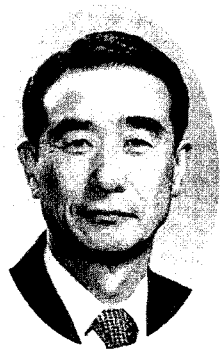
年　報

15　号

目　　次

設立の趣意…… 2
役員・評議員および事業の概要…… 3
木村英一前理事長の逝去を悼む…… 4
梅垣健三先生を偲んで…… 5
平成12年度事業概要…… 6
Ⅰ　技術開発に対する助成事業…… 6
技術開発研究助成金贈呈式の開催状況…… 8
Ⅱ　技術交流に関する支援事業……12
２１生体電子計測研究会からの提言……14
平成10年度（第15回）技術開発助成研究成果報告……18
平成12年度技術交流助成成果報告……65
技術開発に関する研究助成状況……84
技術交流に関する助成状況……95

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始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たしてきました。

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以でもあります。

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(現シスメックス株式会社)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。このような趣旨をご理解の上、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　財団法人冲中記念成人病研究所理事長　東京大学名誉教授
専務理事
家次　恒　シスメックス株式会社代表取締役社長
理　事
浅野茂隆　東京大学医科学研究所附属病院長・教授
輕部征夫　東京大学先端科学技術研究センター教授
菅野剛史　浜松医科大学副学長・附属病院長
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　新光マネジメントサービス株式会社代表取締役会長　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　川崎医療短期大学教授　川崎医科大学名誉教授
戸川達男　東京医科歯科大学生体材料工学研究所教授
雪本賢一　シスメックス株式会社専務取締役
和歌光雄　シスメックス株式会社常務取締役

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。

特定公益増進法人　当財団は平成12年11月に通商産業大臣（現経済産業大臣）より「特定公益増進法人」の認定を受けました。

木村英一前理事長の逝去を悼む

財団法人 中谷電子計測技術振興財団
理事長　三　輪　史　朗

かねてより大阪市立大学医学部附属病院泌尿器科に入院中であった本財団前理事長木村英一先生は、平成１３年１月４日午前５時３７分、８４歳の生涯を終えられました。

先生は大正５年４月７日台湾台北州南投郡南投街に生まれ、開学第一回生として昭和１５年３月台北帝国大学医学部を卒業、同年８月同医学部助手となりましたが、翌昭和１６年１１月より軍医として兵役につき、昭和１８年には広州湾より中国へ上陸、その後中国各地で職務を遂行、海南島方面1,300キロメートルを踏破されるなど、大変なご苦労を重ねられました。昭和２０年８月１５日広東にて終戦、翌年無事日本に帰国されました。昭和２１年７月より福島県で地域医療に携わった後、昭和２５年１月大阪市立医科大学助教授、昭和２８年３月医学博士の学位授与、３２年４月大阪市立大学教授兼医科大学教授、３５年にはその才能を発揮して考案した器械コイルプラネット型遠心器を展示し第八回国際血液学会研究成果展示賞を受賞、その後大学紛争で研究が困難となった時期を経て、４８年大阪市立大学医学部長、５５年同学長となり６１年３月退職、４月より大阪市立大学名誉教授となられました。昭和４９年には大河内記念技術賞を受賞、昭和６３年１１月には勲二等瑞宝章に叙せられました。

本財団との関わりについて述べますと、先生は、本財団設立発起人のお一人で、昭和５９年４月２４日の設立当初から理事にご就任いただき、初代中谷太郎理事長逝去のあとを受けて理事長に選任され、平成９年６月６日迄理事長を勤められ、その後も理事として平成１１年６月９日迄ご活躍され、延べ１４年８ヶ月の長期間にわたり財団発展の為に多大なご尽力、ご貢献をされました。ここに改めて心から感謝の意を表する次第であります。

先生は実に温厚篤実でおおらかなお人柄の人格者でした。役員会等では、議事は粛々と進められましたが、終了後には実に和やかな雰囲気を作られ幅広い話題に花が咲くことも多く、含蓄の深いお話しも伺うことができました。毎年開催される財団助成金の贈呈式では、お人柄がにじみ出た祝辞を述べて受賞者を称えられ、温顔で賞を手渡されたお姿が脳裏に焼きついております。また事務局に対し絶えず温かい心配りをいただいたとお聞きしており、今もなお先生のお姿を懐かしむ声があることは、先生のお人柄を表しているものと考えております。

先生は戦中戦後の激動の時代を、まことに先生らしく生き抜かれました。すばらしい方が、また、お一人旅立たれ、寂しさがこみあげてまいります。

心よりご冥福をお祈りいたします。

梅垣健三先生を偲んで

財団法人 中谷電子計測技術振興財団
専務理事　家　次　　恒

中谷電子計測技術振興財団理事であり、また奈良県立医科大学元学長・名誉教授の梅垣健三先生が、平成１２年１１月１日、幽明境を異にされましたことは誠に痛恨の極みであり、先生のご生前のご遺徳を偲び、心から哀悼の意を表します。

梅垣先生には、シスメックス株式会社（当時　東亜医用電子株式会社）の創業者である中谷太郎が、電子計測技術の発展を通じて社会に貢献することを念願し、財団設立についてご相談申し上げたところ、即座にご賛同いただき、設立発起人としてお力添えを賜り、また、財団理事へのご就任につきましても、快くお引き受けくださいました。以来１６年半の長きにわたり当財団の運営に多大なご尽力をいただきました。ここに改めて深く感謝の意を表したいと存じます。

梅垣先生は、東京慈恵会医科大学をご卒業後、済生会日生病院を経て昭和28年に奈良県立医科大学に移られ、以来、血友病に関する研究に取り組まれ、後世に残る輝かしい業績を挙げられました。また、中央検査部の発足、そして病態検査科担当の教授として、新たな学問体系の確立にも全力を傾注されました。昭和５３年には学長に就任され、混乱していた大学機能の回復に取り組まれ、見事に正常化されるとともにさらなる発展に導かれたと伺っております。退官後も旺盛な意欲を持って病院運営、よりよい医療の実践に取り組まれました。戦後の激動期から、昭和、平成を通じて生涯の大半を医学の発展に捧げてこられたご功績が認められ、平成６年に勲三等旭日中綬章を受章されましたのは、我々に取りましてもこの上ない喜びでございました。

このようにお忙しくご活躍されながらも当財団に対して厚いご支援をお寄せくださったのは、先生が情熱を注がれた血液凝固検査の自動化に電子計測技術の活用が不可欠であったことから、電子計測技術の発展に強い思い入れを抱かれ、当財団の主旨に共鳴してくださったのではなかったかと存じます。毎年開催される財団助成金の贈呈式では先生を囲んで賑やかに談笑の輪が広がり、ご自身の経験をもとに研究者の方々に温かい眼差しで激励の言葉をかけておられました。

その先生が約４年前に体調を崩され、不屈の闘志で大手術を乗り越えながらも、薬石効なく旅立たれましたことは誠に残念でなりません。かけがえのない方を失った痛手に言葉を無くす一方、「綸言汗の如し」をモットーにご自身を律しながら、生涯現役を貫かれた姿勢に深く感銘を受けるとともに生きる勇気を与えられた思いがいたします。

今後は遺された我々が梅垣先生のご遺志を継いで当財団の事業活動を継承し、社会の発展に貢献するべく責務を果たして参る覚悟でございます。

謹んで梅垣先生のご冥福をお祈り申し上げます。

平成12年度事業概要

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よう、昭和59年度から大学及びこれに準ずる研究機関に対して研究助成を実施してきたが、平成11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、実用化のための基礎技術となるもの。

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１３年２月２３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１２年度の研究助成件数は９件、助成金総額は1,800万円であった。

第17回（平成12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）
微小空間内に局在する増強電場を用いる超高密度・高感度蛍光分析	石田　昭人	大阪大学産業科学研究所 機能分子科学研究部門 助手	２００
視線追従により手術者の意図を計測し内視鏡術野を提示するシステムの開発	近江　政雄	金沢工業大学 人間情報システム研究所 教授	２００
超小型表面プラズモン光ファイバ生化学センサの作製	梶川浩太郎	東京工業大学大学院総合理工学研究科　物理情報システム創造専攻　助教授	２００
マイクロマシン技術を応用した術中使用可能な耳小骨可動性測定装置の開発	小池　卓二	東北大学大学院工学研究科 機械電子工学専攻 講師	２００
誘電泳動インピーダンス計測による細菌活性のリアルタイムモニタリング法の開発	末廣　純也	九州大学大学院システム情報科学研究院　電気電子システム工学専攻　助教授	２００
多重内部反射赤外分光による生体分子計測システムの構築	庭野　道夫	東北大学電気通信研究所 物性機能デバイス研究部門 教授	２００
癌の臨床検査を目指した質量分析機による遺伝子多型解析法の開発	日野田裕治	山口大学医学部 臨床検査医学講座 教授	２００
携帯型循環動態連続計測システムの開発研究	山越　憲一	金沢大学工学部 人間・機械工学科 教授	２００
アントラキノン−DNA修飾電極によるDNAセンシング	山名　一成	姫路工業大学工学部 応用化学科 助教授	２００

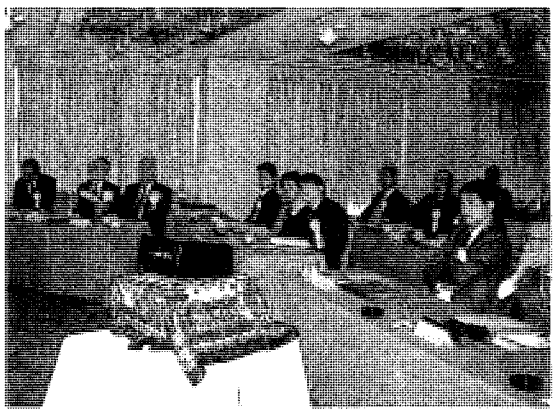
技術開発研究助成金贈呈式の開催状況

ごあいさつする三輪理事長

審査経過を報告する菅野審査委員長

贈呈書の授与・研究計画の発表

受賞者を代表してご挨拶される金沢大学山越教授

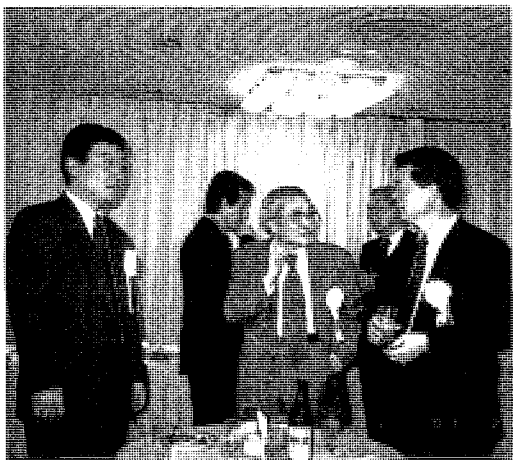


記念懇親会

ごあいさつする家次専務理事

乾杯の音頭をとられる宇都宮理事

ご祝辞をのべられる岩田情報通信機器課長



Ⅱ　技術交流に関する支援事業

1．技術交流助成事業

電子計測技術の促進を図るためには、国際化時代に対応し、先端技術に関する内外研究者相互の国際交流を推進する必要があり、平成12年度は、次の事業を行った。これらの会議等において活発な技術交流活動が行われた。

（1）技術交流（派遣）に関する助成

下表のとおり、電子計測技術分野における海外で開催される国際会議に参加した研究者等4名の技術交流に対して助成を実施した。

研究者・職・氏名	会議名／集会名	開　催　地	開催時期
東京医科歯科大学 大学院研究科　大学院生 ハッサン・モイヌディン	シカゴ2000 国際医用物理生体工学会議	米国 シカゴ	平成12年7月
福井大学工学部 教授　谷口慶治	2000年度 画像処理に関する国際会議	カナダ バンクーバー	平成12年9月
岐阜大学医学部 教授　清島　満	第73回 米国心臓学会	米国 ニューオリンズ	平成12年11月
岡山大学医学部 助手　入部玄太郎	実験生物学会2001	米国 オーランド	平成13年3月 ～4月

（2）技術交流（招聘）に関する助成

下表のとおり、電子計測技術分野における日本で開催された国際会議等に海外から招聘した研究者等15名の技術交流に対して助成を実施した。

被　招　聘　者	会議名／集会名	開　催　地	開催時期
台湾 Walter H. Chang Professor of Department of Biomedical Engineering Dean of Research & Development Office, Chung Yuan Christian University	第39回 日本エム・イー学会 大会特別セッション 「日韓合同セッション」	東京	平成12年5月

被　招　聘　者	会議名／集会名	開　催　地	開催時期
韓国 Sun I. Kim Professor, Biomedical Engineering, College of Mededicine, Hanyang University	第39回 日本エム・イー学会 大会特別セッション 「日韓合同セッション」	東京	平成12年5月
東南アジア各国から１３名（内訳インドネシア２名、韓国５名、フィリッピン２名、シンガポール１名、タイ３名）＊	臨床検査の標準化に関する第２回アジア研究会	神戸	平成12年10月

＊印の詳細は、技術交流助成成果報告の項をご参照下さい。

２．技術交流研究事業

理・工学と医学とに関連する９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い、問題点と今後の方向を探求するための研究会「21生体電子計測研究会」を支援した。平成１２年度は、電子技術総合研究所の守谷哲郎大阪ライフエレクトロニクス研究センター長を主査として、「映像医療センターのめざすもの」「ME連携事業における研究開発目標」「レーザー治療の現状と将来」「粒状計測技術の現状と今後―細胞計測を中心に―」「ティッシュ・エンジニアリングの現状と今後の展開」等をテーマとして討議が行われた。また、これまで４年間にわたる研究会の成果を取りまとめるための報告書原案を作成した。

21生体電子計測研究会メンバー（平成13年３月末現在）

守　谷　哲　郎	電子技術総合研究所大阪ライフエレクトロニクス研究センター長
伊　関　　洋	東京女子医科大学脳神経センター　脳神経外科　専任講師
岡　田　英　史	慶応義塾大学理工学部電子工学科　助教授
木　村　　聡	昭和大学医学部臨床病理学教室　専任講師
黒　田　　輝	東海大学総合科学技術研究所　専任講師 先端医療振興財団映像医療研究部　副部長
佐久間　一　郎	東京大学大学院新領域創成科学研究科環境学専攻 工学部システム創成学科生体・情報システムコース　助教授
高　島　一　郎	電子技術総合研究所超分子部　主任研究官
田　村　光　司	東京女子医科大学学長室医学教育情報室 附属日本心臓血圧研究所循環器内科　助手
中　井　敏　晴	電子技術総合研究所大阪ライフエレクトロニクス研究センター 医用ビジョンラボ　主任研究官

「21生体電子計測研究会」からの提言

守　谷　哲　郎

電子技術総合研究所

大阪ライフエレクトロニクス研究センター

1．生体電子計測技術の置かれた状況

本文においては、いくつかの具体的トピックスに関する動向および提言がなされているので、個々に議論を繰り返すことは避けることとし、本研究会の主旨である２１世紀の展開に向けた生体電子計測技術の大きな流れに基づいた提言を行って、締めくくりとしたい。

現在、我が国全体としても、科学技術の展開に大きな見直しがなされようとしている。世界的な技術競争という観点からは、一部の生産技術を除いて産業規模は欧米並を保っているものの、未来への展開力では創造性、競争性の点で欧米の後塵を拝するケースが増えてきている。個別の技術をとると決して遅れてはいない分野でも、システム化、実用化といったビジネスに近い部分での優位性が欠落してきているのが大変気になる。

生体電子計測技術は、医療機器分野の基盤として今後国を挙げて力を入れていくべき重要研究開発課題である。２１世紀の２大潮流であるバイオテクノロジーや情報技術の最も重要な応用分野の１つでもあり、広義の医療機器産業は、到来しつつある超高齢化社会において、健康増進・管理から診断、治療、健康回復に至るまで幅広く個人の健康をサポートするインフラ産業として、新たな市場や雇用を創出し得る成長分野である。また、多様なニーズに対応した他品種少量生産型の医療機器産業の本質は、画一的な大量生産から脱却した２１世紀型の産業のあり方を先取りするとともに、人々の医療に対する需要の多様化にも対応するものである。

我が国の医療機器産業は、着実に成長を続け、今や工作機械産業や半導体素子産業に匹敵する生産規模となっている（1998年1兆5,214億円）。また、輸出入についても共に規模が大きく、全体として見ればグローバル化が進んだ産業であるといえる（輸出3,273億円、輸入8,345億円）。医療機器の国際的な市場を見てみると、先進国でほぼ80%を占めているが、今後、成長率が高いのは発展途上国、特にアジア市場であり、近年毎年10%以上の成長を続けている。こういった医療機器市場の国際化に伴い、欧米においては、国境を越えて医療機器関連企業の合従連衡が進んでいる。国際市場での熾烈な競争に生き残るためには、製品開発サイクルを短くし、次々と新技術の商品化を進める事が不可欠である。

「日本は、診断機器は強いが治療機器は弱い」といった一律の評価がなされてきたが、国際競争にさらされる中、高齢化社会での難病克服等に向けて、より診断と治療が密着した先進医療開発型の研究体制を国家レベルで確立し、古い産業体質の限界を打破する必要がある。

我が国には、依然として独自の高感度センサー技術やマイクロエレクトロニクスの利用に優れた計測技術系の企業を数多く擁しており、微細加工技術などのとの組み合わせで、小型・携帯化、非侵襲化などにさらなる発展が期待される（図１）。

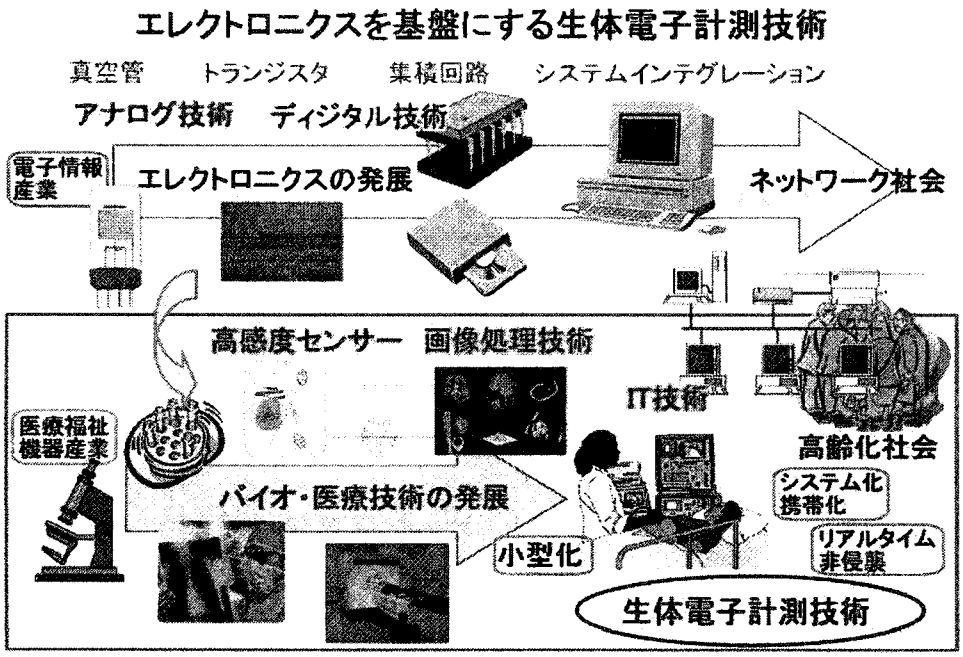


図１　生体電子計測技術の展開

２．組織的な医工学連携システムの育成

医療機器分野においては、ニーズに即した技術開発が必須であり、臨床に通じている医師と工学技術者との協調的な連携関係の構築は欠かせない。しかし、我が国における医師と工学技術者との連携は、これまでどちらかというと個人的関係に基づくものが多く、組織的な連携システムは構築されてこなかった。しかし、少なくとも本研究会の活動は、相当早い時期からこの事に気づいた研究者が自発的に集まるという、連携の必要性に対する自覚がベースになっていた。

近年では、医療機器の開発と臨床現場をリンクさせるという観点から、大学医学部／病院等の医学研究者が工学系の大学学部・国公立研究機関／民間医療機器メーカ等との共同研究の場を設置する試みが始まっており、予算的支援も得られるようになってきているが[1]、全国規模で見るとまだまだ十分とは言い難い。第５章において、当研究会のメンバーが関与するものを中心にいくつか実例を示してあるので読者の参考になれば幸いである。さらに、医療機器分野において画期的な技術革新を生み出すためには、狭い意味での医用工学のみならず、情報技術、数学、物理学、分子生物学、材料科学等の幅広い分野の工学技術の融合が不

可欠であり、これらのメカニズムを促進する研究会などの場の広がりがますます重要となろう。

また、我が国においては病院において工学系医療技術者の職域が十分に確立しておらず、専門的知識を持つ高度なクリニカルエンジニアが、医療機器の安全管理、保守等に責任を持ち、さらに病院経営の戦略の一環として医療機器の調達全般を統括するなどの立場にある米国社会に学ぶべき点は多い。今後は、医療現場の制度を改革していくと同時に、医学の専門的知識を有する工学系研究者や工学的知識を有する医学研究者を育成する教育制度の充実も不可欠である。

3．今後の展望と戦略

医療機器産業の２１世紀における技術トレンドを展望すると、以下の４つの技術シーズと医学の融合による技術革新が、新たな付加価値と市場を生むであろう事は容易に想像出来る。

①情報技術（IT）

②システム化技術

③バイオテクノロジー

④マイクロマシン・マイクロエレクトロニクス技術

言うまでもなく、在宅健康管理レベルからセキュリティー・プライバシーの確保を含めた病院内の高度な情報管理に至るまで、革新的な情報技術は医療の高付加価値化・効率化、安全の確保に大きく寄与する。本報告の中でも２．３で最近の取り組みを取り上げている。また、画像処理技術が診断技術にもたらした革新を１．１から１．４までで詳述した。

今後の医療機器は、単体機器だけでなく、治療機器と情報システムの統合、治療機器と医薬の統合、診断機器と治療機器の統合というようなシステムの統合化、統合化に基づくより高度で効率的な医療の実現が望まれる。本報告書でもリアルタイム処理、可視化といった観点から２．１、２．２において論じられている。

バイオテクノロジーは、２１世紀の科学技術の大きな潮流の１つであるが、医療機器は、人の生命・健康を扱うという特性から、バイオテクノロジーとの融合化は必然である。診断から治療・生体機能代替に至るまで、遺伝子工学、組織工学等の最先端技術の応用が、新たな展開をもたらすのは間違いない。臨床検査の章でまとめた４．１から４．３までで取り上げた技術は、まさにこういった科学の応用の場として今後ますますは発展するものと考える。また、低侵襲化の章で取り上げた３．５の内容は、広い意味での遺伝子操作と細胞培養技術に立脚した再生医学の展望を論じたものであり、昨今の医学分野で最もホットな話題である。

我が国の強みであるマイクロマシンとマイクロエレクトロニクス技術の応用により、医療機器のミクロ化、精緻化が進展し、医療機器の既成概念を変える可能性が出てきている。特に、高度な計測手段を利用した低侵襲診断・治療の進展はめざましいものがある。本報告でも、低侵襲化の章の３．１から３．４までの話題で、この流れに乗っているいくつかの例を

議論した。

このように、医療機器分野およびそれを支える生体電子計測技術そのものについては、技術の動向を十分把握して重点化を行う事が出来れば、我が国独自の発展の道を見いだすことは可能であると考える。ただし、社会システムとしての医療を考えるとき、人材の流動性の低さ、ベンチャー企業が育ちにくい環境、質の高い臨床試験実施体制の不備、薬事・保険制度の問題など、取り巻く現状は我が国に有利とは決して言い難い。生産性という観点から分析しても、米国を100とした場合、我が国の医療は93でありよく頑張っているとは言え、自動車の145のような輸出型産業として世界に通用するレベルを考えると、まだ大きな格差があると言わねばならない。産学官の知恵を集積して、マイナス要因を１つ１つ取り除いていく努力を今から開始することが肝要であろう。

今後の医療へのもう１つの社会的課題として、先進的技術を利用するだけにとどまらず、患者のQOL（Quality of Life）を高めるという、技術の競争原理だけでは対応できない問題がある。予防、個別対応（テーラーメイド）の医療、予後・回復、低侵襲・非侵襲化治療といった様々な場面で、通常の生活に近い中で高度でかつ安全な医療を受けるという新たなニーズに答えなければならない。国際的な視点も含めて、これから関連研究者の総力を挙げて検討していく必要があろう。

最後に、患者の心理的安心感、人間指向の考え、医療システムの安全性などの倫理的要素に言及しよう。倫理問題については本研究会の範疇を越えるものではあるが、今後医療技術が極限まで発展すると、何がやって良く何がやって悪いかを的確に判断するアセスメントを抜きにして、技術開発を技術者あるいは医師の興味だけに任すのでは大きな開発リスクを負うことになる。様々な事前のアセスメントを医療システムの設計プロセスの中に取り入れるべきであろう。研究開発に関する効率の軸だけでなく、倫理の軸を取り入れることにより、結局は安全性確保などの点で無計画に技術開発を進めるより効率が良い選択となるはずである。

参考文献

１） 神戸市先端医療センター：http://www.sentan-iryo.or.jp/

注：この「提言」は平成９年から約４年間にわたり開催された「２１生体電子計測研究会」の活動を取りまとめた「２１生体電子計測研究会報告書」から「提言」部分を抜粋し、「２１生体電子計測研究会からの提言」として掲載したものである。

平成10年度（第15回）
技術開発助成研究成果報告

1．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……19
2．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動態の高速3次元画像解析 ……25
3．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……28
4．遺伝子結合性タンパク計測のためのバイオセンサーの研究・開発……35
5．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……39
6．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……44
7．携帯型酸素解離曲線自動解析装置の開発 ……48
8．電気的細胞接着度測定法を用いた癌細胞浸潤度に関する定量的検討……52
9．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—……56
10．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……60

顔写真は研究責任者です。

マイクロチャ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

研究責任者　慶応義塾大学理工学部物理情報工学科　　教授　南　谷　晴　之

1．はじめに

血液を循環させる血管系のうち、顕微鏡レベルの血液循環系は微小循環と呼ばれ、細動脈や細静脈などで構成され、その最小単位が毛細血管である。この循環系を流動し酸素代謝を担うのが赤血球であるが、赤血球の直径は約8μmであり、変形しないと毛細血管を通過しえない関係にある。赤血球の変形・凝集能は毛細血管レベルの血流動態を左右する重要な因子であり、組織への酸素放出に大きな影響を与えるとともに血管傷害にも深く関わる。一方、血小板は直径数μmの小さな血球細胞であり、止血作用を主な役割として偽足の形成、血管損傷部位への粘着・凝集、作用物質の放出、凝固亢進、血栓形成などに関与している。

本研究では、赤血球と血小板が微小血管内で示す挙動を直視し、その動態を解明するためにマイクロチャネル微小血管モデルと血流動態可視化用の画像解析システムを構築した。構築したシステムを用いて、血球細胞が低ずり応力下でどのような変形、凝集、粘着、等を行うか、細胞を覆う膜タンパクや膜脂質層の組成と変性によってそれらの力学・化学作用がいかに変化するか、また血中化学成分と血小板血栓形成過程の関係など、赤血球及び血小板の生理機能と血流動態に与える諸因子の関係を明らかにした。本報告では、赤血球と血小板の変形・凝集特性の解析結果について、また病態として糖尿病を対象に健常コントロール群との対照実験結果について述べる。なお、in vivo系ではラットの微小循環を対象に、in vitro系ではヒトおよびラット採取血を本研究で新規に開発したマイクロチャネル微小血管モデルに流動させた状態で行った。

2．マイクロチャネル微小血管モデルのマイクロマシーニング

半導体微細加工技術を利用して、微小で精巧なアクチュエータやセンサを作製する試みは、マイクロマシンあるいはマイクロメカニクスとして広く知られている。従来までに、シリコン基板にプラズマエッチング法で小孔を開けてミリポアフィルタ状にしたものや多数の溝状のマイクロチャネルを成形したものなどが開発され[1)~3)]、これに血液を流し、赤血球の流動変形能を測定している例がみられる。しかし、シリコン基板のものでは、流路を流れる血球細胞の可視化は不可能で赤血球自体の変形状態を解析することができず、流路の流入出端の圧力差、流出量と流出時間を測定してサンプル全体のレオロジカルな特性を議論しているに過ぎなかった。

本研究では、今まで困難であったクリスタルガラス基板表面にドライエッチング加工を施し、幅4～20μm、深さ5～10μm、長さ50～200μm、チャネル数が20～50本のマイクロチャネル微小血管モデルを成形した。ドライエッチングは深さ方向のみの異方性エッチングが可能、平面的にはパターンの寸法通りの微細加工が可能で、また種々のデザインのものをリソグラフィーにより加工できる。図1は、クリスタルガラス基板上に成形された直線状マイクロチャネル微小血管モデルである。このガラス基板マイクロチャネルをカバーグラスで覆い、アクリル・アルミ筐体ホルダー内に設置・密閉し、接続したシリコンチューブを介して、遠沈分離した赤血球浮遊液を静水圧（10～30 cmH_2O）をかけてチャネル内に流動させる。赤血球浮遊液は、このチャネルを図2のように流れるが、チャネル幅が狭いので赤血球は変形して流路を通過する。静水圧の増加にともないチャネル内の流速は増加する。このホルダーを顕微鏡鏡筒下に置き、適切倍率で個々の細胞を観測するとともに以下の撮像系にてイメージングを行うことができる。従来、血球細胞の変形能や透過性

を測定する装置には膜フィルタやガラスピペット法があるが、再使用が不可能であること、一方、シリコン・マイクロマシン・フローチャネルではチャネル中の細胞の挙動が可視化できないなどの問題点があった。いずれの場合も血球の通過孔とその周辺で細胞がトラップされる（詰まる）可能性が高く、正確な特性を測定できない場合がある。本システムではそのような問題点が皆無であることが最大の特長である。

3．血球細胞の動態解析用撮像システム及び画像処理システムの構築

細動脈、細静脈内の血流状態やマイクロチャネル微小血管モデル内の血球細胞の挙動を可視化する撮像システムとその取得画像から流速や形態変化を解析する画像処

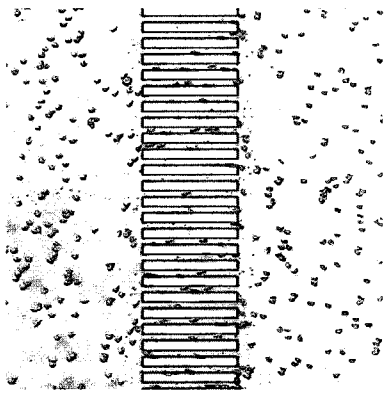


図１ マイクロチャネル微小血管モデル

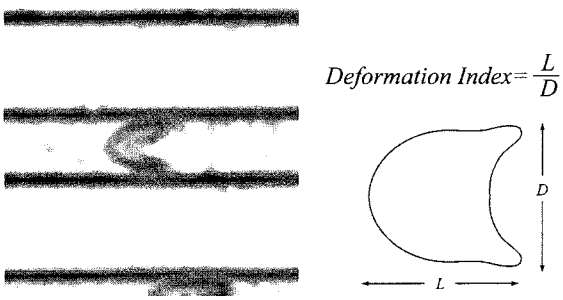


図２ チャネル内を流れる赤血球及び変形指数の定義

理システムの構築を行った。赤血球など血球細胞をミクロレベルで可視化するためには、200～500倍（対物レンズ40～100倍）程度の高倍率での観察が必要である。しかし、高倍率の顕微鏡視野内では、標準ビデオレートの30フレーム／秒の撮像では血球単体の動きが確認できない。そこで高感度・高速度ビデオシステムを用いて、個々の血球細胞を識別できる1000フレーム／秒で撮像した。取得画像は512x512画素のイメージサイズでフレーム毎に2000フレームまで画像メモリに記憶される。録画画像を1/33の低速で再生し、標準ビデオレートのＶＴＲに再録画した。これは、高速度ビデオの１フレーム（1/1000秒）が標準ビデオの１フレーム(1/30秒)に対応することになる。したがって、赤血球などの有形成分による血液の濃淡パターンが明瞭に撮像でき、局所的な血流速度を算出することが可能となった。本システムの特徴は、測定の自動化であり、各フレーム画像の前処理、対象となる血球細胞の移動量の算出、ビデオ画像のフレーム送りなどの一連の作業を自動的に行えるようにしてある。従来、オフラインで多大な解析時間を必要としていたものが、1/10以下の処理時間で終えることが可能となった。解析用コンピュータに512x512画素、256階調に量子化した連続フレーム画像を２枚取り込み、ノイズ処理、平滑化などの前処理によって画像鮮明化を行い、つぎの演算処理を行った。図2に示すようなパラシュート状に変形しながら流動する赤血球に対して、移動速度の算出には独自に開発した画像相関法を適用した。すなわち、2枚の画像濃淡パターンの2次元相互相関関数を算出し、相関値最大の移動部位を求め、対象物体の移動量を算出するものである。この移動量を2枚の画像のフレーム間隔（時間）で除すれば、移動速度が求まる。また、細胞の変形状態についてはフレーム毎に各々定義した幾何学量に基づき変形能を算出する。赤血球細胞については、パラシュート状に変形した細胞の変形指数（Deformation Index: DI）を求め、赤血球変形能を定量化した。

4．赤血球の変形能と局所弾性特性の測定

糖尿病と高脂血症を対象にヒト及びラットの赤血球変形能の低下因子を力学的特性、生化学的特性から分析するとともに数種の薬理効果を健常例をControl群として比較検討した。本報告では紙面の都合上、糖尿病に関する結果のみを示す。図3は、ヒト健常群と糖尿病群の赤血球の変形指数と流速の関係を示したものである。糖尿病（DM）群の血糖値は、242.2±43.8 mg/dl、Control群の血糖値は140.6±21.3 mg/dlである。両者とも低ずり速度(低流速）では急激に変形能が増加する傾向がみられ、中ずり速度ではさらに変形能が増加するが、変形の度合は少なくなり、高ずり速度では変形特性の飽和傾向がみられた。糖尿病赤血球は健常例に比べて変形能が小さく、中ずり速度から変形飽和特性を示し、とくに高ずり速度では大幅に低下している。細胞膜の弾性変化から変形しにくくなっているものと考えられる。血色素と血中のブドウ糖が結合したglycosylated hemoglobin（HbA1c）は、約120日の赤血球寿命内の平均的な血糖値を反映する１つの重要な指標（正常値は6%以下）であり、糖尿病においては健常者に比べてHbA1cの増加が認められる。図4は

