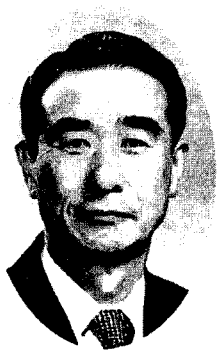
年　報

18　号

目　　次

設立の趣意 …… 2
役員・評議員および事業の概要 …… 3
平成15年度事業概要 …… 4
Ⅰ 技術開発に対する助成事業 …… 4
技術開発助成金贈呈式 …… 6
Ⅱ 調査研究に対する助成事業 …… 10
Ⅲ 技術交流に関する支援事業 …… 10
記念特別講演・ナノとバイオとフォトンの時代 …… 12
平成13年度（第18回）技術開発助成成果報告 …… 17
平成14年度調査研究助成成果報告 …… 71
平成15年度技術交流助成成果報告 …… 74
技術開発に対する助成状況 …… 82
技術交流に関する助成状況 …… 93

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　早稲田大学理工学部教授
輕　部　征　夫　東京工科大学バイオニクス学部長・教授　東京大学名誉教授
菅　野　剛　史　財団法人浜松市医療公社理事長
中　谷　　正　シスメックス株式会社取締役
村　上　浩　一　当財団事務局長
監　　事
秋　山　純　一　多摩大学・同大学院教授（公認会計士）
田　中　照　明　ＡＳＧマネジメント株式会社常務取締役（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　早稲田大学人間科学部教授
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に対する助成
　電子計測技術分野の実態および種々の問題についての調査研究に対して助成します。
■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及び提供
　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 14 年 11 月に経済産業大臣より「特定公益増進法人」の認定を受けました。

平成15年度事業概要

我が国の経済状況は今だ厳しい状況が続いており、社会の高齢化も急速に進展している。このような局面を乗り越えるため、経済構造の改革が求められており、新しい産業を創出するための科学技術の促進は、ますますその重要性が増している。中でも、各種産業の共通的基盤技術である電子計測技術の促進が重要となっている。

このため、財団法人中谷電子計測技術振興財団は、創立以来、電子計測技術分野における先導的技術開発、技術の交流等を促進するための助成事業、支援事業等を実施してきており、平成15年度においても次の諸事業を実施した。

I　技術開発に対する助成事業

電子計測技術は共通的基盤技術であって、先導的技術開発を促進することは極めて重要である。その電子計測技術に対する技術開発助成事業は、当財団の中核事業であり、本年度もこの事業に力点を置いて実施した。

1．募　　集

電子計測技術は極めて広汎な分野に亘るが、健康で明るい人間社会を築くために重要な役割を果たすと考えられる技術開発分野として、理・工学と医学・生物学の境界領域にあり、学際的研究として社会的ニーズが高まっている「生体に関する電子計測技術」を対象研究課題として、大学およびこれに準ずる研究機関に対して助成対象研究テーマの募集を行った。なお、前年度と同様、文書送付により募集案内を行ったほか、当財団のホームページに募集案内を掲載するなど、広範な方々へ募集内容が周知されるよう努めた。

2．審　　査

財団法人中谷電子計測技術振興財団内に設置した審査委員会（根本俊雄委員長他7名で構成）の委員により、各大学等から応募のあった61件の研究テーマに対して、公正にして厳密なる審査を実施し、電子計測技術の先導的技術開発に寄与するものと考えられる10テーマを選出した。

3．技術開発助成金の贈呈式

審査委員会において選出された研究テーマについて、次頁の10名の研究者に対して、平成16年2月27日(金)新神戸オリエンタルホテルにおいて技術開発助成金(総額2,000万円）の贈呈式を行うとともに、各研究者による研究計画内容の発表を実施した。

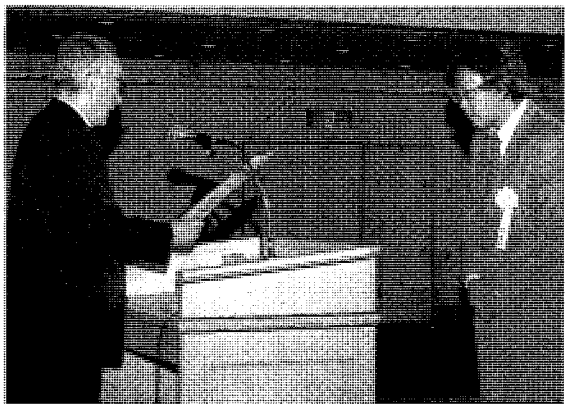
第２０回（平成１５年度）技術開発助成金贈呈者（金額単位：万円）

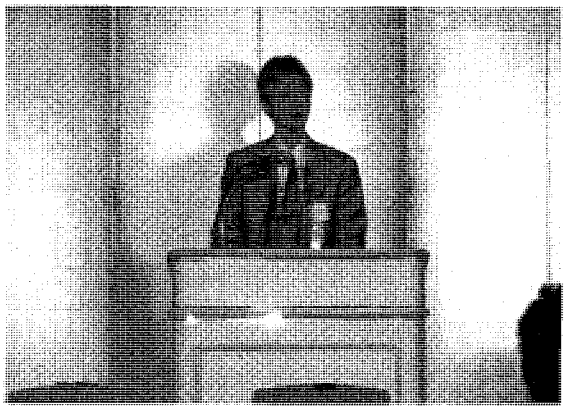
氏　名	所　属　機　関・職　名	研　　究　　題　　目	助成金額
和田　英夫	三重大学医学部 臨床検査医学講座　助教授	網血小板判定による血小板減少症の鑑別	２５０
黒川　隆志	東京農工大学工学部 電気電子工学科　教授	周波数コム発生による光コヒーレンス・トモグラフィの研究	２２０
丸尾　昭二	横浜国立大学大学院工学研究院 システムの創生部門　助教授	光駆動マイクロ流体制御素子の開発とバイオチップ応用	２００
大西五三男	東京大学医学部 整形外科・脊椎外科　専任講師	エコートラッキングによる超音波定量診断法の骨癒合判定への応用に関する基礎的研究	２００
吉田　靖弘	岡山大学大学院医歯学総合研究科 生体材料学分野　助教授	表面プラズモン共鳴のためのリン酸カルシウムおよび各種金属センサーの開発	２００
橋本　秀樹	大阪市立大学大学院理学研究科 生体物性物理学　教授	多光子励起型３次元超高速分光計測システムの開発	２００
田村　安孝	山形大学工学部 情報科学科　教授	高速超音波３次元動態計測用演算システム	２００
望月　修一	東京大学大学院医学系研究科 医用生体工学講座　助手	センサー機能を付加した人工弁の開発	１８０
木竜　　徹	新潟大学大学院自然科学研究科 情報理工学専攻　教授	機能分散型健康増進支援システムのためのウエアラブル生体情報計測･制御ユニットの開発	１８０
南　　和幸	山口大学工学部 機械工学科　助教授	ＭＥＭＳ技術を用いた低侵襲組織診断のためのＭＲＳ用マイクロプローブの開発	１７０
		助成金額合計	２，０００

技術開発助成金贈呈式

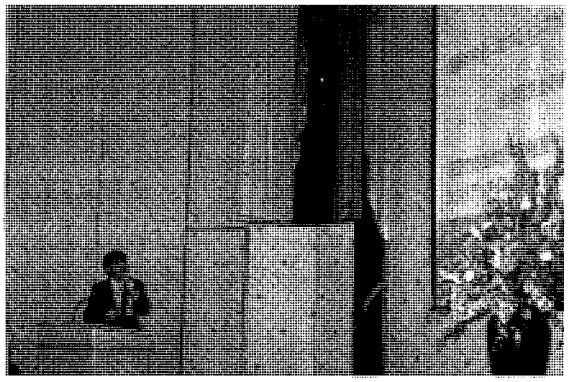
ごあいさつする三輪理事長

審査経過を報告する根本審査委員長



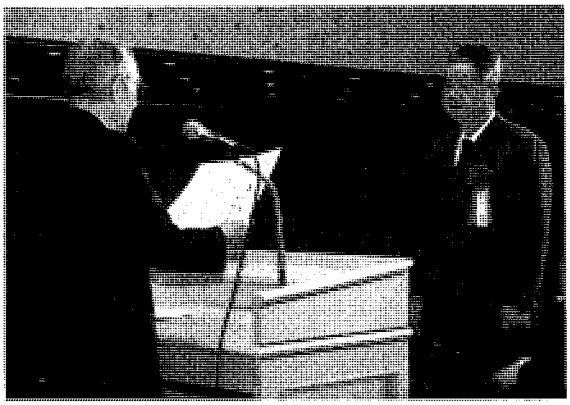


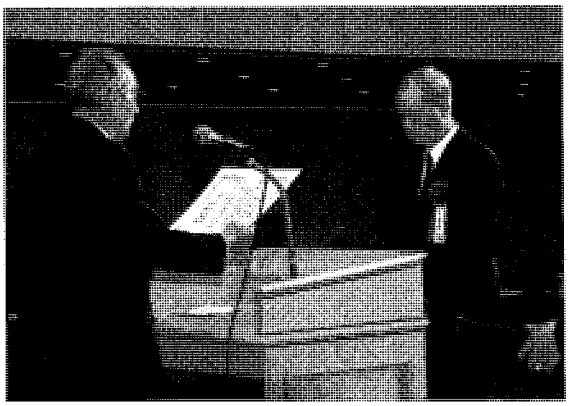
受賞者を代表してご挨拶される田村教授



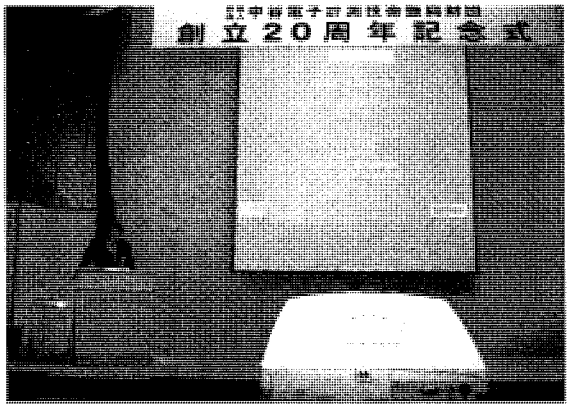
研究計画を発表される受賞者

20周年記念表彰





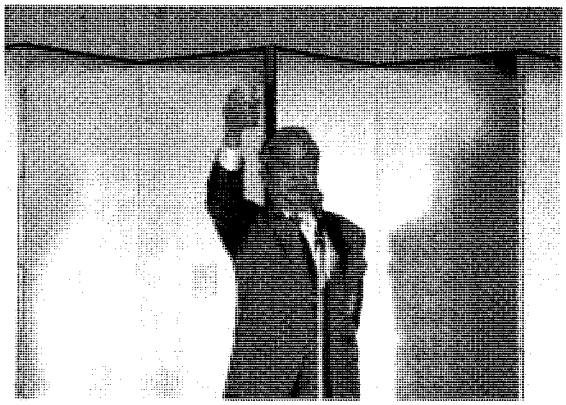
20周年記念特別講演



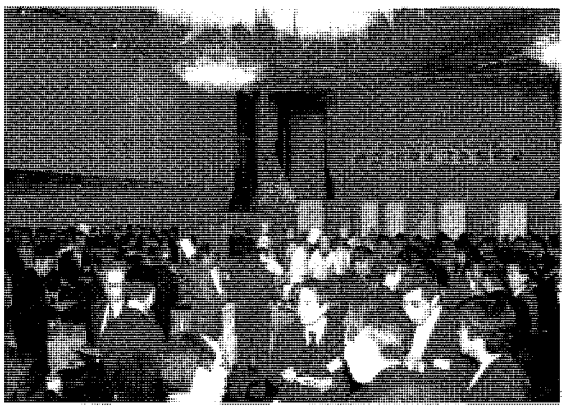
特別講演される河田教授

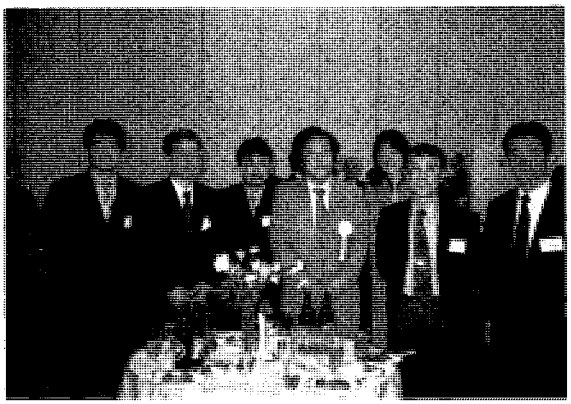
記念懇親会

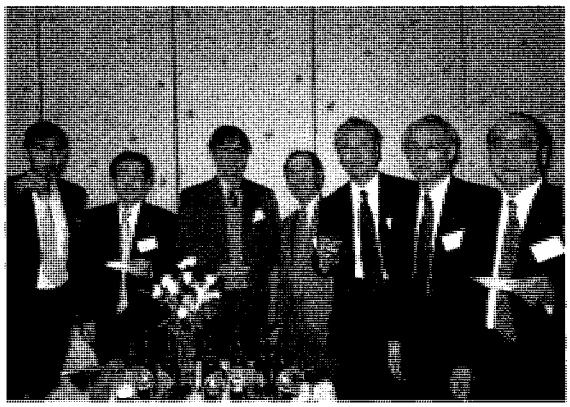
ご祝辞をのべられる
福田情報通信機器課長

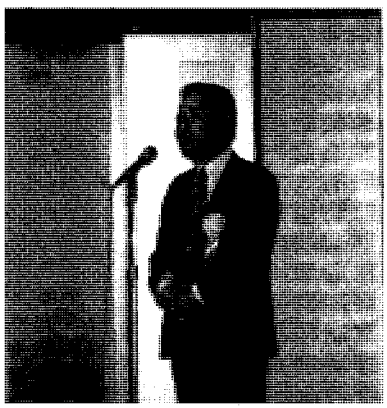


乾杯の音頭をとられる
藤井評議員









中締めのごあいさつをする
家次専務理事

Ⅱ. 調査研究に対する助成事業

生体に関する新たな電子計測技術の実用化促進を図るためには、生体に関する電子計測分野における技術の動向を的確に把握し、効率的かつ集中的な研究を行うことが重要である。

平成 15 年度は、前年度までの調査結果を報告書として取り纏めることを目的として、大阪大学大学院医学系研究科保健学専攻機能診断科学講座分子病理学教室の松浦成昭教授から申請された調査研究題目「再生医療分野における電子計測技術の利用に関する調査研究」に対し、審査委員会の審査を経て助成金を贈呈した。

Ⅲ. 技術交流に関する支援事業

近年におけるナノテクノロジーやバイオテクノロジーなどの発展に伴って、技術開発研究を行う場合に関係する学術領域は益々複雑多様化しつつあり、内外における研究者の技術交流を推進する重要性が増しつつある。平成 15 年度は、技術交流に関して以下の事業について助成を行った。

1. 派遣

氏　名	所属機関・職名	会　議　名	開催地	時　期
稲垣　正司	国立循環器病センター研究所 循環動態機能部機能評価研究室 室長	World Congress on Medical Physics and Biomedical Engineering 2003 年医学物理・生体医用工学世界会議	オーストラリア・シドニー	平成 15 年 8 月

2. 会議等

氏　名	所属機関・職名	会議名	開催地	時期
千原　國宏	奈良先端科学技術大学院大学情報科学研究科　教授	第 6 回日本－ポーランド医用生体工学シンポジウム	京都	平成 15 年 10 月
梶谷　文彦	岡山大学大学院医歯学総合研究科システム循環生理学　教授	岡山国際シンポジウム：循環フィジオーム	岡山	平成 15 年 12 月

Ⅳ．２０周年記念表彰事業

財団創立２０周年を記念して、財団創立以来、これまで、ほぼ２０年間を通して、財団の運営等にご協力を頂いた先生方に、感謝の意を表すために、金一封を添え表彰状をお渡しした。

Ⅴ．２０周年記念特別講演

財団創立２０周年を記念し、今後の電子計測技術の行方に大きな影響を与える光の最先端技術について、光分野の権威でおられる大阪大学大学院工学研究科応用物理学専攻の河田聡教授に「ナノとバイオとフォトンの時代」と題して特別講演をお願いした。

特別講演

ナノとバイオとフォトンの時代

大阪大学大学院工学研究科教授　河田　聡

日本の戦後は、時計、テレビ、テープレコーダーに代表される精密機械・マイクロエレクトロニクスの技術開発によって復興を果たしたが、21世紀における科学技術の最大の関心事であるナノテクノロジーは、このミニチュア・マイクロ技術の延長にあるといえよう。カメラ、顕微鏡、光ディスク、レーザー加工、ステッパー、液晶、LED、レーザーメスなどの光技術もまた、日本が世界に誇る技術である。ともに日本人の手先の器用さと几帳面さを生かした日本固有のテクノロジーである。日本のこの2つの得意技術であるナノテクノロジーとフォトニクスを融合させたのが、「ナノフォトニクス」であり、日本の新しい科学技術の将来の発展を約束する技術である。

フォトンでナノの世界を拓くことができれば、「フォトンで原子を操作し、微細加工する」、あるいは「分子を1つずつ観察・分析する顕微鏡をつくる」、さらには「フォトンでDNAの塩基をひとつずつ解読しひとつずつ操作する」、「細胞内のタンパク質分子を操る」ことなどの技術展開が期待されるであろうし、また、「量子細線・量子ドットを評価する」とか「超高記録密度の光メモリやナノ集積回路をつくる」といった産業への応用も期待できよう。さらに、ナノの世界で特徴的な量子効果、メゾ効果、サイズ効果等にフォトンが関わっていくこともできる。

フォトンのエネルギーは他の量子と比べて低いので、生体組織・細胞や各種有機材料に対するダメージが小さく、応用される範囲が広い。しかし、一方、エネルギーが低いということはすなわち波長が長いことを意味する。光をレンズにより絞り込んでも、光の波動性によって回折し、波長程度、すなわち数百ナノメートル程度に拡がる。すなわち、波長程度より小さな構造は観察したり加工することができない。これが、古典光学の常識であった。我々が目指したのは、この常識を打ち破り、低エネルギーの波長の長い光で、ナノの構造をみたり、書いたり、読んだりする技術を開発することである。

波長の壁を越える

可視光のフォトンのエネルギーは～eV程度であり、一方ナノメーターの波長のフォトンが持つエネルギーは～keVに達する。これはX線に相当する。ナノ構造を可視光のフ

ォトンで制御するためには、eVのフォトンでkeVの高さの山（あるいは壁）を越えなければならない。もし可視域や赤外域のフォトンが波長の限界を超えてこのナノの山を越えることができれば、ナノスケールの構造、分布をナノスケールの分解能で観察することができ、分子の分布や構造を個別に識別することができる。可視や赤外の振動数は、分子と分子の結合を直接振動させるので、観察波長を選択することによって、異なる分子結合を観察することができる。

ナノの山を越える方法はいくつか考えられる。第１は、トンネルを掘る方法である。山の幅が狭ければフォトンが山をトンネリングする確率が存在し、トンネリングによってフォトンはミクロンの世界からナノの世界に到達できる。この原理は近接場光学あるいはニアフィールド光学とよばれる。

第２の方法は、フォトンの上にさらにフォトンを乗せて、フォトンの背丈（エネルギー）をより高くする方法である。肩車して、高いところに手を届かせる方法といえよう。多光子過程などの非線形分光法、その他様々な非線系な応答を利用する。

本講演では、フォトンのトンネルを掘る近接場光学とフォトンを重ねていく多光子・非線形分光学によるナノフォトニクスの最先端を、我々の研究例を示しながら紹介したい。

ニアフィールド顕微鏡

光の波長より小さな穴をあけ、その開口に光を照射すると何が起こるであろうか。光の波長より小さい開口では光は通り抜けることができない、これが答えである。ただし、より正確に答えると、開口の近接場（ニアフィールド）には、虚数の運動量を持つフォトンがしみだしている（このフォトンをエバネッセントフォトンと呼ぶ）。そこで、同じような小さな開口をもつもう１枚の板をこの板に近づけると、虚数の運動量を持つフォトンが第２の開口側にトンネリングすることで、光が通り抜ける。波長より小さな開口の存在が、もうひとつの開口によって見つけることができたことになる。これが、まさに、ニアフィールド顕微鏡の原理である。

エバネッセントフォトンを用いたニアフィールド顕微鏡には、微小な開口を有するプローブのほか、微小な散乱体や微小な回折格子などのさまざまなナノの構造体がプローブとして提案されている。いずれも、光の波長より小さな構造をもっていることが必要条件である。たとえば、ナノスケールの先端径をもつ金属針も近接場プローブとして用いることができる。この金属プローブに光を照射すると、金属プローブ先端で電子が入射光によって集団的に振動することによって強い電磁波、すなわち光が発生する。この光も針の近傍、数ナノメートルの領域にのみ存在できるエバネッセントフォトンである。このエバネッセントフォトンを利用して観察した分子のラマンスペクトルを 30nm の間隔でマッピングした結果である。光の波長の１０分の１以下の間隔でスペクトルを測定しているにもかかわらず、特定のラマン線のみが増強されたり、あるいはピークがシフトする現象を観察することができる。これら現象は、分子と金属が化学的に吸着するこ

とに起因していると考えられ、化学的相互作用による近接場ラマンスペクトルといえる。

非線形ナノフォトニクス

ナノの世界に到達するもう一つの方法はフォトンのエネルギーを足しあわせて頂上を越えること、すなわち多光子過程等の非線形な効果を利用することである。たとえば、紫外線にしか感度がなく、近赤外では透明な物質に、近赤外の光をフォーカスすることを考えてみる。その物質は近赤外で透明であるため、反応せずに通り抜けるだけのはずである。しかし、フォトンをきわめて短い時間と空間に閉じ込めることができたら、フォトン密度がその瞬間、その1点においてきわめて高くなり、2つの近赤外フォトンが同時に1個の電子を励起することができる。短く圧縮されたパルス光を大きな角度でレーザー光を絞り込んで送ると、ある瞬間、ある時間において物質が紫外線に反応するような現象が起こるわけである。この現象は、2光子過程と呼ばれ、この場合、吸収の遷移確率は光スポットの2乗に比例することから、光応答の分布はガウスビームや回折制限された光スポットの広がりよりも狭くなる。あるいは、光応答が閾値特性を有すれば、閾値以下の領域が反応を示さないので、応答範囲を波長以下にすることができる。

フェムト秒レーザー加工の実例

われわれの提案による2光子過程を利用した光重合によるナノ微細加工例を紹介しよう。フェムト秒パルスレーザーからの近赤外光（ λ～800nm）を対物レンズにより紫外線硬化性光重合樹脂にフォーカスすると、100フェムト秒の時間、1 μm^3以下の空間の領域に、およそ1KWのフォトン密度が得られる。フォトン密度が極めて高くなると、樹脂に配合されている重合開始剤である色素分子が2つの近赤外フォトンを同時に吸収し、電子を励起し、ラジカルを生成する。フォトンが高密度に達する微小空間においてだけ、紫外線のエネルギーに相当する2光子励起反応が誘起される。ラジカルがモノマーを連続的に光重合し、その結果樹脂が局所的に硬化する。CWの1KWの高強度のレーザーを照射すると、光重合反応だけではなく、熱も生成し、樹脂が破壊されるので、フェムト秒レーザーが使われる。しかしそれ以上に、フェムト秒レーザーを用いるとその非線形分光応答効果により、局所的な光重合を可能とすることの意味が大きい。2光子吸収により生成されたスポット構造である。各スポット構造は露光時間をそれぞれ変化させたもので、露光時間を変えることで、作製する構造の大きさを制御できる。この実験において作製できた最小の構造は、直径120nmであるが、先端の大きさを観ると、50nm程度の分解能が達成できている。用いられたレーザー波長は780 nmであり、回折限界の10倍以上の分解能向上が得られている。

樹脂内で近赤外レーザー光を3次元走査して、焦点位置を制御すると、その軌跡に従って3次元構造を樹脂内に硬化できる。その後、未硬化のモノマーを溶剤で洗い流すと、微小構造体を取り出すことができる。このような方法でつくったのが、ミクロの牛であ

る。全長が8μm、高さが5μmのミクロの牛であり、赤血球とほぼ同じ大きさである。この牛の構造体は光を用いて作製しているのにもかかわらず、脚、角、尻尾などの微小な部分は回折限界より小さなサイズであるため、光ではもはや観察することができず、フィールドエミッション型の走査電子顕微鏡で観察している。

「8μmの牛をつくってどうするの」と、たくさんの人に聞かれる。重要なことは、8μmというサイズである。赤血球に相当する大きさであり、このサイズであれば体内の指、脳、心臓から全ての血管を通り抜けることができるのである。心筋梗塞や脳梗塞などの狭窄部位があっても、ナノ精度マイクロ構造体がその部位まで薬を移送したり、検査・手術するのも夢物語ではない。これからの高齢化社会で、人体に負荷の少ない治療を行う方法として、新しい産業を生み出すものと期待される。

むすび

光のナノテクノロジーといえば、光の振動数を高くする、波長を短くするテクノロジーであった。したがって、使用する帯域が可視光から紫外光、紫外光から真空紫外域、あるいはX線と変化してきた。これに対し、我々が目指すナノフォトニクステクノロジーは、特定の振動数でナノスケールの微細な構造を観察し、加工・作製することを実現する。波動の回折限界、すなわち波長の壁をブレークスルーするためのサイエンス&テクノロジーとして、フォトンをトンネルする近接場光学とフォトンを足し合わせる非線形光学を紹介した。

ナノフォトニクス技術は、原子、分子、蛋白分子、細胞、量子デバイスなどをナノスケールで観察、分析、修飾、操作することができ、バイオテクノロジー、シリコンテクノロジー、材料科学など他分野のサイエンスにも貢献すると期待される。ナノ加工、ナノ記録、ナノ手術、ナノ光源、ナノマシンへの応用が考えられ、新しい産業の創成にも深く寄与すると思われる。

ナノフォトニクス自身、未開拓の研究分野であり、2つのナノスケール構造の間に発生する非常に強い電磁場相互作用を学問的に明らかにすることも、魅力あるテーマである。メゾ効果、量子効果も含んだ複雑系そのものが、そこにある。これらを考慮に入れ、近接場光学と非線型光学の組み合わせによって山の中腹にトンネルを開け、ナノの世界に到達する非線形近接場光学の研究を推進していきたいと考えている。

参考文献

[1] S. Kawata ed.: Near-field Optics and Surface Plasmon Polaritons, (Springer, Heidelberg, 2001).

[2] S. Kawata, M. Ohtsu, M. Irie ed.: Nano-optics, (Springer, Heidelberg, 2001).

[3]河田　聡：超解像の光学、学会出版センター、(1999)

[4]　Y. Inouye and S. Kawata: Opt. Lett.19, 159, (1994).

[5] N. Hayazawa, Y. Inouye, Z. Sekkat, and S. Kawata: Chem. Phys. Lett,335, 369, (2001).
[6]S. Maruo, O. Nakamura and S. Kawata : Opt. Lett.22, 132, (1997).
[7]河田　聡，田中智一: 光学,30, 258,（2001）.
[8]S. Kawata, H-B. Sun , T. Tanaka, and K. Takada: Nature,412, 697, (2001).

講　師　略　歴

学　職　歴　1974年　大阪大学工学部応用物理学科卒業
1979年　大阪大学大学院工学研究科応用物理学専攻博士後期課程修了
1979年　日本学術振興会特別研究員
1979年9月　カリフォルニア大学アーバイン校電気工学科研究助手
1981年9月　大阪大学工学部応用物理学科助手
1992年　大阪大学工学部応用物理学科助教授
1993年　大阪大学工学部応用物理学科教授
1994年夏　Oxford大学客員教授
1997年夏　Sydney大学客員教授
1997－2002年　日本学術振興会未来開拓研究推進事業
「フォトニック生体計測制御」プロジェクトリーダー

現　在　大阪大学大学院工学研究科応用物理学専攻教授
大阪大学大学院情報科学研究科情報数理学専攻教授
理化学研究所ナノフォトニクス主任研究員
阪大フロンティア研究機構(FRC)機構長
科学技術振興事業団戦略的基礎研究推進事業(CREST)
「非線形ナノフォトインクス」プロジェクトリーダー

主な受賞歴　2003年　島津賞
1998年　市村学術賞貢献賞
1997年　ダビンチ賞（フランス・ルイビイトン・モエヘネシー財団）芸術のための科学賞
1996年　日本IBM科学賞（エレクトロニクス部門）
1989年　日本分光学会論文賞
1981年　応用物理学会光学論文賞

主な学協会委員長
Max Planck Society, Advisory, Erlangen Modern Optics Center
レーザー顕微鏡研究会、会長
光産業技術振興協会、光技術動向調査委員会、委員長0000
日本光学会、副幹事長　他多数

平成１３年度（第１８回）
技術開発助成成果報告

１．無侵襲血糖計測の新手法
—ハイスピード・エリプソメトリーによる生体偏光脈波の計測 —·····18

２．ＴＨｚ時間領域分光法を用いた高機能皮膚診断法の開発
—角質層の水分量と厚さの同時測定 —·····23

３．転写因子ＮＦ－κB活性化測定ＤＮＡチップ開発による
エンドトキシンショック迅速診断 ·····28

４．シャペロニンによるタンパク質折れたたみ機構の
１分子蛍光イメージング·····35

５．真空一貫プロセスで作製する銀を利用した表面プラズモン
共鳴バイオセンサー用チップ ·····40

６．多層観察型リアルタイム共焦点蛍光顕微鏡の開発 ·····44

７．自律神経系信号による人工心臓制御システムの開発 ·····48

８．回転磁界と差動磁界を用いた生体運動計測装置の開発 ·····52

９．近赤外分光法を用いた筋組織酸素濃度の実時間イメージングと
筋代謝の定量評価·····56

１０．三次元医用画像投影システムにおける精度評価のための
計測手法に関する研究·····61

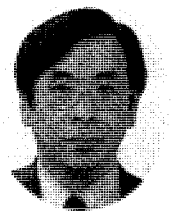
１１．表面プラズモン共鳴バイオセンサ(SPR)による
細胞機能測定技術の開発·····66

注１　顔写真は研究責任者です。

注２　本成果報告は平成 13 年度の助成金の贈呈に基づき、平成 14 年度に実施され、平成 15 年 9 月までに執筆された研究成果です。

無侵襲血糖計測の新手法ーハイスピード・エリプソメトリーによる生体偏光脈波の計測

研究責任者　東京医科歯科大学 生体材料工学研究所　生体システム分野
助教授　中　村　真　人



1. はじめに

臨床医学において、血糖測定は必要不可欠な検査の一つである。特に糖尿病、新生児医療などでは、治療管理、合併症や予後改善のために、血糖測定は必須で、かつ、頻回に及ぶ。例えば、インスリン治療に欠かせない一日血糖検査では、患者は、毎食前後と就寝前の１日計７回、数日間にわたって血糖を計測する。また、新生児医療では、脳障害をもたらす低血糖予防のため、３時間に１回、低出生体重児では２時間毎の血糖検査がルーチンに行われている。

現在、血糖を測定する場合は、注射器で採血するか、または、針で皮膚を穿刺し、血液をしぼって、簡易携帯型血糖測定器で検査するかしかない。患者は、毎回、針を刺す痛み、傷、出血、恐怖で、大きな肉体的、精神的ストレスを強いられる。医療従事者、患者家族も、採血の手間と負担、血液を介した感染事故のリスクを負う。

これらの背景から、無痛、非観血、無侵襲での血糖測定への要望は非常に大きく、これまで、多くの研究者たちが無侵襲血糖測定に取り組んできた。ブドウ糖に特有な吸収波長での吸光を計測する分光光度計測、生体組織の吸光係数、散乱係数の計測、ラマン光計測、Photoacoustic measurement、眼の前眼房水での旋光角の測定、その他いくつかの方法が報告されているが、無侵襲での正確な血糖の絶対値計測は、今なお困難を窮めており、実用に至っているものはない[1)~4)]。

血糖とは、正確には血液中のブドウ糖と定義されるが、無侵襲での計測する場合、組織全体をひっくるめての計測となる。血液と言っても赤血球などの細胞成分と血漿の液性成分があり、さらに組織にはさまざまな細胞や細胞外マトリクスの実質成分、細胞内液、細胞外間質液がある。加えて、それらは、多種多様な物質を含み、しかも不均一、不特定構造で構成し、三次元分布も全く特定できない。また、生体は光の散乱を伴う散乱体であるため、光路や光路長を特定することも困難である。無侵襲血糖測定は、このような状況の下、極めて微弱なブドウ糖による情報のみをより分けて特定せねばならないという実にきびしい難事業への挑戦である。

2. 新しい無侵襲血糖計測法の試み

2.1 生体偏光脈波の着想

筆者は、新しい無侵襲血糖計測法のアイディアとして、臨床で活躍しているパルスオキシメータと、光の強度計測と同時に計測できる旋光角に着目した。パルスオキシメータは、無侵襲に動脈血酸素飽和度をモニタリングする装置であるが、その最も重要な特徴は、動脈の脈動に伴う光信号の脈動を計測することで、皮膚の上から組織全体を計測するにもかかわらず、動脈血の酸素飽和度情報のみをうまく抽出している点にある。一方、旋光角とは、光学活性物質により偏移させられる偏光振動面の回転角であるが、ブドウ糖は直線偏光を反時計回転させる左旋光性の光学活性を持ち、その旋光角は、光路長とブドウ糖濃度に比例関係することが知られている。もし、動脈の脈動に伴って旋光角が変動していたら、それが計測できれば、まさに動脈血の血糖情報が導き出せるのではないか？そう考えて、生体偏光脈波の計測を思い立った。

2.2 生体偏光脈波計測による無侵襲血糖計測の理論背景

一般に、光学活性体を含む媒体では、旋光角θの変移は光路長lと光学活性物質の濃度Cに比例する。すなわち、

$$\theta = \alpha \times l \times C \quad \cdots(1)$$

αは、比旋光度と言われ、物質の種類、温度、波長によって決まっている。ブドウ糖の比旋光度は、633nmの波長光で、4.562（度cm²/g）である。

一方、動脈の脈動は、組織内の血液量の増減をもたらし、生体を通る光の吸収を変化させる。パルスオキシメータの原理では、この動脈脈動に伴う光強度の変動から、光学的厚さの変動を見ている[5),6)]。光学的厚さとは、見かけ上の光路長のことである。もし、動脈の脈動により光学的厚さが変動するならば、光路長に関係する旋光角も変動することが予想される。すなわち、(1)式は、

$$\Delta\theta = \alpha \times \Delta l \times C \quad \cdots(2)$$

と表せる。ゆえに、濃度Cは、

$$C = (1/\alpha) \times (\Delta\theta/\Delta l) \quad \cdots(3)$$

と表され、血糖値Cは、Δlに対する$\Delta\theta$の比に相関することが分かる。もし旋光角の脈動が計測でき、光強度の脈動との関係が調べられたならば、そこからブドウ糖濃度が推定できる可能性がある。

2.3 生体偏光脈波の計測：これまでの研究経過と本研究の目的

上記のごとく理論的可能性が考えられるものの、まず旋光角の脈動を計測する装置が必要である。旋光角を測定する装置は一般に旋光度計、もしくはエリプソメータと呼ばれるが、ステッピングモータで偏光板を回転させながら、サーボ機構で透過光の最暗または最強の角度に合わせて角度を求めている。そのため、数秒に1回しか測定できず、旋光角分解能も10分の1度が限界である。動脈拍動に伴う変動はとても計測できないし、血糖計測に必要な分解能もない。したがって、生体偏光脈波の計測には、高分解能かつ高速計測を実現する装置を自作する必要があった。

また、生体は光を散乱させる散乱体で、生体を透過してきた光と言っても、厳密には前方散乱光である。しかし、散乱光で旋光角を計測した報告は見当たらず、散乱場での旋光角計測の可能性から調べる必要があった。

そこで、筆者は、高速高精度に旋光角を計測する手法として、True Phase Measurement Techniqueに着目し、実験用旋光角計測装置（試作1号機）を自作し、散乱体での計測を試みた[4),7),8)]。装置の感度限界から、生体に比べ、ごくわずかな散乱場での実験ではあったが、True Phase Measurement Techniqueのノウハウを得、散乱場での旋光角計測の知見として、散乱体を透過した光であっても旋光角計測が可能であることと、その旋光角には媒体中のブドウ糖濃度が反映することを確認した[8)]。

そこで本研究では、生体を通した光でも感知計測できるように高感度化し、さらに血糖レベルのブドウ糖濃度による旋光角が計測できるよう高精度化し、しかも動脈拍動が感知できるよう高速化した旋光角計測装置を作製し、実際に生体を通した光で生体偏光脈波を計測することを目的とした。

3. ハイスピード・高分解能旋光度計測装置の試作

3.1 True Phase Measurement Technique

まず、True Phase Measurement Techniqueの概要を述べる[4),7),8)]。入射光には、回転する偏光子を通したレーザー光を用いる。偏光子を通ることで入射光は直線偏光となり、偏光振動面は偏光子回転に伴って回転する。直線偏光となった入射光は、検体通過後、固定した偏光子を通して観測される。ここで計測される光強度は、回転する偏光子と固定偏光子の影響で、サイン2乗の波形となる。検体通過により偏光面が偏移されると、その旋光角は、このサイン2乗波形の位相のずれとなって表われ、検体を通らないレファレンス光との位相差を求めれば、旋光角が得られるというしくみである。高速回転、高速サンプリングにより、精度を落とさず、高速化できる。

3.2 ハイスピード・高分解能旋光度計測装置の試作

医学的に計測が必要な血糖値の範囲は、20～400g/dlで、1g/dlの精度が要求されるとすると、光路長1cmあたり、分解能4.562×10^{-3}度の測定が必要と見込まれる。また、動脈の脈動による旋光角の変化を捉えるためには、毎秒20サンプルの旋光角計測が必要である。

