスター分析により大別した疾患群について，任意に選んだ2疾患群の正準判別分析を行い，誘導した正準判別関数より正準得点を計算し，その度数分布図を作成した。次いで，これらの分布図を参照して，妥当な疾患群の大枠振り分けをするための判別尺度を作成した。そのために，分布図上の2カ所にカットオフ値を設定して，3つの領域を区分けし，各領域を得点の小さい方から，判別対象1，判別保留，判別対象2と定義した。

7．ハズレ値とその検出用カットオフ値の設定法

ここでは，健常群および疾患群の検査値として，あり得ないような極端な異常値をハズレ値（又は矛盾値）と定義し，潜在基準値，累積スコア及び正準得点のハズレ値を下記のようにして設定した（添付のCD-ROM参照）。

各検査の潜在基準値の度数分布図を参照して，その最高のスコア値より累積して，全データの約1.0％以下の範

図3　尿一般検査を用いた累積スコア法における適正項目の選択基準



囲にはいるものをハズレ値と決め，その時の限界値を検出用のカットオフ値（スコア）とすることにした。同様にして，各疾患の累積スコアのカットオフ値を設定した。疾患群間の正準得点のカットオフ値は，分布図における最大及び最小のスコア値をカットオフ値とした。

8．健常群と疾患群の検体取り違い判別尺度

12疾患の累積スコアの各度数分布図上に，2つのカットオフ値を設定し健常群，判別保留群及び疾患群の3領域に区分けし，これらを検体取り違いの判定尺度として使用した。その際，カットオフ値は，各疾患の度数分布図を参照して恣意的に決めることにした。

9．病名データ付き尿一般検査データ・ベースの検索・参照

1）データ・ベースの検索・閲覧プログラム作成

各種の検査に対し，それぞれ任意の検査値をフィルターとして設定する。次いで，これらのフィルターをかけた状態でデータ・ベースを検索し，該当する尿一般検査データを収集したり，又は疾患名（病名）データを抽出し参照したりするアプリケーション・プログラムを作成した。

2）検査値の分布図の作成・閲覧プログラム作成

任意の検査項目を指定し，その項目の度数分布図や2次元の散布図を作成し，これらを参照できるアプリケーション・プログラムを作成した。

10．関連医学情報の閲覧Webページの制作

1）尿一般検査技術情報の閲覧Webページ

尿一般検査の早見表は，臨床検査の手引き（第5版，川崎医科大学附属病院中央検査部発行）から引用した。各尿検査項目や尿自動分析機器の解説は各メーカーのWebページや電子医学書を参照できるようにした。

2）尿一般検査の診断上有用な知識閲覧Webページ

添付のCD-ROM参照。

11．関連電子医学書籍の準備・参照

今日の診療，ハイパー臨床内科，Laboratory medicine，MAXX，Brenner CD-ROM for the kidney，最新医学大辞典などのマルチメディア電子医学関連書籍を準備し，これらを自在に参照できるようにした。

12．データ処理・統計解析・HTML文書作成

病名データ付き尿一般検査データ・ベースはMicrosoft Access(Ver2.0)を用いて作成した。潜在基準値標本の抽出や潜在基準値標本のデータ・ベースの作成および検索・参照などの応用プログラムはMicrosoft Visual Basic(Ver4.0,5.0)を用いて作成した。潜在基準値標本の年齢差・性別差についてのχ^2乗独立性の検定はStatFlex (ViewFlex) を用いて行った。データ処理結果の作図はMicrosoft EXCEL(Ver5.0)を用いて行った。多変量解析（クラスター分析，正準判別分析など）は統計解析ハンドブック（田中・垂水編，共立出版，1995）に添付されたプログラムを用いて行った。知識表現にはXpertRule for Windows(カスタムカパニー)を用いた。尿検査技術情報，尿検査疫学情報及び関連臨床医学情報はFrontPage 97，98（Microsoft）及びHome Page Builder(Ver1.2,IBM)を用いてHTMLにて制作し，閲覧はNC(Ver3.0以降,Netscape)又はInternet Explorer (Ver3.0以降,Microsoft)を用いて行った。コンピュータは，FMV-6200T4，PC9821Xa10（1台），Xa13（2台）を使用した。OSはWindows95,Windows NT(Ver3.51,4.0)，文書・図表の作成はMicrosoft Office95,98を用いた。

【結　果】

1．ハズレ値検出用カットオフ値

1）潜在基準値のハズレ値とその検出用カットオフ値

各検査の潜在基準値標本についての，年齢階層別と性別による度数分布図は添付のCD-ROMに示したが，各検査のハズレ値検出用カットオフ値としては恣意的に各検査についての最大値を選ぶことにした。

2）累積スコアのハズレ値とその検出用カットオフ値

12種類の疾患における各累積スコアの分布図は添付のCD-ROMに示したが，各疾患のハズレ値検出用カットオフ値としては恣意的に各疾患群における最大の累積スコアを選ぶことにした。

3）正準得点のハズレ値とその検出用カットオフ値

II群とIV群，及びII群とV群の正準判別におけるハズレ値検出用カットオフ値としては，恣意的に各判別における正準得点の最小値と最大値を選ぶことにした。

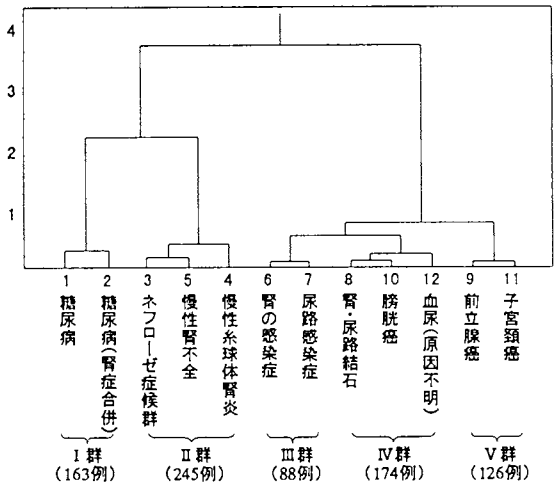
2．健常群と疾患群の検体取り間違いの検出

12種類の疾患群について，今回と前回の検査の累積スコアを各疾患の検体取り違い判定尺度に当てはめた際に，健常群から疾患群或いは疾患群から健常群に振り分け結果が移動した場合に検体取り間違いを疑うことにした。

3．クラスター分析による疾患群間の類似度分析

尿一般検査10項目の平均スコアを用いて，12種類の疾患群間の類似度をユークリッド平方距離により，各クラスター群の併合をウォード法によって解析した。その結果，図4に示すようなI群からV群のクラスターに大別された。1と2の疾患は糖尿病でI群(尿糖群)，3，4，

図4　クラスター分析による12疾患群間のデンドログラム



5の疾患は腎疾患でII群(腎疾患群)，6と7の疾患は腎・尿路系の感染症でIII群（感染群）と命名した。8から12の疾患は非腎疾患群で，これらは尿路結石・膀胱癌・血尿（原因不明）のIV群（非腎疾患-1群），前立腺癌・子宮頸癌のV群（非腎疾患-2群）と命名した。II群，IV群及びV群の症例はそれぞれ乱数法により，II-1とII-2，IV-1とIV-2及びV-1とV-2の各群に大別した。

4．累積スコア法による健常群と各種疾患群の判別

累積スコア法では陽性（疾患群）と陰性（健常群）を判別するためのカットオフ値を大きくすると，感度が低下するが，特異度は高くなる。逆にカットオフ値を小さくすると，感度は高くなるが特異度は低下するといった，Trade offの関係がみられる。そこで，累積スコア法による健常群と疾患群の判別では，恣意的に95%以上の特異度を維持するようなカットオフ値を設定し，その設定値

表3-1　糖尿病・腎尿路疾患振り分けにおける累積スコア法の評価基準

疾患	例数	選択項目の構成*	カットオフ値(X以上)
1.糖尿病	575	糖定性＋粘液＋蛋白定性＋混濁＋潜血反応	1.5
2.糖尿病(腎症合併)	78	糖定性＋蛋白定性＋潜血反応	1
3.ﾈﾌﾛｰｾﾞ症候群	49	蛋白定性＋潜血反応＋粘液	1.5
4.慢性糸球体腎炎	114	蛋白定性＋潜血反応＋赤血球	1
5.慢性腎不全	166	蛋白定性＋潜血反応＋粘液	1.5
6.腎の感染症	44	潜血反応＋粘液＋白血球＋蛋白定性	1.5
7.尿路感染症	51	白血球＋細菌＋混濁＋潜血反応＋蛋白定性	男性:1、女性:1.5
8.腎・尿路結石	54	潜血反応＋粘液＋混濁＋赤血球	1.5
9.前立腺癌	77	粘液＋潜血反応＋蛋白定性＋赤血球＋混濁	1.5
10.膀胱癌	165	白血球＋潜血反応＋粘液＋赤血球＋混濁	1.5
11.子宮頸癌	55	潜血反応＋混濁＋粘液＋蛋白定性	1.5
12.血尿(原因不明)	13	潜血反応＋赤血球＋粘液	1.5

感度：特異度が95%以上での最高感度
＊各検査の陽性率は左が最高で右に向かって低くなる。
但し、ここでいう特異度は潜在基準標本の陰性率のことである。

表3-2　糖尿病・腎尿路疾患振り分けにおける累積スコア法の評価

疾患	カットオフ値(X以上)	感度(%)	特異度(%)	
			男性	女性
1.糖尿病	1.5	75.8	97.1	96.3
2.糖尿病(腎症合併)	1	88.5	98.4	98.4
3.ﾈﾌﾛｰｾﾞ症候群	1.5	89.8	98.0	98.0
4.慢性糸球体腎炎	1	100.0	98.5	98.5
5.慢性腎不全	1.5	86.7	98.0	98.0
6.腎の感染症	1.5	68.2	97.3	97.5
7.尿路感染症	男性:1、女性:1.5	88.2	96.3	98.0
8.腎・尿路結石	1.5	77.8	99.5	97.5
9.前立腺癌	1.5	54.5	97.3	
10.膀胱癌	1.5	78.2	98.8	97.0
11.子宮頸癌	1.5	56.4		96.5
12.血尿(原因不明)	1.5	90.9	99.8	99.0
集計(1441例)　平均		81.7	98.1	97.7
最大		100.0		
最小		54.5		

感度：特異度が95%以上での最高感度

の下で最高の感度を与える，最少の項目構成を適正な項目の選択とした。その結果は表3に示すように，健常群と糖尿病・腎尿路系の各疾患群との判別では平均の感度が男女ともに81.7%で，慢性糸球体腎炎が最高の100%，最低は男性が前立腺癌の54.5%，女性は子宮頸癌の56.4%であった。特異度は男性98.1%，女性97.7%であった。全体で見ると，感度は腎疾患と糖尿病で高く，次いで非腎性疾患群で低下する傾向が認められた。

5．疾患群の大枠振り分け

①尿糖群への振り分け基準

尿糖群（I）に対し，感度が最高の尿検査は尿糖で，カットオフ値が0.5の場合で感度は65.4%，1.0の場合で64.2%であった。次に感度の高い項目は粘液糸であったが，この項目は他の腎尿路系疾患，特に下部尿路系疾患で偽陽性が高頻度にみとめられた。そこで，恣意的ではあるが，尿糖のスコアが1以上の所見を尿糖群（I）の振り分け基準にすることにした。

②感染群への振り分け基準

次いで，腎・尿路系感染症群（III）では白血球と細菌の感度が高く，両者のスコアによる累積スコアがこの群の振り分け法とし，恣意的であるが，そのスコアが1以上の所見を振り分け基準にすることにした。

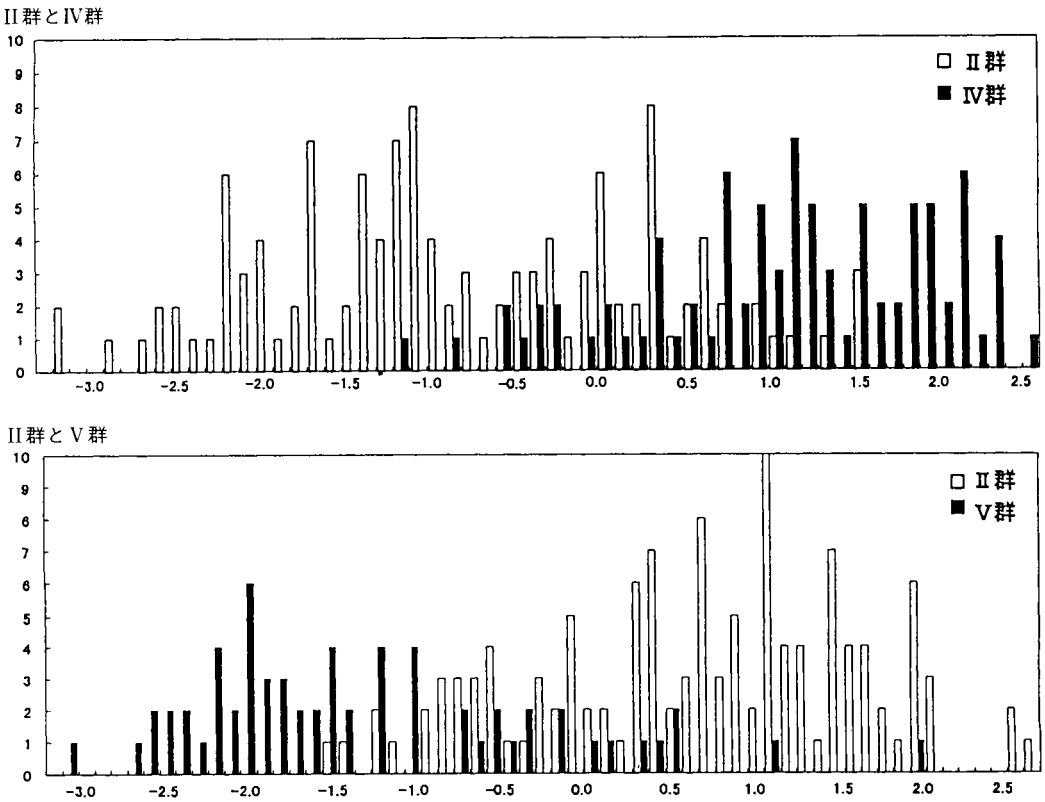
③正準判別分析によるII群とIV群，II群とV群の大枠振り分け

10項目の検査データを用いてII-1群とIV-1群，及びII-1群とV-1群の正準判別分析をおこない判別関数を誘導し，表4に示すような正準変量の係数を得た。次いで，前者の判別関数と検査データよりII-1群とIV-1群（学習用），II-2群とIV-2群（検証用）の各症例の正準得点を計

表4　正準判別分析における正準変量の係数

II群とIV群		II群とV群	
項　目	係　数	項　目	係　数
蛋白定性	-0.0329	蛋白定性	1.1834
混濁	0.3839	潜血反応	0.4200
小円形細胞	0.5501	混濁	0.3245
赤血球	-0.3526	小円形細胞	-0.4133
潜血	0.1577	非硝子円柱	-0.4473
定数項	2.0308	定数項	-2.8411

図5　正準判別分析による大枠疾患群の振り分け



II群：腎疾患群
IV群：非腎疾患群-1
V群：非腎疾患群-2

表5　正準判別分析による大枠疾患群の判別評価

【II群とIV群】

学習用

	正判別率	誤判別率
II-1群	79.7%	20.3%
IV-1群	89.7%	10.3%

検証用

	正判別率	誤判別率
II-2群	75.6%	24.4%
IV-2群	90.8%	9.2%

【II群とV群】

学習用

	正判別率	誤判別率
II-1群	80.5%	19.5%
V-1群	93.7%	6.3%

検証用

	正判別率	誤判別率
II-2群	79.5%	20.5%
V-2群	84.1%	15.9%

算した。同様にして，後者の判別関数と検査データよりII-1群とV-1群（学習用），II-2群とV-2群（検証用）の各症例の正準得点を計算し，分布図を作成した(図5)。その結果は，表5に示すように学習用および検証用データにおいて，II群に対する正判別率は，検証例においても75～80%と高く，IV群とV群に対する正判別率は，もっと高く84%～90%であった。なお，IV群とV群の判別では，相互の重なりが広く満足すべき結果が得られなかった。次いで，II群とIV群及びII群とV群の正準得点の分布図上に，それぞれII群，判別保留群及びIV群，II群，判別保留群及びV群の3区分に大別するためのカットオフ値を恣意的に設定し，判別尺度を作成した。

6．尿一般検査による疾患振り分けシステムの概要

本システムの概要は下記の通りで，尿一般検査システムのオプションとして運用できる。即ち，先ず疾患振り分けシステムは精度管理された患者の尿一般検査データを検査システムから受け取る。この時点で疾患振り分けシステムがスタートし，推論過程はStep 1からStep6へと進む。

Step 1．前処理

①指定された被検者の前回と今回の尿検査データ（10項目）の抽出，②各検査データのスコア化，③各検査項目についての潜在基準値標本であるかの判定，④各疾患群の累積スコア計算，⑤正準得点の計算を行う。

Step 2．ハズレ値点検

①潜在基準値のハズレ値点検，②累積スコアのハズレ値点検，③正準得点のハズレ値点検を行う。①のハズレ値点検では，被検者の検査データについて10項目の各尿検査の潜在基準値を求める。その際，いずれかの検査項目について潜在基準値標本と判定された場合は，その該当する項目の値がいずれもハズレ値でなければ，②に進み，そうでなければ④の処理をして，②に進む。一方，どの検査項目についても潜在基準値標本と判定されなかった場合は②に進む。②の累積スコアの点検では，被検者の累積スコアが12種類の疾患群の各累積スコアについてハズレ値でなければ，③に進む。ハズレ値が1つ以上あれば，④の処理をして，③に進む。③の正準得点のハズレ値点検では，被検者の正準得点がハズレ値でなければ，step3に進む。ハズレ値であれば，④の処理をしてstep 3に進む。但し，前回値がなければ，Step4にスキップする。

④の処理：検体の確認，再検査，或いは検体の再提出による再検査を行い，問題を解決する。

Step 3．健常者と患者の検体取り違いの点検

12種類の疾患群について，今回と前回の検査値より計算した各累積スコアを検体取り違い判定尺度に当てはめて，健常群から疾患群，又は疾患群から健常群に移動した場合には，④の処理をしてからstep4に進む。移動がなければ，step4に進む。.

Step 4．累積スコアによる健常者と糖尿病／腎尿路系の各疾患群との振り分け

被検者の検査値より計算した12種類の累積スコアを，各疾患群の振り分け尺度にあてはめる。その結果，①すべて健常群と判定された場合には，健常者群に振り分けて，step6の終了にスキップする。②疾患群への振り分はないが，保留群が1つ以上あれば，保留群に振り分けて，step 6の終了にスキップする。③1つ以上で疾患群に判定されたら，step5に進む。

Step 5．疾患群の大枠振り分け

①尿糖群への振り分け

尿糖のスコアが1以上であれば，I群（尿糖群）に振り分けて，次の②に進む。1より小さければ，②に進む。

②感染群への振り分け

白血球のスコアが1以上で，且つ白血球と細菌の累積スコアが1以上であれば，III群（感染群）に振り分けて，次の③に進む。そうでなければ，③に進む。

③判別得点による大枠疾患群間の振り分け

①II群（腎疾患群）とIV群（非腎疾患群-1）の判別

②II群（腎疾患群）とV群（非腎疾患群-2）の判別

①の正準得点を判別尺度に当てはめて，II群，判別保留又はIV群に判別する。次いで，②の正準得点を判別尺度に当てはめて，II群，判別保留又はV群に判別する。最後にstep6に進む。

Step 6．終了

以上の推論過程はXperRuleにて記述し，試作検証システムを制作した。

7．病名データ付き尿一般検査データ・ベースの検索・参照

1）データ・ベースの検索・閲覧プログラムの活用

検索・閲覧プログラムを利用することによって，各種の検査に対し，それぞれ任意の検査値をフィルターとして設定し，該当する尿一般検査データを収集したり，同時に疾患名データを抽出し参照したりすることが可能となった。

2）検査値の分布図の作成・閲覧プログラムの活用

任意の検査項目を指定し，その項目についての度数分布図や2次元の散布図を作成し，これらを参照することが可能となった。

8．関連医学情報のWebページの閲覧

1）尿一般検査技術情報の閲覧

尿一般検査の早見表の参照(Webページ)，各尿一般検査項目や尿自動分析機器ついての解説の閲覧（電子書籍による）が可能となった。

2）尿一般検査の診断上有用な知識ベース(Webページ)の閲覧

項目のみ列記する（詳細は添付CD-ROM参照

①キーワードの解説の参照

②尿一般検査の潜在基準値の世代別，男女別の分布図と男女間差の検定結果の閲覧

③尿一般検査10項目の真陰性率（特異度）の参照

④糖尿病・腎尿路系疾患群における尿一般検査10項目の真陽性率（感度）の参照

⑤糖尿病・腎尿路系疾患症例振分における累積スコア法の感度・特異度の参照

12種類の代表的な糖尿病・腎尿路系疾患群における尿一般検査10項目の真陽性率（感度）が参照できる。

9．マルチメディア電子書籍の参照・閲覧

今日の診療，ハイパー臨床内科，Laboratory medicine，MAXX，Brenner CD-ROM for kidney，最新医学大辞典などのマルチメディア電子書籍が自在に参照・閲覧できる。

【コメント】

臨床検査の領域では，検査のソフトとハードが技術革新を背景にして進歩が目覚ましく，自動化から検査のシステム化，更に搬送システムへと発展して今日に至っている。それと平行して，検査データは分析法と試薬の技術革新によって，高い精密性が保証されるようになり，正確さについても免疫反応を使った検査を除けば，かなり高いレベルまで品質保証が期待できるところにきている。そして，いよいよ臨床検査は，分析重視から検査情報の付加価値化へ，つまり情報の有料化の課題が益々重要性を帯びる時代に入ってきていると言われる。尿一般検査による検証システム開発に関する研究は，医療がこのようなアプリケーションの受け入れを望み，更にそれらを稼働させるための情報ネットワーク・システムも整ってきた時期に行うことができた。この点は，これまでに開発された優れたアプリケーションが，一部の例を除けば，ことごとく研究レベルで終わったことを思えば，特筆に値することであろう。そして，本検証システムの機能と特徴は，①潜在基準値，累積スコア値及び正準得点のハズレ値（論理的な矛盾値）の点検と対策，②健常群，保留群，尿糖群，感染群，腎疾患群，及び非腎疾患群の大枠振り分け機能，③step by stepによる推論過程をとることによって，同一患者における複数の病態群を漏れなく判別できること，④欠損値があれば，その制約のもとでの推論ができること，⑤さまざまな検索・参照・閲覧機能：病名付き検査データ・ベースの検索・閲覧，マルチメディア医学専門書の参照・閲覧，各種の文献検索(医学中央雑誌，medlineなど)，及びイントラネット・インターネット上の知識検索・閲覧，などにある。しかし，本検証システムは未だ実用化されておらず，システムの真の評価は実用化の後まで待たねばならない。仮に，本システムが臨床応用で成功するならば，他の開発済みの化学検査や血液検査などの検証システムも臨床応用で高い評価を受ける可能性が高いと思われる。

【結　　語】

本研究では尿一般検査の検証システム開発に関する基礎的研究をおこなった。本システムは未だ本稼働させるに至っていないが，その機能と特徴は下記の通りである。①ハズレ値（矛盾値）の点検・対策，②累積スコア法と正準判別分析などによるstep by stepの大枠振り分け（健常群，保留群，尿糖群，間船群，腎疾患群，非腎疾患群），及び③検索・参照・閲覧機能の実装：病名付き検査データベースの検索・閲覧，臨床医学情報の参照・閲覧，インターネット・イントラネット上の医学知識の参照などである。今後は，本検証システムをオプションとして尿一般検査システムに連動させて本稼働させその有用性を評価したい。

【参考文献】

1．臨床検査情報解析に関係した参考文献

1）Valdiguie PM，Rogari E，Phillippe H：VALAB：Expert System for Validation of Bichemical

Data. Clin Chem, 38(1)：83～87, 1992.
2）新しい臨床検査情報システム：臨床病理，特集77：1988.
3）病態情報解析の基礎と応用：臨床病理，特集83：1990.
4）病態情報の有効な利用－病態情報の管理と多変量解析法：臨床病理，特集84：1990.
5）病態情報の価値と医学判断入門：臨床病理，特集93：1992.
6）尿沈渣検査法：日臨技標準化事業，日本臨床検査技師会：1994.
7）日本臨床検査自動化学会施設間QC専門委員会：施設間QCとデータ互換への日常検査
ファイルの適用とその評価(中間報告)，JJCLA，19(1)：i～xi，1994.
8）Zarling EJ, et al. ：Failure to Diagnose Acute Myocardial Infarction. JAMA, 250：1177～1181, 1983.

2．本研究室で行った関連文献

1）松田信義，他：尿検査におけるコンピュータ・バリデーション・システムの開発のみ.
Sysmex J, 46-54,1996.
2）松田信義，市原清志：臨床検査システムの今後の課題と展望．新医療，1995(2)：242号：71-75
3）松田信義，他：血液検査データのコンピュータ解析：血液検査の診断的コメント付き報告
4）システム．臨床病理(特集97)検査血液学：418-422, 1994.
5）Tanaka H,Ishibuti H,Matsuda N：Fuzzy Expert system based on rough sets and its application to medical diagnosis . Int J General Systems , 21：83-97,1992.
6）松田信義，他：Ⅰ病態情報の評価．2．肝・胆道疾患の振り分けにおけるマトリックス判別の有用性．臨床病理（特集93）：8-22,1992.
7）松田信義：コンピュータと病態診断．臨床病理，39：243-251,1991.