流速2.5 mm/s以上の赤血球変形能とHbA1cの関係を示したものであり、糖尿病群であるHbA1c が6.4%以上の変形能は有意に低下する傾向が認められた。また、図5は同様に糖尿病患者の赤血球内ソルビトール濃度と変形能の関係およびHbA1cと変形能の関係を示したものであり、両者ともその濃度の増加にともなって変形能が低下している。糖尿病赤血球変形能に対する薬理効果を調べた結果、糖尿病群にアルドース還元酵素阻害剤（ARI）を投与すると変形能は上昇し、健常値に近づく。これは、ARIが赤血球内へのソルビトール蓄積を抑制することによるものであり、逆に変形能低下が赤血球膜の硬化のみならず赤血球内の代謝変化によっておこることを示唆している。

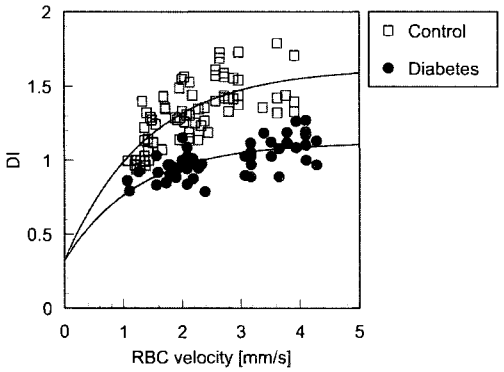


図 3 糖尿病群の赤血球変形指数と流速の関係

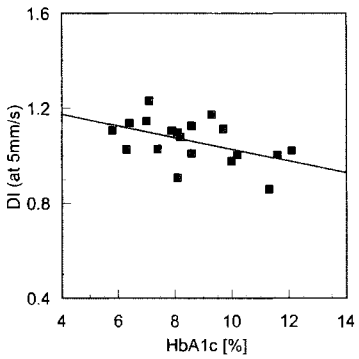


図 4 流速2.5mm/s以上の赤血球変形能とHbA1cの関係

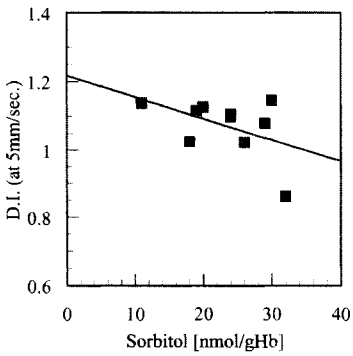


図 5 糖尿病群の赤血球変形能とソルビトール値の関係

これらの結果を踏まえて原子間力顕微鏡を用いて赤血球のミクロな弾性特性を解析した。原子間力顕微鏡は、カンチレバーの先端に付けた微小プローブ（探針）が対象表面の原子、分子に近接してこの間（1 nm程度）に働くファンデルワールス力によるカンチレバーの撓みから表面性状を観測する装置である[4]。本研究では、生物用にカンチレバーのバネ定数を柔らくし、溶液中に浸しても使用できるプローブを導入した。ヒトまたはラットの採取血から分離した赤血球をプラスチックディッシュ（dish）に入れ、PBS緩衝液中に静置して生理状態に保った。その細胞表面にプローブを近接させ、さらに法線方向に押し込むことにより、カンチレバーの撓みから求まる細胞膜の反力とプローブの変位量から、いわゆるフォースカーブが得られる。本システムの変位検出分解能は0.1 nm、フォース検出分解能は0.8 pNである。図6は赤血球のミクロ弾性を表すフォースカーブを示したものである。図には、dish底面の硬さを表したもの、健常赤血球（Control）、健常赤血球をグルタールアルデヒドで硬化させたもの（GA）および糖尿病赤血球（DM）のフォースカーブを示した。フォースカーブの傾きが急峻であるほど対象が硬いことを表す。これらのフォースカーブからHookeの法則およびHertzモデルを用いて算出した赤血球中心部のバネ定数とヤング率をまとめたのが図７である。GA硬化赤血球は正常赤血球に比べて明らかに硬くなっており、バネ定数、ヤング率とも高値を示す。また、糖尿病赤血球の弾性も正常Control群に比べて有意に高値を示した。糖尿病においては赤血球の細胞膜の糖化変性により膜弾性の低下が起こり、また浸透圧抵抗性を示して細胞内粘度が上昇するとともに流動性が低下し、その結果、赤血球そのものが変形しにくく硬くなり、変形能が低下するものと考えられる。

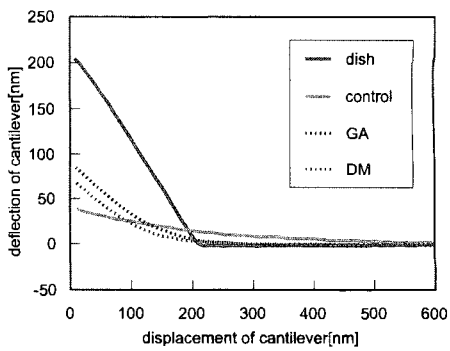


図 6 原子間力顕微鏡から得られるフォースカーブ

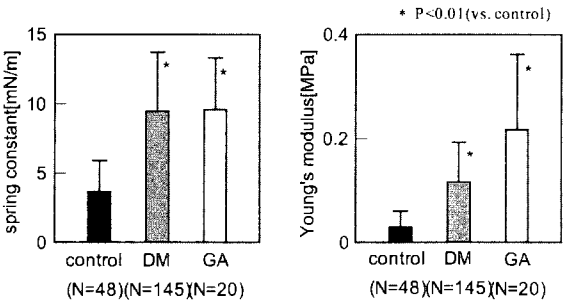


図7 赤血球中心部のバネ定数とヤング率による弾性評価

以上のように、糖尿病では健常群に比べて赤血球変形能が血流ずり速度の増加とともに有意に低下するが、それは血中の糖濃度に関連するHbA1cおよび赤血球内ソルビトールの増加と相関している。また、原子間力顕微鏡で測定された赤血球のミクロ弾性の結果からも細胞膜の糖化変性によるヤング率の増加すなわち硬くなることが確認された。このため、硬く変形しにくくなった赤血球が血管壁の損傷を促進する可能性が大である。

5．血小板の凝集・粘着能の測定と血栓形成の薬理的制御

赤血球変形能の低下と弾性変化（硬化）は、微小血管内で高ずり応力を発生させ、血管壁の損傷を誘発する可能性が高く、それにともない血小板の粘着・凝集の促進と血小板血栓・血管閉塞への発展が考えられる。とくに糖尿病においては、微小循環レベルの細小血管症（microangiopathy）の発生頻度が高く、その軽減は臨床上の大きな課題である。

本研究では、血小板の凝集、粘着、血栓形成が健常Control群に比べて糖尿病群で容易に起こることを糖尿病ラットのin vivo実験によって明らかにした。実験では光感受性物質とレーザ光の光化学反応で発生する活性酸素による急性の血栓形成法を導入し[5)6)]、各種ずり速度下における血小板の変形流動、血管内皮損傷部位への粘着・凝集、血栓形成のプロセスを可視化し、その程度を数値的に評価した。また、血小板血栓に関わる活性酸素種の影響と血栓抑制に関わる薬理効果を検証した。光感受性物質のポルフィリン誘導体ZnCPⅢまたはホトフィリンをWistar系雄性ラットの尾静脈より投与し、対物レンズを通して励起光を対象組織の微小血管（腸間膜の細動脈と細静脈）に照射した。励起光源にはZnCPⅢ用にQ-switched Nd:YAG-SHパルスレーザー(532nm)を、ホトフィリン用に水銀ランプG励起連続光(540nm)を用いた。照射部位の血流動態をビデオカメラで撮像し、血小板粘着・血栓形成による血管閉塞部の面積、血管径の経時変化、血管閉塞時間などを画像解析から求めた。

図8は血小板粘着に始まり、血栓成長、血管閉塞に至る過程をラット腸間膜の微小血管で観測したものである。励起光の照射開始時間を起点にして血小板粘着開始時間(Ti)、血栓成長時間(To-Ti)、血管閉塞時間(To)を血栓形成の一次評価指標とした。Tiは血管内皮傷害と血小板粘着能の活性化を反映する指標、To-Tiは血小板粘着と血小板凝集能および凝固系の活性化を反映する指標、Toは血小板凝集により血栓が進行し血管が完全に閉塞するまでの指標を表す。図9は励起光強度に対するそれぞれの指標の関係を示したものである。健常Control群では、光照射開始より30秒～4分(Ti)で血小板粘着が始まり、血栓成長時間(To-Ti)として1～15分の経過がみられ、2～20分で完全に血管閉塞に至る。照射エネルギーを高めると各指標の時間は同様に短くなることがわかる。血流速度と血小板粘着および血管閉塞時間の関係には正の相関がみられる、すなわち、微小血管内の壁ずり速度が大きくなると血小板の粘着は容易でなく、血小板凝集から血栓形

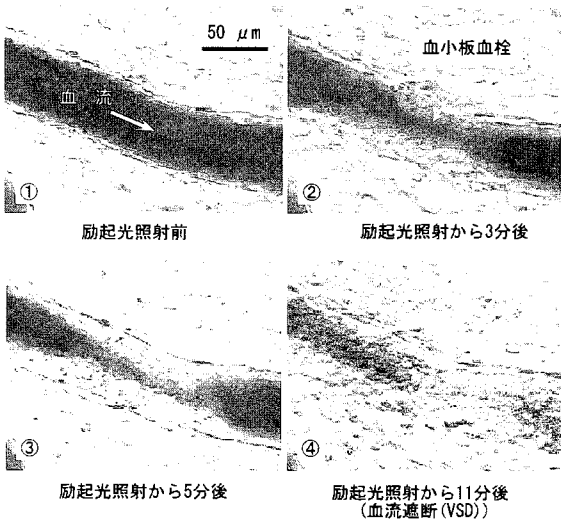


図8 光化学反応による微小血管内の血小板血栓

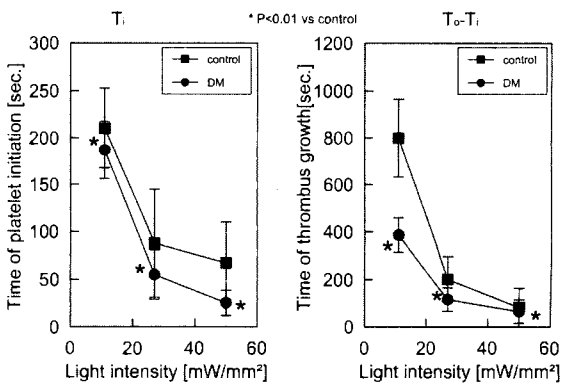


図9 糖尿病による血小板血栓への影響

成に至る時間が延長する。静脈系の血管に比べ、動脈系の血管ではずり速度が速いために血栓開始・成長時間ならびに血管閉塞時間ともに有意に延長する結果が得られた。光感受性物質の投与濃度を増加すると明らかに濃度依存的にいずれの指標も有意に時間の短縮が認められた。光感受性物質の投与と光照射を行わない群、光感受性物質投与のみの毒性検討群、光照射のみによる光エネルギー検討群では、血小板粘着・凝集、血栓成長、血管閉塞はほとんど見られず、光感受性物質の毒性も問題にならなかった。一方、糖尿病群では、図9に示したように血小板粘着開始時間は光照射から20秒～2分、血栓成長時間は1～7分、血管閉塞時間は1分30秒～9分であり、血栓形成が健常Control群に比べて著しく速く起こることがわかる。光感受性物質の濃度、照射光エネルギー、血流速度とも健常Control群と同等であることから、血小板粘着・凝集が速く、血栓成長が急激で、血管閉塞が早期に起こることは糖尿病による易血栓性を示したものとして注目される。光化学反応で産生される活性酸素による血管内皮傷害とともに血小板膜破壊・脱顆粒・作用物質の放出が促進され、これに続いてカスケード的に血小板粘着能の亢進、凝固系の促進、血栓成長、血管閉塞へ至る活性化メカニズムが働いており、とくに糖尿病微小循環では血流遮断が早期に起こるものと考えられる。

発生する活性酸素は主に$^1O_2$（一重項酸素）であるが、この一重項酸素は反応性が高いことから、血中で白血球などと反応して他の活性酸素を生成している。他の活性酸素種は、O_2^-、H_2O_2、OHなどである。これらの活性酸素が血栓形成・血管閉塞に与える影響をそれぞれの活性酸素消去剤（スカベンジャー）を用いて検討した。スカベンジャーとして$^1O_2$に対してL-ヒスチジン50 mg/kgを、O_2^-に対してSOD（スーパーオキシドジスムターゼ）3mg/kgを、H_2O_2に対してカタラーゼ3 mg/kgを、OHに対してDMSO（ジメチルスホキシド）1 ml/kgを別々に投与した。いずれの場合も血小板粘着開始時間(Ti)、血栓成長時間(To-Ti)、血管閉塞時間(To)を求め、スカベンジャー非適用群と比較検討した結果、各スカベンジャーの投与によって細動脈、細静脈とも血小板粘着・血栓形成の開始と成長そして血管閉塞時間が有意に延長し、4種の活性酸素すべてが血流遮断に影響を与えることが明らかになった。また、活性酸素の血栓形成への関与の度合いは、$^1O_2 \geqq O_2^- \geqq H_2O_2 = OH$であることがわかった。$^1O_2$および$O_2^-$は血管内皮細胞に傷害を与えて血小板粘着能を上昇させ、血小板血栓の成長を促しているものと考えられ、H_2O_2およびOHは血管内皮細胞と血小板の両者に作用し、血小板の粘着・凝集と血栓成長に関与しているものと考えられる。

6．まとめ

本研究では、血液細胞の赤血球と血小板の機能解析に焦点をあて、細胞の変形・凝集能を画像解析するためにマイクロマシーニングによるマイクロチャネル微小血管モデルと血球細胞の変形・凝集能の画像解析システムの構築を行った。あわせて原子間力顕微鏡を用いた赤血球のミクロ弾性測定と光化学反応で誘起される血小板血栓形成過程の画像解析を行った。構築したシステムを用いて、血球細胞が低ずり応力下でどのような変形、凝集、粘着、等を行い、微小循環レベルの血流動態にどのような影響を与えるか、細胞を覆う膜タンパクや膜脂質層の組成と変性によってそれらの力学・化学作用がいかに変化するか、とくに糖尿病疾患において血中化学成分や細胞膜の局所粘弾性とこれらの関係や血管内皮傷害と血小板血栓形成過程の解析など、赤血球及び血小板の生理機能と血流動態に与える諸因子の関係を定量的に明らかにした。

本報告では、糖尿病と健常例の比較検討を主体にして研究成果を述べたが、紙面の都合上、マイクロチャネルへの内皮細胞培養モデル、血液性状や血球構造物質の生化学的分析結果、赤血球の酸素・物質代謝の定量解析結果、糖尿病における易血栓性の諸因子の分析と薬理制御の結果などについては言及できなかった。今後の研究成果の蓄積をもって新たに報告する機会を持ちたい。

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) Kikuchi,Y., Da,Q. and Fujino,T.: Variation in red blood cell feformability and possible consequences for oxygen transport to tissue, Microvasc. Res., 47, 222-231, 1994
2) Tracey,M.C., Greenaway,R.S., Das,A., Kaye,P.H. and Barnes,A.J.: A silicon micromachined device for use in blood cell deformability studies, IEEE Trans. Bimed. Eng., 42(8), 751-761, 1995
3) Sutton,N., Tracey,M.C., Johnston,I.D., Greenaway,R.S. and Rampling,M.W.: A novel instrument for studying the flow behavior of erythrocytes through microchannels simulating human blood capillaries, Microvasc. Res., 53, 272-281, 1997
4) Start,R.W., Thalhammer,S., Wienberg,J. and Heckl,W.M.: The AFM as a tool for chromosomal dissection in the influence of physical parameters, Appl. Phys. A, 66, 579-584, 1998

5) Malcolm,W., Reed,R., Frederick,N., Miller,T., Wieman,T.J., Tseng,M.T. and Pietsch,C.G.: The effect of photodynamic therapy on the micro circulation, J. Surg. Res., 45, 452-459, 1988
6) Fingar,V.H., Wieman,T.J., Wiehle,S.A. and Cerrito,P.B.: The role of microvascular damage in photodynamic therapy: The effect of treatment on vessel constriction, permeability and leukocyte adhesion, Cancer Res., 52, 4914-4921, 1992

発表論文

1) 長尾朋和、飯野徹、斉藤聡、山本剛、南谷晴之：Q-switched Nd:YAG laser光励起時における光感受性物質由来の活性酸素測定、電気学会論文誌A, 119A(3), 261-266, 1999
2) Nagai, T., Sekizuka, E., Oshio, C., Tsukada, K. and Minamitani, H. :Shape analysis of red blood cell deformability with micro-channel capillary model, Microcirculation Annual, 15, 43-44, 1999
3) Shimizu, T., Sekizuka, E., Nagai, T., Oshio, C., Ishikawa, M. and Minamitani, H.: Thrombus formation in microcirculation of diabetes mellitus, Microcirculation Annual, 15, 69-70, 1999
4) 南谷晴之、関塚永一、大塩力：微小血管内のオプティカルフローと血流速度分布、可視化情報、19(1), 157-160,1999
5) 南谷晴之、関塚永一、川村友美、長井隆裕、大塩力、谷下一夫：原子間力顕微鏡による糖尿病赤血球の弾性測定、第42回日本糖尿病学会年次学術集会、42(suppl), S139-1G-19,1999
6) 関塚永一、長井隆裕、清水智哉、川村友美、南谷晴之、大塩力：糖尿病におけるアルドース還元酵素阻害剤の赤血球変形能に対する効果、第42回日本糖尿病学会年次学術集会、42(suppl), S307-3Q-05, 1999
7) Kawamura, T., Minamitani, H., Sekizuka, E. and Oshio, C.: Erythrocyte elastic properties measured by atomic force microscope, Microcirculation Annual, 15, 155-156, 1999
8) Minamitani,H., Kawamura,T., Sekizuka,E. and Oshio,C.: Deformability and viscoelasticity of diabetic erythrocytes measured by microchannel flow system and atomic force microscope, Proceedings of 1st Joint BMES/EMBS IEEE Conference, 72, 1999
9) Imazeki, Y., Saito, A., Nago, T. and Minamitani, H.: Vascular shutdown effect in photodynamic therapy - Influence of blood flow velocity on the platelet thrombus formation, Proceedings of 8th Congress, European Society of Photobiology, 50, 1999
10) 塚田孝祐、南谷晴之、関塚永一、大塩力：酸素感受性りん光プローブを用いた微小循環系血管の血中酸素分圧計測、電気学会化学センサー研究会資料、CS-99-34, 34-38, 1999
11) Minamitani, H., Kawamura, T., Tsukada, K., Sekizuka, E. and Oshio, C. :Analysis of elasticity and deformability of erythrocytes using mcirochannel flow system and atomic force microscope, Proceedings of 1st Ann.Int.IEEE-EMBS Special Topic Conf. Microtechnologies in Medicine & Biology, 68-71, 2000
12) Imazeki, Y., Nagao, T., Saito, A., Kikuchi, K., Sekizuka, E., Oshio, C. and Minamitani, H.:Vascular shut down effect in photodynamic therapy - Mechanism of platelet thrombus formation by photoreaction -, Microcirculation Annual, 16, 69-70, 2000
13) Tsukada, K., Hase, K., Sekizuka, E., Oshio, C. and Minamitani, H.: Simultaneous measurement of blood flow distribution and oxygen tension by photo-excitation in organ microcirculation, Proceedings of 1st Ann.Int.IEEE-EMBS Special Topic Conf. Microtechnologies in Medicine & Biology, 84-87, 2000

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動態の高速3次元画像解析

研究責任者　東海大学医学部生理科学　講　師　石　田　英　之

はじめに

従来の光学顕微鏡は、深さ方向に分解能がないため、観測点を３次元的に限定することはできない。1987年に３次元の空間分解能をもつ生物用共焦点レーザー走査蛍光顕微鏡が紹介され、組織および細胞内での部位の３次元構造や作用部位の限定に大きく貢献している。しかし、従来のミラーでレーザー光を走査するガルバノ式共焦点顕微鏡では、１画面あたり1～２秒を要するため静的な試料の観察には適するが、細胞内Ca^{2+}などの動的な現象を観察するのには適さない。研究責任者は、１画面を４ミリ秒および８ミリ秒で観察できるニポウ式高速共焦点顕微鏡を横河電機と共同開発した。しかし、ニポウ式共焦点顕微鏡は、受光部としてテレビカメラを使用する。現在、高速テレビカメラは、工業用テレビカメラしかなく、生物蛍光試料の共焦点面からの微弱な光量の高速観察に適する超高感度高速テレビカメラはない。このため、細胞内Ca^{2+}動態などの動的観察に適する高速３次元画像解析システムを開発するためには、まず超高感度４倍速テレビカメラを試作する必要がある。

われわれは、超高感度４倍速テレビカメラを試作し、試作カメラの性能を確認するために心筋細胞におけるCa^{2+} waveを観察した。さらに、spiral Ca^{2+} waveの発生メカニズムについて検討した。

超高感度４倍速テレビカメラの試作

1) 高速テレビカメラの選定

通常のNTSC方式のテレビカメラは、インターレス方式であるため、動画を撮影した場合、表示されるライン間での時間差が大きいためエッジが歪む（表１）。このため、試作超高感度４倍速テレビカメラには、ライン間での時間差が少なく動画像撮影時のエッジの乱れを抑えることができるノンインターレス方式を採用した高速テレビカメラ（フォトロン社 Fastcamnet）を選定した。この高速テレビカメラは、スクエアピクセルセンサーを採用するため計測精度が向上した（表２）。

表１ NTSCテレビカメラとの比較表

	高速テレビカメラ	NTSCテレビカメラ
サンプリングレート	120画面/秒	30画面/秒
走査方式	ノンインターレス	インターレス
ピクセルフォーマット	スクエアピクセル	ノンスクエアピクセル

表２ ４倍速テレビカメラの仕様

撮像素子	1/2" CCDセンサー Kodak KAI-0310M, class 1 type
水平垂直解像度	640/480 ピクセル
セルサイズ	9μm×9μm
水平同期信号	31.5 KHz
垂直同期信号	120 Hz
同期方式	内部同期
電源電圧	DC12V
外寸(mm)	90(W)×80(H)×230(D)

2) イメージ・インテンシファイヤーの選定と接続

民間で使用できる中で一番感度の高い第３世代のイメージ・インテンシファイヤー（Solamere社SR UB GEN III+；インターメディカル）を使用した。多くの高感度テレビカメラで使用されている第二世代のイメージ・インテンシファイヤーの光電面の出力電流効率は、約50 mA/W (at 550 nm) である。一方、このSolamere社のSR UB GENIII+は、第三世代後半のイメージ・インテンシファイヤーで光電面の出力電流効率が150 mA/W (at 550 nm)と数倍明る

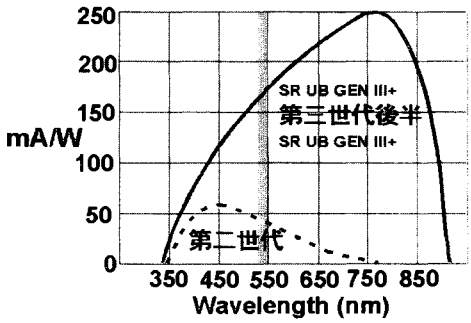


図1イメージ・インテンシファイヤー光電面の出力電流効率

い（図1）。8倍速テレビカメラのCCDとイメージ・インテンシファイヤーは、光学的に収差の少ないF1.2の50mmレンズを用いて、レンズカップリングで接続した（図2）。

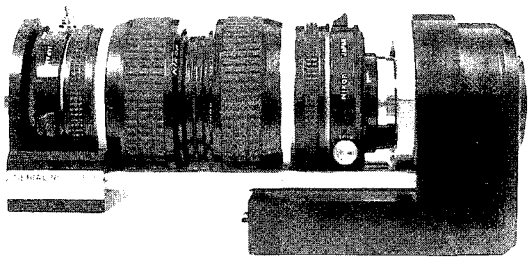


図2レンズカップリング式イメージ・インテンシファイヤー

3) 超高速3次元立体画像観察システムの構成

ニポウ式共焦点装置（CSU 10高速タイプ, 横河電機）は、20,000個のピンホールをもったニポウディスクと各々のピンホールに対応した20,000個のマイクロレンズを組み合わせて高速回転(5000rpm)させマルチレーザービームで走査する。これにより、共焦点蛍光像のミリ秒/full frameレベルの超高速化を可能にした。この共焦点装置を倒立顕微鏡（Axiovert 100S TV, Zeiss）に取り付けた。さらに、超高感度4倍速テレビカメラを接続した（図3）。システムの光学的補正は、ニポウ式共焦点装置と顕微鏡の接続部に焦点距離250 mmのレンズを入れることで解決した。

心筋細胞内Ca^{2+}動態の3次元高速観察

1) 心筋細胞の調整と試薬

単一心筋細胞は、SDラット心を灌流法で酵素処理して単離した。単離心筋細胞への蛍光指示薬（Fluo 3-AM）のローディングは、30分間、37℃で行った。

2) 心筋細胞内Ca^{2+}waveの高速観察

心筋細胞においてCa^{2+} waveは、細胞内Ca^{2+}調節障害や不整脈の発生などとの関連が注目されている。多くのCa^{2+}

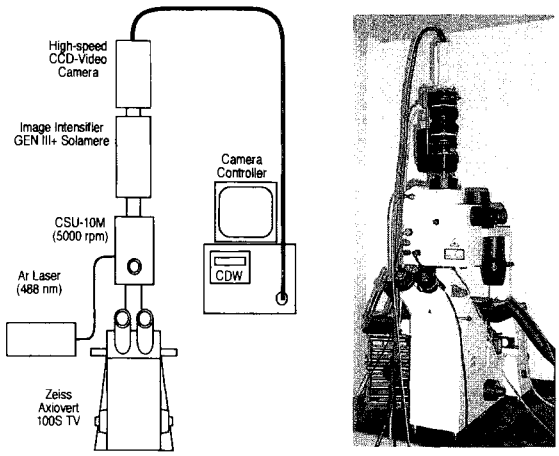


図3超高速3次元立体画像観察システムの構成

waveは、筋小胞体からのCa^{2+}放出により成長してplanar Ca^{2+} waveとなる。しかし、複雑な伝播パターンのspiral Ca^{2+} waveも報告されている。心筋細胞内Ca^{2+}waveの高速観察により、spiral Ca^{2+} waveの発生メカニズムを検討した。Planar Ca^{2+} waveは、核から離れたところで開始することが観察された。また、planar Ca^{2+} waveは、深さ方向を変化させても異なる深さで観察された（図4）。この

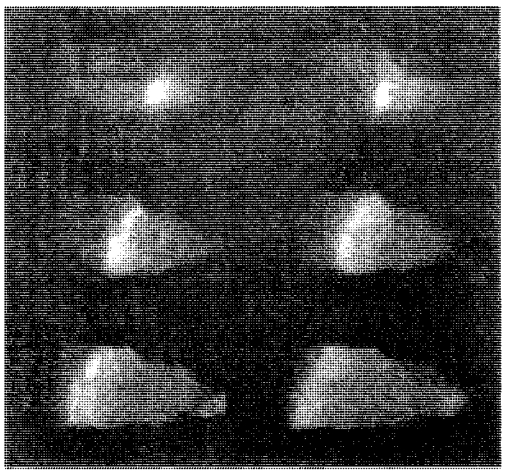


図4異なる深さでのplanar Ca2+ waveの観察

結果から、Ca^{2+} waveの開始点が核から遠い場合、Ca^{2+} waveが成長し大きくなって核に到達することがわかった。Ca^{2+} waveが3次元的に大きい場合、核などの上下、左右をCa^{2+} waveが同時に迂回するため、核が伝播の障害物とならないplanar Ca^{2+} waveとなると考えられる（図5-上）。

一方、spiral Ca^{2+} waveは、核の近傍で開始するのが観察された。深さ方向を変化させると、一部の深さでのみ

spiral Ca^{2+} waveが観察された。この結果から、核の近傍で発生したCa^{2+} waveは、Ca^{2+}放出をしない核内にCa^{2+}が拡散するため成長できず、Ca^{2+} waveが３次元的に小さいため核に沿ってCa^{2+} wave伝播するspiral Ca^{2+} waveとなると考えられる（図５-下）。これらの結果から、spiral Ca^{2+} waveは、Ca^{2+} wave開始点と核との位置関係により発生することが示唆された。

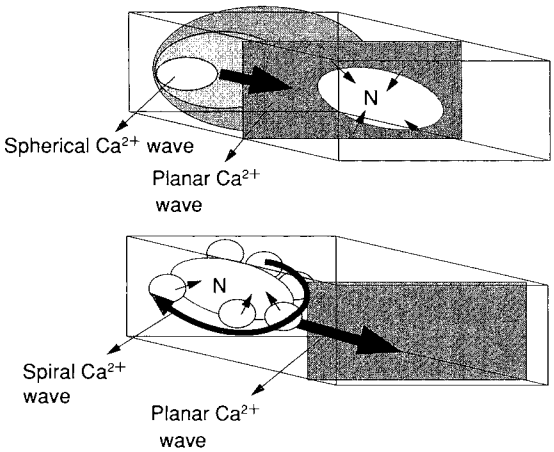


図５ PlanarとSpiral Ca2+ wavesの発生位置と核の関係

おわりに

本助成により作成した超高感度４倍速テレビカメラは、国際的にも評価され、本装置を用いての心筋細胞内Ca^{2+}の高速観察、解析の共同研究を米国ユタ大学 W.H. Barry教授(2000年11月の米国心臓学会にて共同発表、共同論文発表)、メリーランド大学H.Cheng博士（共同論文作成中）および英国オックスフォード大学D.A. Terrar博士（2001年2月の米国生物物理学会にて共同発表、共同論文作成中）と行っている。

口頭発表

1999年　第23回レーザー顕微鏡研究会（シンポジウム）、第44回日本電子顕微鏡学会（シンポジウム、第72回米国心臓学会

2000年　第44回米国生物物理学会、第77回日本生理学会、第23回心筋代謝研究会第（特別講演）、第73回米国心臓学会、第26回レーザー顕微鏡研究会（シンポジウム）

2001年　第45回米国生物物理学会、第78回日本生理学会（シンポジウム）

発表論文

1) 石田英之, 源河朝広, 広田有希, 中澤博江, 超高速ニポウ共焦点顕微鏡による心筋細胞内Ca^{2+}制御の解明, レーザー顕微鏡研究, 24; 2000 (in press)

2) M. Ritter, Z. Su, H. Ishida, K.W. Spitzer, W.H. Barry, Caffeine induced Calcium sparks, Am J Physiol, 278; H666-H669, 2000

3) 石田英之, 源河朝広, 広田有希, 中澤博江, 田名網健雄, 心筋細胞内のCa^{2+}拡散：高速ニポウ式共焦点顕微鏡による観察. 電子顕微鏡 34: 97-100, 1999

4) 石田英之, 源河朝広, 広田有希,中澤博江, 田名網健雄, 心筋細胞内Ca^{2+}動態観察へのニポウ式共焦点装置の応用, レーザー顕微鏡研究, 23; 6-10, 1999

5) H. Ishida, C. Genka, Y. Hitora, H. Nakazawa, W.H. Barry, Formation of planar and spiral Ca^{2+} wave s in isolated cardiac myocytes, Biophysical J, 77; 2114-2122, 1999

6) H. Ishida, K. Hoshiai, M. Hoshiai, C. Genka, Y. Hitora, H. Nakazawa, Haloperidol prolongs diastolic phase of Ca^{2+} transient in cardiac myocytes, Jpn J Physiol, 49; 479-484, 1999

7) C. Genka, H. Ishida, K. Ichimori, Y. Hirota, T. Tanaami, H. Nakazawa, Visualization of biphasic Ca^{2+} diffusion from cytosol to nucleus in contracting adult rat cardiac myocytes with an ultra-fast confocal imaging system, Cell Calcium, 25; 199-208, 1999

8) H. Ishida, C. Genka,Y. Hirota, H. Nakazawa, Distinct roles of peroxynitrite and hydroxyl radical in triggering stunned myocardium-like impairment of cardiac myocytes in vitro, Mol Cell Biochem,198; 31-38, 1999

9) Ichihara, T. Tanaami , S. shimizu, H. Ishida, Confocal fluorescence microscopy using a Nipkow-disk scanner, in "Fluorescent and luminescent probes for Biological Activity" ed. by W. T. Mason, Academic press, 344-349, 1999

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

研究責任者　大阪医科大学病態検査学教室　教授　清水　章
研究共同者　大阪医科大学病態検査学教室　講師　中西豊文
大阪医科大学病態検査学教室　講師　岸川匡彦
大阪医科大学病態検査学教室　助手　宮崎彩子

1 まえがき

遺伝子変異に基づく蛋白質の構造変化が多くの疾患の原因となっている。また種々の疾患において蛋白質の修飾構造に変化を引き起こす。これらの疾患に関連する蛋白質を検出・同定・定量することは病気を診断し、病態を把握する上で重要である。構造変化蛋白質の分析に、従来は電気泳動、液体クロマトグラフィーなどが用いられてきたが、これらの技術は実地臨床検査として用いるには、煩雑で、時間がかかるため、診療に速やかに対応するには至っていない。遺伝子分析は近年著しく普及し、所要時間も短縮されてはいるが、遺伝子分析によって、蛋白質の翻訳後修飾構造や濃度を知ることはできない。

1989年、米バージニア大学のDr. Fennらが質量分析(MS)の新しいイオン化法・エレクトロスプレー(ESI)をScience誌に発表した[1]。これが、その後の十年間に飛躍的に普及し、液体クロマトグラフィー(HPLC)溶出液の検出系にESI/MSを用いることにより、蛋白質・ペプチドの構造解析ができ、さらに、混合物の中から対象分子を捕らえ、正確に定量することもできるようになった。我々はこの手法を用い、ヘモグロビン（Hb）、トランスサイレチン（TTR）、Cu,Znスーパーオキシドジスムターゼ（SOD-1）の構造研究を行い多くの異常蛋白質を同定した[2)~14)]。これらはそれぞれ異常Hb症、家族性アミロイドポリニューロパシー(FAP)、筋萎縮性側索硬化症(ALS)の原因となる。さらに、糖化ヘモグロビン(HbA1c)を質量分析により測定することを着想し、標準法として確立し、この方法を用い、それぞれの異常Hbを含む血液試料が、通常HbA1cのそれぞれの測定法で示す誤差の程度を明らかにした[15)16)]。

2 方法

臨床診断のために依頼された血液試料を分析した。ヘモグロビン(Hb)は溶血液を用い、イオン交換クロマトグラフィー(polycatA)分析、変性試験を行い、さらに、脱ヘムして、グロビンを調整した後、LC/ESI/MSによりグロビン鎖の分析をした。これらのスクリーニングテストで異常の見られた試料はトリプシン消化し、逆相HPLC（silica-based Vydac C_{18}）によってペプチドを分離し、その溶出液をon-lineでESI-タンデムMS（MS/MS）によって分析することによって、アミノ酸配列の異常を同定した。