この高速・高精度で生体の旋光角計測を実現するため、ハイスピード・高分解能旋光度計測装置を試作した。図1に装置の概要を示す。生体への透過性が高く、かつ、酸素飽和度の影響も受けにくい805nm（isosbestic wavelength）の近赤外レーザーと、高感度フォトダイオード、増幅装置を採用した。また、本装置では、偏光子の回転にエンコーダ付き中空モータを用い、そのエンコーダ信号をレファレンスとした。レーザー発生装置、偏光子、エンコーダ付き中空モータ、高感度フォトダイオード、電気的増幅装置を含む光学系装置（特注品、ユニオプト、静岡）、高速AD変換ボード（DAQ-CARD6062E、日本ナショナルインスツルメンツ、東京）を入手して、中空モータの制御と信号計測用プログラムを自作した。偏光子は1200ｒｐｍ（20回転/秒）で回転させ、サンプリング周波数は100,000Hz、もしくは、200,000Hzで計測した。

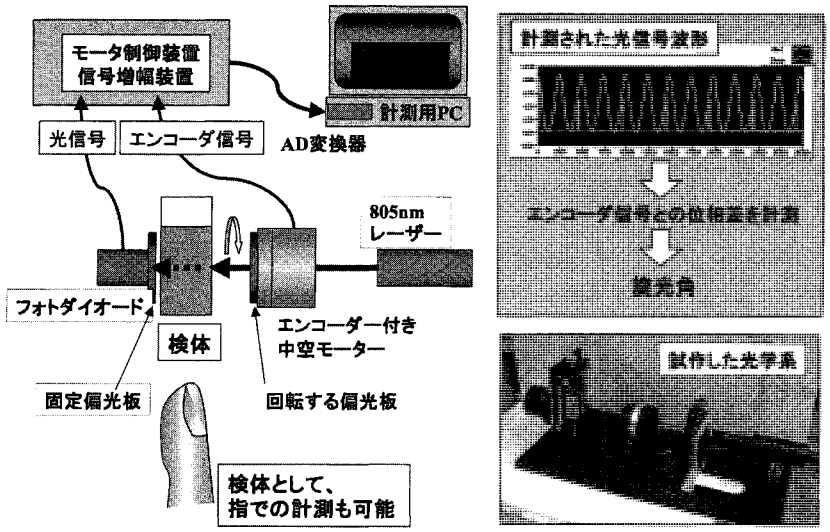


図１　ハイスピード・高分解能旋光度計測装置の概略図

4.　生体偏光脈波の計測

4.1　予備実験：散乱体での旋光角計測

今回試作した装置で、生体と同レベルの散乱媒体での検討を行った。散乱媒体として、イントラリピッド（イントラリピッド20%、Pharmacia AB、 Stockholm、Sweden）希釈液を用いた。イントラリピッドは、散乱媒体内の光伝播解析実験にしばしば用いられる9)。イントラリピッド濃度が0、0.5、1.0、1.5%、D-glucose液の濃度が0、 10、 20、 30、 40、 50g/dlとなるよう調節した検体を光路長10mmの石英セルに入れ、旋光角を計測した。

結果：結果を図２に示す。まず、散乱体なしでは、ブドウ糖濃度が増えるほど旋光角は小さくなり負の線形相関が認められた。次にブドウ糖濃度が同じ場合で散乱の及ぼす影響を見ると、イントラリピッド濃度が高くなるほど旋光角が進む傾向を認めた。しかし、ブドウ糖濃度が10g/dl以下の領域では、イントラリピッド濃度が1.0%以上で飽和した。次に、同じイントラリピッド濃度の場合についてブドウ糖濃度の影響をみると、散乱体がない場合と同様、ブドウ糖濃度が高くなるほど旋光角は減少するが、イントラリピッド濃度の上昇に伴い、勾配は急になり、ブドウ糖濃度の影響をより強く受ける。しかし、イントラリピッド濃度がさらに上がると、全体的にグラフは、直線から逆S字状の曲線へと曲線化が進み、右にシフトする。イントラリピッド濃度1.0%以上では、高いブドウ糖域でしかブドウ糖濃度による変化が見られなかった。

以上から、散乱体イントラリピッド溶液を通して計測された旋光角は、ブドウ糖濃度を反映するものの、その

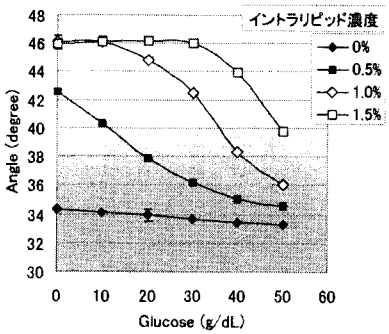


図２　散乱体イントラリピッド存在下でのブドウ糖濃度-位相の関係

反映の仕方は、イントラリピッド濃度の影響を大きく受け、散乱の影響は決して少なくないことがわかった。

4.2　生体偏光脈波の計測

本研究で試作したハイスピード・高分解能旋光度計測装置を用いて、実際に生体を通した光で生体偏光脈波を計測した。人差し指をフォトダイオードに接着し、爪側から偏光レーザー光を照射した。

結果：指を通して得られた信号の生波形を図３に示す。パルス状に出ているエンコーダ信号と、その2倍の周波数でサイン波を描きながら、全体としてゆっくりした周期で脈動する信号波形が計測された。回転偏光子の2倍の周波数波が感知できるということは、指を通した光にも、入射光の偏光情報が確実に残っていることを示している。また、ゆっくりした周期変動は、動脈の脈動により生じる波で、この脈動の谷が血圧の収縮期にあたる。

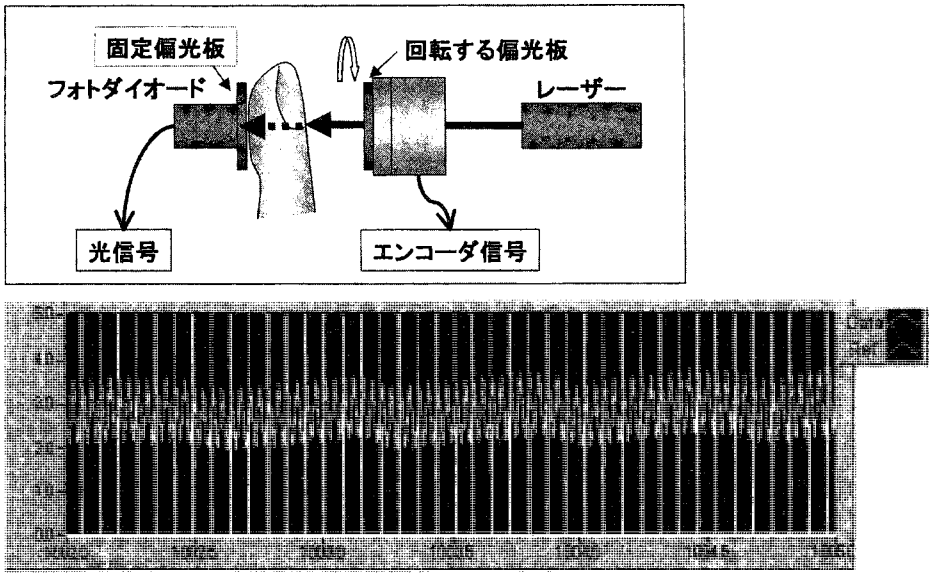


図３　指を通して得られた光信号の生波形

縦にパルス状に出ている信号はファレンスのエンコーダ信号。エンコーダ信号の２倍の周波数でサイン波を描きながら、全体的にゆっくりした周期で脈動しているのが光信号派形。

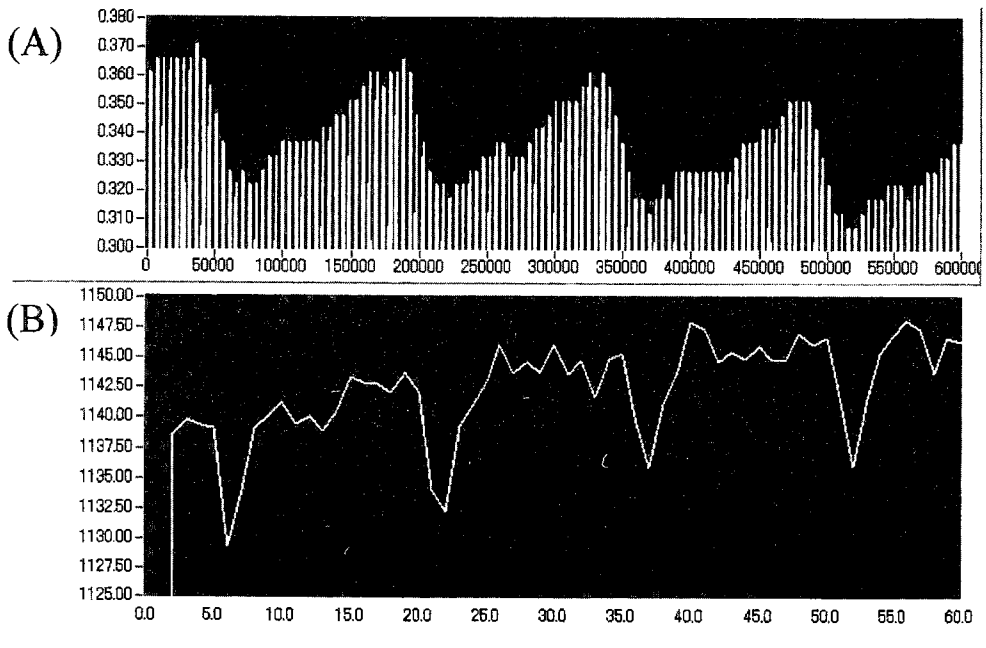


図４　指を通して得られた光強度の変化（A）と位相の変化（B）

（A）は、サイン波を呈する光信号波形のピーク値の動脈脈動に伴う変動に注目して、計測された光信号波形をズームアップした。（B）は、偏光子１回転毎のサイン波でのエンコーダ信号からの位相差を求め、その位相の時間変化を同じ時間軸で並べて示した。

図４に指を通して得られた光強度の変化（A）と位相の変化（B）を示した。（A）では、動脈脈動に伴う光強度の変化が見やすくなるよう、ピーク領域のY軸をズームアップした。エンコーダ信号と計測信号の位相差を求め、その位相の時間変化を、（A）と同じ時間軸で（B）に並べて示した。両グラフから明らかなように、動脈による光強度の変動に同期した位相、すなわち旋光角の変動が認められた。このようにして、生体偏光脈波が計測できた。

この偏光脈波の脈動では、光強度が弱い時（収縮期）に、位相は早くなっている。光強度が弱い時とは、すなわち、光学的厚さが厚い時、と考えられるので、光学的厚さが厚い分、ブドウ糖の影響を多く受け、そのため旋光角はブドウ糖の影響を強く表す減少方向に変動することになる、と推論される。

5. まとめ

本研究で試作したハイスピード・高分解能旋光度計測装置を用いて、実際に生体を通した光で生体偏光脈波を初めて計測することができた。光生体計測では、動脈の拍動に伴って、光強度が脈動するとともに、光の偏光情報も脈動することがわかった。血糖との関連を論ずるためには、光強度変化と旋光角の変動の関係や偏光脈波の詳細な特徴を調べるなどまだまだ先は長いものの、将来、パルスオキシメータのような有効な生体計測への応用が可能になるかもしれない。

しかしながら、散乱体を通しての旋光角計測では、散乱の影響は思いのほか大きく、ブドウ糖による旋光角変化も、散乱によって大きく左右されることも判明した。また、生体には、ブドウ糖のほかにも、さまざまな光学活性物質が含まれ、それらは組織だけでなく、脈動をもたらす血液中にも含まれる。したがって、今回得られた生体偏光脈波も、ブドウ糖以外の物質や散乱自体の変化がもたらしているのかもしれない。生体偏光脈波のメカニズムや影響物質・要因など、さらなる解明が必要である。

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助成によって行われたもので、関係者各位に、深く感謝申し上げます。

参考文献

1)Khalil OS. Spectroscopic and Clinical Aspects of Noninvasive Glucose Measurements. Clinical Chemistry 45(2); 165-177、 1999

2)Heise HM、Marbach R、Koschinsky Th、Gries FA. Noninvasive Blood Glucose Sensors Based on Near-Infrared Spectroscopy. Artificial Organs 18(6); 439-447、1994

3)Koschinsky T、 Heinemann L. Sensors for glucose monitoring: technical and clinical aspects. Diabetes Metab Res Rev 17; 113–123、2001

4)Cote GL、 Fox MD、 Northrop RB. Noninvasive Optical Polarimetric Glucose Sensing Using a True Phase Measurement Technique. IEEE Trans Biomed Eng 39、752-756、1992

5)青柳卓雄．パルスオキシメータ．医器学 68(8); 315-319、1998

6)Wieben O: Light absorbance in Pulse oximetry. In Webster JG. (ed)、 Design of Pulse Oximeters、Medical Science Series、 Bristol and Philadelphia、Institute of Physics Publishing、p40～p55、1997

7)中村真人、非侵襲的血糖測定を目的とした近赤外光偏光脈波の検出に関する研究．Toyota Technical Review 52(2);113、 2002

8)中村真人、大内克洋、渡邊宣夫、星英男、片岡弘之、高谷節雄、無侵襲血糖計測のための基礎検討：散乱体での旋光角計測、生体医工学 41(suppl.1); 326、2003

9)Wilson BC、 Jacques SL、 Optical Reflectance and Transmittance of Tissues: Principles and Applications. IEEE Journal of Quantum Electronics; 26(12); 2186-2

THz時間領域分光法を用いた高機能皮膚診断法の開発

～角質層の水分量と厚さの同時測定～

研究責任者　大阪大学大学院基礎工学研究科機能創成専攻
助手　安井武史
共同研究者　大阪大学大学院基礎工学研究科機能創成専攻
教授　荒木勉
共同研究者　奈良県立医科大学医学部第1解剖学教室
教授　東野義之

1. はじめに

皮膚は人体が外界と接する部位であり、皮膚呼吸・発汗などにより生体内の環境や体温を調節するだけでなく、外部からの刺激（異物、細菌、微生物、太陽光線、機械的刺激他）から生体内部組織を保護する役割も担っている。皮膚のこれらの機能が低下すると皮膚疾患となり、炎症や痒みを生じることになる。このような皮膚の機能は、皮膚の最外殻組織である角質層の水分含有量と関係があると考えられている。一方、アトピー性皮膚炎によるドライスキン、皮膚ガンや火傷の検査、化粧品・医薬品の評価、美容など、実用的視点からも皮膚の水分モニタリングは多くのニーズがある。このように、皮膚水分量は人間が生活していく上で重要な生理的パラメーターであり、皮膚科学的観点から重要な関心事となっている。

従来より水の電気的特性（電導率、静電容量、誘電率他）を利用した皮膚水分測定法が提案・実用化されているが、マクロな領域（～cm）の接触測定である上に、水分以外の電解質（汗他）の影響を受けやすく高精度化が困難であった。また、この手法では、皮膚表面下 30-40 μm の角質層の水分量のみを測定しており、角質層全体に存在する含有水分量を測定しているわけではない。一方、非接触リモート測定が可能な光学的手法として可視光反射分光法による水分測定法も提案されているが、皮膚組織中の散乱やメラニン色素の吸収のため、十分な成果は挙げられていない。

我々は、皮膚水分量測定の非接触・高感度・高精度・高空間分解能化はもちろんのこと、さらに角質層の厚さ測定を同時に実現できれば、角質層厚さに依存することなく一義的に皮膚水分量の評価を行うことが可能になると考えた。すなわち、皮膚角質層における『ミクロ領域』の『単位厚さ当たり水分量』を厳密に定量できれば、皮膚科学関連分野に新たな局面を展開できると考えられる。本研究では、皮膚角質層の水分量と厚さの同時測定を実現するため、テラヘルツ電磁波パルス（THz パルス）が有する、自由空間伝搬・低侵襲・優れた物質透過特性・水の吸収が極めて大きい・コヒーレントなサブピコ秒パルス・生体組織内での光散乱が小さい・イメージング測定が可能、といった特徴に注目し、非破壊・非接触・低侵襲で、（1）皮膚角質層の含有水分量と（2）角質層厚さの（3）2次元分布状態の同時測定が可能な高機能皮膚診断法の開発を行う。最終的に、皮膚水分量を角質層単位厚さ当たりの水分量として決定し、これらの2次元分布状態を可視化することを目的とする（図1）。

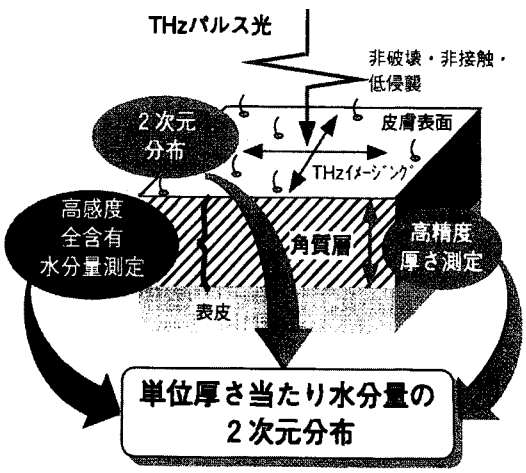


図1　角質層水分量・厚さの同時定量イメージング

2. テラヘルツ電磁波パルスとは

テラヘルツ領域（周波数 = 0.1～10 THz；波長 = 30～3000 μm）は、ちょうど光波と電波の境界に位置し、

これまで光源と検出器の制限から、ほとんど研究が行われていない未開拓研究領域であった。しかし、最近の安定な超短パルスレーザーの出現と超高速デバイス技術の発達により、テラヘルツ領域の超短パルス（THz パルス、パルス幅＝サブピコ秒～ピコ秒）の発生及び検出が可能になった[1]。THz パルスは、光波と電波の境界に位置するということから、その両者の性質を有するユニークな電磁波である。具体的には、自由空間伝搬、良好な物質透過特性、極性分子の吸収が大きい、低エネルギー・低侵襲、コヒーレントなサブピコ秒パルス、広帯域スペクトル、生体組織内での散乱の影響が小さい、イメージング測定や分光測定が可能、といった特徴を有する。また、この波長領域における物質との相互作用として、分子の回転遷移、生体高分子の共鳴吸収、原子の禁制遷移、コヒーレント・フォノン等がある。このようなユニークな特徴により、物性評価[2]、生体計測[3),4)]、非破壊検査[4),5)]などの分野における新しい計測手段として注目されている。

このような THz パルスを皮膚診断に用いることにより、(a) 非破壊・非接触・低侵襲、(b)深浸透性による角質層全体の測定、(c)水の極めて大きな THz 吸収による高感度水分量測定、(d)サブピコ秒時間分解測定による高精度厚さ測定、(e)THz イメージングによる２次元分布測定、(f)角質層単位厚さ当たりの水分量測定、といった特徴を有する高機能皮膚診断法が実現できる。

3. 測定原理

皮膚組織は、外側から、角質層、表皮、真皮、皮下組織という順序で層構造を成している（図２(a)）。各層の成分は各々異なることからその光学的特性である群屈折率も異なり、その結果、各層の境界には群屈折率不連続界面が存在する。このようなサンプルに対して、THz パルスを入射すると、屈折率不連続面である各組織境界面から時間的に分離されたエコーパルスが戻ってくる（図２(b)）。したがって、角質層前後の境界面(1)および(2)からの THz エコーパルスの時間遅れを、サブピコ秒時間分解測定で厳密に決定することにより、高精度厚さ測定を実現する。

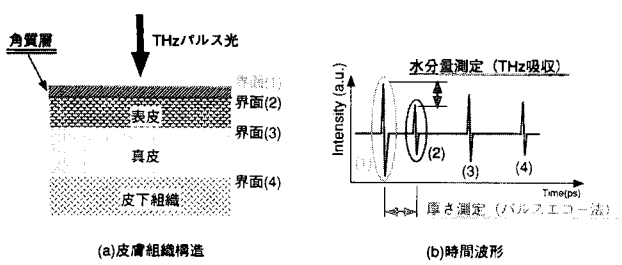


図２　測定原理

一方、含有水分量測定には、THz エコーパルスの強度情報を用いる。角質層前後（境界(1)と(2)）からのエコーパルス強度は、角質層における水の吸収に依存するため、これらを用いて含有水分量の定量を行う。

4. 実験装置及びサンプル

図３に、実験装置図を示す。THz パルスの発生及び検出にはフェムト秒チタン・サファイアレーザー（AVESTA TiF-Kit-100、パルス幅=60fs、パワー=200mW、繰り返し周波数=87MHz、中心波長=810nm）を用いる。レーザー光はビーム・スプリッター（BS）によって、発生用ポンプ光と検出用プローブ光に分岐させる。ポンプ光はレンズによって、光伝導アンテナ（PC アンテナ）に集光される。

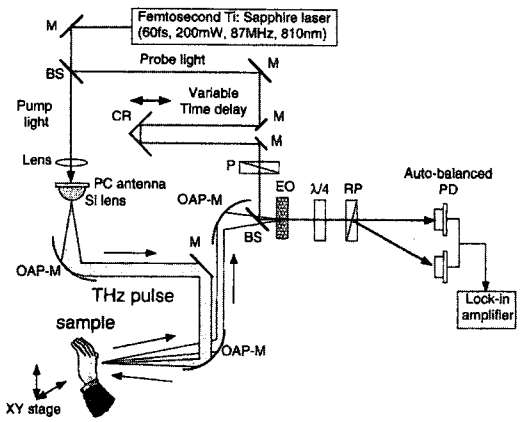


図３　測定装置

微小アンテナ・ギャップ間には、あらかじめバイアス電圧をかけておく。フェムト秒パルス光が入射した瞬間に発生した光励起キャリアが、バイアス電圧で加速されることによって PC アンテナ間を微小電流が瞬時に流れ、双極子放射が起こる。その結果、THz パルスが超半球型シリコンレンズ（Si レンズ）側に放射される。THz パルスは軸外し放物面鏡（OAP-M）によって平行光線にされ、平面ミラーで反射された後、別の軸外し放物面鏡によってサンプルに集光される。サンプルから反射された THz パルスは軸外し放物面鏡によって再び平行光線にされた後、３番目の軸外し放物面鏡によって電気光学結晶（EO 結晶）に集光される。プローブパルス光は時間遅延を経て偏光子（P）で直線偏光にされた後、ビームスプリッターによって THz パルスと空間的に重ね合わされて EO 結晶に入射される。ここで、THz パルスは EO 結晶の印加電界として機能する。すなわち、THz パルスとプローブ光が EO 結晶内で時間的に重なった時のみ、THz パルスによる電気光学効果（複屈折）をプローブ光が受け、

直線偏光のプローブ光が楕円偏光化される。複屈折量はTHzパルスの電場強度に比例する。その複屈折量を1／4波長板（λ/4）、ローション・プリズム（RP）、バランス検出型フォトダイオード(PD)を用いてロックイン検出する。プローブ光はTHzパルスに比べてパルス幅が短いので、プローブ光の時間遅延を連続的に変化させながら複屈折変化量をサンプリング測定することにより、THzパルスの電場時間波形を再現する。またイメージング測定では、サンプルを2次元的に走査する。

本研究では、サンプルとしてヒト掌の皮膚を用いた。皮膚サンプルは、ホルマリン固定された解剖検体から取り出され、皮下組織を外科用メスで除去した。このようにして作成した角質層・表皮・真皮からなる皮膚サンプルは、蒸留水で洗浄後、室温で乾燥させ、実験に用いた。

5. 実験結果

5.1 基本特性

本システムによって得られたTHzパルスの電場時間波形を図4に示す。このようにテラヘルツ領域では、もはや搬送波成分の包絡波が超短パルスを形成するのではなく、完全なモノサイクル・パルスとなり、パルス幅は0.4 psである。この時の測定SN比は最大1000であった。

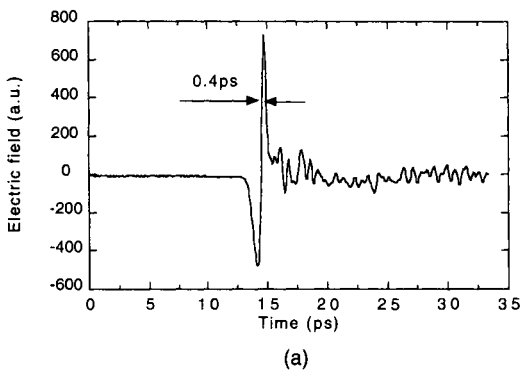


図4 時間特性

イメージング特性の評価は、ナイフエッジ法を用いて行った。すなわち、図4のTHz電場時間波形の最大値に遅延時間を固定し、サンプル位置でビームを横切る方向にナイフを0.1mm刻みで移動させた時の電場強度の変化を測定した（図5(a)）。測定値に対して、ガウシアン・フィッティングを行った結果、スポット径は1.7mmであった。またTHzイメージングの応用例として、カッターナイフ刃の根元部分の時間分解イメージング測定を透過配置で行った。図5(b)に示すように、カッターナイフ刃の幅は9mmで、直径3mmの穴があいている。サンプルは自動ステージによって20mm×20mmの測定範囲を0.25mm刻みで2次元的に走査し、測定を行った。その結果、得られた時間分解イメージが図5(c)である。ナイフ刃は金属製であるためTHzパルス光は透過できず、結果としてその部分が影となって表れていることが分かる。また、空間分解能が不十分なためイメージが少しぼやけているが、ナイフエッジ及び穴の部分が確認できる。

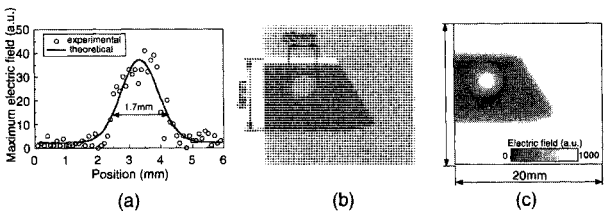


図5 空間分解能

5.2 微量水分測定

THzパルスと物質との相互作用の1つに、分子の回転遷移がある。特に、極性分子である水の吸収はTHz領域において極めて大きい。このような特徴は非常に微量の水を高感度測定する場合に有効であり、本研究ではこの特徴を角質層水分量測定に応用している。そこで、まず本課題の重要な計測スキルである微量水分量測定に関する基礎実験を行った。

図6は、水の厚みを100 μm刻みで変化させていったときの水分量（水厚さ）とTHz吸収をプロットしたものである。両者は高い線形相関を示しており、定量分析が可能であることが分かる。また、厚さ100 μmまでの微量水分までは少なくとも測定できることも分かる。水のTHz吸収が極めて大きいというこのような特徴は、生体

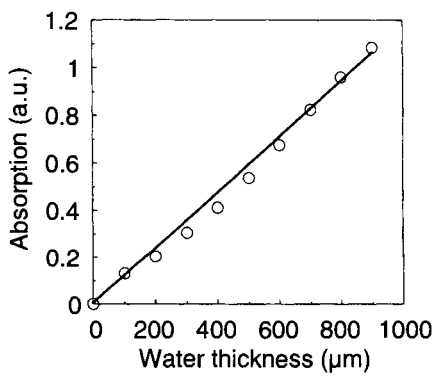


図6 水のテラヘルツ吸収特性

組織のようなwater richなサンプルでは問題となりこれまでその応用が制限されてきたが、一方で微量水分量ならば高感度測定が可能であるとも言える。本研究でターゲットにしている皮膚角質層は厚さ 100 μm 前後であり、THz パルスは十分に透過可能である。

皮膚水分量測定を模した予備実験として、ウエットティッシュの水分量測定を透過配置で行った。ウェットティッシュを 8 枚重ねて、サンプル位置に配置した。可視光や近赤外光では吸収と散乱のためサンプルをほとんど透過することが出来ないが、THz パルスはその良好な透過特性と低散乱性によりこのようなサンプルでさえ透過可能である。ウェットティッシュを大気中に 4 時間放置した時の THz 吸収の時間変化（●プロット）を図 7 (a) に示す。また、同時に電子天秤で重量変化を測定した時のデータ（□プロット）も併せて示している。ウェットティッシュ中の水分が時間の経過と共に蒸発し、THz 吸収が減少していっているのが分かる。2 時間後にはほぼ蒸発が完了し、波形変化が微小となっている。図 7 (b) は THz 吸収変化と重量変化の相関を示しており、高い相関性（= 0.998）が得られていることが分かる。このことより、THz 吸収によって水分量変化が精度よく測定できていることが分かる。

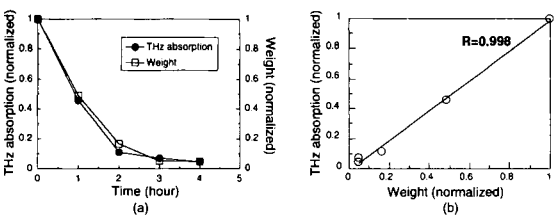


図 7　ウェットティッシュの含有水分量測定

5.3　皮膚厚さ測定

図 8 に、掌皮膚サンプルから得られた THz エコーパルスの電場時間波形を示す。ここで時間波形はデコンボリューション解析によるインパルス応答として示されており、エコーパルスの正負及び大小は境界前後の群屈折率の大小関係によって決まる。図 8 において、（1）は空気-角質層の境界、（2）は表皮-真皮の境界、（3）は真皮-サンプルホルダー境界からの THz エコーパルスであると考えられ、これはサンプルの幾何学的サイズのオーダーと一致している。一般に掌は身体中で特に角質層が厚い部位として知られているが、角質層-表皮境界のエコーは観測されていない。これは角質層厚さに対して THz パルスの時間幅が十分に短くはないため、角質層-表皮境界からのエコーが時間的に分離されず、エコーパルス（1）に重畳し隠れた状態であるためと思われる。テラヘルツ領域における生体組織の群屈折率を 2 とすると、角質表面から表皮-真皮境界までの厚さは 409 μm で、真皮の厚さは 1257 μm であり、実際のサンプルとオーダー的に一致している。

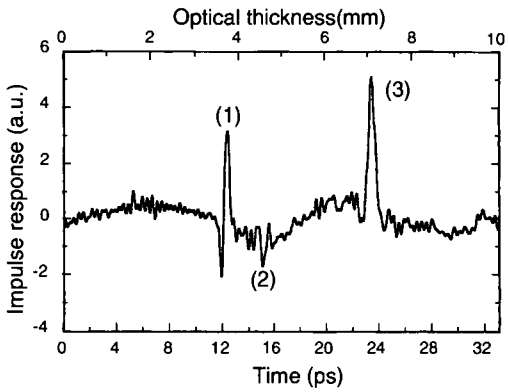
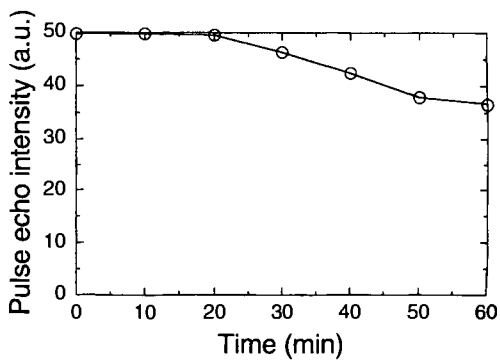


図 8　掌皮膚の THz エコーパルス

5.4　含有水分量測定

最後に皮膚含有水分量に関する実験を行った。ここでは、蒸留水中に 12 時間浸した掌皮膚をサンプルとして用いた。図 8 の結果より、今回のシステムでは角質層-表皮境界からのエコーパルスを時間分離することが出来なかった。そこでここでは、エコーパルス（1）の強度を用いて、含有水分量の推定を行った。図 9 は、エコーパルス（1）の強度をパラメーターとして用いた場合の時間変化を示している。皮膚サンプルを空気中に放置すると、時間の経過と共にエコーパルス（1）の強度が減少した。これは以下のように考えられる。テラヘルツ領域における水の群屈折率は 2 より大きいため [6]、水を含んだ皮膚の群屈折率は乾燥皮膚（群屈折率= 2）より大きくなる。



すなわち、皮膚の乾燥と共に群屈折率が低下していくことになる。この群屈折率の低下により、空気（群屈折率＝1）-角質層境界における群屈折率差も低下するため、THz エコーパルス信号の強度が減少する。図９の結果はこのような過程を反映していると思われ、角質層表面の水分量変化をプローブしていると考えられる。

6. まとめ

テラヘルツ電磁波パルスを用いた高機能皮膚診断法の開発として、角質層の水分量と厚さの同時測定に関する基礎研究を行った。

厚さ測定に関しては、空気ー角質層、表皮ー真皮、真皮ーサンプルホルダーの各境界からの THz エコーパルスを確認した。一方、角質層ー表皮境界からのエコーパルスは厚さ分解能の不足により、空気ー角質層境界のエコーパルスと分離することができなかった。今後は、さらなる厚さ分解能（時間分解能）の向上が望まれる。そのための手段として、信号解析手法の改善（逆問題解析など）と 10 フェムト秒以下の極短パルスレーザーによる THz パルスの時間幅短縮を検討している。

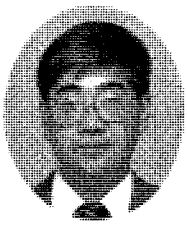
一方、含有水分量測定に関しては、提案手法を用いることにより皮膚表面水分量の相対的な変化をモニタリングできた。一方で、皮膚含有水分の絶対量を決定するためには本手法では不十分であり、今後は微量水分量の高感度定量法の検討が必要である。

上記問題の解決及び測定迅速化による２次元イメージング測定が実現できれば、本手法に基づいた次世代の高機能皮膚診断法が期待できると考えられる。

参考文献

1) D. H. Auston et al, Appl. Phys. Lett., Vol. 45, No. 3, pp. 284-286 (1984).
2) D. M. Mittleman et al, Appl. Phys. Lett., Vol. 71, No. 1, p.16-18 (1997).
3) R. M. Woodward et al, CLEO 2001 Technical Digest, Baltimore, USA, p.329 (2001).
4) D. M. Mittleman et al, IEEE J. Sel. Top. in Quant. Electron., Vol. 2, No. 3 , p.679-692(1996).
5) D. M. Mittleman et al, Opt. Lett., Vol. 22, No. 12 , p.904-906 (1994).
6) J. T. Kindt et al, J. Phys. Chem., Vol. 100, No. 24, pp. 10373-10379 (1996).