3．添付資料：CD-ROM

謝辞

本研究を進めるに当たっては財団法人中谷電子計測技術振興財団より多大なるご援助を頂いた。ここに記して厚く感謝の意を表します。

体内埋込が可能な微小循環観察プローブの開発

研究責任者　東京大学大学院医学系研究科医用生体工学講座　教授　井街宏
共同研究者　同　講師　柴田政廣
同　助手　鎮西恒雄
同　助手　阿部裕輔
同　大学院生　望月修一

1．研究の背景

生体の酸素交換，物質交換は全て末梢血管を通して行われるため，生体の微小循環を観察することによって表1に示すような極めて重要な情報を得ることができる。当施設では1959年以来長年にわたって人工心臓の研究を行っているが，1970年頃までは人工心臓による長期生存が得られず，その原因も明らかでなかった。当時まづ考えたことは人工心臓のような人工循環ではその血圧，流量波形が生体心臓によるものと根本的に異なること，その制御方法が生体の要求するものと全く異なっているのではないかということであった。そこでこれらの因子が微小循環動態に及ぼす影響を知りたくて微小循環を観察することを試みた。われわれは実験動物としてイヌ，ヒツジ，ヤギなどを用いてきたが，当時，微小循環を観察するには麻酔下に動物の腸管膜を引っぱり出して顕微鏡で観察するという急性実験の手法が一般的であり，覚醒状態で慢性的に微小循環を観るのはウサギの耳窓法が唯一とも言える方法であった。これは，ウサギの耳介にパンチで直径6.4mmの孔をあけ，そこに表裏からはさむ格好で透明な雲母とアクリル樹脂からなる観察チャンバーを取り付ける方法で，4週間後に組織が約50ミクロンのチャンバーの隙間に増生し毛細血管が再生され顕微鏡下に微小循環が観察可能になるというものである。そこで当時この研究の第一人者であった浅野牧茂博士（国立公衆衛生院）との共同で，1971年頃から数年間ウサギの耳窓法を利用して人工心臓駆動下での微小循環動態の研究を行った。ウサギ用に一回拍出量2ccの世界最小の人工心臓ポンプを開発し，人工心臓の駆動条件と微小循環との関係を調べた。この方法は，人工心臓下での微小循環のリズム，拍動数と毛細血管の流れの関係など数々の有益な情報を提供してくれたが，顕微鏡を使うために動物を完全に固定しないと微小循環が観察できず，われわれが通常実験動物として用いているヤギに用いることは不可能であった。ことに人工心臓下でヤギが長期に生存するようになってからは，慢性的に微小循環が観察できないと生理学的に意味がないため，研究の必要性を痛感しながら1975年頃から中断の止むなきに至っていた。

表1　微小循環の観察により得られる情報

- **流れの状態（拍動の状態、毛細血管の流れなど）**
- **血管運動のリズムや周期性**
- **血管径の変化**
- **血管系の血液量の変化**
- **血管の透過性**
- **血球の速度**
- **白血球の挙動**

けれども最近になって電荷結合素子（CCD：charge coupled device）が小型，高密度化され，その感度も著しく向上してきたためこれを利用して全く新しい原理で微小循環を長期にわたって連続観察できる可能性が出てきた。本研究は，CCDを用いて顕微鏡非使用下に覚醒時，非拘束で長期間連続観察が可能な新しい原理の微小循環の観察方法を確立すると共に，体内に埋め込み可能な小型の装置の開発を目的としたものである。

2．CCD素子を用いた微小循環観察方法の新しい原理

図1に新しい微小循環観察装置の原理を示す。薄い生体組織を直接CCD素子の上に載せ，後方から弱い光を照射すると密着写真の原理で組織中の血管像がCCD素子

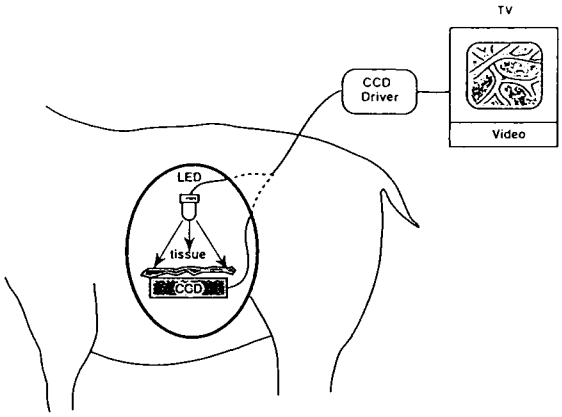


図1　体内埋込型微小循環観察プローブの新しい原理

に投影され，テレビ画面上で微小循環を観察することが出来るはずである。この際画像の解像度は，CCD素子の1画素あたりの大きさによって規定され，鮮明度は組織の厚さと組織と素子の密着度によって規定される。

3．原理確認のための基礎実験

この原理の正しさを証明し，どの程度の解像度があるかを調べるために以下の実験を行った。1/2インチ20万画素のCCD素子の保護ガラスを外し，小さく切ったスライドフィルムの断片を載せ背後から発光ダイオード(LED)で照射したしたところ，かなり鮮明な文字や画像を観察できることがわかった。次に，CCD素子を透明な薄いポリエチレンフィルムで包んで電気的に絶縁し，麻酔下にラットの腸管膜，大網，筋膜などを載せ，微細な血管やその動きが見えるか否かを試験した。その結果，直径100ミクロン前後の細動脈の遮断による血管収縮の様子がはっきりと観察できた。

これらの実験から，この微小循環の観察方法は原理的には正しく作動し，解像度においても現時点のCCD素子でも十分に実用に耐えるものであることが明らかになった。また，光源に関しては黄色のLEDが比較的色の再現性が良いことも分かった。

4．CCD素子を利用した微小循環観察用プローブの開発

一般に市販のCCD素子はセラミック製のケースに入れられ保護ガラスで蓋をされている。通常は，レンズ系を用いてこのガラス越しにCCD表面に結像させるため問題ないが本方法の場合は密着法であるため，CCD表面と組織の間に隙間が存在すると像がボケることになり，保護ガラスのない状態のCCDを用いなければならない。さらに，ガラスを外したCCDでは，その表面とセラミックケースの縁との間に1mmの段差が存在し，生体組織が素子表面に密着し難いためこの段差をなくすことが重要である。また，このプローブは生体組織内に埋め込まれるのであるから全体が電気的に絶縁されていなければならない。組織に照射する光源については最近のCCDの感度は極めて高いので微弱なもので良いが，生体組織に熱損傷を及ぼさないことと絶縁が可能なことが重要である。

これらの条件を考慮してプローブの開発を行った。図2および3はそれぞれプローブの断面図と見取り図を示す。CCD表面とセラミックケースとの段差をなくすために，ファイバーオプティックプレート(FOP)を用いた。これは図3に示すように，6ミクロンの6角形のcore glassとそれを囲むclad glassとからなる光学系で，片面に入射した画像を歪みなく他端へ送ることができる。CCDには当初1/2インチ，25万画素を，最近では40万画素のものを用いた。保護ガラスを外したCCD表面に大きさ6.5×4.8mm，厚さ3mmのFOPを載せ，セラミックケースの内側をシリコーンゴムで充填絶縁した。しかし，シリコーンゴムはFOPやセラミックとの接着性が良くなく，動物への埋め込み実験では体液が侵入して絶縁破壊を生じたため現在はエポキシ樹脂を充填している。次にCCD素子と配線済みのケーブルをシリコーンゴム型に入れ，セラミックケース外側の配線用のピンとケーブルを二液性のエポキシ樹脂で包埋し絶縁した。図4はこのようにして開発したプローブの外観を示す。直径35mm，厚さ15mm，重さは約30gである。光源には黄色のLEDを用いた。LEDはスタンド状にしてエポキシ樹脂で絶縁しプローブと一体化し，生体組織が光源とFOP表面の間に固定できる構造とした。

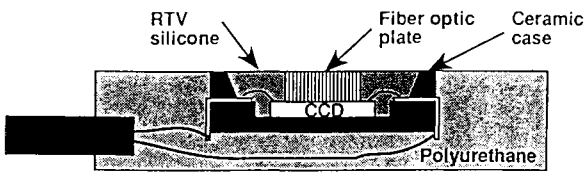


図2　埋込型微小循環観察プローブの断面

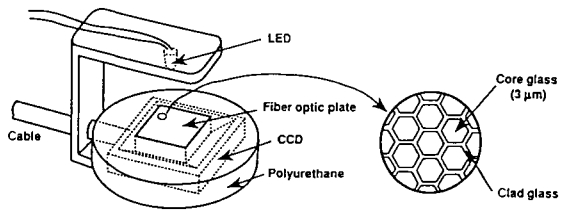


図3　埋込型微小循環観察プローブの見取り図

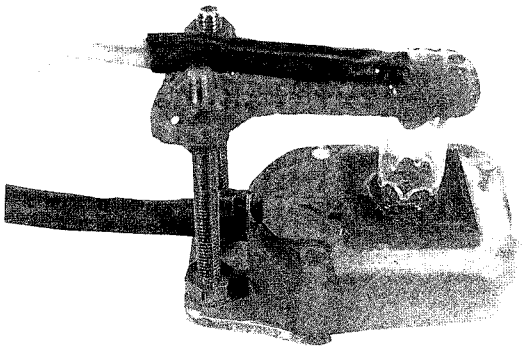


図4　等倍のFOPを用いた埋込型微小循環観察プローブ

5．埋込型微小循環観察プローブの性能評価

まづin-vitroで解像度の試験を行った。プローブの表面に透明な定規やスライドフィルムを置き，TV上の画像からその解像度を調べた。プローブ上の画像は16インチのTV上では約56倍に拡大された。これらより本プローブは数十ミクロンの解像度を有するものと考えられた。次いで，本装置をウサギやヤギに用いて実際にどの組織がどの程度鮮明に見えるかを調べた。麻酔下に腹壁を切開し，皮下組織，筋膜，腸管膜，大網などをプローブ表面に載せLEDの明るさを調整しながら画像の鮮明度を調べた。その結果，脂肪組織が少なく組織自体も薄い皮下の結合組織が最も鮮明な画像が得られることが判った。図5はその例を示すが，酸素加の色の情報を含めて数十ミクロン程度の太さの微小血管が認識でき，100ミクロン程度の径の細動脈では心拍動に伴う径の変化も観察可能であった。最後に長期の安定性を調べるためにプローブをウサギの皮下に埋め込み皮下組織の微小循環像を観察した。ウサギは覚醒して動き回わったがその間微小循環像は観察可能であった。しかし，このプローブはFOPとCCD表面をシリコーンゴムで充填していたため両者の接着性が強固でなく，18時間後に体液がCCD内に浸入し，絶縁が破壊されて実験中止の止むなきに至った。

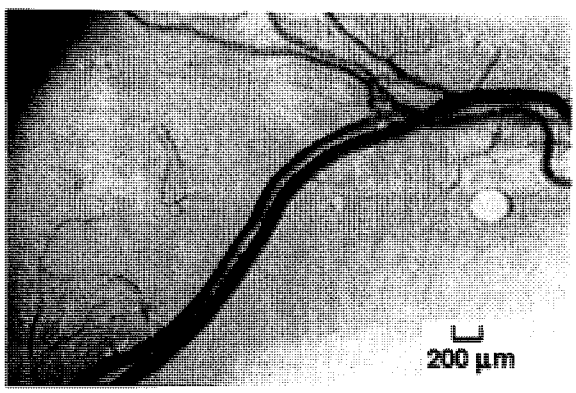
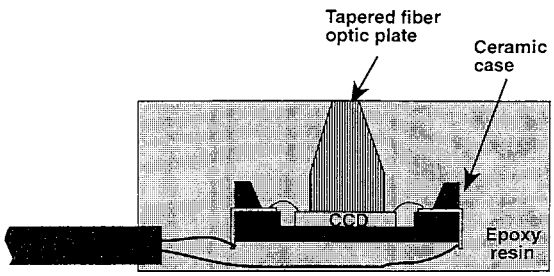


図5　等倍のFOPを用いたプローブによるウサギの皮下組織の微小循環

6．拡大機能付きプローブの開発

上記の実験により埋込型微小循環観察プローブはかなり実用に近いところまで出来上がってきたことが証明された。しかし同時に多くの改良すべき点も明らかになった。それらを列挙してみると，(1)プローブの小型化，(2)電気的絶縁の強化，(3)画像の解像度の向上，(4)画像の鮮明度の向上などである。小型化に関してはエポキシ樹脂による包埋を従来の円形から矩形に変更することによってプローブの贅肉を落とすことができ外形を31 x 22 mmにすることができた。電気的絶縁については，前述したようにFOPの包埋をシリコーンゴムからエポキシ樹脂にすることによって長期間水中に浸漬することが可能となった。画像の解像度の向上は本方法の最大の課題である。解像度の向上のためにはCCD素子の1画素当たりの大きさを小さくすることと拡大機能を付与することである。前者に関しては1/3インチ40万画素のCCD素子を採用した。後者についてはFOPを加熱伸展してテーパ状にすることにより最大3倍までの拡大機能をレンズを用いずに実現することが可能である。図6は3倍の拡大機能を有するFOPを用いた場合のプローブの断面図と試作されたプローブを示す。テーパ付きFOPの長さは15 mmであるので，プローブの高さは28mmとなるが，当初



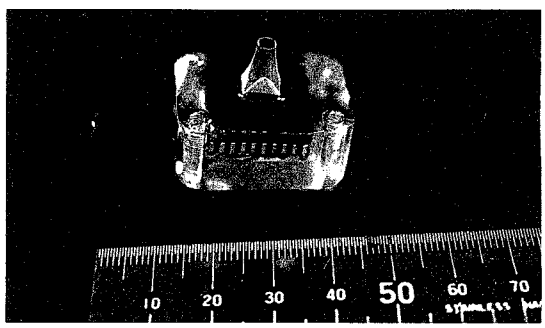


図6　3倍拡大のFOPを用いたプローブの断面図と試作したプローブ

の目標であった30mm立方よりは小型化できる。また，画像をより鮮明にするために包埋するエポキシ樹脂を従来の透明なものから黒色のものに変え側面からの光の漏れをおさえることができた。このようにして改良したプローブを用いると，14インチテレビ上では画像が約165倍に拡大された。

7．3倍拡大機能付きプローブの動物実験

開発されたプローブの急性動物実験による性能評価を行った。麻酔下に開腹し，ラットの腸管膜を載せ顕微鏡光源で照射した結果，テレビ画面上で細動静脈や毛細血管がはっきり認識でき，それらの中の赤血球，白血球の流れも観察できた。また，エピネフェリン0.1mMを投与すると，血管の収縮が始まって，血流が停止し，数分後に血流および血管径が開腹する様子もはっきりと観察できた。図7はその結果の1例である。ビデオから変換したため不鮮明であるが，動画では血球の動きが良く見える。この結果を踏まえて，図8に示すようにこのプローブをウサギの皮下に埋め込む実験を試みている。組織が少し厚いと像にボケが生じたり，組織の固定が不安定だったりしてまだ長期の埋め込みには成功していないが，技術的にはそれに近いところまで達成できた。

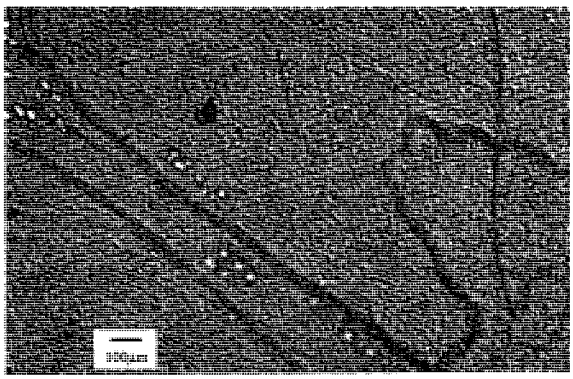


図7　3倍拡大FOPを用いたプローブによるラットの腸管膜の微小循環

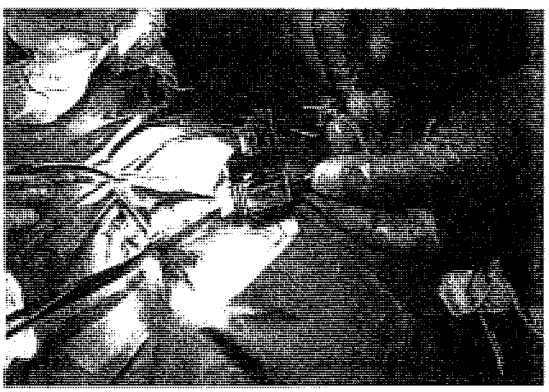


図8　ウサギへのプローブの埋め込み実験

8．考察

微小循環の観察により，流れの状態，血管運動のリズムや周期性，径の変化，血管系の血液量の変化，血管の透過性，血球の速度，白血球の挙動など種々の情報を知ることが出来るため生体の制御機構や代謝機構の解明，疾病の原因の究明，治療方法の評価などのためには末梢循環とりわけ微小循環の研究は重要である。このため最初に述べたように古くから様々な方法で生体の微小循環を観察することが試みられている。いっぽう生体の微小循環を正しく把握するためには1）覚醒状態で観察すること，2）自然の行動の束縛をできるだけ少なくする，3）できるだけ侵襲の少ない方法を用いる，4）長期間連続的に観察する，5）同じ血管系の観察が可能なことなどの条件が要求されるが，顕微鏡下に生体の臓器や組織を引っぱり出して観察する従来の方法ではこれらの条件を満足できず，それが微小循環の研究の限界ともなっていた。ことに覚醒下に長期にわたって連続的に微小循環を観察することはその要求の高さとは裏腹にその方法が見出せずに今日に至っていた。われわれは，人工心臓の開発という大きな研究テーマの中で，その制御方法の研究のために末梢循環の研究に取り組んできた。人工心臓は，人工循環によって生体心臓と同様に生体循環系を灌流しょうというものであるから，適正な制御方法，血圧・血流波形，駆動条件などを検討する上で人工循環下で微小循環を観察することは極めて重要である。

本研究は，従来の顕微鏡などレンズ系を用いない新しい原理に基づいて長年の夢を実現しようというものであるが，この方法は1）装置が非常に単純，2）小型化が容易，3）低侵襲した体内への埋め込みが可能，4）覚醒下に行動を束縛することなく観察が可能，5）微小循環を長期連続的に観察可能，6）LEDのような小型の微弱冷光源の使用が可能，7）大型の動物にも使用でき，将来は臨床応用も可能など多くの利点を有している。本研究では，新しい原理の正しさを確認すると共にその基本的性能を明らかにし，埋込型プローブを試作して実際に動物に埋め込んでその問題点の抽出を行った。その結果，等倍のプローブでは最後は体液の侵入によって絶縁破壊を生じて実験不能になりはしたものの，18時間にわたって微小循環を覚醒下に連続的に観察することができた。さらにテーパー付きFOPにより3倍の拡大機能を持たすとテレビ画面上では150倍以上の拡大率となり，毛細血管や血球の流れまで観察が可能であった。これらの事実は本方法が将来無限の可能性を有していることを証明

したと考えて良い。しかし，本研究によって同時に今後さらに改良すべき点も明らかになった。ことに組織の厚みによる画像のボケは，何らかの方法で焦点を数ミクロンから数十ミクロンずらせれば解決する問題であり，現在その解決に取り組みつつある。また，組織を傷つけずにCCD上にどう長期間固定するかも今後検討すべき問題である。プローブ作製上の技術的問題としては，FOPとCCDの接着による像の歪みやムラをどう防ぐかという困難な問題も残されている。また，将来の新しい方向としては，CCDの周囲から光を照射して組織内を通過した光で像が見えないかということも試みている。もしもこれが可能になれば，腎臓，肝臓，肺などの実質臓器の表面の微小循環の観察が可能となり，重症患者，臓器移植患者などのモニターにも使用できる可能性が開けてくる。

以上のように，本研究はその当初の目的以上の成果を挙げることができ，長期の体内埋め込みが現実のものとなったという点で極めて大きな意義があったと考えている。

参考文献

1. 浅野牧茂：末梢循環とその病態生理，(東大出版会)，1967

2. 井街　宏，他：人工心臓駆動時における微小循環動態の観察，心臓5，719-721，1973

3. 井街　宏，鎮西恒雄，阿部裕輔，満渕邦彦，米澤卓実，河野明正，藤正　巖，渥美和彦：密着方式CCDによる微小循環のin-situ観察，医用電子と生体工学，27（特別号），318，1989

4. K. Imachi, Y. Abe, T. Chinzei, K. Mabuchi, K. Imanishi, T. Isoyama, A. Kouno, T. Ono, and I. Fujimasa : Factors influenced on hemodynamics, blood chemical data, and hormone secretion of total artificial heart goat. in " Progress in Microcirculation Research" (H. Niimi, M. Oda, T. Sawada, and R.-J. XIU ed.), 453-458, Pergamon, 1994

5. K.Imachi, T. Chinzei, Y. Abe, T. Isoyama, K. Mabuchi, K. Imanishi, K. Baba, A. Kouno, T. Ono, M. Kusakabe, M. Onuma, K. Atsumi, and I. Fujimasa : A new apparatus for chronic observation of the microcirculation in situ to evaluate artificial organ performance. ASAIO Journal 40(3) : 757-761, 1994

6. K.Imachi, T. Chinzei, Y. Abe, T. Isoyama, K. Mabuchi, T. Ono, A. Kouno, K. Imanishi, M. Kusakabe, M. Onuma, K. Atsumi, and I. Fujimasa : Development of a new apparatus to observe microcirculation chronically in continuous flow blood pump research. Artificial Organs 19(7) : 725-728, 1995

7. 井街　宏，鎮西恒雄，阿部裕輔，磯山　隆，満渕邦彦，松浦弘幸，河野明正，小野俊哉，日下部正宏，藤正　巖：体内埋込型微小循環観察装置の開発とそれによる人工循環の評価．医用電子と生体工学，33（特別号），197，1995

8. K.Imachi, T. Chinzei, Y. Abe, T. Isoyama, K. Mabuchi, K. Imanishi, M. Kusakabe, M. Onuma, and I. Fujimasa : A new chronic evaluation method of microcirculation during the artificial heart pumping. in "Heart Replacement-Artificial Heart 5"(T. Akutsu and H. Koyanagi ed.), 281－287, Springer Verlag, Tokyo, 1996

9. 井街　宏，鎮西恒雄，阿部裕輔，満渕邦彦，松浦弘幸，望月修一，孫　艶萍，河野明正，小野俊哉，日下部正宏，藤正　巖：CCDを利用した体内埋込型微小循環長期連続観察装置の開発，平成9年電気学会全国大会論文集，S20-8，1997

10. K. Imachi, T. Chinzei, Y. Abe, S. Mochizuki, T. Ono, A. Kouno, I. Saitoh, T. Suzuki, and K. Mabuchi : Technology for the total artificial heart. The 3rd Polish- Japan Seminar on Biomedical Engineering, Abstract, 31, 1998

全血試料および毛細管内細胞電気泳動法を用いた血液型およびクロスマッチ判定

研究責任者　名古屋工業大学工学部　応用化学科　教授　津田孝雄
共同研究者　近畿大学医学部　臨床病理学教室　講師　野崎修
鳥取大学医療技術短期大学部　助教授　河本裕子
名古屋工業大学工学部　応用化学科　北川慎也

1　緒　言

血液型判定及び血液型クロスマッチの検査は，臨床でしばしば緊迫した場面（重篤な場面，夜間や休日の非日常体制時）で必要となり，迅速な報告が求められる。

現在広く用いられている試験管法の問題点は，煩雑で時間がかかる検査操作であること，弱い血球凝集のさいに判定が困難なことがある，検査を行うには熟練が必要である，などがあげられよう。又，凝集反応検査の前に血漿と血球との分離が必要で，血球は生理食塩水洗浄後に使用している。

血液型の検査を迅速化や自動化する試みには次の方法があげられよう。N.Tatsumiら[2]は自動血球計数装置を用いて抗原抗体反応後の血球の凝集を血球のサイズ分布から判定している。すなわち，凝集した血球は2個又は数個のサイズとして認識され，これらの集団による新たなピークが生じる。

吉田ら[3]はMicro Typing Systemゲル遠心法による輸血検査を報告している。このMicro Typing System ゲル遠心法[2)3)]は球状アクリルアミド・デキストリンゲル，緩衝溶液，試薬を含んだ小細管を用いて，通常小細管の上部に血球と血清を滴下し一定時間反応させた後に遠心すると，凝集血球はゲルの上部に，非凝集血球はゲルの下部にたまることを利用している。同様な手法としてカラム凝集法（Column Agglutination Technology：CAT）がある[4)5)]。CAT法ではゲルの代わりにガラスビーズを用いている。これらの方法において実際にゲルやガラスビーズ上に供する血液を含んだ溶液量は100－40マイクロリットル程度である。

血液型判定装置の開発の方向は，確実・迅速でかつできる限りの微量血液での測定が可能になることであろう。

本報告では血液の前処理を行わずに全血をそのまま試料とし，nLレベルの血液を用いて，赤血球一個一個の反応を観察し，血液型の判定ができるシステムを提案する。

2　理　論

2・1全血試料中の赤血球と血漿成分の電場による分離

細胞が溶融石英キャピラリー管中で電気浸透流の流れ（陰極に向かう）に逆らって陽極側へ移動していく現象を神経芽細胞において観察している[6]。赤血球細胞の表面は強く負の電荷を帯びているので，赤血球の電場下での移動速度が十分に早い。そのため，全血試料を細管中に導入し，ついで直流電圧を細管の管軸方向に印加すると，血球成分と血漿成分に自動的に分離される。すなわち血球成分は表面荷電が負であるので陽極へ向かって移動し管中より溶出するが，一方血漿成分（主成分であるタンパク質など）の電気移動度は溶媒が中性領域においては浸透流に比べてその絶対値が小さいので電気浸透流によって運ばれていく。電気浸透流の大きさは溶融石英管の内壁の状態に依存するが，内壁の性質を大きく変えなければ上記の実験状態を作り出すのは困難ではない。すなわち，電場を印加した溶融石英管中において，全血試料から血球成分と血漿成分を分離することが出来る。

2・2　血液型抗原と抗体のキャピラリー管内凝集反応とその検出

キャピラリー管中に赤血球を注入し，キャピラリー管の両端をゲルで封印した後陽極側の溶媒だめに血液型抗体を導入する。ついで直流電圧をキャピラリー管に印加すると赤血球と血液型抗体は管中で交叉する。血液型抗原と抗体が合致すれば，赤血球表面に血液型抗体（二価抗体）が付着する。感作血球は互いに接触して凝集する。

この凝集を顕微鏡で観察できれば血液型の判定が出来る。

2・3　凝集の判定

凝集とは単一赤血球がそれぞれ会合して一体となったことをもって凝集とする。

3　実　験

3・1ミクロ観察判定装置

nLレベルの血液を用い，箇々の赤血球の反応を観察・判定するためにシステムを組んだ。本システムは顕微鏡(POH光学顕微鏡，ニコン，東京)，自製したスライドガラス上に設置できる短小なキャピラリー管を用いた交叉電気泳動システム，直流電源装置(±36.5V，PLD-36-1.2，松定プレシジョン，草津)，CCDカメラ(CCD-S-1，島津理科，京都)，ビデオ(HF-F92，三菱，東京)，ビデオタイマー（最小単位10ミリ秒，VTG-33型，For A，東京）よりなる。短小なキャピラリー管を用いた電気泳動システムは，白金電極を設置した溶媒だめ(2個，1.0mlポリエチレンバイアルのキャップをそのまま使用した，溶媒量　300μl)，キャピラリー管｛内径　50μm，溶融石英キャピラリー管，被覆付き，ジーエルサイエンス，東京より供給)を長さ　約10mmにカットして使用｝よりなり，これらをスライドガラス上に設置した。Fig.1に概念図，Fig.2に用いたキャピラリー管と溶媒だめの写真を示した。血液はキャピラリー管に導入し，電場下で泳動させまた反応をさせる。本システムによりキャピラリー管中に導入した個々の赤血球の凝集反応，試薬による変化を追跡する。

3・2　試薬の調整

コントロール血清(Dada® Moni-Trol® I・X，Dade International Inc.，Miami，FL 33152-0672 USA)：生理食塩水(大塚製薬，東京)：0.7mM　Na_2SO_4水溶液（和

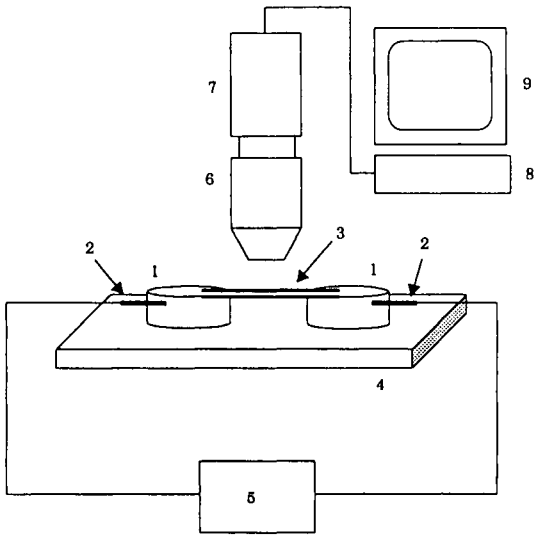


Fig.1 Optical microscope-CCD system for blood typing in nl scale

1: Reservoir; 2: platinum wire electrode, which was installed in the reservoir; 3: a short capillary tube (50 μm inner diameter and 10 mm in length); 4: slide glass; 5: dc power supply; 6: microscope; 7: CCD camera; 8: video recording; 9: cathode ray tube (CRT).

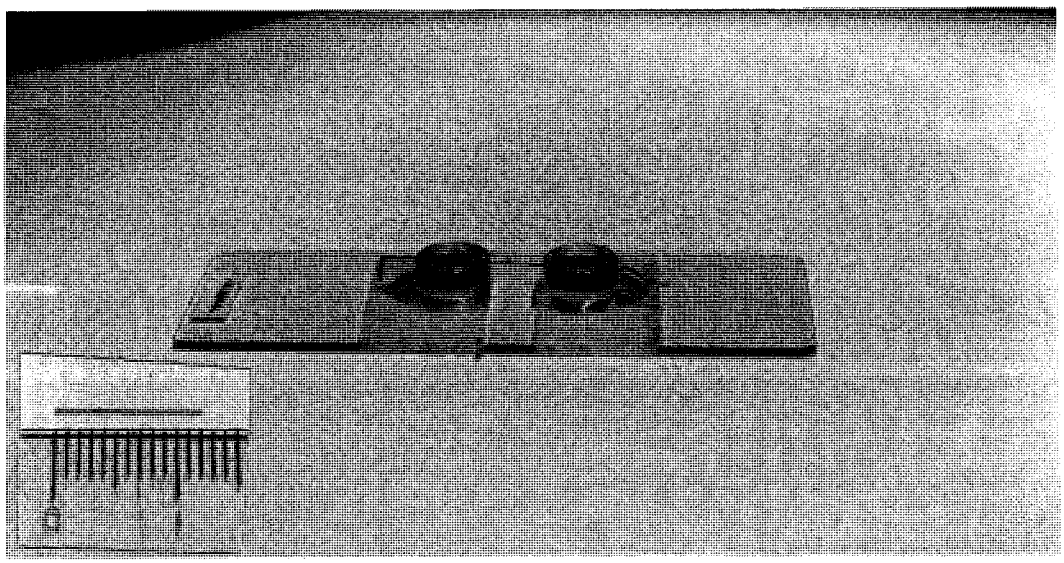


Fig.2 A photo for the apparatus of a set reservoirs and a capillary tube for cross-electro migration.