TTRとSOD-1の分析には我々のオリジナル手法である免疫沈降法を用いた[2)~4)]。Hbは血中に高濃度で存在するので、血液を希釈し溶血液を作成するだけで、シグナル／ノイズ(S/N)の良いスペクトルが得られる。しかし、他の蛋白質には精製が必要である。既知の蛋白で、しかも抗体を手に入れる事ができれば免疫affinityカラムクロマトグラフィーによればよいのだが、抗体の精製とaffinityカラムの調整には手間がかかる。検体と目的蛋白質に対する抗血清を混合し、免疫沈降物をそのままLC/ESI/MSにかけると、逆相カラムクロマトグラフィーの溶媒中で抗体と蛋白質は分離し、離れて溶出し、明瞭なスペクトルが得られる[2)~4)]。この手法は内外のこれら疾患の医療センターにおいて、広く採用されている。

HbA1cはβ鎖N末端アミノ基にグルコースが結合した成分であり、1997年Koboldら[17)]は、この定義どおりの構造を測定する手段として、Hbを蛋白分解酵素Glu-Cで処理し、生じたβ鎖N末ヘキサペプチド、Gluc-VHLTPEとVHLTPEとの比を、LC-エレクトロスプレーイオン化質量分析（ESIMS）を用いて測定する方法を報告した。この方法は現在利用できる測定法の中で最も真値に近い値を示し、異常Hbが含まれていても影響されないと理論的に考えられる。我々はこの方法の信頼性をさらに高め、真値に近い値を求めるため、高純度のβ鎖アミノ末端の糖

化・非糖化ヘキサペプチドを合成し、この両ペプチドのMSイオン化効率を精密に算出し、イオンピークの比とペプチドのモル比間の比率を求めた[15)16)]。これらペプチドには2箇所イオン化の部位（N末とHis）があり、それぞれ1価イオンと2価イオンを生じる。我々は2価イオンの強度に0.5を乗じた数値に1価イオン強度を加えた値を求め両イオン強度を比較すると、ペプチドのモル比とイオン強度比が一致する事を見出した[15)16)]。この計算式で測定すると、日差、日内変動が小さく(CV＝0.5～1.5％)、測定時毎の検量線作成を要せず、安定な結果が得られた。これを標準法として、HPLC法(HA-8150：京都第一科学)、及び2種の免疫法、DCA-2000（バイエル三共、Hb全分子を用いる）、および、UNIMATE（ロッシュ、ペプシン消化ペプチドを用いる）による値を評価した。

3 結果

我々が分析した、変異蛋白質を表1に示した。この内のいくつかは新変異であり、あるいは、我が国第一例であった。これらの詳細は末尾に揚げた論文[2)～16)]に譲るが、ここでは我々の研究のMilestoneとなったデータを示したい。

3.1 異常ヘモグロビン

図1はESI/MSによりHbを測定し、得られた複数の多価

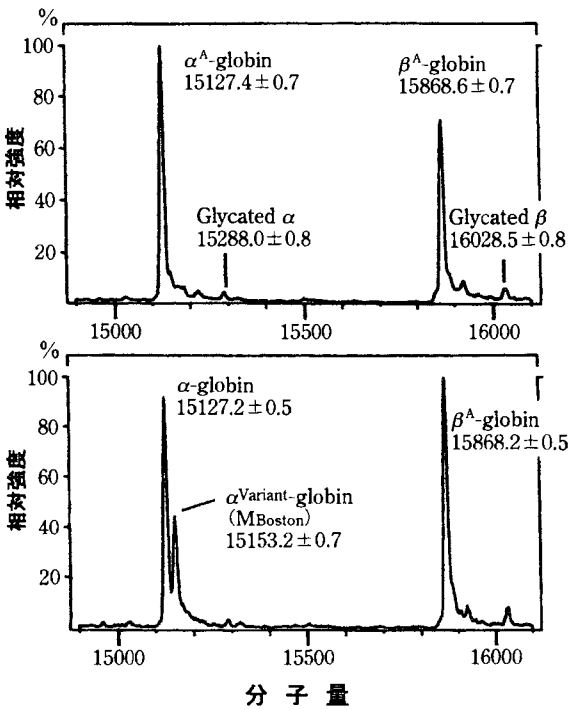


図1: HbのESI/MSスペクトル。上段：正常のHb、下段：異常Hb

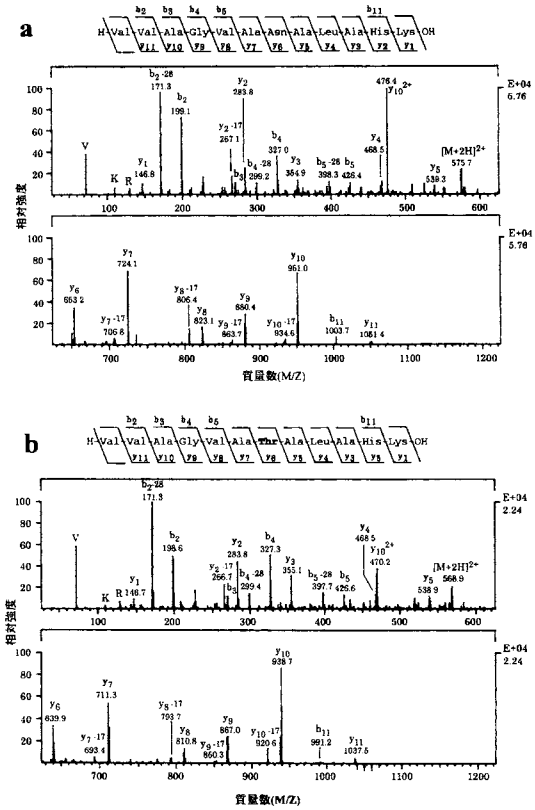


図3: βT14のMS/MSスペクトル。a：正常bT14。b：異常bT14。

イオンを、質量数に換算したスペクトル(Deconvoluted spectrum)である。それぞれの多価イオンから計算される質量数の平均値と標準偏差を図中に示している。上段は正常のHb、下段は異常Hbを含む溶血液のスペクトルである。上段のα、β各サブユニット鎖の実測質量数がそれぞれの理論値にほぼ一致している（理論値α鎖：15126.4、β鎖：15867.2）。下段ではα鎖が2本に分裂しており、一方はほぼ正常の質量数を示すが、もう一方（$\alpha^{Variant}$）は26Da大きい値を示している。この症例はHbM Boston[α58His→Tyr]であり、すでに、当研究の研究責任者らによって、通常の蛋白質化学の手法で構造が示されていた[18)]。26DaはHisとTyrの差に一致しており、ピークの高さの比はイオン交換で求めた異常・正常成分の比に一致している。またグロビンの各ピークの162高質量側に小ピークが認められ、これは糖化成分である。このようにESI/MSによって、全分子のままで異常蛋白質、翻訳後修飾蛋白質を検出し、その質量数差を知る事ができる。

このようにして、表1に示したように多数症例を診断してきた。その内の一例は、等電点電気泳動、変性試験では検出できず、質量分析で始めて見つかった[5)6)]。この例ではβ鎖に正常よりも13Da小さい異常ピークが認め

表１大阪医大病態検査学教室で分析した変異蛋白質(1994-2000)

蛋白質変異	変異部位・質量数差	症例数
Hb I-Interlaken	α15Gly → Asp(+58Da)	1**
Le Lamentin	α20His → Gln (-9Da)	2
M Boston	α58His → Tyr (+26Da)	1**
J-Meerut	α120Ala → Glu (+58Da)	1
Raleigh	β1Val → acLeu (+14Da)	1
Niigata	β1Val → Met-Leu (+145Da) & acMet-Leu (+187Da)	3
Okayama	β2His → Gln (-9Da)	1
SC #	β6Glu → Val (-30Da) & β6Glu → Lys (-1Da)	1
G-Coushatta	β22Glu → Ala (-58Da)	1
E	β26Glu → Lys (-1Da)	2
E ## homozygosity	β26Glu → Lys (-1Da)	1
Hoshida	β43Glu → Gln (-1Da)	1
Hokusetsu	β52Asp → Gly (-58Da)	1*
Hamadan	β56Gly → Arg (+99Da)	11
J-Lome	β59Lys → Asn (-14Da)	2
Bristol	β67Val → Met (+32Da) → Asp (+16Da)	2
Tigraye	β79Asp → His (+22Da)	1**
G-Szuhu	β80Asn → Lys (-14Da)	5
Santa Ana	β88Leu → Pro (-13Da)	1**
Agenogi	β90Glu → Lys (-1Da)	1
Moriguchi	β97His → Tyr (+28Da)	1
Yoshizuka	β108Asn→ Asp (+1Da)	1
Peterborough	β111Val → Phe (+48Da)	1**
Masuda	β114Leu → Met (+18Da) & 119Gly →Asp (+58Da)	1
Riyadh	β120Lys → Asn (-14Da)	6
Takamatsu	β120Lys → Gln (+/-0Da)	1
Camden	β130Gln → Glu (+1Da)	1
Sagami ###	β139Asn → Thr (-13Da)	1*
TTR	18Asp → Glu (+14Da)	2
	30Val → Met (+32Da)	25
	36Ala → Pro (+26Da)	1
	38Asp → Ala (-44Da)	2*
	47Gly → Ala (+14Da)	2
	49Thr → Ile (+12Da)	2*
	50Ser → Ile (+26Da)	3
	60Thr → Ala (-30Da)	4**
	101Gly → Ser (+30Da)	1*
	109Ala → Ser (+16Da)	2
	114Tyr → Cys (-60Da)	6
SOD-1	4Ala → Ser (+16Da)	1*
	37Gly → Arg (+99Da)	1
	46His → Arg(+19Da)	1
	86Asn → Ser(-27Da)	1
	111Cys → Tyr (+60Da)	1*

Hb Sと Hb Cのdouble heterozygosity
Hb E のhomozygosity
Hb Sagami とThalassemia-31(A → G)とのdouble heterozygosity
Hbの蛋白質変異の中で、#印のないものはHbA と異常ヘモグロビンのheterozygosity
* 世界第一例
** わが国第一例

られ、しかも異常ピークのほうが、正常に比し、約2.5倍高いという通常見られない比率を示した。図２にこのHbをトリプシン消化し、HPLC/ESI/MSにかけたクロマトグラフィーを示した。これによってβT14に異常が見つかった。異常βT14のMS/MSスペクトルを図3に示した。MS/MSではペプチドのN末からとC末からのペプチド結合部で切られたフラグメントイオンが測定される。それぞれのフラグメントイオンの質量数より、アミノ酸配列が決定される。図３の正常(3a)と異常(3b)のフラグメントイオンピークを比べ、[β139Asn→Thr]である事を質量分析から結論し、さらに遺伝子解析、蛋白sequencerにより確認した。これはこれまでに報告されていない新しい異常Hbであったので、Hb Sagamiと名づけた[5)6)]。この症例はβサラセミア[-31(A→G)]を合併していた。Hb Hokusetsuも新変異であり、[β52Asp→Gly]であった[7)]。またHb Bristolは蛋白質化学的方法でβ67Val→Aspとされ、DNA分析で、β67GTG(Val)→ATG (Met)と報告されていた。我々はMSにより、この位置がVal, Met, Aspであるそれぞれのペプチドを検出した[8)]。翻訳後、ヘム鉄近傍のMetが一部酸化されAspに変化すると考えられる。Hb Niigata [β1Val→Leu]では、イニシエーターのMetが切断されておらず、またN末Metが20%アセチル化されていることを示した[9)]。このような分析は遺伝子分析では不可能である。Hb Santa Ana [β88Leu→Pro]、Hb Peterborough [β111

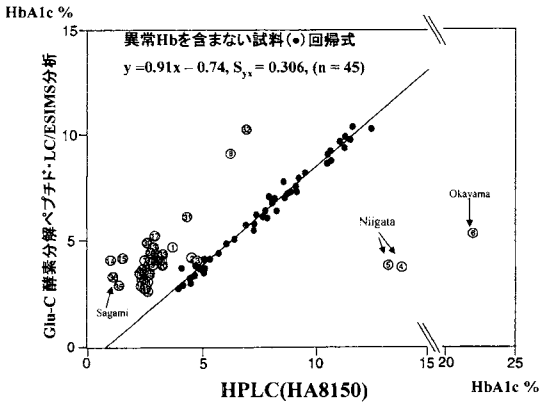


図4: ESI/MS法とHPLC法によるHbA1c値の比較。異常Hbを含まない検体（黒丸）、異常Hb含有検体（白丸）。詳細は文献12参照。

Val→Phe]、Hb Tigraye[β67Asp→His]、Hb I-Interlaken [α15Gly→Asp]等我が国未報告例を検出同定した[10,11)]。

3.2. 異常Hb含有検体のHbA1c値[15)16)]

図4に我々の方法によるESI/MS法とHPLC法によるHbA1c値の比較を示した。異常Hbを含まない検体（黒丸）では、２法間の相関は良好(r =0.993)であった。異常Hb含有検体（図中白丸）のほぼ全例がHPLC法では正しく測

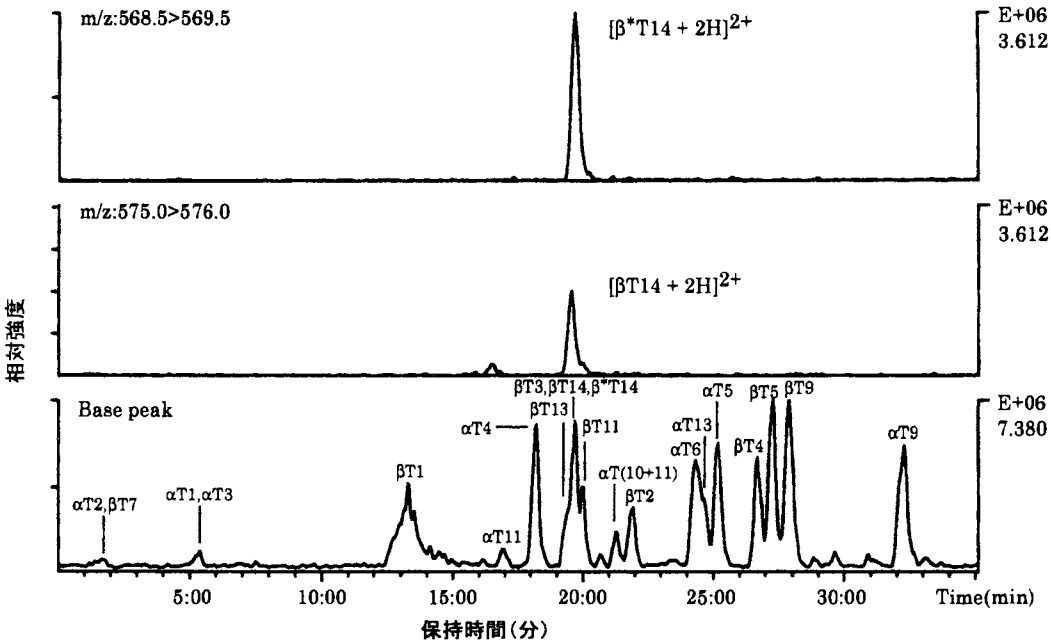


図2:グロビンのトリプシン消化物の、HPLC/ESI/MS。上段：異常βT14の選択イオンクロマトグラム（2価イオン），中段：正常βT14の選択イオンクロマトグラム（2価イオン）,下段：全イオンの強度を指標としたクロマトグラム。

定されてないことが分かる。異常Hbの保有者では現行のルーチン法によるHbA1c値は種々の要因により正負の誤差を示す場合が多いことが明らかである。以上のように、異常Hbの存在を知らないでHbA1c値を糖尿病スクリーニングやコントロールの指標とすると誤療を招きかねない。HbA1c値測定と同時に一回は異常Hb有無のチェックが必要とも言える。また更に多くの異常Hb含有検体について各方法によるHbA1c値の誤差を明らかにすることが必要である。この二つの目的を達成するためには、ここに示したESI/MSによる方法が最適であり、他の方法では不可能であろう。

3.3 TTR[2)4)13)14)]

図5に家族性アミロイドポリニューロパチー(FAP)患者(30Val→Met)の肝移植前後の血清中トランスサイレチン(TTR)のESI/MSスペクトルを示した。図5aに示すように正常成分と異常成分は明らかに分離しており、分子量の差は、ValとMetの差32を示している。肝移植後数日にして異常成分は完全に消失している（図5b）。この方法により血清中TTRを分析し、新変異、あるいは我が国未報告例を含めて、多くの異常TTRを同定した（表1）。

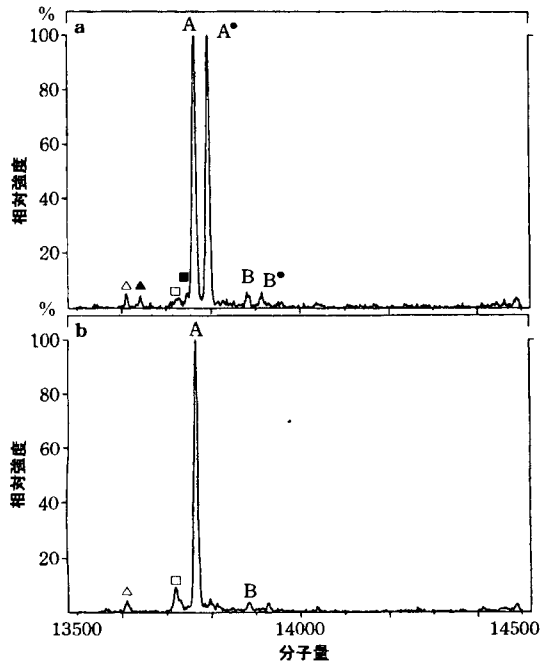


図5: FAP患者(30Val→Met)の肝移植前後の血清中TTRのESI/MSスペクトル。5a:肝移植前。5b：肝移植後

3.4 SOD1

SOD1の分析により、赤血球中、脊髄組織よりの抽出液中に変異SOD1を検出し、正常と異常成分の量比を測定できる事を示した[3)4)12)]。変異SOD1は家族性筋萎縮性側索硬化症例(FALS)の一部の原因になっており、図6にFALS患者のSOD1分析結果を示した。異常成分の半減期と重症度とが関連する可能性が指摘されており、MSによる変異SOD1の量比決定は臨床上重要であろう。

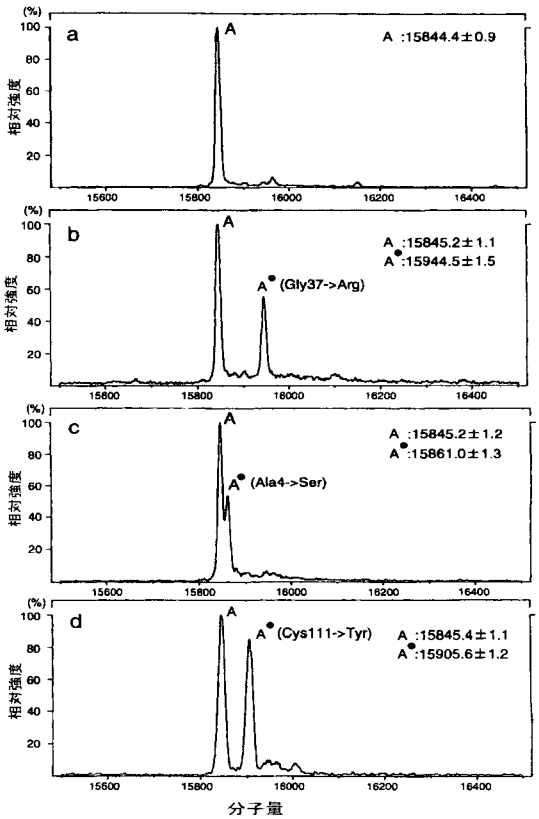


図6: FALS患者のSOD1のESI/MSスペクトル。

4 考察と展望

構造変化蛋白質の検出・同定・定量は臨床上極めて重要であり、今後ESI/MSが常套手法となろう。我々は上記の蛋白質にとどまらず、生活習慣病や悪性疾患における疾患関連蛋白質の分析も始めている。現在遺伝子解析によるSNIP(single nucleotide polymorphism)が重視されているが、生体内で機能している蛋白質の分析がやはり重要である。我々は電気泳動のゲル上のスポットから取り出した蛋白質を自動分析することによる、protein SNIP分析を始めた。完成の可能性は高く、臨床的貢献は多大である。

参考文献

1) Fenn J B, Mann M, Meng C K, Wong S F, and Whitehous CM(1989) Electrospray ionization for mass spectrometry of

large biomolecules. Science, 246, 64-71.

2) Kishikawa M, Nakanishi T, Miyazaki A, Shimizu A, Nakazato M, Kngawa K, and Matsuo H (1996) Simple detection of abnormal serum transthyretin from patients with familial amyloidotic polyneuropathy by high-performance liquid chromatography/ electrospray ionization mass spectrometry using material precipitated with specific antiserum. J. Mass Spectrom., 31, 112-114.

3) Nakanishi T, Kishikawa M, Miyazaki A, Shimizu A, Ogawa Y, Sakoda S, Ohi T, and Shoji H (1998) Simple and defined method to detect the SOD-1 mutants from patients with familial amyotrophic lateral sclerosis by mass spectrometry. J.Neuroscience Methods, 81, 41-44.

4) Shimizu A, Nakanishi T, Kishikawa M, and Miyazaki A (1998) Detection and characterization of aberrant blood proteins by LC/ESI/MS, In "Advances in Mass Spectrometry, Vol.14," eds.by Karjalainen E J et al., Elsevier Science B.V., Amsterdam, pp.407-421.

5) Nakanishi T, Miyazaki A, Kishikawa M, Shimizu A, Aoki Y, and Kikuchi M (1998) Hb Sagami [b139(H17)Asn → Thr]: a new hemoglobin variant not detected by isoelectrofocusing and propan-2-ol test, was detected by electrospray ionization mass spectrometry. J Mass Spectrom, 33, 565-569.

6) Miyazaki A, Nakanishi T, Kishikawa M, Nakagawa T, Shimizu A, Mohammed Mawjood A H, Imai K, Aoki Y, and Kikuchi M (1999) Compound heterozygosity for b+-thalassemia [-31(A → G)] and a new variant with low oxygen affinity, Hb Sagami [b139(H17)Asn → Thr]. Hemoglobin, 23, 257-271.

7) Nakanishi T, Miyazaki A, Kishikawa M, Shimizu A, Kishida O, Sumi S, Tsubakio T, and Imai K (1998) A new hemoglobin variant found during Hb A1c measurement: Hb Hokusetsu [b52(D3)Asp → Gly]. Hemoglobin, 22, 355-371.

8) Miyazaki A, Nakanishi T, Kishikawa M, Shimizu A, Ohba Y, Tanaka A, and Sasaki H (1996) Post-translational modification from methionine to aspartic acid residue on a variant hemoglobin, Hb Bristol, a proof by ESI/MS/MS. J Mass Spectrom., 31, 1311-1313.

9) Ohba Y, Hattori Y, Sakata S, Yamashiro, Y, Okayama N, Hirano T, Nakanishi T, Miyazaki A, and Shimizu A (1997) Hb Niigata [b1(NA1)Val → Leu]: the fifth variant with retention of the initiator methionine and partial acetylation. Hemoglobin 21, 179-186.

10) Nakanishi T, Miyazaki A, Kishikawa M, Shimizu A, and Yonezawa T (1996) Electrospray ionization-tandem mass spectrometry analysis of peptides derived by enzymatic digestion of oxidized globin subunits: an improved method to determine amino acid substitution in the hemoglobin "core". J. Am. Soc. Mass Spectrom., 7, 1040-1049.

11) Nakanishi T, Miyazaki A, Kishikawa M, Shimizu A, Aoki Y, and Kikuchi M (1998) Hb Peterborough [b111(G13)Val → Phe] in Japan; rapid identification by ESI/MS using proteolytic digests of oxidized globin. Hemoglobin, 22, 23-35.

12) Ogawa Y, Kosaka H, Nakanishi T, Shimizu A, Ohi T, Shoji H, Yanagihara K and Sakoda S (1997) Stability of mutant superoxide dismutase-1 associated with familial amyotrophic lateral sclerosis determines the manner of copper release and induction of thioredoxin in erythrocytes. Biochem Biophys Research Commun., 241, 251-257.

13) Kishikawa M, Nakanishi T, Miyazaki A, Hatanaka M, Shimizu A, Tamoto S, Ohsawa N, Hayashi H, and Kanai M (1998) A new nonamyloid transthyretin variant, G101S, detected by electrospray ionization/mass spectrometry. Hum Mutat., Mutation in Brief #201 Online,

14) Kishikawa M, Nakanishi T, Miyazaki A, Shimizu A, Kusaka H, Fukui M, and Nishiue T (1999) A new amyloidogenic transthyretin variant, [D38A], detected by electrospray ionization / mass spectrometry. Amyloid: Int J Exp Clin Invest, 6, 278-281.

15) Nakanishi T, Miyazaki A, Iguchi K, and Shimizu A (2000) Effect of hemoglobin variants on routine HbA1c measurements, assessed by a mass spectrometric method. Clinical Chemistry, 46, 1689-1692.

16) Nakanishi T, and Shimizu A (2000) Determination of ionization efficiency of glycated and non-glycated peptides from the N-terminal of hemoglobin b-chain by electrospray ionization mass spectrometry. J. Chromatography B, 746, 83-89.

17) Kobold U, Jeppsson JO, Thomas D, Finke A, Hoelzel W, Miedema K (1997) Candidate reference methods for hemoglobin A1c based on peptide mapping. (1997) Clinical Chemistry, 43, 1944-51.

18) Shimizu A, Hayashi A, Yamamura Y, Tsugita A, and Kitayama K (1965) The structural study on a new hemoglobin variant, Hb M Osaka. Biochim. Biophys. Acta 97, 472-482.

発表論文

上記参考論文のうち2)~16) 及び

1) Kishikawa M, Nakanishi T, Miyazaki A, and Shimizu A (1999) A simple and reliable method of detecting variant transthyretins by multidimensional liquid chromatography coupled to electrospray ionization mass spectrometry. Amyloid: Int J Exp Clin Invest, 6, 48-53.

2) Kishikawa M, Nakanishi T, Shimizu A, and Yoshino M (2000) Detection by mass spectrometry of highly increased amount of S-sulfonated transthyretin in serum from a patient with molybdenum cofactor deficiency. Pediatric Research, 47, 492-494.
3) Mandapati S, Nakanishi T, and Shimizu A, (1999) Relative quantification of glycated Cu-Zn superoxide dismutase in erythrocytes by electrospray ionization mass spectrometry. Biochim Biophys Acta , 1426, 483-490.

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

研究責任者　九州大学工学研究院応用化学部門　　助教授　　片　山　佳　樹

1．はじめに

ゲノムの構造解析が進み、今後、様々な遺伝子の機能解析の重要性がクローズアップされてきている。このような状況にあって、遺伝子そのもの、遺伝子と相互作用するタンパク、あるいは遺伝子の機能を修飾するタンパクなど、DNAや各種タンパクの機能や存在を簡便かつ迅速に計測できる手法は、極めて重要であると考えられる。また、遺伝子の機能解析とは、言い換えれば細胞の情報伝達系そのものの解析でもあり、これらに寄与する新手法も必要であろう。電気化学的計測、いわゆるバイオセンサは、多検体を迅速かつ簡便に計測するのに適した手法の一つであるが、未だ、そのような手法はほとんど報告されていない。

本研究では、このようなことを踏まえ、遺伝子や細胞情報伝達、特に遺伝子周辺にかかわる細胞情報伝達に寄与するタンパクの機能を計測するための、新しい原理に基づくいくつかの手法の開発を試みたので、報告する。

2．抗DNA抗体計測バイオセンサ

我々は、図１に示す原理により、DNAに結合するタンパクである抗DNA抗体を計測することに成功した。すなわち、5’末端をチオール化したDNAを、金電極上に固定し、これをバイオセンサとした。DNA抗体は電極活性ではないため、これを計測するために別にマーカーイオンとしてフェロシアン化物イオン/フェリシアン化物イオンのredox coupleを添加している。測定は、サイクリックボルタンメトリー(BAS/CV-50W, 対極；白金、参照極；Ag/AgCl)によった。測定溶液は、100 mM KClを含む10 mM Tris (pH 7.4)、マーカーイオンとしては、フェロシアン化物イオン/フェリシアン化物イオン 5 mMを用いた。この系に、抗DNA抗体が存在すると、これが電極上のDNAに結合することにより、電極の有効面積が減少することにより、マーカーイオンの電極応答電流が減少した。この電流減少は、抗DNA抗体の濃度依存的で、同じIgM型であるがDNAに結合しない抗マウス抗体では、電流応答は全く見られなかった（図２）。この手法は、原理的にすべての遺伝子結合性タンパクの計測に応用できると期待できる。

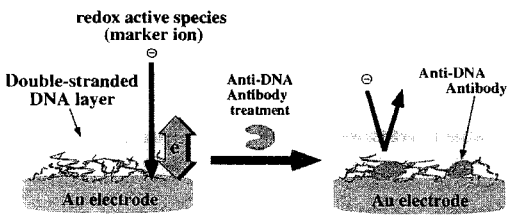


図１　抗DNA抗体計測バイオセンサの概念

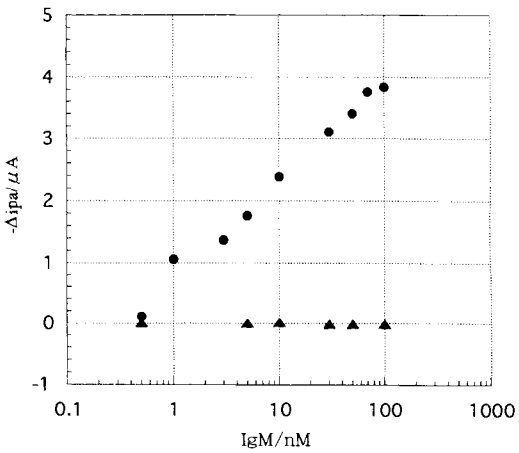


図２　抗体存在下でのDNA固定化電極を用いたマーカーイオンの応答
●：抗DNA抗体(IgM)、▲：抗マウスIgM抗体；縦軸は電流減少値

3．エストロゲンレセプターによる各種リガンドの結合活性評価のためのバイオセンサ

エストロゲンレセプターは、核内受容体の一種であり、活性化により直接DNAに結合して標的遺伝子の転写を活性化する転写因子でもある。近年、内在性リガンドだけではなく、この受容体を活性化する人工リガンドが、環境ホルモン、あるいは内分泌撹乱物質として注目されている。そこで、この受容体への各種リガンドの結合活性を評価できるシステムを設計し、基礎的評価を行った。原理は、基本的に図１で示した抗DNA抗体電極と同じである。すなわち、エストロゲンレセプターのリガンド結合ドメインを金電極に固定し、リガンド存在下でのマーカーイオン（フェロシアン化物イオン／フェリシアン化物イオン）の応答電流変化を計測するものである。エストロゲン受容体のリガンド結合ドメインは、受容体cDNAから相当部分（302-553番目アミノ酸部分）をPCR法により増幅し、T7発現ベクターに組み込んで、E.coli.(BL21(DE3)pLysS)により発現させた。精製は、カルボキシ末端にヒスチジンタグを結合させておき、Ni^{2+}担持カラム(Hitrap™)によった。タンパクの電極への固定にもヒスチジンタグを利用した。すなわち、N,N-ビスカルボキシメチルアミノエタンチオールを合成し、これのエタノール溶液(11 mM) に金電極上を浸すことにより固定し、ついで0.1 M硫酸ニッケル水溶液に５分間浸してニッケル錯体とした。これにエストロゲン受容体リガンド結合ドメインのTris-HClバッファー溶液を作用させて風乾し、最後に非特異吸着を防ぐため、10 mMメルカプトエタノール水溶液で処理し、ついで同じバッファー溶液で洗浄して、固定化電極とした。測定は、前述の抗DNA抗体計測と同じである。リガンドとして17β-エストラジオールを添加すると、nM～μMのオーダーで、濃度依存的に電流値の減少が見られた（図3)。エストロゲン受容体のリガンド結合部位は、リガンドの結合により表面正荷電が減少することが知られており、これがアニオン性マーカーイオンの電極表面での電気化学的反応の効率を下げたためと考えられた。本手法は、今後、エストロゲン以外の人工リガンドとの親和性の評価に応用を考えている。

4．プロテインキナーゼA計測バイオセンサ

遺伝子機能を修飾するタンパクの計測を目指したバイオセンサ開発の試みとしてプロテインキナーゼA(PKA)の計測を目指したバイオセンサの開発を試みた。PKAは、セカンドメッセンジャーであるサイクリックAMPにより活性化され、核内に移行して転写因子を活性化して遺伝子発現を制御する重要なタンパクである。例えば、甲状腺ガンなどある種のガンでは異常な亢進が認められており、疾病とのかかわりも重要なキナーゼである。

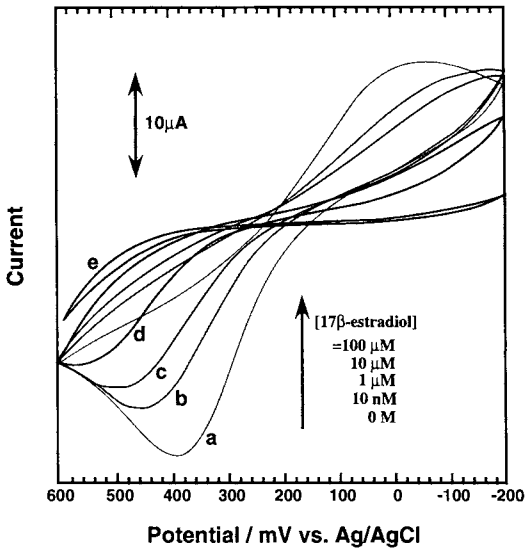


図３　エストロゲンレセプターEドメイン固定化電極によるエストロゲン結合の検出

PKAの計測にあたっては、PKAの基質となるペプチドを利用した。すなわち、基質ペプチドが活性化されたPKAによりリン酸化されると、アニオン荷電が導入されることにある。この分子の荷電状態の変化を利用した。具体的には、図４に示すフェロセン担持型基質ペプチドを設計、合成した。このプローブは、初め総荷電が＋１に近いと考えられるが、リン酸化により、逆に総荷電は－１に近い状態となる。そこで、電極表面をthioctic acidにより修飾してアニオン表面とすると、初めはプローブ分子の電気化学的反応は、静電的に有利であるが、リン酸化後は、静電反発により抑制される。その結果、PKAの活性に応じて、応答電流が減少するという原理である(図4)。電極の修飾は、金電極を1 mM thioctic acid/エタノール溶液に１時間浸し、その後、0.1 M KCl及び10 mM $MgCl_2$を