転写因子ＮＦ－κB活性化測定ＤＮＡチップ開発による エンドトキシンショック迅速診断



研究責任者　富山医科薬科大学医学部臨床検査医学講座
教　授　北　島　　勲
共同研究者　富山医科薬科大学医学部免疫学講座
教　授　村　口　　篤
共同研究者　富山医科薬科大学医学部臨床検査医学講座
助教授　小　方　則　夫

1. はじめに

21 世紀に入り、医学は急速な進歩をとげているにもかかわらず、敗血症の死亡率は極めて高い。全身性炎症症候群（SIRS）やエンドトキシンショックの病態を迅速かつ的確に把握する検査法が臨床現場で確立されていないため、病態の重篤度判定や病態変化に応じた適切な治療が後手にまわることが救命率が低い原因であるといわれている。ＳＩＲＳやエンドトキソンショック診断には、①炎症性サイトカイン群を統括的に測定できること、②患者検体から迅速、簡便、かつ高感度に病院検査室レベルで測定できること、③検査結果判定が迅速に臨床現場に返すことができ、結果が容易に解釈でき、治療法決定に貢献できること、④経済的に安価であること。以上を満たす検査方法を開発することが解決策として重要であると考える。そこで、筆者らは、SIRS やエンドトキシンの病態に関与する種々の炎症性サイトカイン発現が、それらプロモーター領域存在する転写因子 NF－κB結合により調節されていることに注目し[1]、NF－κB活性化状態を把握できる上記条件を持たす検査方法の研究・開発に取り組んだ。本研究の目的は、重篤な感染症やSIRS の病態を臨床現場で迅速、高感度に把握し、治療方針決定するための転写因子 NF－ κB活性化解析ＤＮＡチップを開発しキット化することである。

2. エンドトキシンショックにおける転写因子ＮＦ－κB活性化の重要性解明

グラム陰性菌の細胞膜成分であるリポポリサッカライド（LPS）の受容体として Toll like receptor (TLR)が同定された。TRL ファミリーの TIR ドメインは IL-1 受容体（IL-1R）ファミリーの細胞内領域と相同性があるので、IL-1R シグナル伝達と同じ分子を利用する。ＬＰＳ刺激により、細胞内アダプター蛋白 MyD88 を介して IRAK（IL-1R associated kinase）が活性化される。次に TRAF 6（TNF－receptor associated factor）と IKK（Ｉ κB kinase）活性化が生じ、最終的にＩκB の燐酸化とユビキチン化によりＩκB がプロテオソームで分解され、NF- κB の核内移行が誘導される。われわれは、マクロファージ系細胞において、TLR4 発現は恒常的に認められるが TLR2 は無刺激状態で発現が弱く、LPS 刺激後にその発現が増加することを認めた。われわれはこの LPS による TLR2 発現誘導は、NF- κB活性抑制剤である PDTC で抑制されることから TLR4 を介する NF- κB活性化がＴＬＲ２ 発現を誘導するというＬＰＳによる炎症反応重篤化に関する細胞内シグナル伝達モデルを提唱した[2, 3]。非活性化状態にあるマクロファージは、TLR4 と CD14 発現が認められるが TLR2 の発現は低い。感染初期において少量の LPS が存在すると、迅速に TRL４以下の下流にシグナルが伝達され、最終的にＮＦ- κB活性化が生じる。活性化 NF- κB は TNF- α、IL-2, ＩL-6, IL-8、IFN－ γ等の炎症性サイトカインに加え、TLR２発現を誘導する。われわれは感染症が持続、重篤化するにつれ、血中 LPS の濃度も上昇するが、高濃度 LPS は TLR２にも結合でき、NF- κB活性化シグナル伝達に付加することを明らかにした。

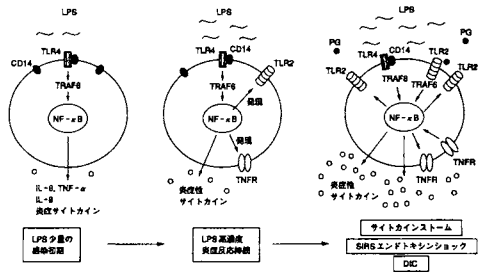


図 1.　SIRS、エンドトキシンショック発症と NF- κB 活性化

すなわち、TLR4, TLR2 によるシグナル伝達に炎症性サイトカインによる作用が加わることにより、NF- κB 活性化が最大となり、最終的に SIRS を引き起こすメカニズムを考えている（図１）[4]。

感染初期で LPS 濃度は低い場合、構成的発現を示す TLR4 が LPS と結合し、マクロファージ細胞内にシグナルを伝達する。NF- κB 活性化が生じ、TNF- α、IL-6、IL-8、MCP1 等の炎症性サイトカイン発現が誘導される。感染が重篤化し、LPS 濃度が高くなると活性化 NF- κB が TLR 2 mRNA 発現を誘導する。感染後期や SIRS、エンドトキシンショックに生体が陥ると TLR2 が LPS やグラム陽性菌菌体成分と反応し、さらに炎症性サイトカイン発現誘導を増強する。

3. 非ラジオアイソトープによる転写因子活性化測定研究計画

3 - 1 測定原理に関する市場調査

転写因子測定に関わる技術特許化が重要であるため、市場調査を始めに行う。次にエンドトキシンショックの病態把握検査方法がキット化された場合の使用用途とその市場調査を行った。

3 - 2 転写因子特異的結合チップ作成

大学等研究室で行われているラジオアイソトープを用いたゲル・シフトアッセイ（EMSA）に改良を加えた。

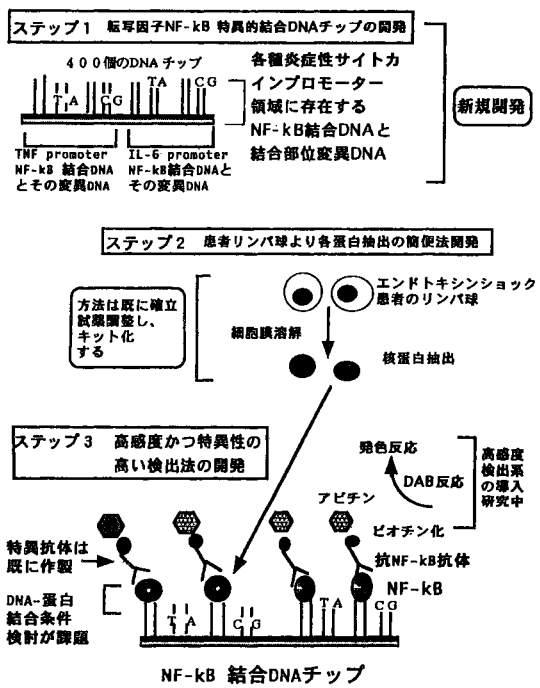


図 2. NF-κB 活性化測定チップ作成過程

その要点を（図２）に提示した。「ステップ１」は NF－κB 結合特異配列を持つ二本鎖核酸をプレート上に固相化する。「ステップ２」は患者リンパ球より核蛋白抽出を簡便化する方法を開発する。「ステップ３」はプレート上に結合したＮＦ－κＢを特異的に検出するためにＮＦ－κＢ特異抗体を用いた検出系を確立する。検討課題として、①アッセイシステム：対象とするサイトカインプロモータープローブの決定が重要であり、その特異性と定量性をいかに生み出すかが鍵となる。②測定システム：臨床検体における検度設定、反応時間短縮、塩濃度を含む反応液組成を決定する必要がある。

4. 成 果

4 - 1 転写因子活性化測定に関する特許調査

チップ・マイクロアレイに関する基本特許は米国アフメトリックス社がアレイ上のスポッテイングと検出原理を押さえていた。核酸を用いた診断に関しては Somalogic Inc がアプタマーを利用する方法で特許をかけていた。転写因子を標的にしたものは General Hospital Co.が遺伝子異常検索で Dnab Diagnostics Inc が NF-AT 活性を標的に薬剤ターゲットに関して特許を有していた。既にこの分野において、米国 Panomics 社から、活性化された転写反応を 24 種類中から特定できる TransSignal Transcription Reporter Arrey、54 種類のエレメントに結合する転写因子発現検出用 TranSignalTF c DNA Arrey、免疫沈降によって対象とする蛋白と結合するプローブを分離同定する TransSignal TF-YF Interaction Array などが、研究用キットとして市場にでている。転写因子活性測定キットとして、Becton Deckinson 社から BDMercury TransFactor Kit、Active Motif 社から Trans AM kit が販売されている。これらは転写因子活性化スクリーニングの研究目的に開発されたものであるが、米国では日本市場の約 10 倍の製品が使用されており、臨床現場で用いるものができればその市場はかなり大きなものとなることが期待できる。NF- κB に関しては，その発見者である David Baltimore が NF－κB 蛋白自身に特許をかけ、その阻害薬剤に特許が多い。しかし、NF-κB に対する抗体を含め、その測定に関するものには特許がかかっていないことを確認した。

4 - 2 特異的ＮＦ－ｋＢ結合シーケンスの決定

NF- κB 結合コンセンサスシーケンスは GGACTTTC であるがその前後配列とその長さを決定する必要がある。そのために何種類か既存配列で検討した。①HIV－LTR 由来配列(TTGTTACAAGGGACTTTCCGCTGGGACTTTCCAGGGAGGCGTGG(45bps)（プローブコード名：１）

とした。また、そのコントロールプローブ（コード名１NC）：TTGTTACAACTCACTTTCCGCTGCTCACTTTCCAGGGAGGCGTGG、②Ig-κB 由来配列：AGCTTCAGAGGGGACTTTCCGAGAGTACTG(30bps)（プローブコード：２）、そのコントロール；AGCTTCAGAGATCGATCGGATGAGAGTACTG（コード名：２NC）、③B 細胞 κlight chain enhancer 領域由来配列：AGTTGAGGGGACTTTCCCAGG (22bps)（プローブコード名：PROMEGA）を合成し、２重鎖プローブとした。これらプローブは、５末端を RI 標識したＲＩによるゲルシフト検出とビオチン標識した non-RI 検出とで比較した。検出物はNF-κB p 50 リコンビナント蛋白、HeLa 細胞核抽出液、TNF-α刺激血管内皮細胞核抽出液、健康人リンパ球各抽出液である。

（図３）にＲＩプローブを用いたゲル・シフトアッセイの結果を示した。図３Ａはプローブ１，２を用いた結果であり、ともにリコンビナント NF-κBp50 蛋白に反応し、非ＲＩコールドプローブによる競合阻害でバンドは消失し、抗 p50 抗体にてスーパーシフトされた。健常人リンパ球核蛋白ではいずれもバンドは検出されなかった。図３Ｂは血管内皮細胞に対し、TNF-α刺激を行った核タンパクとの反応を示す。プローブ名 PROMEGA と２が矢印で示されるようにように１本のバンドが検出され、50 倍のコールドプローブにより競合阻害され、NF-κB 結合領域に変異を入れた２NC プローブではバンドは検出されなかった。以上より２と PROMEGA プローブは特異度の高いものと判定された。

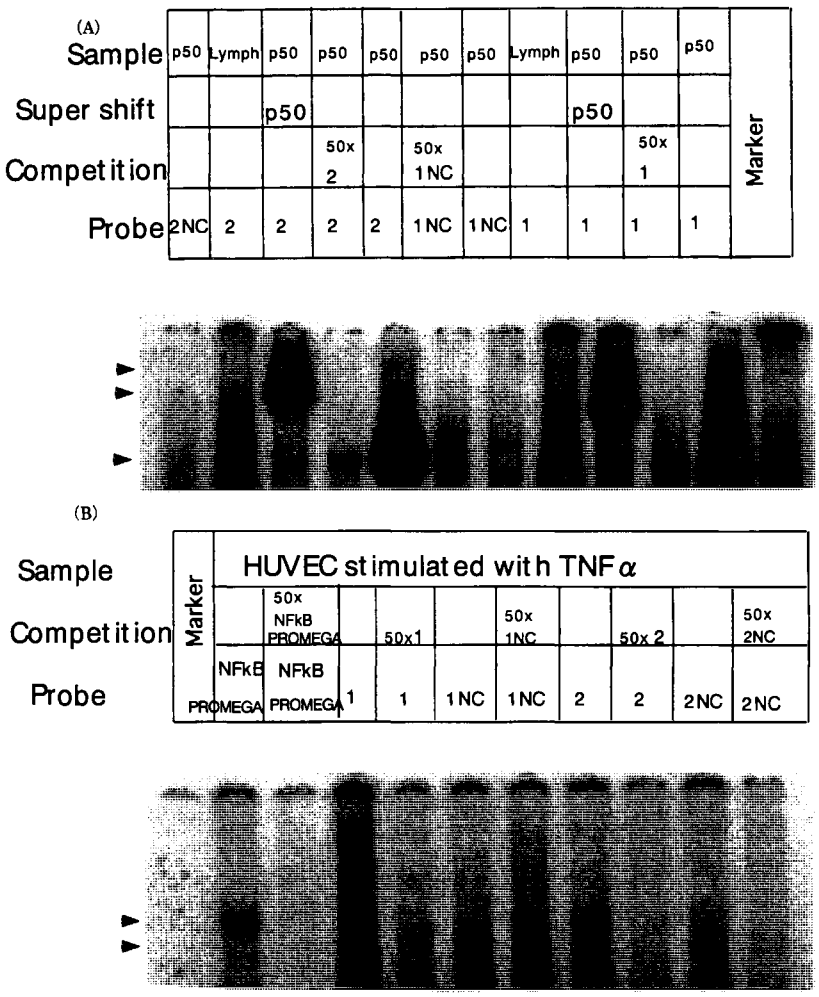


図３　ＲＩゲル・シフトアッセイを用いたＮＦ-κB結合

4-3 非ＲＩ検出型ゲル・シフトアッセイの構築

Hela 細胞から血清除去 2 時間で NF-κB は細胞質に留まり核内には存在しなくなる。その状態から血清刺激すると 2 時間で核内に移行する（図４A)。この実験系に対して、図３で非特異バンド出現のない特異度の高いプローブ（２）Ig-κB 由来配列：AGCTTCAGAGGGGA CTTTCCGAGAGTACTG の３末をビオチン標識し、ビオチンーアビジン複合体発色系を用いた非ＲＩ測定系を構築し検討した。その結果、血清除去 2 時間の Hela 細胞核蛋白でバンドは検出されず、血清刺激 60 分からバンドが認められ、120 分で最大のシグナルが得られた（図４Ｂ)。この結果、従来のＲＩを用いた検出方法とほぼ同等の感度・特異度を有するものと判定できた。

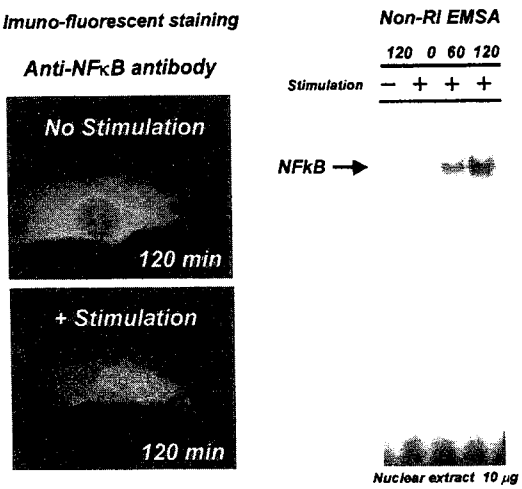


図４　非RI 検出法によるゲル・シフトアッセイ
Ａ：ＮＦ-κBp65 抗体を用いた免疫染色（上段：Hala 細胞血清除去 120 分、血清刺激 120 分)。Ｂ：ビオチン化プローブを用いたゲル・シフトアッセイ。Hela 細胞血清除去 120 分、血清刺激直後、60 分、120 分の核タンパクと反応させた。

4-4 簡易細胞核蛋白抽出法の開発

従来、細胞より核蛋白抽出する方法として、始めに低塩濃度緩衝液Ａ（Heps-KOH 10mM,, MgCl2 1.5mM, KCl 10mM, DTT 1mM）で細胞質を膨張させ、Dounce ホモジナイザーでホモジナイズすることにより核のみにし、次に高塩濃度緩衝液Ｂ（Heps-KOH20mM, EDTA0.2 mM, MgCl2 1.5mM, NaCl 0.42M,DTT 1mM, PMSF 0.5mM）下で再び Dounce ホモジナイザーでホモジナイズ後、透析する方法が一般的であり、われわれも本方法でゲル・シフトアッセイを実施していた５)。しかし、本方法では透析までいれると 10 時間以上の時間を要する。そこで、われわれは低塩濃度緩衝液Ａ処理後 10%NP40 を加えることで細胞膜を融解し、遠心沈降物に低塩緩衝液Ｂを加えボルテックス後の遠心しその上清中に核蛋白を得る方法を確立した。本方法ではホモジナイズする必要がなく、作業過程の軽減による時間の短縮と高精度の核蛋白抽出液をえることができるようになった。現在、われわれは新規方法を用いて研究を行っている[6]。

4-5 96 穴型プレート型ＮＦ-κＢ検出ＥＬＩＳＡの評価

NF-κBp50 リコンビナント蛋白を 1 μg から段階希釈し、800ng, 500ng, 400ng, 250ng, 100ng, 50ng, 25ng, 12.5ng, 6.25ng に対して RI を用いたゲル・シフトを行った。検出バンドの濃度は BAS(FUJI フィルム社)で評価した。その結果を（図５Ａ）に示す。500ng 以上では飽和してしまい、直線性がなくなり、400ng から 100ng が半定量的な測定が可能であった。50ng 以下はバンドが検出できなかった。

次に、４－１で決定した特異度の高い NF-κB 結合 DNA プローブ３末をビオチン化し 96 穴プレート上でコートしたアビジンと結合させたプレートにＮＦ－κB p50 リコンビナント蛋白を先述のＲＩ-ゲルシフト法と同様に 500ng から段階希釈し、6.25ng までの吸光度（655nm）の OD 値を測定した。ブランクを引いた OD 値の結果を（図５Ｂ）に示す。96 穴型 ELISA では 1 μg の OD 値 0.186、800ngOD 値 0.122、500ngOD 値 0.088、400ng OD 値 0.079, 250ngOD 値 0.040、200ng の OD 値 0.028, 100ngOD 値 0.029、50ngOD 値 0.006 で 25ng 以下では測定不能であった。Stat View にて統計計算すると、R2＝0.971、相関係数 0.985 と良好な直線性が得られたが、300ng 以上の濃度域で直線から外れた値が得られる傾向が見られた。一般に発色系を用いた ELISA 法では測定時間によりその退色が問題になる。この図５Ａはサンプリング後 1 時間で ELISA リーダーにかけた結果であった。そこで、1 検体ずつ個別にサンプリングし即時測定を行い、低濃度域の測定限界を再度検討した。その結果を（図５Ｃ）に示す。100ng の OD 値 0.33, 50ng の OD 値 0.017,25ng の OD 値 0.01, 12.5ng の OD 値 0.005 まで測定可能であった。以上より、本 ELISA プレートを用いることにより、核内に存在する転写因子 NF-κB の DNA 結合能を RI を利用したゲルシフトアッセイ法を上回る感度で定量性をもって測定可能となった。ただし、臨床応用には、高濃度域の直線性と経時的測定感度の減少という問題点が有ることも明らかになった。

A

Sample	rhp50 (PROMEGA)										
Probe	NFkB (PROMEGA)										
Conc.	Marker	1 μg	0.8 μg	0.5 μg	0.4 μg	0.25 μg	0.2 μg	0.1 μg	0.05 μg	0.025 μg	0.0125 μg	0.00625 μg

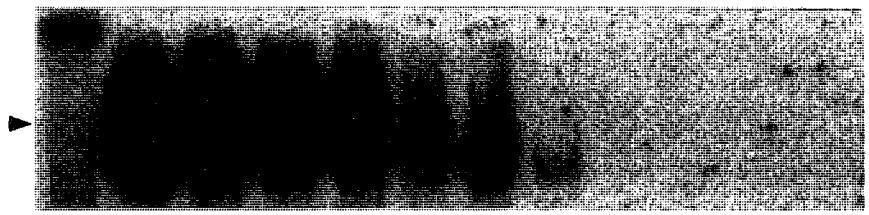


図５Ａ　ＮＦ－κＢｐ50リコンビナント蛋白を用いたＲＩ利用ゲル・シフトアッセイの定量性検討

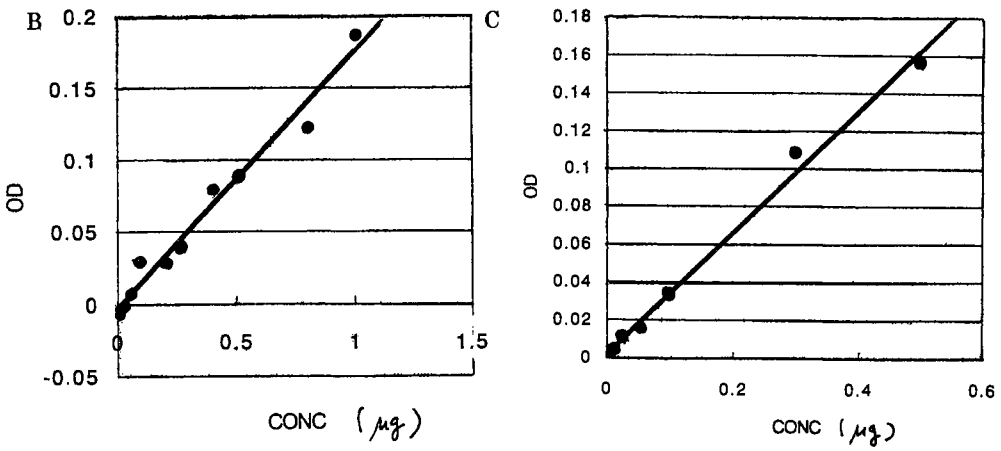


図５Ｂ、Ｃ　ＮＦ－κＢp50リコンビナント蛋白を用いた96穴型ＥＬＩＳＡプレートによる定量性と測定感度の検討。Ａ：高濃度域（サンプリング１時間後の計測）、Ｂ：低濃度域（サンプリング直後の測定）

5. まとめ（問題点と今後の展望）

疾患病態を細胞内シグナル伝達異常という視点から捉えると、数万種類ある細胞受容体からセカンドメッセンジャーレベルまでで解析するには標的分子が多すぎる。そこで、われわれは２千種類に情報が集約される転写因子レベルで解析するほうが効率的でありかつ、網羅的であると考えている。現在、この転写因子解析は大学研究室で核蛋白と DNA プローブとの結合能をみるゲル・シフトアッセイや標的遺伝子のプロモーター活性を解析する CAT アッセイやリシフェラーゼアッセイが主流である。しかし、手順が煩雑で、高品質の核蛋白抽出が必要な点やＲＩを用いる測定系利用など病院検査室で疾患の診断検査に利用するまでには技術的には至っていない。本研究は臨床現場で迅速性・簡便性・高感度性が求められるエンドトキシンショック診断に利用できるように技術開発することが目的である。病院に既に設置されているＥＬＩＳＡ用汎用機器に搭載できることが条件である。今回の研究で、①市場調査から、転写因子解析を病態診断に利用する方向性はビジネスになりうること。②ホモジナイザーを用いない高品質核蛋白抽出が利用できること。③NF-κB 結合用ＤＮＡ配列を決定し、ELISA 用 96 穴プレート上にアビジン－ビオチン法でプローブを貼り付け、抗体による発色で吸光度定量解析ができ、RI によるゲル・シフト法以上の感度が得られる試作品完成まで到達できたことが主な成果である。しかし、今後の解決すべき問題点として①リコンビナント蛋白を用いた検討より、高濃度域の定量性が低いこと。②この発色系では吸光度が 655nm でその使用可能波長幅が狭いこと。③経時的な退色が速く、測定感度が低くなること。④プローブによるＤＮＡ-蛋白結合性を規定するバッファー組成が未決定であること。③透析過程を省いた短時間で簡便な核蛋白抽出法開発。④測定機器まで含めた低コストの実現など、臨床検査分野で利用するには解決しなければならない問題点も明確になってきた。

謝　辞

本研究は財団法人中谷電子計測技術振興財団の研究助成により行われたものであり、深く深謝申し上げます。

参考文献

1)北島 勲：NF-κB の活性化と疾患との関わり。臨床化学 27：78-86,1998.

2)Liu Y, Wang Y, Yamakuchi M, et al.:Up-regulation of toll-like receptor 2 gene expression in macrophage response to peptidoglycan and high concentration of lipopolysaccharide is involved in ＮＦ-ｋＢ activation. Infect. Immun 69:2788-2796, 2001.

3)北島　勲、劉彦、丸山征郎：Toll like receptor (TLR) を介する転写因子ＮＦ-κＢ活性化分子機構とアンチセンス NF-κB によるエンドトキシン血症治療法開発。エンドトキシン血症治療研究会誌５：173-177,2001

4)北島　勲、劉彦、丸山征郎：エンドトキシン血症に対する新しい治療戦略。マクロファージにおける Toll-like receptor 2,4 の遺伝子発現調節機構。エンドトキシン研究５（望月英陸、小野聡、小玉正智、横地高志、谷徹 編）医学図書出版株式会社、東京、ｐ152-159,2002。

5)Kitajima I, Shinohara T, Bilakovics J, Brown DA, Xu X, Nerenberg M: Ablation of transplanted HTLV-I Tax-transformed tumors in mice by antisense inhibition of NF-kB. Science 258:1792-1795, 1992

6)Liu Y, Wang Y, Yamakuchi M, Masuda S, Tokioka T, Yamaoka S, Maruyama I, Kitajima I: Phosphoinositide-3 kinase-PKB/Akt pathway activation is involved in fibroblast Rat-1 transformation by human T-cell leukemia virus type I tax. Oncogene 20:2514-2526, 2001

発表論文

1)Shibakura M, Niiya K, Kibuchi K, Kitajima I, Niiya M, Asaumi N, Huh N-K, Nakata Y, Harada M, Tanimoto M: Induction of interleulin-8 and monocyte chemoattractant protein-1 by doxorubicin in human small-cell lung cartinoma cells. Int. J Cancer 103:380-386, 2003

2)Sarker KP, Biswas KK, Yamakuchi M, Lee KY, Hashiguchi T, Kuracht M, Kitajima I, Maruyama I: ASK-1-p38 MAPK/JNK signaling cascade mediates anandamide-ondeced PC12 cell death. J. Neurochem 85 (1):50-61, 2003

3)Ogata N, Ichida T, Aoyagi Y, Kitajima I: Development of peptide nucleic acid mediated polymerase chain reaction clamping（ＰＭＰＣ). Direct sequencing method for detecting lamivudene-resistant hepatitis B virus（ＨＢＶ）variants with high sensitive and specificity. J. Jpn. Soc.Lab.Med. 51:313-319,2003

4)Nishimura S , Nakata M, Matsuo K, Nakajima T, Kitajima I, Saito H, Maruyama I: Human lactiferous mammary gland cells produce vascular endothelial growth factor（ＶＥＧＦ）and express the VEGF receptors, Flt-1 and ＫＤＲ/Flk-1. Cytokine 18(4):191-198, 2002

5)Tezono K, Sarker KP, Kikuchi H, Nasu M, Kitajima I, Maruyama I: Bioactivity of the vascular endothelial growth factor trapped in fibrin clots: production of IL-6 and IL-8 in monocytes by fibrin clots. Haemostasis 31(2):71-79, 2002

6)北島　勲、劉彦、丸山征郎：エンドトキシン血症に対する新しい治療戦略。マクロファージにおけるToll-like receptor 2,4の遺伝子発現調節機構。エンドトキシン研究5（望月英陸、小野聡、小玉正智、横地高志、谷徹　編）医学図書出版株式会社、東京、p 152-159,2002。

7)Kishi H, Jin ZX, Wei XC, Nagata T, Matsuda T, Saito S, Muraguchi A: Cooperative binding of c-Myb and Pax-5 activates the RAG-2 promoter in immature B cells. Blood 99:576-583,2002

8)WeiX-C, Kishi H, Jin ZX, Zhao WP, Muraguchi A: Characterization of chromatin structure and enhancer elements for murine recombination activating gene-2 J. Immunol 169:873-881, 2002

9)Liu Y, Wang Y, Yamakuchi M, et al. : Up-regulation of toll-like receptor 2 gene expression in macrophage response to peptidoglycan and high concentration of lipopolysaccharide is involved in NF-κB activation. Infect. Immun 69:2788-2796, 2001.

シャペロニンによるタンパク質折れたたみ機構の１分子蛍光イメージング

研究責任者　早稲田大学理工学部物理学科
教　授　船　津　高　志

1.　はじめに

タンパク質が機能を発揮するためには、ポリペプチドが正しく折れたたまれ、ある立体構造を形成する必要がある。この立体構造を決定するのに必要な情報は、タンパク質のアミノ酸配列の中に全て含まれていると考えられている（Anfinsen のドグマ）。しかし、タンパク質が正しく折れたたまれて機能を発揮するのは容易なことではない。例えば、有用なタンパク質の組換え体を大腸菌で発現させても、不溶性の封入体（インクルージョン・ボディー）になったり、試験管内でフォールディングさせようとしてもうまくいかない場合がある。これは、フォールディング途中でポリペプチド同士が不可逆に凝集してしまうのが主たる原因である。このような不可逆なタンパク質凝集を細胞内で阻止しているのが分子シャペロンである[1),2)]。

様々な分子シャペロンの中で、最も研究が進んでいるのが大腸菌のシャペロニン GroEL である。X 線結晶構造解析と生化学研究によって、シャペロニンの巧妙な分子機械としての振る舞いがわかってきた。GroEL は７つのサブユニット（分子量 57 kDa）からなる「かご」状のリングが２層に重なった構造をしている。GroEL に ATP（ADP）が結合すると補助因子である「ふた」状の GroES と結合して巨大な空洞をもった複合体を形成する。この空洞の内部で変性タンパク質のフォールディングが起こる。その反応サイクルの概要は以下の通りである。（A）基質タンパク質（変性タンパク質）と ATP が結合した GroEL に、GroES が結合して、基質タンパク質が GroEL-GroES 複合体の空洞内に落とし込まれる。閉じ込められた基質タンパク質はフォールディングを開始する。（B）GroEL に結合した ATP の加水分解が進行する。（C）ADP 結合型となった複合体の反対側のリングに ATP が結合することで、GroES と ADP が解離してフォールディングしたタンパク質が解放される。この一連のサイクルが 8 秒程度で繰り返されていく（図１）。従来の研究では、この反応サイクルは、ATP 加水分解が唯一の律速過程であると考えられていた。

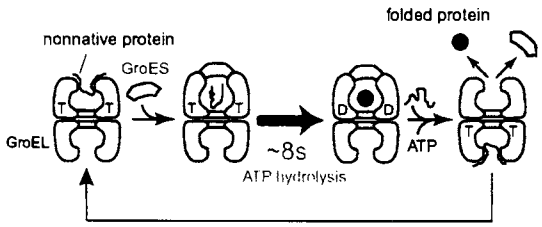


図１　従来のシャペロニン反応サイクルモデル

しかし、以上の結果は、従来の生化学実験により試験管内の多数の分子（10^{12} 個）の平均を扱って得たものである。多分子の計測では、反応サイクルの素過程を直接解析することは非常に難しい。そこで、１分子蛍光イメージング法を用いて、シャペロニンの作用機構をさらに詳細に解析した。具体的には、1）１分子の GroEL と GroES の結合解離のダイナミクスを解析した他、2) GroEL /ES 複合体の内部で起こる GFP フォールディングを１分子蛍光イメージングする実験系を構築した。その結果、GroEL・GroES 基質タンパク質の複合体からなる重要な中間状態を発見し、シャペロニンの新たな機能が明らかになった。

2. 実験方法

2.1 GroELとGroESの結合解離の1分子蛍光イメージング

以下の方法でGroEL-GroESの分子間相互作用（結合解離反応）を1分子レベルで可視化した[3]。GroELを直接ガラスに吸着させることにより固定すると、ほんとんどのGroEL分子が生理活性を失ってしまい、GroELとGroESの結合さえも観察できなかった。そこで、タンパク質の生理活性を保ったままガラス基板に固定し、かつ特定のアミノ酸に蛍光色素を結合させるため、つぎのような工夫をした。GroEL変異体(D490C)を作製し、このシステイン残基にマレイミド基をもつビオチンと蛍光色素IC5を反応させた。標識したGroEL(D490C)は、野生型GroELと同様のタンパク質フォールディング活性を有していた。このGroELをStreptavidinとBSA(bovine serum albumin)を介してガラスに固定し、GroEL分子の位置を蛍光色素IC5で確認した。次に、ATP存在下で変性タンパク質として還元型ラクトアルブミンを加え、全反射蛍光顕微鏡を用いてビデオ観察した（図2）。この固定法により、83%以上のGroEL分子が活性を残しており、GroESと何回も結合・解離を繰り返す様子を観察することができた。

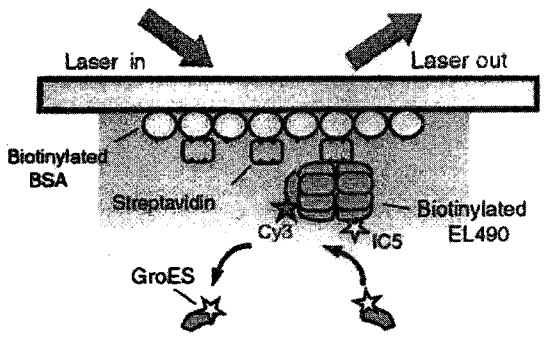


図2 シャペロニンの1分子イメージング法の模式図

2.2 変性GFPの巻き戻り過程の1分子蛍光イメージング

シャペロニン分子内で起こる変性タンパク質の折れたたみを1分子イメージングした。タンパク質のフォールディングの情報を蛍光として検出するためにGFP(Green Fluorescent Protein)を利用した。GFPは，オワンクラゲ(Aequorea victoria)より単離されたタンパク質であり、分子内に蛍光団を作って蛍光を発するタンパク質である。遺伝子発現のマーカーや、他のタンパク質との融合たんぱく質による標識法として幅広く応用されている。GFPは変性すると蛍光を発しないが，フォールディングすると再び蛍光を発する性質を利用して、1分子のGFPのフォールディングをイメージングした。

まず、酸変性させたGFPを蛍光色素IC5で標識したGroELの入った溶液に希釈し、変性GFP-GroEL複合体を作製した。この複合体を観察セルに流し込み、スライドガラス上に固定した。その後GroESとCaged ATP（ATPに保護基を結合させて不活化した化合物。紫外光照射により保護基が分解しミリ秒でATPが生成される）を加え、顕微鏡下で紫外線を照射してATPを生成し、シャペロニンの反応を開始させた。

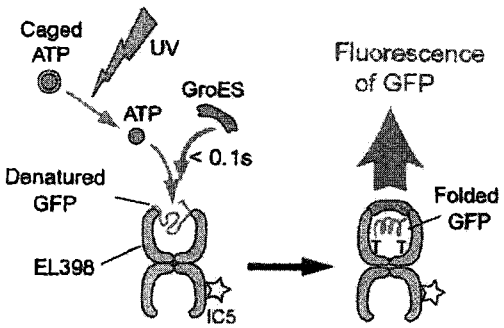


図3 GFPフォールディングの実験方法

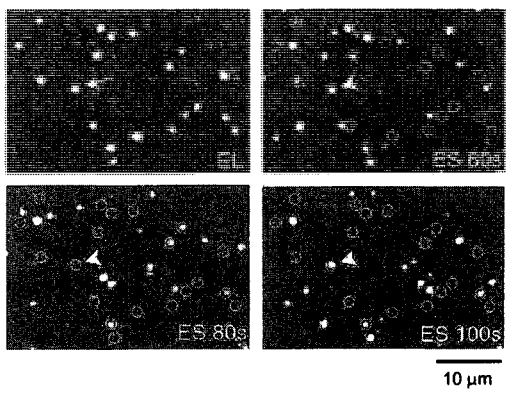


図4 GroEL-GroESの結合・解離の1分子蛍光イメージング

EL，ESは、それぞれGroEL、GroESの蛍光顕微鏡写真。矢じりは、矢印のGroEL分子に結合したGroESを示している。

3. 結果と考察

3.1 GroELとGroESの結合解離の1分子蛍光イメージング

GroEL分子が、Cy3で蛍光標識した1分子のGroES

と何回も結合・解離を繰り返す様子を観察することができた。(図４)。GroES が GroEL に結合するまでの時間(Off-time)と、GroES が GroEL に結合している時間(On-time)を、それぞれ計測して統計的に解析した。Off-time の分布は、単一の指数関数でフィッティングすることができた(図は省略)。このことは、GroEL と GroES の結合がランダムな確率過程であることを示している。溶液中の GroES の濃度は 2.3 nM なので、結合速度定数は 2.6 x 10^7 $M^{-1}s^{-1}$ と見積もられた。この値は、溶液中の多分子で測定された値と一致しており、ガラス基板に固定した GroEL が溶液と同じように GroES と結合できていることを示している。

次に、On-time のヒストグラムを作成したところ、単純な指数分布にはならなかった。この結果は、GroES は結合後直ちに解離し始めるのではなく、ある中間体を経てから解離する二段階以上の反応を含んでいることを示している。二つ律速過程を仮定してフィッティングを行ったところ、それぞれの反応速度定数は 0.34、0.18 s^{-1} と見積もられた(図５)。すなわち、従来は、８秒の唯一のタイマーによって進行すると考えられていたシャペロニン反応サイクルは、３秒と５秒の２つのタイマーによって進行していたことになる。GroEL-GroES 相互作用の１分子イメージングによって"新たな中間体"の存在が明らかになった。

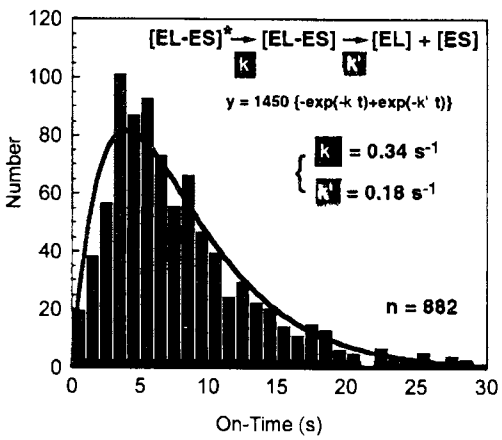


図５　GroELとGroESの結合時間のヒストグラム

3.2　変性ＧＦＰの巻き戻り過程の１分子蛍光イメージング

GroEL-GroES 相互作用の１分子イメージングによって明らかになった"新たな中間体"の役割を明らかにするため、シャペロニン分子内で起こる変性 GFP の折れたたみを１分子イメージングした。GFP は変性すると蛍光を発しないが、フォールディングすると再び蛍光を発する。変性 GFP-GroEL 複合体の溶液にGroES と ATP を加えて巻き戻りを開始させたところ、反応開始後、数秒たってからＧＦＰの蛍光が、GroEL の位置に次々と現れた。このようにして、１分子のタンパク質がフォールディングする様子を初めてイメージングすることに成功した(図６)。

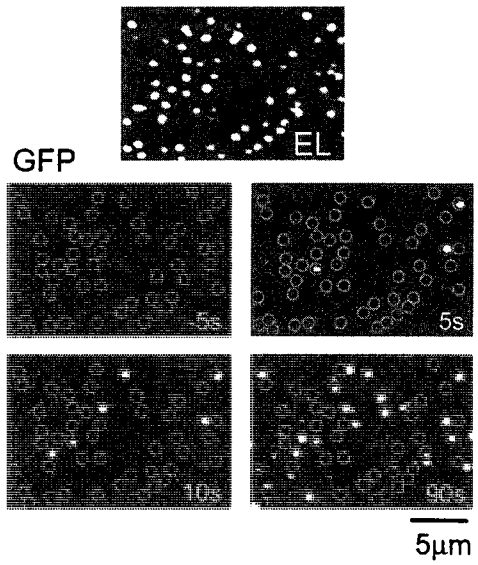


図６　折りたたんだＧＦＰ分子の蛍光顕微鏡写真
GroＥＬ,ＩC5 で標識したGroＥＬの顕微鏡写真
ＧＦＰ, caged ＡＴＰを分解してある時間が経過した時点でのＧＦＰの蛍光顕微鏡写真

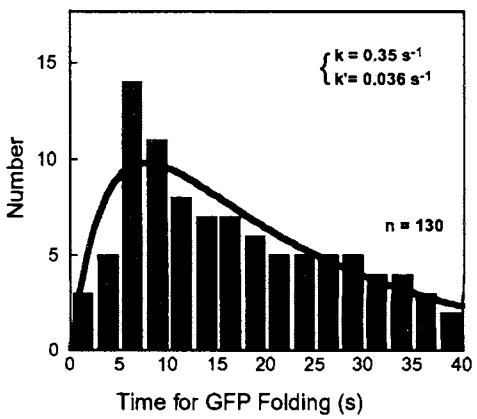


図７　変性したＧＦＰが折りたたんで蛍光を発するまでに要した時間のヒストグラム

紫外線照射から GFP 折れたたみまでの時間のヒストグラムを作成したところ、時定数が約 3 秒と 25 秒の 2 段階反応であることが分った（図 7）。一方、酸変性した GFP は中性条件に戻すと、自発的に折りたたむことが知られている。自発的なフォールディングにはラグがなく、約 25 秒の 1 段階反応である。すなわち、シャペロニン依存の GFP フォールディングにのみ特徴的な 3 秒のタイムラグが明らかになった。この結果は、変性 GFP と GroＥＳが GroEL に同時に結合している中間体（cis ATP-complex* 図８を参照）が存在し、結合していた変性ＧＦＰがＧroＥＬ・GroES 複合体内に落とし込まれて自由にフォールディングを始めるまでに約 3 秒の時間を要することを示している。cis ATP-complex*は、シャペロニンが変性タンパク質を空洞内に効率よく閉じこめるのに都合がよい。なぜなら、GroEL、GroES、変性タンパク質の三者複合体を経由することで、GroES のフタが閉まる前に変性タンパク質が外部へ放出される可能性がなくなるからだ。GroEL は、GroES がフタをした後、変性タンパク質、GroES と順を追って解離することで確実に基質タンパク質を自らの空洞に閉じ込めている。このように、1 分子蛍光イメージング法を用いることにより、シャペロニンの新たな機能が明らかになったのである。[4]

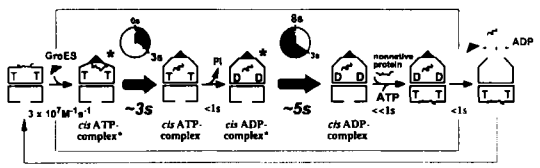


図８　新しいシャペロニン反応サイクルモデル
新たに見つかった中間状態 cis ＡＴＰ-complex* は、GroＥＬが変性タンパク質とGroＥＳの両方を結合しているという特徴をもつ

近年、タンパク質のフォールディングを 1 分子レベルで研究しようとする動きがある。これは、タンパク質のフォールディングとアンフォールディングが異なる経路を通るかどうか、フォールディングの際に分子ごとに複数の異なる経路を通るか、という疑問に決定的な答えを出すのに必須だからである[5]。しかし、溶液中に漂うタンパク質分子のフォールディングのダイナミクスを追跡することはブラウン運動のために困難である。我々が開発したシャペロニンを用いた 1 分子のタンパク質フォールディングのイメージング法は、タンパク質のフォールディング研究に画期的な手法になる可能性を秘めている。

4. まとめ

シャペロニン GroEL は、ATP 存在下で GroES を結合解離しながら、変性タンパク質の折れたたみを助けている。我々は、GroEL の the central cavity 内で基質タンパク質が折れたたむ様子を 1 分子レベルで観察することに成功した。さらに、①GroES が結合した後もしばらく基質タンパク質の折れたたみが抑えられていること、②ATP 加水分解終了と基質タンパク質の折れたたみ開始が、ほぼ同時に起こることを明らかにした。

①から、GroES と基質タンパク質が同時に GroEL に結合している状態：”pre-cis ATP-complex”（lifetime ~3s）が定義された。これは、GroEL がその縁に結合した基質タンパク質を the central cavity に落とし込む前の状態である。一方、これまで GroEL 内部でのタンパク質折れたたみ時間を決定している”タイマー”は、ATP 加水分解過程であると考えられてきた。しかし②から、そのタイマー（lifetime ~5s）が、ATP の化学状態にではなく、ATP 加水分解後の GroEL の内部状態にセットされていることがわかった。以上は、GroEL が基質タンパク質の落とし込みと折れたたみを制御する 2 個のタイマーを持っていることを示している。

謝　辞

本研究を助成していただいた財団法人中谷電子計測技術振興財団に感謝します。また、協力いただいた、早稲田大学理工学部の上野太郎君、多田隈尚史君、東京工業大学資源化学研究所の吉田賢右教授、田口英樹博士に感謝します。

参考文献

1)Bukau B, A.L. Horwich AL. The Hsp70 and Hsp60 chaperone machines. Cell 92:351-66 (1998).