光，京都）の三液を（1：2：1）に混合した溶液で，全血を50倍程度に希釈し試料溶液を調整する（この希釈に用いる溶液を以下混合溶液Aと記述する）。コントロール血清の混合により赤血球のキャピラリー管への吸着が押さえられた。抗A，B血液型判定用抗体（イムコア抗A，Bモノクロ，三光純薬，東京）を用い，抗体試薬は混合溶液A（混合比率約1：4）で希釈した。アガロースゲル（アガロースM，ファマシア，東京）を生理食塩水で溶かし1％アガロースゲルを調整した。

3・3　実験手順

内径50μm，長さ約10mmの短い溶融石英キャピラリー管に，試料溶液（血球を含む）を毛管現象で満たす。

試料をキャピラリーに満たした後（このときキャピラリー管中のすべての場所に赤血球が存在する），その両端を，1％アガロースゲルで封印する。

スライドガラス上に固定した溶媒だめ間に，試料を満たしたキャピラリー管を設置する。このとき，陰極側の溶媒だめには混合溶液Aをみたし，陽極側の溶媒だめには血液型判定用抗体を含む試薬（抗Aモノクロ，又は，抗Bモノクロ）を混合溶液Aで希釈した溶液を満たす。

ついで電圧，20-30V，を印加する。キャピラリー管内の赤血球はその負電荷により陽極へと泳動する。又，血液型抗体を含む溶液は電気浸透流により陰極のほうへ向かう。これらの交叉により抗体と血球表面の抗原の型が合致すれば，血球は感作されその後凝集する。この凝集の有無を顕微鏡下で観察する。同時にビデオ記録する。

4　結　果

溶融石英キャピラリー管（直径　50μm）の内容積は管長が10mmのとき19.6nlである。このキャピラリー管中の状態をモニターのCRT上で約1000倍の倍率で観察するので，一個の赤血球は約5-7mmの大きさで観察される。本実験では非常に希釈な血液溶液を使用しているので，管中では箇々の赤血球が観察できる。赤血球はこの管内において管長に対しての断面方向で数個並ぶことが出来る。顕微鏡観察においては平面の観察であるので重なった場合観察できないが，溶液が希釈であるためこのようなことはあまり生じなかった。

4・1　全血中の血球と血漿の自動分離

全血を混合溶液Aで希釈しこれを短小なキャピラリー管に注入し，ついでアガロースで両端を封印する。アガロースゲルによる封入はキャピラリー管中の圧力差流を防止するために行った。又溶媒だめに入れた抗体試薬はこのアガロースゲルの内部を通過してキャピラリー管中へ自由に導入できた。

このキャピラリー管をミクロ電気泳動装置に設置して電圧を印加すると，管中の赤血球は陽極に向かって泳動するのが観察された。又抗体試薬（抗A又は抗B）を陽極側の溶媒だめに入れて電圧を印加すると，それぞれ対応した血球ではいずれも抗原抗体反応に基づいた凝集が認められた。これらの事実より試料の全血中の血漿に含まれる二価抗体は陰極側に溶出している。すなわち血球と血漿（主として血液型抗体）の自動分離がキャピラリー管中で出来る。

4・2　抗原・抗体反応に基づく感作血球の凝集による血液型の判別

血液（血球）にA型血球を用い，試薬にA型抗体を用いたときは凝集する。これをFig.3，Fig.4に示した。Fig.3は希釈した全血をミクロキャピラリー交叉電気泳動管に導入し，ついで電圧を印加した直後の赤血球の

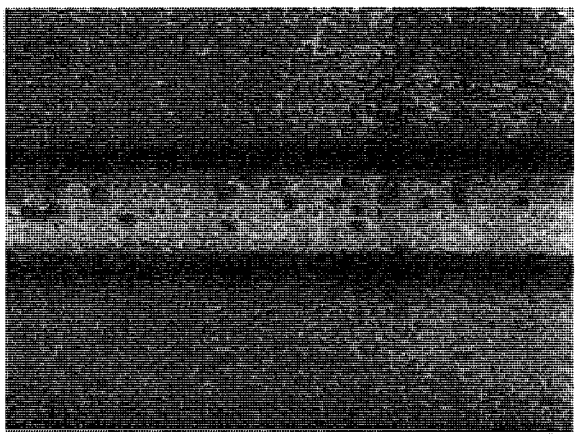


Fig.3 A photo of red blood cells type A in the capillary tube

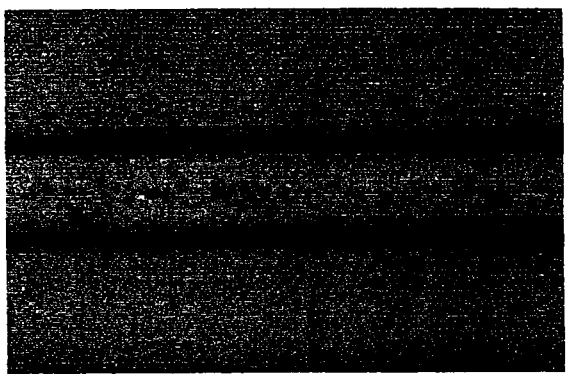


Fig.4 A photo of red blood cells type A being encountered with their antibody, following aggregating.

状態を示している。すなわちまだ抗体に交叉していないので，ブランクの泳動図である。Fig. 4には陽極側の溶媒だめに入れたA型抗体が電圧の印加に伴いキャピラリー管に導入され，A型血球と交叉し，これにより凝集が生じている状態が示されている。A型抗体は二価抗体であるので，血球間の凝集が生じる。A型血球がB抗体と交叉しても凝集は生じなかった。このようにして赤血球に関してA，B，AB，O型の判別がナノリットルの全血試料で可能なことが分かった。又操作時間は約5分で測定できた。

5 考 察

5・1ミクロキャピラリー交叉電気泳動装置を用いての血液型判定

提案した方法による血液型判定は，表試験において成立した。同様に裏試験においても予備試験結果では成立している。実際に適用するには，全血クロスマッチの表，裏両試験の成立が必要である。原理的にこれらは問題なく適用可能である。

5・2 凝集の判定について

提案した方法のシステム面での問題点は凝集の判定にある。Fig. 4に示したのは判定しやすい例であるが，検体により凝集の弱い場合における判定が確実にできるかがもっとも大切なことである。又非特異的凝集がブランクで認められる場合にその後の交叉反応によって生じた凝集の区別が必要である。これらの点について，現在は目視により判定しているが，コンピューターを用いた画像処理を行えば更に確実性が高まるであろう。

凝集の判定について，もう一つの可能性は赤血球のブラウン運動を利用することである。顕微鏡観察により，箇々の赤血球はブラウン運動をしていることが認められた。凝集した場合には凝集体としてのブラウン運動を行うので，凝集体かそれとも単なる重なりかの判定にこのブラウン運動の動きを利用すれば有効な方法となろう。

本実験においてはすべて手作業で行った。これは将来自動化するのが適当であろう。

操作時間は5分と非常に短時間である。20nlの極微量全血試料を用いての抗原抗体反応による血液型判定方法が可能になったのは，キャピラリー管の使用による安定なミクロ場の利用による。

6 結 論

短い溶融石英キャピラリー管（内径50μm，長さ10 mm）中に全血を入れて電場（20-30V）を印加すると，血球成分と血漿成分に分離できる。分離された血球成分に赤血球抗体試薬を向流により会合させると，抗原抗体反応が生じない場合には血球成分の凝集は認められず，抗原抗体反応が生じると血球の凝集が認められる。これにより血液型の判定ができた。これらの観察は顕微鏡下で行われるので凝集のレベルは数個の血球集団が生じるかによって判定出来た。検査に供された希釈された全血を含む溶液は約20ナノリットルの極微量であり，操作時間は約5分で，顕微鏡での観察はCCDカメラ，ビデオ記録を併用した。本法は迅速，極微量の全血を用いる新たな血液型判定法として用いることが出来る。

文 献

1) 日本臨床衛生検査技師会編：日本技輸血検査標準法 pp.8-37(1992).

2) Noriyuki Tatsumi, Izumi Tsuda, Kayo Inoue : *Clin.Lab.Haemat.*, **11**, 123-130(1989).

3) W.Hitzler, H. Scmig - Brekner, D.Mathias : *Arzliche laboratorium*, **35**, 89-92 (1989).

4) K.J.Reis et al. : *Transfusion*, **33**, 639-643 (1993).
石田朋子他，機器・試薬，20，863-873 (1997).

5) S.Kitagawa, C.Kawaura, O.Hashimoto, T.Takahashi, M.Naoi, T.Tsuda : *Electrophoresis*, **16**, 1364-1368 (1995).

（本報告の主要部は研究責任者らの発表論文(分析化学，47,355-359,1998）より転載した）

超音波ドプラ法による局所脈波速度計測法の新開発

研究責任者：香川医科大学医学部第二内科　教授　松尾裕英
共同研究者：香川医科大学医学部附属病院総合診療部　教授　千田彰一
東京女子医科大学附属日本心臓血圧研究所基礎循環器科　教授　菅原基晃
現土肥病院　弓場雅夫
（株）光電製作所　片倉景義

1．はじめに

今日の死因第2，3位である虚血性心疾患や脳血管障害などは，動脈硬化症に起因しており，心筋梗塞や脳梗塞は粥状動脈硬化が進展した結果発症する。しかし動脈硬化症は，これらが発症するよりも相当以前から無症候性に進行していることが多い。よって，動脈硬化症を早く発見し病変の進展を未然に防ぐためには，動脈硬化症を早期診断してその病変程度を定量的に評価することが必要となってくる。また，動脈硬化は動脈系全体に一様瀰慢性に生ずる病変ではなく，各部位でその進展は必ずしも並行していない。このため頸動脈，胸部大動脈，腹部大動脈といった各局所で動脈硬化を定量的に測定する必要がある。

動脈硬化症は本来病理学的な概念であるが，動脈壁の物理的な硬さが増大したものという考え方に立脚して，動脈硬化を定量的に評価する方法の1つとして脈波速度計測法がある。脈波の伝播速度Cは，ヤング率をE，血管壁厚をh，血管内径をD，液体密度をρとすると，Moenes-Korteweg の式より

$$C=\{(Eh)/(\rho D)\}^{1/2} \qquad (1)$$

と表すことが出来る[1]。この式によると，ヤング率が上昇するつまり血管弾性が上がったり，血管内径が小さくなったりすれば脈波速度が速くなる。すなわち，脈波速度が動脈の狭窄や壁肥厚，硬化病変度を直接反映することから，これを計測することにより動脈壁の物理的な硬さを定量評価することができる。それゆえ，非侵襲的に動脈硬化症を診断する簡便な検査法として脈派速度計測法が臨床の場で用いられてきた[2]。

臨床指標としての脈波速度は，当該動脈二点間の伝播距離と脈波の位相差とから求められ，平均的動脈硬化度推定の良い指標として従来から利用されてきた。現在のところ，非観血的に脈波の位相差を検出する方法として体表面においた圧センサーを用いる方法が一般的である。しかし，頸動脈と大腿動脈の圧脈波により計測される脈波速度は，空間平均的な評価を行うもので，局所の微小な変化の検出は困難であり，異常の早期変化に対しても鋭敏性を欠いた。これに対して局所の脈波速度を測定すると，各々の動脈硬化度を推定することができ，かつ薬物などによるその部位の微小な反応の検出も可能となってくる。そこで，近接した2点において測定した超音波ドプラ信号同士の直接複素相互相関処理により，脈波の伝播時間を計測する局所脈波速度法を新たに考案した[3,4]。

本研究では，血流ドプラ信号間の相互相関処理を行って高精度に脈波伝播時間を測定し，超音波断層法との併用により局所脈波速度を計測する方法を確立し，試作した超音波断層装置が日常の検査業務の中でも効率よく微小部分の局所脈波速度計測ができる実用的な診断システムたり得るか否かを検討した。

2．計測原理

（1）流速波形と圧波形との関係

無限長の管内における液体圧力変化（圧脈波に相当）ΔPと液体流速変化（流速波形に相当）ΔUとの関係は，Cを圧力変化の伝播速度とすると，

$$\Delta P=\rho C\Delta U \qquad (2)$$

と表すことができる[5]（図1）。ρ（液体密度），Cは一定であるとすると，ΔPはΔUと比例関係にあり，圧力変化（圧波形）と流速変化（流速波形）は，同一波形とみなすことができる。それ故，流速波形を計測することによって，圧脈波の到達を感知することができる。つまり，従来の二点で同時に計測された圧波形により求められた脈

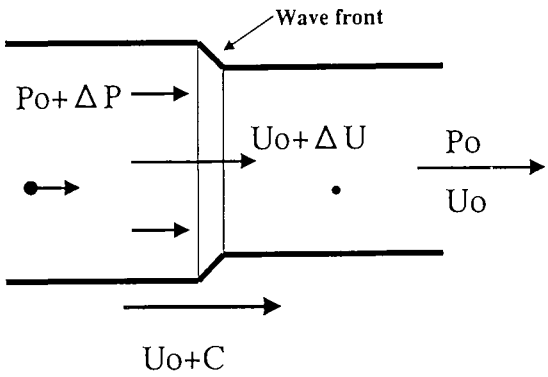


図1　圧波形と流速波形の関係

波伝播時間は，同時に二点で血流速度波形を計測し，その立ち上がりの時間差をみることにより計測することが可能となる。

（2）脈派伝播時間計測の時間分解能

血流速度の経時的変化情報（血流速度波形）は，ドプラ血流速度計で計測可能である。但しドプラ血流速度計測法を用いる場合，計測精度に直接関与する因子として，脈波伝播時間検出における時間分解能が問題になってくる。従来は，ドプラ反射信号の周波数分析にはフーリエ変換を用いて解析していたため一定の信号継続時間を要し，通常の速度分解能を維持しつつ実現される時間分解能は，時間－周波数の不確定性原理により良いもので20msec程度までであった。これは生体での脈波伝播距離に換算すると10～20cm程度となり，フーリエ変換を使用した周波数分析法で距離数cm以下の局所二点でのドプラ流速波形を記録しても，目視によって血流速度波形の立ち上がり時間差を測定することは不可能である。そこで，二つのドプラ信号を血流速度波形に変換することなく直接に，相互相関法を利用して二信号間の時間差を求める方法を考案した[4,6]。

（3）本方式における時間分解能の利点

相互相関関数における理論的な時間分解能は，信号周波数帯域幅の逆数に相当するといわれている[7]。媒質中を進行する超音波の音速をC，超音波発信周波数をf，媒質の流速をV，ドプラ入射角をθとすると，周波数帯域幅Bは

$$B=(f\cdot 2\cos\theta\cdot V)/C \qquad (3)$$

と表すことができる。ここでC=1500m/sec, f=7.5MHz, V=0.5m/sec, θ=0とすると，(3)式よりB=5.0KHzとなる。すなわち，この逆数が時間分解能となるため，1/B=0.2msecとなり，本法における時間分解能は理論的には0.2msec程度である。

3.方法

（1）拍動流路モデル

本システムの基礎実験として，ハーバード型ポンプ（MODEL55-3321）を用いて水槽内に流路モデルを作成し，動脈壁のモデルに内径10mmの物理的性状の知れた柔らかいシリコーンチューブを使用し，これを水平に設置した（図2）。模擬血液として，脱気40%グリセリン水溶液にスターチを混合した溶液を使用した。この拍動流モデルでは，サンプルポイント間距離を1cmから5cmまで1cmずつ変化させながら2点間の脈波到達時間を測定し，脈波速度を求めた。

（2）超音波装置

HITACHI社製EUB165A型超音波診断装置に装備されているパルスドプラ法マルチゲートモードを用い，1ビ

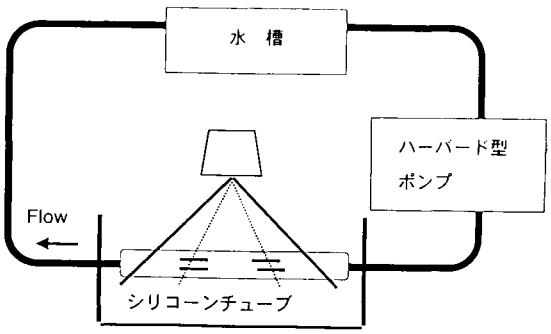


図2　拍動流路モデル

ーム2ゲート方式にて同時に2点で連続10心拍のドプラ信号をコンピューターに記録した。探触子は通常用いられている7.5MHzのリニア走査型を使用した。脈波伝播距離は，Bモード断層上で確認しながら二つのサンプルポイント間として1cm，2cm，3cm，5cmと設定した。

次により実用的な試作システムとして，フクダ電子社製超音波断層装置ＵＦ５８００Ａに２個のドプラユニットを追加した血流ドプラ計測部と，得られたドプラ信号データを演算処理するパーソナルコンピュータとで構成した（図３）。今回の装置において，探触子は3.5/5MHzのセクタ型を用いた。まずＢモード断層上で血管の縦断面像を描出して，血管内に２個所のサンプルポイントを設定し，それぞれの血流ドプラ信号の実数成分と虚数成分をＡＤ変換してパーソナルコンピュータに取り込んだ。本装置の特徴は，２個のサンプルポイントそれぞれが断層像上の任意の場所へ移動でき，その設定部でのドプラ信号が即座に得られることである。さらには，装置画面には，断層像と２個のドプラ波形を同時表示し，モニタ画面上に２個のサンプルポイント間距離とサンプルポイント幅を常時実時間表示した。

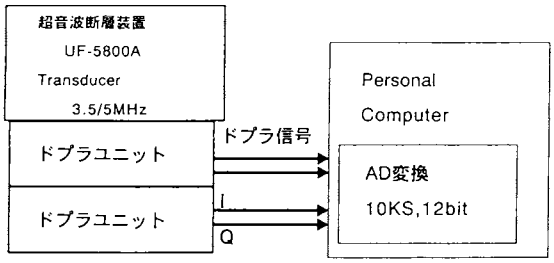


図3　試作システム構成

（3）脈波伝播時間の演算

流路モデル内または血管流路内のシリコーンチューブ上流部をサンプルポイント1とし，下流部をサンプルポイント2とした。この2点で同時にドプラ信号を検出してA/D変換を行いコンピューター（PC9801）に取り込んだ。サンプルポイント1の信号を基準信号として基準信号長100点にて相互相関関数を計算した。そのグラフを描くと図4に示すようなピークを有する曲線が求められる。0点よりピーク出現時刻までの時間を，サンプルポイント1，サンプルポイント2の信号のズレ，すなわちサンプルポイント間dの脈波伝播時間として測定した。

（4）臨床例での計測

本システムを用いて，健常成人で局所脈波速度を計測した。断層面に血管の縦断面像を描出し，血管内の中心にサンプルポイントを設定し，それぞれの部位で最大血流速度波形を記録した。計測は，大腿動脈波を触知する部位で左大腿動脈血流を，臍上部で腹部大動脈血流を，頸動脈波を触知する場所で左総頸動血流をそれぞれ記録した。

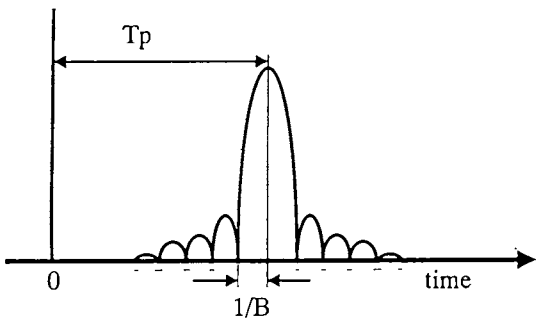


図4　ドプラ信号の相互相関関数の最大値

4.結果

（1）伝播距離と脈波伝播時間との関係

脈波伝播時間は，図5に示すようにシリコーンチューブ内径にかかわらず測定2点間距離と強い一次関係（内径12mm：y=1.5x＋0.08, r=0.98, 内径10mm：y=1.3x＋0.06, r=0.99）にあり，距離が短くなるのに対応して伝播時間は短くなった。各距離での分散度は，内径12mmの方が内径10mmに比して大であった。

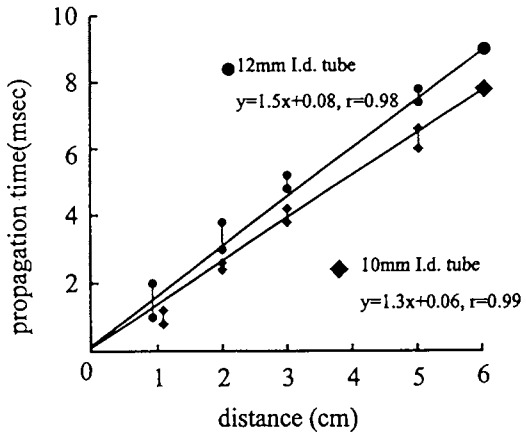


図5　測定間距離と脈派伝播時間との関係

（2）　伝播距離と脈波速度との関係

拍動流路モデル実験で，EUB165A型超音波診断装置によるシステムでは，局所脈波速度はサンプルポイント間が1cm，2cm，3cm，5cmにおいてそれぞれ内径12mm：9.1m/s ±77%，6.3m/s ±18%，6.7m/s ±4%，7.1m/s ±9%，内径10mm：8.2m/s ±32%，8.1m/s ±3%，7.2m/s ±5%，8.0m/s ±6%と，測定間距離が短いほどばらつきが大であったが，各距離間で有意差は認められなかった（図6）。また，ＵＦ５８００Ａ超音波診断装置によるシステムで得られた局所脈波速度は，サンプルポイント間が1cm，2cm，3cm，4cm，5cmにおいてそ

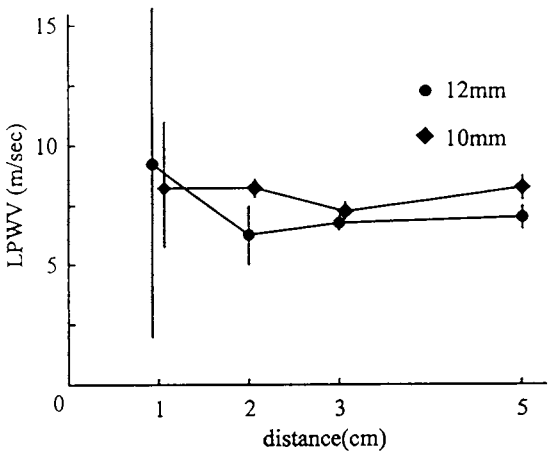


図6　測定間距離と局所脈派速度の関係
●　内径12mm，◆　内径10mm

れぞれ8.8±1.0m/s, 8.3±0.7m/s, 8.6±0.5m/s, 8.4±0.4m/s, 7.9±0.3m/sであった。

（3）臨床応用

健常成人での1例（22歳男性）を示す。大腿動脈，腹部大動脈，頸動脈で得られた局所脈波速度は，それぞれ5.5m/s, 4.9m/s, 5.2m/sと，末梢にいくほど脈波速度は早くなる結果が得られた（図7）。健常男性7例（19～33歳）での検討では，それぞれ 6.4± 0.8 m/s, 4.0± 0.5 m/s, 4.8± 0.5 m/s（$p<0.05$）であった。次にプラークのある例（82歳女性頸部）では，プラークを挟んだ2点間で脈波速度を計測すると10.3m/sと非常に早くなっており，プラークの手前の脈波速度は6.5m/sと低値をとった（図8）。

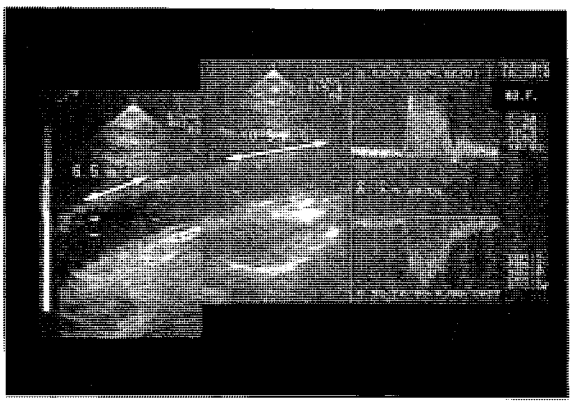


図7　局所脈波速度計測例（22歳男性）

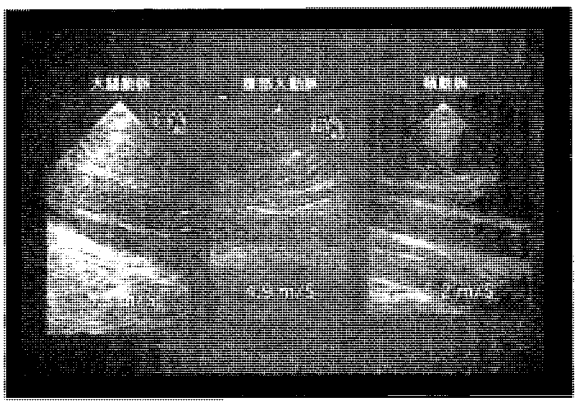


図8　局所脈波速度計測例（82歳女性頸部）

5. 考察

脈波の到達を検出する手段として超音波ドプラ法を用いると，表在だけでなく深部の動脈をも計測対象とすることができる。一方，近接距離で脈波伝播時間計測を行うには，その時間分解能が問題となる。そこで我々は，極めて短い距離における2点間の血流ドプラ信号の直接相互相関からその時間差を求めて脈波速度を非侵襲的に求める局所脈派速度計測法を提唱してきた[3),4),6),8)]。

拍動流路モデル実験では，異なるサンプルポイント間で得られた局所脈波速度は，いずれもあらかじめ求めたチューブの理論値7.4m/s（内径12mm），8.1m/s（内径10mm）にほぼ一致した値が得られた。ただし，サンプルポイント間の距離が短いほどばらつきが大きくなる傾向が認められた（図6）。したがって精度よく計測するためには，なるべくサンプルポイント間の距離を離しておくことが必要である。先に行った検討では，サンプルポイント間の距離が2cmまでならば，得られる局所脈波速度の測定精度は，82%程度であった[9)]。

さらにヒトでの実測場面を考えると，解剖学的に腹部大動脈の大きな四分枝，つまり腹腔動脈，上腸管膜動脈，腎動脈，下腸管膜動脈のそれぞれの間隔は1～2cm，2cm，5cm程度で[10)]，さらに下腸管膜動脈と総腸骨動脈の分岐までは5cmである[11)]。このため，臨床的には2cmの距離を局所としても問題はないと考えられる。よって体表からのアプローチによる本法の局所脈波速度の計測は，反射波の影響を受けない所であれば，測定2点間距離が2cm程度ならば臨床応用上も正確に計測可能であると考えられた。

ヒトでの実計測において，断想像にて解剖学的状況を目視しながら血流計測を行うため，サンプルポイントの設定が容易でかつ確実になしえた。また，ＵＦ５８００Ａ試作装置において，設定サンプルポイント間はリアルタイムに距離が表示されるため，その精度は信頼性が高いと考えられる。

試作装置では，目標とする血管軸に対して種々の角度からのドプラ信号の記録が可能で，血管が蛇行している場合などでも，任意の場所で2個のサンプルポイントを設定してドプラ信号が得ることができた。また，プラークを挟んだ2点間の脈波速度は非常に早くなっており，これは計測部動脈内径の狭小化と壁の硬化のためであると考えられた。しかし，プラークの手前の脈波速度はむしろ低値をとったが，これはプラークの存在によって血流動態に変化が起きたことによる可能性を否定できない。

局所脈波速度は，今回の成績および先に同様に行った検討においても[8)]，動脈の部位により異なり末梢にいくほど早くなる結果が得られた。これは，動物実験で示されている結果[12)]とよく一致している。ここで，臨床成績の集積がなされれば，ヒトでの動脈硬化の進展に関する新たな知見が得られると期待される。

今回の計測では試作手順の都合からセクタ型探触子を使用したが，2点間の距離をなるべく大きく，また血流

に対する角度を小さくとりたいがために，どうしてもサンプルポイントを画面の両端近くに設定してしまいがちで十分な血流信号が得られにくい事例もあった。これに対しては，小口径のコンベックス型探触子が望ましく，探触子と体表の間に十分なカップリング材が必要と思われた。また，より高周波数のリニア型探触子を用いた方が一層計測精度の向上が期待されよう。

本研究では，局所脈派速度計測法の試作システムを用いて，動作と精度の確認および臨床適用を行ってその実用性を評価した。

6．おわりに

超音波断層装置に２チャンネルドプラユニットを追加し，局所脈波速度の計測を行なって，その試作システムの妥当性を検討した。拍動流路モデルでは，理論値と実測値とがほぼ等しい良好な結果が得られ，試作システムの計測精度が確認された。また，ヒト動脈において，大腿，腹部，頸部動脈の局所脈波速度の計測を安定して記録可能であった。

我々が提唱している局所脈派速度計測法は，動脈硬化症の早期発見に寄与しうる診断法であると期待される。

6．謝辞

本研究を遂行するに当たり，(財)中谷電子計測技術振興財団の第１３回研究助成をいただきましたことを深謝いたします。

参考文献

1）Bramwell JC & Hill AV: Velocity transmission of the pulse wave and elasticity of artries. Lancet. 1992, 1:891-2.
2）吉村正蔵，長谷川元治，荒井親雄，阿部正威，相沢義則，川崎健，三川武彦：脈派伝播速度と動脈硬化，臨床病理，２１：79-86，1973
3）千田彰一，西谷智彦，片倉景義，阪本整司，舛形尚，藤田憲弘，吉川圭，松尾裕英：血流ドプラ信号を利用する局所脈波伝播速度計測法の研究，超音波医学，２０（Suppl I）：679-680，1993
4）片倉景義，千田彰一，西谷智彦，松尾裕英：血流ドプラ信号の直接相関を利用する局所脈波速度計測法の研究．超音波医学，２１：195-201，1994
5）（社）日本油圧学会編：新版油圧便覧，第一編，pp 24-25，医学書院，東京，1989
6）片倉景義，千田彰一，西谷智彦，弓場雅夫，松尾裕英：血流ドプラ信号直接相関による局所脈波速度計測法の簡易モデル水路における基本動作確認．超音波医学，２２：439-443，1995
7）Stewart JL and Black CI: On sonar signal analysis, IEEE Trans. AES, AES-6-1, 37-50, 1959.
8）西谷智彦，千田彰一，片倉景義，菅原基晃，弓場雅夫，森田久樹，舛形尚，吉川圭，横井博信，松尾裕英：超音波ドプラ信号を利用する局所脈波速度計測のヒト動脈への応用．超音波医学，２２：695-701，1995
9）弓場雅夫，千田彰一，西谷智彦，片倉景義，菅原基晃，横井博信，舛形尚，阪本整司，水重克文，松尾裕英：ドプラ信号の直接相互相関を利用した局所脈波速度計測―流路モデルによる精度検討―．医用電子と生体工学，３５：36-43，1997
10）Abrams HL: Angiography Volume II, 2nd ed., pp 732-734, Little Brown, Boston, 1971
11）嶋井和世，木村邦彦，瀬戸口孝夫，出浦滋之監修：グレイ解剖学II，pp679-693，廣川書店，東京，1982
12）McDonald DA: Regional pulse wave velocity in the arterial tree. J. Appl Physiol 24:73-78, 1968