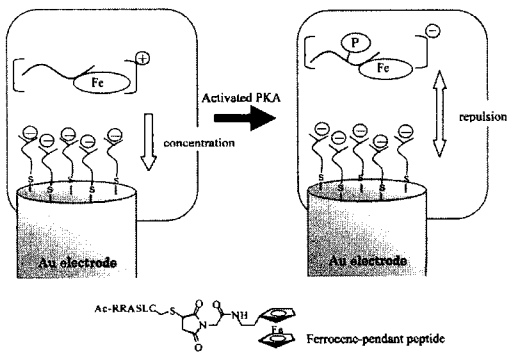


図４　プロテインキナーゼ(PKA)計測バイオセンサの概念と基質ペプチド型プローブ

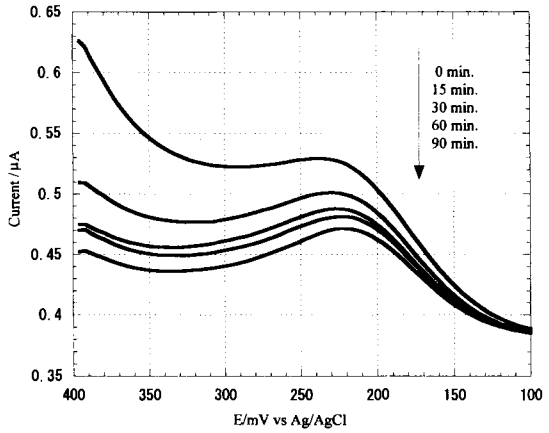


図5　フェロセン担持型基質ペプチドプローブのPKAによるリン酸化に伴う電流応答変化

含む100 mM Trisバッファー溶液(pH 7.4)で洗浄することにより行った。測定は、サイクリックボルタンメトリーにより、装置条件は、上述の系と同じである。この電極を0.1 M KCl及び10 mM $MgCl_2$、120 μM ATP, PKA C subunit (活性化PKA、9 unit)含む100 mM Trisバッファー溶液(pH 7.4)に浸し、ペプチド型プローブ20 μMを加えると、時間依存的に電流値の減少が見られた(図5)。この変化速度は、別にcoupled enzyme assayにより求めたペプチドのリン酸化速度と一致しており、また、活性化していないPKAでは見られないことから、プローブのリン酸化に基づくものであることが示唆された。また、リン酸化されないカチオン性フェロセンであるフェロセントリメチルアンモニウムを用いると、活性化PKA存在下でも電流応答は見られず、この電流値変化が、タンパクの非特異吸着によるものではないことも確かめられた。本システムを利用すると、0－100unitまでの活性化PKAで濃度依存性に電流値が直線的に減少し、PKAの計測が可能であることが分かった。

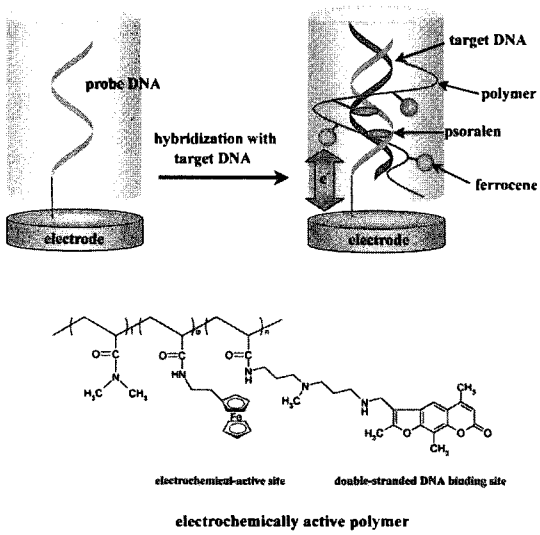


図6　DNA検出バイオセンサの概念と高分子型二本鎖DNA結合性プローブ

5．DNA計測システムの開発

最後に、タンパクではないが、遺伝子そのものの計測を目的としたバイオセンサの開発も検討した。ターゲットとなる配列の相補的配列を有するDNAを2の抗DNA抗体検出系と同様にチオールを介して金電極上に固定化した。もし、これと相補的な標的DNAがあれば、電極上で2本鎖が形成されることを利用し、2本鎖と一本鎖を見分けるシステムを設計した。具体的には、図6に示すような高分子型プローブを設計、合成している。このプロ

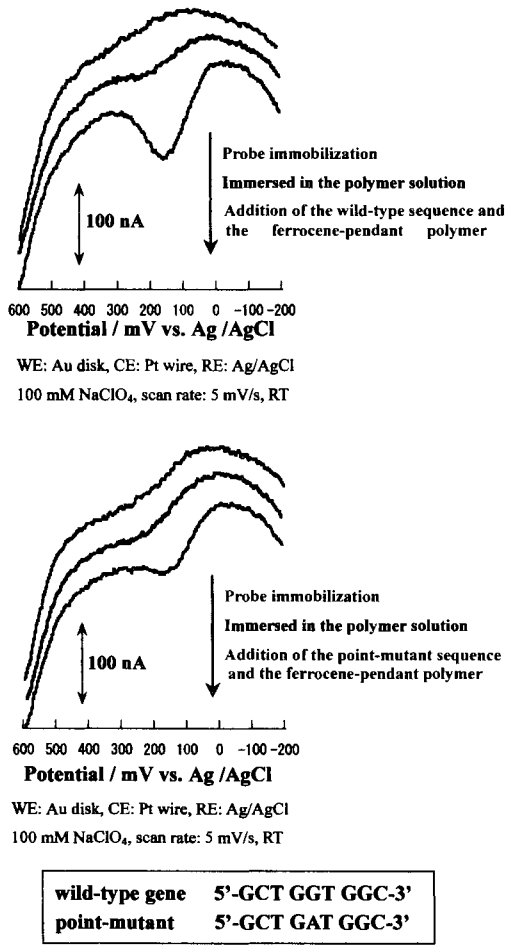


図7　相補鎖（上段）及び点変異配列存在下（下段）での電流応答電極に固定したのは、wild—type の相補配列

ーブは、２本鎖DNAにのみ選択的に結合するソラレン部位を有し、また、電気化学的に検出できるフェロセン部位を複数個有している。したがって、一分子のプローブが結合しても、多数のフェロセンを標識したことになり、高感度化が期待できる。実際、ガン遺伝子rasの発ガンにかかわるコドン12の点変異部分の相補鎖(GCCACCAGC)を電極上に固定し、正常型配列（GCTGGTGGC）と変異型配列（GCTGATGGC）をそれぞれ添加後、高分子型プローブを加え、ディフェレンシャルパルスボルタンメトリー測定を行ったところ、相補鎖存在下でより大きな応答電流が見られた(図7)。本手法は、マイクロチップ化も可能であることから、電気化学的DNAチップの開発にも応用できるものと期待している。

6．おわりに

以上、遺伝子周辺で働く種々のタンパクの計測に使用できる新しいバイオセンサを各種、設計し、性能評価した。上述のバイオセンサは、いずれもまだ、基礎的検討の段階であり、実用化には多くの検討項目が必要であるが、基本的に、今後の遺伝子機能解析に貢献できる原理を含んでいると期待している。今後は、これらの知見を踏まえて、より実用的なシステムに改良していい期待と考えている。

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。

発表論文

1) Katayama, Y., Sakakihara, S. and Maeda, M ; Electrochemical Sensing for the Determination of Activated Cyclic AMP-Dependent Protein Kinase, Anal. Sci. Vol 17(1), 17-19(2001)
2) Murata, M., Nakayama, M., Irie, H., Yakabe, K., Fukuma, K., Katayama, Y., and Maeda, M. ; A novel biosensor for the rapid measurement of estrogen based on ligand-receptor interaction, Anal. Sci. in press.

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

研究責任者　大阪大学大学院基礎工学研究科物理系専攻電子光科学分野
助手　田中拓男

1．はじめに－研究の目的

近年、病理学のみならず臨床検査分野においても、DNAを構成する個々の塩基分子の配列や細胞内のタンパク分子などを単一分子レベルで検出、測定する機会が多くなっている。しかし、例えばDNAの塩基配列の決定に主に用いられる電気泳動法を基本原理とした測定法では、一回の測定にも時間がかかるなど測定時間の問題がある。また近年注目されているDNAチップやプロテインチップなどのマイクロアレイセンサーにおいても、現在のDNAチップは、基板上にアレイ状に固相化させたDNAに蛍光色素分子でラベリングしたDNAをハイブリタイズさせ、その蛍光強度を測定することにより、特定のDNA配列の有無を検出している。したがって、ラベリングに使用した蛍光分子がDNA分子のハイブリタイゼーションに影響を及ぼし、SNPsなどDNA配列の非常にわずかな違いの検出を困難にしている可能性は否定できない。つまり、これらの分野では、高速でかつサンプルにダメージ（広義には影響）を与えることなく、分子レベルの情報を再現性良く検出・測定できる技術の開発が望まれている。

一方生物学や医学分野では、細胞組織などμm～mmオーダーの試料の観察には、光学顕微鏡が広く使用されている。これは、光学顕微鏡が試料の像をリアルタイムに観察でき、なおかつ光を使った測定法は非接触でリモートセンシングできることから、生体試料を傷つけず、生体そのものに及ぼすダメージも少ないためである。しかし、光学顕微鏡には、（1）分解能が、光の回折によって波長程度（サブミクロンオーダー）に制限されてしまい、分子のように波長より細かな試料は観察できない、（2）顕微鏡で厚みのある試料を観察するとピントのボケた像が重畳するので、試料を薄くスライスしなければならず、結果として試料を物理的に破壊しなければならない、（3）現在の顕微鏡では、分子レベルの結合、分解に伴う微小な屈折率や吸収率変化の分布を検出することができない、といった問題点がある。

そこで本研究では、これら光学顕微鏡が持つ問題点を解決し、生体分子の特性や状態を高速かつ再現性良く検出可能な光学システムの開発を試み、最終的には高分解能でかつ無染色の単一DNA分子のハイブリタイゼーションを直接検出できるような、高集積化DNAチップスキャナーへ応用可能なシステムの開発を目的とした。

この目的に沿って、次のようなシステムを考案し、基礎的な実験と共に実システムを試作した。まず、これまで研究を行ってきた共焦点レーザー走査顕微鏡の3次元分解特性に着目した。共焦点レーザー走査顕微鏡は、光源であるレーザーと試料内部に集光したレーザースポットならびに微小な点光検出器を共役な位置に配置した光学系で構成されており、厚みのある試料を物理的にスライスすることなく、その内部を観察できるようにした光学系である[1]。この技術を応用することで試料からの不要な散乱光に邪魔されず特定領域からの光のみを効率良く検出することが可能となり、結果としてシステム全体のS/N比を向上させることができる。さらに、表面プラズモンによる光電場の増強作用を用いて微量な試料を高感度に検出できる計測技術に着目した。そして、共焦点レーザー走査顕微鏡と表面プラズモンを用いたセンサー技術を融合させることにより、微量でかつ屈折率や吸収率の変化が小さい試料を高感度に検出可能なシステムを考案した。

2．表面プラズモンセンサーの原理

金属表面に光が入射すると、光の電場により金属中の自由電子は集団的な縦波振動を起こす。この振動がプラ

ズマ振動であり、またこの振動の量子をプラズモンと呼ぶ。このプラズモンのうち、金属の表面付近に振動が局在する表面モードを特に表面プラズモンと呼び、これは電荷密度波として金属表面を伝播する。金属の表面では、金属表面に接している媒質の影響を受け、原子の配列間隔や電子密度がバルク内部と異なる。このため、表面プラズモンの振動数は、バルクモードの振動数とは異なり、金属表面の状態に大きく依存したものになる。この表面プラズモンの分散関係を、図1に示す。図1より、表面

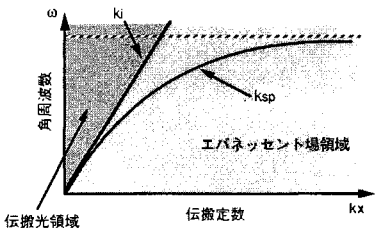


図1　表面プラズモンの分散曲線

プラズモンの伝播定数k_{sp}は、金属に接した媒質中での光の波数k_iよりも常に大きいことがわかる。したがって、表面プラズモンと同じ波数を持つ光は、金属に接した媒質中では伝播条件を満たすことができず、エバネッセント場となっている。これは、光を用いて表面プラズモンを励起するには、エバネッセント場を用いる必要があることを示している。このエバネッセント場を発生させる方法には、全反射を利用する方法[2)-4)]と、グレーティングを利用する方法[5)-7)]の2種類があるが、本研究では、前者の方法の1つであるKretschmann配置[8)]を使用して表面プラズモンの励起を行った。

金属表面に励起される表面プラズモンの波数k_{sp}は、金属に接した媒質の誘電率に依存する。k_{sp}が変化すると表面プラズモンを励起するための光の波数も変化するが、これは入射光の入射角が変化することと等価である。つまり、表面プラズモンが励起される時の光の入射角（励起角）を測定することにより、金属表面に接している媒質の屈折率を検出できる。表面プラズモンの励起角は、金属表面で反射される光の強度を測ることにより検出可能である。それは、表面プラズモンが励起されると、光のエネルギーが表面プラズモンへ吸収され、反射光強度が減少するからである。つまり反射光強度の角度分布を測定したとき、その強度が最も小さくなる入射角が表面プラズモンの励起角であり、そこから金属表面に接した物質の屈折率を測定することができる。

3．表面プラズモンセンサーの検出感度特性

基礎的な実験として、従来から提案されている表面プラズモンセンサーの光学系を試作して液体の屈折率の検出を行った[8]。実験光学系を図2に示す。屈折率1.515

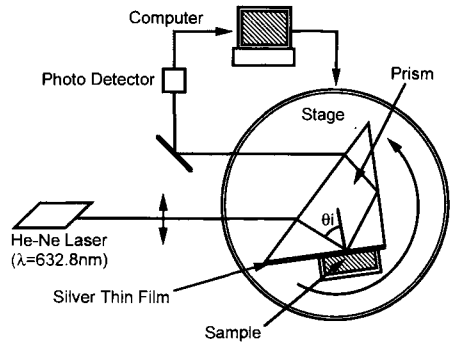


図2　表面プラズモンを用いた屈折率センサー実験光学系

の直角プリズムに厚さ55nmの銀薄膜を真空蒸着し、さらにこの銀薄膜に試料となる液体を密着させるように液体セルを設けてある。このプリズムにHe-Neレーザー（波長632.8nm）を入射し、試料が密着しているプリズム面において全反射させる。全反射した光は、プリズムのもう片側の面で再度反射したのち光検出器で光強度が検出される。プリズムは、コンピュータ制御された回転ステージの上に置かれており、このステージを回転させることによりレーザー光の入射角を変化させる。

純水とエタノールの混合液を試料とし、その混合比を変えながら測定した結果を図3(a)、(b)に示す。図3(a)は、

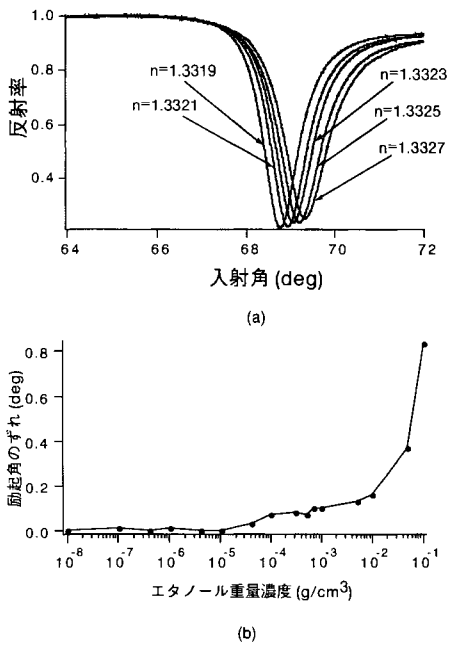


図3　水ーエタノール混合液の屈折率測定結果：
(a) 屈折率とプラズモンの励起角の関係,
(b) エタノールの重量濃度に対するプラズモンの励起角のずれ量

エタノールの混合比を変えて屈折率を1.3319から1.3327まで0.0002ずつ変化させた５つのサンプルについての測定結果である。この結果から、表面プラズモンの励起角は試料の屈折率に依存して変化しており、逆にプラズモンの励起角から試料の屈折率を検出可能なことがわかる。また(b)は、エタノールの重量濃度に対して、表面プラズモンの励起角をプロットしたものであるが、この結果からエタノールの重量濃度に対しては、1×10^{-5}[g/cm^3]程度まで検出可能であることがわかった。この濃度を屈折率に換算すると約0.00002であった。この検出限界は現在のところ、使用している回転ステージの角度分解能によって制限を受けており、さらに精度の高いステージを用いることにより理論上１～２桁向上する。

この手法の欠点は、レーザー光を平行光にして試料に照射しその反射光の強度のみを検出するため、２次元平面に均一に分布した薄膜のような試料はその屈折率を高感度に検出できるが、２次元平面に屈折率分布があるような試料に対しては、平均的な屈折率のみが測定されるだけで、その分布を測定することはできないことである。この問題を解決する手段として、表面プラズモン共鳴を利用した計測法を顕微鏡に応用した表面プラズモン顕微鏡が提案されている[9)10)]。しかしながらこれまでに提案されている表面プラズモン顕微鏡は、コリメートしたレーザー光で試料を一様照明し、その反射光の２次元的な強度分布を観察することを基本原理としているため、その分解能は光学系が持つ分解能では決まらず、表面プラズモンの伝搬長によって決定されてしまう[11)]。つまり一般には表面プラズモン顕微鏡の分解能は、光学系の分解能以下になる。そこでこれらの問題を解決し、光学系が持つ本来の分解能と表面プラズモンセンサーが持つ高感度特性を合わせ持つシステムを実現するために、集光レーザービームで局所的に表面プラズモンを励起し、生成されたプラズモンスポットを２次元走査することにより、試料の屈折率分布を高感度に測定可能なレーザー走査型表面プラズモン顕微鏡を考案した。

４．レーザー走査型表面プラズモンシステム

試作した光学系を図４に、また装置の写真を図５に示す。光源には，He-Neレーザー（波長632.8nm）を用いた。レーザー光をλ／４板を用いて円偏光に変換した後、ビームエキスパンダーでコリメートし、これを開口数(NA)が1.3の油浸対物レンズに入射した。試料は、厚さ170μmのカバーガラスに膜厚55nmの銀薄膜を真空蒸着し、その上に密着させた。この試料のカバーガラス側にマッチングオイルを滴下し、油浸対物レンズでレーザー光を銀薄膜と試料の境界面に集光した。サンプルで反射した光は再度対物レンズに戻るが、このとき対物レンズの瞳面に

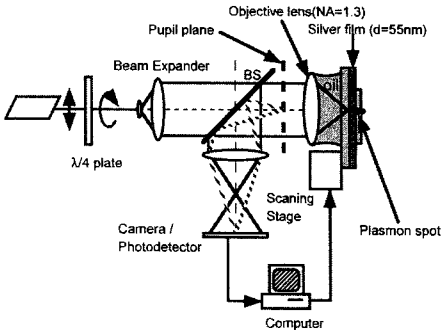


図４　レーザー走査表面プラズモン顕微鏡

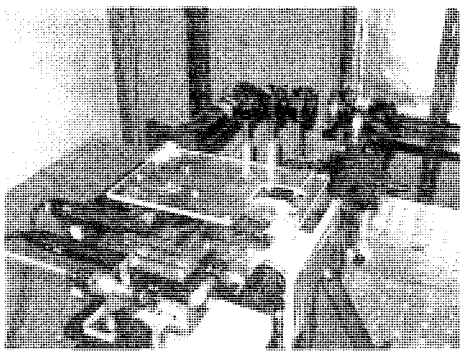


図５　試作したシステムの写真

は、反射光の角度分布が２次元像として生成されるので、それを結像レンズとCCDカメラを用いて観察すると反射光の角度分布が一度に測定できる。表面プラズモン共鳴が起こると、その励起角に対応する部分の反射率が低下するので、CCDで検出した画像には黒いリングが現れる。この黒いリングの半径は光の入射角に対応するので、リングの半径を計測することにより、ビームスポット位置

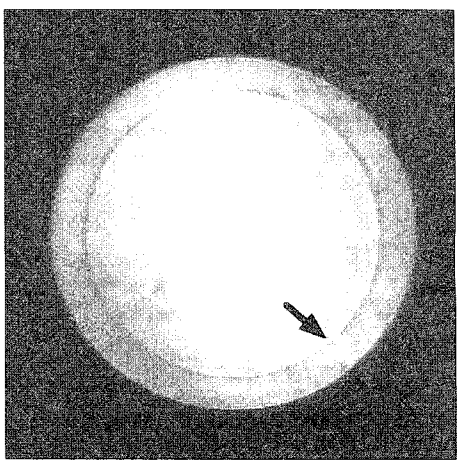


図６　表面プラズモン共鳴により
対物レンズの瞳面に生成される暗リング

の試料の屈折率を計測することができる。この操作をコンピュータコントロールされた自動ステージで試料を走査しながら行うことにより、試料の２次元的な屈折率分布を測定できる。図６に対物レンズの瞳の観察結果を示す。図６は、銀薄膜上にサンプルを付けなかった時の瞳の像で、空気に対する表面プラズモン共鳴状態に対応し、矢印で示したように黒いリングが観察できる。

５．レーザー走査表面プラズモン顕微鏡の分解能

試料としてカバーガラスを用い、空気とガラスの境界を使って試作した顕微鏡の分解能を測定した。図７に示

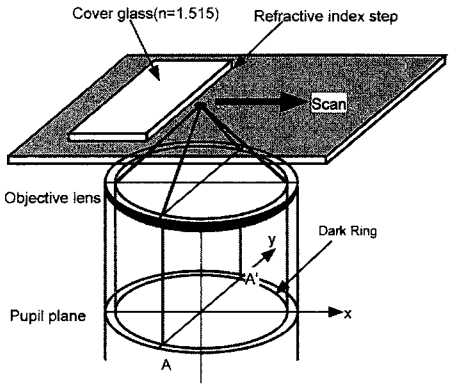


図７　ステップ応答計測光学系

すように、ダイヤモンドブレードカッターで端面を垂直に切断して研磨したカバーガラスをサンプルとして銀薄膜上に張り付け、空気－ガラスのエッジを用いてステップ応答特性を測定した。銀薄膜上にカバーガラスが密着していない状態、つまり銀薄膜に空気が接している状態では、表面プラズモンの共鳴条件を満足する光の入射角が対物レンズの入射角内に存在するため、対物レンズの瞳面には図６に示したような表面プラズモンによる暗リングが現れる。しかし、銀薄膜にカバーガラスが密着した領域にレーザースポットが入ると、N.A.＝1.3の対物レンズでは表面プラズモンの共鳴条件を満たすような光を入射させることができないため、瞳面には暗リングが生じない。したがって、空気における暗いリングに対応する箇所の光強度を測定しながら、レーザースポットが空気領域からガラス領域に移動するようにサンプルを走査すれば、測定した光強度は空気－ガラス境界面を境に暗から明へ変化する。このステップ応答特性を測定することにより、試作した顕微鏡の面内分解能を評価した。図８にその結果を示す。この結果をレイリーの２点分解能に換算すると0.7μｍの分解能に対応し、この値は、用いた対物レンズの分解能0.6μｍとほぼ等しいことを確認した。

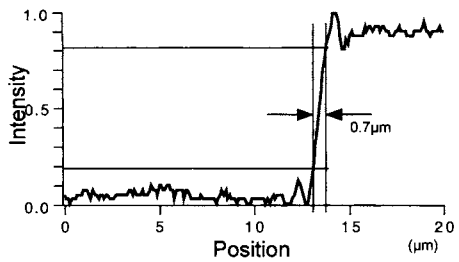


図８　レーザー走査表面プラズモン顕微鏡のステップ応答

６．おわりに

本研究で試作したレーザー走査型表面プラズモン顕微鏡は、表面プラズモン計測法が持つ高感度特性と、顕微鏡光学系が持つμｍオーダーの分解能を同時に合わせ持ち、試料の２次元的な屈折率分布を測定できることが確認できた。現在我々は、アキシコンプリズムをシステムに使用することにより、さらに光の利用効率を高めて装置のS/N比を向上させると共に、空間分解能も同時に高めたシステムを開発中である。

本研究で試作したシステムの空間分解能は、現在使用されているDNAチップのマイクロスポットの大きさに比べて十分に高い。したがって、本研究で試作した表面プラズモン顕微鏡をDNAチップのスキャナーに応用すれば、さらに高密度に集積したマイクロアレイを実現できるばかりか、蛍光ラベリングに頼らず、無染色DNAのハイブリタイゼーションを計測できるので、より正確にDNA情報を解読できるものと考える。これらDNAチップに代表されるマイクロアレイセンサー技術は近年非常に注目されているが、この分野の発展にはDNAを直接取り扱う医学・生物学分野だけでなく、マイクロドロプレットのスポッティング技術やアレイの測定技術など工学分野（特に光計測分野）の技術革新も必要とされ、全体として学際領域に位置する分野であるといえる。したがって、これらそれぞれの分野の研究者が互いに密に交流してこそ新しい成果が実を結ぶものと考える。本研究成果に対し、特に医学・生物学分野の方々のご意見等をいただければ幸いである。

７．謝辞

本研究の一部は、財団法人中谷電子計測技術振興財団の助成金によるものであり、ここに深く感謝いたします。

参考文献

1) T. Wilson and C. Sheppard, "Theory and practice of scanning optical microscopy," Academic Press (1984)
2) A. Otto, "Excitation of nonradiative surface plasma wave in silver by the method of frustrated total reflection," Z.

Phys., 216, 313 (1971)
3) E. Kretschmann, "Die Bestimmung optischer Konstanten von Matallen durch Anregung von Oberflachenplasmaschwingungen," Z. Phys., 241, 313 (1971)
4) Dror Sarid, "Long-range surface plasma waves on very thin metal films," Phys. Rev. Lett., 47, 1927 (1981)
5) R. W. Wood, "On a Remarkable Case of Uneven Distribution of Light in a Diffraction Grating Spectrum," Philos. Mag., 4, 396 (1902)
6) S. N. Jasperson and S. E. Schnatterly, "Photon-Surface-Plasmon Couppling in Thick Ag Foils," Phys. Rev., 188, 759 (1969)
7) G. P. Bryan-Brown, M. C. Jory, S. J. Elston and J. R. Sambles, "Diffraction grating characterization via t he excitation of surface plasmons," J. Mod. Opt., 40, 959 (1993)
8) H. Kano and S. Kawata, "Surface-plasmon sensor for absorption-sensitivity enhancement," Appl. Opt., 33, 5166 (1994)
9) B. Rothenhausier and W. Knoll, "Surface-plasmon microscopy," Nature, 332, 615 (1988)
10) E. M. Yeatman and E. A. Ash, "Surface Plasmon Scanning Miscroscopy," Proc. SPIE 897, 100 (1988)
11) C. E. H. Berger, R. P. H. Kooyman, and J. Greve, "Resolution in surface plasmon microscopy," Rev. Sci. Instrum., 65, 2829 (1994)

発表論文

1) Takuo Tanaka, Takashi Kawano, and Sadahiko Yamamoto, "Imaging properties of laser scanning differential phase contrast microscopy with four split photo detector", Technical Digest of Focus on Miscroscopy 2000 (Shirahama, Japan), pp. 67 (2000)
2) Takuo Tanaka and Sadahiko Yamamoto, "Comparison of aberration between axicon and lens", Optics Communications, (in printing)

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

研究責任者　国立大阪病院臨床研究部　部長　楠岡英雄
共同研究者　大阪大学医学部附属病院医療情報部　助教授　松村泰志
大阪大学医学部附属病院医療情報部　大学院生　佐伯英次郎
国立大阪病院臨床研究部　医師　大江洋介

1．はじめに

心不全は、心筋機能障害の終末的病像で、近年、その頻度は増大しつつあり、臨床上、大きな問題となりつつある。心不全に対する新たな治療手段の開発は焦眉の問題であるが、心不全の増悪化過程については未解明の部分も多く、根本的な治療法の開発には至っていない。近年、カルシウム依存性に活性化される蛋白分解酵素、カルパイン（calpain）が心不全の発生・進展に関与することが指摘され、特に、虚血後の再灌流障害においてその関与が明らかにされている。例えば、虚血再灌流によって心筋細胞内のトロポニンＩ[1]、スペクトリン[2)3)]、α-アクチニン[3)]、デスミン[3)]等の構造蛋白が変化を受けること、これらの構造蛋白の変化は低カルシウム再灌流により抑制されること[3)]、スペクトリン、α-アクチニン、デスミンの変化はカルパインに比較的特異性の高い阻害剤の投与によって抑制されること[3)]などから、カルパインがこれら構造蛋白の変化に介在している可能性が示唆されている。しかし、カルパインの生理的・病態生理的意義には不明な点も多く、その原因に、細胞内での活性の測定系が確立されていないことが挙げられる。例えば、心筋細胞内のカルシウム濃度は拡張期で数十ｎM、収縮期で１μM程度であるのに対し、in vitroで報告されているカルパイン活性化に必要なカルシウム濃度は10μM前後と心筋細胞内に比し極めて高値である[4)]。また、細胞内にはカルパインの内因性阻害蛋白であるカルパスタチン（calpastatin）が十分量存在し[5)]、心筋可溶性分画ではカルパスタチンを除かなければカルパイン活性は測定できないとされている。したがって、カルパイン活性とカルシウム濃度の両者を、同時に、細胞内で測定するシステムが開発されれば、病態における細胞内カルパイン活性の変化とカルシウム濃度との関連が明らかとなり、ひいては、カルパインの制御による心不全治療薬の創生にも役立つものと考えられる。

最近、カルパインの活性測定用試薬として、t-butoxycarbonyl-Leu-Met-7-amino-4 chlorimethylcoumarin (Boc-Leu-Met-CMAC) が開発され、これを用いた肝細胞における細胞内カルパイン活性の計測[6)]等が行われている。Boc-Leu-Met-CMACは、細胞膜を透過し、チオール化して細胞内に留まる。Boc-Leu-Met-CMAC自身は蛍光を発しないが、カルパインによりメチオニンとの結合が切断されMAC-thiolとなると強い蛍光を発する。この蛍光を測定することにより、カルパインの活性化を計ることが可能となる。

本研究では、カルパイン活性蛍光指示薬（Boc-Leu-Met-CMAC）とカルシウム蛍光指示薬を同時に細胞内に導入し、カルパイン活性とカルシウム濃度の両者を、同時に、細胞内で測定するシステムの開発を目的とした。

2．方法

2－1．カルパイン活性、カルシウム濃度の測定

カルパイン活性の測定は、カルパイン活性蛍光指示薬（Boc-Leu-Met-CMAC）を細胞内に負荷し、行った。細胞内カルシウム濃度の測定は、通常のカルシウム指示蛍光色素を用いた。すなわち、細胞膜透過性のある、色素のアセトキシメチル体を細胞に負荷し、細胞内での脱アセチル化により膜透過性のない色素を遊離させた。カルシウム指示蛍光色素には、２波長で励起し、蛍光を１波長で測定する型、１波長で励起し、２波長で測定する型、１波長で励起し、１波長で測定する型の３型がある。前２者は２波長による蛍光強度の比を用い、カルシウム濃度の絶対的計測が可能であるが、最後の型は、カルシウム濃度の相対的変化しか求められない。後に述べる測定

系の制約から、カルパイン活性との同時計測においては、カルシウム濃度測定には、励起１波長、計測１波長分しか割り当てられないため、相対計測のみが可能であった。しかし、Boc-Leu-Met-CMACと２波長励起・１波長計測型の色素の１種（フラ２；fura 2）には光学特性に類似性があるため、Boc-Leu-Met-CMACの代わりにフラ２を細胞内に負荷することにより、１波長励起・１波長測定型の色素（フラレッド；fura red）の較正を行い、これにより相対計測値からカルシウム濃度の絶対値を推定した。

２－２．測定システム

測定システムの主要部は、倒立型蛍光顕微鏡（ニコン社製）と分光光度計（SPEX Industries, Inc. NJ, USA）より成る。その概略を図１に示す。

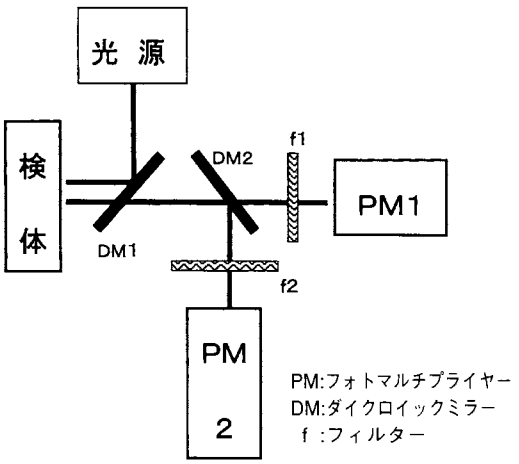


図1 測定システムの模式図

ハロゲンランプを光源とし、単波長光(360nm、430nm)をフィルターにより取り出し、４秒ごとに切り替えた。これを、光ファイバーにより、倒立顕微鏡に導き、ステージに置いた、蛍光色素などを負荷した単離心筋細胞に１秒間照射した。蛍光は、対物レンズより集光し、430nmのダイクロイックミラー（ＤＭ１）を透過した光を510nmのダイクロイックミラー（ＤＭ２）により分離した。透過光は520-560nmでフィルター後（ｆ１）フォトマルチプライヤー（ＰＭ－１）で計測し、反射光は465-495nmでフィルター後（ｆ２）、フォトマルチプライヤー（ＰＭ－２）で計測した。

位相差顕微鏡で観測する細胞を一つを選び、これをスリットで囲みこの細胞から発生する蛍光のみを計測した。色素を導入していない細胞自体の蛍光をこの系で計測したところ無視しうる程であった。そこで対象とする細胞の周囲の蛍光を同じスリットを通して計測し、この値をバックグラウンドとした。

２－３．実験プロトコール

モルモット心臓より単離した心筋細胞に、カルシウム指示薬であるフラレッド（Molecular Probes Inc, Oregon, USA)、または、カルパイン指示薬（Boc-Leu-Met-CMAC）を導入した。フラレッドとBoc-Leu-Met-CMACの同時導入では、まずフラレッドを細胞に導入した後、Boc-Leu-Met-Cを導入した。

蛍光色素を導入した細胞は、蛍光強度が安定するまで通常の灌流液にて灌流後、細胞内Ca濃度を上昇させるために、液中のナトリウムをコリンで置換した灌流液（Na free液）で灌流した。このプロトコールに従って、フラレッドのみを導入した細胞、Boc-Leu-Met-CMACのみを導入した細胞、両者を導入した細胞の蛍光を経時的に測定した。