2)Hartl F.U., M. Hayer-Hartl. Molecular chaperones in the cytosol: from nascent chain to folded protein. Science. 295:1852-1858 (2002).

3)Taguchi, H., T. Ueno, H. Tadakuma, M. Yoshida, and T. Funatsu. Single-molecule observation of protein-protein interactions in the chaperonin system. Nature Biotechnol. 19: 861-865 (2001).

4)Veno,T.,H.Taguchi,H.Tadakuma,M.Yoshida,and T.Funatsu.GroEL mediates protein folding with a two succesive mechanism. Mol.Cell in press (2004)

5)Grantcharova, V., E.J. Alm, D. Baker, and A. L. Horwich. Mechanism of protein folding. Curr Opin Struct Biol. 11: 70-82 (2001).

発表論文

1)Funatsu, T., T. Taniyama, T.Tajima, H. Tadakuma, and H. Namiki. 2002. Rapid and Sensitive Detection Method of A Bacterium Using GFP Reporter Phage. Microbiol. Immuno. 46: 365-369.

2)Fujiwara, I., S. Takahashi, H. Tadakuma, T. Funatsu, and S. Ishiwata. 2002. Microscopic analysis of polymerization dynamics with individual actin filaments. Nature Cell Biol. 4: 666-673.

3)Zhang, G., T. Tanii, T. Zako, T. Funatsu, and I. Ohdomari. 2003. The immobilization of DNA on microstructured patterns fabricated by maskless lithography. Sensors and Actuators B: Chemical 97 : 243-248

4)Zhang G.J. , T.Tanii T .Funatsu and I.Ohdomari .2004 Patterning of DNA nanostructures on silicon surface by electron beam lithography of self assembled monolayer chem comm.786-787

5)Veno,T., H.Taguchi,H.Tadakuma, M.Yoshida and T.Funatsu 2004 GroEL mediates protein folding with a two succesive fimer mechanism. Mol.Cell in press.

解　説

1)座古保、船津高志　2002 「生体機能を1分子レベルで探る　－1分子蛍光イメージング－」　分光研究 vol. 51 No.1 pp.3-14.

2)船津高志　2002 「1分子蛍光イメージング法」感覚器官と脳内情報処理（共立出版：　御子柴克彦、清水孝雄　編）pp. 192-199.

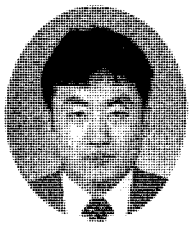
3)船津高志　2003. 「単一分子計測とバイオフォトニクス」　応用物理　vol. 72 pp.727-730.

4)多田隈尚史、船津高志、谷時雄　2003「mRNA核外輸送の可視化」蛋白質核酸酵素 vol. 48 pp. 421-429.

5)船津高志　2003 「バイオのナノ構造」　ナノテクノロジー基礎シリーズ　バイオナノテクノロジー　（オーム社　堀池靖浩、片岡一則　編）　印刷中

6)上野太郎、多田隈尚史、船津高志　2003 「1分子イメージングによるシャペロン研究」　細胞における蛋白質の一生　（共立出版　小椋光、遠藤斗志也、森正敬、吉田賢右　編）　印刷中

真空一貫プロセスで作製する銀を利用した表面プラズモン共鳴バイオセンサー用チップ



研究責任者　芝浦工業大学工学部電子工学科
助教授　六車仁志
共同研究者　産業技術総合研究所　常勤研究員　平塚淳典
東京工科大学バイオニクス学部
専任講師　秋元卓央

1．はじめに

生体分子の特異的な相互作用、例えば、抗原－抗体、核酸塩基対、ホルモン－レセプター、タンパク質－核酸、などは、生命現象と密接な関係にあるので、この特異的相互作用を検出できる装置は、生命科学分野の研究においては不可欠である。表面プラズモン共鳴バイオセンサーは、生体分子の特異的な相互作用を非標識実時間での検出、および相互作用における「動的パラメータ」を評価できることが大きな特徴であり[1)2)]、既に数社のメーカーによって製品化されている[3)]。

表面プラズモン共鳴は、金属薄膜の表面において極めて特異的な角度で光が入射したときに起こる現象である。この共鳴角は金属薄膜近傍の媒質の屈折率に極めて敏感なので、相互作用をこの範囲に起こさせると媒質の屈折率が変化し、結果として共鳴角が変化する。これによって相互作用を測定することができる。表面プラズモン共鳴の起きるエバネッセント波の領域は金属表面の極近傍(300 nm 以下)であるので、この範囲内に相互作用を起こす必要がある。そのため、金属表面への生体分子を固定化する様々な方法が開発されている。特に多く利用されているのは、カルボキシメチルデキストラン膜である[4)]。我々の研究グループでは、プラズマ重合膜を利用して金属表面への生体分子の固定化を報告している[5)]。プラズマ重合膜はこのコーティング固定化膜として有用である。金属表面に均質に極めて薄く形成されるだけでなく、膜表面にはアミノ基のような官能基が存在し、膜表面がフラットでピンホールフリーのために生体分子を2次元的に高密度に固定化することができる。また、表面プラズモン共鳴を起こさせるのに必須の金属薄膜（約 50 nm）もスパッタリングのようなドライプロセスで形成されるので、製造プロセスが有利である。

金属には、金が多く使用されている。しかし、物性上（複素誘電率）は金よりも銀の方が感度の点では有効である。それにもかかわらず金が使用されているのは、金の方が表面に酸化膜ができにくいこと、チオール結合[6)]を利用できること、などが上げられる。プラズマ重合膜は、どのような金属薄膜にも形成可能であり、銀表面の抗酸化コーティングとして有効であると考えられる[5)]。

以上の背景から、本論文では、表面プラズモン共鳴の理論解析により、金属コーティング膜の膜厚と屈折率がセンサー特性に及ぼす影響について調べた。図 1(a)は、表面プラズモン共鳴の基本的な構造である。図 1(b)は、本研究の目指すセンサーチップである。金属薄膜上にコーティング層が形成されている。その厚さは、エバネッセント領域以下（100 nm 以下）である。

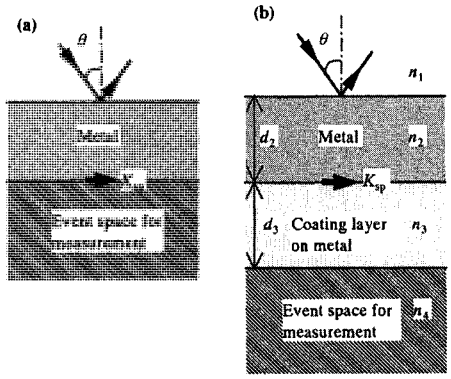


図 1　Kretchmann 配置の表面プラズモン共鳴センサーチップの構造。(a)基本構造。プリズム／金属層／測定試料。(b)本研究の目指す構造。プリズム／金属層／コーティング層／測定試料。コーティング層にプラズマ重合膜を使用する。

2．理論と解析方法

表面プラズモン共鳴を発生させるためには、電子を集団的に励起させればよいので、光（電磁波）を金属表面に入射すればよい。しかし、光をそのまま金属表面に入射しても、表面プラズモンは共鳴を起こさない。これは、波の進む速度とプラズマ波の進む速度が異なるためである。表面プラズモンの進行速度は光速より必ず小さい。すなわち、同じ振動数に対して、表面プラズモンの波数は光波の波数より常に大きい。光により表面プラズモンを共鳴させるためには、普通に伝播する光よりも遅い速度で走る光が必要となり、このような光は通常の光の伝播条件を満たさない状況に光を導入することにより発生させることが出来る。つまり、光の全反射によりそれが可能となるのである。光の全反射では、その境界面から離れるにしたがって振幅が減衰する表面電場（エバネッセント場）が発生する。このエバネッセント場は境界面に沿った方向の進行速度が普通の伝播光より遅い。したがって、この波を用いれば、表面プラズモンを共鳴させることが出来るのである。この方法は全反射減衰法（ATR：Attenuated Total Reflection）と呼ばれる。

本解析では、図1に示すような Kretchmann 配置を採用する。この Kretchmann 配置において入射角を変えていくとある入射角 θ_r（共鳴角）で入射光と表面プラズモンのカップリングが起こり、表面プラズモン共鳴に起因する強い吸収が生じる。プラズモンは金属表面ではそれに接する媒質によってその進行速度を制限される。表面プラズモンの分散の変化は共鳴角の変化へとつながる。すなわちこの共鳴角を測定することによって試料を判定するというセンサーとして利用できるのである。また、この性質は界面の（測定面の）変化に対して高い感度を有し、かつ即時性も有しているので表面上での物質の反応や濃度の検出を高感度かつ実時間測定可能なバイオセンサーとなる[1)7)]。

まず、基本構造である金属薄膜だけのとき（図1(a)）を考える。プリズム／金属薄膜／測定試料の構造では、金属薄膜と試料の界面を伝搬する表面プラズモンの波数 $\kappa_{sp}(\omega)$ の分散関係は次式で表すことができる。

$$k_{sp}(\omega)=\left(\frac{\omega}{c}\right)\sqrt{\frac{\varepsilon_m(\omega)\varepsilon_s(\omega)}{\varepsilon_m(\omega)+\varepsilon_s(\omega)}} \quad (1)$$

ここで e_m は金属薄膜の誘電率（金属として Ag, Au, Al, Cu が用いられる）、ε_s は試料の誘電率、ωは角速度、cは光速度である。P偏光した光を屈折率の大きいプリズム側から屈折率の小さい金属側に臨界角以上で入射すると光はその界面で全反射される。しかしこのとき界面から、深さ方向に対し指数関数的に減衰する電磁波（エバネッセント波）が出る。このエバネッセント波の界面に平行な波数成分は

$$k_{px}(\omega)=\left(\frac{\omega}{c}\right)n_p\sin\theta \quad (2)$$

ここで θは光の入射角，n_pはプリズムの屈折率（誘電率 $\varepsilon_p=n_p^2$）であり，$\kappa_{sp}(\omega)$が表面プラズモンの波数と等しくなったとき、金属薄膜／試料界面で表面プラズモン共鳴がおきる。これを踏まえ、金属コーティング層があるとき（図1(b)）を考える。金属薄膜上に誘電率 ε_c のコーティングが形成されているとする。したがって境界条件が変わるため、それに従い表面プラズモンの波数も変化する。その波数の変化分 $\Delta\kappa_{sp}(\omega)$ は次の式で与えられる。

$$\Delta k_{sp}(\omega)=\frac{\sqrt{-\varepsilon_m(\omega)\varepsilon_s(\omega)}}{-\varepsilon_m(\omega)+\varepsilon_s(\omega)}k_{sp}(\omega)^2\left\{1-\left(\frac{k_{sp}(\omega)}{k_0(\omega)}\right)^2\left(\frac{1}{\varepsilon_c(\omega)}+\frac{\varepsilon_c(\omega)}{\varepsilon_m(\omega)\varepsilon_s(\omega)}\right)\right\}d \quad (3)$$

ここで $\kappa_0(\omega)=\omega/c$ は真空中の光の波数，d は誘電体（金属コーティング膜）の膜厚である。またこの場合の表面プラズモン共鳴条件は次のようになり

$$k_{sp}(\omega)+\Delta k_{sp}(\omega)=\left(\frac{\omega}{c}\right)n_p\sin(\theta+\Delta\theta) \quad (4)$$

金属薄膜上に形成された膜の誘電率と厚さによって、表面プラズモンの波数が変化し、共鳴角もそれに伴って変化することがわかる。また、この式(4)を解くことにより理論的に表面プラズモン共鳴角 θ_r を求めることができる。

角度掃引による反射率曲線の理論解析を行う。ここでは、理論で示したのと異なり光吸収型での解析を示す。反射率曲線は層状構造における Fresnel 理論を適応することによって求めることができる。すなわち、プリズム／金属層／コーティング層／測定試料の4層構造における Fresnel の式によって求まる。

4層膜 Fresnel の式の一般的な形は以下に示す通りである。Fresnel 係数は

$$r_{ij}=\frac{n_j\cos\theta_i-n_i\cos\theta_j}{n_j\cos\theta_i+n_i\cos\theta_j} \quad (5)$$

となり、次の式を用いて順々に計算を進めていく

$$r_{234}=\frac{r_{23}+r_{34}\exp(2i\delta_3)}{1+r_{23}r_{34}\exp(2i\delta_3)} \quad (6)$$

$$r_{1234}=\frac{r_{12}+r_{234}\exp(2i\delta_2)}{1+r_{12}r_{234}\exp(2i\delta_2)} \quad (7)$$

ただし

$$\delta_i = \frac{2\pi n_i d_i \cos\theta_i}{\lambda} \qquad (8)$$

δは位相膜厚，λは波長である。ただし、金属層の複素誘電率 $\varepsilon = \varepsilon_r + i\,\varepsilon_i$ より複素屈折率を求め4層膜のときの反射率 γ_{1234} を求める。

表1　解析条件

Wavelength: λ= 760 nm
Index of prism: n_1=1.516
Permittivity of metal: $\varepsilon_2=n_2^2$=-30.9013 + 0.4152 i [a]
Thickness of metal: d_2=50 nm
Index of coating: n_3=1.4-1.8
Thickness of coating: d_3=5-100 nm
Index of sensing area: n_4=1.3300-1.3306

[a]Silver at 760 nm.

3．解析結果

表1に示す条件で解析を行った。測定波長760 nmは、BIAcore 社の装置に標準的に用いられている。金属膜厚 d_2=50 nm が最適であると報告されている。これより薄くなると共鳴ピークはブロードになる。厚くすると、ピーク自体が浅くなる。この原因は、金属膜厚が薄すぎるときには表面プラズモン共鳴を起させても、表面プラズモンとして金属表面を伝播する前に全反射光になってしまうために共鳴ピークがばやけてしまい、結果として共鳴ピークが広がってしまうと考えられる。厚すぎると入射光が金属膜を通り抜けて反対側の表面での表面プラズモンを励起できなくなり、共鳴ピークが浅くなると考えられる。

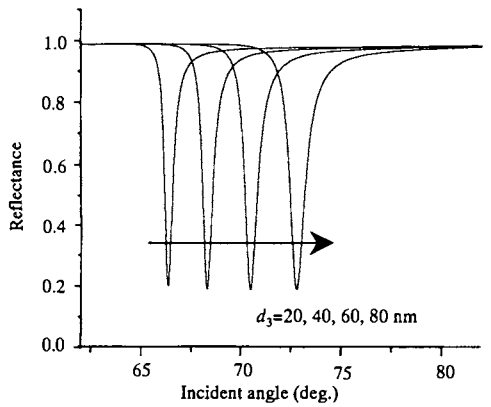


図2　表面プラズモン共鳴曲線。金属は銀。コーティング層の屈折率：n_3=1.5。コーティング層の厚さ：d_3=20,40,60,80cm.

図2は、典型的な表面プラズモン共鳴曲線である。この共鳴曲線の反射が最小となる角度が「共鳴角」となる。コーティング層の膜厚が増加するにつれ、共鳴角は大きくなることがわかる。実際のセンシングでは、第4層において特異的相互作用を起こさせる。この時、第4層の屈折率が変化し、共鳴角の変化となって相互作用を検出できる。本研究では、屈折率変化△n_4(n_4=1.3300-1.3305)に対する共鳴角変化Dq_1を解析する。図3に典型的な、△n_4と△ θ_1 のプロットを示す。ここで示したように△n_4 が微小な場合には、共鳴角の変化は線形に変化する。このプロットの傾き△ $\theta_1/\triangle n_4$ を感度として定義する。△n_4が大きい場合には、共鳴角の変化は線形にならない[8]。

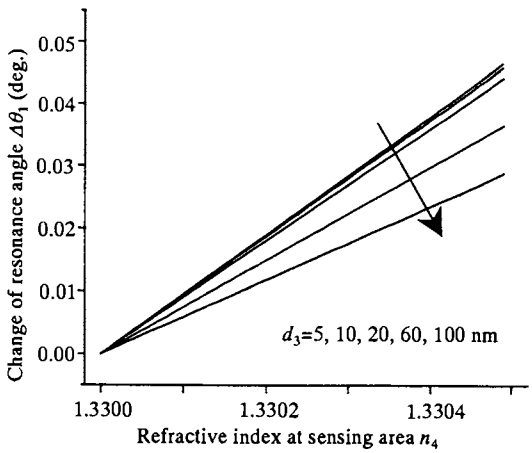


図3　センシング部の屈折率 n_4 に対する共鳴角 θ_1 の変化。コーティング膜の屈折率：n_3=1.4。コーティング層の厚さ：d_3=5, 10, 20, 60, 100nm。

図4にコーティング膜の屈折率 n_3 を変化させたときの感度を示す。コーティング層の膜厚 d_3 が小さいほど、屈折率 n_3 の影響を受けにくい。膜厚 d_3 が大きくなると屈折率 n_3 が大きいほど感度が大きくなる。しかし、膜厚が60 nm 以上、屈折率が 1.60 以上になると感度は大きくなるが共鳴曲線がブロードになり浅くなるため、この条件ではセンサーとしては信頼性に欠けるようになる。

図5にコーティング膜の膜厚 d_3 を変化させたときの感度を示す。屈折率 n_3<1.53 の場合、膜厚 d_3 が薄いほど感度がよくなる。一方、屈折率 n_3>1.53 の場合、膜厚 d_3 が厚いほど感度がよくなる。

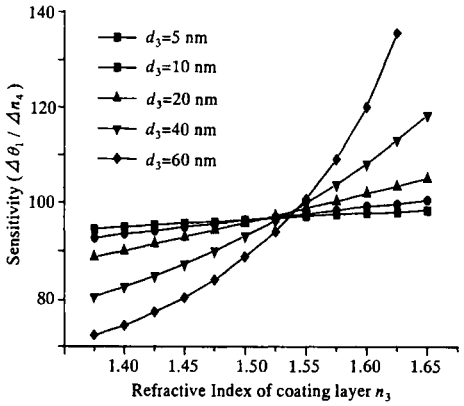


図4　コーティング層の屈折率を変化させたときの感度変化。

しかし、この場合も図4の場合とどうように共鳴曲線がブロードかつ浅くなる。屈折率 n_3=1.53 の場合には、感度は膜厚 d_3 に依存しなくなる。この条件では再現性のよいチップを作製できると考えられる。

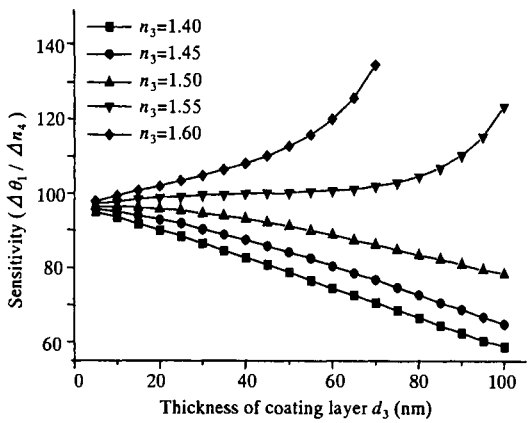


図5　コーティング層の厚さを変化させたときの感度変化。

4．まとめ

表面プラズモン共鳴センサーのセンサーチップにおける金属コーティング膜として、プラズマ重合膜を想定し、その屈折率と膜厚がセンサー感度にどのような影響に与えるかについて理論解析を行った。屈折率 n_3=1.52 の場合には、感度は膜厚に依存しなくなるのでチップの設計には有効である。現在、センサーチップの作製を行い理論正当性の検証、およびそのチップを用いたバイオセンサーの作製を行っている。

謝　辞

本研究を遂行するにあたり、中谷電子計測技術振興財団の援助を支援をいただいた。ここに深くお礼を申し上げる。

参考文献

1)永田和宏，半田宏 共編、「生体物質相互作用のリアルタイム解析実験法」シュプリンガー・フェアラーク東京 (1998).

2)橋本せつ子、“表面プラズモン共鳴を利用する生体分子相互作用の解析” ぶんせき、362-368 (1997).

3)例えば、Biacore 社(http://www.biacore.com/)、Affinity Sensor 社(http://www.affinity-sensors.com/)、IBIS Technology 社(http://www.ibis-spr.nl)、日本レーザ電子社(http://www.nle-lab.co.jp/)、Texas Instruments 社(http://www.ti.com/sc/docs/products/msp/control/spreeta/)。

4) S. Löfås, B. Johnsson, “A novel hydrogel matrix on gold surfaces in surface plasmon resonance for fast and efficient covalent immobilization of ligands,” J. Chem. Soc., Chem. Commun., 1526-1528 (1990).

5) R. Nakamura, H. Muguruma, K. Ikebukuro, S. Sasaki, R. Nagata, I. Karube, H. Pedersen, “A plasma-polymerized film for surface plasmon resonance immunosensing,” Anal. Chem., 69, 4649-4652 (1997).

6) C.D. Bain, EB. Troghton, Y.-T. Tao, J. Evall, G.M. Whiteside, R.G. Nuzzo, “Formation of monolayer films by the spontaneous assembly of organic thiols from solution onto gold,” J. Am. Chem. Soc., 111, 321-335 (1989).

7) 栗原一嘉,、鈴木孝治、“表面プラズモン共鳴センサーの光学測定原理” ぶんせき、161-167 (2002).

8) T. Akimoto, S. Sasaki, K. Ikebukuro, I. Karube, “Refractive-index and thickness sensitivity in surface plasmon resonance spectroscopy,” Appl. Optics, 38, 4058-4064 (1999).

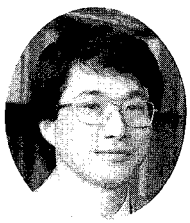
発表状況

1)斎藤行正、秋元卓央、六車仁志、表面プラズモン共鳴センサーの理論解析：金属上コーティング層の屈折率と層厚のセンサー感度への影響、電子情報通信学会有機エレクトロニクス研究会、信学技報、2003年8月

2)六車仁志、表面プラズモン共鳴、ぶんせき、2003, 38-42.

3)六車仁志、表面プラズモン共鳴バイオセンサー、ケミカルエンジニアリング、2003, 48巻、737-743.

多層観察型リアルタイム共焦点蛍光顕微鏡の開発



研究責任者　京都府立医科大学大学院医学研究科細胞分子機能病理学
教　授　高　松　哲　郎
共同研究者　大阪大学大学院工学研究科応用物理学
助　手　藤　田　克　昌

1.　はじめに

共焦点レーザー顕微鏡の発達によって、多数の細胞が３次元的構造をもって配列し機能を営んでいる組織を、そのまま生体に近い状態で観察できるようになった[1]。しかしながら、共焦点顕微鏡で一度に観察出来るのは２次元面内のみであり、実際の生体における３次元的な細胞や組織の営み（動き）を捉えることはできない。共焦点顕微鏡では、焦点面以外の像は消えてしまい、深さ（光軸）方向への動きを観察することは不可能である。「動きや変化」を観察しようとする場合には、光学断層像が得られるという共焦点顕微鏡の大きな利点は、同時に大きな欠点にもなっている。

そこで、本研究では、細胞・組織、またはその内部の物質の動き・物質濃度変化等を３次元的かつ高速に観察できる顕微鏡技術の検討を行った。そのために、多層観察型リアルタイム共焦点顕微鏡を提案し、それを構成する多焦点走査機構の評価、および多層観察ユニットの設計・基礎実験を行った。

2.　多層観察型リアルタイム共焦点顕微鏡

多層観察型リアルタイム共焦点顕微鏡は、多焦点高速観察顕微鏡部および多層観察ユニット部の主として２つのユニットより構成される。本顕微鏡は、多層観察ユニット部を多焦点高速観察顕微鏡部に組み込む形でシステム全体を構成するものでる。

多焦点高速観察顕微鏡部は、高速共焦点スキャナーを使用した共焦点蛍光顕微鏡である[2-4]。光源には、モードロックチタンサファイアレーザーを用い、そこらかのレーザー光を共焦点スキャナーのマイクロレンズアレイディスクに入射させる。共焦点スキャナーを通過したレーザー光は、対物レンズ下において多焦点を結ぶ。マイクロレンズアレイディスクを高速回転させることにより、試料を高速に走査することができる。試料面の走査速度は1000フレーム/秒まで取ることができ、同スキャナーに取り付けた高速インテンシファイド CCD カメラにより、1000 フレーム/秒の撮像速度で共焦点蛍光画像を取得することができる。

多層観察ユニット部の構成を図１に示す。複数の層を観察するためには、対物レンズ下の試料焦点面を深さ方向に自由に移動させることが必要となる。焦点面を自由に移動させる手法として、本顕微鏡では、対物レンズに入射するレーザー光の波面を制御する。図１中に示すように、対物レンズにレーザー光が入射する前に、中間結像面を作り位相板を挿入する。位相板を通過したレーザー光の波面は、位相板に応じて変調される。変調されたレーザー光は、対物レンズ下において、位相板が無い場合とは異なる観察深さに焦点を結ぶ。焦点面の移動量は位相板の厚さ・屈折率・枚数を調節することで観察する試料の大きさ・観察深さ・視野面積を切り替えることが

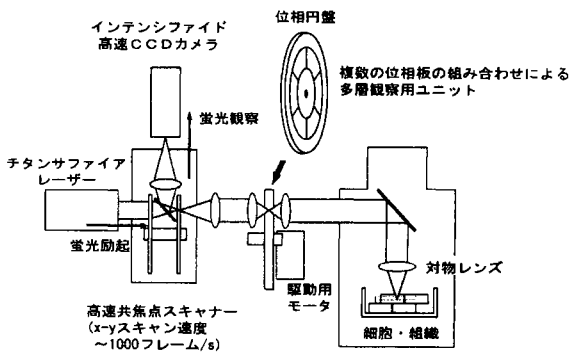


図１　多層観察型リアルタイム共焦点顕微鏡

できる。また、複数の層をほぼ同時に観察するために、図１中に示すように、複数の異なる位相板で構成される円盤を用いる。この円盤を中間結像面において高速に回転させることで高速に位相板および観察面の切り替えを行うことができる。

この多層観察ユニットを、多焦点高速観察顕微鏡部に組み込むことで、観察深度を順次変化させながら試料の光学断層像を取得することができる（図２）。

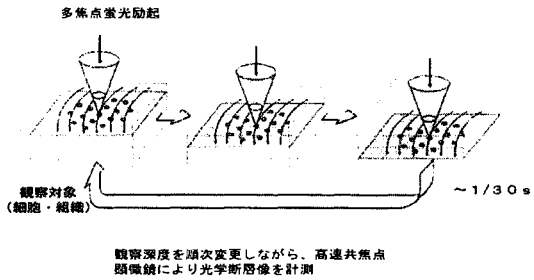


図２　観察深度の変化

3.　多層観察ユニットの設計・評価

設計した多層観察ユニットを図３に示す。多層観察ユニットは、中間結像面を構成する２個の対物レンズおよび位相円盤により構成される。中間結像面を構成するレンズ系は、できるだけ収差の影響を軽減するために対物レンズを用いる。これより、２つの対物レンズ間に中間結像面が形成される。この対物間距離は、位相円盤を挿入するに十分な間隔である必要がある。

位相円盤を設計するに当たって、位相板の挿入による焦点深度の変化を見積もるために下記のような基礎実験を行った。図４に実験光学系を示す。中間結像面を構成するレンズ系として、光軸上における収差を軽減するために非球面レンズ（焦点距離 3.5mm・開口数 0.68）を用いた。対物レンズは、倍率 60、開口数 1.2 で、カバーガラスを併用するものを用いた。その他光学系を構成するレンズとしては図に示すとうりである。位相板として３種類のガラス基板（屈折率 1.5、厚さ 0.17, 0.34, 0.51mm）を用い、中間結像面に挿入した。焦点の移動量を見積もるために、サンプルステージを深さ方向に走査し、ローダミン６Ｇからの２光子蛍光を測定することで焦点のエッジ応答を測定した。また光源としては、モードロックチタンサファイアレーザー（繰返し周波数 80MHz、パルス幅 80fs、波長 800nm）を用いた。これは、光学系の共焦点性を簡略化するためである。ローダミン６Ｇは、モードロックチタンサファイアレーザーの波長 800nm において効率よく２光子吸収をおこし、２光子蛍光を発光する。２光子蛍光は２次の非線形光学効果であり、レーザー光が対物レンズによってローダミン６Ｇ内部に集光された場合、焦点近傍によってのみ起こりうる現象である[5]。この実験では、複雑な共焦点光学系を用いることなく、共焦点顕微鏡の同等の結像特性を得るために、２光子蛍光を利用した。[6]

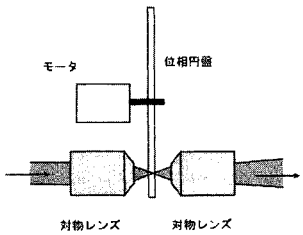


図３　多層観察ユニットの光学系

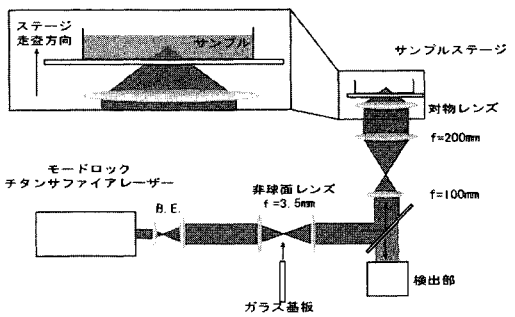


図４　多層観察の基礎実験に用いた光学

図５に、異なる厚みのガラス基板を挿入した場合のエッジ応答の結果を示す。黒実線は、ガラス基板を挿入しない場合の焦点のエッジ応答である。挿入するガラス基板の厚みが増すにつれ焦点が＋Ｚ方向に移動していることが分かる。各厚さにおける焦点の移動量をプロットした結果を図６に示す。図より移動量がガラス基板の厚みに対して非線形に対応していることがわかる。この結果は、波動光学的手法を用いた数値計算から予想される移

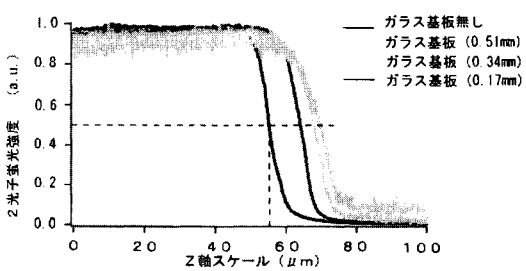


図５　ガラス基板の挿入による焦点位置の移動

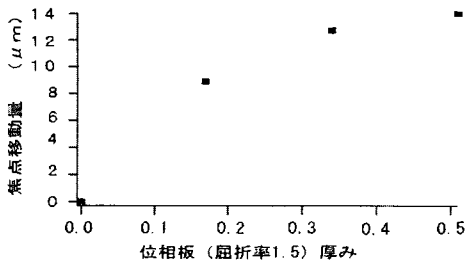


図６　位相版の厚みと焦点移動量の関係

動量とほぼ一致する。上記実験より、今回用いた光学系では、位相板（屈折率 1.5）の厚みが 0.51mm 以下の場合について焦点の深さ方向への移動が可能であることが示せた。この実験を元に次に位相円盤の設計を行った。

設計した位相円盤を図７に示す。円盤の回転中心およ

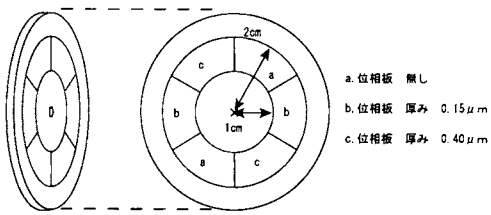


図７　位相円盤

び重心を一致させるため、２つの異なる位相板を２枚１組として円盤の中心に対象になるように配置した。位相板としてガラス（屈折率 1.5）を用い、厚みはそれぞれ 0.15mm、0.40mm である。位相面は中心から半径 1cm および 2cm の円によって囲まれる範囲に配置した。これより、位相板を回転することで、焦点は、位相板が無い部分を基準として深さ方向に 8μm、16 μm移動する。これにより３層の試料面の切り替えを行うことができる。また、位相円盤の回転にはステッピングモータを用いることで、1800rpm の回転速度が可能となる。位相板回転速度の安定化には、フェイズロックループを基本とする制御回路を用いる（図８）。これにより回転誤差を±1rpm に抑えることができる。1800rpm の回転速度で位相円盤を回転させた場合、およそ５ミリ秒間隔で観察面が切り替わる。観察面の切り替わりにかかる時間（スキャンデットタイム）は２ミリ秒以下である。

設計した多層観察ユニットを用いて、多層観察型リアルタイム共焦点蛍光顕微鏡の設計を行った。図９にそれを示す。今回の設計では、中間結像面を構成するレンズ系として、非球面レンズ（焦点距離 3.5mm、開口数 0.68）を使用した。また、対物レンズとしては、ニコン対物レンズ（倍率 60、開口数 1.2、水浸、カバーガラス（0.17mm）有り）を使用した。観察面の切り替えは上記にもあるように５ミリ秒間隔である。また、光源としてモードロックチタンサファイアレーザーを採用した。パルスレーザーにより生じる非線形光学効果による共焦点性を従来の共焦点顕微鏡に組み込むことで、焦点の移動によって生じうるすべての収差を軽減することが期待できる。

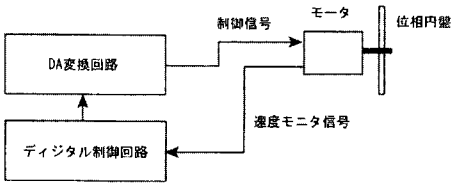


図８　フェイズロックループ制御

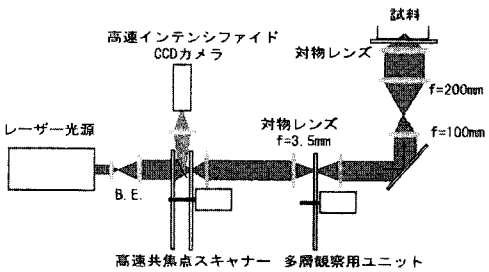


図９　多層観察型リアルタイム共焦点多光子蛍光顕微鏡

4.　まとめ

多層観察型リアルタイム共焦点蛍光顕微鏡の開発にあたり、多層観察ユニットの設計およびそれにともなう基礎実験を行った。多層観察ユニットの設計では、観察面の切り替えるための、複数の位相板を組み合わせた位相円盤の設計を行った。基礎実験の結果より、位相板の材料としてガラス（屈折率 1.5）を選択した。設計した位相円盤は、位相板の厚みが 0.15mm および 0.40mm の２種類の位相板により構成される。これにより、３層の観察面（観察面距離 8 μm・16 μm）を５ミリ秒の時間間隔（２ミリ秒以下のスキャンデットタイム）で切り替えを行うことができる。

謝　辞

本研究の多くの部分は、財団法人中谷電子計測技術振興財団の助成により行われた。

参考文献

1)河田　聡 編著, 新しい光学顕微鏡、第1巻：レーザ顕微鏡の理論と実際、　(学際企画, 1995).

2) A. Ichihara, T. Tanaami, K. Isozaki, Y. Sugiyama, Y. Kosugi, K. Mikuriya, M. Abe, I. Uemura, "High - Speed Confocal Fluorescence Microscopy Using a Nipkow Scanner with Microlenses for 3 - D Imaging of Single Fluorescent Molecule in Real Time," Bioimages, Vol.4, No.2, p.57 (1996).

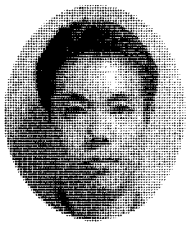
3) K. Fujita, T. Kaneko, O. Nakamura, M. Oyamada, T. Takamatsu, and S. Kawata, "Confocal multipoint multiphoton excitation microscope with microlens and pinhole arrays,". Opt. Commun., Vol.174, p.7 (2000).