医療用マイクロバイオセンサーシステム

研究責任者：北陸先端科学技術大学院大学　材料科学研究科　教授　民　谷　栄　一
共同研究者：北陸先端科学技術大学院大学　材料科学研究科　助手　村　上　裕　二

1．はじめに

バイオセンサーは生体材料のもつきわめて優れた分子識別能力を利用して化学物質の濃度を測定するセンサーである。原理的にはこのバイオセンサーのチャンネル数を増やし，集積型にすることによって測定対象物質の種類を増やすことができる。これにより種々の酵素基質・抗原・DNAなどを同時に測定可能となるだけでなく，匂いや味といった生物感覚器を構築できる可能性もでてくる。こうしたセンサーの作製には，生体材料である酵素や抗体などの識別素子の固定化が必要である。これまでの主な方法は，異なる種類の生体材料を順次それぞれ個別に基板に配置し固定化していた。この方法では，センサーの微小化や固定化生体材料の種類の増加に対応することが困難であった。そこで本研究では，異なる種類の生体材料を同時に一括して固定化できる方法の開発を目的とする。この目的を実現させるために，材料の配置操作に自己組立ての手法を採用した。つまり，配置操作は対象が微小になってくると，配置させる部品と配置させる側になんらかの親和力をもたせ，この力を利用して会合構築させる(自己組立て)方が効率よくなるからである。このような方法を用いてシステムを構築した報告としては，重力，磁気力，表面張力，横毛管力，親水性疎水性，静電気力，生体材料の特異的親和力を用いたものなどがある。なお，このうちバイオセンサーの作製に利用されたものは，2件だけである。

多チャンネルを実現するためには構築の繁雑さなしに，多くの構成要素を一度に構築する技術が必要になってくる。そこで，センサーの作製には微細な加工や，一度に同じ構成要素を多く構築することが可能な技術である微細加工技術を用いた。この技術は半導体産業において半導体集積回路など多くの電子部品の作製に用いられている。この技術を多チャンネルの集積型センサー構築に用いると，センサーチャンネルが数万単位になった場合でもセンサーの測定部分の大きさは数センチメートル以内に微小化することができる。また，今までの微細加工技術や自己組立てを利用した集積化センサーの研究は，検出方法が光によるものであり，電気化学的な検出を行った報告はない。

そこで本研究では電気化学的な検出も可能な集積型バイオセンサーの開発を行った。特に，識別素子である酵素をガラスビーズ担体に固定化し，このガラスビーズを基板に配置することによって，センサー素子に応用することを試みた。この担体を基板に配置し，酵素触媒による発光を検出することによってセンサーとして利用できることを検討した。このために，基板をフォトファブリケーションによって作製し，ガラスビーズへの酵素固定化の検討をした。また，集積化が可能であるかを調べるために，複数の酵素を用いて基質により異なる反応が起こることを検討した。

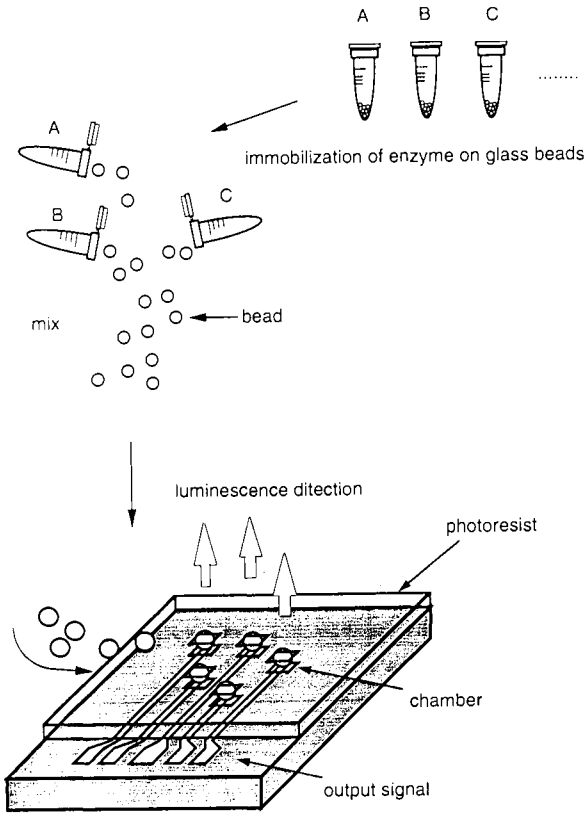
2．集積型バイオセンサーの構築

2.1．実験に用いた試薬，材料

本研究で使用した試薬，および材料は次のとおりである。ペルオキシダーゼ（POD：西洋ワサビ由来，和光純薬工業）とグルコースオキシダーゼ（GOD：和光純薬工業）を反応の触媒として用いた。酵素固定化のためのビーズ洗浄用に水酸化カリウム（和光純薬工業）を用いた。酵素の固定化にはトルエン(和光純薬工業)，グルタルアルデヒド(25%，和光純薬工業)，3-アミノプロピルエトキシシラン（γ−APTES：信越化学工業）を用いた。ガラス基板の洗浄にはアセトン(電子工業用，関東化学)，イソプロピルアルコール(IPA：電子工業用，関東化学)

を用いた。フォトリソグラフィーに用いたレジストは厚膜用ネガレジストSU−8 50 (MicroChem Corp)，現像液にはSU−8 Developer (MicroChem Corp) を用い，剥離液にはSU−8 Remover (MicroChem Corp) を用いた。またネガ型レジストでOMR85レジスト(東京応化工業)，その現像液 (東京応化工業)，レジストを剥離するときに，クリーンストリップリンスHP (東京応化工業)，ストリップリンス(東京応化工業)を用いた。また，化学発光試薬にルミノール(生化学用，和光純薬工業)，助触媒となるp-ヨードフェノール(東京化成工業)，反応の酸化剤として過酸化水素 (30%水溶液，生化学用，和光純薬工業)を用いた。センサーの基板に厚さ1.2〜1.5㎜，76×26㎜の形状のMicro Slide Glass (Matsunami) を用いた。酵素を固定化する担体には直径が100μmのガラスビーズ (井内) を用いた。

また，基板に薄膜を蒸着するために蒸着装置 (昭和小型真空蒸着装置) を使用した。フォトファブリケーションのための装置として，レジストを塗布するためにスピンコーター (IH-DX, MIKASA)，ベイクするためのオーブン (DK300, Yamato)，露光するためのマスクアライナー (MUB3, KARL SUSS) を使用した。ガラスビーズの配列確認に実体顕微鏡(OPTIPHOT-2, Nikon) を用いた。発光反応を検出するために化学発光検出器 (ARGUS50, 浜松ホトニクス) を用いた。作製したレジスト形状を測定する装置に表面粗さ計(Dektak3030, 日本真空技術株式会社) を用いた。



Figuer 2.1 Schematic representation of the fabrication biosensor using glass beads for immobilization of enzyme onto the chip.

2.2. センサーの作製方法

本研究で作製し，使用したセンサー概略をFigure 2.1に示す。構成は酵素を固定化するための担体であるガラスビーズ，それを配置するためのガラス基板からなっている。担体の形状は，直径が100μmで水に沈澱可能である。基板はフォトファブリケーションにより作製し，担体が入るためのチャンバー，またその中に電極が配線された構造になっている。この担体と基板を組み合わせることによりセンサーとして利用する。このセンサーの検出方法は，酵素触媒反応によっておこる蛍光検出と酸化還元反応による電気検出の複合的検出を可能にすることを考えた。以下に，センサー作製の手順を示す。

2.2.1 センサー基板の作製

センサー基板の作製をFigure 2.2と以下に示す。

[1] 基板の洗浄

ガラス基板を中性洗剤(コンタミノン，Wako)を用いて洗浄し，比較的大きな汚染物質を取り除いた。次に，基板を超純水に浸し，5分間超音波洗浄し，極性汚れを取り除いた。さらに，非極性の汚れを取り除くために，IPA (イソプロピルアルコール)，アセトン，IPAの順でそれぞれ5分間同じ様に超音波洗浄した。最後に超純水で5分間超音波洗浄した。この後，基板をホットプレートで200℃，10分間加熱し基板に残った水分を取り除いた。

[2] 電極の蒸着

蒸着装置を用いて10^{-7}〜10^{-6}torrの真空状態で，センサー電極を作製するためにクロム200Å，金1000Åをガラス基板に蒸着した。

[3] 電極作製のためのレジストパターン作製

フォトマスクをAdobe Illustratorで作製した(3000dpi相当，山田製版)。スピンコータを用いてネガ型レジストOMR−85を基板上に均一に塗布した。この基板をホットプレートで加熱し，予め作製したマスクパターンを用いて，露光し，現像することにより任意のレジストパターンを得た。

(OMR-85)

ベーク：ホットプレート　200℃　15分

HMDS塗布：スピナー　初速：300rpm 3s, slope：2s,

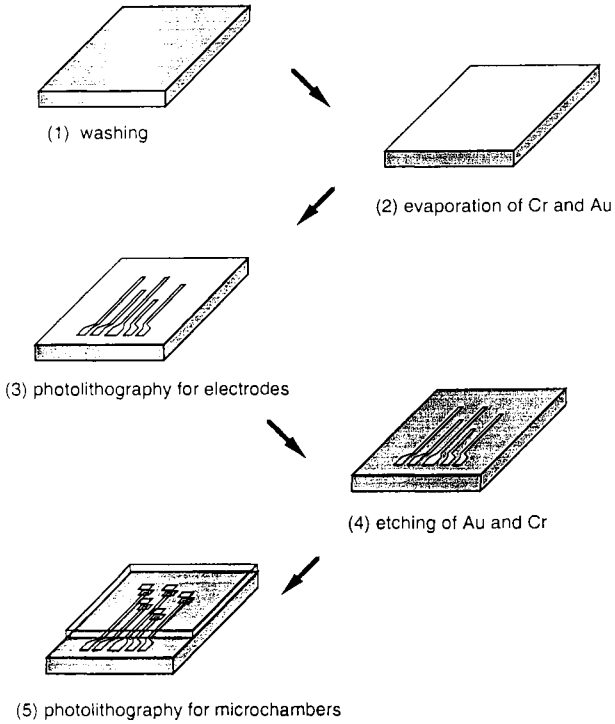


Figure 2.2 Fabrication procedure of the sensor chip.

本速：4000rpm 20s, slope：2s
終速：6000rpm 2s, slope：2s
HMDSプリベーク：ホットプレート　110℃　3分
塗布：スピナー　初速：300rpm 3s, slope：2s,
本速：4000rpm 20s, slope：2s
終速：6000rpm 2s, slope：2s
ソフトベイク：ホットプレート　110℃　3分
露光：マスクアライナー　0.4s
(露光装置の出力が13.1mWの時)
ポストベイク　：オーブン　125℃　20分
現像：OMR-85 現像液　2分
OMR-85 リンス　1分
純水　1分
OMR-85 除去：クリーンストリップ　120℃　1分
ストリップリンス　1分
アセトン　1分
水洗い

[4] エッチングによる電極形状の作製

レジストパターンが形成してある基板を金，クロムの溶解液（エッチング液）に5分間浸した。基板上のレジストを剥離することにより，電極パターンを作製した。金はエッチング液(ヨウ化カリウム40g，よう素10g，水400 mL)，クロムはエッチング液(水酸化ナトリウム40g，フェリシアン化カリウム100g，水400mL）を用いた。

[5] レジストパターンによるセンサーチャンバーの作製

ネガ型レジストSU-8 (50) を用い，[3] でおこなった工程手順でレジストパターンを作製した。以下にそれぞれの工程での設定値を記した。

(SU-8)
ベーク：ホットプレート　200℃　15分
塗布：スピナー　初速度：500rpm 10s, slope：10s,
本速度：2000rpm 20s, slope：5s
ポストベイク：ホットプレート　100℃　20分
露光：マスクアライナー　17s
(露光装置の出力が13.1mWの時)
ハードベイク：ホットプレート　100℃　15分

以上の [1] ～ [5] のステップを踏むことにより，センサー基板を作製した。

2.2.2　ガラスビーズへの酵素固定化

酵素のガラスビーズへの固定化方法をFigure 2.3に示す。直径約100μmのガラスビーズを200メッシュのふるいにかけたのち，10%水酸化カリウム溶液中，室温で数時間撹拌し，洗浄した。これを10%γ-APTESトルエン溶液で終夜還流し，濾紙にとってトルエンで洗浄した。さらに115℃で4時間加熱したのち，2.5%グルタルアルデヒド(GA)を含むリン酸緩衝液 (pH 7.1) 中で1時間反応させた。洗浄後，10%PODを含むリン酸緩衝溶液中に終夜浸し固定化した。

2.3　担体に固定化した酵素活性の測定方法

グルコースオキシダーゼ (GOD)，ペルオキシダーゼ (POD)，およびその両方固定化した3種類のビーズを準備した。p-ヨードフェノール0.13mM，ルミノール1 mMの混合溶液の中に基板を浸し，その基板のチャンバー内にそれぞれのビーズを入れた。この溶液中にグルコースを入れるとFigure 2.4(1)の2段階の酵素反応が起こりGODとPODを固定化したビーズの発光が起こることを確認した。また，過酸化水素を入れるとFigure 2.4(2)の反応が起こり，GODとPODを固定化したビーズ，PODのみを固定化したビーズで発光が起こることを確認した。なお，発光は2次元高感度化学発光系計測システムにて測定した。

3．結果および考察

3.1　センサー基板の作製

作製したセンサー基板の写真をFigure 2.5に示す。

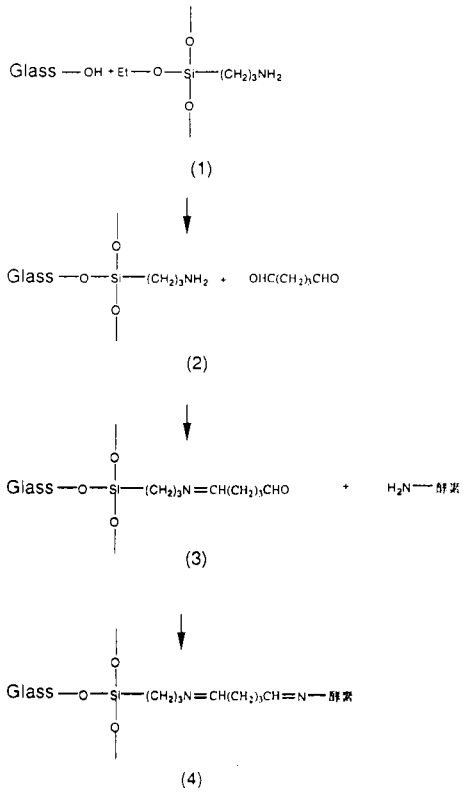


Figure 2.3 Surface modification scheme for immobilization of enzymes onto a glass.
(1) The glass beads were silanized with 3-aminopropyltriethoxysilane in toluene overnight at 115℃.
(2) The glass beads were immersed in 2.5%(v/v) glutaraldehyde in phosphate buffer (pH7.5).
(3) ,(4) The beads were dipped in phosphate buffer (pH7.5) containing 10% (w/v) peroxidase and kept overnight to immobilize them.

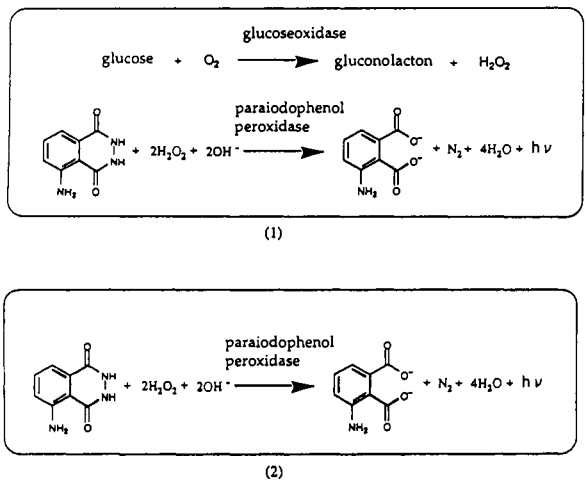


Figure 2.4 Reaction scheme of chemiluminescence, (1) sequential reactions were catalyzed by glucoseoxidase and peroxidase on glass beads, (2) chemiluminescence reaction was catalyzed by peroxidase.

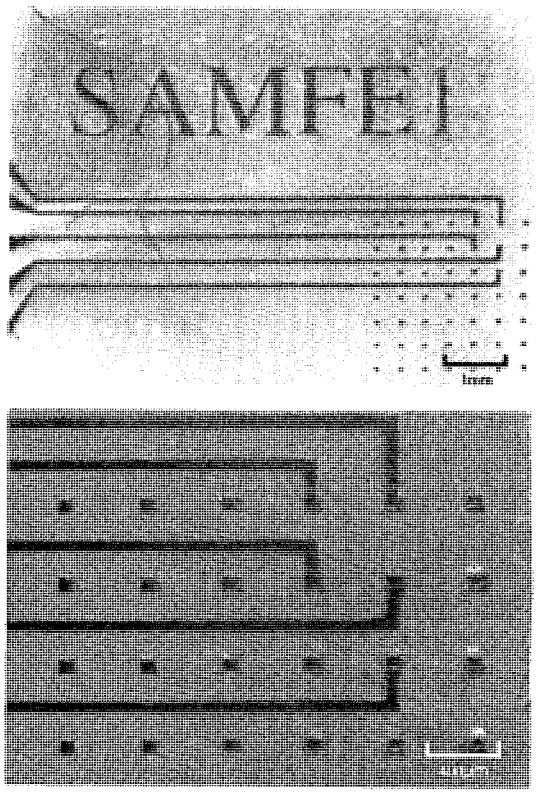


Figure 2.5 Photographs of the sensor.

作製手順 [2] において，蒸着の真空度は高い程，作製膜や装置のチャンバー内の蒸着による汚れを防ぐためにもよいが，排気に時間がかかるため，真空度は約10^{-7}torrにした。なお，作製手順 [4] のエッチング速度は，レジストパターンの大きさ形状によって異なってくる。

3.2 酵素固定化の検討

今回用いた生体材料は酵素であり，固定化においては，酸素の表面密度や，酵素の配向性などが重要になってくる。すなわち，生体材料は十分な量固定化されなければ実用的に利用できない。また，固定化によって立体構造が変化し，酵素としての機能が働かなかったり，配向が適当でないと，活性部位が露出していない状態になることが考えられる。このため，本研究で使用した酵素固定化担体が反応触媒として利用可能であることをルミノール発光により検討した。ペルオキシダーゼの活性の最適pHは6.0～6.5であり，ルミノールの発光の最適pHは10～11である。このためまず，使用する反応系での最適なpHを求めた。Figure 2.6は1mMルミノール5ml，0.13 mMパラヨードフェノール1ml，1mM過酸化水素0.2mlの混合溶液中にペルオキシダーゼを固定化した酵素を入れ，ルミノール発光を2次元高感度化学発光系計測シス

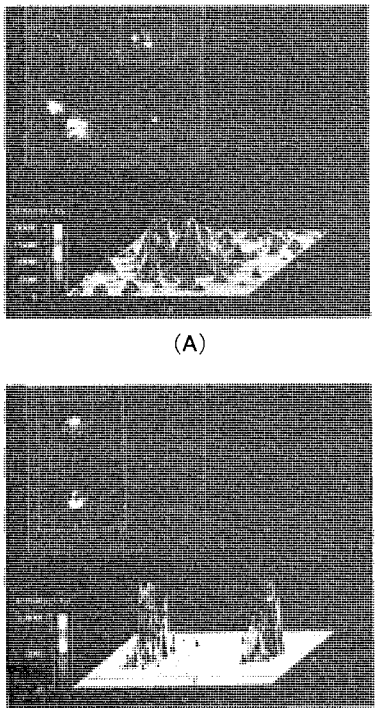


Figure 2.6 Luminescence intensities of HRP-immobilized beads. The reaction solution was a mixture of 1mM luminol, 1mM H_2O_2, 20mM phosphate buffer pH8.0 (A) or pH8.5 (B).

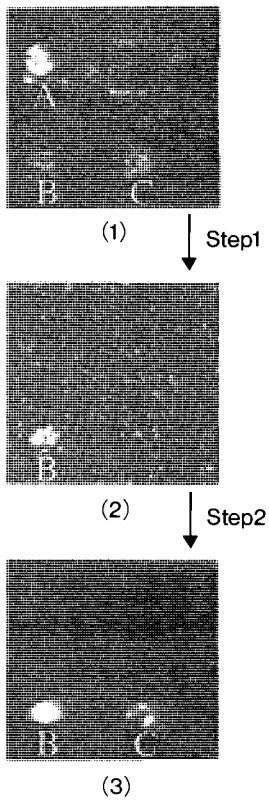


Figure 2.7 Chemiluminescence images of beads arranged in microchambers on the chip by a two-dimentional CCD camera (1) under normal light; (2) after the addition of glucose ; (3) after the further addition of hydrogen peroxide. The glass beads A, B, C were immobilized with glucose oxidase, glucose oxidase and peroxidase, peroxidase, respectively.

テムにて測定した結果である。pH7.5, 8.0, 8.5の3種類を調べた。pH7.5で発光は得られず，pH8.0, 8.5の両方で発光が測定されたが，Figure 2.6より，pH8.0でより高い発光が得られていることがわかった。このため，以後のルミノール発光を利用した実験ではpH8.0でおこなった。

3.3 センサーの集積化

センサーの集積化によって，異なる酵素が固定化してあるチャンネル間の距離が短くなり，複数のチャンネルの相互作用が問題となることが考えられる。グルコースオキシダーゼ (GOD)，ペルオキシダーゼ (POD)，とその両方固定化した3種類のビーズを用いて，酵素の触媒反応によるルミノール発光を測定した。Figure 2.7のBのビーズで起こる反応は，Figure 2.4の(1)のPODとGODによる2段階反応式である。このように，Figure 2.7のCのビーズで起こる反応は，Figure 2.4の(2)と対応している。この実験の結果より，同じ担体に2種類の酵素を固定化した場合は，グルコースを加えてルミノール発光がBのビーズから得られたことから，2段階の酵素反応を行なえることがわかった。また，もし，Bのビーズ上で生成した過酸化水素がCのビーズまで十分な量で拡散すれば，C上でも化学発光が見られるはずである。しかし，Cでは化学発光が見られていない。このことから，担体が図のように離れている場合に相互作用は起こらないことがわかった。このように，同じルミノールの発光反応溶液中で2種類の反応が検出できることが示された。

3.4 センサー電極による還元電位測定

Figure 2.8は作製したセンサーを50mM, 100mlリン酸緩衝液中に浸した。この中に100mMの過酸化水素を40秒間隔で0.5mlづつ加えていき，酸化還元電流値をクロノアンペロメトリーで測定した結果である。この結果により，本研究で作製した，センサーチップを用いて過酸化水素の濃度測定ができることが分かった。このセンサーチップのチャンバー内で，過酸化水素が生成する反応が起きれば電気信号として検出できることがわかる。グルコースのGODによる触媒反応で過酸化水素が生成することがわかっている。したがって，GODを固定化したビーズをセンサーのチャンバー内に配置すれば，グルコー

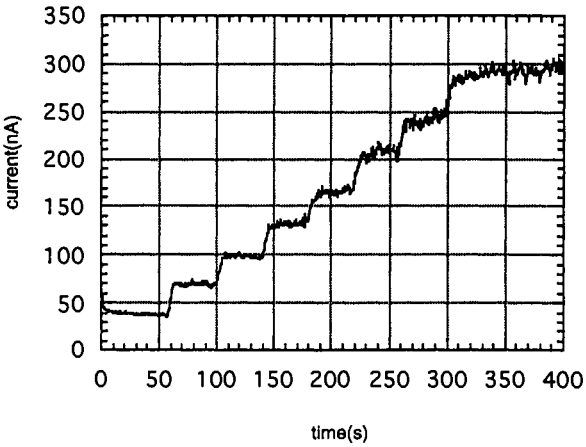


Figure 2.8 Response curve of the electrode on the chip against the sequential addition of hydrogen peroxide.

スの電気化学的検出が可能になると考え実験を行なってみた。しかし，この実験結果からは応答が得られなかった。この原因として，反応によって生成される過酸化水素の濃度が低いことや，配置されたガラスビーズと電極との距離が離れていたことが考えられた。したがって電気化学的な検出をするためには，電極上に直接生体材料を固定化する必要があると考えられた。

4．結言

以下に本研究で得られた結果をまとめる。

（1）厚膜用レジストSU-8を用いてレジストパターンを作製した。膜厚が約80μmのものが得られた。レジスト塗布を繰り返すことによってさらに厚い膜を形成することができると考えられる。

（2） 水溶液中で100μmのガラスビーズをSU－8で作製したレジストパターンのウェルにビーズの重力によって配置することができた。

（3） ガラスビーズ担体にγ-APTESの化学修飾を用いて酵素を固定化することができた。また，この固定化した酵素が触媒反応として使用できることがルミノール発光によって確認された。

（4） 酵素をビーズに固定化し，それぞれ別々のセンサーチャンバーに配置することによって，反応の相互作用が起こらなかったことから，それぞれのチャンバーにおいて孤立した反応系を作ることができた。これを集積型バイオセンサーに応用できることがわかった。

以上より，酵素をガラスビーズに固定化し，今回の実験のようにパターン状にビーズを配置させれば，異なる反応リアクターとして利用可能であることがわかり，集積型バイオセンサーに応用できることが示唆された。

5．発表論文

1．Y. Murakami, K.Yokoyama, E. Tamiya : Miniaturization of multifunctional biosensor with enzyme-immobilized beads, Proc. Micro-and Nanofabricated Structures and devices for biomediacal Environmental Applications, SPIE, vol.3258 11-14 (1998)

2．民谷栄一：化学センサーの機能化，マイクロ化，バイオセンサーの研究展開，特集解説，T.IEE Japan, Vol.118-E, No.12, 552-555 (1998)

バイオミメティック有機素子を用いた血中コレステロール計測用センサーの開発

研究責任者：広島市立大学情報科学部　教授　竹　内　俊　文

1 はじめに

化学物質の濃度を鋭敏に，かつ簡便に計測する方法としてバイオセンサーは有効な手段であるが，その分子認識素子である天然の酵素や抗体は安定性に欠けるという問題がある。そこで，優れた分子認識能をもち，また安定性にも優れた人工分子認識素子の開発が必要となっている。本研究ではナノグラムオーダーでの定量が可能である水晶振動子をセンサー素子として用い，その認識素子として人工高分子を用いる生体分子計測システムの構築を目的として研究を行った。

2-1 人工高分子固定化水晶振動子

水晶振動子をバイオセンサーとして用いた研究例として，抗原または抗体を水晶振動子上に固定化し，抗原抗体反応を利用して測定を行う免疫センサー[1]，検出したい遺伝子の塩基配列をもつDNAを固定化したDNAセンサー[2]，脂質膜を固定化した匂いセンサー[3,4]などが報告されている。しかしこれらの化合物は天然由来であるためコストが高く，寿命が短いなどの欠点が指摘されている。そのため安定性に優れ，コストも安い人工高分子を分子認識素子として用いるセンサーシステムが要望されているが，水晶振動子上に人工高分子を固定化してセンサー素子として用いた例はほとんど報告されていない。

本研究では，まずはじめに水晶振動子上に固定化する人工高分子として，ホウ酸基をもつ高分子を用いた。ホウ酸基は*cis*-ジオール基をもつ分子と選択的にかつ容易に結合することが知られており，糖質に対して選択性を示す分子を合成する際の有効な官能基として知られている[5,6]。そこで，ポリ-*p*-ビニルベンゼンホウ酸を水晶振動子上に固定化することにより，*cis*-ジオール基をもつ化合物のセンシングが可能な水晶振動子を調製し，センサーの評価を行った。

2-2 実験方法

2-2-1　測定装置

水晶振動子は基本振動数が9 MHz（SEIKO EG&G社製）のものを用いた。振動数は振動子をオシレーター（SEIKO EG & G QUARTZ CRYSTAL ANALYZER QCA917-11）に差し込み，振動数測定器（SEIKO EG&G QUARTZ CRYSTAL ANALYZER）を用いることにより測定した。

2-2-2　ポリ-*p*-ビニルベンゼンホウ酸の合成

p-ビニルベンゼンホウ酸（400mg, 2.7mmol），水（30 ml），過硫酸カリウム（11mg, 41μmol）を混合し，窒素雰囲気下60 ℃で20時間反応させることにより白色の化合物を得た。これをろ過して乾燥することによりポリ-*p*-ビニルベンゼンホウ酸を得た。

2-2-3　ピエゾ素子へのポリ-*p*-ビニルベンゼンホウ酸の固定化

得られたポリ-*p*-ビニルベンゼンホウ酸（125mg）をトルエン（5.0ml）に溶解させた。このポリ-*p*-ビニルベンゼンホウ酸溶液（10μl）をスピンコーター（ミカサ株式会社製）にセットされた水晶振動子上に滴下し，500rpmで5秒間，さらに2000rpmで20秒間回転することによりポリ-*p*-ビニルベンゼンホウ酸を固定化した水晶振動子を得た。これをメタノール：塩酸(0.001N)＝ 4：1の溶液，さらにメタノールで洗浄し実験に用いた。