３．結果

心筋細胞にフラレッドのみを取り込ませた場合、430nmで励起して発生した蛍光のPM-１での計測値は、灌流液をNa free液に置換後1350秒後から上昇を開始し、さらに1403秒後ピークとなった。この時の想定値は対照時の139％であった。一方、360nmで励起して発生した蛍光のPM-2での計測値は、430nmによる蛍光がピークの時でも対照時の105％に留まっていた。

Boc-Leu-Met-CMACのみを取り込ませた細胞では、灌流液置換後、PM-2で計測された信号は、置換後947秒から上昇を開始し、さらに592秒後ピークとなった。この時の増加は対照時の116％であった。即ち、Boc-Leu-Met-CMACの蛍光 は対照時ではほとんど変化せず、細胞内カルシウム濃度が上昇したと思われる時期から急速に増大する事が明らかになった。一方、PM-1で計測された蛍光は、他方のピーク時においても対照時の99％であった。

フラレッドとBoc-Leu-Met-CMACの両者を導入した心筋細胞においては、灌流液置換後しばらく双方の蛍光は一定であったが、772秒後に細胞内カルシウム濃度が上昇を開始し、その160秒後、細胞内カルパイン活性の上昇が認められた。

一方、２波長型カルシウム指示薬であるフラ２とフラレッドを導入した単離心筋細胞にて、低カルシウム状態、高カルシウム状態を作成し、その際の蛍光測定より、フラレッド単独の蛍光強度から細胞内カルシウム濃度の推定式として、以下の式を得た。

細胞内カルシウム濃度 ＝ 77*(I/Ic-0.80)/(1.72-I/Ic)　(nM)

但し、Ｉは測定蛍光強度、Icは対照時の蛍光強度。

上記の式により、カルパイン活性化の開始時の細胞内カルシウム濃度を推定したところ、451nMと推定された。

4．考察

フラレッド、またはBoc-Leu-Met-CMACを単独で導入した細胞において、細胞内カルシウム濃度を上昇させ、カルパインの活性化を図っても、それぞれの変化は他方の測定結果に影響を及ぼさないことが本実験により確認された。すなわち、本システムによって、細胞内カルシウム濃度とカルパイン活性を細胞内において、相互に干渉することなく同時に測定できることが確認できた。

また、Boc-Leu-Met-CMACと特性の似た２波長型カルシウム指示薬であるフラ２をフラレッドと併用することにより、フラレッドの１波長測定データから細胞内カルシシウム濃度の推定式を求め得た。これによりカルパインが活性化される際の細胞内カルシウム濃度を推定することが可能となった。

Boc-Leu-Met-CMACを導入した心筋細胞では細胞内Ca濃度上昇にともなってその蛍光強度が上昇した。Boc-Leu-Met-CMACは本来非蛍光性の物質であるが、本研究に用いたBoc-Leu-Met-CMAC溶液はわずかの蛍光を有し、MACの混入が疑われた。MACは細胞内でチオール化されMAC-thiolとなるとその蛍光が増強する。従って、Boc-Leu-Met-CMACが導入された心筋細胞の蛍光強度上昇の原因は、Boc-Leu-Met-CMACが何らかのプロテアーゼによる分解を受けてMACとなる、あるいは、MACがチオール化されMAC-thiolとなる、との二つの可能性がある。後者の可能性を除外するため、MACのみを導入した細胞で、灌流液をNa free液に置換し、明らかなカルシウム過負荷の状態にしたが、その蛍光強度は上昇しなかった。この事はMACのチオール化は細胞内カルシウム濃度の上昇に伴っては促進されない、すなわち、本実験における細胞内カルシウム濃度上昇直後のPM-2の信号増加はMACのチオール化によって引き起こされたものでないことを示している。この事からBoc-Leu-Met-CMACを導入した心筋細胞の細胞内カルシウム濃度上昇後に観察されたPM-2における蛍光強度の上昇は、Boc-Leu-Met-CMACが何らかのプロテアーゼによってMACに分解されたことによって起こったと結論できる。

この蛍光強度上昇が細胞内カルシウム濃度上昇が端緒となって起こっている事から、このプロテアーゼはカルシウム依存性プロテアーゼである可能性が高い。また、Boc-Leu-Met-CMACがカルパインの特異的な基質である事が示されている[6)]。従って本実験で観察されたPM-2における信号の増加は細胞内カルパインが活性化された事を示すと判断される。

心筋細胞内でカルパインの活性化に必要なカルシウム濃度を求めることは重要である。今回の実験では、フラレッドの蛍光は単波長で励起し、単波長で計測されたため、その値からカルシウム濃度の絶対値を求めることはできなかった。しかし、Na free液にてもたらされたカルシウム過負荷時のピークのフラレッドの蛍光強度が対照時の179％であったことに対し、カルパイン活性化時の値は137％と低いこと、この時の細胞形状は強度のカルシウム過負荷の存在を示唆しないことから、心筋細胞内でのカルパイン活性化に必要なカルシウム濃度はかなり低い値であると推測される。この値は、従来、in vitroにて測定されてきた活性化に必要なカルシウム濃度よりはるかに低く、細胞内におけるカルパインの活性化には未だ解明されていない部分がまだ多くあると思われる。

5．まとめ

本研究において作製したシステムにより、カルシウム依存性に活性化される細胞内蛋白分解酵素であるカルパインの活性化状況と、細胞内カルシウム濃度を、細胞内にて同時に測定することが可能となった。さらに、他のカルシウム指示薬を用いた校正を加えることにより、細胞内カルシウム濃度の絶対値の推定も可能であることが示し得た。

参考文献

1) Gao WD, Atar D, Lui Y, Perez NG, Murphy AM, Marban E. Role of troponinI proteolysis in the pathogenesis of stuuned myocardium. Circ Res 80:393-399, 1997.

2) Yoshida K, Inui M, Harada K, Saido TC, Sorimachi Y, Ishihara T, Kawashima S, Sobue K. Reperfusion of rat heart after brief ischemia induces proteolysis of calspectin by calpain. Circ Res 77:603-610, 1995

3) MastumuraY, Saeki E, Inoue M, Hori M, Kamada T, Kusuoka H. Inhomogenious disappearance of myofilament-related cytoskeltal protein in stunned myocardium of guinea pig. Circ Res 79:447-454, 1996

4) Melloni E, Salamino F, Sparatore B .The calpain activation system in mammalian cells:propaties and possible functions. Biochimine 74:217-223, 1992

5) Gopalakrishna R, Barsy SH. Hydrophoric association of calpains with subcellular organelles: Compartmentalization of calpains and the endogenous inhibitor calpastatin in tissue. J Biol Chem 261:13936-13942, 1986

6) Rosser BG, Powers SP, Gores GJ. Calpain activity increases in hepatocytes following addition of ATP. J Biol Chem 268:23593-23600, 1993

発表論文等

1) Matsumura Y, Saeki E, Otsu K, Moria T, Takeda H, Kuzuya T, Hori M, Kusuoka H. Intracellular calcium level required for calpain activation in a single myocardial cell.

J Mol Cell Cardiol (in press)
2) Kusuoka H. The role of proteases in myocardial stunning and hibernation. at the ISHR symposium of 18th National Congress of Cardiology in Argentina, Buenos Aires, Argentina.

携帯型酸素解離曲線自動解析装置の開発

研究責任者　大阪大学大学院医学系研究科　助教授　今　井　清　博

1．はじめに

血液またはヘモグロビン溶液の酸素解離曲線は、ヘモグロビンの酸素飽和度の溶存酸素の分圧（または濃度）に対する依存性を表す曲線である。それは、血液やヘモグロビンの酸素運搬機能の評価、ヘモグロビンの生理機能発現の分子論的機序の解明、異常ヘモグロビン症の診断と臨床症状発現機序の解明、赤血球酵素異常症の診断、輸血用保存血液の機能評価、患者の組織酸素化状態の把握、薬剤投与時のヘモグロビン機能の変化、人工血液材料の機能評価などに有用である。近年、酸素解離曲線は自動解析装置[1)~4)]を用いて簡便に得られるが、酸素分圧を検出する酸素電極とその増幅器、酸素飽和度を検出する分光光度計、X-Y記録器などを用いるために、装置は大型で重く、研究室や検査室での据え置きの状態でしか使用できない。しかるに、一人で運搬可能な、いわゆる携帯型解析装置が開発されれば、従来の装置より少ない実験室スペースで同等の用途に用いられるほか、野外での測定、たとえば野生動物血液の生理機能の研究、事故や遭難の現場での呼吸機能の診断に、また、特殊環境下での測定、たとえば高地適応の呼吸生理学、高圧酸素治療の影響、宇宙飛行士の呼吸機能のモニタリング、運動負荷と呼吸機能の研究（スポーツ医学）などの目的に、極めて有用であると考えられる。

筆者は、以前に、単一の酸素電極を用いて酸素解離曲線を自動記録する方法を考案した[1)]。この方法では分光光度計が不要なので、装置を小型化・軽量化できる反面、解析が面倒であるという欠点があった。しかるに、近年の電子機器やコンピュータの高性能化とダウンサイジングによって、この欠点が克服できる見込みがついてきた。そこで、今回、その原理に基づく携帯型装置を試作して、性能をテストすることを意図した。

2．測定原理

液相（ヘモグロビン溶液）と酸素分圧が零の気相（純窒素）が接しているとき、液相から気相への酸素の拡散に伴う液相中の酸素分圧の時間変化が、液相中に存在するヘモグロビンの酸素結合特性によって影響を受けるという現象を利用する。

いま、図1のように、セルに十分酸素で飽和したヘモグロビン溶液（体積V）を入れ、純窒素を流して気相中の酸素分圧を零に保つ。磁気攪拌器で溶液を一定速度で

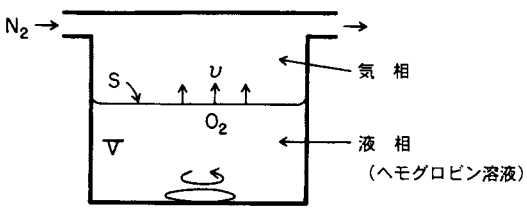


図1　酸素拡散の模式図

攪拌すると、溶存酸素が徐々に気相中へ拡散する。このとき、溶液に挿入した酸素電極を用いて液相中の酸素分圧（p）を検出し、それの時間変化をコンピュータで取り込んで記録する。物理的に溶解している酸素の量、ヘモグロビンと結合して溶解している酸素の量、および両者の和をそれぞれχ_f, χ_b, χ_tとする。液相から気相への単位界面面積当たりの酸素の拡散速度vは、$v = kp$（kは比例定数）で与えられる。界面面積をS、時刻をtで表すと、

$$-d\chi_t = Svdt = kSpdt \qquad (1)$$

となる。ヘモグロビンの酸素飽和度をY、ヘム当たり濃度をC_hとすると、$\chi_b = C_h VY$である。従って、Henry定数をλとする（$\chi_f = \lambda pV$）と、

$$d\chi_f = d\chi_t - d\chi_b = -kSpdt - C_hVdY \quad (2)$$

$$dp = d\chi_f/\lambda V = -(kS/\lambda V)pdt - (C_h/\lambda)dY \quad (3)$$

となる。(3)式を変形すると、

$$\frac{C}{2.303\lambda}\frac{d(1-Y)}{p} = d\left[\log\left(\frac{p}{p_0}\right) - \left(-\frac{t}{2.303\tau}\right)\right] \quad (4)$$

となる。ここに、$\tau = \lambda V/kS$である。(4)式を解いて、$t=0$にて$Y=1, p=p_0$なる初期条件を適用すると、

$$1-Y = \frac{2.303\lambda p_0}{C}\int_{t=0}^{t=t}\frac{p}{p_0}\,dZ \quad (5)$$

となる。ここに、$Z = \log(p/p_0) - (-t/2.303\tau)$である。$t$が十分小なるときは、ヘモグロビンからの酸素解離がほとんど起こらないので$d(1-Y) \sim 0$、したがって、$\log(p/p_0) \sim -t/2.303\tau$（図2の直線）となる。$t$が増加してヘモグロビンが実質的に酸素を解離し始めると、$\log(p/p_0)$ vs. tプロットは直線より上方へずれる（図2）。$t\to\infty$, $p\to 0$, $Y\to 0$のとき、(5)式より$C_h/2.303\lambda p_0 = A$（Aは図3に示した面積）となり、結局、ある時刻tにおけるYは

$$Y = 1 - \frac{1}{A}\int_{t=0}^{t=t}\frac{p}{p_0}\,dZ \quad (6)$$

によって与えられ、図2，図3のグラフで表現される数値解析を実行することによって、pとYの関係が得られる。C_h, λ, v, k, S, Vなどの値は不要である。

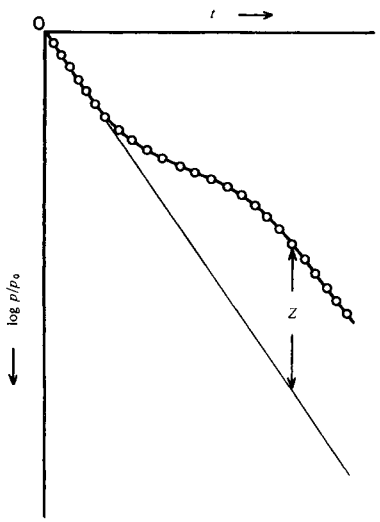


図2　液相酸素分圧時間変化のセミログプロット
○記号は観測されたデータポイント。細い直線は初期の直線部分の延長線。Zは観測されたプロットと延長線との間の縦軸方向の距離（本文参照）。

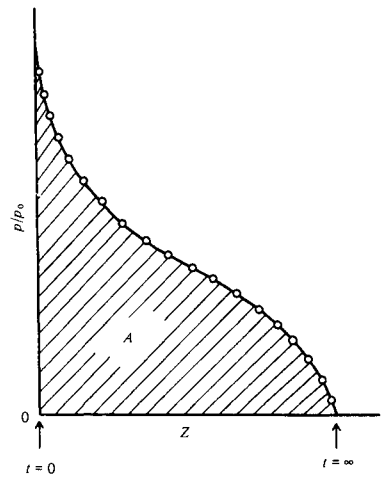


図3　p/p_0 vs. Zプロット
○記号は図2と同様。プロットと座標軸で囲まれる面積は(6)式のAを表す。

3．装置の設計・試作

装置の小型化、軽量化を達成する方策として、100V交流を発生する充電式バッテリー（松下電工、ERV713-H）、ノート型パソコン（富士通、FMV-NE36A3）、小型窒素ボンベ（3.4 ℓ，純度99.9995%）、小型圧電式水流ポンプ（極光、バイモルポンプBPH-4141）、手製微小電圧直流増幅器などを使用した。

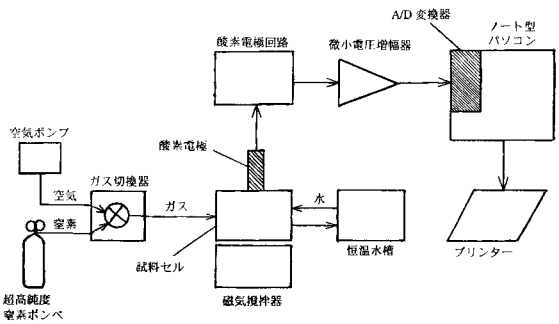


図4　装置のブロックダイアグラム

図4は装置の構成を表すブロックダイアグラムである。空気ポンプは熱帯魚飼育用のものを、ガス切換器は2個の医療用三方活栓を組み合わせたものを、磁気攪拌器は市販の小型のものを、それぞれ用いた。恒温水槽としては、発泡スチロールの箱に水を満たしたものを用い、それをバイモルポンプでセルに循環させた。プリンターは本装置には含めず、研究室で結果をプリントアウトする際に用いる。

図5は、特別に設計したセルの構造を表す。本体は18-8ステンレススティール製で、側壁には恒温水槽からの水を通す穴が通っている。酸素電極はClark型で、酸素に

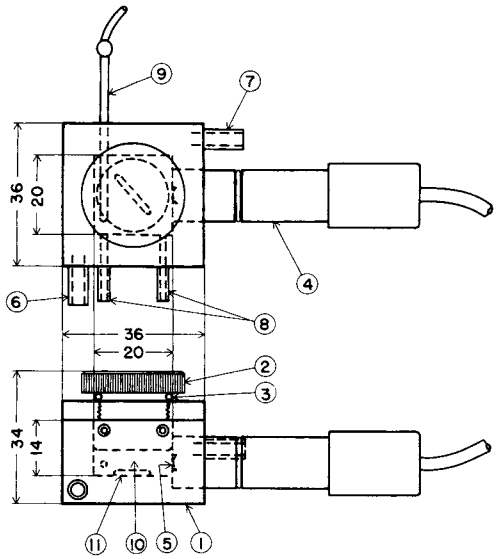


図5　セルの構造

上は平面図、下は側面図。①本体、②蓋、③ゴムO-リング、4酸素電極、⑤酸素電極先端部、⑥恒温循環水入り口、⑦循環水出口、8ガスの入り口と出口、⑨サーミスター・プローブ、⑩ヘモグロビン溶液、⑪撹拌子。本体は18-8ステンレススティールでできている。

感応する先端部は側壁の穴から溶液に露出している。必要なヘモグロビン溶液の量は3 mlである。

酸素分圧信号は微小電圧直流増幅器で増幅の後、12-bit A/D変換器を経てコンピュータに実時間で取り込み、メモリーに記憶させた。データのサンプリングは、一つ前のpの値の一定数倍（例えば、0.9倍）になったとき、次のpを取り込むようにした。実時間収集と解析のためのプログラムはBASIC言語で記述した。

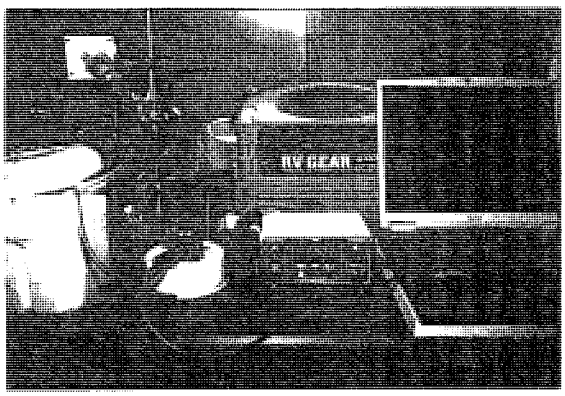


図6　試作機の主要部

中央左寄りに磁気撹拌器（白）とセルが、右寄りに微小電圧増幅器が見える。奥は充電式バッテリー、右端はパソコン、左端は恒温ボックスで、内部の水は上方のクランプに固定されたバイモルポンプ(白)でセルに循環される。窒素ボンベは見えない。

図6は試作した装置の写真である。現段階では、各パーツを実験台の上で接続しただけであり、性能テストには十分であるが、実用化にはこれらを一つの筐体に収めることになる。

4．性能テスト

図7は、実際の実験データから作成した図2のセミログプロットをコンピュータ画面に表示したものである。

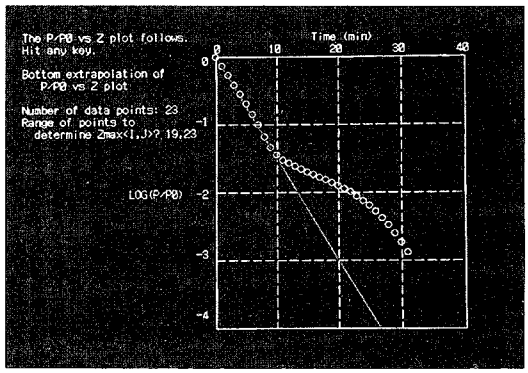


図7　パソコンの画面に表示された酸素分圧時間変化のセミログプロット

○記号は測定中にサンプリングされたデータポイント。直線は初期の直線部分の延長線

サンプリングされた点の他に、初期の直線部分を外挿した直線が示されている。図8は、図7のデータから作成したp/p_0 vs. Zプロット（図3）である。図9は最終的に

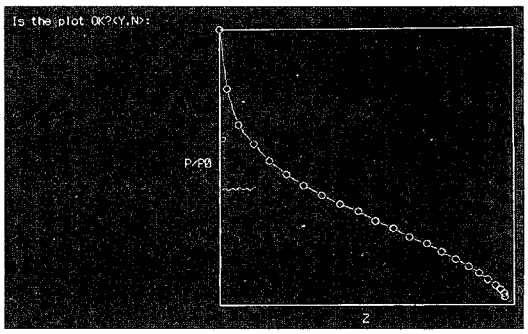


図8　パソコンの画面に表示されたp/p_0 vs. Zプロット

○記号は図7と同様。

得られた酸素解離曲線をY vs. log pプロットとして表したものである。左下に、50%酸素飽和度でのpの値（p_{50}）とHill係数（n_{max}; Hill plot (log [Y/(1-Y)] vs. log p）の最大勾配）が与えられている。以上は、解析の経過が把握できるようにグラフを画面に表示させる動作モードの場合であるが、これらの途中経過を一切表示させないで最終結果（図9）のみを表示させるモードでは、測定後、瞬時

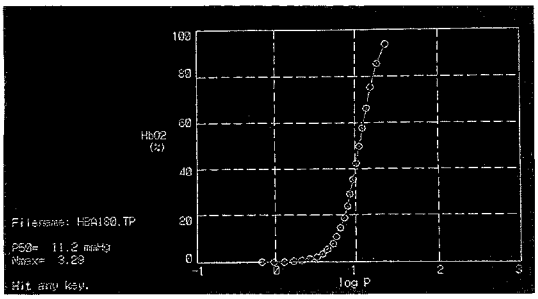


図9　パソコンの画面に表示された酸素解離曲線

Y vs. log p プロットで表現している。左下にP_{50}とn_{max}の値が表示されている。

にして結果が得られる。

種々の濃度のヘモグロビン溶液と、種々の希釈倍率の赤血球浮遊液を用いて酸素解離曲線を測定し、それらから得たP_{50}とn_{max}の値を表1にまとめた。これらのパラメータ値は、通常の方法で得た値に類似している。

表1　酸素解離曲線解析結果

	ヘム濃度 (μM)	希釈倍率	P_{50} (mmHg)	n_{max}
ヘモグロビン溶液	60		11.3	3.6
0.1 M phosphate	120		10.3	3.4
pH 7.4	180		11.2	3.3
25℃	300		11.5	3.2
赤血球浮遊液	60	×150	21.0	2.8
等張 phosphate	180	× 50	22.0	3.0
pH 7.4	600	× 5	21.7	2.5
37℃				

5．試作機の評価

今回の試作機の大まかな仕様を表2にまとめた。酸素解離曲線の測定所要時間と電源持続時間とから、一回の充電で、約6本の曲線を測定できることがわかる。重量に占めるおもなパーツはポータブル電源（充電式バッテリー）と窒素ボンベである。総重量15.5 kgというのは一人で運搬できる範囲ではあるが、自動車を用いればより機動性が増し、また、ライター用電源が使えるので、電源容量の制限も緩和される。　測定所要時間を短縮することは、酸素電極の応答時間のために困難である。原理から理解できるように、本装置の測定精度は、p_{50}付近での溶存酸素濃度とヘモグロビンに結合する酸素の濃度（すなわちヘム当たり蛋白濃度の半分）とが同程度な場合に高くなる。表1での実験条件はその場合に近い。

表2　試作機の仕様

試　　料：Hb 溶液または赤血球浮遊液（必要量　3 ml）
測 定 時 間　：30 min／試料
総消費電力　：25 W (100V)
電源持続時間：3.2 hrs
総　重　量：15.5 kg

	重量 (kg)	消費電力 (W)
セル＋磁気撹拌器	0.9	1
酸素電極増幅器	1.3	18
ノート型パソコン	3.2	48（自給式）
超高純度窒素ガス（3.4 l）	2.8	
バイモルポンプ	0.2	3
エアポンプ	0.1	3
ポータブル電源（100 V, AC）	6.5	
その他	0.5	
合　　計	15.5	25（パソコンを除く）

6．まとめ

本研究によって、以前に考案された酸素解離曲線自動測定法を実現する携帯型装置が試作された。それは従来の別の原理に基づく据え置き型の装置に比べてはるかに小型、軽量、低コストである。そして、それを自動車に搭載することによって、さらに機動性が増し、長時間動作が可能となる。本装置は、従来の装置と異なり、赤血球浮遊液から全血と同等なデータを簡便に得られるのが特長である。この特長は、全血の解離曲線を簡便に測定する手段のない現在の状況において、極めて有意義である。

参考文献

1) Imai, K.: "Allosteric Effects in Haemoglobin", Cambridge University Press, Cambridge and London (1982).
2) 今井清博：「酸素平衡曲線の自動記録技術。気体リガンド結合の精密測定(1)」、蛋白質核酸酵素 44, 76-83 (1999).
3) 今井清博、Mohammed Mawjood, A.H.：「酸素平衡曲線の自動記録技術．気体リガンド結合の精密測定(2)」、蛋白質核酸酵素 44, 82-88 (1999).
4) Asakura, T.: "Automated method for determination of oxygen equilibrium curves of red cell suspensions under controlled buffer conditions and its clinical applications", Clin. Care Med. 7, 391-395 (1979).

学会発表

1) 今井清博：「単一酸素電極によるヘモグロビン酸素解離曲線の自動測定」、第93回近畿生理学談話会、大阪市立大学医学部、平成12年8月25日．
2) 今井清博：「単一酸素電極によるヘモグロビン酸素解離曲線の自動測定．(2)携帯型装置の試作」、日本生物物理学会第38回年会、東北大学、平成12年9月11日－13日．

電気的細胞接着度測定法(ECIS)を用いた癌細胞浸潤度に関する定量的検討

研究責任者　東京大学腎臓・内分泌内科　　助手　野入英世

はじめに

癌細胞が隣接臓器への浸潤や遠隔臓器への転移を起こし、これが生命予後を決定することが少なくない。癌細胞の悪性度は科学技術の進歩にも関わらず、依然として形態学に依存しており、症例ごとの癌細胞の進展度や転移度の強弱を定量的に検討する方法は確立されていない現状である。一方、臨床の現場では、できるだけ速く、正確に、癌細胞の悪性度を定量的に評価できる方法が要求されている。病理学的診断の迅速性に対する臨床家の不満は根強く、癌細胞組織を提出してから数週間してから詳細なレポートがやっと返却され、その頃には再度癌病巣の進展度評価を要することもしばしば経験される。また、形態的診断の限界は、実際の症例ごとの進展速度を非常に予測しにくいという点である。このような問題点を克服するために、癌組織標本の動的な評価法確立をめざすことが本研究の主な目的である。

Electrical cell-substrate impedance sensing system (ECIS)法は[1]、細胞動態の微細な変化を電気的に検出しうる大変鋭敏な方法として、近年共同研究者のキース（C. Keese）らによって開発及び確立され、現在我々の研究室で稼働中である。症例ごとの癌細胞組織の浸潤能を解析するには、最大公約数的ないわゆるゲノムプロジェクトによるアプローチのみでは不十分で、より高次元な整合性のとれたホメオダイナミクスからのアプローチ、即ちフィジオーム（physio=life or nature, ome=as a whole entity）の側面からのアプローチが重要である。このような観点からECISの臨床応用への試みが期待されている。まず、ECISの原理を概説し、現在検討中の細胞浸潤に関するデータ及び、ECISの応用として最近我々のグループが発表した肺微小血管内皮細胞に関するデータを紹介する。

ECISの原理

一定の塩濃度とアミノ酸組成の培養液中では、金電極により一様な交流電流が陽極・陰極間に形成される。ここに細胞が接着すると、細胞は絶縁体となるためこの電流を遮りインピーダンスの変化が生じる。一定条件下では、細胞もしくはcell monolayerが作り出すインピーダンスは一定であるのに対し、これに対する温度・ｐＨ・生理活性物質の僅かな変化が、細胞の微小な形態変化を生じるためインピーダンス値の変動として表現されうる。この変動をとらえやすくするために本システムでは微小金電極上に細胞培養する手法をとっている（図１）。こ

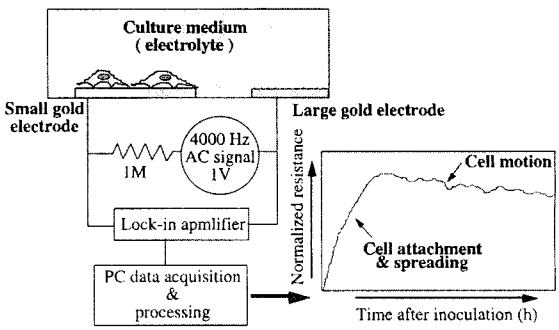


図 1. ECIS(Electric cell-substrate impedanc sensing system)

こで、二つの電極間の大きさを著しく異なるよう設定することで、インピーダンスは電極面積に反比例するため対電極のインピーダンスは完全に無視することが可能で、更に微小電極上の溶液のインピーダンスは電極面積の平方根に反比例するため殆ど無視しうると考えられ、微小電極がＲＣ回路のインピーダンスとなると理論的にみなされる。更に、1 megaΩの大きな抵抗を置くことによっ

て、通常1V、4000 Hzで細胞に約1μAの微弱な安定した電流が流れる仕組みになっている。

細胞のインピーダンスを特定するために細胞は厚みのない円形体で、細胞下面では電流は放射状に広がり、Z軸方向の電流密度は変わらないものと仮定すると、細胞があることによって電流がどの程度減衰するかを、細胞がない状態での電極固有のインピーダンスとcell monolayerがある状態でのインピーダンスをオームの法則に基づいて微分方程式に表すことができる（Giaever and KeeseのPNAS 88:7896, 1991参照）。この複雑な方程式の解は、実はこれに関わる二つのパラメータによって規定され、それは細胞間隙のresistanceを規定するRbと、細胞の電極面と電極間のresistanceを規定するα (= r (ρ/h)$^{1/2}$：細胞と電極間の幅（h）、培養液の抵抗値（ρ）、細胞の半径（r））の二つのパラメータである。

実際に電極を予め適切なマトリックスでコートし、細胞のsuspensionを電極のウェル内に入れると、図２のように細胞が電極と接着し更に時間とともに接地面が広がるためインピーダンスが上昇することがわかる。一方、

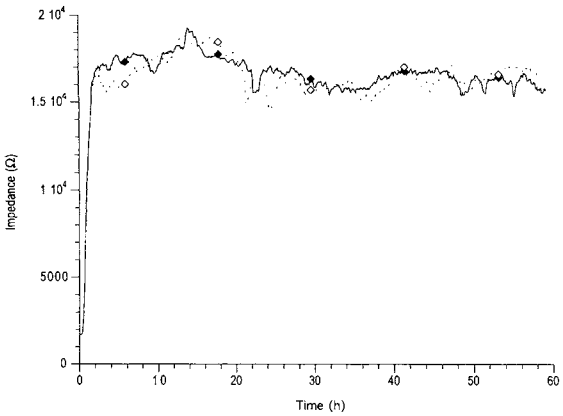


図 2. Typical recording of cell attachmennt mode in ECIS

キャパシタンスは細胞の電極面と電極までの高さに相当し、これは細胞と基質の接着がすすむに従って狭くなるため値は減少する。cell suspensionとして電極上にのった状態からまず僅かな数のfocal adhesionが形成される。その段階では細胞接着が生じ始め、インピーダンスとしては値が増加するが、細胞の電極面と電極の隙間ははじめはかなり空いているためキャパシタンスとしては時間と共にむしろ低下を示すことになる。我々が普段顕微鏡下で観察しているのと同様に、時間とともにfocal adhesionの数が増し、安定に電極面へ細胞が接着し、定常状態へ至る状態を反映している。

癌細胞浸潤モデルへの応用

癌細胞が疑われるヒト組織での解析の前実験として、大腸癌由来の不死化培養細胞であるDLD-1、Colo320を用いた実験、ラット腸管上皮細胞での実験を行なってきた。本システムでは、特に臓器を選ばないが手始めに消化器系細胞で行ってみることにした。ちなみに血液系浮遊細胞でも測定可能である。

DLD-1とColo320は、いずれもヒト大腸癌由来の細胞株であるが、その形状はかなり異なっており、DLD-1は約8割は接着型の形態をとるのに対して、Colo320は5割以上が浮遊状態で増殖する。血管内皮細胞を電極上へ予め培養しておき、そこへDLD-1もしくはColo320を入れ、co-cultureとして血管内皮細胞へ接着する時間的な早さ、接着のパターンを割り出すことができないかを検討した。当初実験計画した時点では、Boydon chamberによるmigration assay法を基本にして行う方法を提案したが、この方法では培養細胞系で取り扱うには煩雑な割に安定した情報量が少なかった。そこで単純に重層する方法でのco-culture法で検討を継続した。図３Aに示したように

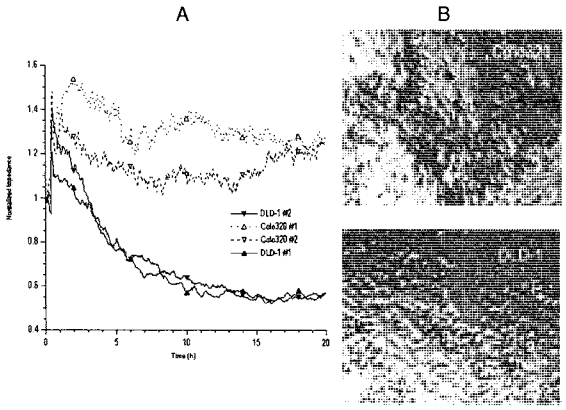


図 3. 血管内皮細胞に対する大腸癌細胞の接着の相違

いずれの細胞もきわめて早い速度で血管内皮細胞に接着し、インピーダンスは増加することが分かる。しかし、初期の浮遊細胞が血管内皮細胞へ接着していく時相が終わってからが両細胞の特徴を示していると考えられる。Colo320は血管内皮細胞に重層しているだけで、特に血管内皮細胞への影響がないためインピーダンス値は、いったん上昇した値をそのまま保つパターンになる。一方、DLD-1ではインピーダンスは一旦上昇したあと下降し、ほぼもとの血管内皮細胞層だけの場合のレベルまで戻る。これはDLD-1が血管内皮細胞が形成するcell monolayerの細胞間隙へ分け入っていく過程を示していると考えられ、血管内皮細胞層を越えて血管外へ出ていく能力としてはDLD-1のほうがはるかに高いことが分かる。実際、顕微鏡下で確認してみると、図３Bに示したようにColo320細

胞は血管内皮細胞上に乗っているだけの状態であるのに対して、DLD-1細胞は血管内皮細胞間隙へ入り込んでいるのがわかると思う。更に、DLD-1をanti-HCAM (homing cell adhesion molecule) Abによって刺激すると、癌細胞の細胞浸潤能をup-regulateしうるCD44の細胞表面への発現が亢進するが（CD44陽性DLD-1細胞）、ECISでCD44陽性細胞と対照群（DLD-1細胞）を比較すると、図４のようにCD44陽性DLD-1細胞のほうが迅速な細胞接着能を獲得していることが分かると思う。

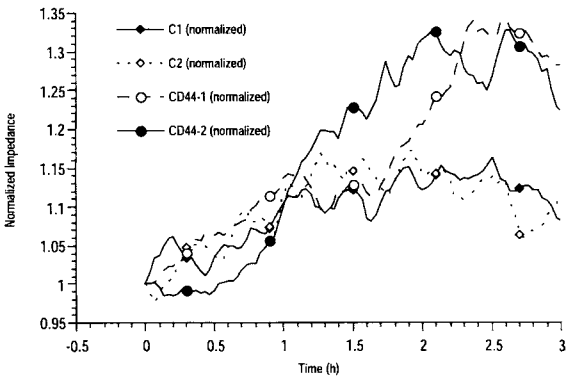


図４　CD44陽性DLD-1細胞（CD44-1, CD44-2）と DLD-1細胞（C1,C2）の接着速度の比較

実際の組織の転移能や悪性度を検討する場合、少量の組織から情報を得る必要があるため、少量の胎児ラットの腸管上皮細胞を採取しこれをECIS上で計測を試みた。ECISの細胞接着を経時的に測定するattachmentモードで安定した検討を行うには、細胞の大きさにもよるがある程度の細胞数を要する（$1x10^5$程度）。生検で得られる細胞数はなかなかこの数字を達成することができず、本システムでの計測は無理と考えられた。しかし、電極のサイズの差を損なわずに微量な細胞数を計測しうる方法として、1-2%程度のagaroseにより微小電極周囲を囲ってやればよいことが最近分かった。この方法では、attachment モードでの通常の計測は可能であるが、cell monolayerを作っておいてこれに対する接着をみる場合には、まだ若干の問題点があり検討中である。

肺微小血管細胞への応用[2)]

肺微小血管内皮細胞は、肺胞腔内と肺動脈血のガス交換能に寄与しながら間質への溶質や体液の漏出を防ぐという、いわゆる離れ業を成し遂げている細胞であり、この細胞の機能障害に伴う血管透過性の亢進が、成人呼吸促迫症候群（ARDS）などの重篤な病態と関連していると考えられる。近年血管内皮細胞の形状やgap junctionが血管内皮細胞のバリアー機能を形成しており、細胞同士が作り出すダイナミックな求心性及び遠心性な力がこれに寄与しているという考え方が提案されている（Lum H & Malik AB: Am J Phyiol 267: L223, 1994; Moy AB, et al: JCI 97: 1020, 1996）。更に、細胞内Caやprotein kinase、炎症のメディエーターであるブラジキニン・ヒスタミン・血小板活性化因子（PAF）がこれに寄与していることが示唆されている。特に細胞内Ca濃度は血管内皮型一酸化窒素合成酵素（eNOS）の活性を上げる重要な因子であり、血管内皮細胞のバリアー機能が修飾された際産生されると考えられるNOが肺微小血管内皮細胞の接着にどのように影響するかをECISを用いて検討した。

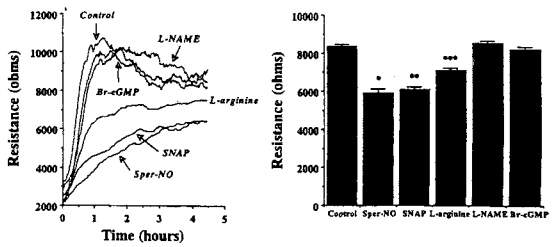


Fig. 5. Real-time recordings of the electrical resistance of freshly seeded human PMVEC. Left: Tracings are representative of 4 experiments performed on separate occasions. Right: Transendothelial resistance in the absence or presence of different chemicals at 4 hours. *P < 0.005 vs. L-arginine, P < 0.001 vs. control, L-NAME, Br-cGMP; **P < 0.01 vs. L-arginine, P < 0.001 vs. control, L-NAME, Br-cGMP; ***P < 0.005 vs. Br-cGMP, P < 0.001 vs. control, L-NAME (n = 4 in each group).