4) M. Kobayashi, K. Fujita, T. Kaneko, T. Takamatsu, O. Nakamura, S. Kawata, "Second harmonic generation microscopy with a microlens array scanner," Opt. Lett., Vol.27, No.15, p.1324 (2002).

5)片山幹郎、レーザー化学 (1) (裳華房 1985).

6)W. Denk, J. Strickler, and W. W. Webb, "Two-Photon Laser Scanning Fluorescence Microscopy," Science, Vol.248, p.73 (1990).

自律神経系信号による人工心臓制御システムの開発



研究責任者　東京大学大学院情報理工学系研究科システム情報学専攻
特任講師　鈴木隆文
共同研究者　東京大学大学院情報理工学系研究科システム情報学専攻
教授　満渕邦彦
共同研究者　東京大学大学院医学系研究科生体物理医学専攻
教授　井街宏

1．はじめに

生体は循環中枢からの命令を神経系情報・液性系情報等を介して心臓などの各器官に伝え、各器官の働きをリアルタイムに調整している。これに対し現在の人工心臓では、生体内の血圧や血流量などの計測データから必要な心拍出量を計算し制御するという試みがなされている。しかしこれらのパラメータによる制御では、刻々と変化する必要心拍出量への対応速度が遅く、起立や運動の開始に際して、程度の差こそあれ心拍出量の不足状態が生じてしまうといった問題点がある。そこで本研究においては人工心臓の新しい制御法として、生体の神経系情報を利用する制御システムの開発を目的とする。これによって生体本来の循環系と同様に、刻々と変化する生体の要求に瞬時に対応して駆動条件を変化させることのできる人工心臓の実現が期待される。

このような神経系情報による人工心臓制御を実現するためには、生体の循環中枢が心臓を制御するのに利用している自律神経系の信号を計測し、その信号から指令情報を抽出する必要がある。自律神経の信号には目的とする心臓制御に関与する信号以外のものも含まれているため、多点で計測した信号から、目的とする情報を抽出・解釈する必要がある。また、そのための神経信号計測は、長期間に及ぶ安定性が必要不可欠である。このため本研究においては具体的には、

(A)自律神経系信号を多点で長期間安定して計測可能な神経電極の開発
(B)計測した多点神経信号から人工心臓制御情報を抽出・解釈するアルゴリズムの確立

の二つの課題の解決を図る。

(A)の神経電極開発に関しては、多点計測のために従来から行なわれてきた電極自体の微細化を図るだけでなく、長期間の安定計測を実現するために、基板も電極針も含めた電極全体が柔軟な構造を有する新しい神経電極を提案する。

(B)の制御情報抽出のためのアルゴリズムに関しては、計測した神経信号と循環パラメータとの対応関係を求めることによって、生体の自律神経系信号から、目的とする指令信号を抽出する方法を検討する。

本来、人工心臓をはじめとした人工臓器は、究極的には生体自身の脳によって統合的に制御されることが望ましいと考えられるため、本研究の目標が達成されることによって、人工臓器研究全体に与える影響は非常に大きいと考えられる。また、特殊な循環動態を作り出すことが可能であるため、循環生理学をはじめとした基礎医学への応用も考えられる。また、本研究で実現を図る長期間安定した情報入出力可能な神経電極は、人工視覚、人工聴覚といった神経系とのインタフェースを必要とする研究にそのまま利用できる革新的な技術である。このような神経インタフェース技術は感覚補綴のような応用だけでなく、次世代のマンマシンインタフェースへの応用も考えられるほか、脳神経科学研究のツールとしての意義も大きいと考えられる。

2.　フレキシブル剣山型神経電極

2.1　提案の背景

生体の神経系に対する長期間の安定した多チャンネル信号入出力方法の確立は、本研究の目的である人工臓器制御などの補綴的な応用だけでなく、脳科学や神経生理学研究における重要なツールである。これまでに様々な形状の神経電極が提案されているが[1~3]、従来の神経電極は、シリコンなどの固い材料によって、電極基板、電極プローブが作成されているため、神経組織に対する侵

襲が大きいだけでなく、柔軟な神経組織の動きに追従できず、入出力対象の神経細胞に対して「ずれてしまう」ことが避けられなかった。また作成方法における制約から、三次元的に計測・刺激点を配置することが困難であった。

報告者らのグループにおいても、長期間安定した低侵襲の神経信号計測を目標に、様々な種類の神経電極を開発してきた[4,5]。ヤギの自律神経情報の計測に関しては、これまでにカフ型の神経電極によって、健常ヤギの迷走神経から約3週間、心臓交感神経から約1週間の計測が可能となっている。カフ型の神経電極においては、信号導出のための金属線を自律神経の束の外部に接触させることになるが、このため、胸腔内での呼吸や心拍に起因する神経自体の動きによって計測信号にノイズが混入してしまった。また神経束外からの計測では神経束に含まれる多数の神経活動の分離が困難であるが、神経束内の個々の神経の活動の違いにも注目したいという動機もあり、神経束内部に複数本の電極を刺入することを試みたが、電極金属線の柔軟性の不足から柔軟な神経組織の動きに追従することができず、かえって神経組織への侵襲が大きくなってしまっていることが観察された。さらなる長期化のためには、電極の柔軟化による低侵襲化が必要であると考え、フレキシブル剣山型神経電極の開発を開始した。

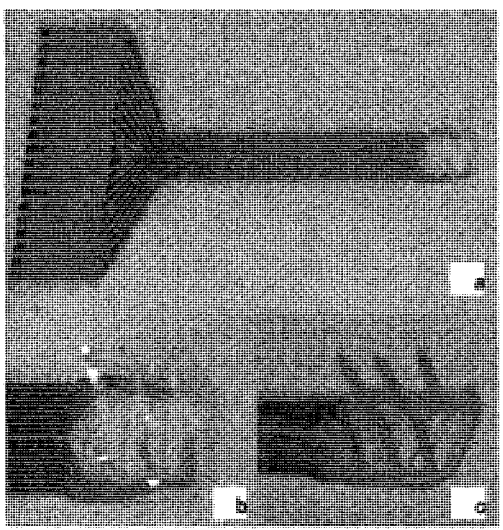


図1　開発したフレキシブル神経電極の写真。各電極針は、長さ1.2mm、幅160 μm であり、3個の計測点（20×20 μm2 ）を200 μm 間隔で有する。a）電極の全体図 b）先端部の拡大図 c）刺入のためのPEGコーティング後の写真

2.2　神経電極の製作

電極の開発は、当初は基板材料としてポリイミドを用いて行ったが、後に基板材料をパリレンに変更した。電極各部のサイズはほぼ同様であるが、これによって製作プロセスがより簡単になった。作成した電極の写真を図1に、製作工程を図2に示す。

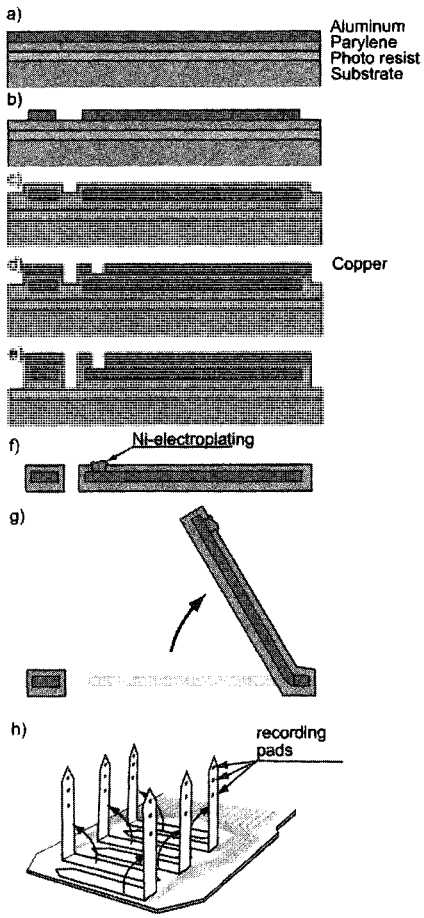


図2　フレキシブル剣山電極の製作工程図。a）フォトレジスト、パリレン、アルミをシリコンウェハの上にコート。b）アルミ層をパターニングする。これは電極及び配線となる。c）再びパリレンをコートする。これは絶縁層となる。d）プラズマのマスクとして銅の層を生成しパターニングする。e）02 プラズマアッシングによってパリレン層をパターニングする。f）フォトレジストをアセトンによってエッチングすることによって電極をシリコンウェハから剥離する。さらに計測点にはニッケルめっきを行う。g）プローブを折り曲げて3次元形状とする。h）フレキシブル剣山電極の鳥瞰図。

パリレンは生体適合性の良好な高分子であり、電極はパリレンによって金属配線層を挟み込んだ構造となっており、先端部で電極針（刺入部）を折り曲げることにより、立体的な構造となる。各電極針は3個の計測点（20 μm ×20 μm）を有している。6本の電極針全体で18個の計測点を有する。この電極針は、長さ 1.2mm、幅 160 μm、厚さは 10 μm であり、このままでは柔軟性が高すぎ神経束に刺入することができないため、刺入時に、ポリエチレングリコール（PEG）をコートすることによって、強度を一時的に高めて使用する。PEGは生体内で急速に溶解するため、柔軟性はすぐに回復する。PEGコートによる刺入方法についての概念図を図3に示す。

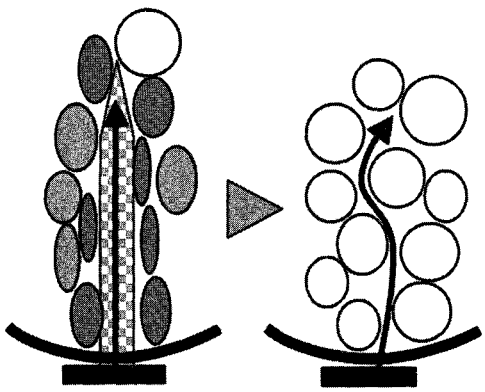


図3　電極刺入方法の概念図。柔軟な電極針にＰＥＧをコートすることによって、刺入に必要な強度を得る。ＰＥＧは神経組織内で急速に溶解するため、刺入後すぐに柔軟性を回復する。

2.3　神経電極の評価

ポリイミドを基板とした電極に関しては、ラット大脳皮質視覚野を対象とした評価実験によって、神経信号の計測を確認した。

パリレンを基板とした電極に関しては、神経信号計測による評価実験を準備中である。

ＰＥＧの溶解速度を評価するために、生理食塩水内で電極インピーダンスを計測した。その結果を図4に示す。浸水後約 20 秒で電極インピーダンスがコーティング前の値にほぼ戻り、PEGが十分急速に溶解していることが示された。

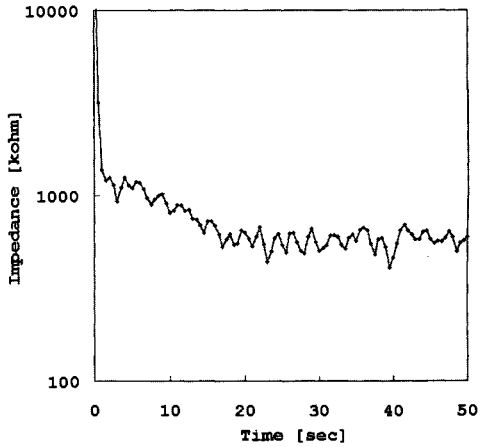


図4　ＰＥＧコーティング後の電極を生理食塩水に浸した後の電極インピーダンスの変化。浸水直後には電極はＰＥＧで絶縁されているが、数秒後には電極インピーダンスが急激に低下し、ＰＥＧが溶解していることが示されている。20秒後にはコーティング前とほぼ同じ値になる。

3.　神経信号と循環パラメータの関係

神経電極の開発と並行して、自律神経信号と循環パラメータとの関係を調べるために実験を行った。ヤギを麻酔下で左開胸し、カフ型の電極を、心臓交感神経と迷走神経に装着した。また、下行大動脈に血圧計測プローブを装着した。覚醒状態で計測実験を行い。データを解析した結果、 1) 交感神経の活動と動脈圧との間には有意な相関がみられた。 2) 時間遅れは十分に小さかった。3) 迷走神経の活動と血圧、心拍との間には有意な相関は見出されなかった。という結果が得られた。これらは、自律神経系情報による人工心臓制御の実現の可能性を示唆する結果ではあったが、データ数が少ない上に、特に迷走神経の計測データはSN比が悪いものであったので明確な結論は出せなかった。

特に神経系情報による速い制御を期待したい運動開始時において、神経計測データに体動によるノイズが発生した点が研究を進める上で特に問題になると考えられた。上述のフレキシブル剣山電極は、原理的にはこの問題への解決となることが期待される。

4.　まとめ

自律神経系信号による人工心臓制御を実現するための要素技術である 1) 電極開発、2) 計測した神経信号からの指令情報の推定、という課題に同時並行的に取り組ん

だ。特に電極開発に関しては、柔軟性と三次元的多点配置というコンセプトのもと、従来にはなかった新しい電極を提案、製作し、基礎的な評価まで行うことができた。しかしながら指令情報の推定という課題に関しては、主に電極の性能不足のために、明確な結論を出すことはできなかった。今後、今回開発した電極を早急に自律神経計測に使用し、一刻も早く、最終目標である人工心臓制御まで到達することに努めたい。

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)A. C. Hoogerwerf, K. D. Wise: A three-dimensional microelectrode array for chronic neural recording, IEEE Trans. BME, 41 (12), 1136-1146 (1994)

2)Patrick K. Campbell, Kelly E. Jones, Tobert J. Huber, Kenneth W. Horch, Richard A. Normann: A Silicon-Based, Three-Dimensional Neural Interface: Manufacturing Processes for an Intracortical Electrode Array, IEEE Trans. BME, 38 (8), 758-768 (1991)

3)K. D. Wise, K. Najafi: Microfabrication Techniques for Integrated Sensors and Microsystems, SCIENCE, 254, 1335-1342 (1991)

4)T. Suzuki, T. Maeda, T. Chinzei, K. Mabuchi, K. Imachi, S. Tachi: Flexible Microelectrode for Interfacing Regenerating Peripheral Nerves, Proc. of 19th International Conference of the IEEE EMBS (CD-ROM), (1997)

5)鈴木隆文, 齋藤敬, 満渕邦彦: 末梢神経系に対する多チャンネル信号入出力のための神経電極開発, 信学技報, 100 (479), 63-66 (2000)

発表論文

1)T. Suzuki, M. Mitsui, T. Isoyama, I. Saito, A. Wagatsuma, M. Ohkura, T. Chinzei, K. Imachi, K. Mabuchi: Analysis of chronically recorded autonomic nerve signals for the control of artificial heart systems, Proc. of 24th International Conference of the IEEE EMBS (CD-ROM), CD-ROM (2002)

2)三井美絵, 鈴木隆文, 稲垣文絵, 大倉典子, 満渕邦彦: 神経系情報による人工心臓制御システムの開発～制御アルゴリズムに関する検討～, 医用電子と生体工学, CD-ROM (2002)

3)三井美絵, 鈴木隆文, 大倉典子, 満渕邦彦, 鎮西恒雄, 井街宏: 神経系情報を用いた人工心臓制御プログラムの開発と評価, 第17回生体・生理工学シンポジウム論文集, 349-350 (2002)

4)M. Mitsui, S. Takeuchi, T. Suzuki, M. Ohkura, K. Mabuchi: Flexible intra-fascicular nerve electrodes for the recordings of autonomous nerves, Proceeding of the 1st international IEEE EMBS Conference on Neural Engineering, 67-70 (2003)

5)Shoji TAKEUCHI, Takafumi SUZUKI, Kunihiko MABUCHI, Hiroyuki FUJITA: 3-D Flexible Multichannel Probe Array, Proc of MEMS2003, 367-370 (2003)

6)Shoji TAKEUCHI, Takafumi SUZUKI, Kunihiko MABUCHI, Hiroyuki FUJITA: 3D flexible multichannel probe array, Journal of Micromechanics and Microengineering, in press (2003)

7)T. Suzuki, K. Mabuchi, S. Takeuchi: A 3D flexible parylene probe array for multichannel neural recording, Proceeding of the 1st international IEEE EMBS Conference on Neural Engineering, 154-156 (2003)

8)三井美絵, 竹内昌治, 鈴木隆文, 大倉典子, 満渕邦彦, 鎮西恒雄, 井街宏: 人工心臓制御のためのフレキシブル神経束内電極, 医用電子と生体工学(特), (2003)

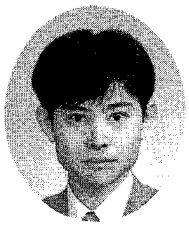
9)三井美絵, 鈴木隆文, 大倉典子, 満渕邦彦, 竹内昌治: 長期計測のためのフレキシブル神経束内電極, 生産研究, 55 (2), 45-48 (2003)

10)鈴木隆文, 三井美絵, 竹内昌治, 斎藤逸郎, 鎮西恒雄, 井街宏, 満渕邦彦: 神経情報の計測とその人工臓器制御への応用, 電気学会大会論文集, (3S17)16-17 (2003)

11)鈴木隆文, 竹内昌治, 満渕邦彦: 柔軟神経電極の開発と機器制御への応用, 第18回生体・生理工学シンポジウム, (2003)

12)鈴木隆文, 満渕邦彦, 竹内昌治: フレキシブル剣山型神経電極, 医用電子と生体工学(特), (2003)

回転磁界と差動磁界を用いた生体運動計測装置の開発



研究責任者　東北学院大学工学部機械創成工学科
講師　熊谷正朗
共同研究者　東北大学大学院工学研究科バイオロボティクス専攻
教授　江村超

1. はじめに

人体の運動計測やバーチャルリアリティ(VR)、コンピュータグラフィックス(CG)映像作成のために、モーションキャプチャと呼ばれる３次元計測装置が広く利用されている。モーションキャプチャは、測定対象となる点に何らかのマーカや小型の装置を取り付け、数点～多点の空間における位置、姿勢、もしくは位置と姿勢を検出する装置である。本研究では、人体など生体の運動計測に主眼を置き、高分解能で高応答な検出を可能とするシステムの実用性の向上を目指した。

既存のモーションキャプチャにはいくつかの方式がある。人体の運動計測のために利用が進んでいるものはカメラ式であり、人体の関節等に取り付けた標点(点光源、着色した球、反射のよい球など)を複数台のカメラで撮影し、カメラ間で標点の対応付けを行い、各カメラ画像上での位置から空間における標点の位置を検出する。特徴としては、同時に多くの点を検出できることが挙げられる。しかし高度な処理を要するため装置が非常に高価であり、また位置のみの検出であるため姿勢を求めるには複数点の検出が必要で、広い範囲の測定を行う場合に、空間分解能が低下して姿勢の検出精度が悪化する。

広い分野で普及しているものには、磁気を用いたポヒマスセンサと呼ばれるものがある[1]。これは被測定空間の近傍に磁界を発生させる小型の励磁コイルを置き、発生させた複数種類の磁界の強度と方向を対象に取り付けた小型のコイルで検出し、演算によって位置と姿勢を求める。上述のカメラ式では標点がカメラの死角に入ると計測ができないことに対して、磁気であるため生体であれば直接見通せなくとも計測が可能であるが、磁性体や電磁ノイズの影響を受ける。ポヒマス式のほかにも磁界を用いた方法が提案されているが[2),3)]、一般に小型のコイルで磁界を発生させるため励磁コイル周辺で局所的に磁界が強くなりやすく、また磁力線が歪みやすい。ただし、カメラ式に比較して安価であるため、ＶＲ用途などで広く使用されている。

その他には、自由に動くように製作したアームの先端を測定対象に取り付け、アームの関節角度を計測することで対象の位置と姿勢を算出する機械リンク式や、加速度センサ、角速度センサ、地磁気センサなどを用いた内界センサ型もある。

以上のような既存の手法に対して、本研究では大型の励磁コイルを用いる磁気方式を使用する。磁気を用いることで死角の影響を受けずに低コストに検出を可能とし、また大型のコイルを用いることで、測定空間に均一な磁界を生成するようにして、磁界の強度を最低限とするとともに、磁性体による歪みの影響を低減した。また、高速ディジタル信号処理回路を開発し、演算精度、ノイズへの耐性および応答性を向上させた。研究題目にもあるように、研究開始当初は磁極が回転する磁界を生成して姿勢の検出を行っていたが[4)]、処理の簡素化とそれに伴う高性能化、低コスト化改良のため、より単純な交流磁界の方式に変更した。そのため、以下では回転磁界を利用した方法の報告は割愛し、研究を通して性能の向上を果たした現システムについて述べる。

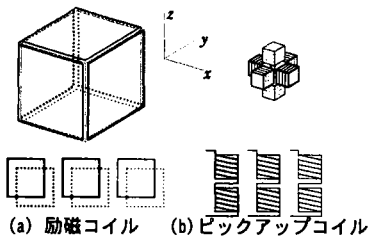
2. 原理

前述のように、本装置では磁界を利用する。まず、空間を囲む立方体を定義し、その各面に正方形のコイルを設置する。これに交流電流を流すことで計測空間内に交流磁界を生成する。この磁界を対象に取り付けた小型のコイルで電圧に変換し、励磁成分の検出を行い、演算処理を行って、対象の姿勢と位置を得る。以下では、使用

したコイル、姿勢角度の検出法、位置の検出法について述べる。

2.1 コイル

本方式では２種類のコイルを利用する。一つは図１(a)に示す、空間に磁界を生成する励磁コイルである。励磁コイルは数十巻の正方形の大型コイルを６面組み合わせて立方体を成した物であり、形成される立方体内部が計測空間となる。コイルは平行な２面ずつを組にして使用する。



(a) 励磁コイル　(b)ピックアップコイル

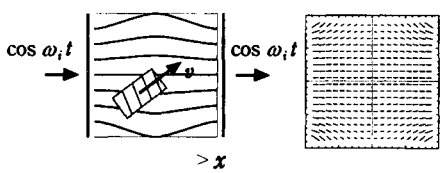
図１　使用したコイル

もう一つは図１(b)に示す、磁界を検出するためのピックアップコイルであり、測定対象に固定する。数千巻の小型円筒型コイルを直交軸上に対称に配置した物で、同一軸上の２個を直列に接続して、同一中心を持つ互いに直交した３コイルと見なしている。

励磁コイルに交流電流を流すことで生成した交流磁界の強さとピックアップコイルの方向に応じて、ピックアップコイルに誘起する交流電圧の振幅が決定する。この振幅を処理し、姿勢と位置の検出を行う。

2.2 姿勢角度の検出

姿勢の検出には図２に示すような磁界を用いた。図２(a)のように対向する励磁コイルのうち一対に対して、同方向、同振幅、同位相の正弦波電流を与える。この場合、両方のコイルが生成する磁界は協調して、図２(a)に示すように励磁コイルの立方体空間内にほぼ平行な磁力線を形成する。この磁界を協調磁界と呼んでいる。図２(b)は数値解析によって求めた、各地点での磁束密度の方向と大きさを示す。交流電流で励磁するため磁界の強度は時変するので、図にはその振幅を表示した。方向だけではなく強度も位置によって大きくは変化しないことがわかる。



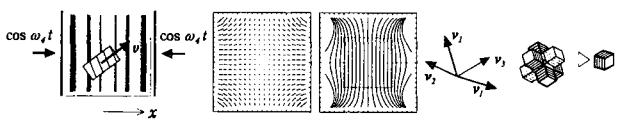
(a) 協調磁界の生成　(b)磁束密度場

図２　協調磁界

この磁界中にピックアップコイルを置き、３対のピックアップコイルのうち１対について誘起する電圧を考える。誘起する電圧の振幅は、その場所の磁界の強さ（励磁コイルの大きさや巻数、励磁電流の強さに依存）とピックアップコイルの仕様（形状、巻数）の装置定数(既知)と、その場所の磁束密度の方向とピックアップコイルの軸が成す角度の余弦(ベクトル内積)を乗じた物となる。励磁コイルを３対使用して３方向に磁界を生成し、それぞれとピックアップコイル方向との内積を得ることで、既知の磁束密度場の数値データを用いた簡単な数値計算で、ピックアップコイルの方向ベクトルを得ることができる。本報告では紙面の制約のため演算式を割愛するが、詳細は文献を参照いただきたい[4),5)]。

2.3 位置の検出

位置の検出には図３に示すような磁界を使用した。先ほどの協調磁界とは逆に、対向する励磁コイル対に同振幅で逆位相の交流電流を与える。この場合、図３(a)に概略を示したように、それぞれの励磁コイル面で磁界の強度が強く、かつ磁束密度は互いに逆方向を向く。また、励磁コイル間の中央では両コイルによる磁界が相殺する。この磁界を差動磁界と呼んでいる。その様子を数値計算によって求めた物が図３(b)である。図２(b)同様に磁束密度分布を表示した。協調磁界とは異なり、この磁界では磁力線の方向はそろっておらず、簡単に扱えるようには思えない。そこで、励磁コイルの中心を結んだ軸(図ではx軸)に平行な磁束密度の成分を求めてみた。その等高線を図３(c)に示す。軸に平行な成分はコイル間の位置に対してほぼ直線的に単調増加していることが確認できた(ただし、コイル面の外およびコイルそのものの近傍では磁界は大きく不均



(a) 差動磁界の生成　(b) 磁束密度場　(c) 軸方向成分の等高線　(d)仮想ピックアップコイル

図３　差動磁界

このことより、軸に平行な成分をまず検出する。検出には仮想ピックアップコイル法を用いた[4)]。これは実在のピックアップコイルの出力から、仮想的に定義したピックアップコイルの出力を演算で推定する手法である(図３(d))。その出力は、姿勢の検出で判明している３対のピックアップコイルの方向ベクトルと仮想ピックアップコイルの方向ベクトルの内積で重み付けした、実在ピ

ックアップコイルの出力の和として得られる。

次いで、3組の励磁コイルによる3つの差動磁界を用いて、位置の検出を行う。3組のコイルの各々の軸方向に仮想ピックアップコイルを設定し、軸方向の成分を得る。これは上述のように軸方向の位置に対して単調増加傾向を持つため、3組の差動磁界に対する仮想ピックアップコイルによる検出強度は、一意に空間座標に対応づけることができる。ただし、解析的にその関係を得ることはできなかったため、事前に演算で求めた磁界強度の数表を用いて演算する必要があった。

2.4 交流磁界の採用

従来の磁気を用いた検出法でも、一般には複数種類の磁界を用いる。ただしその多くは交互にパルス状に異なる磁界を発生させ、ピックアップではその強度を検出していた。この方法では、コイルの共振特性などによりパルスをある程度以上高頻度に出力することができず、またパルスを用いるためパルス状の電磁ノイズの影響を受けやすい。逆に、短時間でエネルギーを放出するため、他への影響も生じやすい。

これらの問題を解決するために、本研究では連続的な交流(正弦波)電流による励磁を採用した。周波数の異なる正弦波には直交性があるため、各励磁電流を異なる周波数の正弦波とすること(周波数多重)で、各磁界を独立した物として扱うことができ、同時に全計測を行うことができる。これにより、高速応答化を可能とした。また、連続波であるためエネルギーが分散し、磁界強度をより弱い物とすることができ、ノイズへの耐性も得られた。

3. 装置の開発と評価

以上の原理を具体的に実装した。本研究の基礎となった研究では、精度が角度で1度程度、位置が励磁コイル一辺の1/100程度、分解能は角度で0.1度程度、位置で1/1,000程度、応答速度が10Hz程度を達成していた。そこで、本研究では分解能1/10,000および0.01度、応答速度100Hz相当を実用化レベルのための目標と設定した。精度に関しては、コイルの形状精度や周辺の磁性体の影響を受けるため、今後の課題としている(ただし、再現性は良いため、なんらかの解決策は得られると考えている)。なお、本装置の検出能力には原理的に相似性があり、励磁コイルを大きくした場合に磁界強度も変わらないようにすると(一辺を2倍にした場合には電流も2倍)、姿勢検出の精度、分解能は変わらず、位置検出の精度と分解能は代表寸法に比例する。そのため、性能は角度に関しては度、位置に関しては励磁コイルの寸法を基準として表記している。この角度性能が変わらないという点は本手法の大きな特徴の一つでもある。

上記目標の達成のため、従来はアナログ要素が多かった信号処理部をディジタル化し、処理法の見直しを行った。またアナログ信号を伝送しなければならない箇所はすべて差動信号とした。励磁電流は、管理用のパーソナルコンピュータ(PC)から指令される周波数、振幅、位相の正弦波を、メモリ上に保持した正弦波テーブルをもとにディジタル信号として生成し、アナログ信号に変換して電流増幅して得た(図4)。ピックアップコイルに磁界により誘起した信号は増幅してすぐにディジタル化し、信号の劣化を可能な限り避けた。具体的な処理としては、やはりディジタル値として生成した参照波(6種類)と乗じて、ローパスフィルタによって励磁周波数成分を取り除き、振幅を得る(図5)。高速な処理を可能とするため、処理をすべて回路化し、処理の並列化を図った。処理回路は図6に示す、汎用の信号処理ボードを開発し、その上に実装した[6]。

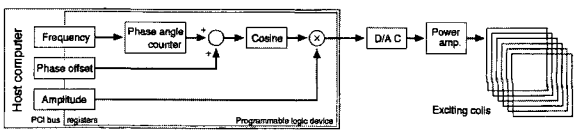


図4 励磁電流生成システムブロック図

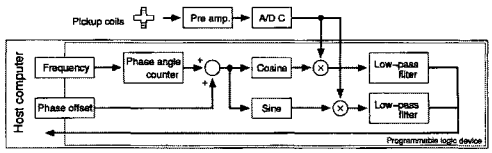


図5 誘起信号処理システムブロック図

実装した処理回路は、磁界の振幅をフルスケールの1/10,000の分解能で、応答速度約100Hzで検出することを可能とした。これを本原理に照らし合わせると、位置分解能1/10,000、姿勢角度分解能0.01度を達成することができる数値である。実際に一辺900mm、20巻の励磁コイルを製作し、40mAp-p程度の電流で励磁した空間に、図7に示すピックアップコイルをおいて計測を行ったが、安定性の面では上記性能を達成していた。単調増加性については、手元の測定器では性能が不足し、十分な検証は完了していない。

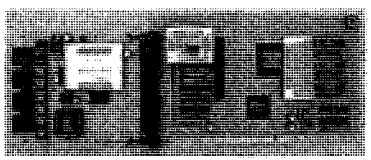


図6 汎用信号処理ボード

"ユニバーサルインターフェイスボード"

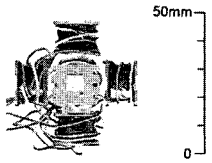


図7　ピックアップコイル

4. おわりに

本研究では著者らが提案していた磁気を用いた生体の位置と姿勢の計測手法を発展させ、実用化を視野に入れた性能向上のための開発を行った。実用的な計測を行うためには、計測空間の拡大と応答性の向上が不可欠で、計測精度の向上が必要であった。そのためには計測原理を見直して単純化することで誤差の発生を低減し、信号処理装置の大幅な高性能化を図った。これにより、計測空間の拡大に耐えうる処理性能を得ることができた。

現在は、実際に人間が入り、簡単な運動なら可能な1900mm立方の励磁コイルを製作し、その性能評価と応用について研究を進めている。応答性良く高分解能に人の振る舞いが計測できるため、ＶＲ用のセンサとしても適しており応用システムの開発を行っている。

本手法の基礎は磁界を通じて２組のコイル同士の位置関係を測定する物であるため、本研究で使用した立方体以外の形状のコイルの採用による、卓上での簡易的な位置計測システムや人体の関節の運動を３次元的に高分解能に測定する手法の開発などへの発展を計画している。また、成果は詳細な技術情報まで含めて公開して行きたいと考えている。

謝　辞

本研究の遂行に当たっては、財団法人 中谷電子計測技術振興財団より平成１３年度研究助成を頂いた。本助成無くしてはここまでの開発は進められなかったと考えられ、ここに厚くお礼を申し上げたい。

参考文献：

1)Frederick H. Raab, Ernest B. Blood, Terry O. Steiner, Herbert R. Jones,
"Magnetic Position and Orientation Tracking System", IEEE Transaction on aerospace and electronics systems, Vol.AES-15, No.5, pp.709-717, 1979

2)阿刀田央一，中村雄一，冨澤眞樹，横山一也，
"磁気式モーションキャプチャ装置における双極子配置と座標逆算アルゴリズムの一設計法", 計測自動制御学会論文集, Vol.34 No.5, pp.445-453, 1998

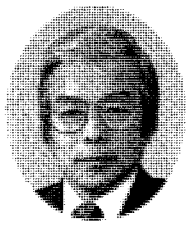
3)笹田一郎, "姿勢位置測定装置及び測定方法",公開特許広報, 公開番号 特開 2000-292111, 2000

4)江村超, 熊谷正朗, 野村亮太,
"回転磁界と差動磁界を用いたモーションキャプチャの開発",計測自動制御学会論文集, Vol.38 No.2, pp.129-136, 2002

5)Masaaki Kumagai, Takashi Emura,
"Development of a Motion Capture System That Uses Alternating Field",Proc. of SICE2002, pp.WA16-3, 2002

6)熊谷正朗, "ＰＣ用多目的入出力ボードの開発とその応用", 日本機械学会 ROBOMEC03 予稿集, 1A1-3F-E7, 2003

近赤外分光法を用いた筋組織酸素濃度の実時間イメージングと筋代謝の定量評価



研究責任者　北海道大学大学院工学研究科　教授　山本克之

共同研究者　北海道大学体育指導センター　助教授　川初清典

共同研究者　北海道大学大学院工学研究科　助手　工藤信樹

共同研究者　東京医科大学医学部　講師　浜岡隆文

共同研究者　静岡大学工学部　助手　庭山雅嗣

1. はじめに

近赤外分光法(near infrared spectroscopy、 NIRS)による組織酸素濃度計測は、脳や筋の組織代謝の時間変化を実時間で測定し得る唯一ともいえる手法であり、実時間性の点ではPETやf-MRIも追随し得ない大きな利点を有している。しかも、簡便な装置で実現できるため、脳活動のモニタリング、リハビリテーションにおける筋力回復診断、スポーツ科学への活用など、今後の発展に大きな期待が寄せられている。

脳を対象とした計測では、連続光法を用いたイメージングシステムが実用化されており[1]、脳の高次機能や脳機能の発達を対象に実時間性と簡便性を活かした臨床応用が試みられている[2]。筋を対象としたNIRSの分野でも、運動には多くの筋が関わっており、従来の1点測定では筋代謝の時空間的動態を捉えることができないことから、筋を対象としたイメージングも試みられてきた[3]。しかし、画像化面積が限られる、筋の収縮・弛緩に対応した速い時間変化を観測できないなど、実用性に乏しい段階でとどまっている。これに対し、我々は連続光法を用いた200チャネルの筋組織酸素濃度イメージング装置を試作し、大腿全周の画像化を行い、その有効性を確認している[4]。しかし、連続光方式では測定開始からの変化分しか測定できず、組織酸素濃度の絶対値や酸素化の最適な指標である組織酸素飽和度を測定することはできない。

そこで、本研究では、比較的多チャネル化が容易で、絶対値計測が可能な空間分解法を用いたイメージング装置を開発し、運動負荷時の筋組織酸素濃度の時空間解析や筋組織酸素消費量など、筋代謝の定量評価を目的として、その有効性を検証することとした。

2. 方法

2.1 近赤外分光法NIRS

NIRSには大別して連続光法、空間分解法、強度変調法、時間分解法の4種の方法がある。連続光法では吸収係数μ_aの変化分のみを、空間分解法ではμ_aの絶対値を、さらに強度変調法と時間分解法ではμ_aと等価散乱係数μ'_sの両者を同時に決定できるが、後者の2方法は装置が複雑になり用途は研究用に限られる。生体組織のμ'_sは多くの場合ほぼ一定とみなせることから、簡便法として連続光法や空間分解法が多く用いられている。また、イメージング装置では多チャンネル同時計測が基本となるから、実時間性、実用性の観点からも手法的には連続法と空間分解法が適している。本研究では、濃度の絶対値や酸素化の最適な指標である酸素飽和度に主眼を置き、従来報告のない空間分解法を用いたイメージング装置の開発研究を実施した。

2.2 空間分解イメージング装置

(1) 試作イメージング装置

本研究で試作した送受光プローブの外観を図1 (a)に、その断面を(b)に示す。プローブの中央に2波長LED (Optrans、ピーク波長 690、825 nm)を配置し、LEDから20、29 mmの位置に受光器としてフォトダイオード (Hamamatsu Photonics, S2386-45K) を上下に2個づつ配置した。フォトダイオードの背面には電流電圧(I-V)変換器を設け、外部ノイズの低減化を図った。また、プローブ全体を筋収縮時の体表の形状変化にも対応できるよう、可撓性を考慮してシリコーンでモールドし、表面反射の影響を除去するためプローブ表面を黒色シリコーンとした。

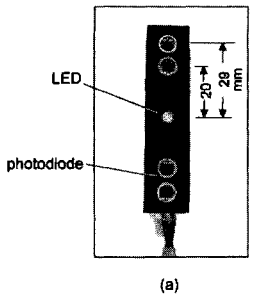


図1　試作した空間分解法送受光プローブ

多数のプローブを使用するため、発光・受光信号は、マルチプレクサを用いて全て時分割方式とした。図2に試作装置の全体を示す。試作装置は、送受光プローブ、中継ボックス(マルチプレクサ、増幅器)、装置本体(LEDドライバ、増幅器、マルチプレクサ)、汎用のデータ入出力PCカード(National Instruments、DAQCard)、パーソナルコンピュータから構成され、データ入出力カードに内蔵されている A/D 変換器、パラレル I/O、D/A 変換器を介して、データ取得・制御を全てコンピュータで行った。時間分解能は画像1枚(64チャネル)当たり0.27秒であった。各プローブをベルクロテープで伸縮帯(スポーツ用サポータ)に固定し、これを大腿部などの測定部位に巻きつけ、多数のプローブを簡単に皮膚に密着させることができるようにした。