2-2-4　16-エピエストリオール溶液の濃度と振動数変化

の関係

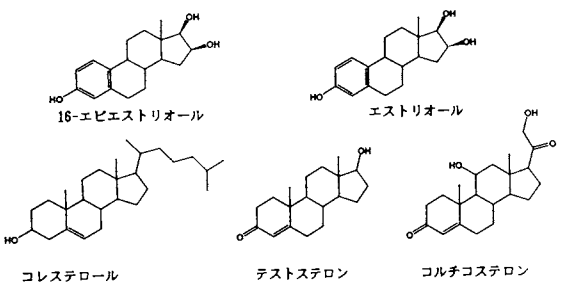
2-2-3の方法を用いてホウ酸基を固定化した水晶振動子の振動数をF_0とした。この水晶振動子上に16-エピエストリオールをメタノールに溶解させた1 mM溶液を20μl滴下し，30分間相互作用させた。その後，非特異的に付着した16-エピエストリオールを取り除くため，メタノール1 mlで洗浄を行った。その後，アスピレーターで15分間乾燥させ，振動数を測定した。このときの振動数をF_0とし，F_0-F_1から算出される1 mM 16-エピエストリオール滴下時の振動数変化を求めた。

16-エピエストリオールの洗浄は，メタノール：塩酸(0.001N) ＝ 4：1の溶液7 mlに5分間浸すことを2回繰り返し，1 mlのメタノールで1回洗浄したあと，アスピレーターで15分間乾燥を行い，次の測定に用いた。3 mM，5 mM，7.5mM，10mMの16-エピエストリオール溶液についても同様に振動数変化の関係を調べた。

2-2-5　ポリ-*p*-ビニルベンゼンホウ酸を固定化した水晶振動子の選択性

サンプルとして16-エピエストリオールの*trans*異性体であるエストリオール，*cis*-ジオール基をもたないコレステロール，テストステロン，コルチコステロンのメタノール溶液(10mM)を20 μl滴下し，30分間相互作用させた。その後，非特異的に付着したこれらの化合物を取り除くため，1 mlのメタノールで1回洗浄し，アスピレーターで15分間乾燥を行い，振動数を測定した。このときのエストリオールの振動数をF_{es}とし，F_0-F_{es}から算出される振動数変化を求めた。同様にコレステロール，テストステロン，コルチコステロンの振動数変化についても求めた。

評価方法としては，10mMの16-エピエストリオール溶液を滴下したときの相対振動数変化を100としたときのそれぞれの相対振動数変化を比較した。



本研究で用いる化合物の構造式

2-3 結果と考察

ホウ酸基を固定化した水晶振動子に各濃度の16-エピエストリオール溶液を滴下したとき，16-エピエストリオール溶液の濃度と振動数変化の関係についてみたものが，図1である。

ホウ酸基を固定化した3つの水晶振動子を用いて，各濃度における16-エピエストリオール溶液を20μlずつ振動子上に滴下したときの振動数変化の測定を行ったところ，このグラフから16-エピエストリオール溶液の濃度と振動数変化は直線関係であることがわかった。また，検出限界は20μlを滴下したときで1 mMから10mMであった。このことから1mMから10mMまでの範囲において，16-エピエストリオールのセンシングが可能であることがわかった。

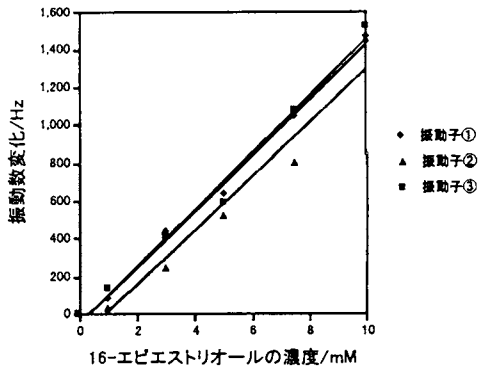


図1　ホウ酸基を固定化した振動子に各濃度の16-エピエストリオール溶液を滴下したときの振動数変化

次に，水晶振動子に固定化されたホウ酸基の選択性を確認するため，*cis*-ジオール基をもたない化合物を用いて結合能の評価を行った。その結果を表1に示す。

16-エピエストリオール溶液を滴下したときの相対振

表1　10mMの16-エピエストリオールの振動数変化を100としたときの10mMの各サンプル溶液の相対振動数変化

サンプル	相対振動数変化
16-エピエストリオール	100
コレステロール	14
テストステロン	3.2
エストリオール	0
コルチコステロン	0

動数変化を100とすると，*cis*-ジオール基をもたないコレステロールでは14，テストステロンでは3.2，コルチコステロンでは0，また16-エピエストリオールの*trans*異性体であるエストリオールも0であった。この結果から，*trans*-ジオール基では隣り合う炭素間における2つの水酸基の分子間距離が長いためホウ酸基とエステルが形成されてないと考えられる。また*cis*-ジオール基をもたない化合物についても相対振動数変化が少ないため，ほとんど結合していないと考えられる。しかしコレステロールの相対振動数変化は他の化合物より少し大きくなった。コレステロールの構造は，アルキル基が多く他の化合物と比較して疎水性が高いため，認識素子と疎水結合している可能性があると考えられる。しかしそのコレステロールの相対振動数変化も，16-エピエストリオールと比べると非常に低いため，振動子に固定化されたホウ酸基は，*cis*-ジオール基をもつ化合物と選択的に結合したと考えられる。このことは，*cis*-ジオール基をもつマンノースを用いた競合反応によっても裏付けられた。

3-1 モレキュラーインプリンティング[6-10]

ある特定の化合物のセンシングを行う場合，その化合物に対して特異的な結合能を示す認識素子を用いる必要がある。本研究では分子認識材料の合成法として知られるモレキュラーインプリンティング法（以下MI法）により高分子を合成し，それを水晶振動子上に固定化して認識素子として用いることを検討した。MI法の原理を図2に示す。（図2A）認識対象分子およびこの分子と相互作用することのできる官能基をもつモノマー（機能性モノマー）を溶媒中において混合して複合体を形成させる。（B）架橋性モノマー（本研究ではエチレングリコールジメタクリレート，EGDMA）と，重合開始剤を加えてUV光照射下で重合させる。（C）その後，高分子を洗浄することにより，認識対象分子を高分子内から脱離させることにより，認識対象分子に対して相補的な結合部位をもつ高分子が得られるという技術である。すなわち，この結合部位はあたかも認識対象分子の鋳型を取る様にして形成されたものである。

本研究では，ホウ酸基を官能基にもつ機能性モノマーを用いて，コレステロールのようなステロイド骨格をもつカスタステロンをモデル化合物として用い，カスタステロンを認識するポリマーをMI法により合成し，液体クロマトグラフィーでアフィニティーを評価した[10]。カスタステロンは植物ホルモンの一種であり，極微量で植物の成長促進に関与していることが最近になって知られるようになり，その単離精製，分析についての研究が盛んに行われている。

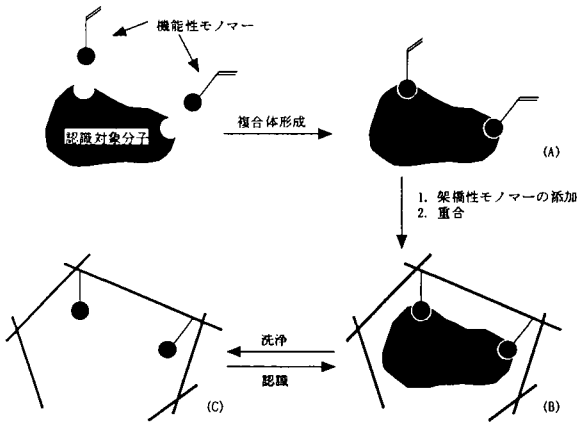


図2　モレキュラーインプリンティング法の原理

3-2 実験方法

3-2-1　カスタステロン-ホウ酸エステルの合成（図3）

カスタステロン（富士薬品工業株式会社より供与）（34.9mg，75μmol）と*p*-ビニルベンゼンホウ酸（295.6mg，180μmol）を20mlのクロロホルム/ピリジン（99:1，v/v）中に加えた。この溶液を50℃で36時間環流し，反応させた。反応溶液は分離用カラム（YMC；R-ODS-5，250mm×20mm i.d.）を用いて高速液体クロマトグラフィーによりエステルの精製を行った。溶離液はアセトニトリル，流速は10ml/minとした。

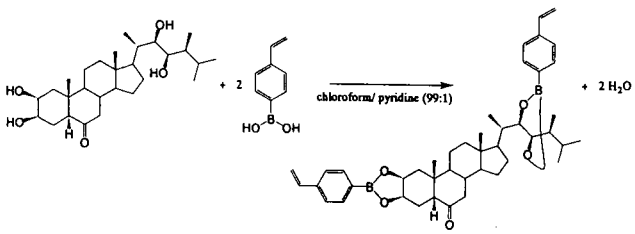


図3　カスタステロンと*p*-ビニルベンゼンホウ酸とのエステル化

3-2-2　カスタステロンをインプリントしたポリマーの合成

カスタステロンと*p*-ビニルベンゼンホウ酸とのエステル（60mg，87μmol）をクロロホルム690μl中に溶かし，架橋性モノマーのEGDMAを690mg（3.5mmol），重合開始剤の2,2'-アゾビスイソブチロニトリル（AIBN；5.0mg，30μmol）を加えて窒素置換した後，UV光照射下4℃で12時間重合させた。

コントロールのポリマーとして，カスタステロンを加えずに合成したポリマー，つまりカスタステロンをインプリントしていないポリマーも合成した。*p*-ビニルベンゼンホウ酸25.8mg（174μmol）をクロロホルム690μl中に溶かし，架橋性モノマーのEGDMAを690mg（3.5

mmol)，重合開始剤のAIBNを5.0mg(30μmol)を加えて窒素置換した後，UV光照射下4℃で12時間重合させた。

3-2-3　液体クロマトグラフィー用カラムの調製

得られたポリマーを乳鉢ですりつぶし，ふるいにかけて粒径が26～45μmのものを採取した。さらに，300mlのメタノール中にポリマーを拡散させ，30分静置させた後，微細なポリマー粒子を含んだ上澄み液を除去する作業を5回繰り返すことにより，完全に粒径をそろえた。これを，アセトニトリル／5％過酸化水素水(1:1)を加えて3回洗浄することにより鋳型分子であるカスタステロンを洗い流した(収量29mg，収率72%)。そして液体クロマトグラフィー用の空カラム(10mm×4.6mm i.d.)にスラリー充填してカラムを調製した。

3-2-4　液体クロマトグラフィーによるアフィニティーの評価

ポリマーのアフィニティーの評価は液体クロマトグラフィーを用い，エバポレイティブ光散乱ディテクター(ELSD，SEDEX社製)を検出器として保持時間を測定することにより行った。液体クロマトグラフィーはギルソン社製(ポンプ，モデル305；オートインジェクター，モデル234)を用いた。溶離液はアセトニトリルとし，流速は0.2ml/min，50℃で保持時間を測定し，以下の式から容量比 k' を求めた。

$k' = (t_R - t_0)/t_0$

ここで，t_Rは試料の保持時間，t_0はボイドマーカーの保持時間を示す。

3-3 結果と考察

カスタステロンインプリントポリマーに対するアフィニティーの評価

表2に共有結合性カスタステロンインプリントポリマーの各化合物に対するアフィニティー(k')を示す。レファレンスの化合物としてステロイドホルモンであるコレステロール，エストリオール，16-エピエストリオールを用いた。16-エピエストリオールはカスタステロンと同様に*cis*-ジオール基を官能基としてもつ。またエストリオールは16-エピエストリオールの立体異性体であり，16位と17位の水酸基が*trans*-ジオールとなっている。カスタステロンのインプリントポリマーはk'値が15以上となり，カスタステロンに対して高いアフィニティーを示した。

表2　カスタステロンインプリントポリマーとの親和性

	アフィニティー (k')			
	1	2	3	4
カスタステロンインプリントポリマー	>15	0.6	0.5	0.4
コントロールポリマー	>15	0.6	0.4	>15

溶離液；アセトニトリル、流速；0.2 mL/min
1；カスタステロン，2；コレステロール，3；エストリオール，4；16-エピエストリオール

またレファレンスの化合物に対しては，ほとんどアフィニティーを示さなかったことからカスタステロンをインプリントしたポリマーはカスタステロンに対して選択性を示したといえる。一方，カスタステロンをインプリントせずに合成したポリマー，つまりコントロールのポリマーは*cis*-ジオール基をもつカスタステロン，16-エピエストリオールに対して高いアフィニティーを示した。すなわちブランクのポリマーは*cis*-ジオール基をもつ化合物に対してアフィニティーを示したが，カスタステロンに対しては選択性はなかったといえる。このことから，カスタステロンをインプリントすることにより，カスタステロンに対して選択性を示すポリマーが得られたことがわかった。

3-3 まとめ

以上，本研究によって得られた結果をまとめると，水晶振動子上に人工高分子を固定化したセンシングシステムを構築した。そして，より厳密な分子認識を実現させるためにモレキュラーインプリンティング法によりカスタステロンを認識するポリマーを合成することができた。Vulfsonらのグループは，コレステロールの水酸基と4-ビニルフェノールをカルボネートエステル化させた鋳型分子－機能性モノマーの複合体を用いるコレステロールのモレキュラーインプリンティングについて報告している[9]。現在このインプリンティングのシステムを応用し，水晶振動子上にインプリントポリマーを固定化させることによるコレステロール計測用のセンサー素子について研究を続けており，将来的には取り扱いの容易な人工高分子を認識素子にもつ血中コレステロール濃度測定用の計測システムとして期待される。

参考文献

1. K. Yokoyama, K. Ikebukuro, E. Tamiya, I. Karube, N. Ichiki, Y. Arikawa, *Anal. Chim. Acta.* **304**, 139 (1995).
2. F. Caruso, E. Rodda, D. Furlong, K. Niikura, Y. Okahata, *Anal. Chem.*, **69**, 2043 (1997).
3. W. Carey, K. Beebe, B. Kowalski, D. Illman, T. Hirschfeld, *Anal. Chem.*, **58**, 149 (1986).
4. Y. Okahata, O. Shimizu, H. Ebato, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **63**, 3082 (1990).
5. K. Tsukagoshi, S. Shinkai, *J. Org. Chem.*, **56**, 4089 (1991).
6. G. Wulff, S. Schauhoff, *J. Org. Chem.*, **56**, 395

(1991).
7. G. Vlatakis, L. Andersson, R. Mueller, K. Mosbach, *Nature*, **361**, 645 (1993).
8. T. Takeuchi, J. Matsui, *J. Acta. Polym.*, **47**, 471 (1996)
9. M. Whitcombe, M. Rodriguez, P. Villar, E. Vulfson, *J. Am. Chem. Soc.*, **117**, 7105 (1995).

発表論文

[10] "Synthesis of castasterone selective polymers prepared by molecular imprinting technique"
Akimitsu Kugimiya, Jun Matsui, Hiroshi Abe, Masakazu Aburatani, Toshifumi Takeuchi
Analytica Chimica Acta, (1998), 365, 75-79.

バイオリアクターを中核とするＦＩＡ法による糖尿病関連物質の高感度化学発光分析法の開発に関する研究

研究責任者：京都大学医療技術短期大学部　助教授　田　畑　勝　好

１．はじめに

戦後の食料や生活様式の変化により，糖尿病患者やその予備群が毎年着実に増加している。近頃では若年者にさえ糖尿病患者が出現している。糖尿病をうまく管理できる安価で迅速，簡単な優れた方法が開発されれば患者のためならず膨大な医療費の節約にも寄与する。

現在，血糖，3-ヒドロキシ酪酸(3-ＨＢＡ)，1,5-アンヒドログルシトール(1,5-ＡＧ)，グリコヘモグロビン，糖化アルブミンなどのいろいろな糖尿病関連物質が測定されている。その中でも，1,5-ＡＧは，空腹時血糖値と違い，常温で安定なので保存に強く，食事や運動の影響もなく，糖尿病の一次スクリーニングに適した検査項目である[1,2]。それに血清1,5-ＡＧは高価な抗体を用いなくても，酵素法での測定が可能である。しかし，血清中の1,5-ＡＧの健常値は25μg/ml前後の微量であり，糖尿病が進行するとかえって減少し，2μg/ml以下にもなり，分光光度計での測定は感度的に困難であり，さらに1,5-ＡＧ測定に用いられる酵素試薬は非常に高価である。

それで，本研究ではこれらの欠点を克服するために，再利用が可能なバイオリアクターと比色法より数百倍から数千倍高感度検出が可能な化学発光検出器を装着したＦＩＡ（flow injection analysis;連続注入分析）方式を1,5-ＡＧの測定に応用して，高感度，迅速さらに安価な分析法の構築を試み，その研究成果を報告する。

２．血清1,5-ＡＧ測定原理

1,5-ＡＧがピラノースオキシダーゼ(PyOD)により酸化分解されると過酸化水素が生成され[3]，その過酸化水素をルミノール化学発光法を用いて発光強度を測定することにより，1,5-ＡＧ濃度を求めることができる。

$$\text{1,5-AG} + O_2 \xrightarrow[K_3Fe(CN)_6]{\text{PyOD}} \text{1-deoxyglucosone} + H_2O_2$$

$$H_2O_2 + \text{luminol} \longrightarrow \text{aminophtalate} + h\nu$$

しかし，PyODは1,5-ＡＧのみならずグルコースをも酸化分解して過酸化水素を生成するため，1,5-ＡＧが酸化される前にグルコースを何らかの方法により反応系から除去する必要がある。PyODカラムリアクターとグルコース除去用バイオリアクターを装着した血清1,5-ＡＧの化学発光－ＦＩＡ方式のフローダイアグラムを図１に示す。

３．バイオリアクターの作製

多孔性アルキルアミンガラス粒子（粒子サイズ；約0.15mm，孔徑；50nm）に酵素をグルタルアルデヒドを用いるシッフ塩基結合法により固定化した。酵素が固定化されたガラス粒子をミニカラムに充填してバイオリアクターを作製した。

３－１．血清グルコース除去用バイオリアクター

一般的に血糖値が高くなるに従って血清1,5-ＡＧ値は低下していく。例えば，血糖値500mg/dl(27.8mmol/l)，血清1,5-ＡＧ値1.0μg/ml(5.9μmol/l)の時，グルコースを99.98%除去しても，残った0.02%のグルコース量は1.0μg/mlの1,5-ＡＧ量，すなわち元から存在する1,5-ＡＧ量に相当する。それ故，1,5-ＡＧを分解する前に，血液中のグルコースをほとんどすべて反応系から除去する必要がある。

グルコースを除去する方法として，次の４法が考えられる。

①グルコキナーゼ（ＧＫ）法

グルコースをＧＫによりリン酸化する。

②ＧＫ／ピルビン酸キナーゼ（ＰＫ）法

ＧＫ反応の生成物であるＡＤＰをＰＫ反応を利用して除去することにより，ＧＫ反応によるグルコースのリン酸化を促進する。

③ ＧＫ／グルコースホスフェートイソメラーゼ（ＰＧＩ）／ホスホフルクトキナーゼ（ＰＦＫ）法

ＧＫ反応により生成されたグルコース-6-リン酸をＰＧＩ反応によりフルクトース-6-リン酸に変え，さらにＰＦＫ反応によりフルクトース1,6-二リン酸に変化させて，ＧＫ反応の進行を促進する。

④ ＧＫ／ＰＫ／ＰＧＩ／ＰＦＫ法

②反応と③反応を組み合わせてＧＫ反応の生成物であるＡＤＰとグルコース-6-リン酸を反応系から除去することにより，ＧＫ反応の進行を促進する。

①ではＧＫを多孔性アルキルアミンガラス粒子に固定化した。②ではＧＫとＰＫの２種の酵素を，③ではＧＫ，ＰＧＩ，ＰＦＫの３種の酵素を，④ではＧＫ，ＰＫ，ＰＧＩ，ＰＦＫの４種の酵素を，多孔性アルキルアミンガラス粒子にそれぞれ同時固定化した。固定化のさい，①～④の場合において，担体に対する酵素タンパク量の割合は同じであり，同じ大きさのカラム(3x24mm)に充填し，図１に挿入して，どのカラムリアクターがグルコースの除去に最も効率的に働くか，検討した。その結果を表１に示す。表１より同時固定化GK/PGI/PFKカラム以外の３種のカラムは殆ど同じグルコース除去能を示し，30mMグルコースに対して99.990～99.994%のグルコースを除去した。

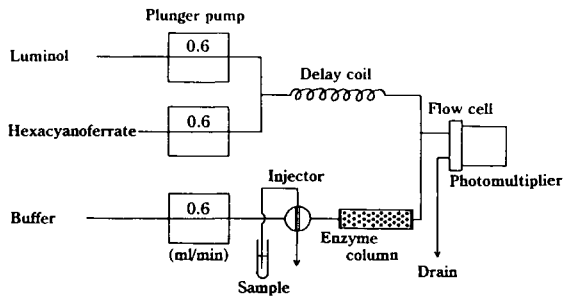


図１　バイオリアクターと化学発光検出器を装着した血清1,5-AGのFIA分析のためのフローダイアグラム

表１　４タイプの同時固定化酵素カラムによるグルコースの除去能

Column type	GK	GK/PK	GK/PGI/PFK	GK/PK/PGI/PFK
30 mM Glucose	99.990	99.990	96.693	99.994
5 mM Glucose	99.999	99.999	97.962	99.999

(24 x 3.0 mm i.d.)　　(%)

３-２．PyODカラムリアクター

PyODを前記の方法により多孔性アルキルアミンガラス粒子に固定化し，2×20mmのミニカラムに充填してリアクターを作製した。このリアクターのグルコースと1,5-AGに対する酸化分解能を調べてみると（図２），1,5-AGに対する分解率はグルコースの約70%であった。液状PyODでは1,5-AGに対する分解率はグルコースに比べて極端に低いのに，固定化酵素カラムではカラム内に多量のPyODが存在するためか，非常に良好な結果を得た。

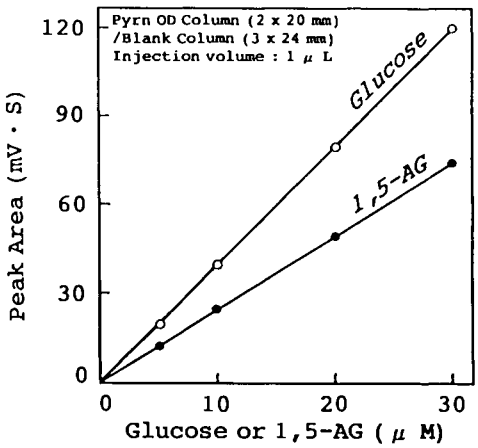


図２　PyODカラムリアクターのグルコースと1,5-AGに対する酸化分解能

４．ＧＫによる1,5-ＡＧのリン酸化

図３に示されているように，α-D-グルコースと1,5-AGの構造は非常によく似ている。それ故，PyODがグルコースにも1,5-AGにも作用したように，GKもグルコースだけでなく1,5-AGをもリン酸化しないかどうか，検討した。すなわち，同時固定化するときのGKとPKとの総蛋白量は同じであるが，割合を変えて固定化し，カラムに充填して，PyODカラムと共に図１に挿入し，1,5-AGをインジェクションして，それぞれのカラムによる1,5-AGとグルコースのリン酸化率を測定した。GK／PKカラムによる1,5-AGのリン酸化の結果を図４に，グルコースの除去能を表２に示す。図４からGKはグルコースのリン酸化速度よりははるかに遅いが，1,5-AGをもリン酸化することが判明し，そのリン酸化率はGK量が少ないほど小さかった。しかし，GK量が少なすぎるとグルコースのリン酸化率が減少するので(表２)，両者の中間をとって，本法ではGK500U，PK3.1mgが同時固定化されたカラムを採用した。

溶液状のGKとヘキソキナーゼ（HK）を用いても1,5-ＡＧとグルコースのリン酸化率を調べた(表３)。比色計

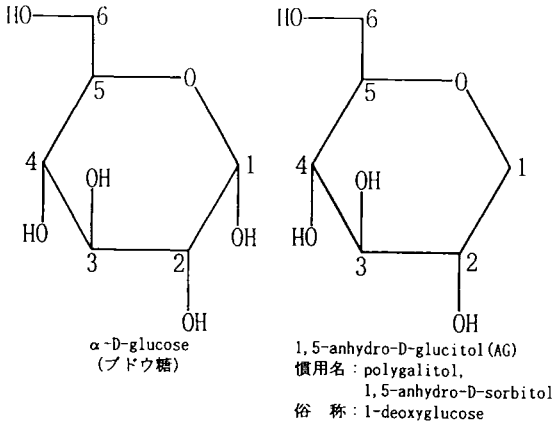


図3　α-D-グルコースと1,5-AGの構造式

表2　同時固定化GK／PKカラムによる
グルコースの除去能

	GK(U)/PK(mg)			
Glucose	500/3.1	1000/2.3	1500/1.5	2000/0.6
5 mM	99.990	99.996	99.993	99.993
25 mM	99.990	99.996	99.990	99.990

Column Size: 3 x 24 mm　　(%)

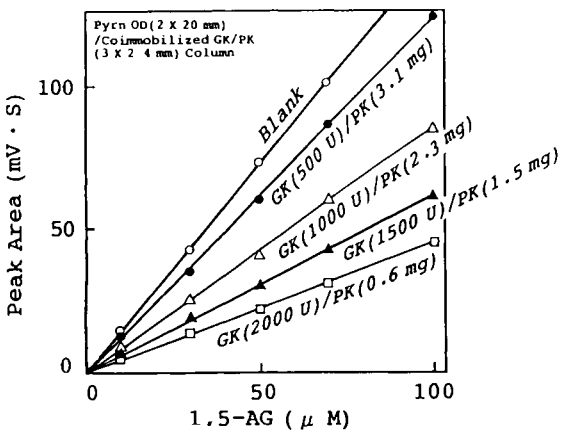


図4　GK／PKカラムによる1,5-AGのリン酸化

を用いての測定では，ＧＫ量を少なくして反応時間を長くするというように条件をうまく選択するとグルコースを100%リン酸化して1,5-ＡＧをリン酸化しないことが判明した。

5．1,5-AGの検量線

グルコース除去用同時固定化GK／PKカラム(3x24 mm)と1,5-AG測定用PyODカラム(2x20mm)を直列に図1のフローダイアグラムに挿入し，0.2～8.0μg/mlと

表3　液状GKあるいはHKによる1,5-AGと
グルコースのリン酸化率

	GK(μ g/dl)		HK(μ g/dl)		(-)
100 mg/dl	10	1	10	1	
1,5-AG					
pH 7.5	26.0	4.2	0	0	0
pH 8.0	22.9	3.1	0	0	0
pH 8.5	20.4	3.0	0	0	0
Glucose					
pH 8.5	100	100	100	44.0	0

(%)

10～100μg/mlの２系列の1,5-AG標準液を1μlインジェクションして1,5-AGの直線性を検討した。得られた結果を図５に示す。図５-A(0.2～8.0μg/ml)と図５-B(10～100μg/ml)に見られるように，ピーク間の分離がよくてキャリオーバーも無く，検量線は100μg/mlまで原点を通る直線を得た。

6．1,5-AGの検出限界

2×20mmの大きさのPyODカラムが使用されるとき，本法の1,5-AGに対する検出限界は約0.17ng(1 pmol)／μl（試料）であった。

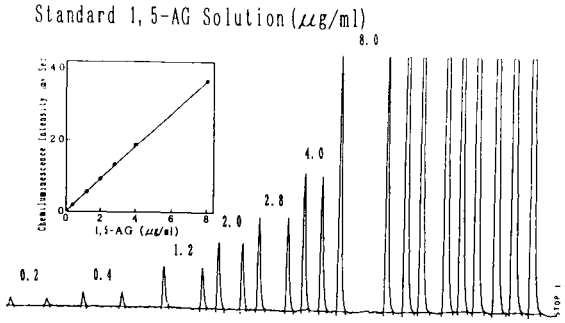


図５-Ａ　同時固定化GK／PK／固定化PyODカラムが挿入された化学発光-FIAシステムでの1,5-AGの分析結果の記録と検量線（0.2～8.0μg/ml）

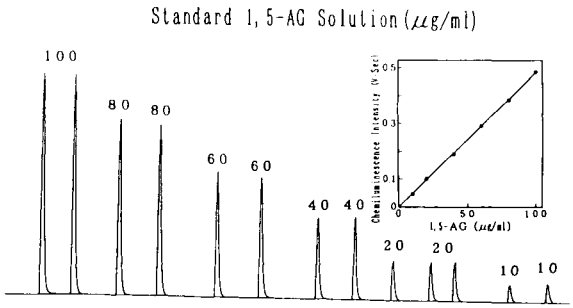


図５-Ｂ　同時固定化GK／PK／固定化PyODカラムが挿入された化学発光-FIAシステムでの1,5-AGの分析結果の記録と検量線（10～100μg／ml）

7．他法との相関

同時固定化GK／PK／固定化PyODカラムを用いる本法とミニカラム法であるラナ1,5-AG比色キット法との患者血清を用いての相関は例数n=40, 相関係数r=0.993, 回帰直線y=0.946x-0.32で，広範囲にわたって良好な相関を得た（図6）。

8．おわりに

1,5-AGの分析に使用されるPyODはグルコースを非常に早く酸化するが，1,5-AGに対しては反応速度はすごく遅いため，市販1,5-AG比色キットは発色反応に1

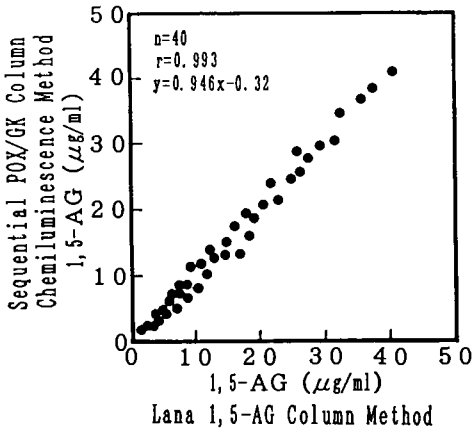


図6　同時固定化GK／PK／固定化PyODカラムを使用する化学発光-FIA法とラナ1,5-AG比色法による血清1,5-AGの測定結果の相関図

時間を要している。しかし，2×20mmの大きさの固定化PyODカラムを使用すると，カラム内に多量のPyODが存在するためか，1,5-AGがカラムを通過する約1秒前後の間にほとんどすべての1,5-AGを酸化分解した。

GKはグルコースのリン酸化反応と比べると極端にその反応速度は遅いが，1,5-AGをもリン酸化した。GK反応は極端にリン酸化の方向に傾いており，GKだけのカラムリアクターでもグルコースを99.99%除去することができたが，カラム内にGK量が多いため1,5-AGをもかなりリン酸化した。GK量を減らしてもグルコースのリン酸化が十分に進行するように，PKを加えてGK反応が円滑に進行するように試みた。血清1,5-AGの測定に用いた3×24mmの大きさの同時固定化GK／PKカラムでさえ，グルコースを99.99%除去することができるが，1,5-AGを19.6%リン酸化した。今後の課題として，1,5-AGに特異的で，グルコースなどの影響の無いカラムリアクターを開発することである。

本法は，同時固定化GK／PK／固定化PyODカラムを化学発光－FIA方式で使用することにより，血清1μlを用いて，0.2μg/mlの血清濃度までの1,5-AGを約10秒で測定することを可能にした。

謝辞

本研究は財団法人中谷電子計測技術振興財団の多大な研究助成により行われたものであり，ここに深く感謝申し上げます。

参考文献

1）Yamanouchi, T., Minoda, S., Yabuuchi, M., Akanuma, Y., Akanuma, H., Miyashita, H., and Akaoka, I.；Plasma 1,5-anhydro-D-glucitol as new clinical marker of glycemic control in NIDDM patients, Diabetes, 38, 723-729, 1989.