図５に肺微小血管内皮細胞のcell suspensionが接着していくモードでのNOの関与を検討した結果を示す。細胞へ作用するNO量を外的（Sper-NO, SNAP）、内的（L-Arg）に増加させてやると安定した接着状態に到達する時間が延長することが分かった。また、肺微小血管内皮細胞cell monolayerを電極上に形成してから同様の実験を行うと、一時的に細胞接着へ干渉作用を示し、インピーダンスが一過性に低下することが分かった。同様の観察はthrombinでも認められ、これをeNOSの開始コドンと5'-untranslated regionに対するアンチセンスオリゴデオキシヌクレオチドを用いてブロックすると、図のように細胞接着の一時的な低下が減弱することが分かった。このようなNOの作用を特定することはできてないが、可能性としてまずインテグリンβサブユニットのいわゆるfour cystein-rich repeat構造がターゲットとなりうるため、

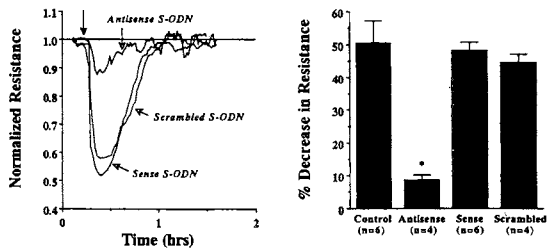


Fig. 6. Effect of antisense oligodeoxynucleotides targeting the initiation codon of human ecNOS cDNA on the electrical resistance decrease induced by thrombin (1 U/ml). Left: Real-time recordings of the electrical resistance of endothelial cell monolayers. Tracings are representative of 4–6 experiments. Right: Percent decrease in electrical resistance of the human PMVEC monolayer. *P < 0.001 vs. control, sense S-ODN, scrambled S-ODN.

この部分のsulfhydryl基やS-S結合がnytrosylationを受けるのではないかと推察される。また、このような細胞外ドメインに対してインテグリンの細胞内ドメインでのチロシン燐酸化に関わる経路にもNOは関与している。これは、種々のgrowth facotor受容体とNOがfocal adhesion部位に会合し、その部分だけにチロシン燐酸化の効果を発揮するのに好都合な設計となっているのではないかと考えられている。実際、NO donorとヒト臍帯静脈血管内皮細胞を用いた報告では、focal adhesionでのチロシン燐酸化の減弱とそれに伴うpaxillinのclusteringの低下が示されている。更に、軟骨細胞でも、NOによりfocal adhesionのみならずactin stress fiberの形成も障害されることが報告されている。

ECISで検出し得た肺微小血管内皮細胞でのこのようなNOの細胞への関与は、近年我々が提唱したphodokinesis[3]という垂直方向への細胞運動の一環であり、局所での生理的な微調整に関わっているものと考えられる。

おわりに

我々が日常医療で医療機器を使って診断を下していく過程を考えてみると、CT・MRI・シンチグラフィーなど人体をグローバルにスクリーニングしていく過程と内視鏡・カテーテル検査・組織生検など臓器へ絞り込んで検査を進めていく過程に大別される。一方、細胞機能に対する生理学的実験系の確立は1980年代に精力的に行われ、パッチ・クランプ法やマイクロ・パーフュージョン法など非常に精巧な手法が確立されている。このような手法と比較するともう少しマクロなレベルで、日常医療では前者に相当するような細胞全体の機能が割り出せ、熟練を要さずグローバルにスクリーニングできる機器の出現が望まれていた。ECISはこのような分野を埋める測定機器として注目を集めており、重要な役割を担いつつある。

参考文献及び発表論文

1) Giaever I, Keese CR: Micromotion of mammalian cells measured electrically. PNAS 88: 7896-7900, 1991
2) Tsukahara H, Noiri E, Jiang M-Z, Hiraoka M, Mayumi M: Role of nitric oxide in human pulmonary microvascular endothelial cell adhesion. Life Sci 67: 1-11, 2000
3) Noiri E, Lee E, Testa J, Quigley J, Colflesh D, Keese CR, Giaever I, Goligorsky MS: Phodokinesis in endothelial cell migration: role of nitric oxide. Am J Physiol 274: C236-C244, 1998

ラット用運動負荷時エネルギー代謝測定装置の開発及びその適用
—糖尿病性腎症に対する運動処方に関する研究—

研究責任者　東京慈恵会医科大学臨床検査医学　講　師　鈴　木　政　登

1.はじめに

２型糖尿病（NIDDM）は運動療法の適用と考えられ、糖・脂質代謝面からみた多くの改善例が報告されている。しかし、運動は腎疾患に対する増悪因子の１つに数えられ、糖尿病由来の腎症を合併した糖尿病患者に対し運動療法が適用しうるか否か、および腎症を合併した糖尿病患者の運動処方については明かにされていない。

本研究では、糖尿病性腎症モデルラットOLETFを用いて約２ヶ月間低強度、中等度および高い強度の運動療法を施行し、糖・脂質代謝および腎の機能的、形態学的観察を行い、糖尿病性腎症に対し運動療法が適用され得るか否か、適用されるとすれば適切な運動強度はどの程度かを調べることにした。運動による腎の機能的、形態学的観察を行うためには動物モデルを用いなければならない。また、運動強度を詳細に把握するためには、運動負荷装置とエネルギー代謝測定装置とが併設された装置を用いなければならない。ヒトを対象とした装置は数多く市販されているが、小動物用の装置は開発途上であり、いずれもきわめて高価で、しかも不備が多い。

そこで、本研究では既設の酸素(O_2)、二酸化炭素(CO_2)分析装置および記録装置を用いて、ラット用運動負荷時代謝測定装置の開発およびそれを用いた糖尿病性腎症モデルラットによる運動療法をおこなった。

2．ラット用運動負荷時エネルギー代謝測定装置

本装置の見取り図を図１に示した。トレッドミル走行面等すべてをアクリル樹脂板で密閉し、前・後方に直径８mmの穴を２ヶ所あけ、後方に吸引ポンプを取り付け、一定流量で吸引する。吸引ポンプ排出口に酸素（O_2）、二酸化炭素（CO_2）分析センサーを設置し、トレッドミル内O_2，CO_2濃度変化を記録器に連続記録する。代謝装置内天井にファンを２ヶ所設置し、装置内を混和し、気体濃度を一定に維持するようにした。さらに、装置内に温度計及び湿度計を設置しO_2，CO_2濃度を同時記録し、酸素消費量、二酸化炭素排泄量（STPD）の計算に用いた。

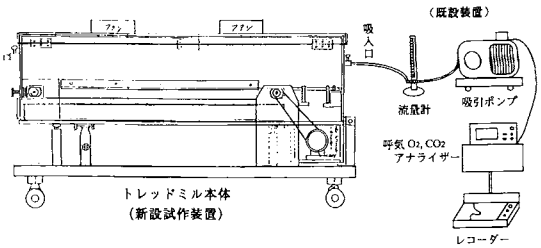


図1 ラット用トレッドミルおよび代謝測定装置の外観

トレッドミルの走行面の傾斜は０～30°まで可変とした。トレッドミルの走行速度範囲は２～30m/分まで可能なモーターを取り付けた。ラットが走らなくなった時に、ラット尾部に電気刺激を与える必要があるが、その刺激

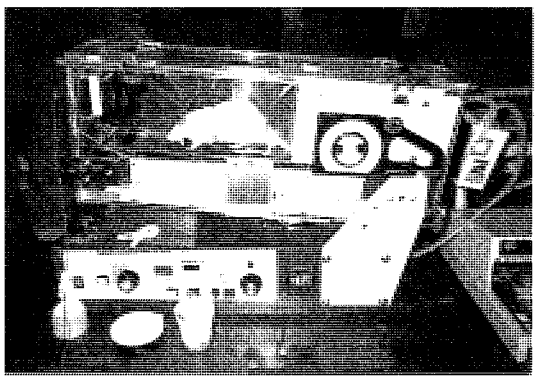


図2 ラット運動時エネルギー代謝測定風景

間隔は0.05 (sec)～300 (h) とした。使用電源はAC100V、50/60Hzであり、使用温度範囲は０～40℃である。

図２には、本装置を用いた実際の測定状況を示した。麻酔下でラット皮下に電極を接着し、背部には小型送信器を固定し安静及び運動時に心拍数(HR)の連続記録を試みた。無線送搬されたHRをDSI製受信ボードで受信し、DSI製Analog ECG Output Adaptor (273-0008)、ECG Processor (Softron 社製) およびパソコン(HITACHI製Flora NS-1)を用いて１分毎に解析し、$\dot{V}O_2$と$\dot{V}CO_2$を対応表示した。

３．エネルギー代謝装置内容積とチャンバー内ガス吸引流量の調整

本装置は図２、３に示したように、半解放性換気システムを用いている。装置内のガスはエアーポンプによって一定の割合で換気され、ラットの呼気ガスは一部再呼吸されながら装置内のガスによって希釈される。装置内に取り付けられたファンによって撹拌されたガスがサンプルとして排気口から吸引される。この希釈された呼気ガスサンプル中のO_2、CO_2濃度および吸引流量から装置内のラットによって摂取された毎分酸素摂取量($\dot{V}O_2$)、排泄された二酸化炭素排泄量($\dot{V}CO_2$)を算出する仕組みになっている。したがって、本装置による測定結果は、ラットの換気量、呼気ガスの希釈率およびガス分析装置の測定精度などによって影響されるため、ここでは希釈ガスの測定精度が最も高くなる条件設定を試みた。

①装置内ガス吸引速度の調整

装置内ガス流量は、装置内ガス濃度変化を検出する際の時定数に影響を与えると考えられる。そこで、代謝測定装置吸気口に純窒素ガスを充満したビニール袋を装着し、換気流量と装置内O_2濃度との関連を観察した。吸引ポンプの流速を2、3、4および5ℓ/分と変化させた場合のO_2濃度変化を図３に示した。O_2濃度は時間経過に伴って減少し、概ね9～10%濃度でプラトーに達し、吸引速度が高い程プラトーに達する時間が短縮した。しかし、5ℓ/分の吸引速度でもプラトーに達するのに20分間程度の時間を要することがわかった。したがって、本代謝測定装置を用いた場合吸引速度を5ℓ/分以上にするか、装置内容積を減少させる必要が生じた。

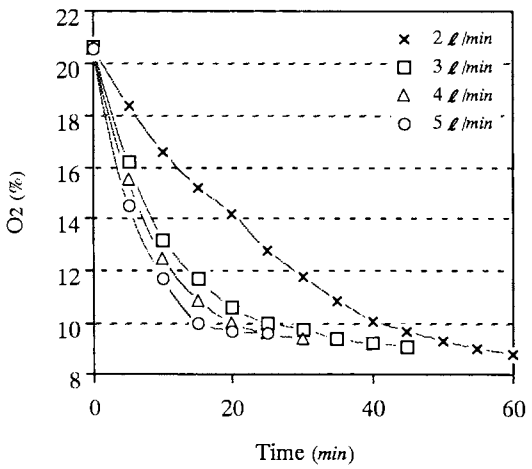
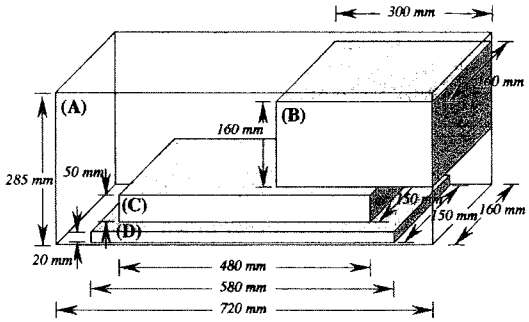


図3 100%窒素ガス吸入時代謝測定装置内酸素濃度（O2）減衰におよぼす吸引速度（ポンプ流量）の影響（トレッドミルは停止状態）

②装置内容積の調整

ラットの走行に必須でない部分を削除し装置内ガス濃度の均一化に要する時間の短縮を試みた。図４に示した



(A)	幅720 mm × 高さ285 mm × 奥行き160 mm	=	32832 ml
−(B)	幅300 mm × 高さ160 mm × 奥行き160 mm	=	−7680 ml
−(C)	幅480 mm × 高さ 50 mm × 奥行き150 mm	=	−3600 ml
−(D)	幅580 mm × 高さ 20 mm × 奥行き150 mm	=	−1740 ml
	合　計	=	19812 ml
埋め込み率	19812 ml ÷ 32832 ml	=	60.3 %

図4 代謝装置内埋め込み率と容量変化

ように、ラットの走行に必須でない、いわゆるデットスペースを発泡スチロールで埋め装置内容積を削減した。さらに、ラットの位置によってガス濃度が変わらないようにするため、排気口から装置内にビニールチューブのエアーダクトを挿入し、均一化されたガスを分析するように改善した。また、トレッドミルの回転によるガス撹拌の影響を包含させるためベルト走行速度を20m/分に設定し、種々の速度で純窒素を吸引し装置内O_2濃度の減衰過程を観察し、図5に示した。図から明らかなように、4ℓ/分で吸引した場合のO_2濃度の減衰が最も速く、3～6ℓ/分では大きな差はなかった。しかし、デッドスペースを削減した結果、プラトーに達したO_2濃度はいずれの吸引速度でも高値となった。その理由の一つとして、純窒素バッグに接続した吸気口以外からの大気の流入が考えられる。本装置ではエアーダクトの設置やファンの電源を

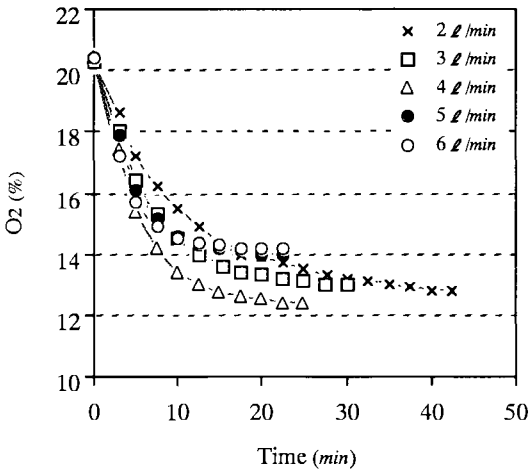


図5 100%窒素ガス吸入時代謝測定装置内酸素濃度（O2）減衰におよぼす吸引速度（ポンプ流量）の影響（デッドスペースを埋め、トレッドミルを稼働）

供給するリード線を吸気口から挿入したため吸気口からの純窒素ガスの流入抵抗が増加し、強引な吸引による他の間隙からの大気の吸引が考えられる。本装置のトレッドミルを回転させるドラム軸部分に若干の間隙があることがドライアイスを用いた機密テストで確認された。したがって、これらの間隙部分から大気を吸引した可能性が考えられる。しかし、装置内は常時エアーポンプによって吸引されているため陰圧でありガスの移動は外気から装置内への一方向となる。ラットの呼気ガス測定時もまた吸気口から外気(空気)を吸引する仕組みであり、装置間隙からの大気流入はO_2消費量、CO_2排泄の算出には問題がない、と思われる。

③ポンプ吸引速度4ℓ/分時のO_2濃度減衰曲線の再現性

図4に示したように、吸引速度4ℓ/分の場合の装置内O_2濃度の減衰が最も速やかであった。この結果の信頼性を調べるため、全く同様の条件でこの実験を繰り返し、全く同様のO_2濃度減衰曲線が観察された。これによって再現性の高いことは確認されたが、その原因は不明であった。速度4ℓ/分程度では吸入口以外の間隙から大気を流入させる程の吸引力がなかったためかもしれない。

④装置内ガス濃度に及ぼすトレッドミル走行の影響

実験②では、トレッドミルベルトを回転させており、回転軸からの漏れとベルト回転による撹拌の影響が考えられる。そこで、実験②と同じ測定条件でトレッドミルを回転させた場合と静止状態で装置内O_2濃度の減衰過程を観察した。その結果、トレッドミルを静止させた場合、O_2濃度の減衰が多少速くなる傾向がみられた。これは、トレッドミル回転軸から装置内への大気の浸入による影響が考えられた。しかし、これも上述のように、酸素消費量および二酸化炭素排泄量算出へは影響しない、と思われる。尚、本装置では市販のエアカーデットポンプ（7059-40型；Master flex）を用いている。

⑤酸素(O_2)，二酸化炭素濃度(CO_2)分析装置および記録器

本装置では、O_2、CO_2濃度分析装置および記録器は当該研究室に既設されているものを用いた。O_2濃度分析器はポーラログラフ式酸素電極を用いた装置（RAS-31，AIC社）であり、精度±0.2%、分解能0.01%である。CO_2濃度分析器は赤外線吸収方式であり（RAS-41，AIC社）、精度±0.2%、分解能0.01%である。記録器は、ナショナルペンレコーダーVP6621Aを用いた。

4．糖尿病性腎症に対する運動処方の研究

(1) 対象および研究方法

20週齢の糖尿病性腎症モデルラットであるOtsuka Long-Evans Tokushima Fatty（OLETF; n=35）ラットを用いた。体重が均等になるよう4群に分け、それぞれ安静対照(Cont)、低強度(L;走行速度12m/分)、中等度(M;16m/分)および高強度トレーニング(H;19.5m/分)群とし、1回60分間、週5回の頻度で10週間運動療法を行った。尚、Cont(n=6)およびLETO-Cont(n=6)群も同じ飼育室で同時に飼育した。各群共実験期間中の24、27、30および33週齢時に24時間尿の採取、体重および血圧を測定した。また，34週齢時に再びOGTTを行い、その3日後に麻酔下で採血し、屠殺後腎臓、その他の臓器を摘出し重量秤量後保存した。

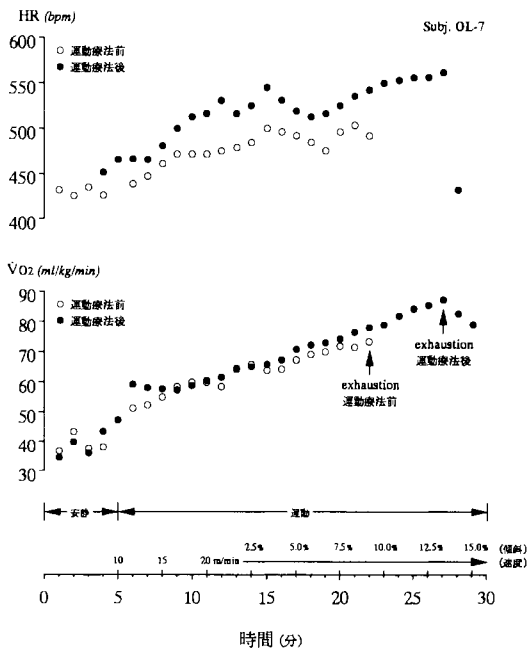


図6 運動療法前後における負荷漸増運動時心拍数（HR）および酸素摂取量（V̇O2）の推移

(2)結果

①運動持続時間およびV̇O2max等への影響

図6には、運動療法前後に行ったトレッドミルによる負荷漸増運動時の心拍数(HR)およびV̇O2のmax変化を示した。運動療法後には運動持続時間が延長し、HRやV̇O2maxが増加した。図7には、各群のV̇O2max、負荷漸増運動時総酸素摂取量(ΣV̇O2)および運動持続時間(EX-time)を示した。いずれも運動療法後に増加し、特にM群の増加が顕著であった。

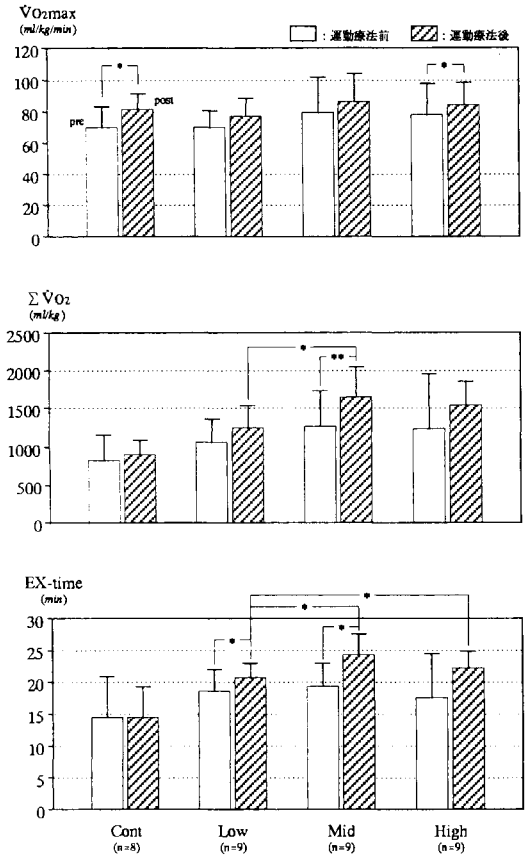


図7 運動療法にともなう最大酸素摂取量（V̇O2max）運動時総酸素摂取量（ΣV̇O2）および運動持続時間の変化 *p<0.05, **p<0.01

②運動療法による糖尿病改善効果

OLETF-Sed、低強度(L)、中等度(M)、高強度運動群(H)およびLETO-Sedに分け、運動群にはトレッドミルを用い10週間運動療法を行った。図8にはUalbの変化を示した。運動療法群及びOLETF-Sedの4群間の体重の推移には有意な差異がなく、OGTTの結果や血清脂質レベルにも差がなかった。これらがUalbに差が生じなかった原因かもしれない。

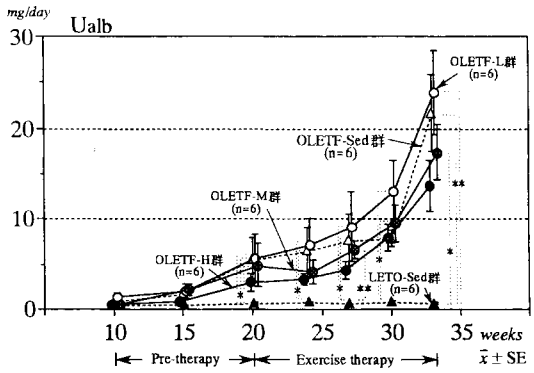


図8 予備飼育（pre-therapy）および各強度（L,M,H）による運動療法期間中の尿中アルブミン排泄量（Ualb）の推移 *p<0.05, **p<0.01 ***p<0.001

5．まとめ

肥満糖尿病モデルラット用のエネルギー代謝測定装置を開発し、それを用いて運動療法を行い、V̇O2max、負荷漸増運動時総酸素摂取量(ΣV̇O2)および運動持続時間(EX-time)の延長を認めた。しかし、糖尿病の改善効果は十分ではなかった。運動量が少ないことが原因と思われた。糖，脂質代謝の改善と腎症進展抑制効果を同時に期待するならば，隔日の自由運動または食事と自由運動の併用などが有効かもしれないと思われる。

謝辞

本研究を遂行するにあたり、当教室の穂積典子氏および早稲田大学大学院木村真規氏の協力を得た。記して謝意を表する。

参考文献

1) 鈴木政登．腎疾患と運動．体力科学，46，139-146，1997.

2) Lewis,E.J., Hunsicker,L.G., Bain,R.P. and Rohde,R.D. The effects of angiotensin-converting-enzyme inhibition on diabetic nephropathy.N Engl J Med, 329,1456-1462,1993.

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

研究責任者　鈴鹿医療科学大学医用工学部医用電子学科　助教授　長倉俊明
共同研究者　愛媛大学医学部医療情報部　教授　石原謙
大阪大学大学院基礎工学研究科　助手　山下馨
愛媛大学医学部医療情報部　助手　桝田晃司
国立大阪病院臨床研究部　医員　大江洋介

1. はじめに

糖尿病は、日本では潜在的な患者も含めると全体で1000万人いるといわれ、高血圧とともに罹患者最大の成人病で増加の一途をたどっている。しかし不治の病である糖尿病は、引き起こされる合併症がその予後を左右し、失明に至る糖尿病性網膜症の第1位の原因疾患である。発症後より進行する腎障害は10年で25%の患者に腎不全を合併し、人工透析患者の30%を占め、人工透析の第1位の原因疾患である。さらに人工透析に関連する医療費は全医療費の1/3を占め、莫大な社会費用を費やしている。

しかし糖尿病患者の血糖をコントロールする決定的な治療法がなく、専門医の経験による1日2～3回のインスリン補充療法が現状である。経口糖尿病薬、インスリン注射治療だけでは、合併症を防ぐことはできず、強化インスリン療法（厳密な血糖コントロール）を行えば、その進行を抑制できるといわれている。

また死因別死亡率の1/3を占めている動脈硬化関連の疾患も糖尿病の関与が著しい。そこで厳密な血糖コントロールを試みることは重要であるが、低血糖発作の危険を避け得ない。さらには強化インスリン療法には患者本人が十分な知識と忍耐を要し、現実には困難をきわめ、血糖値をモニターできれば安全であるが、実用的デバイスは存在せず、唯一の手段である強化インスリン療法には肝心の技術が未成熟である。これを防ぐためには厳密な血糖管理が必要でこの治療用のデバイスが待ち望まれている。

糖尿病治療薬の投与量は、食事摂取量と血糖変動に応じて、厳密に決定されなければならないために、血糖やインスリンの連続測定とコンピュータ制御による人工膵臓が、1980年代から開発されているが、小型化による携行型の開発も普及には至っていない。一方、マイクロカプセルにβ細胞（インスリン分泌細胞）を封入したハイブリッド人工膵臓も、開発段階にあるものの免疫系の問題などで、実用化への距離は大きい。またグルコース感受性高分子を応用したインテリジェント人工膵臓やDDS (Drug Derivery System)を目指す研究も同様の足踏み段階にある。

2. 目的

そこで我々は、これらの糖尿病デバイスの問題を解消するために、現実的手段として、エネルギーの供給と制御系のいらない物理的要素のみで構成し、グルコース濃度差による溶媒の移動で体積変化を起こす機構によって、インスリン供給用の微小バルブを研究してきている[1]。このシステムに光造形法を導入し微細加工が容易となりシステムの微小化はかなり前進し、同様に精度も著しく向上した。そのおかげで微小化の利点が明らかとなり、それを定量的に確認し実用化デバイスへと発展させる。

3. 原理

浸透圧駆動の基本原理は浸透圧による溶媒の移動による体積変化を利用したアクチュエタである。体積変化の原理は、水分子を自由に通過させるが、一方で溶質は通過させない透過膜を半透膜と呼び、この半透膜によって異なる濃度の水溶液が仕切られた場合に、水分子の拡散等の輸送現象が起こり、溶媒である水分子は高濃度の水溶液へ移動する。

より一般性を持たせて透過性膜に仕切られた濃度の異なる２つの溶液が存在する時に、物質輸送の方程式は以下の(1), (2)式とVan t'Hoffの式として知られている(3)式で表される。

$Jv=Lp(\Delta P-\sigma\Delta\pi)$ ----- (1)

$Js=(1-\sigma)CsJv-Pe\Delta C$ ----- (2)

$\Delta\pi=RT\Delta C$ ----- (3)

Jv：体積流（単位時間・断面積あたりの体積）、

Js：溶質流（単位時間・断面積あたりの分子数）

Lp：濾過係数、Pe：透過係数、σ：反発係数、

ΔP：溶液間の水圧差、Δπ：溶液間の浸透圧差、

ΔC：溶液間の濃度差、Cs：平均濃度、

R：気体定数、T：絶対温度

よってJv体積流とJs溶質流のいずれも静水圧力勾配ΔPと濃度勾配ΔCだけで表される。また生理学的にヒトの浸透圧πは以下の式で表すことができる。

π (mOsm/l)=1.86Na+BS/18+BUN/2.8 -------- (4)

ここでNaはナトリウムイオンの濃度(mEq/l)、BSは血中グルコース濃度(mg/dl)、BUNは血中尿窒素濃度(mg/dl)を表す。さらにヒトの各パラメタの正常値を下記に示す。

π 284 - 294 mOsm/l

Na 136 - 147 mEq/l (= m mol/l = mOsm/l)

BS 70 - 100 mg/dl

BUN 7 - 20 mg/dl

Na濃度の単位はmEq/lで、これはm mol/lに相当する。またVan t'Hoffの式から濃度が圧力に換算でき、37℃において、ヒトの浸透圧の正常値は300mOsmであるが、体温37℃で圧力の単位に換算すると約7.6atmに相当する。

しかし重要なのは、生体のホメオスタシスによって浸透圧πとNaの濃度は極めて厳密に制御されていることである。正常健常人ではこれらの値は一定と考えて良い。さらにBUNは低分子であるので、血管内皮細胞程度は自由に通過できる。そして我々の研究で重要なのは、糖尿病は、本来厳密に制御されるべき血糖制御が破綻した状態であるということである。

また透過膜が、どれくらい分子を通過させるかを決定させる因子は、分子量と透過膜の微細孔の大きさとの関係である。この原理を医用に応用したのが人工透析である。我々はグルコースの分子量程度を通過させない透過膜によって、血糖値濃度の変化によって、生じる水溶液移動による体積変化に注目した。

さらにこの体積変化による機械的運動で血糖値を低下させる唯一のホルモンであるインスリンを注入できれば、血糖値を低下させるシステムとすることができる。すなわち血糖値の上昇に応じてインスリンを注入し、その量に応じて血糖値が低下する。そして血糖値が低下すれば、体積変化の停止や逆向きの体積変化が起こり、インスリンの注入を停止するシステムとすることができる。

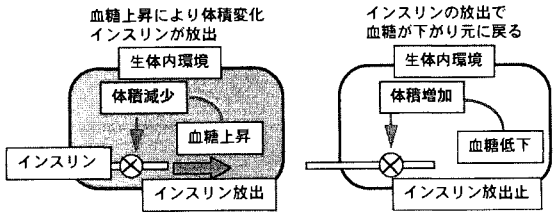


図1 浸透圧バルブのグルコース溶液濃度変化による
バルブ機能の原理図

このように我々は、半透膜によって仕切られた濃度の異なる水溶液によって溶媒の移動が起こり、体積変化を機械的運動に変換するシステムを検討している[2]。そしてこのシステムを糖尿病に応用すれば、血糖値変化によって体積変化を起こし、インスリンを注入するシステムとすることができ、血糖降下後にはインスリンの注入を自動的に停止するシステムとすることもできる。

4. 方法

研究の開始には、現在最も微細加工に実績のあるシリコン基板を用いて、異方性エッチングにより複数のシリコン基板から流路を形成し、可動部ダイアフラム弁がシリコーンゴムで、透過膜が最外部に接着された浸透圧駆動バルブを作成した。

しかしこの方法は2次元的構造作製には適しているが、3次元構造には困難な場合が多い。シリコン基板を重ね合わせ3次元構造を作製することはできた。しかし2次元平面の積み重ねのため自由な形状が選択できないだけでなく、接合面の接着や薬液ルートとの結合の問題が残された[3]。