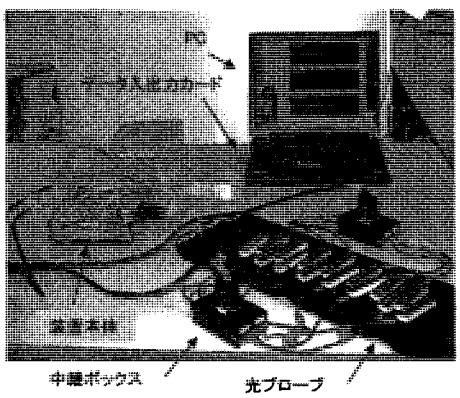


図2　試作イメージング装置

(2)　酸素濃度算出アルゴリズムと脂肪層の補正

空間分解法では、定常光を組織に照射し、その反射光強度の空間的な傾きから組織の吸収係数を決定する。組織の実効的な減光係数を μ_{eff}、送受光器間距離を r、半無限媒質における反射光強度 R(r)とすると、光拡散理論に基づく R(r)の理論式[5]から、次式を導出することができる。

$$\mu_{\mathrm{eff}} = -\frac{\partial \ln \rho^2 R(\rho)}{\partial \rho} \qquad (1)$$

この式より、近接した2点で R(r)を測定すれば、μ_s' を一定として $\mu_{\mathrm{eff}} = \sqrt{3\mu_a(\mu_a + \mu_s')} \cong \sqrt{3\mu_a\mu_s'}$ から吸収係数 μ_a が求められる。しかし、この理論式は組織が均質であることを仮定しており、多層構造の実際の組織に、そのまま適用できない。特に筋組織では、介在組織である脂肪層の光吸収が筋に比べ1桁も少なく、散乱が大きい。そのため、脂肪層が厚くなると、入射した光の多くが脂肪層内で散乱を繰り返しながら受光器に到達し、筋層を通過してくる光の割合は著しく減少する。

我々は、これまで実測、ファントム実験、モンテカルロ・シミュレーション(4層モデル)により、連続光法における脂肪層の影響とその補正法について検討し[6~8]、ガウス関数を用いた補正式を提案してきた[9]。その成果を踏まえつつ、本研究では、モンテカルロ・シミュレーションにより空間分解法における脂肪層の影響を系統的に解析した。その結果、受光器を併置する空間分解法では、脂肪厚 6 mm までは誤差約 15%以内と連続光法に比べて脂肪層の影響は少ないものの、厚みが増すと測定感度が急速に低下して無視し得ない誤差を生じることを、まず明らかにした。次に、シミュレーションの結果に基づき、式(1)の関係式を脂肪厚により補正する2次近似式を作成し、これを用いて μ_{eff} を求めた。なお、実測では、各測定点の脂肪厚を超音波診断装置で測定した。また、μ_a の算出には等価散乱係数 μ_s' が必要になるが、ストリークカメラを用いた時間分解測定(脂肪層の影響を考慮)により、前腕と大腿部で筋の光学特性を測定し、その結果に基づき、μ_s'(850 nm)= 0.4 mm^{-1}、μ_s'(690 nm) = 0.5 mm^{-1} と一定であることを仮定した。

計測した2波長の μ_a から 酸素化ヘモグロビン(Hb)・ミオグロビン(Mb)濃度[HbO_2+MbO_2]、脱酸素化 Hb・Mb 濃度[Hb+Mb]、および総量[total Hb+Mb](血液量)を2波長分光法で算出し、組織酸素飽和度(tissue oxygen saturation、TOS)を次式で定義し、組織酸素化状態の指標とした。

$$\mathrm{TOS}\,(\%) = \frac{[HbO_2 + MbO_2]}{[\text{total Hb} + \text{Mb}]} \times 100 \qquad (2)$$

3. イメージングによる筋組織酸素濃度の時空間解析

図3(a)に示すように、試作プローブを大腿部へ装着し、運動時の筋組織酸素濃度の時空間解析を行った。画像は、各プローブからの測定データを補間し、図3(b)のような装着プローブの展開図として作成し、右端部が大腿直筋(RF)、中央右が外側広筋(VL)、中央から左側がハムストリングス(HM)となるように表示した。

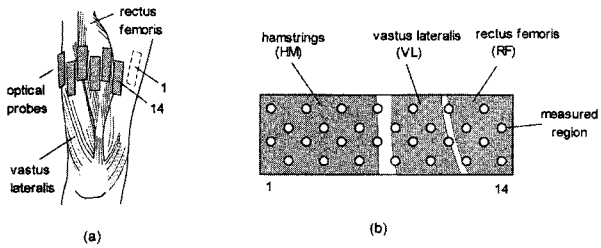


図3 右大腿部へのプローブの装着(a)とイメージングのための展開図(b)
RF: 大腿直筋, VL: 外側広筋, HM: ハムストリングス

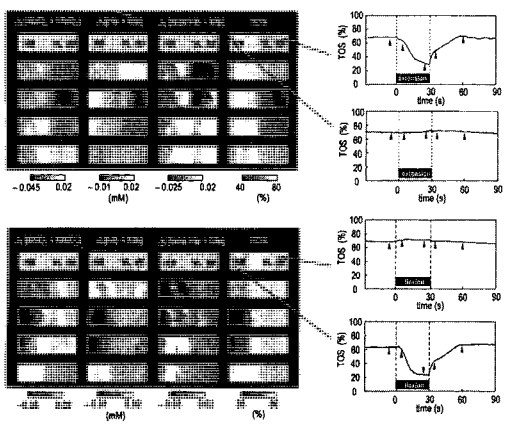


図4 筋組織酸素濃度変化と筋組織酸素飽和度(TOS)のイメージング
右大腿部で膝伸展・屈曲運動を30秒間持続(60%MVC)。プローブ配置は、図3を参照。

図4は、試作プローブ14個(56チャンネル、28測定点)を健常成人の右大腿部に装着し、60% MVC (maximum voluntary contraction)で等尺性膝伸展と膝屈曲運動を各30秒間持続したときのイメージング結果である(上図は膝伸展、下図は膝屈曲運動時)。結果を見やすくするため、酸素化・脱酸素化・総Hb/Mbは、安静時からの変化分のみを表示した(左から1~3列)。右端の4列目には絶対値計測から得られたTOSの結果を、図の右に、大腿直筋(RF)とハムストリングス(HM)におけるTOSの時間変化を示した。図中の矢印は、安静時、収縮開始後の5、25、35、60秒を示し、対応する時点のイメージング結果のみを上から下へ順に並べた。

安静時では各筋ともにTOSは60~70%であり、TOSに大きな部位差は認められなかった。膝伸展開始5秒後では、筋収縮により血液が排出されるため、大腿直筋と外側広筋のtotal Hbは直ちに減少した。HbO_2も減少するため、脱酸素化へ移行したかのように見えるが、TOSで評価すると安静時と有意差はなく、酸素化指標としてのTOSの妥当性を確認できた。TOSは収縮開始後、数秒で減少し始め、約15秒後の変曲点を経て、30秒で約30%まで低下した。運動終了後、血液が筋に流入するとTOSは急速に回復し始めるが、数秒で上昇率は低下し、漸増後60秒で安静時のレベルに回復する特徴的な変化を示した。また、白黒の図では不明確であるが、回復期に活動筋の部位で顕著な運動性充血が観察された(total Hb+Mb)。膝伸展運動時には、屈筋であるハムストリングスに顕著な変化は認められず、TOSはむしろわずかに増加した。一方、屈曲運動時にはハムストリングスにおいて、上記の伸展運動と同様の変化が観察できた。また、ハムストリングスでは運動開始後約15秒でTOSが最低値の25%に達し、嫌気性代謝に移行した。

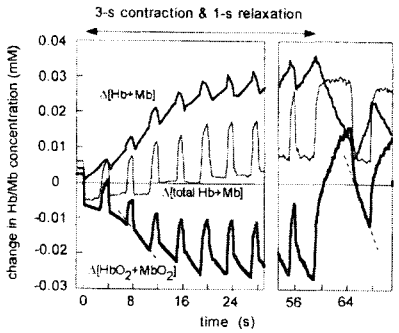
このように、試作イメージング装置で運動時の活動筋を明瞭に画像化することができた。また、運動負荷強度により、運動時と回復期のTOS変化の様相は大きく異なっており、筋を対象とした組織酸素濃度のイメージングが多数筋の協働する運動解析に極めて有用であることを検証できた。

4. 局所筋酸素消費量の高速定量評価

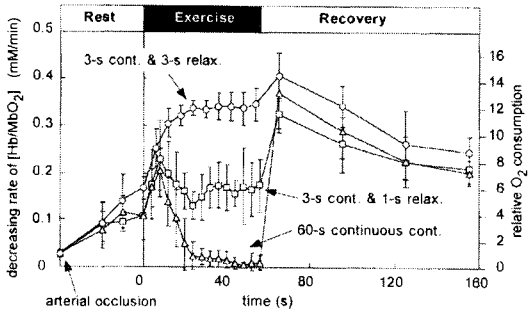
カフを用いて動脈あるいは静脈阻血を行えば、NIRSを用いて四肢の筋組織酸素消費量や組織血流量を簡便に測定することができる[10]。しかも、局所的な測定が可能である。しかし、動脈や静脈を阻血する方法では、測定に少なくとも5~10秒を要し、筋収縮時の瞬時の測定は困難である。NIRSの最大の利点は非侵襲性、簡便性に加え、高速性にある。本研究では、装置の高速化を図り、高強度の筋収縮では筋血流が遮断されることを利用して、筋収縮時の酸素消費量を1収縮ごとに測定する筋代謝の新たな定量評価法についても検討した。

図5(a)は、前腕屈側の等尺性運動(70% MVC)を行ったときのHb・Mb濃度変化の測定例である。測定は1点測定とし、装置のサンプリング周期を0.13秒までに高速化し、収縮に伴う急速な濃度変化にも十分追従するようにした。収縮により血液が排出された後、

[HbO_2+MbO_2]は一定の割合で低下しており、その低下率から収縮時の酸素消費量を 2〜3 秒で推定できる。図 5 (b)に、3 秒収縮・3 秒弛緩、3 秒収縮・1 秒弛緩、持続収縮を 60 秒間行ったときの酸素消費量の測定結果(6 名の平均) を示す。なお、運動開始前に動脈阻血法 (1 分間) で安静時の酸素消費量を測定し (比較のため、3 秒収縮を 2 回付加)、運動終了後 5 秒でも 3 秒収縮を行い、その後は 30 秒間間隔で 3 回収縮を繰り返した。



(a)



(b)

図 5　筋収縮時の局所筋酸素消費量の測定
(a) 前腕屈曲運動時および運動後の筋酸素濃度の変化, (b) 筋収縮時の酸素濃度低下率から求めた酸素消費量の時間変化

動脈阻血法により求めた安静時の酸素消費量は 0.20 ±0.04 ml·100 g^{-1} ·min^{-1}であった。3 秒収縮、3 秒弛緩を繰り返したときは、弛緩時に血流が十分に供給され、酸素消費量は安静時に比べ約 12 倍まで増加した (右縦軸は安静時酸素消費量で規格化)。3 秒収縮・1 秒弛緩では、弛緩期が短縮され、単位時間当たりの負荷が増加すると同時に血液供給量も減少するため、運動開始後 10 秒程度で酸素消費が最大となり、その後は安静時の 5〜7 倍となった。また、持続収縮では、約 25 秒で酸素不足となり嫌気性代謝に移行した。さらに、運動終了後 5 秒の酸素消費量は、いずれの場合も酸素負債を反映して安静時の 10 倍以上に増加し、その後漸減した。このように、装置の高速化を図ることにより、カフを用いずに筋収縮時の酸素消費量を時々刻々推定できた。

5. おわりに

本研究では、空間分解法により組織酸素飽和度をも画像化できる筋組織酸素濃度イメージング装置を開発した。大腿部で測定を行い、運動時の活動筋の酸素化状態を明瞭に画像化することができた。組織酸素飽和度は、運動負荷の様式や酸素負債を反映した特徴的な変化を示し、筋組織酸素化状態の時空間解析に開発装置が有用であることを検証した。また、装置の時間分解能を高め、筋収縮時の酸素消費量をほぼ瞬時に推定する手法も検討し、運動負荷の違いによる酸素消費量の違いを時々刻々測定することができた。

NIRS のような実時間性、非侵襲性、簡便性と三拍子そろった代謝モニタは他に存在せず、運動能力の判定、筋代謝測定のほか、有酸素・無酸素運動の把握や筋疲労の測定にも NIRS は応用可能と考えられ、スポーツ科学やリハビリテーションの分野において、さらなる活用がなされることを期待したい。

謝　辞

本研究は中谷電子計測技術振興財団の助成により実施されたもので、ここに記して深く感謝申し上げる。

参考文献

1)A. Maki, Y. Yamashita, Y. Ito, E. Watanabe, Y. Mayanagi, and H. Koizumi: Spatial and temporal analysis of human motor activity using noninvasive NIR topography, *Med. Phys.*, 22: 1997–2005, 1995.

2)牧　敦, 小泉英明：光トポグラフィの臨床応用, BME, 17(4): 61–69, 2003.

3)S. Nioka, H. Miura, H. Long, A. Perry, D. Moser, and B. Chance: Functional muscle imaging in elite and untrained subjects, *Proc. SPIE,* 3597: 282–290, 1999.

4)M. Niwayama, K. Yamamoto, D. Kohata, K. Hirai, N. Kudo, T. Hamaoka, R. Kime, and T. Katsumura: A 200-channel imaging system of muscle oxygenation using CW near-infrared spectroscopy. *IEICE Trans,* E85-D: 115–123, 2002.

5)T. J. Farrel, M. S. Patterson, and B. Wilson: A diffusion theory model of spatially resolved, steady-state diffuse reflectance for the noninvasive

determination of tissue optical properties in vivo, *Med. Phys.*, 19: 879–888, 1992.
6)K. Yamamoto, M. Niwayama, L. Lin, T. Shiga, N. Kudo, and M. Takahashi: Accurate NIRS measurement of muscle oxygenation by correcting the influence of a subcutaneous fat layer, *Proc. SPIE*, 3194: 166–173, 1998.
7)庭山，志賀，林，工藤，高橋，山本：近赤外光を用いた筋組織酸素計測における脂肪層の影響とその補正，医用電子と生体工学，36: 41–48, 1998.
8)L. Lin, M. Niwayama, T. Shiga, N. Kudo, M. Takahashi, and K. Yamamoto: Influence of a fat layer on muscle oxygenation measurement using near-IR spectroscopy: quantitative analysis based on two-layered phantom experiments and Monte Carlo simulation, *Frontiers Med. Biol. Eng.*, 10: 43–58, 2000.
9)M. Niwayama, L. Lin, J. Shao, N. Kudo, and Yamamoto K: Quantitative measurement of muscle hemoglobin oxygenation using near-infrared spectroscopy with correction for the influence of a subcutaneous fat layer, *Rev. Sci. Instr.*, 71: 4571–4575, 2000.
10)R. A. DeBlasi, M. Ferrari, A. Natali, G. Conti, A. Mega, and A. Gasparetto: Noninvasive measurement of forearm blood perfusion and oxygen consumption by near-infrared spectroscopy, *J. Appl. Physiol.*, 76, 1388-1393, 1994.

発表論文

1)K. Yamamoto, K. Hirai, D. Kohata, M. Niwayama and N. Kudo: Optical topography for spatiotemporal anlyses of muscle oxygenation during exercise, *Lecture Notes of the ICB Seminars, Laser-Doppler Flowmetry and Near Infrared Spectroscopy in Medical Diagnosis*, 84–99, 2002.
2)K. Hirai, K. Maegawa, D. Kohata, N. Kudo and K. Yamamoto: Development of an imaging system of muscle oxygenation based on spatially resolved near-infrared spectroscopy, *Proceedings of Asian Symposium on Biomedical Optics and Photomedicine*, 192–193, 2002.
3)平井甲亮，前川和也，木幡大輔，工藤信樹，山本克之：空間分解近赤外分光法による筋組織酸素濃度イメージングシステムの開発，第 17 回生体生理工学シンポジウム論文集，341–344, 2002.
4)山本克之：生体計測への近赤外分光法の応用，*BME*, 17(4): 54–60, 2003.

三次元医用画像投影システムにおける精度評価のための計測手法に関する研究

研究責任者　東京電機大学理工学部生命工学科
講師　正宗　賢

1. はじめに

現在、X線CTやMRI、超音波断層画像装置により患部周囲の断層画像を撮影・観察しながら生検（生体検査）や薬物注入等の治療を行いつつある。特に穿刺治療は、体内にある腫瘍などの患部に向かって経皮的に直径1mm程度の針を刺入し、針先端から薬物の注入・腫瘍吸引・レーザ焼灼・RF照射などを行うことで患部に対して直接治療を行うことを可能とした方法であり、針刺入を正しく操作できれば正常組織を不必要に傷つけることのない低侵襲治療が実現されるものと考えられる。また、腫瘍除去手術等においては、腫瘍の取り残しをいかに低減させるかが治療成績に大きく反映し、より客観的に画像情報を術野に展開することが必要であると考えられる。

針の刺入や切除の進入経路を正しく把握し操作するためには、患部周囲の状態・腫瘍の位置等を正確に把握する必要があり、そのために予めX線CTやMRI等の画像を撮影し、画像情報の持つ患部の位置や大きさなどの情報を的確に処理し把握することがまず重要となる。しかしながら、実際に穿刺を行う際、術者は脇に設置されたディスプレイ画面上に映し出されたCGなどを観察しながら針刺入作業を行っているため、目標位置および画像との位置関係は術者の経験・思考に強く依存する。また、X線を用いた場合は被曝の問題もある。このため、必ずしも客観的・正確な穿刺を行っていないのが現状である。本研究では、この問題解決のための三次元医用画像投影システムの開発を行い、また精度評価のための計測手法及び実験を行ったので報告する.

2. 画像投影オーバーレイ装置の開発

2.1 三次元画像の術野への投影手法

ナビゲーション手術において患者・患部と手術器具の位置対応をより客観的に得る方法として、われわれは術前・術中に取得した三次元MRI画像と術野の患者空間を同時に観察することができる画像統合システムの構築を試みてきている。画像情報と実体とを視覚的に統合させることは複合現実感（Mixed Reality）、もしくは拡張現実感(Augmented Reality)と言われおり、医療分野における応用としてこれまでに数多く研究が行われてきている[1~3]。しかしながら、多くが採用している2眼式立体視による手法は、焦点距離・輻輳角が固定されるものが多く、立体視の見え方に個人差がある。そのため、2眼式立体視による画像統合は、ターゲットの大まかな観察・位置確認などには適するものの、治療など正確な位置合わせを行うような作業には不適であることが指摘されている。

一方で個人差のない、より正確な治療を実現するためにレーザフォログラフィやインテグラルフォトグラフィ、体積走査型ディスプレイ等の真の三次元画像の医療応用が研究されており成果が得られている[4,5]。しかしながら、現状の技術では三次元画像を生成するための装置等は大掛かりとなり、医療現場に普及するためにはよりシンプルな手法が望まれるのも事実である。

そこで、我々は立体表示には拘らず、術者が見慣れている2次元断層画像を患者内部に映しこむシステムの提案を行っている。ここで‘映しこむ’とは、単にプロジェクタ等により画像を投影するのではなく、実際の患者内部の同位置・同方向に同スケールの画像を提示するということである[6]。

2.2 システムの詳細

本研究で採用した画像重ねあわせの原理図を Fig. 1 に示す。ハーフミラー越しに、術者は半分患者自体を観察し、同時にディスプレイ画面の鏡像も観察する。座標を合わせることにより、最初に一度だけディスプレイとハーフミラーと撮像断面の位置を合わせるだけで、それ以後、撮影断面が撮影対象物と位置（奥行き方向）も正確に重なって表示されることとなる。これまでに、X 線 CT 画像装置に直結した装置の開発を行ってきたが[6]、本研究では通常の手術室内でも使えるように、フレームレス画像表示装置の開発を行った。

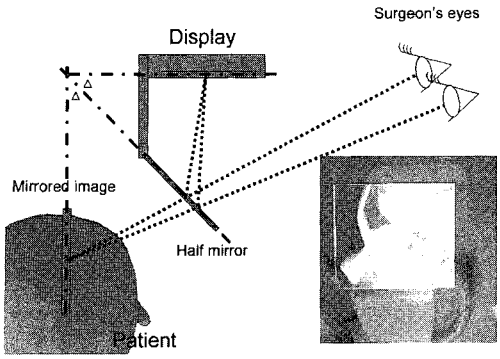


Fig. 1 Principle of image overlay using half mirror

画像表示装置部（以後デバイスと略す）は、画像表示用 6 インチ液晶モニタ、半透明鏡（ハーフミラー）、直動アクチュエータおよびデバイスを保持・固定するパッシブアームからなる。デバイスの保持具には多関節式医療保持具（PointSetter、三鷹光器社製）を用いた。これにより、術中にデバイスの位置・姿勢を任意に設定することができる。デバイス位置・姿勢計測は光学式三次元位置計測装置（Polaris、NDI 社製、以下 Polaris とする）を用い、デバイス位置に対応した 2D 断層画像を、事前取得した 3D-MRI 画像から得ることを可能とした。PC 上では主に画像転送、三次元座標変換，画像処理（断層像作成、拡大処理）を行う。画像表示のためにソフトウェア Volume One [8] を用いた。Volume One とは、GTK を用いた 3 次元画像の Visualization ソフトウェアであり、サーバ・クライアント間通信により外部アプリケーションと視点の位置・方向情報等のデータ交換を容易にすることを特長としている。本ソフトは Volume One 開発者グループにより配布されており、8) より入手可能である。また、断層画像を LCD に表示するため、PC で作成した画面を NTSC 信号にダウンコンバートするスキャンコンバータを、ハーフミラーに映る鏡像を左右画像反転器により反転させることにより正しい向きの像を得た。

本装置の特徴として、術者は自然な両眼視をしているため、3 次元的に両者の位置関係を捉えることが挙げられる。LCD とハーフミラーによりできる LCD の鏡像の平面位置はデバイスにより幾何学的に保障されるため、術者の視点位置によって画像がずれることはなく、常に一意の面において断層像が表示される。開発したデバイスの概観を Fig.2 に示す。

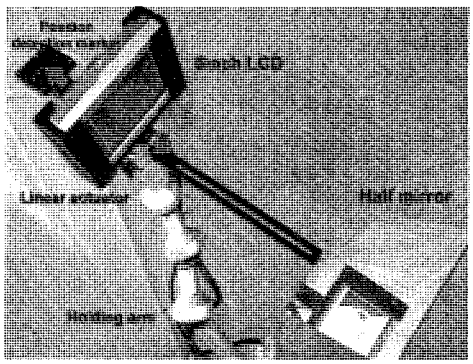


Fig. 2 Overview of the developed image overlay device

2.3 画像の位置合わせ手法（Registration）

断層画像と患者との位置を統合（Registration）する必要がある。本装置では、術前に撮影した MRI 画像、術中の患者位置および術中のデバイスの位置関係をあわせる必要がある。本研究では、人間の目で 3 点のマーキングポイントを指示することにより行う Registration 手法を第 1 段階として取り入れた。各座標系の関係と 3 次元変換行列の大まかな相関関係を Fig.3 に示す。基本的には Polaris の有する座標系を中心としたアフィン変換により、デバイス・患者・画像・鏡像平面の空間位置関

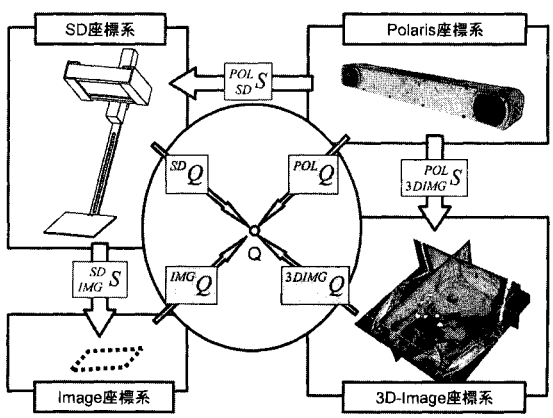


Fig. 3 Relationships of the coordinate system of Image overlay

係を表す。デバイスのもつ座標系を SD 座標系、ハーフミラーにより出来た鏡像の座標系を Image 座標系、術前・術中に取得する三次元 MRI 画像の座標系を 3DImage 座標系として、予め SD 座標系および Image 座標系との関係をキャリブレーションにより求めておく。また、3 DImage 座標系は通常のナビゲーション手術と同様に患者にマーカを 4 箇所取り付けた上で位置対応を行っておく。SD 座標系は随時 Polaris により更新される。これらにより，空間上の任意の点 Q の各座標系における座標値が求まることとなり、デバイスの位置に応じた画像を提示できる。

2.4 ファントム・被験者による実験

以上で述べた全てのシステムを構築し、基本動作実験および臨床使用を想定した feasibility テストとして被験者による実験を行った。Fig.4 および Fig.5 に立方体ファントムによるテストおよび被験者によるテストの様子を示す。デバイスを手で動かすことにより断層像が正しい方向に追従し変化していくことが確認された。

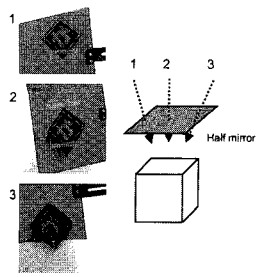


Fig. 4 Phantom test using solid cube 60mm on a side

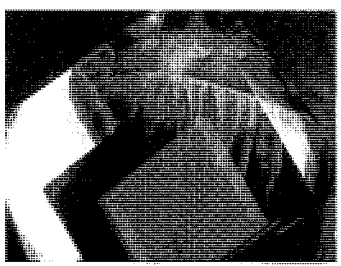


Fig. 5 Feasibility test by volunteer

3. 精度評価実験

空間位置認識誤差の計測

本研究の目的の一つである精度評価実験について述べる。本装置は言わば空間上に浮かび上がっている画像および実像の位置を合わせるものである。このため、システムとしての誤差を評価するためには理論的な位置合わせの誤差と人間の視覚による誤差の双方を考慮する必要がある。前者の手法については文献[6]で詳しく述べてあるが、本研究では特に後者について検討した。人間の視覚には個人差があり、その差は本装置を実際に使用する際にも大きな誤差として現れると考え、手術支援用 MRI 断層画像オーバーレイ表示システムの評価実験の一環として人間の視覚により生じる誤差を測定し評価を行った。Fig.6 に実験時の座標の定義を示す。空間上に浮かび上がる像を仮想画像平面と呼ぶこととする。Fig.6 に示す仮想画像平面上に x, y 軸をとり、z 軸は奥行き方向とする。測定機器は、Polaris と Passive マーカつき指示棒（プローブ）である。また、全ての実験は 5 人の被験者により行われた。

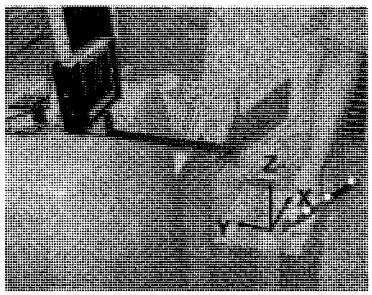


Fig. 6 Experimental setup for the evaluation

被験者の道具により示された 3 次元の座標位置と理論値の差を計測・算出する。これにより、視覚的に把握している空間上の点がどの程度正確であるかを把握することができる。

まず、事前実験としてディスプレイ中央に半径 1[mm] の点を 1 つ表示し、その点をプローブで指示してもらい、その測定値を求めた。ハーフミラーとディスプレイ間は 330 [mm]であり、3 秒間、3 セット計測を行った。サンプリングは Polaris の性能限界である 20 [Hz]とした。次に、ディスプレイの中央、右端、上部に半径 1 [mm]の 3 点を表示し、事前実験と同様に被験者は画像表示装置を用いて見える点を指示し、その 3 次元の座標値を取得した。その後、被験者の指示値と理論値を比較し，両者の差を算出し誤差とした。計測の際に、ハーフミラーとディスプレイ間は 300・330・360 [mm]とし、1 秒間計測、各距離で 3 点計測した。サンプリングは同様 20 [Hz]である。

Table.1 各被験者の指示値と理論値の差

	x [mm]	y [mm]	z [mm]
被験者 1	9.45±0.93	-6.04±0.80	2.84±0.85
被験者 2	9.63±2.11	-5.62±1.12	1.41±2.11
被験者 3	4.26±1.29	-1.73±0.59	3.54±0.76
被験者 4	10.67±1.48	-4.87±0.92	-3.51±3.52
被験者 5	6.85±1.61	-7.40±0.87	-1.42±2.01
平均	8.17±1.48	-5.13±0.86	0.57±1.85

各被験者の指示値と理論値の差の結果を Table 1 に示す。被験者によっては誤差 1mm から 10mm 程度まで有しており、穿刺治療など少なくとも誤差 1 ～3mm で位置決めを行うために用いるには不十分であり大きな誤差と一見すると考えられるが、ここで事前実験および Table1 の誤差の分散値に着目し補正方法を検討した。例として Table 2 に被験者 1 による測定結果の詳細を示す。

Table. 2 被験者 1 の指示値と理論値の差

距離 [mm]	点	x [mm]	y [mm]	z [mm]
300	1 点目	9.67	-5.26	2.77
	2 点目	10.04	-6.43	2.10
	3 点目	10.54	-7.68	3.14
330	1 点目	9.20	-4.87	4.02
	2 点目	9.60	-5.69	3.78
	3 点目	10.66	-5.92	3.09
360	1 点目	7.75	-6.02	1.77
	2 点目	8.83	-6.07	3.27
	3 点目	8.77	-6.40	1.63
平均		9.45±0.93	-6.04±0.80	2.84±0.85

被験者 1 の指示値と理論値の差は、1mm から 10mm と、その値は大きくばらついている。しかし、これを軸方向別に見ると、x 軸に関しては 9[mm]、y 軸には-6 [mm]、z 軸では 3 [mm]前後の差となり分散値も 1mm 以下である。よって、被験者 1 が認識している位置は、常に前述の値だけシフトしているものと十分に考えられる。そこで、事前実験で得られた被験者 1 の指示値と理論値の差を、被験者 1 の"補正ベクトル"と定義し、本実験で求められた被験者 1 の指示値からこの補正ベクトルを減算することで補正を試みた。事前実験での被験者 1 の指示値と理論値の差は、x=10.96[mm], y=-6.36[mm]、z=4.73[mm]であり、補正結果を Table 3 に示す。Table.3 から、理論値との差が各軸方向に 1.5 [mm]以内であることが分かる。

Table. 3 被験者 1 の補正値と理論値の差

距離 [mm]	点	x [mm]	y [mm]	z [mm]
300	1 点目	-1.37	1.04	0.13
	2 点目	-1.84	1.43	-0.54
	3 点目	-3.30	0.28	0.49
330	1 点目	-1.00	-0.13	4.02
	2 点目	-1.44	0.61	1.13
	3 点目	-2.22	0.23	0.63
360	1 点目	-0.50	-1.38	1.77
	2 点目	-0.38	0.38	0.45
	3 点目	-2.27	-0.10	-1.02
平均		-1.59±0.93	0.26±0.80	0.20±0.85

Table.4 各被験者の指示値と理論値の差（補正後）

	x [mm]	y [mm]	z [mm]
被験者 1	-1.59±0.93	0.26±0.80	0.20±0.85
被験者 2	-0.28±2.11	1.02±1.12	-0.88±2.11
被験者 3	-1.32±1.29	-0.22±0.59	-0.17±0.76
被験者 4	-1.52±1.48	-0.03±0.92	1.90±3.52
被験者 5	0.36±1.61	-0.57±0.87	1.65±2.01
平均	-0.87±1.48	0.09±0.56	0.54±1.85

また、各被験者の指示値と理論値の差は Table.1 に示してあるが、被験者 1 と同様な補正を行った結果、Table.4 のような値となった。各被験者とも、それぞれの方向に理論値との差が 2 [mm]以内となり、被験者の空間位置認識が個人の見方によってシフトしている結果となった。

実験の考察

実験の結果、本システムを用いた際、被験者の位置の認識は各被験者によって特定の方向にシフトしていることが明らかとなったが、この原因としてはいくつかの要因が考えられる。まず、位置の認識には個人差があり、空間上の点の捉え方の違いにより位置の認識が特定方向にシフトしている可能性が考えられる。また、画像表示装置の軽量化のために厚さ 5mm のプラスチック板ハーフミラーを用い、その保持を上部 1 箇所により行っていることから、ハーフミラーの平面度が低下し、それにより視点位置・被験者の姿勢によって鏡像のずれが生じて画像統合の様子が異なったとも考えられる。今後はその点について追究する。補正後の理論値と指示値の差は各軸方向で-0.87±1.48 [mm]、0.09±0.56 [mm]、0.54±1.85 [mm]となり、これは実際手術で用いるために必要最低限である誤差 3mm 以下の精度を満たしていると言えるが、しかしながら、目標値とすべき各軸方向誤差 1mm 以下は満たしていなかった。また、本実験では空間上に浮かぶ 1 点を指示しているため、周囲との相対的な位置感覚などが得られず、誤認識する可能性が高いとも考えられる。そのため、臨床時には表示されている画像と患部とを見比べることによって、点の認識も比較的正確なものになると考えられる。

4. 結言

本研究では拡張現実感によるナビゲーション表示装置のプロトタイプを開発した。一連の作業を行い、動作の確認ができた。本システムの有効性を示すための精度評価実験として、本装置による空間認識・位置指示誤差計測実験を行った。その結果、本システムのような透過型ディスプレイにおいては事前に空間位置認識のキャリブ

レーションを行う必要があり、補正を行うことにより治療に用いるために必要な精度を有する結果が得られた。より精度を向上させるため、今後は空間認識をより明確にするためのレーザポインタ等の指示具の導入を行い、補正せずに客観的に空間位置認識することの出来る装置改良が必要であると考えられた。これらの改良により、本表示装置は、手術情報をより簡便に視覚的に術野に表示することが可能であり、術者が直感的にナビゲーション情報を取得することを可能にすると考えられる。

謝 辞

なお本研究は東京女子医科大学先端生命医科学研究所の研究協力および中谷計測技術財団の研究助成により推進された。ここに感謝の意を表する。

参考文献

1)D. W. Roberts, et al.: A frameless stereotaxic integration of computerized tomographic imaging and the operating microscope, J. Neurosurg., 65:545-549, 1986

2)Fuchs Henry, et al.: Performing Ultrasound-Guided Needle Biopsies from within a Head-Mounted Display., Proceedings of Visualization in Biomedical Computing, 591-600, 1996

3)山内康司, 他: 手術用三次元合成画像立体視システム, 豊田研究報告, No.46, 47-55, 1993

4)Y.Masutani, M.Iwahara, O.Samuta, Y.Nishi, N.Suzuki, M.Suzuki, T.Dohi, H.Iseki and K.Takakura, Development of integral photography based enhanced reality visualization system for surgical support, Proc. of ISCAS'95, pp.16-17, 1995.