2）山内俊一；1,5-AGの検査と臨床的意義，Medical Technology, 20, 1230-1234, 1992.

3）Yabuuchi, M., Masuda, M., Katoh, K., Nakamura, T., and Akanuma, H.；Simple enzymatic method for determining 1,5-anhydro-D-glucitol in plasma for daignosis of diabetes mellitus, Clin. Chem., 35, 2039-2043, 1989.

発表論文

1）Tabata, M., and Totani, M.；Removal of glucose in serum by a bioreactor and its application to the determination of serum 1,5-anhydroglucitol, Proceedings of the 12th International Congress of Clinical Chemistry, London, 1996, pp376.

2）田畑勝好；バイオリアクターと化学発光法を組み込んだFIAによる血清グルコースの高感度分析，日本臨床検査自動化学会会誌，22(4),413,1997.

3）田畑勝好；バイオリアクターと化学発光法を装着したFIAによる血清1,5-AGの高感度分析，臨床化学，26(Supp.3),77,1997.

4）田畑勝好；検査試薬としての酵素の使い方，化学と生物，36(1),51-56,1998.

5）田畑勝好；バイオリアクターを中核とする希釈血液成分の高感度FIA－化学発光分析，臨床病理，46(補)，124，1998.

6）Tabata, M., and Totani, M.；Removal of glucose in serum by a bioreactor and its application to the chemiluminescence-flow injection analysis of serum 1,5-anhydroglucitol, Anal. Chim. Acta, submitted, 1999.

全血のアドミッタンス計測による赤血球凝集（連銭形成）計の試作

研究責任者：高知医科大学医学部医学科 教授 入交昭彦
共同研究者：高知医科大学医学部医学科 助手 V. Raicu
高知医科大学 外国人研究者 張冬梅
高知医科大学附属病院 講師 西原利治

1．はじめに

赤血球沈降速度（赤沈）は，有病状態の最もポピュラーな一般検査法であり，日常診療の現場で広く利用されている。しかし，この検査は，感染の危険性・人手不足・所要時間などの理由により，病院の中央検査部では扱わないことが多く，止むをえず各科個別に実施しているのが現状である。また，「赤沈」の実際を見ると，かなり多くの検体で血漿層と沈降層の境界がぼやけることがあり，読み取り精度にも疑問が残る。さらに，赤沈値を決める要因が複雑，例えば単なる貧血でも「赤沈」亢進を来すため，その非特異性にも問題が多い。しかし，導入以来80年という長い歴史の蓄積と手技の簡便性の故に，臨床医にとっては 捨て難い検査の一つとなっている。

赤沈の基礎には連銭形成現象がある。最近われわれは「血液の低周波誘電率（ε）が全血中での連銭形成の強弱をよく反映する」ことを見出した[1]。ヒトの全血では：

① 流動中の赤血球は凝集せず，そのヘマトクリット値に固有のε（～3000）を示す

② 流動停止後の全血中では連銭形成が進行し，その強弱はεの増分に反映される

これが本研究の着想に至った背景である。

連銭形成のモニターとしては，これまで光学的手法（光散乱や反射）が知られている。しかしながら，いずれも希釈血液（Hct<5%）でなければ意味のある結果をえられず，全血（Hct = 30～60%）には適用できない。事情は，顕微鏡による形態計測においても同様であり，さらにこの場合には，データ収録から統計処理に膨大な労力と時間を要する。そのため，全血を対象とする連銭形成のモニタリングは，いまだに実用化されていない。

誘電計測の得意とする対象はむしろ濃厚懸濁系である。血液用の簡便な測定法が開発できれば，〝希釈操作不要〟および〝所要時間短縮〟の両面において格段に優れた方法となりうる。赤沈現象の基礎にある「連銭形成」という要因のみを〝迅速〟しかも〝特異的〟に検出できれば，外来でのスクリーニングや治療効果の判定に際してたいへん有用であろう。

本研究では，採血直後の全血（約2 ml）の〝誘電率〟を連銭形成の指標とすることにより現象の単純化をはかり，連銭形成能以外の多くの要因が絡む古典的「赤沈」法に替わりうる，迅速（5分以内）かつ高分解能（精度5%）の，自動化可能な新しい検査法の確立を目指して，その基礎的諸問題を検討する。

2．血液の誘電特性[2)3)4)]

赤血球ゴーストは〝膜〟と裏打ちタンパクのみの単純な構造をもつから，すでに確立されている〝球形shell〟誘電体モデルの好例である。ところが，正常赤血球（discocyte）は両面のくぼんだ円盤（biconcave disc）なので，近似的には〝扁平楕円体shell〟モデルに基づく理論計算に頼らざるをえない。このようにして，単分散（連銭形成のない）赤血球懸濁液の誘電率（ε）を評価することができる。Hct 45%では～3000となる。

細胞の体積分率（Hct値）は不変であるのに，連銭形成の進行につれて，何故εが著増するのか？ その理由は〝扁長楕円体shell〟モデルの理論的検討を通して明らかになりつつある。形態計測（**図1左**）から得られる連銭の平均長と低周波ε値との間には有意の相関が認められる（投稿準備中）。

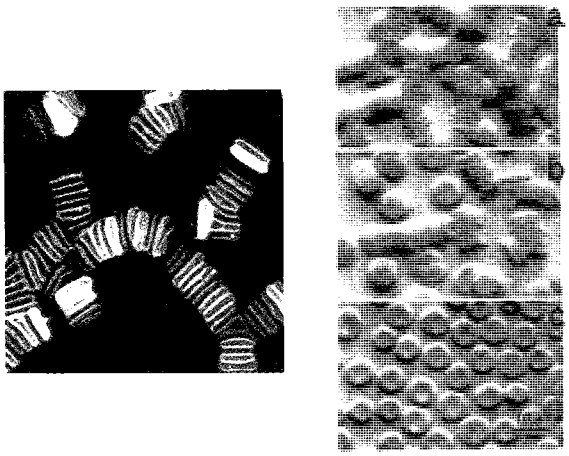


図1　赤血球の連銭形成。(左)洗浄赤血球の膜を蛍光色素で染め，血漿に再懸濁したのち，共焦点レーザー顕微鏡で観察。連銭内の細胞は隣同士すべて密着している。(右)微分干渉顕微鏡像。(a) 100%血漿 (b) 50%血漿 (c) 0%血漿（アルブミン加生理食塩水）

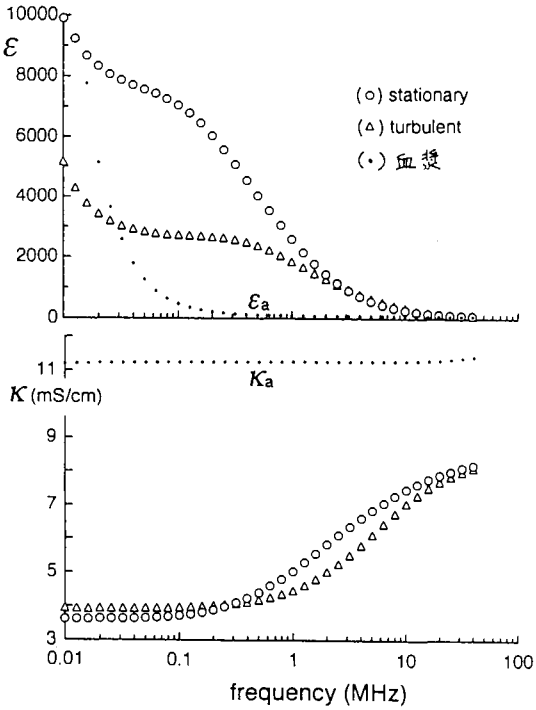


図2　全血の誘電分散。Hct 48%. 流動下（△）に較べ静置下（○）の低周波誘電率は約2.7倍に増大している。導電率には顕著な差がない。

3．血液誘電率の測定系の構築と性能テスト

3．1．Parallel-plate-capacitor-type cell

直径8 mm，間隔6 mmのPt disc電極つきセル（容量0.3ml）を用いて測定したヒト全血の誘電率(ε)と導電率(κ)の周波数依存性を**図2**に示す。流動中および静止後のいずれにおいても，典型的な〝誘電分散〟—周波数とともにεとκが変わる現象—が見られる。低周波(50～100 kHz)域でのεが 流動停止後2倍以上に増大していることが判る。

3．2．Parallel-ring-type rotary cell （図3）

同一試料の誘電特性を異なる流動条件下で測るため，平行円環型回転セルを考案した。円環の内外径は24 mm/32mm，電極間隔5.8mm，試料量(全充填)は 約2 mlである。充填時に0.2mlの気泡を残すと，円環状の液体試料はセル最上部で離断される。比較的高粘度の全血試料であっても，50rpm以下の遅い回転では，気泡は分散せず一塊となって浮上しようとする。その結果，セル内に試料の〝流れ〟が生じる。流路は円環であり，しかもその断面は矩形だから，〝層流〟はもちろん期待できず，shear rateは複雑なものとなる。

生理食塩水(1.8ml)を充填し，セルの回転数を変えながら εとκの周波数依存性を記録したのが **図4** である。このように縦軸を拡大すると，導電率κのトレースには回転に伴う周期的変動がみられたが，243rpmの高速回転においても，その変動幅は静止時の2％以内であった。低周波側に向けての誘電率εの急峻な上昇は 電極分極によるアーチファクトである。しかし，このアーチファクトは，生理食塩水という高電導性試料のため10MHz域においても依然として残存し，εの高値（～200）をもたらす原因となっている。

セルの回転につれて気泡は絶えず移動する。その影響を見るために，2倍希釈生理食塩水を全量もしくは1.8 ml充填し，回転数依存性を記録した(**図5**)。気泡存在下では，明らかに導電率のトレースがnoisyになったが，誘電率に対してはさほど違いのないことがわかった。

4．全血を用いた測定例

男性被験者2名(H.I. 22歳， A.I. 63歳)の肘静脈から採取したヘパリン加全血（Hct =44%）を試料（気泡0.2mlを含む)とし，セルの回転数を変えながら，εとκの周波数依存性を順次記録した(**図6**)。これらのパターンは，通常の平行平板型セルで観測されたもの（**図2**）と同様の典型的な血液の誘電分散を示す。回転（＝試料の流動）の加速につれて，低周波（20～300kHz）域の誘電率（対数目盛り）は大幅に低下した。いっぽう導電率（直線目盛り）のほうは，その低下幅がはるかに小さく，単純な塩溶液の場合と大差なかった。

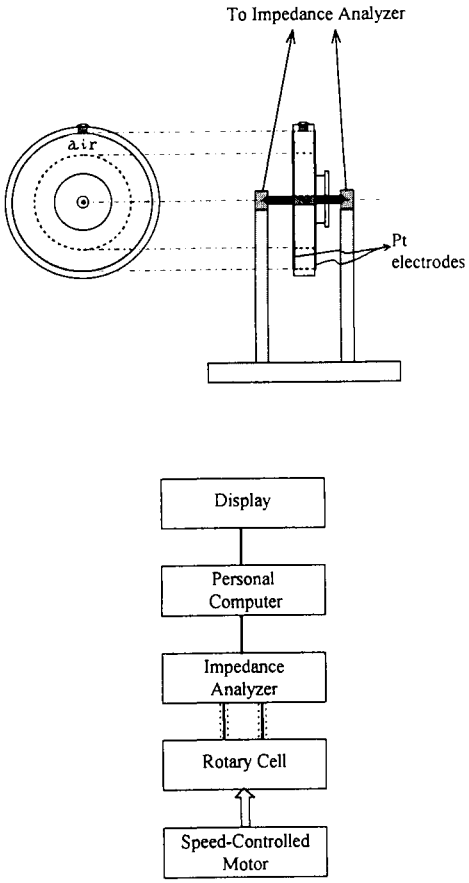


図3　Rotary cellの模式図と測定系のブロック・ダイアグラム。Impedance Analyzer: HP 4194A

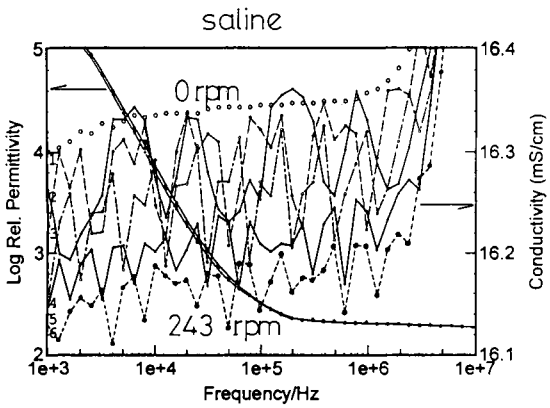


図4　Rotary cellを用いて得られた「生理食塩水」の誘電率と導電率の周波数依存性。

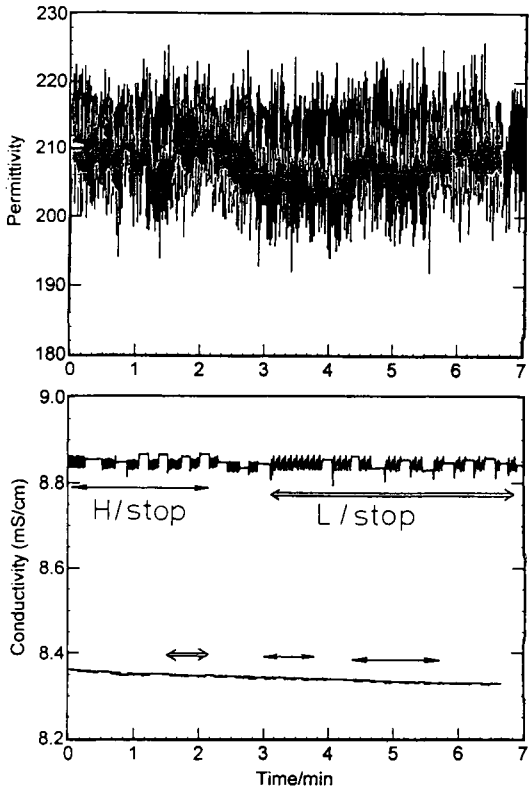


図5　Rotary cellの性能チェック。試料：塩溶液。(赤) 完全充塡 (気泡なし), (黒) 部分充塡 (気泡あり)。H：106 rpm, L：12rpm

図6の結果から，低周波のεレベルとしては50kHzでの値を選べばよいことが 判ったので，その回転数依存性を調べた(**図7**，**図8**)。2検体ともに，ε_{50kHz}は回転数の増大により低下し，106rpm (H) で ほぼ一定値2600～2700に落着いた。最低速回転時 (L) のεレベルは，最高速時 (H) よりも確かに高いが，瞬時停止5分後のレベル6000～7000に較べると，半分以下であった。

導電率κ_{50kHz}のトレース (**図9**) は，回転に伴うノイズに隠されて不明瞭ではあるものの，同様の段階的変化を示した。しかし，回転停止後の時間的変化はε_{50kHz}のそれに較べて 格段に弱かった。

5．考 察

本研究の眼目は 次の2点にある。すなわち，(1) 回転式セル (図3) を考案し，少量の検体を密閉したままで流動ストレスを可変にしたこと，(2) "流動ストレス(回転数)" の関数として全血の誘電率を表現できたこと(図7＆8)。瞬時停止後のε_{50kHz}の成長曲線はdouble-exponential関数で近似できるが[1]，これと連銭形成能と

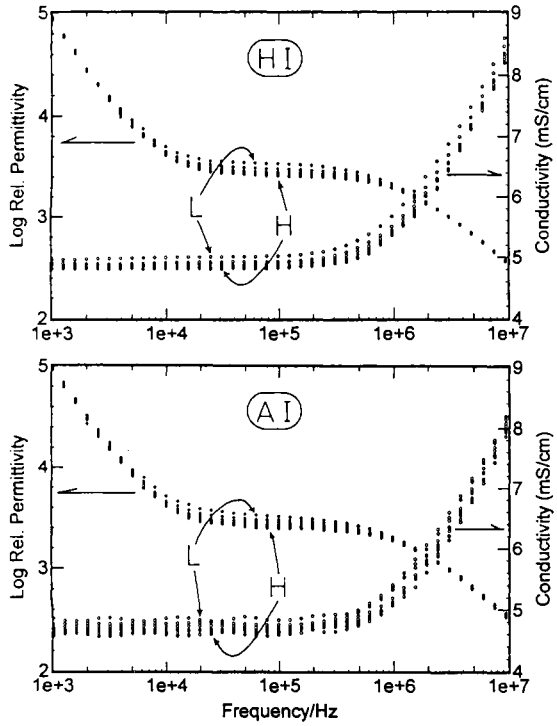


図6　Rotary cellを用いて得られた「全血」の誘電率と導電率の周波数依存性。被験者2名：HI & AI. セル容量の10%(0.2ml) は気泡. L：12rpm, H：106rpm

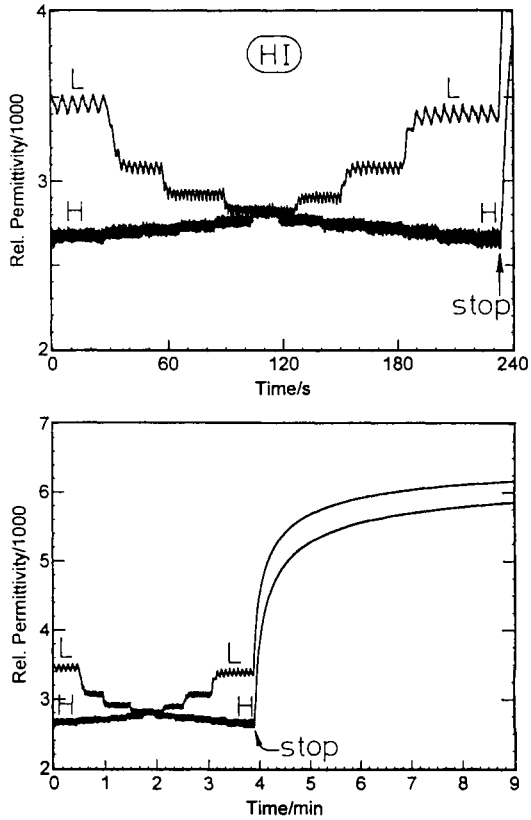


図7　全血 "HI" の誘電率(50kHz)の回転数依存性。セル回転数を漸増 [L(12rpm)→H(106rpm)]あるいは漸減[H→L]させたのち停止。中間の回転数は：22, 33, 43, 53, 62, 71, 82, 95rpm

の関係および詳細なメカニズムについては，目下検討中である。

図7と8に示した2検体の「赤沈」値は：HIでは，30分値 2mm，1時間値 6mm，2時間値20mmであり，AIでは，30分値3mm，1時間値15mm，2時間値54mmであった。いっぽう図7と8を比較すると，最低速回転(L：12rpm)時の誘電率は明らかにHI<AIであり，停止後のε_{50kHz}の成長曲線では，立ち上がり速度および最終レベルのいずれにおいてもHI<AIであった。また，最高速(H：106rpm)時のレベル は，HI=AI=～2600となっており，これは両検体のヘマトクリット値が いずれも44%という事実と符合する。

このように，「赤沈亢進」/「旺盛な連銭形成能」と「連銭形成」/「血液の誘電率」という連鎖をたどり，さらに一定程度の連銭崩壊をもたらすのに必要な「最小shear stress」を計測できれば，「血液の誘電率」に内在する臨床生理学的意義が より明確になるであろう。セルのデザインについては，本研究で試作した回転円盤型以外にも，開放端同軸プローブ[7)8)]を採用するなど，より使い勝手のよい洗練された形状のものを開発中である。

6．まとめ

全血検体中での細胞凝集，とりわけ「連銭形成」の強弱をモニターするためには，低周波域でのε値がよい指標となることを確認した，今後さらに研究が進めば，従来の「赤沈法」に替わる，あるいはより分解能の高い，検査法へ向けての発展が期待される。臨床現場での実用化にあったっては，手技の簡便性・迅速性に加えて，機器の小型化が必須の要件となろう。いずれも近い将来実現するものと考えている。

謝辞

本研究に対してご援助くださった中谷電子計測技術振興財団に深謝いたします。併せて，適切なご助言を頂きましたシスメックス社岡田徳弘常務ならびに日本ヒューレット・パッカード社若松秀樹課長に御礼申し上げます。

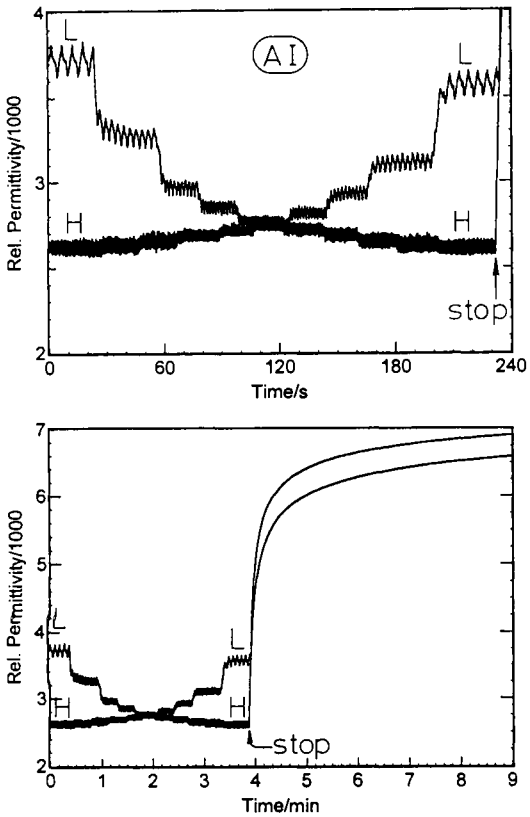


図 8　全血 "AI" の誘電率 (50kHz) の回転数依存性。回転数変化のプロトコルは図 7 と同じ。

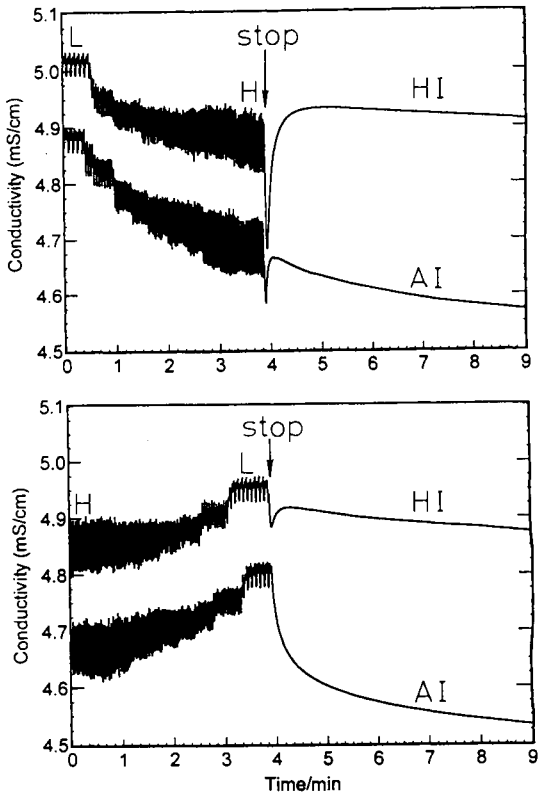


図 9　全血"HI"および "AI" の導電率 (50kHz) の回転数依存性。回転数変化のプロトコルは図 7 & 8 と同じ。

文 献

1) A. Irimajiri, M. Ando, R. Matsuoka, T. Ichinowatari, S. Takeuchi : Dielectric monitoring of rouleaux formation in human whole blood : a feasibility study. Biochim. Biophys. Acta, 1290 (1996) : 207-209

2) A. Irimajiri, T. Suzaki, K. Asami, T. Hanai : Dielectric modeling of biological cells. Models and Algorithm. Bull. Inst. Chem. Res. Kyoto Univ. 69 (1991) : 421-438

3) 入交昭彦，渡辺牧夫：生体組織・細胞の誘電解析。病態生理（永井書店） 11 (1992) : 372-378

4) K. Asami : Dielectric relaxation spectroscopy of biological cell suspensions. In "Handbook on Ultrasonic and Dielectric Characterization : Techniques for Suspended Particles" Eds., V.A. Hackley & J. Texter (1998) The American Ceramic Society

5) 入交昭彦：誘電率からみた全血中の赤血球連銭形成。第19回日本バイオレオロジー学会年会抄録集48 (1996)

6) A. Irimajiri, M. Ando, S. Takeuchi : Low-frequency permittivity can report the degree of rouleaux formation in whole blood. 33rd International Congress of Physiological Sciences, St. Petersberg, Russia (1997) P106.10

7) V. Raicu, T. Saibara, A. Irimajiri : Dielectric properties of rat liver in vivo : A noninvasive approach using an open-ended coaxial probe at audio / radio frequencies. Bioelectrochem. Bioenerget. 47 : 325-332 (1998)

8) V. Raicu, T. Saibara, H. Enzan, A. Irimajiri : Dielectric properties of rat liver in vivo : Analysis by modeling hepatocytes in the tissue architecture. Bioelectrochem. Bioenerget. 47 : 333-342 (1998)

平成10年度技術交流助成成果報告

岡　田　徳　次（おかだ　とくじ）
新潟大学工学部福祉人間工学科　教授　工学博士

会議または集会名　ロボティクスと自動化に関する電気電子学会国際会議（IEEE Int. Conference on Robotics and Automation）

開催地　ベルギー・ルーベン

時期　平成10年5月16日～5月20日

去る5月15日から23日まで米国電気電子学会(IEEE)主催によるロボティクスと自動化に関する国際会議に出席した。開催地ベルギーのルーベン(Louven)は、フランス語ではルバン(Louvain) となる。西ヨーロッパの中心とも言える都市ブリュッセルから東へ25kmの地点にあり、古い歴史をもつ大学の街で、プロバンス地方の首都でもある。今から 573年以上も前の1425年に設立された会場のカトリーケ大学は、現在27,000人以上の学生数を有するブリュッセル最大の規模となっている。写真は、校舎の出入口上部に吊り下がる会議案内旗の下で「火星探査ロボット」と題したNASA/JPLのヘンリー博士による歓迎講演の開始を告げる2人のアルペンホルン奏者を撮ったものである。関連するポスターはこの程度に地味で、会議の中身に配慮していることがうかがえた。

技術発表（18日～20日）に先立つ16日（土）と17日（日）の2日間にわたり、4つのチュートリアルと10のワークショップがあった。いずれも半日、あるいは1日の有料コースである。各々の分野で精力的に活躍される面々の話に多くの方々が参加し、直接の会話によって技術を吸収し、また、資料収集や技術交流を達成できたものと思われる。

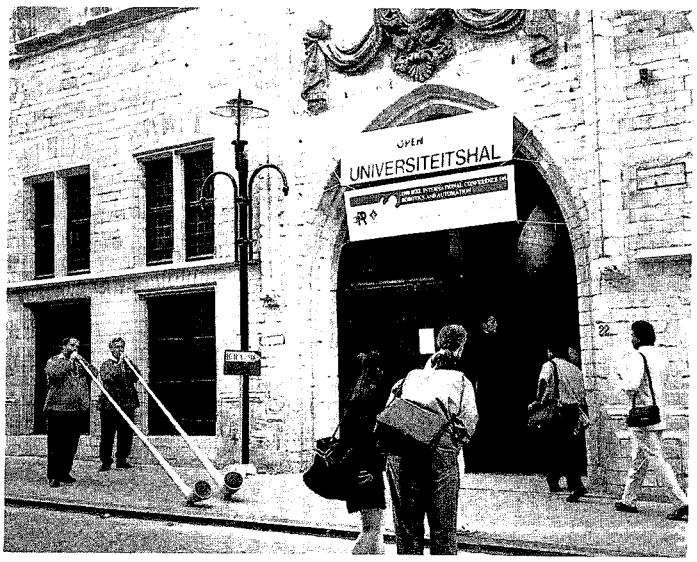
私は、日程の都合で15日に発ち、16日の昼過ぎにブリュッセル入りした。予定通りである。その翌日は大阪大学の白井良明先生と一緒にニーポルト博士の自宅に招待を受けており、そちらで1日を使った。夕食会にはビジョンセンサの応用に関して著名なエール大学のヘーゲル教授も招待されており、最近のアメリカやヨーロッパ、日本を比較しながら科学技術政策、プロジェクトの内容と人的予算的規模、取り組み方、等々について意見を交換し今後に参考になる知見を得た。宿に戻る時午前様であったのには驚いた。なお、ニーポルト博士は、カールスルーエのフラウンホーファ研究所に在職当時の1984年頃、電総研に2年間滞在された方で、その時以来の知人である。ドイツ語、フランス語、英語、日本語を自由にこなし、現在ＥＵ本部で、電気電子、通信、機械、エネルギー、等に関連する行政担当相を技術面から補佐する上級外交官として活躍している。それが証拠に彼の車の後部ガラスにDiplomatic Carと書いてあった。