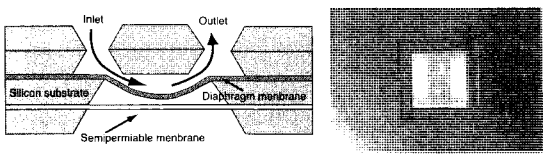


図2 複数シリコン基板を用いた浸透圧バルブ断面（左）
と浸透圧バルブ（ダイアフラム部）（右）

さらに複数のシリコン基板を用いる方法は、本研究に絶対条件である密閉性を確保することが容易ではないため別の方法を模索した。そしてシリコン基板加工より自由に3次元構造を作製することが可能な光造形法によるバルブ設計に変更した。この方法は一層が1μmと極めて薄い2次元的な光硬化樹脂を積層させ、3次元的構造を自由に作ることができる。さらに樹脂の選択で構造体の硬度も調節できる利点を持つため、この方法を採用した。

5. 光造形法の原理

光重合分子に紫外レーザを照射すると光の照射部位が硬化する。そこで予め構造のデータをCADで入力しておけば、そのデータによる紫外レーザ走査を行い照射部位だけが硬化し、2次元構造を持った薄膜ができあがる。さらに走査を垂直方法にずらし、その上に同様の操作によって3次元的な構造を作ることができる。

この液状光硬化樹脂を高出力のレーザーで硬化させる光造形法により、精度1μmで大きさが10mm以下の複雑な3次元構造を作製する。我々の作製した浸透圧バルブは、ダイアフラム型で、その可動膜にはラテックス系薄膜（膜厚20μm）を用いた。グルコース水溶液から水分子を通過させる透過膜にはセルロース系薄膜（乾燥膜厚20μm）を用いた。図3にCADにて入力した浸透圧バルブの全体像を示す。

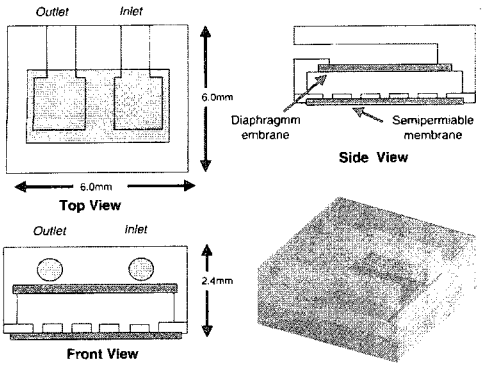


図3　CADで設計した浸透圧バルブの部品と完成予想図

6. 結果

6.1 浸透圧バルブのダイアフラムの弾性特性

これまでにも光造形法により、浸透圧バルブを作製してきたが、データの蓄積によりさらに小さな浸透圧バルブを作製することができるようになった。

またこの作製した浸透圧バルブの性能の評価を行うため、図4に示す測定系にてダイアフラムの変位を、グルコース濃度を変化させて計測した。測定はキーエンス社のレーザ変位計LC2440（精度0.1μm）を用いて計測した[3)4)]。

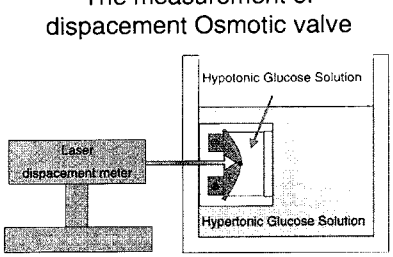


図4　レーザ変位計による浸透圧バルブのダイアフラム膜の計測

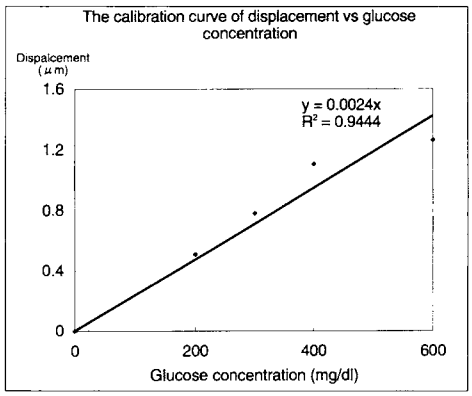


図5　グルコース濃度に対する検量線

この計測によって小型化された浸透圧バルブの濃度に対するダイアフラムの変位量は図5に示すような検量線を示した。この結果これまでの浸透圧バルブよりもグルコース濃度に対する力学特性が向上していることが分かった。

6.2 浸透圧バルブのサイズによる効果を検証

浸透圧バルブのサイズによる弾性特性の違いを比較するために、外径が10mmx10mmx10mmと6mmx6mmx3.2mmの浸透圧バルブを作製し、サイズの違いによる、グルコース濃度変化に対する弾性膜の変位を比較した。（図6参照）

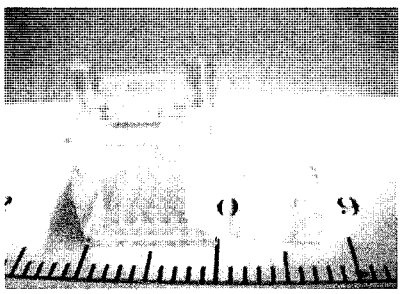


図6　外径が10mmX10mmX10mmの浸透圧バルブ（左）と微小化された6mmX6mmX3.2mm浸透圧バルブ（右）

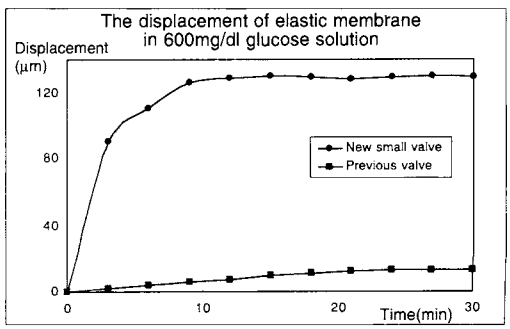


図7　サイズの異なる浸透圧バルブのグルコース溶液による弾性膜の変位の比較

グルコース濃度が600(mg/mg)における大小の浸透圧バルブのダイアフラム膜変位を比較すると図7のようになった。この結果から浸透圧バルブ内部体積が約1/10になったがダイアフラム膜変位は、高速な応答と約10倍の大変位を示し性能は向上していることがわかった[4)5)6)]。

6.3 グルコース濃度変化に対する検証

グルコース糖濃度上昇時ばかりではなく、低下時にもダイアフラム膜の変位は、図8のようになり、連続使用が可能であることが分かった。

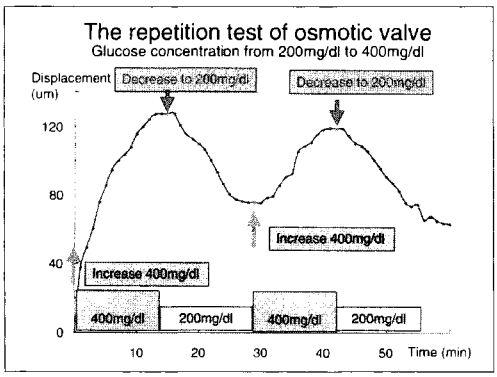


図8 ダイヤフラム膜の連続使用実験
グルコース濃度が上昇し、さらに下降したときのダイヤフラム弁の変位を示した。

6.4 浸透圧バルブの流量特性計測

実際の医療応用を考えた時、薬液の注入量が重要である。そこでダイアフラム弁によって開閉される浸透圧バルブによって制御される流量を検討した。計測は図9に示すように5cmH_2Oの静水圧の下で、グルコース濃度によって変化する流量を計測した。

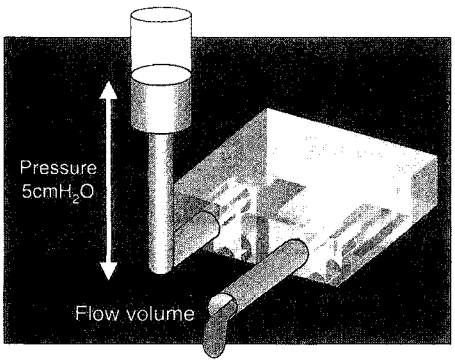


図9 浸透圧バルブの流量特性の計測実験

流量特性実験の結果から各グルコース濃度における流量は図10に示すようにダイアフラム弁が開いてから約5分以内に一定の値で安定することが分かった。

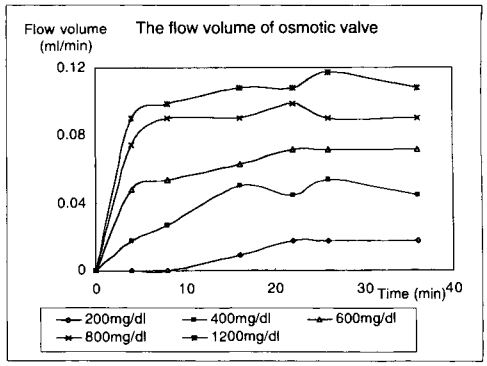


図10 浸透圧バルブの各グルコース濃度における流量特性の計測結果

糖尿病患者がインスリンの自己注射をする一回量は一般に0.1ml程度であるので、この流量特性の結果からグルコース濃度600mg/dlの時を考えると、5分間の積算流量は0.3mlであり、臨床上十分な量であることが確認された。

7. 結論

内部体積を10mmX10mmX10xmmの176mm^3から6mmX6mmX2.4mmにおける19.6mm^3と体積を90%減少させることができた。また浸透圧バルブの微小化によってダイアフラム膜は、グルコース濃度600mg/dlにおいて最大変位量13μmから130μm変位する効果があった。さらに従来の浸透圧バルブは最大変位まで15分以上要したが、微小化によって約5分で到達し応答性も向上した。

またグルコース濃度を繰り返して変化させた場合、浸透圧バルブは、その変化に応じて開閉を繰り返すことが確かめられた。そして流量特性計測より、生体にて変化する範囲のグルコースの濃度にて、分時流量は臨床応用に向けて十分な流量であった。

8. まとめ

グルコース溶液による膜変位を計測した結果、微小なものほど、高速でかつ大変位しバルブ開閉の特性が向上することが分かった。この結果から本研究に用いた浸透圧バルブは、インスリンの補充治療に十分な特性を持つことが分かった。小型化による応答性の向上は浸透圧による流体の移動現象を考えると容易に理解できる。微小化は性能のみならず、臨床応用を考えた時、侵襲度の軽減と装着による不快感はさらに軽減すると考え、小型化は今後も検討していきたい。

また今後電子工学と本研究を結びつけるために、半導体シリコン基板状に浸透圧バルブを形成し、電気的に運用可能にするために光造形法によるマイクロ電磁弁の試作も行った。（図11参照）このように電気デバイスとの融合も今後の課題としたい。

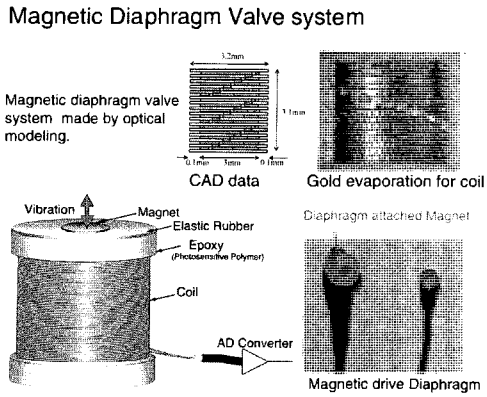


図11　浸透圧バルブと電子デバイスとの融合

ϕ3.2mmXl3.1mmの筐体に凹凸を付けた、表面に金を蒸着しコイルとした。浸透圧バルブと同様に、ラテックス系の弾性膜によりダイアフラム型とした。

謝辞

本研究は財団法人中谷電子技術振興財団の多大な研究助成により行われました。ここに深く感謝いたします。

参考文献

1) Toshiaki Nagakura,Ken Ishihara,Toshiyuki Furukawa,Kohji Masuda, Takao Tsuda, Auto-Regulated Osmotic Pump for insulin therapy by Sensing Glucose Concentration without Energy Supply, Sensors and Actuators B 34, pp.229 - 233, 1996

2) 長倉俊明、井上嘉夫、村上桐子、丸尾昭二、桝田晃司、山下馨、大江洋介、石原謙、生田幸士、古川俊之、糖尿病治療のためのインスリン注入システムの研究、BME 第12巻4号,pp.45-51, 1998年

3) Toshiaki Nagakura, Kaoru Yamashita, Yousuke Ooe, Kohji Masuda, Hiroki Otsuka, Kenji Yamada, Ken Ishihara, Toshiyuki furukawa, The design for the osmotic valve system fabricated with silcon process for glucose concentration controll, World congress on Medical Physics and Biomedical engineering, Nice France. Abst. , p.384, 1997

4) Toshiaki Nagakura, Shouji Maruo, Kohji Masuda, Yoshio Inoue, Kiriko Murakami, Kaoru Yamashita, Yousuke Ooe, Ken Ishihara, Kouji Ikuta, Toshiyuki Furukawa, Study on micro-osmotic valve for insulin injection system in treatment of diabetes mellitus - Using the 3D optical modeling method - , Proc. EMBEC, p.1094-1095, 1999

5) Toshiaki Nagakura, Shouji Maruo, Kohji Masuda, Yoshio Inoue, Kiriko Murakami, Kaoru Yamashita, Yousuke Ooe, Ken Ishihara, Kouji Ikuta, Toshiyuki Furukawa, Study on micro-osmotic valve for insulin inection system in treatment of diabetes mellitus. Eurosensor 13 th, The 13 th European Conference on Solid-State Transducers, P.41-44, 1999

6) 長倉俊明, 茶山宣, 加藤聖, 菅井武, 丸尾昭二, 奥田浩成, 長谷川忠大, 生田幸士, 石原謙, 大江洋介、糖尿病治療を目的とした微小浸透圧バルブの研究、古川俊之, 第39回 日本エム・イー学会, 医用電子と生体工学　第38巻特別号 p. 398, 2000

平成12年度技術交流助成成果報告

谷　口　慶　治（たにぐち　けいじ）
福井大学　名誉教授　工学博士

会議または集会名　IEEE信号処理部会主催
2000年度画像処理に関する国際会議
(IEEE 2000International Conference on Image Processing)

開催地　カナダ・バンクーバー

時期　平成12年9月9日～9月14日

1．会議の概要

IEEE（アメリカの電気・電子学会）の信号処理部門が主催する"ICIP2000"は、西暦2000年9月10日から9月13日までカナダのバンクーバーのコンベンションセンターで開催された。この会議には38カ国の 600人を越す研究者が参加した。発表された論文の総数は 756件（応募総数1396件で採録された数は 756件）その内、口頭による発表 262件、ポスターによる発表 494件であった。

我々の論文は9月13日に "neural networks, adaptive & fuzzy processing" （下のセッション(9)に示す）のポスターセッションで展示された。この会議は次のようなセッションから構成された。

（1）DIGITAL STEREOSCOPIC AND 3-D IMAGE
（2）WAVELET IMAGE CODING
（3）IMAGE ACQUISTTION, SCANNING AND DISPLAY
（4）IMAGE SEGMENTATION
（5）MOTION ESTIMATION
（6）VIDEO CODING AND VIDEO DATABASE
（7）COLOR IMAGE PROCESSING AND APPLICATION
（8）VIDEO PROCESSING, COMPUTER VISION, AND COMPUTER GRAPHICS
（9）NEURAL NETWORKS, ADAPTIVE & FUZZY PROCESSING
（10）IMAGE CONTENT EXTRACTION AND DESCRIPTION FOR MULTIMEDIA
（11）MEDICAL IMAGE ANALYSIS
（12）IMAGE INTERPOLATION AND SPATIAL TRANSFORMATIONS
（13）DVD TECHNOLOGIES AND APPLICATIONS
（14）DOCUMENT PROCESSING
（15）TOMOGRAPHY
（16）LOSSLESS AND NEAR-LOSSLESS COMPRESSION

(17) RADAR IMAGE
(18) WATER MARKING
(19) MAGNETIC RESONANCE IMAGING
(20) FRACTAL CODING AND VECTOR QUANTIZATION
(21) MORPHOLOGICAL PROCESSING AND IMAGE ANALYSIS
(22) COLOR AND MULTI-SPECTRAL IMAGE PROCESSING
(23) SHAPE AND 3D MODEL CODING
(24) VIDEO OBJECT SEGMENTATION & TRACKING
(25) WIRELESS VIDIO TRANSMISSION

論文の中で多く見かけた（50件以上）のはウェーブレット変換の応用である。ウェーブレット変換はフーリエ変換の欠点を補う新しい手段として、信号解析や画像処理などの多くの分野で応用研究がなされている。

2．発表した論文のテーマとその内容

(1) 論文の題目：Evaluating the quality of pellet component by using image processing technique with neural networks（神経回路網を画像処理に応用したペレット部品の品質の評価法）

(2) 発表の要旨：

この会議ではフローシステムの血球分析機器に用いられる「ペレット部品」に画像処理を応用して良品か不良品かの検査をする方法（品質の評価）を提案した。この研究はシスメックス株式会社と共同で行ったものである。著者は曾寧峰、谷口慶治、渡辺貞一、仲野豊（以上4名、福井大学）、山本博、胡中利洋（以上2名、シスメックス株式会社）である。内容の主な点は（Ⅰ）ペレット部品の設計寸法とそれらの許容公差より検査のためのモデルを作成する。（Ⅱ）ペレット部品の各部の寸法を部品の2値化画像より大まかに測定する。（Ⅲ）部品の原画像と2値化画像の特徴（形状の特徴、表面粗さ、対称性、真円度）、並びにモデルよりニューラルネットワークを利用してペレット部品全体の品質を評価できるようにした。この方法は従来の方法（2値画像を利用した方法）に比べて測定精度を上げることができる。

(3) 会議への出席者：発表者として私のほかに、福井大学大学院博士後期課程学生　曾寧峰氏が出席した。

3．出席した成果

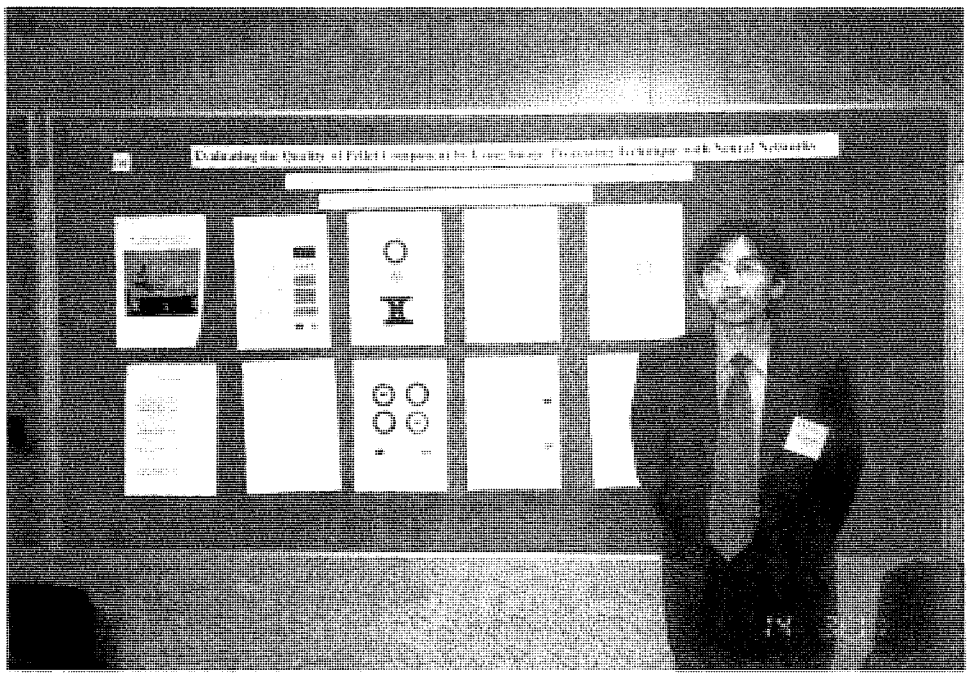
発表は9月13日午前11：00から12：30までの間、コンベンションセンタ内の指定された場所で行った。ポスターの展示場所にはアメリカ、カナダ、フランス、ブラジルなどから参加者が来訪した。まず、研究内容を口頭で説明した後、来聴者から次のような質問があった。その主なものは、ペーレト部品とはいかなるものか、品質を調べる特徴量の計算方法はどのようにして行うか、部品の測定精度はどれくらいか、ニューラルネットワークを使用した場合の利点はどのようなところにあるか、など基本的なものであった。来聴者の反応から見て、私達の研究は評価されたものと考えている。残念なことに画像処理の生産現場への応用に関する研究発表は見あたらなかった。

会議の概要で述べた様に、この国際会議は画像処理の多くの分野での研究成果が発表されており、将来の研究の動向を知る上で有意義なものであった。特に興味を持った発表としては、「THE FUTURE OF VISUAL ENTERTAINMENT-AN INNOVATOR'S PERSPECTIVE」

Sean Adkins, Vice President, Digital technology, IMAX Corporation で、講演の後に、3次元（3D）デジィタル映画「Galapagos Islands 」が上映された。今までの3D映画では、焦点深度の深いレンズが用いられていたが、被写体深度の範囲から外れたところは輪郭が淡くボケてしまう。これを解決するのが、画面をすべてディジタル化して、CG（Computer Graphics)で作るという方法である。ディジタル化すれば処理が容易になり、CG技術と併用することにより観客の鼻先から無限遠まで、完璧にピントの合った画像を作ることができる。

このCG技術は生産技術のため、たとえば、機械設計、製品構造のモデリングと構造自動生成、生産技術上のデータの蓄積、検素、再利用、再構成、加工プロセスシミュレーション、社員の教育に利用できるものと考えられる。特に、小さいもの、あるいは見にくいものに対して細部を見えるようにすることができる。

我々の行っているペレット部品の検査でも、この3D・CG技術を利用することが必要と思われる。



ポスターの横に立つ會寧峰氏

ハッサン・ＭＤ・モイヌディン(Hassan MD Moinuddin)
東京医科歯科大学生体材料工学研究所　大学院生

会議または集会名　国際医用物理生体工学会議
(Warld Congress Medical Physics and Biomedical Engineering Chicago 2000)

開催地　アメリカ・シカゴ

時期　平成12年７月23日～28日

まず初めに、今回シカゴで開催された国際医用物理生体工学会議（Warld Congress on Medical Physics and Biomedical Engineering）参加にあたり、渡航滞在費を援助頂いた㈶中谷電子計測技術振興財団に心より感謝申し上げます。

この国際会議は、研究者の情報交換や医用物理及び生体工学分野の発展のみならず、この分野における世界の研究者らとの親睦を深めるための絶好の機会として大きな意味を持つ。今大会のテーマである「21世紀に向けての世界的情報ネットワーク」は、世界の科学者と工学者との電子ネットワークによる交流や協力を表している。

今大会では皮膚生理学に関する研究発表を行った。皮膚は身体と外的環境との境界をなすものであり、皮膚熱物性は体温調節という点で、皮膚温度と密接な関係がある。よって、皮膚熱物性値はサーモグラフィのデータの定量分析に不可欠である。1956年以来、サーモグラフィは医科学分野で応用されており、皮膚の下を通る血管の温度によって皮膚熱の温度分布をみることができる。この研究では皮膚熱物性値の画像化にサーモグラフィを応用し、0.1 秒で計測対象を覆うフードの温度をコンデンサの放電を利用してステップ状に上昇させ、熱浸透率（熱伝導率、比熱、密度の平方根）の画像化を試みた。熱浸透率は血流と高い相関がある。この研究では、サーモグラフィによる熱浸透率の画像化によって体表面での血流の定量化画像が獲得できる可能性が考えられた。また、反応性充血にみられる血流の急速な変化による血流分布の測定を試みた。今大会での発表の要旨を最後に添付する。

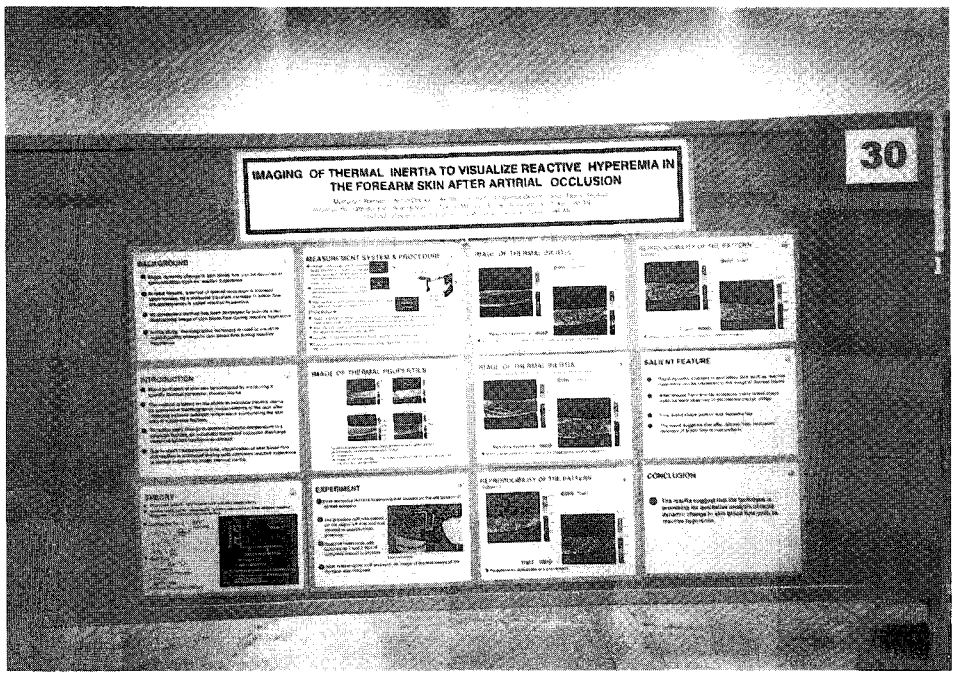
今大会では一般のポスターセッション「医学における赤外線画像」及び「医用赤外線画像ワークショップ」において、「動脈閉塞後の上腕反応性充血の可視化のための皮膚熱浸透率の画像化」という題目で発表を行った。このポスターセッションには世界各国から著名な研究者らが見学に来ており、我々の研究にも大いに関心が寄せられた。また医学における赤外線画像の今後の展望について様々な意見が交わされた。このセッションの中で、指導教官の戸川達男教授と共にサーモグラフィの新しい応用についてショートプレゼンテーションを行い、出席者の関心を集めた。寄せられた意見の多くが、今後の我々の研究に大変有意義であった。

これからは医用物理と医用生体工学の発展がめざましい時代といえる。両分野が互いに力を併せることによって、医学の更なる発展と共に、人類が生きていくためのよりよい環境が整っていくであろう。そのためにも両分野が真剣に取り組み、世界規模で交流を深めて意見を交わし、協力し合うこと

が不可欠である。その意味で、今大会への参加は私にとって大きな第一歩となった。

―― 要旨（訳） ――

これまでに反応性充血による急速な血流変化を画像化するシステムは存在しなかった。本研究の目的は動脈閉塞後の熱浸透率を測定することによって、反応性充血後の熱浸透率を画像化することにある。熱浸透率と血流の間に相関があるため、熱浸透率により血流の評価が可能となる。放電システムと高感度赤外線カメラを用いた熱浸透率の画像化が開発された。環境温度がステップ状に上昇した場合のサーモグラフィによる計測温度の変化より、熱浸透率を算出する手法を用いている。このシステムにより、皮膚のどの部位でも 238×238mm の面積での測定が10～20秒で可能である。測定対象は健常男女（各５名）で、１分間の上腕での動脈閉塞後の反応性充血の測定が行われた。カフの圧力を弱めた直後、熱浸透率画像に反応性充血の影響がみられた。浸透率分布は一様でなく、島状の不均一な分布が現れた。全ての被験者について同じ様な結果が得られた。反応性充血は瞬時の現象であるため、可視化が難しい。その意味でこの手法は大いに役立つと考えられる。



ポスター発表

清　島　　満（せいしま　みつる）
岐阜大学医学部臨床検査医学　教授　医学博士

会議または集会名　第73回米国心臓学会学術集会
(The American Heart Association's 73rd Annual Scientific Sessions)

開催地　アメリカ・ルイジアナ・ニューオリンズ

時期　平成12年11月12日～15日

1．会議の概要

平成12年11月15日から18日の４日間、第73回米国心臓学会学術集会(American Heart Association's Scientific Sessions, AHA）がニューオリンズのコンベンションセンターで開催された。ＡＨＡは循環器に関して基礎、臨床を問わず多くの専門家が集う学会である。演題はプログラム委員会で選択され、過去６年間の平均採択率は30－34％とのことであるが、日本からの採択率はもう少し低い数字である。今年は13,500を越える演題の応募があり、 4,215題の発表があった。その中から10の分野で各々数題づつAward に選ばれていた。この学会は初めての参加であったが、日本人の参加が非常に多い印象を持った。またポスターセッションのすぐ隣では各企業からの機器展示も同時に行われており、ざっと一通り見て回るだけでもかなりに時間を要した。雰囲気は日本の展示とあまり変わらないが、その数およびスペースは規模においてかなり異なる。

2．会議の研究テーマとその討論内容

ＡＨＡではそれぞれの専門委員会が独立して演題の選定およびプログラムを組む。内容は大きくbasic scienceとclinical scienceの２つに分けてあるが循環器に関するすべてを網羅していると言っても過言ではない。具体的にあげると循環動態・生理、血管生物学、遺伝子治療、凝固・線溶、虚血性心疾患、心血管画像診断、心血管外科、核医学、心エコー、心不全、高血圧、脂質代謝、脳卒中、疫学、さらにこれらに加えて看護学もあり、看護関係者も多く参加していた。欧米ではよく早朝ミーティングを組むことがあるが、この学会でも7:00amから8:30amまで各専門委員会主催の基調講演があり、自分の興味のある話を聞くことができた。また夕方は7:30pmまでぎっしりプログラムが組んであり、会期中熱心な討議が行われた。

3．出席した成果

今回発表した２題の演題はいずれもtumor necrosis factor-α(TNF-α)をノックアウト(TNF-αKO)したマウスを用いた研究で、その内１題は冠動脈を一時的に欠塞し、その後再灌流した時のTNF-αの心筋障害に与える影響を評価したものである。その評価には心電図における心室性不整脈の出現頻度、梗塞サイズ、虚血区域、さらに浸潤した白血球数を用いた。またICAM-1などの接着分子、およそそれ

をレギュレートするNF-κBのアッセイも行った。ワイルドタイプに比べ、KOマウスは上記評価項目を改善していたので、TNF-αは心筋の虚血／再灌流に際して障害的に作用していると考えられる。質問者からは特に不整脈の出現頻度に関して、麻酔の深度の影響についてコメントがあった。また心エコーを用いてのLV function(LV dp/dt) なども評価する予定であったが、マウス自体が小さいためプローブ位置の設定が難しく、今回はデータとして報告できなかった。しかし本学会でヒューストンのグループが目的は異なるがマウスのEF%、dp/dt 、dp/dt-EDV など心機能評価を報告していたので、主としてその手技等について有益な情報を得ることができ、今後の研究を進めるうえで非常に参考になった。

その他

会期中、ポスター会場で偶然以前私が留学していたコロンビア大学で一緒に仕事していたアメリカ人に出会った。私の帰国後もしばらくは連絡を取り合っていたが、数年前に彼がそのラボを辞め、ある製薬会社に移ってからは音信不通となっていた。話を聞くと2年前にはそこも辞め、何人かの友人と一緒にベンチャー会社を立ち上げ、主として抗動脈硬化薬の開発を手がけているということであった。前にいた会社が大企業だったのでそこを辞めただけでも驚いたが、今の仕事もどちらかというとアイデアを売るだけの商売（仕事の保険として製薬会社からの依頼で治験協力者の手配、マネージメントなどもやっているそうだが）なので二重に驚いた。我々日本人の感覚からすると無謀（？）ともいえるトラバーユだが、現代のアメリカ社会では日常茶飯事なようで、ただ彼の成功を祈るばかりである。

私達のポスター発表

機器展示風景

入　部　玄太郎（いりべ　げんたろう）
岡山大学大学院医歯学総合研究科システム循環生理学助手

会議または集会名　実験生物学会 2001 (Experimental Biology 2001)

開催地　アメリカ・オーランド

時期　平成13年3月31日～4月4日

1．会議の概要

今回はFASEB(The Federation of American Societies for Experimental Biology)の2001年大会に参加しました。この学会は1912年に創設された権威ある学会で、アメリカの基礎医学のあらゆる分野の学術団体が集まった大規模な学会です。代表的な学会団体としてはThe American Physiological Society, American Society for Biochemistry and Molecular Biology, Society for Developmental Biology などがあり、Associate Members も含めると全部で20以上の学会が集まっています。あらゆる分野の研究者が集まっているため、研究テーマに関して他分野の研究者から思いがけない意見を聞く機会も多く、学会参加には大きな意義があります。学会が開催されたのはフロリダのオーランドです。南のリゾート地らしくとてもきれいなところで気候も良く、日本ではコートが必要だったのに現地に到着してみれば半袖ＴシャツだけでＯＫで、快適な学会でありました。

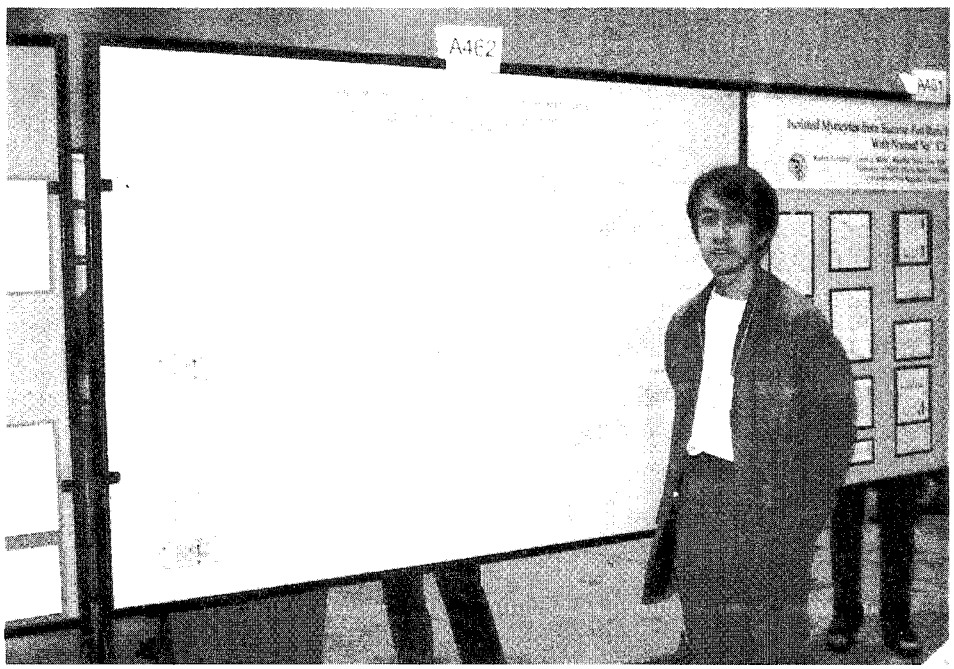
2．会議の研究テーマとその討論内容

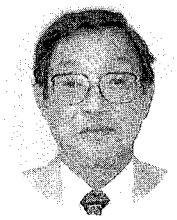
今回の私の研究テーマは、A new myocardial calcium dynamics model in excitation-contraction coupling「心筋興奮収縮連関の新しいカルシウム動態モデル」というものです。これまで発生機序がよくわかっていなかった期外収縮後一過性収縮性増強の交互脈型減衰パターンを説明しうる新しいカルシウム動態モデルに関する研究です。期外収縮後一過性収縮性増強の交互脈型減衰パターンは指数関数的な減衰パターンと振動しながら減衰する振動成分とに分けられます。前者は心筋細胞内カルシウム再循環率に対応していることが過去の我々の研究で示されていますが、後者に関してはこれまで発生原因にいろいろな説がありますがはっきりしたものは示されていませんでした。今回我々はこの振動成分が一拍ごとに減衰していく割合が機械的回復の度合いに一致していることを示しました。従来のカルシウム動態モデルは振動成分を含まない指数関数的減衰パターンしか説明することができません。そこで我々は従来モデルに機械的回復要素を組み込むことにより交互脈型減衰をも説明できるモデルを考案しました。現在、機械的回復モデルには、1990年にSchoutenが提唱したのが筋小胞体カルシウム取り込みポンプの不活性化の過程が機械的回復過程であるとするものや、筋小胞体のカルシウム放出チャンネル（リアノジンチャンネル）の活性が回復してくる過程とするもの、筋小胞体内でのカルシウム移動時間とするものなどがあります。討論における論点は我々のあたらしいカルシウム動態の考え方ではこれらの機械的回復過程がどのように説明されるのかという点でした。今回の我々