5)廖洪恩, 中島勧他, Integral Videography を用いた手術支援リアルタイム三次元ナビゲーションシステムの開発, J Jpn Soc of Comp Aided Surg, Vol.2, No.4, 245-252, 2001

6)K.Masamune,et al.: Three-dimentional Slice Image Overlay System with Accurate Depth Perception for Surgery,MICCAI2000 LNCS 1935: 394-402,2000

7)Ken Masamune, Gabor Fichtinger, Anton Deguet、Daisuke Matsuka, Russell Taylor An Image Overlay System with Enhanced Reality for Percutaneous Therapy Performed Inside CT Scanner Lecture Notes in Computer Science Vol. 2489, Proc. MICCAI2002, Tokyo,pp. 77-84, 2002

8) Volume One , http://www.volume-one.org

表面プラズモン共鳴バイオセンサーによる細胞機能測定技術の開発

研究責任者　広島大学大学院医歯薬学総合研究科 皮膚科学
教授　秀　道　広
共同研究者　広島大学大学院医歯薬学総合研究科　皮膚科学
共同研究員　鈴　木　秀　規
共同研究者　広島大学大学院医歯薬学総合研究科　皮膚科学
筒　井　智　子

1. はじめに

細胞は生命の基本単位であり、個々の蛋白質の機能解析では予測し得ない高度な生命現象を営んでいる。そのため個々の細胞の活動を包括的に解析するための種々の方法が開発されているが、生きた細胞の活動を同時進行的に観察するには光学的に顕微鏡で観察するか、特定の分子を標識して観察することが必要であった。我々は表面プラズモン共鳴(surface plasmon resonance; SPR)を利用すると、生きた細胞の活動を無侵襲的に検出できることを見出し、さらにこの方法を用いると従来の方法では検出し得なかった細胞の応答をも検出できることを明らかにした。

2. センサーチップへの細胞固定とSPRシグナル

1)材料：SPRバイオセンサーには、日本レーザー電子社製、SPR-CELLIAを用いた。SPR-CELLIAは、センサー部分に比較的大きなチャンバーを構成するようにデザインされており、レーザーの照射野には通常の培養方法で数百から数千個程度の細胞を設置することができる。細胞としては、粘膜型マスト細胞の性質を持つラット好塩基性白血病細胞株であるRBL-2H3細胞、ヒト末梢血好塩基球、およびラット新生仔足裏表皮より得た角化細胞を用いた。

2)センサーチップへの細胞接着：SPR-CELLIA用のセンサーチップは、27x20mmのガラス板表面が50nm厚の金膜で覆われているだけの単純な構造であることを利用し、チップごと培養皿に入れて細胞を培養することでSPRシグナルを計測した。SPR-CELLIAの設計・販売元である日本レーザー電子からは、センサーチップ上への細胞の固定方法としてアミノカップリング法が示されているが、我々の検討ではむしろ無処理のままの金板上に、細胞を培養するだけの方法で良好な細胞応答が得られた。以下、RBL-2H3細胞を例にとり具体的方法を示す。まずUV照射および70%アルコールで滅菌したチップをリン酸緩衝生理食塩水(PBS)で2回洗浄、乾燥し、図1に示すようにセンサーチップ中央に油性ペン(スーパーパップペン®、ダイドー産業)で境界を作り、培養面を形成した。そこに10%牛胎児血清(FCS)-RPMI1640メディウムに浮遊させた細胞浮遊液(1~4x10^5個/mlx70 μl)をレーザー光が照射される部位を覆うように垂らし、37℃、5%CO_2環境下で一晩培養した。培養した細胞は、0.1%牛血清アルブミン(BSA)を含むPIPESメディウム(119 mM NaCl, 5 mM KCl, 1.0 mM $CaCl_2$, 0.4 mM $MgCl_2$, 5.6 mM glucose, 25 mM piperazine-N,N'-bis (2-ethanesulfonic acid), pH 7.2；PIPES medium)で2回洗浄後、同じメディウムで還流した。30-60分間の還流後にチップを取り出して観察すると、付着した細胞はよく保たれており、ほぼ同じ形態を示した。同様の方法により、ラット皮膚角化細胞、ラット線維芽細胞、ラット毛乳頭細胞、NIH-3T3細胞株、ヒト胃粘膜細胞株(MKN28)、ヒト肝細胞などの付着性の細胞を接着させてシグナルを得ることができた。しかし血球系細胞はそのままでは浮遊して金板上には付着しないため、後述するヒト末梢血好塩基球を用いた検討では、細胞浮遊液を滴下する前に金板を抗好塩基球細胞膜抗体でコートすることで細胞を固定化した。

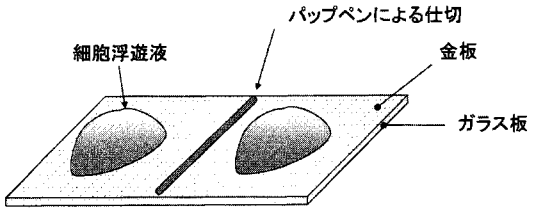


図１．センサーチップ上への細胞接着．センサーチップ上にパップペンで仕切りを作り、その両側に細胞浮遊液(1~4x10^{5}個/70ml)を垂らして培養する。

3) 生細胞接着がSPRシグナルに及ぼす影響

約 730 個/検出領域(約 0.85mm^2)の生細胞が付着したチップをセンサー(SPR-CELLIA)に装着すると、共鳴角は約 0.1 度右にシフトした。また共鳴角の変化を経時的にプロットして得られた SPR シグナルの基線は数～10/1000 度程度の揺らぎを生じた。これらの変化の原因として、まず生きた細胞の細胞膜近傍の微小環境に生じるかもしれない温度および pH の変化の影響を検討するため、灌流液の温度および pH を変化させて SPR シグナルに及ぼす影響を検討した。その結果温度では 37℃を中心に 0.1 度、pH では 7.2 を中心に 0.1 の変化が明らかに SPR の共鳴角の変化として検出されたが、その程度は小さく、生きた細胞を無刺激の状態で付着させることによりもたらされる揺らぎの範囲に含まれる程度のものであった(図 2)。

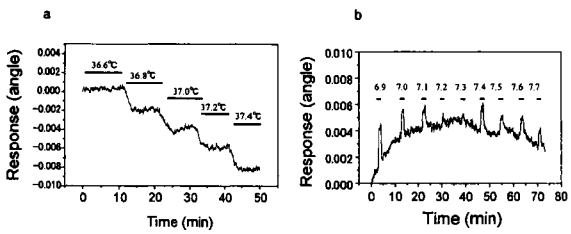


図２．灌流液の温度および pH が共鳴角に及ぼす影響。a) 温度変化による影響、 b) pH 変化による影響（縦軸のスケールに注意。いずれの場合も共鳴角の変化は細胞を接着させただけで見られる基線の揺れの範囲内にある。

3. RBL-2H3 細胞へのリガンドの結合と細胞応答

RBL-2H3 細胞には種々の受容体が発現し、あるものはそれらの受容体を介して、またあるものは受容体とは無関係に細胞を活性化することが知られている。その中でも高親和性 IgE 受容体は、RBL-2H3 細胞を含むマスト細胞および好塩基球表面に発現し、極めて微量の IgE および IgE の認識する抗原により活性化されて細胞を脱顆粒へと導く。ただしそのためには二つ以上の IgE 受容体が架橋されることが必要で、単一分子の IgE が IgE 受容体に結合するだけでは僅かな活性化信号が起きることはあっても脱顆粒に至ることはない[1]。

そこでまず、分子量約 200kd の IgE 分子の結合と、それに続いて分子量約 70kd の抗原(dinitrophenol-human serum albumin; DNP-HSA)の結合がもたらす変化を SPR で解析した。

まず 5 μg/ml のラット IgE を 10 μl/min の流速で還流すると、IgE に暴露されてから約 5 分後頃から 10 分後にかけて僅かに共鳴角が上昇したが、約 20 分後にはほぼ基線に回復した。続いて 100ng/ml の抗原(DNP-HSA)を還流すると、1 分以内に急激に共鳴角の上昇が起こり、その上昇は抗原の還流が終わって細胞表面がもとの緩衝液で還流される間もしばらく継続した。この変化は抗原暴露後約 10 分後にピークに達し、約 30 分後にほぼもとのレベルにまで回復した(図 3)。以上の結果から、SPR は細胞膜表面へのリガンド結合そのものではなく、リガンドの結合により引き起こされる何らかの細胞応答を反映していることが明らかになった。

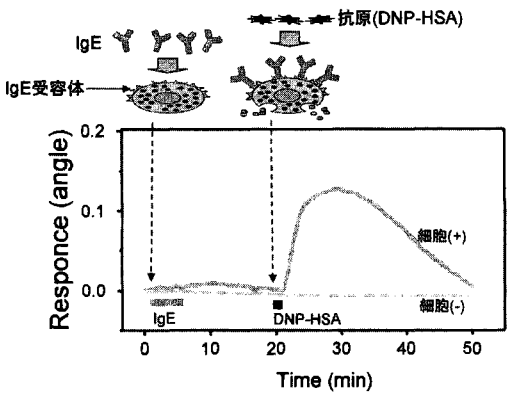


図３．センサーチップ上の RBL-2H3 細胞への IgE および抗原(DNP-HSA)の接着と SPR 共鳴角の変化

そこで種々の濃度の抗原で予め IgE で感作した細胞を刺激して SPR 共鳴角の変化を検出すると、細胞の刺激の大きさに応じて共鳴角の変化も増加したが、キネティクスには大きな影響は見られなかった(図 4a)。IgE 受容体は２つ以上の受容体分子が架橋されるとそのγ鎖に会合するチロシンキナーゼ(syk)が活性化され、β鎖、およびγ鎖自身がリン酸化されて次々と細胞内情報伝達のカスケードが進行していくことが知られている[1]。そこで抗原刺激によりもたらされる SPR 共鳴角の変化がリガンドの結合によるものではなく、リガンドの結合により

もたらされる細胞の２次的応答によるものであることを確認するため、チロシンリン酸化阻害剤である genistein の影響を検討した。その結果、genistein で前処理された細胞は、至適量の抗原で刺激されてもその応答が完全に阻害された(図 4b)。

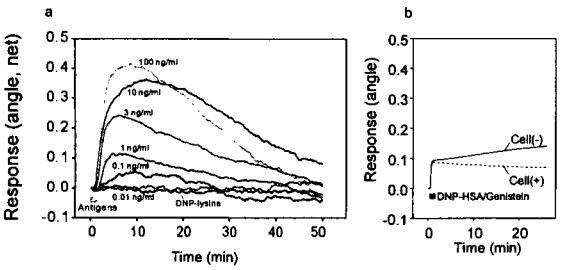


図４　種々の抗原濃度による RBL-2H3 細胞の活性化と SPR シグナルの変化に及ぼすチロシンキナーゼ阻害剤の効果. RBL-2H3 細胞を予め IgE で感作し、図に示された濃度の抗原(DNP-HSA)に 70 秒間暴露した。a)抗原濃度に依存して 5-10 分後にピークを迎えるより大きな共鳴角の変化が誘導された。IgE に結合はするが架橋しないハプテン(DNP-lysine)では明らかな共鳴角の変動は見られない。b)抗原刺激する前にチロシンキナーゼ阻害剤(genistein)で細胞を前処理すると、抗原刺激による SPR 共鳴角の変化は完全に抑制された。刺激直後の基線の上昇は genistein による物理的な効果

4. SPR シグナルに現れる刺激の種類と細胞応答の違い

1)RBL-2H3 細胞とアデノシン A3 受容体刺激

次に、同様の反応が異なる刺激、異なる細胞でも観察され得るかを検討するため、RBL-2H3 細胞をアデノシン A3 受容体アゴニストの(5'(N-ethyl) carboxamido-adenosine; NECA)で刺激した。NECA はそれ自体ではごく弱いシグナルしか誘導せず、脱顆粒、細胞内 Ca^{2+}濃度などへの影響は極めて少ないが、至適量未満の抗原刺激と相乗的に作用することが知られている[2)]。今回行った実験でも、NECA 単独での脱顆粒はほとんど無視し得るほどの大きさであった。ところが SPR 共鳴角には濃度依存性に明らかな変化をもたらした。またそのキネティクスは、刺激後 2-3 分までの急激なシグナルの増加の後に鋭角をなして低下し、40-50 分間かけてゆっくりと基線に戻るパターンを示すという、抗原刺激によるものとは明らかに異なるものであった(図 5)。この他 Wortmannin(PI3 キナーゼ)、CyclosporineA(カルシニューリン阻害薬)、FK506(カルシニューリン阻害薬)、フォルボールエステル(プロテインキナーゼ C の活性化～枯渇化剤)により細胞を処理することが及ぼす影響を検討したところ、いずれも脱顆粒は完全に、あるいは大きく抑制したが、SPR シグナルへの影響はそれらの効果とは一致せず、特に CyclosporineA 処理ではむしろ抗原による SPR シグナルは増強された。

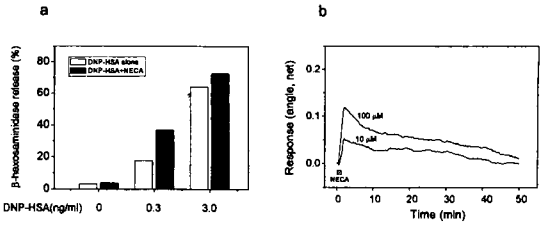


図５　Adenocine A3 受容体アゴニスト(5' (N-ethyl) carboxamido-adenosine; NECA) 刺激による RBL-2H3 細胞の応答. a)NECA は低濃度の抗原による脱顆粒反応を増強するが、それ自体ではほとんど脱顆粒を起こさない。b)ほとんど脱顆粒反応を起こさない濃度の NECA により誘導された SPR シグナルの変化。

以上の結果は、SPR センサーが捕らえている RBL-2H3 細胞の応答は、脱顆粒とは無関係で、細胞内情報伝達系のかなり初期の反応を反映しているという可能性を示唆する。そこで他の細胞でも同様の SPR シグナルが検出できるか、また SPR シグナルのパターンを解析することで細胞内で起きている応答の様子、ないし刺激の種類に関する情報を得ることができるか否かを検討するため、ラット角化細胞を FCS および epidermal growth factor (EGF)で刺激してその応答を解析した。

2)FCS、bFGF、EGF による刺激と角化細胞の応答

ラット角化細胞は 10%FCS-ダルベッコ MEM メディウムに浮遊させて SPR チップ上で 3 日間培養して付着させ、0.1%BSA-ハンクス培養液で還流した。この場合は 0.03% I 型ウシコラーゲンをアミノカップリング法にてコートした。この状態で 0.83ng/ml の bFGF と 1.7% の FCS を含む培養液に 72 秒間暴露すると、直後より上向きの SPR シグナルが出現し、2-3 分後をピークとして 4-5 分後にはほぼ基線に回復した。しかしこの反応は bFGF 無しの培養液でも同様におこることから、この濃度の bFGF では SPR シグナルの誘導はなく、実体は 1.7%含まれる FCS により誘導される反応であることが判明した。一方、この培養液にさらに 10ng/ml の EGF を添加して細胞に暴露すると、初めの数分間は bFGF+FCS と同様の応答を見せるが、以後基線を越えて下降を続け、初期の立ち上がり幅と同等ないしそれ以

上の低下を示した(図 6)。以上の結果より、SPR はマスト細胞以外にも上皮系細胞の応答を検出することができ、かつその反応パターンは刺激の種類により異なることが明らかになった。

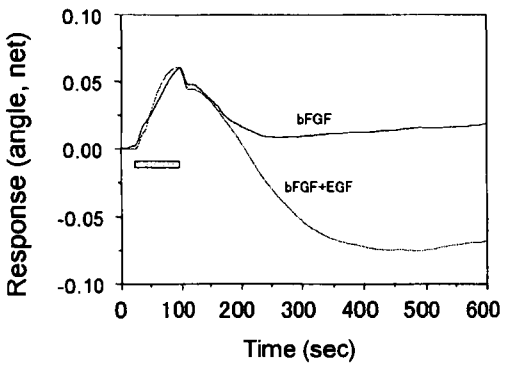


図 6　ラット表皮細胞を bFGF および EGF で刺激した場合の共鳴角の変化．bFGF 単独で刺激した場合は RBL-2H3 細胞の反応と同様、共鳴角はほぼ 2 分後をピークとして増加し、4-5 分後には元に戻る。しかし EGF 刺激が加わると、いったん上昇を示した後に、それ以上の大きさで減少する。

5. 臨床検査への応用

これまでの研究から、SPR センサーでは細胞の働きを無侵襲、リアルタイムで検出でき、かつそれは脱顆粒などの機能発現に至る前の応答でも検出できるということが明らかになった。SPR センサーのこのような利点を新しい臨床検査法として活用するため、ヒト末梢血中の好塩基球を抗原で刺激して起こる反応を検出する方法を考案した。ヒト好塩基球は、その個体の持つ抗原特異的 IgE で感作されており、近年測定キットが発売されたこともあって、in vitro での抗原刺激によるヒスタミン遊離試験は広くアレルギー検査法として普及しつつある。しかしこの方法の難点は、数%から 30%にもおよぶといわれるノンレスポンダーが存在することにある。これらの個体では、末梢血好塩基球が IgE 受容体を介したあらゆる刺激に対して脱顆粒せず、過敏性に関する何の情報も得ることができない。そこで SPR センサーを用い、脱顆粒には至らない上流の細胞応答をキネティクスを含めて検出できる新たな臨床検査法としの応用の可能性について検討した。

細胞はヒト肘静脈血 15ml を EDTA/2Na と混和し、Ficoll-Paque 比重遠心法で好塩基球を含む白血球画分を回収した。その細胞浮遊液をさらに磁気ビーズ付きの抗体と Auto-MACS によるネガティブセレクションにかけて好塩基球の割合の高い細胞浮遊液を調達した[3]。その 70 μl を予め抗好塩基球モノクローナル抗体(塩野義製薬より提供)でコートした SPR チップの上に垂らし、室温で 30 分間静置した後灌流液で洗い、残った細胞を SPR センサーに装着して抗 IgE または精製汗抗原で刺激した。

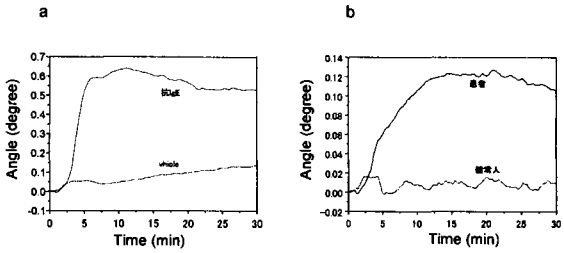


図 7　ヒト好塩基球を抗 IgE 抗体およびヒト汗抗原で刺激することで誘導された細胞応答。a)アトピー性皮膚炎患者由来好塩基球を抗 IgE 抗体で刺激．b)健常人およびアトピー性皮膚炎患者由来好塩基球を各々ヒト汗抗原で刺激．アトピー性皮膚炎患者由来好塩基球のみが汗抗原に応答している。

アトピー性皮膚炎患者由来好塩基球を抗 IgE で刺激すると、その直後より急峻な SPR シグナルの上昇が起こり、10-15 分後をピークとして緩やかな下降が起きた(図 7a)。一方、別の患者由来好塩基球を健常人由来の好塩基球とともに SPR センサーに装着し、精製汗抗原[4] で刺激すると、患者由来好塩基球のみが応答して上向きのシグナルを生じた(図 7b)。

以上より SPR センサーはヒト末梢血好塩基球の抗原刺激反応を検出する手段としても利用し得ることが明らかになった。今後ノンレスポンダー由来の好塩基球の応答をどこまで検出することができるかが次の課題である。

6. おわりに

本研究では、SPR センサーが生きた細胞の応答を非侵襲的にリアルタイムで検出することができることを明らかにした。これまでの検討から、この測定技術は様々な細胞に応用できることが示されており、また刺激の種類により細胞応答のパターンが異なることも明らかになった。この検出方法は細胞の機能発現という点ではほとんど活性を検出し得ない NECA や 1.7%FCS のような僅かの刺激をも鋭敏に検出し得る性質を持つ。特に RBL-2H3 細胞を刺激した際に見られる共鳴角の変化は、細胞数が 2-3 倍に増加したことに匹敵する大きさである。今後これらの細胞応答に伴う SPR シグナルが、細胞のいかなる分子構造の変化を反映しているかという問いに答える

ことができたなら、細胞生物学の研究手段としてのみならず、広く産業応用されるものと期待される。しかしながら細胞膜近傍では外的刺激に対してさまざまな変化が並行して、また複合的に起きているものと考えられる。細胞膜を含む金板上数百 nm の領域における電気化学的応答には、ミクロオーダーでは知り得なかった現象が繰り広げられている可能性も否定できない。今明らかになっている範囲で実用化の可能性を探りつつ、今後この技術の意味するところを明らかにしていきたい。

謝　辞

本研究を進めるに当たっては、財団法人中谷電子計測技術振興財団より多大なるご援助を頂きました。ここに深甚なる感謝の意を表します。

参考文献

1)Ravetch, J. V. and Kinet, J. P. (1991) Fc receptors. Annu.Rev.Immunol. 9, 457-492.

2)Hide M, Beaven MA. Calcium influx in a rat mast cell (RBL-2H3) line, use of multivalent metal ions to define its characteristics and role in exocytosis. J Biol Chem, 266: 15221-15229, 1991

3)Basophil Isolation Kit Operations Manual, (MACS Cell Isolation Kits; Miltenyi Biotec, Auburn, CA, USA)

4)Hide M, Tanaka T, Yamamura Y, et al. The IgE-mediated hypersensitivity against human sweat antigen in patients with atopic dermatitis. Acta Dermato-Venereologica 82: 335-340, 2002

口頭発表

1)秀　道広. 第 25 回日本分子生物学会　テクニカルセミナー「SPR を用いた細胞応答の解析」平成 14 年 12 月 12 日(パシフィコ横浜)

2)秀　道広、森本謙一、筒井智子、吉里勝利。表面プラズモン共鳴センサーによるマスト細胞応答のリアルタイム解析　第 6 回ヒスタミン研究会　平成 14 年 12 月 20-21 日　(松山市総合コミュニティセンター)

再生医療分野における電子計測技術の利用に関する調査研究

研究責任者　大阪大学医学部保健学科　病態生体情報学講座
教授　松浦　成昭

1．調査研究の目的

再生医療は、障害を受けた臓器・組織の再生によって本来の機能を回復する新技術であり、将来の発展が期待されている。細胞培養の技術は著しく進歩し、皮膚、軟骨、角膜など、再生医療の先駆は現実のものとなった。加えて幹細胞から体細胞にいたる分化に関する重要な知見も集積されつつある。しかし細胞から組織を構築する過程には未知の要素が多く、なお研究の加速化が求められている。

再生医療に関する研究の進歩に伴い、それを医療現場に定着させるために、再生医療に用いる細胞・組織などの品質や機能、あるいは安全性を保障する評価システムが必要となる。意外なことにかかる目的の研究は、国際的に未だ殆ど行われていない。

当然ながら再生医療に関する許認可などの規制もない。従って評価システムの構築が喫緊の課題として認識され始めたのは当然である。

エレクトロニクスを基盤とした電子計測技術は、再生医療の有効性、安全性に関する客観的な評価システムの基幹技術である。すでにＣＴ、ｆMRI、PETなどの画像診断技術によって、生体のマクロ～ミクロの機能情報を無侵襲的に得ることが可能になってきた。またゲノム情報に基づいたタンパク質の構造推定～機能解析、半導体技術を基盤としたDNA～タンパクを用いたチップ技術は急展開している。バイオインフォマテイクは、日本の生物界の理解が不十分なために閑却視されて来た嫌いがあるが、欧米では早くから数理科学、統計科学、コンピュータ科学を巻き込んで、未来のバイオ研究～産業化の中核理論と目されている。

われわれの意図は、電子計測技術を再生医療の機能評価システムの重要要素として、再生医療を医療現場に定着させることが重要な鍵と考えている。これによって再生医療を産業展開可能とすることに寄与したい。

本調査研究は、再生医療の定着に必要な客観的機能評価システムの構築に向けて、当面する問題点を明確に把握し、今後の開発目標としていかなる電子計測技術があるか、それらに対する技術的可能性を検討する。本調査研究は、産・官・学が協力して進め、将来の産業展開に関しても提言を試みる。

2．調査研究の対象

本調査研究は産・官・学が協力して、下記の項目について、再生医療の有効性および安全性に関して、客観的な評価基準に向けての諸課題を明確にし、これに対する電子計測技術の有用性、さらには今後開発すべき電子計測技術を調査する。

1）　再生医療の客観的評価基準の必要性と現状
2）　電子計測技術の利用と開発
- 再生医療における生体および医療材料の機能評価に関する電子計測技術
- 再生組織の機能を評価するためのモニタリング技術、

とくに無侵襲計測技術の利用と開発
・再生医療材料の安全性評価への電子計測技術の利用と開発目標
3）再生医療分野における電子計測技術関連技術の産業展開

3．委員会構成

委員長：松浦成昭
副委員長：守谷哲郎

○委員

浅野　薫（シスメックス株式会社、中央研究所、主任研究員）
井床利之（川崎重工業株式会社、システム技術開発センター、研究企画部長）
岩田博夫（京都大学再生医科学研究所生体組織工学講座、教授）
馬越佑吉（大阪大学大学院工学研究科マテリアル科学専攻材料機能学講座、教授）
岡崎正之（広島大学大学院医歯薬学総合研究科生体材料学研究室、教授）
片岡好則（株式会社東芝・生産技術センター、プロセス研究センター長）
澤　芳樹（大阪大学大学院医学系研究科未来医療開発専攻組織再生医学講座臓器制御外科分野、助教授）
東山繁樹（愛媛大学医学部医化学講座、教授）
松浦成昭（大阪大学医学部保健学科病態生体情報学講座、教授）
三宅　淳（産業技術総合研究所ティッシュエンジニアリング研究センター、副センター長）
守谷哲郎（産業技術総合研究所、ライフエレクトロニクス研究ラボ、研究ラボ長）
吉川秀樹（大阪大学大学院医学系研究科臓器制御医学専攻器官制御外科学講座（旧整形外科学講座）教授）

○調査研究協力委員

岡野光夫（東京女子医科大学先端生命医科学研究所、教授）
近藤哲朗（産業技術総合研究所、ライフエレクトロニクス研究ラボ、主任研究員）

4．調査研究の内容・方法

4．1　平成15年度の調査研究実施概要

本年度は、1）電子計測技術の利用と開発、2）再生医療分野における電子計測関連技術の産業展開、について調査委員の中で各専門家（あるいは専門家の共同研究者）による基調講演を実施し、その後の討論、意見交換を行なった。また、電子計測技術関連技術の領域などでは調査委員以外の専門家6名に講演を依頼した。

下記の（1）～（5）では、昨年度の画像診断による再生医療分野での機能評価に引き続いて、X線回析、核磁気共鳴（MRI）、超音波、自由電子レーザーの専門家5名にそれぞれの立場から、再生医療も含めた医療全体の分野での利用の現状ならびに再生医療へ応用するに当たっての将来の問題点を講演して頂いた。いずれの分野も現時点では再生医療に利用されている割合は必ずしも大きくはないが、将来はその方向での検討も行われている。しかし、再生医療全体を見通したものよりも個々の分野に片寄っている傾向が感じられ、大きな方向性で牽引していく努力が議論された。

次いで（6）～（7）ではもう一度総論的な立場に返って、再生医療にどのようなテクノロジーが必要か、またどのような考え方で生体そのものをイメージングして、シミュレーションしていくべきかの話題をそれぞれの専門家に提供していただき、将来を見据えた議論を行った。

最後に（8）～（9）で、まだ現状では医療分野そのものに利用されていないが、将来開発が期待される分野として密着フラッシュ型軟X線顕微鏡と核磁気共鳴マイクロソフトイメージングの再生医療分野への応用について講演して頂いた。いずれも細胞あるいは細胞内の分子にターゲットをおいており、今後の展開が期待された。

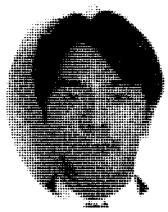
4．2　平成15年度の講演タイトルと講演者

1）「生体硬組織・再生硬組織の組織評価法」
中野貴由（大阪大学大学院工学研究科マテリアル科学専攻、助教授）
2）「fMRI（functional manetic resonance imaging）のデータ品質」
中井敏晴（産業技術総合研究所ライフエレクトロニクス研究ラボ、主任）
3）「超音波診断の現状・未来と再生医療への応用」
別所慎太郎（大阪大学大学院医学系研究科保健学専攻機能診断学講座、教授）
4）「超音波による軟骨の計測と医療への応用」
池内　健（京都大学再生医科学研究所生体システム医工学研究部門生体機械工学分野、教授）
5）「自由電子レーザーの再生医療への応用」
粟津邦男（大阪大学大学院工学研究科自由電子レーザー研究施設、教授）
6）「再生医療分野に必要なテクノロジー」
岩田博夫（京都大学再生医科学研究所生体組織工学研究部門組織修復材料学分野、教授）
7）「生体システムのモデル化とシミュレーション」
赤澤賢造（大阪大学大学院情報科学研究科バイオ情報工学

専攻人間情報工学講座、教授）
8)「密着型フラッシュ軟X線顕微鏡による細胞観察と応用」
眞島利和（産業技術総合研究所光技術研究部門ライフエレクトロニクス研究ラボ、主任）
9)「再生医療分野におけるMR（磁気共鳴）マイクロイメージングの利用」
守谷哲郎（産業技術総合研究所ライフエレクトロニクス研究ラボ、研究ラボ長）

平成15年度技術交流助成成果報告

稲　垣　正　司（いながき　まさし）
国立循環器病センター研究所　室長



会議または集会名　医用物理・生体医用工学世界会議２００３
(World Congress on Medical Physics and Biomedical Engineering 2003)

開催地　オーストラリア・シドニー

時期　平成15年8月24日～29日

１．会議の概要

医用物理・生体医用工学世界会議2003は、St George Cancer Care Centerの Barry Allen 教授を会長として2003年8月24日から8月29日にオーストラリア・シドニーのシドニー・コンベンションセンターにおいて開催された。本会議は、医用物理学工学国際連盟、医用生体工学国際連盟、医用物理学国際協会の3つの国際団体が合同で開催する国際会議であり、3年毎に開催されている。医用工学や医用物理における世界各国の主要な研究者が参加する非常に大きな国際会議であり、本年はテロやイラク戦争、SARS 等の影響で前回と比べてやや参加者が少なかったようではあるが、74 カ国から 2000 名以上の研究者が出席した。今回の学会はオーストラリアで開催されたこともあってか例年以上にアジアからの参加者が多かったような印象を受けた。一般演題は 22 のカテゴリーに分類され、口頭が1265題、ポスターが944題の合計2209題の報告がなされた。また、一般演題の発表以外にも、最新のトピックスについて第一人者により6つの基調講演が行われた。

２．会議の研究テーマとその討論内容

私が主に参加したCardiovascular Science and Engineeringのカテゴリーは Radiation Oncology Physicsに次ぐ大きなカテゴリーであり、口頭169題、ポスター64題の発表が行われた。内訳は心機能関連14題、ペースメーカーと除細動器関連5題、補助循環装置やステントなどの治療機器関連27題、心拍変動関連9題、冠循環関連11題、心電図および電気生理学関連16題、心臓弁のメカニクス関連15題、モデリングとシミュレーション18題などであった。また、「The Electromechanics of the Heart and the Physiome Project」と題した心臓のコンピュータシミュレーションに関する基調講演がAuckland大学の Peter Hunter 教授によってなされた。Hunter 教授は、International Union of Physiological Sciences (IUPS)によってすすめられている Physiome Project の中心的人物であり、この30年間コンピュータシミュレーションによる心臓の研究を牽引してきた。Physiome Projectは、

遺伝子、タンパク質から細胞、臓器までにわたる要素的な知見をコンピュータを用いて統合することによって生体全体としての機能を再現し、解析、理解しようという壮大な計画である。講演では、Physiome Project の歴史、現状、今後の展望まで広い範囲にわたって報告がなされた。Auckland 大学での最近の研究成果についても紹介があり、心臓の収縮や冠動脈血流の詳細なシミュレーションがなされていた。Hunter 教授の研究室では独自に取得した基礎実験データをもとにシミュレーションをおこなっているが、これらのデータを取得するために開発した計測装置についても解説があり興味深かった。

一般演題でもコンピュータシミュレーションに関する演題が多く見られ、特に、心臓内の流体（血流）のダイナミクスを含めた力学解析について多くの発表があった。臨床検査で計測される血流をほぼ再現できるレベルにまでの高度なシミュレーションが行われていた。一方で、医学系の参加者が少なかったためか、医学生理学的議論が少なかったことが気になった。

3．出席した成果

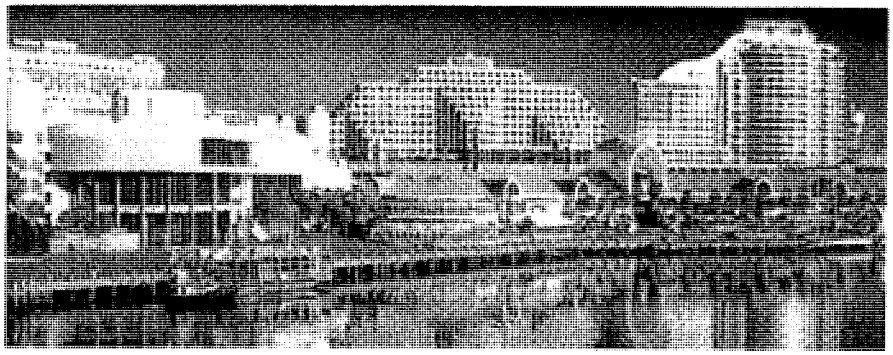
私自身の研究発表は、スーパーコンピュータを用いた心臓の電気現象シミュレーションに関する演題と ALE 有限要素法を用いた左心室の構造流体連成解析に関する演題であった。前者の演題では心臓の形状が不整脈の発生に及ぼす影響を検討し、心室内には形状的に受攻性の高い部位が存在することを発表した。工学系の参加者が多かったためシミュレーションの精度や計算時間などが議論の中心となり、生理学的な議論は少なかった。しかしながら、計算手法について議論を深めることができた。後者の演題では電気現象から力学・流体現象までをも含めた全心臓シミュレーションについて発表した。Auckland 大学の研究者を中心に活発な討論を行うことができた。心臓内への流入血流のダイナミクスに関しては他の研究者もほぼ同様の結果を得ていることが明らかとなった。また、電気・機械・流体の統合シミュレーションは他に例がなく、多くの研究者の注目を浴びた。

光学的手法を用いた心筋活動電位マッピングについても多くの報告があった。私たちも、中谷電子計測技術振興財団の助成により、拍動心臓で記録を行うことが可能な光学的心筋活動電位マッピングシステムを開発しており、これらの発表者と技術的な議論を行うことができた。拍動心臓での記録が可能な光学的心筋活動電位マッピングシステムはこれまでに例がなく、私たちのシステムの有用性を十分に認識してもらうことができた。

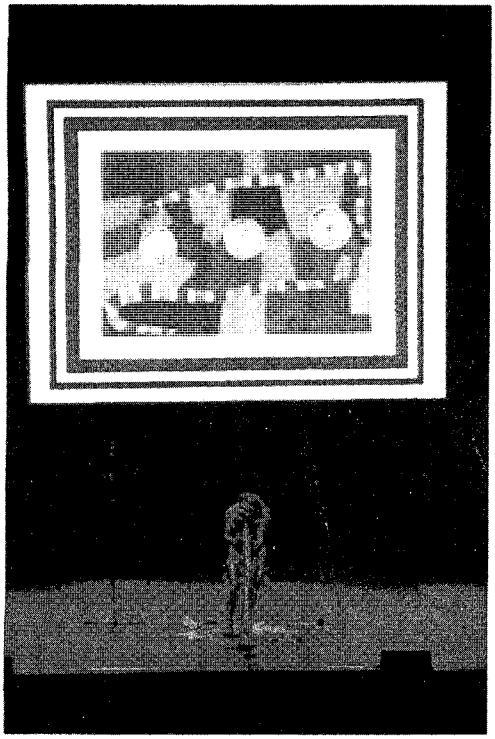
4．その他

南半球のオーストラリアでは 8 月は晩冬にあたり、寒いのではないかと予想していたが、実際には日中は 19℃程度まで気温が上昇し非常にすごしやすかった。会場のシドニー・コンベンションセンターはダーリング・ハーバーに位置しており、昼食はハーバーに面したレストランのテラスで太陽の光を浴びながらリラックスした時間を過ごすことができた。また、学会のオープニングセッションではオーストラリアの先住民アボリジニによるディジュリドゥの演奏があり、オーストラリアの多様な文化に接することができた。

最後に技術交流助成金の援助を賜りました中谷電子計測技術振興財団に深く感謝申し上げます。

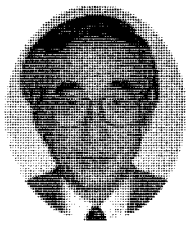


会場となったシドニーコンベンションセンターとダーリングハーバー



オープニングセレモニーのひとこま

会長講演



千 原 國 宏（ちはら くにひろ）
奈良先端科学技術大学院大学
情報科学研究科 教授

会議または集会名　第6回日本-ポーランド医用生体工学シンポジウム 国際会議 (6th Polish-Japanese Symposium on Bio-Medical Engineering)

開催地　けいはんなプラザ
〒619-0237 京都府相楽郡精華町光台 1-7

時期　平成15年10月20日～24日

1. 会議

日本-ポーランド医用生体工学シンポジウムは，日本とポーランド両国間における医用生体工学分野の協調発展を目的として，1989年から開催されているシンポジウムである．第6回大会は2003年10月20日(月)から24日(金)の5日間，けいはんなプラザ（〒619-0237 京都府相楽郡精華町光台 1-7）にて開催された．共催として，第17回日本エム・イー学会秋季大会，および，IEEE EMBS Asian-Pacific Conference on Biomedical Engineering 2003の両学会が，同時期，同場所で開催された．本会議には，日本より32名，ポーランドより10名の合計42名が参加した．

2. 会議のテーマと討論内容

会議のテーマは医用生体工学であり，生体計測から遠隔医療まで幅広い分野に関する発表が行われた．第1日目の午前中には戸川教授（早稲田大学）とNalecz教授（Polish Academy of Sciences）によるオープニングセッションが行われた後に主にVRの医療応用や遠隔医療に関する5件の発表が行われ，午後は，「Contribution of the Information Science」というタイトルでパネルディスカッションが行われた．第2日目は，午前中にけいはんな学研都市にある研究機関であるATRやCRLの見学会が催され，午後からは主に生体計測に関する8件の発表が行われた．第3日目は，午前中に医用生体工学における新技術に関する8件の発表が行われ，午後からは「Physiome Project in NAIST」というタイトルで奈良先端科学技術大学院大学のおけるフィジオーム研究の紹介が行われた．第4日目と第5日目は過去数年間行っている共同研究に関する進捗報告や今後の方向性に関して，実務者レベルで詳細な討論が行われた．なお本会議は1会場のみで運営されたため，参加者が一堂に会して活発な討論が行われた．

3. 会議開催の成果

今回の会議においては，医用生体工学分野に関する発表が行われ，日本とポーランドにおける当該分野の最新情報の交換をすることができて非常に有意義であった．また．本会議開催中，夕刻には適宜ファイアサイドトークが開催され，お互いの研究だけでなく，両国の文化等に関しても討論が行われ，

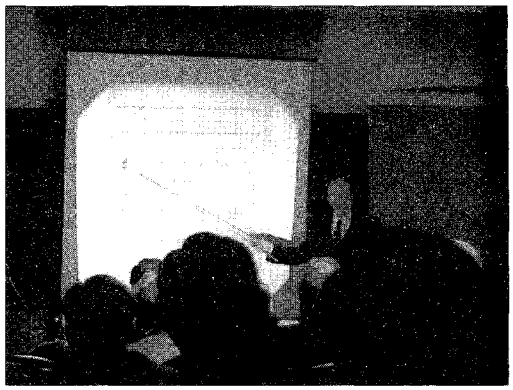
有意義な国際交流が行われた．本会議を開催することにより，第1回のシンポジウムから参加している研究者の旧交が温められ，さらには，今回から参加した新しい研究者にもこれまで培ってきた親睦が引き継がれ，21世紀における日本とポーランドの国際的な研究プロジェクトの推進が期待された．以上により本会議の開催は医用生体工学分野における日本，ならびに，ポーランドの電子計測技術の協調発展に大きく寄与したものと考えられる．

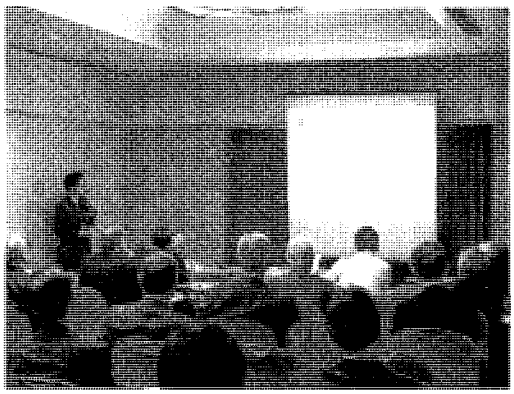
4. 謝辞

中谷電子計測技術振興財団のご助成をいただき，会議の視覚，音響設備や案内設備等を充実することが可能となり，本国際会議の運営を円滑に行うことができました．このため，日本，および，ポーランドの参加者より，学会運営が高く評価されて極めて良好な反応をいただくことができました．貴財団よりの助成をいただくことで，無事にこの重要な会議を開催することができましたことをここに深く感謝申し上げます．