さて、発表に関連するアクチュエータとセンサのセッションは19日の14時からであった。４件の発表中、私の分だけがセンサに属し、しかも１番目の発表になっていた。このためいささか緊張したが、話を進めるうちに落ち着き、実験データを示す頃には普段の調子に戻っていた。球容器のサイズ、検出の精度向上、センサの応用等の質疑があり、いずれにも適切な答を返した。この後のアクチェエータに関する３件の発表では、聞く側にまわり、米国ＳＲＩのポリマーの変形を利用する人工筋肉、大阪府大の軟ゲルの分散配置による駆動素子、カナダのＳＭＡの内容に対し、応用について質問し理解を深めた。とくに、ＳＲＩの人工筋肉の発表ではそのサンプルが会場で供覧され、生物的駆動源として使える魅力を手にとって感じた。一部公開できない内容があるという話からは益々知りたい気持ちをかきたてられ、論文集を後でじっくり読むことにした。なお、４分冊の論文集は１枚のCD-ROMに収められ、参加登録者にはお土産として渡された。

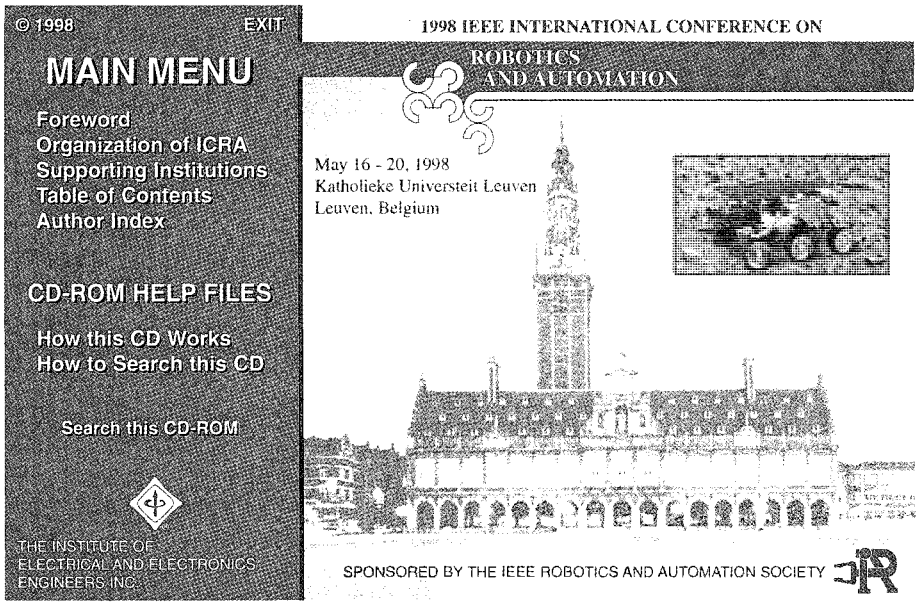
３日間とも早朝に招待講演が組まれ、また、夕方にはパネルディスカッションやラウンドテーブル、そして歓迎講演や懇親会、等盛り沢山の行事があった。このため、会場を出るのは連日夜の８時から９時になった。19日は懇親会会場であるブリュッセル中心のマデレーホールまで移動するため、ルーベンからブリュッセル中央駅に向かう電車が特別に仕立てられ、道中、会議場とは違った気軽な雰囲気で各国の第一線の研究者と個人的な話も自由に出来る機会を持つことが出来た。この会議の実行委員長であるジラルト博士をはじめ、多くの方々と意見を交換できた。とりわけ、車中で期せずして同席したＭＩＴの浅田春比古教授とは米国と日本の比較という観点から、現状を直視した大学、研究機関、企業、自動車産業、等について忌憚のない意見を交換できた。今後の研究を続けていく上で参考になることが多かった。

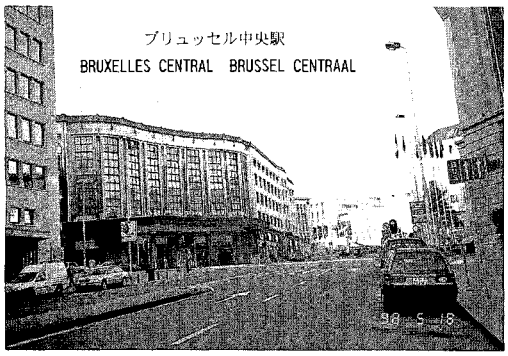
会議後の21日は宿の部屋に積み重ねたままの資料やパンフレットを整理し、また、会議に出続けていた疲れを癒し、帰途の長旅に備えた。22日の午前中は街に今も残る市庁舎、寺院、等の古い建物を見物し、午後にはブリュッセルを後にし、23日無事帰国した。

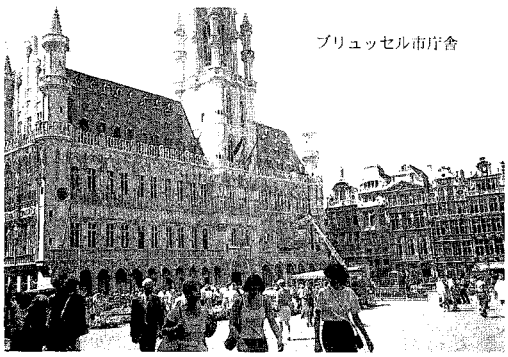
最後に、今回の会議参加に対し研究会助成を賜った中谷電子計測技術振興財団に深い感謝を致します。

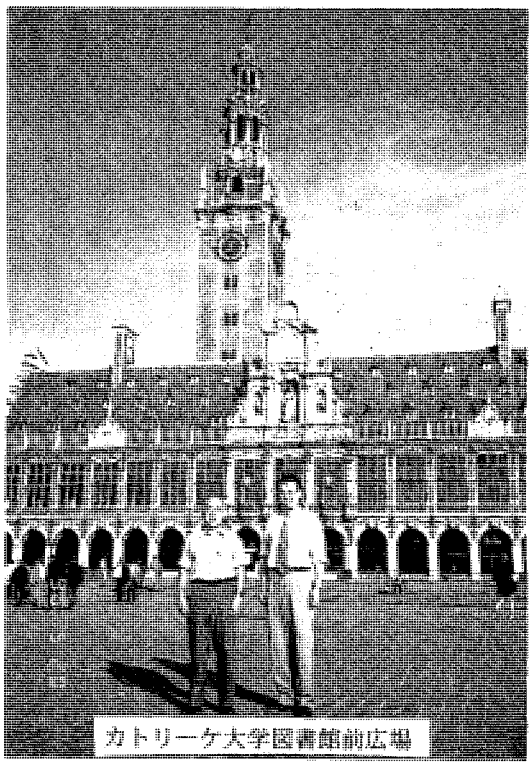


特別講演開始を告げる情景


© 1998
EXIT
MAIN MENU
Foreword
Organization of ICRA
Supporting Institutions
Table of Contents
Author Index
CD-ROM HELP FILES
How this CD Works
How to Search this CD
Search this CD-ROM
THE INSTITUTE OF ELECTRICAL AND ELECTRONICS ENGINEERS INC.
1998 IEEE INTERNATIONAL CONFERENCE ON
ROBOTICS AND AUTOMATION
May 16 - 20, 1998
Katholieke Universteit Leuven
Leuven, Belgium
SPONSORED BY THE IEEE ROBOTICS AND AUTOMATION SOCIETY


ブリュッセル中央駅
BRUXELLES CENTRAL BRUSSEL CENTRAAL


ブリュッセル市庁舎


カトリーケ大学図書館前広場

橋 本 大 定（はしもと だいじょう）

東京警察病院 外科部長 医学博士

会議または集会名	1）第6回 世界内視鏡外科学会 （6th World Cogress Endoscopic Surgery） 2）第4回 腹腔鏡下手術シンポジウム （4th International MIS-Symposium）
開催地	1）イタリア・ローマ 2）ドイツ・トットリンゲン
時期	1）平成10年6月3日～6日 2）平成10年6月15日～16日

1998年6月3～6日、ローマで開催された世界内視鏡外科学会では、内視鏡下の吊り上げ法手術のセッションで、皮下鋼線腹壁吊り上げ法手術について講演を行った。

内視鏡下の低侵襲手術は、本邦においてもここ数年急速な普及をみているが、欧米式の気腹法では、腹腔内が高圧となることに起因する合併症や、高圧を維持し続けないと遂行できないという手術の難しさに起因する特異な合併症が多く、問題となってきた。

我々は、1991年の当初、気腹法による内視鏡下手術を完全に否定し、世界に先駆けて皮下鋼線腹壁吊り上げ法を創案し、空間作成法の更なる改良や術式の工夫、鉗子やカメラの開発を進めてきた結果、当施設における内視鏡下手術の安全性や確実性、また、質の高さは、世界最高のレベルにある。

セッションの座長モレ（仏、世界で初めて内視鏡下の手術を行った外科医）や、同じセッションの発表者であるパウロッチ（独）やデスパンダ（印）らは、筆者を世界のパイオニアとして言及し、この分野の研究開発が日本によってリードされていることを称賛した。

ちなみに、本邦においては、1994年に世界に先駆けて第1回腹壁吊り上げ法手術研究会（代表世話人：橋本大定）が開催され、7回の研究会を経て、昨年7月には第1回世界腹壁吊り上げ法手術研究会（GasLESS International, chairman:D.Hashimoto)が開催された。

6月14～15日、トットリンゲンで開催された第4回世界低侵襲手術シンポジウムでは、ゲーテ大学（フランクフルト）のエンケ教授と私の2人で内視鏡下吊り上げ法手術のシンポジウムの座長をつとめた。シンポジウムの演者は、日本からは私だけで、他は独、米、仏、伊、西に及び、参加者は、主として欧州全域から約 150名であった。イタリアの演者サンピエトロ教授は、私を師と日本語で呼びかけた。シンポジウムを通じ、本邦で創始された腹壁吊り上げ法手術は、その安全性と確実性ゆえに、着実に欧州にも支持者を広げていることが確認された。

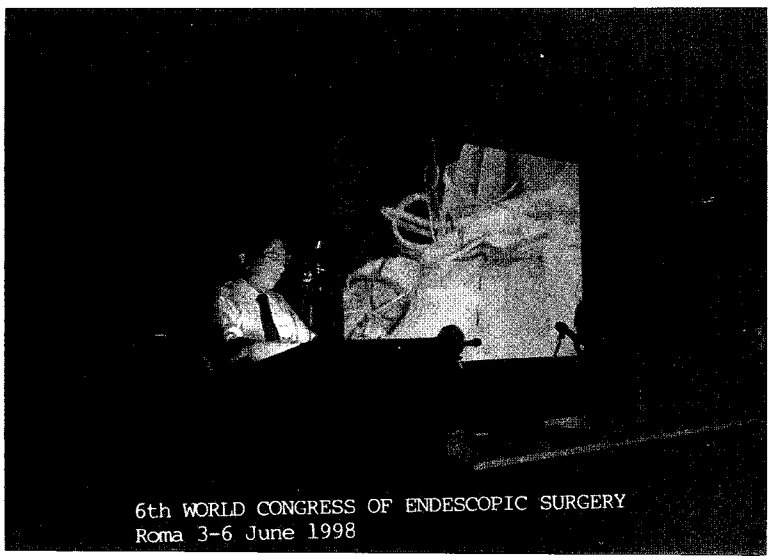
内視鏡下手術は、胆嚢摘出手術を対象とした第1期の熱狂期間を経て、現在では、より複雑な胃や大腸の手術をいかに低侵襲に行うかという問題が次なるメインテーマとなっている。内視鏡下の手術は、従来の開腹手術と異なり、術者自身が裸眼で3次元的直接視ができないことや、自らの手や指に

よる触知や直接操作ができないなど、高度の制約を外科医に課し続けているという問題点があり、これが手術の困難性や各種の特異な合併症の発生の原因となっている。

シンポジウムでも、ドイツの外科医を中心として、これらの制約を克服するための器機器具類の開発や術式の報告があった。この点に関しても、筆者の発案になる、本邦の家内工業的ベンチャー企業によって作られた、フォグレススコープやオジギ剥離鉗子、ミツアナ結紮鉗子(Daijo's Ligator) などの優秀性が称賛された。

大腸の内視鏡下手術のシンポジウムの中のトピックとして、大腸癌のオンコロジーと気腹法手術の関係が話題となっていた。気腹法手術では、逆流防止弁付きトロカール（外套管）を用いるが、鉗子等の操作に伴い、トロカール周囲には、少量ながらも常時腹腔内の高圧炭酸ガスが漏れ続けている。このため、腹腔内諸臓器の癌の気腹法下手術では、癌細胞が炭酸ガス中に舞い上がり、トロカール周囲に着床する現象(Chimney phenomenon)が結構な頻度で発生し、癌転移を促進するとして重大な問題となっている。

この点に関し腹壁吊り上げ法では、炭酸ガスは一切必要とせず、転移促進問題も皆無であり、今後さらに腹壁吊り上げ法のよさが見直されていくであろう。



松　本　健　志（まつもと　たけし）

川崎医療短期大学臨床工学科　助教授　工学博士

会議または集会名　第71回 米国心臓学会学術集会（The American Heart Association's 71st Annual Scientific Sessions）

開催地　アメリカ・テキサス・ダラス

時期　平成10年11月8日～11日

会議の内容

1）会議の概要

米国心臓学会（American Heart Association、以下ＡＨＡ）の第71回学術集会が平成10年11月8日から11日までの4日間、米国・ダラスのコンベンションセンターにおいて開催された。"Fighting Heart Disease and Stroke" をスローガンに掲げるＡＨＡの学術集会には毎年、米国をはじめとする先進諸国から心血管学分野の研究者が一堂に会し、その規模は国際学会の様相を呈している。今年も1万2千を超える応募から4千5百あまりの演題が採択され（うち半数は米国以外の54カ国からの演題）、最新の知見や最先端医療技術が紹介された。本集会は地元ボランティアの協力と医療機器会社や製薬会社の後援のもとに成り立っている。また、会期中には演題発表に平行して 400を超える関連企業による展示会が催され、会場は活気に溢れていた。

2）会議の研究テーマとその討論内容

本集会ではＡＨＡの13の学術委員会（Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology, Basic science, Cardiovascular radiology, Circulation等）から提出された原案をもとにプログラムが編成され、心血管系に関連するほぼ全ての領域が網羅される。内容も基礎から臨床応用に至るまで様々であるが、ここ数年は分子生物学的な手法を用いた研究がdelete花盛りである。筆者が興味を持っているvascular biologyやmyocardial metabolism のセッションでも遺伝子解析を利用した演題発表が多かった。朝8時半の基調講演、一般演題（口頭・ポスター）から夜9時の教育講演までぎっしりとセッションが組まれ、連日活発な討議が繰り返された。

3）出席した成果

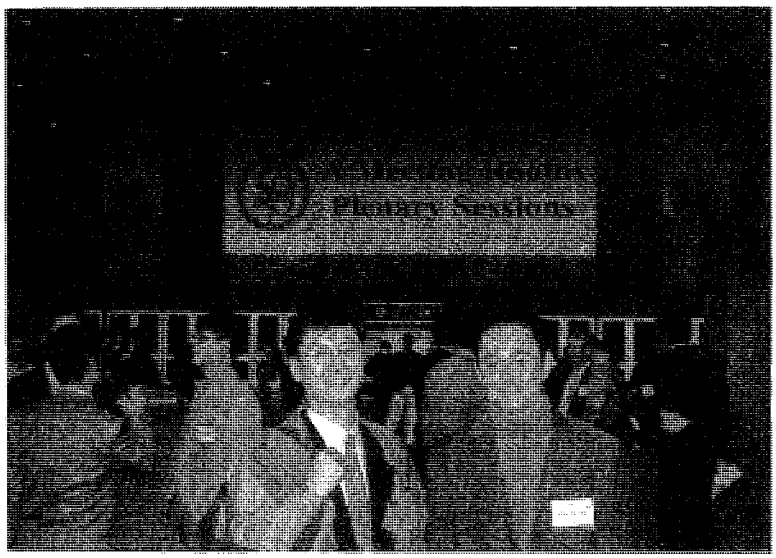
筆者は、微小循環のセッションで口頭発表した。最近、冠動脈狭窄を認めない一部の虚血性心疾患の原因として、心筋内微小循環の血流異常が注目されるようになってきた。解剖的に確認されている微小心筋障害は小さいもので1mm以下である。また、サイトカイン／ケモカインの作用が数百ミクロン程度の範囲に及ぶこともモデル論的に推測されている。我々の開発した分子トレーサ法は現在のところ唯一、1mm以下のスケールにおける心筋循環動態の評価が可能な方法である。今回は特に心筋微

小循環における一酸化窒素の役割について演題「一酸化窒素は心筋微小循環のランダム性を低下させる ― 分子トレーサ法によるデジタルラジオグラフィ ― (Nitric oxide blockade reduces local randomness of microregional myocardial blood flows -Digitalradiographic study using a molecular deposition marker-) 」deleteを発表した。微小心筋障害は本邦よりも米国で注目度が高いこともあって聴衆は多く、冠循環のオーソリティーであるFeigl(Univ of Washington)、Chilian(Texas A&M Univ) 両教授からも質問を頂戴した。さらに、この方法を利用した研究スコープについての示唆に富んだコメントも頂いた。

また、発表に先だって現在、岡山大学・医学部と共同で研究を進めている新しい手術法「レーザ心筋内血管新生術 (Transmyocardial revascularization)」に関するセッションにも出席した。この手術法の先駆けである米国の基礎および臨床研究の現状を知ることができ、今後の研究を進展させる上で非常に参考になった。

4) その他

会期中、Ignarro 教授 (Univ of California-Los Angeles) がＡＨＡよりBasic Research Prizeを受賞した。ご存知のごとく、Ignarro 教授は一酸化窒素の発見の功績によってノーベル医学賞の栄誉に輝いた３人の米国人のうちの一人である。本受賞はノーベル医学賞選出前に決定されており、ＡＨＡは一酸化窒素発見の重要性評価に対する先見性を唱い、集会は盛り上がっていた。



学会会場入り口にて、教室の豊田先生 (左)

技術開発に対する研究助成状況

年　度	贈呈式年月日	助成研究	助成金総額
昭和59年度	昭和60年２月28日	６件	1,600万円
昭和60年度	昭和61年２月25日	９件	2,100万円
昭和61年度	昭和62年２月27日	９件	2,050万円
昭和62年度	昭和63年２月26日	９件	1,950万円
昭和63年度	平成元年３月10日	８件	1,880万円
平成元年度	平成２年２月23日	10件	2,110万円
平成２年度	平成３年２月22日	10件	2,010万円
平成３年度	平成４年２月28日	12件	2,430万円
平成４年度	平成５年２月26日	10件	1,930万円
平成５年度	平成６年２月25日	11件	2,100万円
平成６年度	平成７年３月24日	11件	2,160万円
平成７年度	平成８年２月23日	９件	1,820万円
平成８年度	平成９年２月28日	10件	1,920万円
平成９年度	平成10年２月27日	10件	1,670万円

第１回（昭和59年度）技術開発研究助成対象研究

研　究　題　目	研究責任者氏　名	所属機関名職名	研究助成金額（万円）
眼底の定量立体計測法の開発に関する研究	中谷　一	大阪厚生年金病院眼科部長 大阪大学医学部非常勤講師	４００
臨床医学分野における電子計測技術に関する基礎的研究	神津　忠彦	東京女子医科大学 消化器内科　助教授	３５０
ＴＶ画像処理による血小板凝集反応の数値解析	志賀　健	愛媛大学医学部 第二生理　教授	１５０
オプトエレクトロニクスを活用した活動電位の光学的超多部位同時測定装置の研究開発	神野耕太郎	東京医科歯科大学 医学部　教授	２００
光ＩＣ技術を用いたファイバ血流速度計測システムの小型化に関する研究	西原　浩	大阪大学工学部 電子工学科　教授	２００
Walsh変換による64チャンネル高周波超音波パルスドプラ血流速信号の実時間計測処理システムの開発とその応用	梶谷　文彦	川崎医科大学 医用工学　教授	３００

第２回（昭和60年度）技術開発研究助成対象研究

研　究　題　目	研究責任者氏　名	所属機関名職名	研究助成金額（万円）
Field Effective Transistorを用いたインスリン免疫センサーの開発	七里　元亮	大阪大学医学部 第一内科　助教授	２８０
音声合成方式発声代行システムのための電子計測技術に関する研究	杉江　昇	名古屋大学工学部 電気工学第二学科　教授	３００

研　究　題　目	研究責任者 氏　名	所属機関名職名	研究助成金額 （万円）
パラメトリックアレーを用いた超音波非線形パラメータＣＴによる生体組織性状診断に関する研究	菊地　眞	防衛医科大学校 医用電子工学講座　教授	２００
心臓用人工弁機能の電子計測技術システムの開発	舟久保熙康	東京大学工学部 精密機械工学科　教授	２３０
データ圧縮による生体信号の長時間計測と痙性の定量的評価への応用	赤澤　堅造	大阪大学工学部 電気工学科　助手	２００
高周波超音波診断装置の開発	三木　吉治	愛媛大学医学部 皮膚科　教授	２５０
運動時における連続血圧測定装置の開発研究	中根　央	東京理科大学工学部 電気工学科　助手	２００
水晶体混濁度測定装置の研究開発	高橋　隆	東海大学医学部　教授	２２０
内耳よりの音放射に関する基礎的研究と臨床検査法への応用	村田　計一	東京医科歯科大学 難治疾患研究所神経生理学部門　教授	２２０

第３回（昭和61年度）技術開発研究助成対象研究

研　究　題　目	研究責任者 氏　名	所属機関名職名	研究助成金額 （万円）
心臓・血管内血流速度ベクトル分布イメージング装置の開発	北畠　顕	大阪大学医学部 第一内科　講師	２５０
基礎体温自動計測システムの開発	戸川　達男	東京医科歯科大学 医用器材研究所　教授	２５０
サーモグラフィー用室温動作赤外線撮像素子の開発	奥山　雅則	大阪大学基礎工学部 電気工学科　助教授	２５０
レーザーラマン分光法に基づく白内障予知システムの基礎的研究	尾崎　幸洋	東京慈恵会医科大学 共同利用研究部分析機器室　助手	１５０
磁性体微粒子によって散乱される光の偏波面ゆらぎを利用した免疫反応の超高感度検出に関する研究	武者　利光	東京工業大学 大学院総合理工学研究科 教授	２００
超音波位相追従法による血管追跡型超音波パルスドプラ血流計の開発	古幡　博	東京慈恵会医科大学 医用エンジニアリング研究室　助教授	２２０
生体内における筋活動のＸ線回析法による計測技術の開発	八木　直人	東北大学医学部 第一薬理　助手	２３０
レーザー顕微蛍光分光測定法による単一細胞内カルシウムイオン濃度測定法の開発	矢崎　義雄	東京大学医学部 第三内科　講師	３００
超高感度カメラと画像処理技術を用いた細胞内カルシウムイオンの動態・解析システムの開発	片山　芳文	東京医科歯科大学 難治疾患研究所 自律生理学部門　教授	２００

第４回（昭和62年度）技術開発研究助成対象研究

研　究　題　目	研究責任者 氏　名	所属機関名職名	研究助成金額 （万円）
微小循環解析のための超音波の圧依存性音響特性変化に基づく新しい非侵襲的計測	堀　正二	大阪大学医学部 第一内科　助手	２３０
レーザーフローサイトメトリーによる細菌の分類・同定システムの開発とその臨床応用	横地　高志	福井医科大学医学部 微生物学講座 助教授	１８０
反射評価システムに関する研究	岡本　卓爾	岡山大学工学部 情報工学科　教授	２３０
半導体集積技術を利用した埋め込み型バイオセンサーの開発	軽部　征夫	東京工業大学 資源化学研究所 教授	２３０
盲人用図面認識支援システムの研究開発	大西　昇	名古屋大学工学部 講師	２００
SQUID磁束計を用いた脳磁波計測システムの臨床検査法への応用	新妻　博	東北大学 脳疾患研究施設 脳神経外科　講師	２００
網赤血球計数の標準化に関する研究	巽　典之	大阪市立大学医学部 講師	１８０
伝達関数法に基づく開心術中の心筋保護効果監視装置の開発	滝島　任	東北大学医学部 第一内科　教授	２５０
格子像投影方式定量立体計測法による眼底診断装置の試作研究	吉村　武晃	神戸大学工学部 助教授	２５０

第５回（昭和63年度）技術開発研究助成対象研究

研　究　題　目	研究責任者 氏　名	所属機関名職名	研究助成金額 （万円）
中枢神経損傷による運動筋麻痺患者の機能再建のための計測・制御に関する研究	星宮　望	東北大学工学部 通信工学科　教授	３００
冠動脈疾患の無侵襲的三次元的診断装置の開発	鈴木　直樹	東京慈恵会医科大学 医用エンジニアリング 研究室　助手	１５０
長期生体内連続測定を可能とする植え込み型ブドウ糖センサの開発	河盛　隆造	大阪大学医学部 第一内科　講師	２５０
術中局所心機能評価のための超音波ドプラトラッキング層別厚計の開発	辻岡　克彦	川崎医科大学 医用工学　助教授	２５０
手の動作の計測・評価システムに関する研究　―三次元空間での手の運動の最適制御問題への応用―	鈴木　良次	東京大学工学部 計数工学科　教授	３００
ＣＴ画像に基づく人体組織の三次元計測技術の基礎的研究	鳥脇純一郎	名古屋大学工学部 情報工学科　教授	２００
超音波による生体組織の硬さの画像化に関する研究開発	山下　安雄	東海大学医学部 ME学教室　助教授	２００
携帯用の人工心臓駆動装置のための血圧血流量間接計測技術の開発	喜多村　直	九州工業大学 情報工学部　教授	２３０

第6回（平成元年度）技術開発研究助成対象研究

研　究　題　目	研究責任者 氏　名	所属機関名職名	研究助成金額 （万円）
がん温熱療法における非侵襲的患部温度計測法の研究	富川　義朗	山形大学工学部 電気工学科　教授	150
心臓疾患の音響的精密診断のための心音計測技術・時系列分析法の開発に関する研究	中鉢　憲賢	東北大学工学部 電気工学科電気計測学講座　教授	240
脳磁図計測と脳機能局在性推定に関する研究	上野　照剛	九州大学工学部 電子工学科　教授	220
フーリエ変換赤外分析法を応用した血糖値の非侵襲的計測法の開発	七里　元亮	熊本大学医学部 代謝内科学講座　教授	230
レーザースペックル法による眼底血流画像化装置の開発	藤居　仁	九州工業大学情報工学部 電子情報工学教室　教授	200
連続画像の自動識別による動態機能解析	立川　光	香川医科大学医学部 一般教育物理学 教務職員	200
超音波による瞬時三次元情報可視化装置の開発	千原　国宏	大阪大学基礎工学部 制御工学科　助教授	250
放射光を用いた冠動脈診断のための高速画像採取解析システム	赤塚　孝雄	山形大学工学部 情報工学科　教授	220
振戦の機械的励振解析による運動制御情報の計測評価のシステム	渡辺　瞭	東京大学医学部 医用電子研究施設 助教授	200
レーザー光音響・蛍光法による多項目同時イムノアッセイシステムの開発	升島　努	広島大学医学部 総合薬学科　教授	200

第7回（平成2年度）技術開発研究助成対象研究

研　究　題　目	研究責任者 氏　名	所属機関名職名	研究助成金額 （万円）
スーパールミネッセントダイオードを用いた多粒子流体速度測定システムの開発	今井　洋	九州工業大学情報工学部 電子情報工学科　助教授	230
血小板の細胞内カルシウム，細胞内pH及び凝集能の同時測定が可能な蛍光分光光度計の開発	久米　章司	山梨医科大学医学部 検査部　教授	170
光による生体内の構造および機能情報計測法の開発	清水　孝一	北海道大学工学部 生体工学専攻　助手	180
符号化開口CTを用いた生体組織内RI分布の3次元計測	藤村　貞夫	東京大学工学部 計数工学科　教授	200
脂質膜をトランスデューサとするマルチチャンネル味センサ	都甲　潔	九州大学工学部 電子工学科　助教授	180
半導体レーザー分光分析法による生理活性物質の微量分析の研究	今坂藤太郎	九州大学工学部 工業分析化学講座 助教授	180