のモデルのおもしろい点は機械的回復モデルの種類を問わずいろいろな現象を説明できる点です。また、最近の知見として筋小胞体内のカルシウム量が機械的回復過程に影響を及ぼすというものが2000年に報告されています。これは遺伝子操作により筋小胞体カルシウム取り込みポンプを制御しているフォスフォランバン発現程度を変えることにより筋小胞体内カルシウム量を変化させ、機械的回復過程を調べたものです。我々のモデルはこの現象をも説明することができます。指摘された問題点は興奮収縮連関のカルシウム動態の要素の一つである細胞外からのカルシウム流入量を一定と仮定していることです。過去の研究ではこのカルシウム流入量は心筋細胞活動電位の持続時間と大きさに比例すると仮定するものが多く見られます。期外収縮後の一過性収縮性増強の交互脈型減衰時の心筋細胞活動電位は我々の過去の検討では定常状態の心拍とほとんど変わらないためカルシウム流入を一定としましたが、乳頭筋などの実験では電気的交互脈が観察されます。この点はさらなる検討が必要な部分であろうと思われます。

3．出席した成果

実際の研究テーマ発表でも有意義な討論を行うことができたと思われます。この方法が確立できれば、これまで実験的にしか観察することができなかった心筋内のカルシウム動態を、期外収縮を一発入れることにより生体心で測定できる可能性があります。この方法のベースとなる我々の新しいモデルに関する意見を米国最大の基礎医学会で聞くことができたのは大きな収穫であろうと思われます。また、自分の研究発表以外にも自分の研究のヒントとなるような非常に興味深いシンポジウムや発表がたくさんありました。中でも遺伝子操作マウスで興奮収縮連関にカルシウムが関わる結合蛋白やチャンネル、ポンプ関連の発現を操作することにより心筋の弛緩を改善し、心不全治療に応用しようとする試みをまとめたシンポジウムがありました。自分の研究と関連づけるとたいへん興味深く、自分の見識を広めることができたように思われます。





神　谷　　暸（かみや　あきら）
日本大学グローバル・ビジネス研究科　教授　医学博士

被招聘者　韓国　Hanyang University
Professor Sun I.Kim　他３名

会議名　第39回日本エム・イー学会大会
日韓合同セッション

開催地　東　京

時　期　平成12年 5月17日～19日

はじめに

第39回日本エム・イー学会は、2000年 5月17日～19日の３日間にわたり、東京都千代田区霞が関の国立教育会館（現：文部省別館）で開催された。著者が大会長を仰せつかり、副大会長を東京大学の井街　宏教授と上野照剛教授にお願いし、事務局は著者が前年まで在籍していた東京大学医用生体工学講座システム生理学分野に置いた。

大会スローガン「BME２１世紀への船出」の基で、幅広いBMEの研究領域の最先端で活躍されている研究者・技術者の方々や若手研究者を含めて、２１世紀へのBMEの更なる発展を目標に企画された。その結果、特別講演２題、３つのシンポジウム、22のオーガナイズドセッション、61の一般セッションで総計535題、1千名を超える方々の参加を得た。

１．会議の概要

本大会で企画された「日韓合同セッション」は、将来にわたりアジアの国々のBME研究者との交流を深め研究発展を目指す施策の一環として、一般セッションとは独立して大会３日目の午後に開催された。前年大阪で開催されたエム・イー学会秋季大会に続き、第２回目の開催となる本セッションは、東京大学の稲田　紘教授が日本側の、Hanyang大学のSun I. Kim教授とKonkuku大学のGon Khang教授が韓国側のコーディネーターとなり、東北大学の仁田新一教授とSeoul National大学のByoung Goo Min教授の司会で、「人工臓器」をテーマにして行われた。

２．被招聘者の紹介（氏名、学位、職名、所属、専門分野）

Byoung-Goo, Min (Ph.D.)

Professor: Department of Biomedical Engineering, Seoul National University, College of Medicine.Director: Institute of Medical and Biological Engineering, Seoul National University. Electrical Engineering

Jin-Ho, Cho (Ph.D.)

Professor and Chairman: Department of Biomedical Engineering, Kyungpook National

University.Biomedical Electronics, Electrical Engineering, Circuit & Systems

Mu-Seong, Mun (Ph.D.)

Director: Korea Orthopedics & Rhabilitation Engineering Research Crnter.Biomedical Engineering, Orthopedic Biomechanics

Sun-I, Kim (Ph..D.)

Professor: Hanyang University, College of Medicine Biomedical Engineering, Medical Information

3．会議の研究テーマとその討論内容

プログラムに示すように「日韓合同セッション」には韓国側、日本側からそれぞれ３題の講演と、台湾および日本から各1題の追加発言の計８題の発表があった。本セッションは他の一般セッションとは独立して２時間半の時間を予定していたが、活発な討論が繰り広げられた結果、予定時間を30分以上超過することになった。

韓国側からの講演は、人工心臓、人工中耳、人工関節、日本側からは人工心臓、人工膵臓、人工肝臓、さらに追加発言として台湾BME学会会長のChung教授から人工筋肉と、東アジアにおける最先端の人工臓器開発研究を網羅する内容となった。また、その研究内容も人工心臓に見られるように、既に臨床応用に成功しているものから、今後の発展が大いに期待される細胞・組織工学技術を利用した研究まで、人工臓器を専門とする研究者や技術者は勿論のこと、それ以外のBME関係の人々にとっても興味ある話題が分かり易く提供された。また、韓国および台湾側の発表者には、人工臓器に関するオリジナルな仕事の発表以外に、韓国・台湾における人工臓器とその電子制御技術の開発および実用化の現状についても広く紹介していただいた。セッション終了後には、本セッションを後援して頂いた財団法人中谷電子計測技術振興財団を代表し、栗山榮治財団事務局長より韓国・台湾側講演者に対し感謝状が贈呈された。

4．招聘した成果

今回招聘した韓国・台湾側研究者は「日韓合同セッション」での講演に留まらずエム・イー学会大会の各セッションにも熱心に参加され、日本語での発表が多かったにもかかわらず活発な討論や意見交換がなされ、日本の研究者との交流を深めるのに大いに役立った。特に本大会では、シンポジウム「人工臓器における新しい研究課題－医用生体工学に期待するもの－」、オーガナイズドセッション「人工臓器・生体材料」をはじめ、「人工心臓・人工臓器」関係のセッションも多く企画されていたため3日間の開催期間全般にわたり双方にとって有意義な交流が持てた。以上のように、今回の海外研究者の招聘は、国内の専門家の方々との交流を促進し、我が国の電子計測技術の発展に資するに十分な成果があったことに留まらず、東アジア各国と我が国との医用電子計測技術の共同開発の促進まで期待できる内容であった。

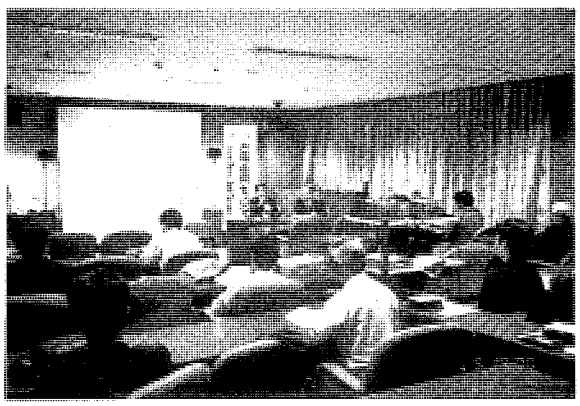
5．その他

大会２日目の夜には日本エム・イー学会大会主催の懇親会が開催された。今回の懇親会は大会スローガンに相応しく、東京湾クルーズの船上で開かれ、大型の観光船シンフォニー号が日の出埠頭を出

航し約2時間半で東京湾を一周した。船内には参加者（約220名）が一同に会せる大きな部屋があり、韓国・台湾側研究者も参加し、日本エム・イー学会名誉会員や役員、さらには若手の会員とともに大会会場とは違った雰囲気の中で親睦を深められた。韓国・台湾側研究者は３日間の大会期間終了後、翌20日の土曜日には、東京近郊の大学のBME関係研究室を精力的に訪問し、各研究室で意見交換された後、帰国の途に着かれた。

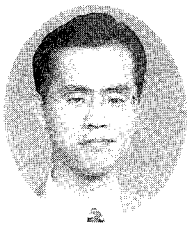
大都市でエム・イー学会規模の大会を開催するのは、経費やマンパワーの面で容易くはなく、また今回のように海外からの研究者を招聘し特別セッションを設けることは更に困難なことであります。今回の「日韓合同セッション」開催にあたり、特別なご配慮を賜った中谷電子計測技術振興財団に深く感謝いたします。

講演者らによる記念写真



会場風景

セッション終了後、コーディネーターの稲田教授(右)および著者(左)と意見交換するMin教授



望月　精　一（もちづき　せいいち）
川崎医療短期大学臨床工学科　助教授　工学博士

被招聘者　台湾　Chung Yuan Christian University
Professor Walter H.Chang

会議名　第39回日本エム・イー学会大会
日韓合同セッション

開催地　東　京

時　期　平成12年 5月17日～19日

1．集会の概要

日本大学神谷暸教授を大会長として「BME ２１世紀への船出」をメインテーマに５月17日～19日に国立教育会館（東京）で開催された。日本エム・イー学会は、電子計測技術をはじめとして生体医用工学（BME）全般に関する我が国の中心的学会であり、日本のみならずアジア地域での最新の研究成果の発表の場である。Chang教授の他にも韓国からの発表も相次いでいたことからも本学会の重要性がうかがえる。大会は、９会場で計測、治療、福祉機器など広範囲にわたる研究成果が発表され、活発な討論が広げられた。

2．被招聘者の紹介

Chang教授は、生体医用工学で活発な研究を行われてきたことのみならず、現在台湾生体医用工学学会会長としてさらに国際医用生体工学連合（IFMBE）の理事としてアジア地域のみならず国際的な視野での生体医用工学の発展に尽力されておられる。

3．会議の研究テーマとその討論内容

今回、Chang教授ご自身の研究内容は、本大会の大きなイベントの一つであった「日韓合同セッション」において発表された。Chang教授は以前、韓国永世大学において研究をされていたこともあり、台湾代表でありながら日本、韓国両国にまたがる人材代表としてのご発表であった。講演内容は、組織工学を材料工学、細胞培養法など様々な視点からアプローチされて得られた成果についてであり、ハイブリッド型人工臓器における細胞増殖刺激因子の効果などに関する質疑応答が行われた。

4．招聘した成果

Chang教授の専門分野である組織工学は、最近我が国でも再生医工学としてそのノウハウの応用が盛んに進められており、本学会でも複数のセッションにおいて活発な討論が行われた。Chang教授は、その他にも電磁波の影響、リハビリテーション工学、医療機器など広範囲の分野に渡り精力的な研究を行っておられる。

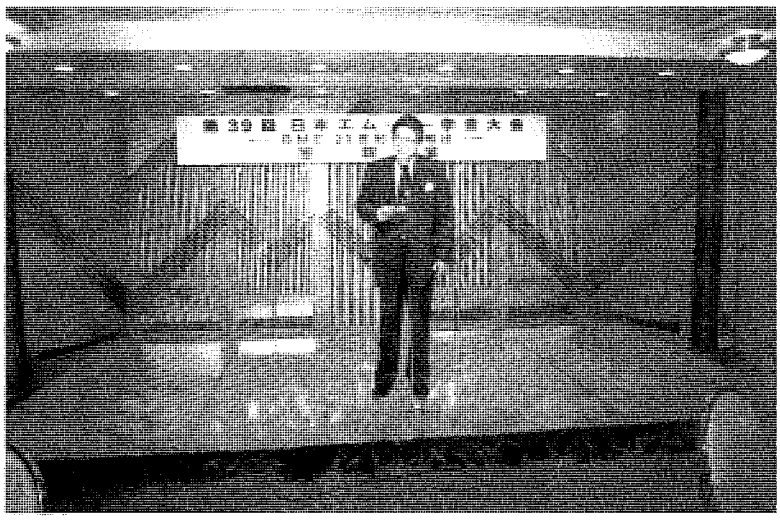
また、これからの研究の活発な、そして速やかな推進のため、国際的な協力体制も必要とされ、今回の招聘により日本、台湾、その他アジア地域との連携体制の確立が更に進展されるきっかけとなったと思われる。

Chang 教授ご自身、台湾生体医用工学学会会長として、大会懇親会におけるスピーチでも日本、アジア各国の研究者との交流の意義を強調され、今回の招聘を通じて、今後のアジア地域における電子計測技術の発展に大きく貢献したと考えられる。

5．その他、訪問先

Chang 教授は上記の日本エム・イー学会大会に先立って神戸市のシスメックス社の研究センターを訪問され、血液計測のための光センサー類に興味を持たれ、我が国の民間の電子計測技術の高いレベルに感嘆されていた。また、シスメックス社加古川工場においては、コスト削減のための人員配分を工夫されている点に感心されておられた。

さらに東京電機大学の小谷誠学長と斉藤正男教授を訪問され、応用超伝導研究室も訪問されている。



日本エム・イー学会大会懇親会の席上で挨拶をされる Chang 教授

写真１：シスメックス社創立者の故中谷太郎氏銅像前での Chang 教授

巽　典之（たつみ　のりゆき）
大阪市立大学医学部臨床検査学教室　教授　医学博士

被招聘者　東南アジア各国からの研究者等13名

会議名　臨床検査の標準化に関する第2回アジア研究会

開催地　神戸

時期　平成12年10月21日、22日

1．はじめに

現在の生細胞物性計測は電子的ないし光学的粒度分析が主となっており新技術開発が望まれている。本学会は臨床検査の現在の質の向上と国際標準化、そして臨床検査の新技術の開発を目的とした組織である。初回は日本学術振興会（JSPS:文部省管轄）のご援助のもとインドネシア大学(UI)においてJSPS-UI合同企画として1999年2月にジャカルタで開催された。第2回である本会は、中谷電子計測技術振興財団（NEMTA:通産省管轄）のご援助のもと西神戸において開催された。出席者は臨床検査分野において各国を代表する研究者であり、電子計測をベースとした生体の物性計測に関する新技術の開発と、現在利用されている検査値の国際間調整・標準化に関する研究成果に関する討議とともに、アジアの国家間の協調関係の発展を期待して本学会が企画・実行された。

2．会議又は集会の概要

臨床検査の標準化に関する第2回アジア研究会は、平成12年10月21日、22日の2日間、神戸市にあるシスメックス株式会社中央研究所講堂において開催された。

中谷電子計測技術振興財団の理事長であり日本学術振興会理事の三輪史朗先生、New York Medical College-Metropolitan Medical Centerの Prof. Dr. Narayananはじめ総数88名が参加し、招聘者以外にはUniversity of IndonesiaのDr. Diana Aulia、大阪薬科大学藤田芳一先生、大阪市立大学巽　典之が発表を行った。

1日目午前は、「Laboratory management」、午後は「National External Quality Assessment of Schemes」、「Asia: now and future」と題した各セッションで発表が行われ、活発に討議された。その後NEMTAからのcertificate授与式が行われた。

2日目は各国代表が参加する実務会議を開催し、本学会の現状分析および将来計画について討議された。

3．被招聘者の紹介

今回中谷電子計測技術振興財団の助成により招聘した方々は下表の方々である。これら被招聘者全ては、各国において臨床検査精度管理の直接かつ実質的に活動されている基幹大学及び政府関係者である。その意味から各国を代表しており実質的な臨床検査値の標準化の今後を期待できる方と

考えてよかろう。なお、当初予定されていた被招聘者のなかでSeoul大学Prof. Jim-Q KimおよびPusan大学Prof. Han-Chul Sonは出席されなかった。

外国人招聘者一覧：

Dr. Marzuki Suryaatmadja	Faculty of Medicine, University of Indonesia, Indonesia
Dr. Ina Susianti Timan	University of Indonesia-Cipto Mangunkusumo Hospital, Indonesia
Prof. Han-Ik Cho	Seoul National University Hospital, Korea
Prof. Kap No Lee	Guto Hospital, Korea University, Korea
Prof. Oh Hun Kwon	Yonsei University College of Medicine, Korea
Dr. Won Ki Min	University of Ulsan College of Medicine, Korea
Dr. Woong Soo Lee	College of Medicine, Hanyang University, Korea
Dr. Tomas P. Maramba, Jr.	College of Public Health, University of The Philippines Manila, Philippines
Dr. B. Januario Antonio D. Veloso, Jr.	College of Medicine, University of the Philippines Manila, Philippines
Dr. Szu-Hee Lee	National University of Singapore, Singapore
Prof. Ahnond Bunyaratvej	Faculty of Medicine, Ramathibodi Hospital, Thailand
Dr. Nisarat Opartkiattikul	Faculty of Medicine, Siriraj Hospital, Mahidol University, Thailand
Dr. Chamras Promptmas	Faculty of Medical Technology, Mahidol University, Thailand

4．会議の研究テーマとその討論内容

Session 1のLaboratory management-1は、Prof. Ahnond BunyaratvejがChairpersonで、臨床検査の現状分析と検査室の効率的運営、そして運営を通じての臨床検査の質の向上およびアジア地区に於ける国際間臨床検査レベルの向上の方策に関する報告をされた。「Reorganization of automated outpatient laboratory for improvement of total turnaround time」のタイトルでDr. Won-Ki Minが2000床あるAsan Medical Schoolでの総合検査システムの検査時間短縮効果と顧客満足度について報告され、「Model of laboratory standardization in Thailand」の演題名でDr. Nisarat Opartkiattikulが国家プロジェクトとしての病院機能及び検査室機能評価の実践成果を報告された。「The role of clinical pathologist in routine laboratory」では、Prof. Kap-No Leeが臨床病理医の役割は患者本位で検査を実践することを強調された。「Education strategies for standardization in laboratory medicine in Southeastern Asia」と題してDr. Chamras Promptmasが、タイにおける臨床検査の質の向上のための国内調査機構の発足、教育の重要性を再認識、そして国内調査の実施により一定の成果がえられたことを報告された。Laboratory management-2では河合忠先生の司会のもと、最新情報システム活用による検査室の効率的運営の将

来像を見いだす方法が主題として討議された。Prof. Oh-Hun Kwon は「Sailing the internet ocean on the laboratory medicine」と題し、韓国におけるインターネット利用型の臨床検査精度管理ネットワークの構築について説明、「Tele-laboratory medicine」のセクションでは Prof. Han-Ik Cho は、ソウル国立大学を中心としたインターネットと WWW 利用型検査精度管理システムの活動の現況や画像転送などを発表し、今後さらに広域的にネットを張り巡らす広大な計画について報告された。両講演とも今後の展開が大いに期待される内容であった。

Session 2 の「National External Quality Assessment of Schemes」では、Prof. Han-Ik Cho の司会で以下の発表が行われた。Dr. Tomas P Maramba が「The Philippine Council for Quality Assurance in Clinical Laboratories: its infancy」でフィリピンの外部精度管理の実施状況の報告がされた。引き続き Prof. B Januario Antonio D Veloso, Jr から「External quality assessment for hematology laboratories in the Philippines: the PCQACL experience」が発表され、血液検査に限定しフィリピン国内で 100 を越える施設に試料を配布し精度調査を行って血液検査レベルの向上に貢献していることが報告された。インドネシアからは Dr. Diana Aulia が「Indonesian NEQAS in hematology report 1999-2000」で、インドネシアでは自己調製血の配布を実施し自主的精度管理調査をしてきたが、今後は政府管理の許で調査が実施されるであろうことが報告された。同国の臨床化学検査の外部精度管理調査と、その成績の経年的向上については「Implementation and result of the Indonesian NEQAS on clinical chemistry」で Dr. Marzuki Suryaatmadja が発表された。韓国の血液検査精度管理調査の現状については、「External quality assesment in hematology in Korea」と題して Dr. Woong Soo Lee が報告された。

Session 3 では「Asia: now and future」というタイトルで Dr. Tomas P Maramba の司会のもと、アジアの臨床検査の現状および新技術開発に関する発表が行われた。Dr. Ina S Timan の「Anemia in Indonesian school children」では、WHO の貧血プロジェクトとして貧困・遠隔地域における野外健康調査を行った成果から今後の開発途上地域の健康調査法への改善索が提案された。Dr. Szu-Hee Lee の発表「New diagnostic and screening technologies for malaria」は地球温暖化によるマラリア増加の対応としての迅速簡易マラリア診断法とその検査効率についての報告、Dr. Yoshikazu Fujita は「Development of novel quantitative determinations of urinary proteins using dye-metal complex method」と題し、尿蛋白の新簡易診断法の開発、その感度と精度について報告、Prof. Noriyuki Tatsumi は「New strategy for laboratory test renovation」として、臨床検査用汎用性抗凝固剤及び非遠心血漿分離方式に関する新システムを報告した。最後に Prof. Ahnond Bunyaratvej から「ICSH Asia: a proposed model for harmonization of standard hematology laboratories」として、アジアの臨床血液学検査の国際的ハーモナイゼションの必要性と ICSH-Asia 結成の必要性が強調された。

その後、中谷電子計測技術振興財団から被招聘者への certificate 授与式が行われ、三輪史朗理事長から各被招聘者へ certificate が手渡された。最後に、closing remarks として本組織の会長 Dr. Tomas P Maramba から本学会の活動は政府・国家レベルで実施すべきであること、WHO や ISO と協力体制を造るべきであること、国際間協力が必要なこと、そして本会議継続の必要性などが説明された。

2 日目の実務会議では下記のことが討議、決定された

i　現在の臨床検査のレベル差の調整

ii　国際的臨床検査外部精度管理調査の企画化

iii　ICSH（国際血液検査標準協議会）アジア支部結成

iv　アジア地区精度管理ネットワークの活動強化

v　WHOなど欧米精度管理組織との現在の共同作業関係の強化

vi　財政的基盤確立、特に日本政府への援助の働きかけ

vii　ネットワーク次期会長の選出。Dr. Tomas P. Maramba に継続してお願いすることが挙手決定された。また総務にはProf. B Januario Antonio D Veloso, Jr を選出した。

viii　時期開催場所の決定。シンガポール大学 Sze Hee Lee 教授が担当することとなった。

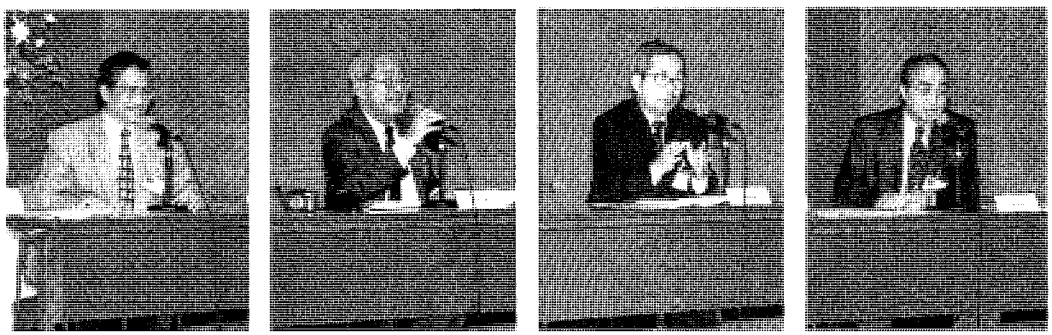
ix　今回のプロシーディングは、神戸大学医学研究国際交流センターAnnals に掲載することが決定した。

5．招聘した結果

今回、各国の精度管理システム(NEQAS)の中心的役割を果たしている方々が一堂に会して標準化についての討議ができたことは大変意義深いものであった。本会の規模も、率直で積極的な意見の交換を行うのに適していたと考えられた。新技術面においては今後臨床検査が辿るであろうPOCT検査の将来方向を示唆するものであった。他方、日本の血液物性計測の臨床検査精度は国際的に優れているとわが国で信じられているが、今回の会議において東南アジア地区の各国NEQASが政府の指導監督下に整備されておりわが国がむしろ立ち遅れていること、そして社会通信情報システムの活用が各国での今後整備の重点となっていることからわが国でも同様の構築が必要であることなど、わが国研究者にも大きく印象づけたことは確かである。

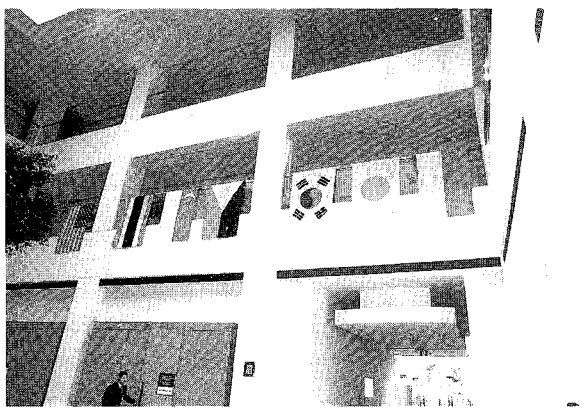
謝　辞

今回の成果は新技術の発表による臨床検査法の改革、測定法標準化による臨床検査の経済性の向上が期待される発表に焦点が当てられ、少人数ながら極めて成果の大きいものであった。本会の開催をご援助頂いた中谷電子計測技術振興財団に、世話人一同より深謝いたします。



Chairpersonの方々

The 2nd Asian Colloquium on Standardization and Harmonization in Laboratory Medicine:
New Technologies in Laboratory Hematology



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
平成10年度	平成11年２月26日	10件	1,700万円
平成11年度	平成12年２月25日	10件	1,780万円

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
極微小電極ポ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	白井　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

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・疑集能の画像解析システムに関する研究	南谷　晴之	慶応義塾大学理工学部 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

第16回（平成11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）
脱分極誘発色素を用いたlaser photo-stimulationシステムの開発と応用	佐藤　勝重	東京医科歯科大学医学部 生理学第二講座　助手	２１０
無拘束型心電図導出用パット電極センサの開発	石山　陽事	杏林大学保健学部 臨床生理学教室　教授	２００
デュアルコントラスト肺微小血管造影法の開発	辻　千鶴子	東海大学医学部 生理科学２　講師	１８０
マイクロカプセルによる臓器の自動描出と薬物ターゲッティングを兼ねた新しい超音波診断・低侵襲治療システムの開発	桝田　晃司	愛媛大学医学部 医療情報部　助手	２００
血球計数器による末梢血および採取幹細胞分画での幹細胞簡便計測法の確立	熊谷　俊一	神戸大学医学部 臨床検査医学講座　教授	１７０

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)
乳癌にともなうリンパ節生検用トレース装置の開発	田中　二郎	豊橋技術科学大学工学部 エコロジー工学系　助教授	180
超高速超音波立体イメージングに関する研究	大城　　理	奈良先端科学技術大学院大学 先端科学技術研究調査 センター　助教授	160
細胞内におけるリン酸化依存的蛋白質間相互作用のイメージング	萩原　正敏	東京医科歯科大学 難治疾患研究所　教授	150
コヒーレントアンチストークスラマン散乱顕微鏡による生体組織の3次元局所空間分子分光分析	橋本　　守	大阪大学大学院基礎工学研究科 システム人間系専攻 講師	180
ワンチップ時間分解分光分析システムの開発と生体計測への応用	岩田　哲郎	徳島大学工学部 機械工学科　助教授	150

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	(財)中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
鈴木　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	軽量研究所 主席研究官	アボガドロ定数およびシリコンによるモルの表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期大会	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
津田展宏	軽量研究所量子部 精密測定研究室長	第4回ジョイントナノテクノロジーシンポジュウム及び国際自動制御会議	イギリス ロンドン	9月

氏　名	機関・職名	会　議　名	開催地	時　期
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 外科副部長	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	精密電磁気計測会議	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	アメリカ電気電子工学学会 パワーエレクトロニクス スペシャリスト	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	国際電波科学連合第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
岡田徳次	新潟大学工学部 教授	ロボティスクと自動化に関する電気電子学会国際会議	ベルギー ルーベン	平成10年 5月
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	(1)イタリア・ローマ (2)ドイツ・トリットリンゲン	6月
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	アメリカ ダラス	11月

氏　名	機関・職名	会　議　名	開催地	時　期
石田英之	東海大学医学部 講師	第44回米国生物物理学会	アメリカ ニューオリンズ	平成12年 2月
片岡則之	川崎医療短期大学 臨床工学科講師	実験生物学会2000	アメリカ サンディエゴ	4月
岩佐章夫	電子技術総合研究所 主任研究官	電磁気精密計測国際会議	オーストラリア シドニー	5月

編　集　後　記

今年は早目に梅雨が明け暑い日が続いております。皆様方にはいかがお過ごしでしょうか。関係者のご協力により、年報第１５号は比較的早目にお届けできることとなりました。

悲しいことですが、財団の発展に貢献されたお二人の前理事がご逝去され、前号に引き続き、本号でも追悼文を掲載させていただきました。即ち、平成１２年１１月に理事であった梅垣健三氏が他界され、また、平成１３年１月には、前理事長の木村英一氏が他界されました。お二方とも財団設立時からの理事として約１５年以上という長期にわたり、諸々ご活躍を頂いた方々であり、残念でなりません。心からご冥福をお祈り申し上げます。

財団の役員等に移動がありました。昨年１１月に、橋本専務理事が退任され、評議員であった家次氏が専務理事に就任され、新しくシスメックスの和歌氏が評議員に就任されました。また、この６月には、宇都宮理事が退任され、東京大学の輕部氏及び浜松医科大学の菅野氏が理事に就任されました。橋本前専務理事、宇都宮前理事のこれまでのご指導ご協力に対しまして、この場をお借りし、厚く御礼申し上げます。

さて、本年報は、財団の事業報告及び成果報告を兼ねており、例年のように、平成１２年度の財団の活動状況と過去に行いました助成事業の成果を紹介しております。

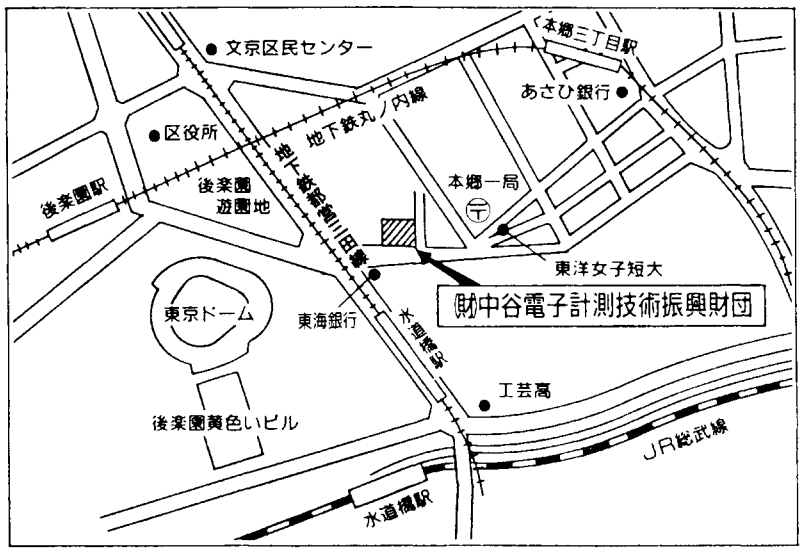
目新しいものとしては、平成９年から実施しておりました「２１生体電子計測研究会」の成果を取りまとめた報告書の中から、「提言」部分を抜粋して掲載させていただいたほか、技術交流助成事業の一環として実質的に１２年度から実施致しました、海外研究者の招聘助成成果について、受入責任者となれた先生からのレポートを掲載しておりますので、ご一読下されば幸いです。

「２１生体電子計測研究会報告書」は、研究会が平成１２年度末で終了するため、メンバー、講師等の方々のご協力を得てこれまでの成果を報告書の形にまとめたもので、費用の関係もありＣＤ－Ｒで作成しております。また、部数に限りはありますが、簡易印刷版（Ａ４版約100頁）も作成致しました。入手ご希望の方は事務局まで、お申し越し下さい。

事務局では、昨年から、パソコンベースの事務処理に切り替えました。まだまだ不慣れな面も多く、皆様方にはご迷惑をおかけ致しておりますが、恩恵は多大なものがありました。即ち、不在となることが多い方々との連絡がメールにより効率良く行えるようになった他、上記報告書の作成作業の過程におきましてもフル活用させて頂きました。また、研究助成事業の募集をホームページでも行ったため、問い合わせも増え、応募総数は、これまでの最高となりました。

ＫＳＤ事件もあり、公益法人に対する指導、監督も一段と厳しいものとなっておりますが、当財団は過去の実績もあり、昨年１１月１５日付で通商産業大臣（現経済産業大臣）から、寄附金に対して免税措置が受けられる、特別公益増進法人としてのご認可を頂くことが出来ました。当財団は、今後とも、電子計測技術の振興のため各種助成事業を実施し、社会に貢献させていただきますので、皆様方の暖かいご支援をお願い申し上げる次第であります。

（７月末　栗山記）



財団法人 **中谷電子計測技術振興財団　年報**

15号

平成13年8月1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
URL : http://www.jade.dti.ne.jp/~nemta/
E-mail : nemta@jade.dti.ne.jp

編集・発行人　栗　山　榮　治

印刷　(有)盛光印刷