研　究　題　目	研究責任者 氏　名	所属機関名職名	研究助成金額 （万円）
超音波像高速３次元表示システムの開発と新しい胎児診断法への応用	馬場　一憲	東京大学医学部 医用電子研究施設 講師	２５０
インテリジェントニューロサージカルマイクロスコープの開発	早川　　徹	大阪大学医学部 脳神経外科　教授	２２０
組織の酸素圧と酸化還元電位の２次元・時系列マッピングシステムの開発	吉原　治正	大阪大学医学部 生理学第一講座　助手	１８０
電子スピン共鳴法による血管内皮細胞の膜流動性およびフリーラジカルの測定と病態における変動	尾辻　省吾	鹿児島大学医学部 臨床検査医学講座 教授	２００

第８回（平成３年度）技術開発研究助成対象研究

研　究　題　目	研究責任者 氏　名	所属機関名職名	研究助成金額 （万円）
動脈硬化症診断のための血管モデルの構築と計測技術の研究開発	岡田　正彦	新潟大学医学部 検査診断学教室　教授	２２０
極微小電極ボルタンメトリーを用いるin vivoカテコールアミンセンサの開発	大坂　武男	東京工業大学大学院総合理工学研究科 電子化学専攻　助教授	２２０
電気化学発光法を用いた生体内物質の連続計測技術の開発	酒井　清孝	早稲田大学理工学部 応用化学科　教授	２２０
瞳孔筋系の逆モデルに基づく無重力環境下の自律神経活動推定に関する研究	臼井　支朗	豊橋技術科学大学工学部 情報工学系 教授	２００
超解像超音波断層法の開発と不可視情報の可視化	石原　　謙	国立大阪病院臨床研究部 医用工学研究室　室長	２５０
心室容積計測用コンダクタンスカテーテルの絶対容積キャリブレーション法の開発	菅　　弘之	岡山大学医学部 第二生理学教室　教授	２００
脳内温度分析観測のための誘電率精密測定	信太　克規	佐賀大学理工学部 電気工学科　教授	２００
マイクロ波を用いた非接触生体微小変位測定装置の開発と臨床応用	宮保　　進	福井医科大学医学部 第三内科　教授	２００
時間分解顕微蛍光ファイバースコープの開発とヒト歯牙診断への応用	荒木　　勉	徳島大学工学部 機械工学科　助教授	１８０
部分空間法による顕微分光画像解析	豊岡　　了	埼玉大学工学部 応用物理学講座　教授	１８０
長時間血圧・心電図・身体活動度同時モニタリング装置の開発	稲田　　紘	国立循環器病センター研究所 研究機器管理室　室長	１８０
赤血球異常症診断プロトコールの研究開発	八幡　義人	川崎医科大学 内科学　教授	１８０

第9回（平成4年度）技術開発研究助成対象研究

研　究　題　目	研究責任者 氏　名	所属機関名職名	研究助成金額 （万円）
圧電性材料を用いたキャピラリー電気泳動（CZE）の高感度検出法の開発とDNAシケンサーへの応用	澤田　嗣郎	東京大学工学部 工業化学科　教授	２００
超小形集積化圧力センサの医用計測への応用	江刺　正喜	東北大学工学部 機械電子工学科　教授	２００
赤血球内酵素の自動分析システムの開発	濱﨑　直孝	九州大学医学部 検査部　教授	２００
遺伝子検出における電子計測技術の開発	竹中　繁織	九州工業大学情報工学部 生物化学システム工学科 助教授	２００
相関スペクトル解析法による局部微小網膜電位の計測	森田　龍彌	大阪大学工学部 電気工学科　助教授	２００
内視鏡画像による三次元形状計測	出口光一郎	東京大学工学部 計数工学科　助教授	２００
マイクロ波による体内温度の断層撮像技術に関する研究	宮川　道夫	新潟大学工学部 情報工学科　教授	２００
血栓形成における血管内皮細胞の制御機構の解明　―ずり応力負荷装置を用いた流体力学的アプローチ―	渡辺　清明	慶應義塾大学医学部 中央臨床検査部　講師	２００
光学的多点計測による大脳皮質聴覚領の神経活動の画像化	谷口　郁雄	東京医科歯科大学難治疾患研究所　情報医学研究部門　教授	１８０
生体のX線回析用高感度二次元イメージセンサシステムの開発	南戸　秀仁	金沢工業大学工学部 電子工学科　教授	１５０

第10回（平成5年度）技術開発研究助成対象研究

研　究　題　目	研究責任者 氏　名	所属機関名職名	研究助成金額 （万円）
散乱光による粒子計測法を用いた血小板凝集能計測器の開発	尾崎由基男	山梨医科大学医学部 臨床検査医学講座 助教授	２５０
超音波による動脈壁上の微小振動の計測に基づく早期動脈硬化症の非侵襲的診断装置	金井　浩	東北大学工学部 電気工学科　助教授	２２０
光音響分光法による高次生体機能の非侵襲的観測・評価に関する研究	松田　甚一	長岡技術科学大学工学部 教授	２００
超音波CTの開発と医用画像三次元再構成による三次元計測	橋本　大定	東京警察病院 外科部長	２００
キャピラリー電気泳動法によるアポトーシス時の断片化したDNAの測定	丸山　征郎	鹿児島大学医学部 臨床検査医学講座 教授	２００

研　究　題　目	研究責任者 氏　名	所属機関名職名	研究助成金額 (万円)
骨格筋の粘性・弾性係数計測システムの開発と収縮特性評価への応用	赤澤　堅造	神戸大学工学部 情報知能工学科　教授	200
脳神経外科手術における運動機能のモニタリングの開発	桐野　高明	東京大学医学部 脳神経外科　教授	200
核磁気共鳴による体内温度分布の無侵襲画像化法に関する研究	黒田　輝	大阪市立大学工学部 電気工学科　助手	180
スリット・スキャン・フローサイトメータによるDNA診断法の開発	野口　義夫	佐賀大学理工学部 電子工学科　教授	150
血管内超音波法を用いた生体内での動脈硬化病変性状の定量的診断法の開発	増山　理	大阪大学医学部附属病院 第一内科　医員	150
光ピンセットを用いて細胞膜蛋白分子間の相互作用力を計測する技術	辰巳　仁史	東京医科歯科大学 難治疾患研究所　助手	150

第11回（平成6年度）技術開発研究助成対象研究

研　究　題　目	研究責任者 氏　名	所属機関名職名	研究助成金額 (万円)
心電図の無意識的計測を行うための入力機構と信号処理システムの開発	太田　茂	川崎医療福祉大学 医療技術学部 医療情報学科　教授	220
筋電制御式完全埋め込み型機能的電気刺激装置の開発	高橋　幸郎	埼玉大学 地域共同研究センター 助教授	180
DNAの電極への効率的固定化と化学センサへの応用	前田　瑞夫	九州大学工学部 応用物質化学科 助教授	200
不整脈発生源からの微小電位記録法の開発と応用に関する研究	相沢　義房	新潟大学医学部 第一内科教室　講師	180
三次元超音波法による心臓の動態評価と機能計測	三神　大世	北海道大学医学部附属病院　循環器内科学講座 助手	200
高生体適合性血管内留置型酸素分圧センサの開発	田中　志信	東京医科歯科大学 医用器材研究所 有機材料部門　助手	200
レーザー・トラッピングされたプローブを用いたニアフィールド光学顕微鏡による生体細胞内のナノメトリック観察に関する研究	河田　聡	大阪大学工学部 応用物理学科　教授	200
血液および血管壁の自己蛍光分析による動脈硬化診断装置の開発に関する基礎的研究	佐藤　正明	東北大学工学部 機械電子工学科　教授	200
電子線干渉計測と生物構造解析への応用	来　関明	静岡大学工学部 電気電子工学科　助教授	200
動揺病発症における半規管，耳石器，および頚部体性感覚の関与に関する研究	井須　尚紀	鳥取大学工学部 知能情報工学科 助教授	180
磁気刺激による生体機能測定に関する研究	上野　照剛	東京大学医学部 医用電子研究施設　教授	200

第12回（平成７年度）技術開発研究助成対象研究

研　究　題　目	研究責任者 氏　名	所属機関名職名	研究助成金額 （万円）
植え込み型水晶体温センサによる移植臓器の遠隔期拒絶反応の無浸襲検知に関する研究	辻　隆之	国立循環器病センター研究所 実験治療開発部　部長	２５０
動的画像解析法による生体細胞の同定と個数の迅速測定に関する研究	井口　学	大阪大学工学部 材料開発工学科　助教授	２００
電子計測技術を用いた血液中甲状腺悪性腫瘍特異抗原定量系の開発	須川　秀夫	京都大学大学院医学研究科　臨床生体統御医学講座　講師	２００
多光子過程による紫外高分解能走査型レーザー顕微鏡とその生物学への応用	中村　収	大阪大学大学院工学研究科　物質・生命工学専攻 助教授	２５０
音響学的方法による冠動脈狭窄検出装置の開発に関する研究	松本　博志	東京大学大学院工学系研究科　精密機械工学専攻 教授	１８０
頸の傾斜、回転、および回旋角測定装置の研究開発	岡田　徳次	新潟大学工学部 情報工学科　教授	２００
微小電極法による遊離細胞膜表面電位の測定	野崎　修	近畿大学医学部 臨床病理学講座　講師	１８０
新しいガンマ線用検出器カドニウム亜鉛テロライドを応用した循環・呼吸計測用ポータブル装置の開発	川上　憲司	東京慈恵会医科大学 放射線医学教室　教授	１８０
水晶振動子の電極表面に直接結合する遺伝子組替え抗体の作製と免疫センサーへの応用	小林　淳	三重大学工学部 分子素材工学科　助手	１８０

第13回（平成８年度）技術開発研究助成対象研究

研　究　題　目	研究責任者 氏　名	所属機関名職名	研究助成金額 （万円）
低コヒーレンス光干渉計測による生体表皮組織の構造検出と計測系の小型化に関する研究	春名　正光	大阪大学医学部 保健学科　教授	２３０
細菌解析フローサイトメーターの開発と実用検査手法の確立	小澤孝一郎	広島大学医学部 総合薬学科　講師	２００
コンピュータ支援による尿検査バリデーションシステムの研究	松田　信義	川崎医科大学 検査診断学　教授	２００
体内埋め込みが可能な微小循環観察プローブの開発	井街　宏	東京大学医学部 医用電子研究施設　教授	２００
全血試料および毛細管内細胞交叉電気泳動法を用いた血液型およびクロスマッチ判定	津田　孝雄	名古屋工業大学工学部 応用化学科　助教授	１６０
超音波ドプラ法による局所脈波速度計測法の新開発	松尾　裕英	香川医科大学 第二内科学　教授	１８０

研　究　題　目	研究責任者 氏　名	所属機関名・職名	研究助成金額 (万円)
医療用マイクロマシン型バイオセンサーシステム	民谷　栄一	北陸先端科学技術大学院大学　材料科学研究科 教授	200
バイオミメティック有機素子を用いた血中コレステロール計測用センサーの開発	竹内　俊文	広島市立大学情報科学部 情報機械システム工学科 教授	200
バイオリアクターを中核とするFIA法による糖尿病関連物質の高感度化学発光分析法の開発に関する研究	田畑　勝好	京都大学医療技術短期大学部　衛生技術学科 助教授	200
全血の交流アドミッタンス計測による赤血球凝集（連銭形成）計の試作	入交　昭彦	高知医科大学 生理学講座　教授	150

第14回（平成9年度）技術開発研究助成対象研究

研　究　題　目	研究責任者 氏　名	所属機関名・職名	研究助成金額 (万円)
一重項酸素および一酸化窒素の特異的検出法としての高感度近赤外域発光分光装置の開発	鈴木　喜隆	国立水産大学校 食品化学科　教授	200
共焦点型偏光顕微鏡の開発と生物細胞の偏光解析への応用	川田　善正	静岡大学工学部 機械工学部　助教授	200
微量試料による組織酸素消費率の燐光測定法の開発	柴田　政廣	東京大学大学院医学系研究科 生体物理医学専攻　講師	200
プロトン磁気共鳴画像化法を用いた生体内温度分布の非侵襲画像計測の研究	黒田　輝	大阪市立大学工学部 電気工学科　助手	170
ピペット吸引法を応用した生体組織微小領域弾性率計測システムの開発に関する研究	松本　健郎	東北大学大学院工学研究科 機械電子工学専攻 助教授	180
高感度フォトダイオードアレイを利用した実時間眼底計測法の開発	相津　佳永	室欄工業大学工学部 機械システム工学科 助教授	180
イニファーター重合法を利用したインテリジェントバイオセンサーの開発	横山　憲二	北陸先端科学技術大学院大学 材料科学研究科　助教授	170
光ファイバ形センサ方式による発ガン関連酵素センシングシステムの開発	佐々木一正	北海道工業大学 応用電子工学科　教授	170
Burst パルスを用いた超高速 MRI 法の実用化	松田　哲也	京都大学医学部附属病院 医療情報部　助教授	100
コンダクタンス法を用いた血管内径および血管壁性状評価の試み	松原　広己	岡山大学医学部 循環器内科　助手	100

技術交流に関する助成状況

技術交流に関する助成金贈呈者

氏　名	機関・職名	会　議　名	開催地	時　期
巽　典之	大阪市立大学 医学部講師	国際血液学標準化委員会・ヨーロッパ臨床検査学会19次年次総会	ベルギー ルーベン フランス ツールース	昭和60年 4月
堀　原一	筑波大学 臨床医学系教授	第3回アジア太平洋心臓ペーシング・電気生理シンポジウム	オーストラリア メルボルン・シドニー	10月
黒川一郎	札幌医科大学教授	国際血液標準化委員会	イギリス ブライトン・ロンドン	10月
Reinhard Thom	ベルリン自由大学 医学部教授	血液電子計測研究会	東京	11月
八幡義人	川崎医科大学教授	日米学術交流セミナー	アメリカ ミネアポリス	昭和61年 1月
柴田　昭	新潟大学医学部 教授	第21回国際血液学会議	オーストラリア シドニー	5月
新谷和夫	関東通信病院 血液研究部長	第21回国際血液学会	オーストラリア シドニー	5月
屋形　稔	新潟大学医学部 教授	1986年度米国臨床化学会学術集会	アメリカ シカゴ・サンフランシスコ	7月
江刺正喜	東北大学工学部 助教授	第1回米日医生物工学シンポジウム	アメリカ ボルチモア	9月
信太克規	電子技術総合研究所 標準計測部 主任研究官	国際度量衡委員会電気諮問委員会他	フランス パリ イギリス ロンドン	9月
瀬口靖幸	大阪大学 基礎工学部教授	IEEE／医生物工学会（EMBS）第8回年会会議	アメリカ ヒューストン	11月
鈴木良次 他8名	大阪大学 基礎工学部教授	中日双方向医用生体工学シンポジウム〔阪大7，川崎医大1，東京医歯大1〕	中国 上海	12月
田村安孝	山形大学工学部 助手	医用画像処理とパターン認識及び音響映像法に関する国際シンポジウム	アメリカ ニューポートビーチ	昭和62年 2月
渡辺清明	慶應義塾大学 医学部講師	第11回国際血栓止血学会	ベルギー ブラッセル	7月
喜多悦子	奈良県立医科大学 助教授	第11回国際血栓止血学会	ベルギー ブラッセル	7月
吉本千禎	北海道大学 名誉教授	極東医用生体工学会議国際準備委員会	東京	8月
三輪史朗	㈶冲中記念成人病研究所　所長	第6回国際血液学アジア太平洋域会議	インド ボンベイ	12月

氏　名	機関・職名	会　議　名	開催地	時　期
杉　江　　昇	名古屋大学 工学部教授	国際神経回路網会議	アメリカ サンディエゴ	昭和63年 7月
吉　村　武　晃	神戸大学工学部 助教授	国際ME学会	アメリカ サン・アントニオ	8月
安　藤　　繁	東京大学工学部 助教授	システム人間およびサイバネティックスに関する国際会議	中華人民共和国 北京・瀋陽	8月
関　根　松　夫	東京工業大学 大学院総合理工学研究科　助教授	第18回ヨーロッパ・マイクロ波国際会議	スウェーデン ストックホルム	9月
浅　野　茂　隆	東京大学医科学研究所　助教授	造血と分化因子に関する国際シンポジウム	オーストラリア メルボルン	8月
山　口　延　男	神戸大学医学部 教授	第22回国際血液学会	イタリア ミラノ	8月
荒　井　恒　憲	防衛医科大学校 医学教育学助手	第4回医学における光学ファイバーの応用国際会議	アメリカ ロスアンゼルス	平成元年 1月
志　賀　　健	大阪大学医学部 教授	第7回国際バイオレオロジー学会総会	フランス ナンシー	6月
川　上　憲　司	東京慈恵会 医科大学助教授	第17回国際医学放射線学会	フランス パリ	7月
幸　道　秀　樹	東京大学医科学研究所　講師	国際実験血液学会総会	フランス パリ	7月
菊　地　　眞	防衛医科大学校 教授	第2回国際医用生体工学学会（汎太平洋シンポジウム）	オーストラリア メルボルン	7月
只　野　寿太郎	佐賀医科大学 教授	第2回国際健康と生命化学領域における質量分析学会	アメリカ サンフランシスコ	8月
八　幡　義　人	川崎医科大学 教授	赤血球膜および代謝に関する国際シンポジウム	東ドイツ ベルリン	8月
岡　田　正　彦	新潟大学医学部 助教授	国際電子工学学会生体電子工学部門第11回国際会議	アメリカ ワシントン・シアトル	11月
大　西　　昇	名古屋大学工学部 助教授	第11回医用生体工学国際会議	アメリカ シアトル	11月
松　本　　元	電子技術総合研究所 超分子部長	生物化学系における波動とパターンに関する国際会議	ソビエト モスクワ	平成2年 5月
尾　辻　省　吾	鹿児島大学医学部 教授	第24回世界スポーツ医学会議	オランダ アムステルダム	5月
作　間　英　一	計量研究所 量子計測研究室長	精密電気磁気測定国際会議	カナダ オタワ	6月
大　城　　巌	和歌山県立医科大学 中央検査部主任技師	国際臨床化学総会	アメリカ サンフランシスコ	7月
桐　生　昭　吾	電子技術総合研究所 基礎計測部　研究員	応用超電導国際会議	アメリカ アスペン	9月
		第1回極東医用生体工学会議	東京	10月

氏　名	機関・職名	会　議　名	開催地	時　期
山本徳則	川崎医科大学 医用電子工学	超音波血流計測による動脈硬化のメカニズムの解析に関する共同研究（インペリアル大学）	イギリス ロンドン	平成3年 2月
鈴木宏治	三重大学医学部 教授	第13回国際血栓止血学会	オランダ アムステルダム	6月
屋形稔	新潟大学医学部 名誉教授	第16回世界病理・臨床病理学会	カナダ バンクーバー	6月
犬塚貴	新潟大学医学部 助手	第13回国際神経化学会	オーストラリア シドニー	7月
樋口哲也	電子技術総合研究所 情報アーキテクチャ部 主任研究官	国際人工知能会議	オーストラリア シドニー	8月
増田俊久	電子技術総合研究所 エネルギー基礎部 主任研究官	第2回欧州宇宙用電源会議	イタリア フィレンツェ	9月
石原謙	国立大阪病院 臨床研究部医用工学研究室　室長	第6回世界超音波学会	デンマーク コペンハーゲン	9月
北風政史	大阪大学医学部 医員	第64回米国心臓病理学会	アメリカ アナハイム	11月
小澤敬也	東京大学医科学研究所　助教授	第33回アメリカ血液学会総会	アメリカ デンバー	12月
原田裕一	東京工業大学大学院 総合理工学研究科	第3回北欧超伝導シンポジウム	デンマーク ナイボルグ	平成4年 3月
相沢義房	新潟大学医学部 講師	国際不整脈アブレーション会議	アメリカ ノースカロライナ	5月
黒田新一	電子技術総合研究所 凝縮物性研究室長	第6回コロイドおよび界面科学における磁気共鳴に関する国際シンポジウム	イタリア フィレンツェ	6月
八木康之	電子技術総合研究所 エネルギー基礎部 主任研究官	第14回プラズマ物理および制御核融合に関する国際会議	ドイツ ヴュルツブルグ	9月
小笠原康夫	川崎医科大学 講師	第14回IEEE医用工学国際会議	フランス パリ	10月
三戸章裕	計量研究所熱物性部 主任研究官	第15回レーザとその応用に関する国際会議	アメリカ ヒューストン	12月
中村収	計量研究所力学部 研究員	共焦点顕微鏡と3次元画像処理に関する国際会議	オーストラリア シドニー	平成5年 2月
柴田昭	新潟大学医学部長	第27回マレーシヤ・シンガポール医学総会	マレーシヤ クアラルンプール	8月
猪狩淳	順天堂大学医学部 教授	第18回国際化学療法学会	スェーデン ストックホルム	7月
河盛隆造	大阪大学医学部 講師	インシュリンに関するBanting and Bestシンポジウム	カナダ トロント	6月

氏　名	機関・職名	会　議　名	開催地	時　期
佐藤俊輔	大阪大学基礎工学部 教授	IMIA-IFMBE生体信号の解釈に関する研究集会	デンマーク アールボー	8月
濱崎直孝	九州大学医学部 教授	ゴードン研究国際会議	アメリカ ニューハンプシャー	8月
高木　康	昭和大学医学部 助教授	第17回世界解剖，臨床病理学会連合会議	メキシコ アカプルコ	10月
清水　章	大阪医科大学医学部 教授	第15回国際臨床化学会議	オーストラリア メルボルン	11月
木村　総	昭和大学医学部 臨床病理学　助手	第17回国際臨床病理学会総会	メキシコ アカプルコ	10月
岡部紘明	熊本大学医学部 教授	第15回国際臨床化学会 第6回アジア・太平洋臨床化学会	オーストラリア メルボルン	11月
鈴木　淳	電子技術総合研究所 材料部　研究員	第15回アモルファス半導体国際会議	イギリス ケンブリッジ	9月
佐々木匡秀	高知医科大学医学部 教授	第15回国際臨床化学会議	オーストラリア メルボルン	11月
大垣英明	電子技術総合研究所 量子放射部主任研究官	1993年原子核科学及び医用画像に関する合同会議	アメリカ サンフランシスコ	11月
河野均也	日本大学医学部 教授	第15回国際臨床化学会議	オーストラリア メルボルン	11月
中山　貫	計量研究所 首席研究官	アボガドロ定数およびシリコンによるモルの現示に関する国際研究集会	イタリア トリノ	平成6年 3月
関口　進	防衛医科大学校 教授	第72回米国臨床病理学会春季大会	アメリカ シアトル	4月
森　徹	京都大学医学部 教授	第76回米国分泌学会議	アメリカ アナハイム	6月
伊藤順司	電子技術総合研究所 電子デバイス部 主任研究官	第7回国際真空マイクロエレクトロニクス会議	フランス グルノーブル	7月
加藤吉彦	電子技術総合研究所 光技術部 主任研究官	電磁精密測定国際会議	アメリカ ボルダー	7月
望月精一	川崎医療短期大学 講師	国際医用物理生体工学会議	ブラジル リオデジャネイロ	8月
菅原基晃	東京女子医科大学 教授	国際医用物理生体工学会議	ブラジル リオデジャネイロ	8月
佐野雅之	佐賀医科大学 輸血部　講師	接触因子異常症とその臨床に関する集会	アメリカ ベセスダ	9月
櫻井晃洋	信州大学医学部 助手	第68回米国甲状腺学会議	アメリカ シカゴ	9月

氏　名	機関・職名	所属機関名職名	開催地	時　期
津田展宏	計量研究所量子部 精密測定研究室長	第4回ジョイントナノテクノロギーシンポジウム及び国際自動制御会議	イギリス ロンドン	9月
熊野和雄	北里大学医学部 講師	第15回国際腹膜透析学会	アメリカ ボルチモア	平成7年 2月
星野高伸	東京警察病院 外科副医長	第3回国際先端外科手術学会	ドイツ ルクセンブルグ	6月
菅野剛史	浜松医科大学医学部 教授	第11回IFCCヨーロッパ臨床化学会議	フィンランド タンペル	7月
橋本琢磨	金沢大学医学部 教授	第11回IFCCヨーロッパ臨床化学会議	フィンランド タンペル	7月
立花博之	川崎医療短期大学 助手	地中海医用物理生体工学会議	イスラエル エルサレム	9月
堀原一	筑波大学 名誉教授	第10回世界心臓ペーシング・電気生理会議	アルゼンチン ブエノスアイレス	10月
大島哲也	広島大学医学部 助教授	第16回国際高血圧学会 学術集会	イギリス グラスゴー	平成8年 6月
村山泰	電子技術総合研究所 基礎計測部 主任研究官	精密電磁氣計測会議	ドイツ ブラウンシュバイク	6月
西村敏博	大分大学工学部 助手	アメリカ電氣電子工学学会 パワーエレクトロニクス スペシャリスト会議	イタリア バベノ	6月
杉浦清了	東京大学医学部 助手	ゴードンリサーチ会議	アメリカ ニューハンプシャー	7月
井上武海	電子技術総合研究所 光技術部 主任研究官	国際電波化学連合第25回総会	フランス リール	8月
熊谷俊一	神戸大学医学部 教授	第60回アメリカリウマチ学会	アメリカ オーランド	10月
中澤博江	東海大学医学部 教授	第1回国際パーオキシナイトライト会議	スイス アスコナ	平成9年 5月
上塚芳郎	東京女子医科大学 講師	第16回国際血栓止血学会議	イタリア フローレンス	6月
山田俊幸	自治医科大学 講師	第49回米国臨床化学会年会	アメリカ アトランタ	7月
豊田英嗣	川崎医科大学 大学院生	国際医用物理生体工学会議	フランス ニース	9月
秋山修二	電子技術総合研究所 超分子部 主任研究官	第4回神経情報処理国際会議	ニュージーランド ダニーディン	11月

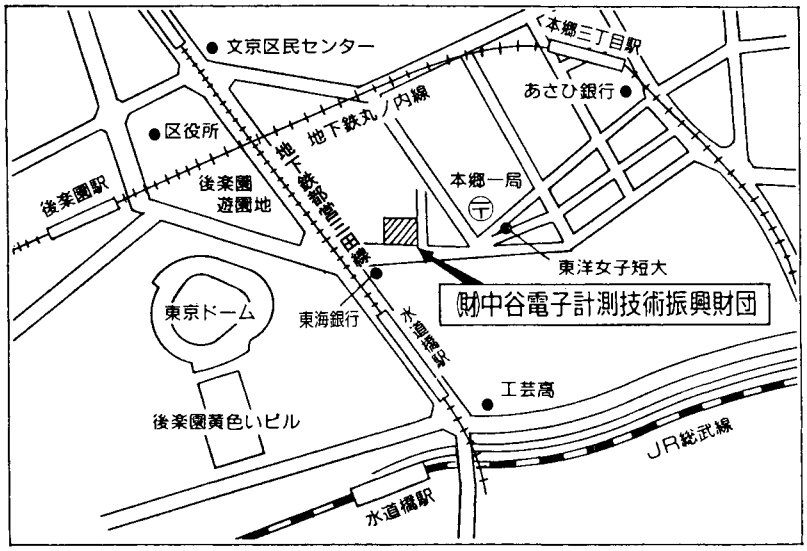
編 集 後 記

大変遅くりましたが、財団法人中谷電子計測技術振興財団の年報vol.13をお届けいたします。内容は従来の年報を踏襲いたしましたが、事務局人事の異動等があり、遅れましたことをお詫びいたします。

さて、本年6月に開催されました理事会において、役員等の異動が承認されました。即ち、木村英一理事、伊藤健一理事、本田親彦監事が退任され、新たに、東京大学医科学研究所付属病院長・教授である浅野茂隆氏が理事に、多摩大学・同大学院教授（公認会計士）である秋山純一氏が監事に、東京医科歯科大学生体材料工学研究所教授である戸川達男氏が評議員にそれぞれ就任されました。また、事務局長を兼ねた理事に栗山榮治が就任いたしましたので、よろしくお願いいたします。

今回退任された木村英一様、伊藤健一様、本田親彦様におかれましては、財団設立以来約15年にわたり、理事、監事として、財団の活動を支えていただき、電子計測技術の振興にご尽力を頂きました。特に、木村先生におかれましては、当財団の創立者でもある故中谷太郎初代理事長のご後任として、13年間という長期間に渡り、理事長という大役をお引き受けいただき、財団の活動を牽引していただきました。伊藤様におかれましては、事務局長として、財団活動の実務を一手にお引き受け下さり、今日の活動形態を確立して下さいました。本田様におかれましては、経理面を中心にご指導をいただきました。皆様方のこれまでのご功績、ご苦労に対し、この場をお借りいたし、心から感謝申し上げますとともに、今後とも、当財団の活動に対しまして、引き続きご指導ご鞭撻を賜りますようお願いする次第であります。

このところ、インターネットは一段と普及し、大学、企業、官庁、団体など多くの組織で導入され、活用されております。当財団におきましては、これまで研究会等、一部の事務連絡に限って電子メールを活用しておりましたが、この度、財団事務局として正式に導入することといたしました。メールアドレスは、「ｎｅｍｔａ@ｊａｄｅ．ｄｔｉ．ｎｅ．ｊｐ」です。今後、事務局に対する連絡用として、ご利用くだされば幸いです。



財団法人 中谷電子計測技術振興財団 年報

13号

平成11年10月20日 発行

発行所 財団法人 中谷電子計測技術振興財団

〒113-0033 東京都文京区本郷一丁目24番1号

本郷MFビル6階

TEL (03) 5689-3933

FAX (03) 5689-3936

編集・発行人 栗 山 榮 治

印刷 (有)盛光印刷