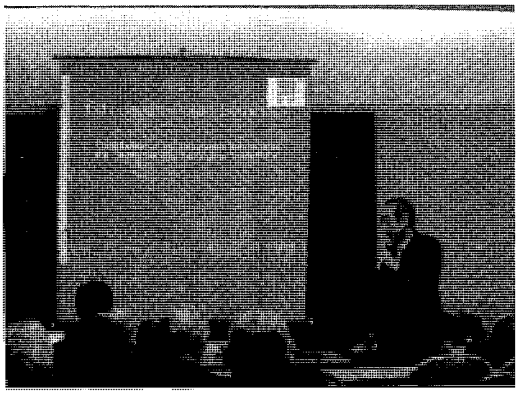
シンポジウムの模様

前半3日間は各参加者の研究発表を中心としたセミナー形式で開催された

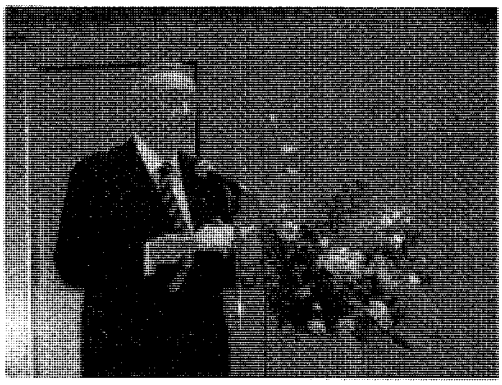




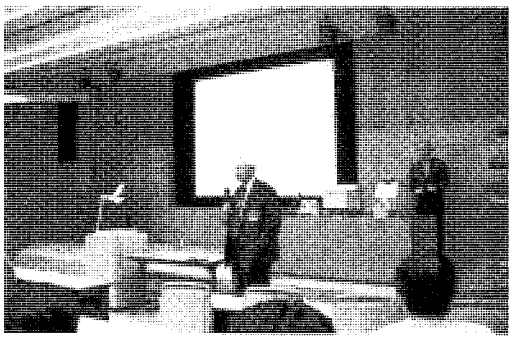
研究発表の様子



千原教授による開会挨拶



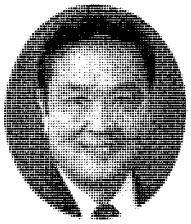
第 17 回日本エム・イー学会秋季大会および IEEE EMBS Asian-Pacific Conference on Biomedical Engineering 2003 と合同で行われた懇親会にてスピーチされる Nalecz 教授



奈良先端科学技術大学院大学における Nalecz 教授の特別講演

奈良先端科学技術大学院大学の見学会

梶　谷　文　彦（かじや　ふみひこ）
岡山大学大学院医歯学総合研究科
システム循環生理学　　教授



会議または集会名　岡山国際シンポジウム：循環フィジオーム

開催地　岡山国際交流センター

時期　平成15年12月5日～7日

1. 会議の概要

平成15年12月5日（金）より7日（日）までの3日間、岡山国際交流センターにおいて「第1回循環系フィジオーム学会」が開催され、世界6ヶ国より約200名の工学系・医学系研究者が参加した。フィジオームは、遺伝子、タンパク、細胞、臓器そして個体といった各階層での情報を統合して理解しようとする新しい試みであり、方法論としてナノ・ミクロ電子計測技術やコンピューターによるシミュレーションが重要な役割を担っている。従って今回のシンポジウムでは多岐に渡るフィールドの国内外研究者による分野融合を計った。海外からは、英国オックスフォード大学の生理学Denis Noble先生（雅子妃殿下英国御留学中のカレッジ学長）、米国ワシントン大学医用工学 James B. Bassingthwaighte先生、オランダアムステルダム大学医用工学Jos A.E. Spaan先生、韓国ソウル大学生理学Yung E Earm先生、ニュージーランドオークランド大学Nicolas Smith先生が招待講演者として参加された。国内からは国立循環器病センター研究所長：菅弘之先生、東京大学病院長：永井良三先生、慶応義塾大学先端生命科学研究所：冨田勝先生など、工学系・医学系合わせて21名の招待講演者に参加頂いた。この他に、一般演題として22のポスター発表の応募があり、活発な論議が行われた。

2. 会議のテーマと討論内容

12月5日は、オープニングレクチャーとしてDenis Noble先生の“The Heart in silico”、James B. Bassingthwaighte先生の“Interactions between Cardiac Myocytes and Endothelial Cells”で始まり、SESSION 1: Modeling of Cellular Functionsならびに General discussionが行われた。これらのセッションでは主にコンピューター技術を用いたシミュレーションにより複雑な生体機能を統合的に理解する試みが議論された。

12月6日にはSESSION 2: Functional Genomics to Physiomics及びSESSION 3: Cell Signaling and Integrationの二つのセッションが開かれ、新しい電子計測技術を用いて得られた分子・細胞レベルでのナノ・ミクロ情報を臓器・個体レベルでどのように統合し、評価するかという課題について論議された。この他に、ランチョンセミナーとして岡山大学心臓血管外科　佐野俊二教授の御講演“Remodeling of the Heart - fact or fiction ?”及びDenis Noble先生の司会による総合討論: The Future of the Physiomeが行われ、生命科学における情報の統合の重要性と、それを支える電子計

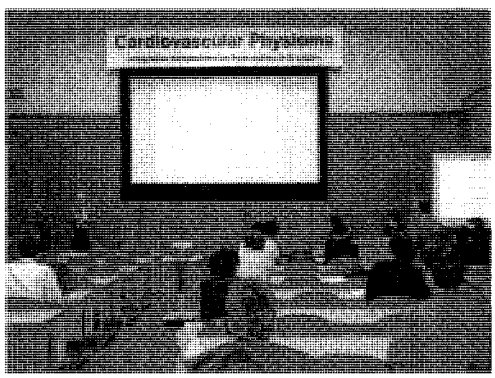
測技術との分野融合の必要性、臨床医学における科学性の重要性などが確認された。一般演題のポスターセッションでは生体微小循環可視化法やバイオセンサーの開発・応用などについての発表があり、分野横断的な技術交流を行うことができた。

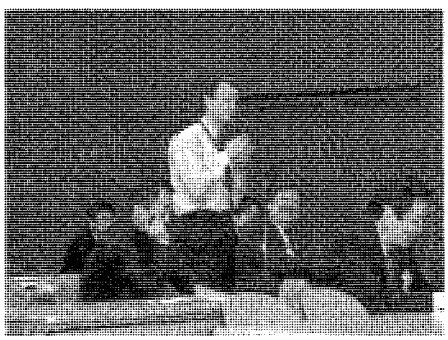
最終日の12月7日にはSESSION 4: Physiome: from Bench to Bedsideが行われた。本シンポジウムの目的である「分子・細胞レベルから臓器・個体レベルまで情報の統合を目指して」に則り、ナノ・ミクロレベルでの情報を臨床医学にどのように生かして行くかという課題について議論が行われ、電子計測技術を始めとした医用工学が人類の福祉に貢献するためには、一層の技術交流が必要であることが確認された。

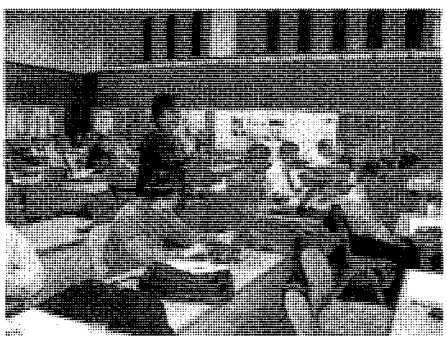
3. 会議開催の成果

近年、自然科学研究は横断的・集学的になっており、既存のカテゴリーにとらわれず研究を融合的に行うことが非常に重要となっている。私達が取り組んでいる循環系医用工学の分野でも、研究の推進のために医学・生理学系の研究者と工学系の研究者とのコミュニケーションは必要不可欠である。本シンポジウムでは、工学系・医学系の最先端の研究者を招聘し、それぞれの立場から情報統合へのアプローチを提唱して貰うことで研究分野の融合を図ることが出来た。また、新しい研究領域を創成することで我が国の電子計測技術の新しい需要を生み出し、その向上に貢献できたと考えている。

最後になりますが、本シンポジウムの趣旨を御理解頂き御後援頂いた「財団法人　中谷電子計測技術振興財団」に厚く御礼申し上げます。







技術開発に対する助成状況（金額単位：万円）

第１回（昭和５９年度）技術開発助成対象

氏　名	所　属　機　関・職　名	研　　究　　題　　目	助成金額
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	眼底の定量立体計測法の開発に関する研究	４００
神津　忠彦	東京女子医科大学 消化器内科　助教授	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	３５０
志賀　　健	愛媛大学医学部 第二生理　教授	ＴＶ画像処理による血小板凝集反応の数値解析	１５０
神野　耕太郎	東京医科歯科大学医学部 第二生理学講座　教授	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	２００
西原　　浩	大阪大学工学部 電子工学科　教授	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	２００
梶谷　文彦	川崎医科大学 医用工学　教授	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	３００

第２回（昭和６０年度）技術開発助成対象

氏　名	所　属　機　関・職　名	研　　究　　題　　目	助成金額
七里　元亮	大阪大学医学部 第一内科　助教授	Field Effective Transistorを用いたインスリン免疫センサーの開発	２８０
杉江　　昇	名古屋大学工学部 電気工学第二学科　教授	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	３００
菊地　　眞	防衛医科大学校 医用電子工学講座　教授	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	２００
船久保　熙康	東京大学工学部 精密機械工学科　教授	心臓用人工弁機能の電子計測技術システムの開発	２３０
赤澤　堅造	大阪大学工学部 電気工学科　助手	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	２００
三木　吉治	愛媛大学医学部 皮膚科　教授	高周波超音波診断装置の開発	２５０
中根　　央	東京理科大学工学部 電気工学科　助手	運動時における連続血圧測定装置の開発研究	２００
高橋　　隆	東海大学医学部 教授	水晶体混濁度測定装置の研究開発	２２０
村田　計一	東京医科歯科大学 難治疾患研究所　教授	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	２２０

第３回（昭和６１年度）技術開発助成対象

氏　名	所　属　機　関・職　名	研　　究　　題　　目	助成金額
北畠　　顕	大阪大学医学部 第一内科　講師	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	２５０

氏　名	所　属　機　関・職　名	研　　究　　題　　目	助成金額
戸川　達男	東京医科歯科大学 医用器材研究所　教授	基礎体温自動計測システムの開発	２５０
奥山　雅則	大阪大学基礎工学部 電気工学科　助教授	サーモグラフィー用室温動作赤外線撮像素子の開発	２５０
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	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	１５０
武者　利光	東京工業大学 大学院総合理工学研究科 教授	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	２００
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	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	２２０
八木　直人	東北大学医学部 第一薬理　助手	生体内における筋活動のＸ線回折法による計測技術の開発	２３０
矢崎　義雄	東京大学医学部 第三内科　講師	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	３００
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	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	２００

第４回（昭和６２年度）技術開発助成対象

氏　名	所　属　機　関・職　名	研　　究　　題　　目	助成金額
堀　　正二	大阪大学医学部 第一内科　助手	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圧計測	２３０
横地　高志	福井医科大学医学部 微生物学講座　助教授	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	１８０
岡本　卓爾	岡山大学工学部 情報工学科　教授	反射評価システムに関する開発	２３０
輕部　征夫	東京工業大学資源化学研究所 教授	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	２３０
大西　　昇	名古屋大学工学部 電気工学第２学科　講師	盲人用図面認識支援システムの研究開発	２００
新妻　　博	東北大学脳疾患研究施設 脳神経外科　講師	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	２００
巽　　典之	大阪市立大学医学部 臨床検査医学教室　講師	網赤血球計数の標準化に関する研究	１８０
滝島　　任	東北大学医学部 第一内科　教授	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	２５０
吉村　武晃	神戸大学工学部 計測工学科　助教授	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	２５０

第５回（昭和６３年度）技術開発助成対象

氏　名	所　属　機　関・職　名	研　　究　　題　　目	助成金額
星宮　　望	東北大学工学部 通信工学科　教授	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画・制御に関する研究	３００
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	冠動脈疾患の無侵襲的三次元的診断装置の開発	１５０
河盛　隆造	大阪大学医学部 第一内科　講師	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	２５０
辻岡　克彦	川崎医科大学 医用工学　助教授	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	２５０
鈴木　良次	東京大学工学部 計数工学科　教授	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―	３００
鳥脇　純一郎	名古屋大学工学部 情報工学科　教授	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	２００
山下　安雄	東海大学医学部 ＭＥ学教室　助教授	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	２００
喜多村　直	九州工業大学情報工学部 教授	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	２３０

第６回（平成元年度）技術開発助成対象

氏　名	所　属　機　関・職　名	研　　究　　題　　目	助成金額
富川　義朗	山形大学工学部 電気工学科　教授	がん温熱療法における非侵襲的患部温度計測法の研究	１５０
中鉢　憲賢	東北大学工学部 電気工学科　教授	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	２４０
上野　照剛	九州大学工学部 電気工学科　教授	脳磁図計測と脳機能局在性推定に関する研究	２２０
七里　元亮	熊本大学医学部 代謝内科学講座　教授	フーリェ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	２３０
藤居　　仁	九州工業大学情報工学部 電子情報工学教室　教授	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	２００
立川　　光	香川医科大学医学部 一般教育物理学　教務職員	連続画像の自動識別による動態機能解析	２００
千原　國宏	大阪大学基礎工学部 制御工学科　助教授	超音波による瞬時三次元情報可視化装置の開発	２５０
赤塚　孝雄	山形大学工学部 情報工学科　教授	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	２２０
渡邊　　瞭	東京大学医学部 医用電子研究施設　助教授	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	２００
升島　　努	広島大学医学部 総合薬学科　教授	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	２００

第７回（平成２年度）技術開発助成対象

氏　名	所　属　機　関・職　名	研　　究　　題　　目	助成金額
今井　　洋	九州工業大学情報工学部 電子情報工学科　助教授	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	２３０
久米　章司	山梨医科大学医学部 検査部　教授	血小板の細胞内カルシウムイオン、細胞内pHおよび凝集能の同時測定が可能な蛍光分光光度計の開発	１７０
清水　孝一	北海道大学工学部 生体工学専攻　助手	光による生体内の構造および機能情報計測法の開発	１８０
藤村　貞夫	東京大学工学部 計数工学科　教授	符号化開口ＣＴを用いた生体組織内ＲＩ分布の三次元計測	２００
都甲　　潔	九州大学工学部 電子工学科　助教授	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	１８０
今坂　藤太郎	九州大学工学部 工業分析化学講座　助教授	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	１８０
馬場　一憲	東京大学医学部 医用電子研究施設　講師	超音波像高速三次元表示システムの開発と新しい胎児診断法への応用	２５０
早川　　徹	大阪大学医学部 脳神経外科　教授	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	２２０
吉原　治正	大阪大学医学部 生理学第一講座　助手	組織の酸素圧と酸化還元電位の二次元・時系列マッピングシステムの開発	１８０
尾辻　省吾	鹿児島大学医学部 臨床検査医学講座　教授	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	２００

第８回（平成３年度）技術開発助成対象

氏　名	所　属　機　関・職　名	研　　究　　題　　目	助成金額
岡田　正彦	新潟大学医学部 検査診断学教室　教授	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	２２０
大坂　武男	東京工業大学大学院 総合理工学研究科　助教授	極微小電極ボルタンメトリーを用いる in vivo カテコールアミンセンサの開発	２２０
酒井　清孝	早稲田大学理工学部 応用化学科　教授	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	２２０
臼井　支朗	豊橋技術科学大学工学部 情報工学系　教授	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	２００
石原　　謙	国立大阪病院臨床研究部 医用工学研究室　室長	超解像超音波断層法の開発と不可視情報の可視化	２５０
菅　　弘之	岡山大学医学部 第二生理学教室　教授	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	２００
信太　克規	佐賀大学理工学部 電気工学科　教授	脳内温度分析観測のための誘電率精密測定	２００
宮保　　進	福井医科大学医学部 第三内科　教授	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	２００
荒木　　勉	徳島大学工学部 機械工学科　助教授	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	１８０

氏　名	所　属　機　関・職　名	研　　究　　題　　目	助成金額
豊岡　　了	埼玉大学工学部 応用物理学講座　教授	部分空間法による顕微分光画像解析	１８０
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	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	１８０
八幡　義人	川崎医科大学 内科学　教授	赤血球異常症診断プロトコールの研究開発	１８０

第９回（平成４年度）技術開発助成対象

氏　名	所　属　機　関・職　名	研　　究　　題　　目	助成金額
澤田　嗣郎	東京大学工学部 工業化学科　教授	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シーケンサへの応用	２００
江刺　正喜	東北大学工学部 機械電子工学科　教授	超小形集積化圧力センサの医用計測への応用	２００
濱崎　直孝	九州大学医学部 検査部　教授	赤血球内酵素の自動分析システムの開発	２００
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	遺伝子検出における電子計測技術の開発	２００
森田　龍彌	大阪大学工学部 電気工学科　助教授	相関スペクトル解析法による局部微小網膜電位の計測	２００
出口　光一郎	東京大学工学部 計数工学科　助教授	内視鏡画像による三次元形状計測	２００
宮川　道夫	新潟大学工学部 情報工学科　教授	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	２００
渡辺　清明	慶応義塾大学医学部 中央臨床検査部　講師	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―	２００
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	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	１８０
南戸　秀仁	金沢工業大学工学部 電子工学科　教授	生体のＸ線回折用高感度二次元イメージセンサシステムの開発	１５０

第１０回（平成５年度）技術開発助成対象

氏　名	所　属　機　関・職　名	研　　究　　題　　目	助成金額
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	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	２５０
金井　　浩	東北大学工学部 電気工学科　助教授	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	２２０
松田　甚一	長岡技術科学大学工学部 教授	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	２００
橋本　大定	東京警察病院 外科部長	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	２００

氏　名	所　属　機　関・職　名	研　　究　　題　　目	助成金額
丸山　征郎	鹿児島大学医学部 臨床検査医学講座　教授	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	２００
赤澤　堅造	神戸大学工学部 情報知能工学科　教授	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	２００
桐野　高明	東京大学医学部 脳神経外科　教授	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	２００
黒田　　輝	大阪市立大学工学部 電気工学科　助手	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	１８０
野口　義夫	佐賀大学理工学部 電気工学科　教授	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	１５０
増山　　理	大阪大学医学部附属病院 第一内科　医員	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	１５０
辰巳　仁史	東京医科歯科大学 難治疾患研究所　助手	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	１５０

第１１回（平成６年度）技術開発助成対象

氏　名	所　属　機　関・職　名	研　　究　　題　　目	助成金額
太田　　茂	川崎医療福祉大学医療技術部 医療情報学科　教授	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	２２０
高橋　幸郎	埼玉大学地域共同研究センター 助教授	筋電制御式完全埋め込み型機能的電気刺激装置の開発	１８０
前田　瑞夫	九州大学工学部 応用物質化学科　助教授	ＤＮＡの電極への効率的固定化と化学センサへの応用	２００
相沢　義房	新潟大学医学部 第一内科学教室　講師	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	１８０
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	三次元超音波法による心臓の動態評価と機能計測	２００
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	高生体適合性血管内留置型酸素分圧センサの開発	２００
河田　　聡	大阪大学工学部 応用物理学科　教授	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	２００
佐藤　正明	東北大学工学部 機械電子工学科　教授	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	２００
来　　関明	静岡大学工学部 電気電子工学科　助教授	電子線干渉計測と生物構造解析への応用	２００
井須　尚紀	鳥取大学工学部 知能情報工学科　助教授	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	１８０
上野　照剛	東京大学医学部 医用電子研究施設　教授	磁気刺激による生体機能測定に関する研究	２００

第１２回（平成７年度）技術開発助成対象

氏　名	所　属　機　関・職　名	研　　究　　題　　目	助成金額
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	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侵襲検知に関する研究	２５０
井口　　学	大阪大学工学部 材料開発工学科　助教授	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	２００
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	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	２００
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	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	２５０
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	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	１８０
岡田　徳次	新潟大学工学部 情報工学科　教授	頸の傾斜、回転、および回旋角測定装置の研究開発	２００
野崎　　修	近畿大学医学部 臨床病理学講座　講師	微小電極法による遊離細胞膜表面電位の測定	１８０
川上　憲司	東京慈恵会医科大学 放射線医学教室　教授	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	１８０
小林　　淳	三重大学工学部 分子素材工学科　助手	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	１８０

第１３回（平成８年度）技術開発助成対象

氏　名	所　属　機　関・職　名	研　　究　　題　　目	助成金額
春名　正光	大阪大学医学部 保健学科　教授	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	２３０
小澤　孝一郎	広島大学医学部 総合薬学科　講師	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	２００
松田　信義	川崎医科大学 検査診断学　教授	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	２００
井街　　宏	東京大学医学部 医用電子研究施設　教授	体内埋め込みが可能な微小循環観察プローブの開発	２００
津田　孝雄	名古屋工業大学工学部 応用化学科　助教授	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	１６０
松尾　裕英	香川医科学 第二内科学　教授	超音波ドプラ法による局所脈波速度計測法の新開発	１８０
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	医療用マイクロマシン型バイオセンサーシステム	２００
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	バイオミメティック有機素子を用いた血中コレストロール計測用センサーの開発	２００
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	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	２００
入交　昭彦	高知医科大学 生理学講座　教授	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	１５０

第１４回（平成９年度）技術開発助成対象

氏　名	所　属　機　関・職　名	研　　究　　題　　目	助成金額
鈴木　喜隆	国立水産大学校 食品化学科　教授	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	２００
川田　善正	静岡大学工学部 機械工学科　助教授	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	２００
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	微量試料による組織酸素消費率の燐光測定法の開発	２００
黒田　　輝	大阪市立大学工学部 電気工学科　助手	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	１７０
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	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	１８０
相津　佳永	室蘭工業大学工学部 機械システム工学科　助教授	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	１８０
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	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	１７０
佐々木　一正	北海道工業大学 応用電子工学科　教授	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	１７０
松田　哲也	京都大学医学部附属病院 医療情報部　助教授	Burst パルスを用いた超高速MRＩ法の実用化	１００
松原　広己	岡山大学医学部 循環器内科　助手	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	１００

第１５回（平成１０年度）技術開発助成対象

氏　名	所　属　機　関・職　名	研　　究　　題　　目	助成金額
南谷　晴之	慶応義塾大学理工学部 物理情報工学科　教授	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	２００
石田　英之	東海大学医学部 生理科学　講師	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三次元画像解析	１８０
清水　　章	大阪医科大学 病態検査学教室　教授	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	１８０
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	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	１５０
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	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	１６０
楠岡　英雄	国立大阪病院 臨床研究部　部長	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	１８０
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	携帯型酸素解離曲線自動解析装置の開発	１４０
野入　英世	東京大学医学部附属病院 腎臓・内分泌内科　助手	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	１６０
鈴木　政登	東京慈恵会医科大学 臨床検査医学講座　講師	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―	１７０

氏　名	所　属　機　関・職　名	研　　究　　題　　目	助成金額
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	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	１８０

第１６回（平成１１年度）技術開発助成対象

氏　名	所　属　機　関・職　名	研　　究　　題　　目	助成金額
佐藤　勝重	東京医科歯科大学医学部 生理学第二講座　助手	脱分極誘発色素を用いたlaser photo-stimulationシステムの開発と応用	２１０
石山　陽事	杏林大学保健学部 臨床生理学教室　教授	無拘束型心電図導出用パット電極センサの開発	２００
辻　千鶴子	東海大学医学部 生理科学２　講師	デァルコントラスト肺微小血管造影法の開発	１８０
枡田　晃司	愛媛大学医学部 医療情報部　助手	マイクロカプセルによる臓器の自動抽出と薬物ターゲッテイ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	２００
熊谷　俊一	神戸大学医学部 臨床検査医学講座　教授	血球計数器による抹消血および採取幹細胞分画での幹細胞簡便計測法の確立	１７０
田中　三郎	豊橋技術科学大学工学部 エコロジー工学系　助教授	乳癌にともなうリンパ節生検用トレース装置の開発	１８０
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	超高速超音波立体イメージングに関する研究	１６０
萩原　正敏	東京医科歯科大学 難治疾患研究所　教授	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	１５０
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	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三次元局所空間分子分光分析	１８０
岩田　哲郎	徳島大学工学部 機械工学科　　助教授	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	１５０

第１７回（平成１２年度）技術開発助成対象

氏　名	所　属　機　関・職　名	研　　究　　題　　目	助成金額
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	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	２００
近江　政雄	金沢工業大学 人間情報システム研究所 教授	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	２００
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	超小型表面プラズモン光ファイバ生化学センサの作製	２００
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	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	２００

氏　名	所　属　機　関・職　名	研　　究　　題　　目	助成金額
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	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	２００
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	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	２００
日野田　裕治	山口大学医学部　臨床検査医学講座　教授	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	２００
山越　憲一	金沢大学工学部　人間・機械工学科　教授	携帯型循環動態連続計測システムの開発研究	２００
山名　一成	姫路工業大学工学部　応用化学科　助教授	アントラキノン－ＤＮＡ修飾電極によるＤＮＡセンシング	２００

第１８回（平成１３年度）技術開発助成対象

氏　名	所　属　機　関・職　名	研　　究　　題　　目	助成金額
中村　真人	東京医科歯科大学　生体材料工学研究所　生体システム分野　助教授	無侵襲血糖計測の新手法―ハイスピード・エリプソメトリーによる生体偏光脈波の計測	２５０
安井　武史	大阪大学大学院基礎工学研究科　システム人間系専攻　助手	ＴＨｚ時間領域分光法を用いた高機能皮膚診断法の開発 ―角質層の水分量と厚さの同時測定―	２２０
北島　勲	富山医科薬科大学医学部　臨床検査医学講座　教授	転写因子ＮＦ－κＢ活性化測定ＤＮＡチップ開発によるエンドトキシンショック迅速診断	２００
船津　高志	早稲田大学理工学部　物理学科　助教授	シャペロニンによるタンパク質折れたたみ機構の１分子蛍光イメージング	２００
六車　仁志	芝浦工業大学工学部　電子工学科　助教授	真空一貫プロセスで作製する銀を利用した表面プラズモン共鳴ﾊﾞｲｵｾﾝｻｰ用チップ	２００
高松　哲郎	京都府立医科大学　第２病理学教室　教授	多層観察型リアルタイム共焦点蛍光顕微鏡の開発	１８０
鈴木　隆文	東京大学国際・産学共同研究センター　医用分野　助手	自律神経系信号による人工心臓制御システムの開発	１８０
熊谷　正朗	東北大学大学院工学研究科　機械電子工学専攻　助手	回転磁界と差動磁界を用いた生体運動計測装置の開発	１００
山本　克之	北海道大学大学院工学研究科　システム情報工学専攻　教授	近赤外分光法を用いた筋組織酸素濃度の実時間イメージングと筋代謝の定量評価	１５０
正宗　賢	東京電機大学理工学部　生命工学科　講師	三次元医用画像投影システムにおける精度評価のための計測手法に関する研究	１５０
秀　道広	広島大学医学部　皮膚科学講座　教授	表面プラズモン共鳴バイオセンサ(SPR)による細胞機能測定技術の開発	１５０

第１９回（平成１４年度）技術開発助成対象

氏　名	所　属　機　関・職　名	研　　究　　題　　目	助成金額
伊藤　聡志	宇都宮大学工学部　情報工学科　助教授	回折理論を応用した磁気共鳴映像法の研究	２２０

氏　名	所　属　機　関・職　名	研　　究　　題　　目	助成金額
山田　憲嗣	広島市立大学情報科学部 情報機械システム工学科 助手	複眼光学系を利用した超小型・薄型三次元内視鏡の開発と三次元表示系への展開	２５０
染谷　隆夫	東京大学先端科学技術研究センター　物質デバイス大部門 極小デバイス分野　助教授	カーボン・ナノチューブを用いたバイオセンサによる単一生体分子の検出	２００
稲垣　正司	国立循環器病センター研究所 循環動態機能部 機能評価研究室　室長	拍動心臓での記録が可能な光学的心筋活動電位マッピングシステムの開発	２００
坂口　浩司	静岡大学電子工学研究所 画像電子システム部門 助教授	生体ナノスケール電気計測技術の開発と応用	２００
石原　美弥	防衛医科大学校 医用電子工学講座　助手	関節軟骨の新しい非侵襲的粘弾性計測システムの開発	２００
前川　真人	浜松医科大学医学部 臨床検査医学講座　教授	ＡＰ－ＰＣＲ－ＳＳＣＰ法による遺伝子多型の網羅的探索法の研究	２００
灰田　宗孝	東海大学医学部 生体構造機能系生理科学 助教授	眼球情報の定量的解析に基づく脳・神経系疾患の診断技術に関する研究	２００
白木　賢太郎	北陸先端科学技術大学院大学 材料科学研究科　助手	アミロイド型疾患因子となるタンパク質線維への誘導とその定量システムの構築	１５０
井出　英人	青山学院大学理工学部 電気電子工学科　教授	運動関連脳電位による意図・情動伝達代行システム	１５０

年　度	贈呈式年月日	助成件数	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 2 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
平成 12 年度	平成 13 年 2 月 23 日	9 件	1,800 万円
平成 13 年度	平成 14 年 2 月 22 日	11 件	1,980 万円
平成 14 年度	平成 15 年 2 月 21 日	10 件	1,970 万円
平成 15 年度	平成 16 年 2 月 27 日	10 件	2,000 万円
累計		194 件	38,960 万円

技術交流に関する助成状況

1．派遣

昭和６０年度技術交流（派遣）助成対象

氏　名	所属機関・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 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
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

昭和６１年度技術交流（派遣）助成対象

氏　名	所属機関・職名	会　議　名	開催地	時　期
柴田　昭	新潟大学医学部 教授	第 21 回国際血液学会	オーストラリア シドニー	昭和 61 年 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	第８回 IEEE 医用生体工学国際会議	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

昭和６２年度技術交流（派遣）助成対象

氏　名	所属機関・職名	会　議　名	開催地	時　期
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	昭和 62 年 7月

氏　名	所属機関・職名	会　議　名	開催地	時　期
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
三輪　史朗	(財)冲中記念成 人病研究所　所長	第6回国際血液学アジア太平 洋域会議	インド ボンベイ	12月

昭和６３年度技術交流（派遣）助成対象

氏　名	所属機関・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
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
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
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

平成元年度技術交流（派遣）助成対象

氏　名	所属機関・職名	会　議　名	開催地	時　期
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	平成元年 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
菊池　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	第11回IEEE医用生体工学国際 会議	アメリカ シアトル	11月
大西　昇	名古屋大学工学部 助教授	第11回IEEE医用生体工学国際 会議	アメリカ シアトル	11月

平成２年度技術交流（派遣）助成対象

氏　　名	所属機関・職名	会　　議　　名	開催地	時　期
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
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

平成３年度技術交流（派遣）助成対象

氏　　名	所属機関・職名	会　　議　　名	開催地	時　期
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	平成３年 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

平成４年度技術交流（派遣）助成対象

氏　名	所属機関・職名	会　議　名	開催地	時　期
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	平成４年 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　主任研究員	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 ヴェルツブルグ	９月
小笠原　康夫	川崎医科大学 講師	第14回 IEEE 医用生体工学国際会議	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 ビューストン	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

平成５年度技術交流（派遣）助成対象

氏　名	所属機関・職名	会　議　名	開催地	時　期
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	平成５年 ６月
猪狩　　淳	順天堂大学医学部 教授	弟 18 回国際化学療法学会	スェーデン ストックホルム	７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
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　　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
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
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
清水　　章	大阪医科大学医学部　教授	弟 15 回国際臨床化学会議	オーストラリア メルボルン	11 月
岡部　紘明	熊本大学医学部 教授	第 15 回国際臨床化学会議、第６回アジア･太平洋臨床化学会議	オーストラリア メルボルン	11 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
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

氏　名	所属機関・職名	会　議　名	開催地	時　期
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
中山　貫	計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

平成６年度技術交流（派遣）助成対象

氏　名	所属機関・職名	会　議　名	開催地	時　期
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	平成 6 年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	医用物理生体工学世界会議	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	医用物理生体工学世界会議	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	計量研究所量子部精密測定研究室長	第４回ｼﾞｮｲﾝﾄﾅﾉﾃｸﾉﾛｼﾞｰｼﾝﾎﾟｼﾞｳﾑ及び国際自動制御会議	イギリスロンドン	9月
熊野　和雄	北里大学医学部講師	第 15 回国際腹膜透析学会	アメリカボルチモア	平成 7 年2月

平成７年度技術交流（派遣）助成対象

氏　名	所属機関・職名	会　議　名	開催地	時　期
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	平成 7 年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レ	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レ	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

平成８年度技術交流（派遣）助成対象

氏　名	所属機関・職名	会　議　名	開催地	時　期
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ﾊﾟﾜｰｴﾚｸﾄﾛﾆｸｽｽﾍﾟｼｬﾘｽﾄ	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 ニューハンプシヤー	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

平成９年度技術交流（派遣）助成対象

氏　名	所属機関・職名	会　議　名	開催地	時　期
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回米国臨床化学会議	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 ダニーデイン	11月

平成10年度技術交流（派遣）助成対象

氏　名	所属機関・職名	会　議　名	開催地	時　期
岡田　徳次	新潟大学工学部 教授	ロボティクスと自動化に関する電気電子学会国際会議	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

平成11年度技術交流（派遣）助成対象

氏　名	所属機関・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

平成 12 年度技術交流（派遣）助成対象

氏　名	所属機関・職名	会　議　名	開催地	時　期
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	平成 12 年 4月
岩佐　章夫	電子技術総合研究 所基礎計測部 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
ハッサン　M Dモイヌディ ン	東京医科歯科大学 生体材料工学研究 所　大学院生	国際医用物理生体工学会議シカゴ 2000	アメリカ シカゴ	7月
谷口　慶治	福井大学 名誉教授	IEEE 信号処理部会主催 2000 年度画像処理に関する国際会議	カナダ バンクーバー	9月
清島　満	岐阜大学医学部臨 床検査医学　教授	第 73 回米国心臓学会学術集会	アメリカ ニューオリンズ	11 月
入部　玄太郎	岡山大学大学院医 歯学総合研究科シ ステム循環整理学 助手	実験生物学会 2001	アメリカ オーランド	平成 13 年 3～4月

平成 13 年度技術交流（派遣）助成対象

氏　名	所属機関・職名	会　議　名	開催地	時　期
井出　利英	明治大学大学院理 工学研究科 大学院生	第 4 回窒化物半導体国際会議	アメリカ デンバー	平成 13 年 7月
清岡　崇彦	岡山大学大学院医 歯学総合研究科シ ステム循環生理学 大学院生	左心室 - 容積ループ（PV—LOOPS）国際シンポジウム	オランダ マーストリヒト	平成 14 年 1月

平成 14 年度技術交流（派遣）助成対象

氏　名	所属機関・職名	会　議　名	開催地	時　期
田中　三郎	豊橋技術科学大学 助教授	超伝導応用国際会議（ASC 2002）	アメリカ ヒューストン	平成 14 年 8月
柴田　政廣	東京大学大学院医 学系研究科　講師	第 22 回欧州微小循環学会議	イギリス エクスター	8月

2．招聘

昭和 60 年度技術交流（招聘）助成対象

氏　名	所属機関・職名	被招聘者	会議名	開催地	時期
財団事務局 で招聘		Reinhard Thom 教授（西独）	血液電子計測研究会	東京	昭和 60 年 11 月

平成12年度技術交流（招聘）助成対象

氏　名	所属機関・職名	被招聘者	会議名	開催地	時期
神谷　瞭	日本大学本部グローバルビジネス研究科　教授	Sun I.Kim 教授　他3名（韓国）	第39回日本エム・イー学会大会日韓合同ｾｯｼｮﾝ、他	東京	平成12年5月
望月　精一	川崎医療短期大学臨床工学科助教授	Walter H.Chang 教授（台湾）	第39回日本エム・イー学会大会日韓合同ｾｯｼｮﾝ、他	東京、神戸、他	5月
巽　典之	大阪市立大学医学部臨床検査医学教室　教授	１３名（内訳、ｲﾝﾄﾞﾈｼｱ2名、韓国5名、ﾌｨﾘｯﾋﾟﾝ2名、ｼﾝｶﾞﾎﾟｰﾙ1名、ﾀｲ3名）	臨床検査の標準化に関する第2回アジア会議	神戸	10月

平成13年度技術交流（招聘）助成対象

氏　名	所属機関・職名	被招聘者	会議名	開催地	時期
戸川　達男	東京医科歯科大学生体材料研究所教授	Piotr Foltynskyﾊﾞｲｵｻｲﾊﾞﾈｨｸｽ医用生体工学研究所高等研究員（ポーランド）	発汗計測ﾜｰｸｼｮｯﾌﾟ、第9回日本発汗学会総会、他	東京	平成13年7～9月
齋藤　正男	東京電機大学工学部　教授	王明時　天津大学ME研究所所長　他1名（中国）	第15回日本エム・イー学会秋季大会、ＴＤＵ日中ＭＥ学術交流懇談会、他	東京	11～12月

平成14年度技術交流（招聘）助成対象

氏　名	所属機関・職名	被招聘者	会議名	開催地	時期
前川　真人	浜松医科大学医学部　教授	Steven Shoei-Lung Li 教授（台湾）	国際酵素学会浜松会議	浜松	平成14年10月
浅野　茂隆	東京大学医科学研究所　教授	Suthat Fucharoen 教授（タイ）他、ｼﾝｶﾞﾎﾟｰﾙ1名、中国5名、韓国4名、台湾5名	アジア血液連合第1回総会及びシンポジウム	神戸	平成15年3月

3．会議等

昭和62年度技術交流（会議等）助成対象

氏　名	所属機関・職名	会議名	開催地	時期
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	昭和62年8月

平成2年度技術交流（会議等）助成対象

氏　名	所属機関・職名	会議名	開催地	時期
吉本　千禎	北海道大学　名誉教授	第1回極東医用生体工学会議	東京	平成2年10月

平成13年度技術交流（会議等）助成対象

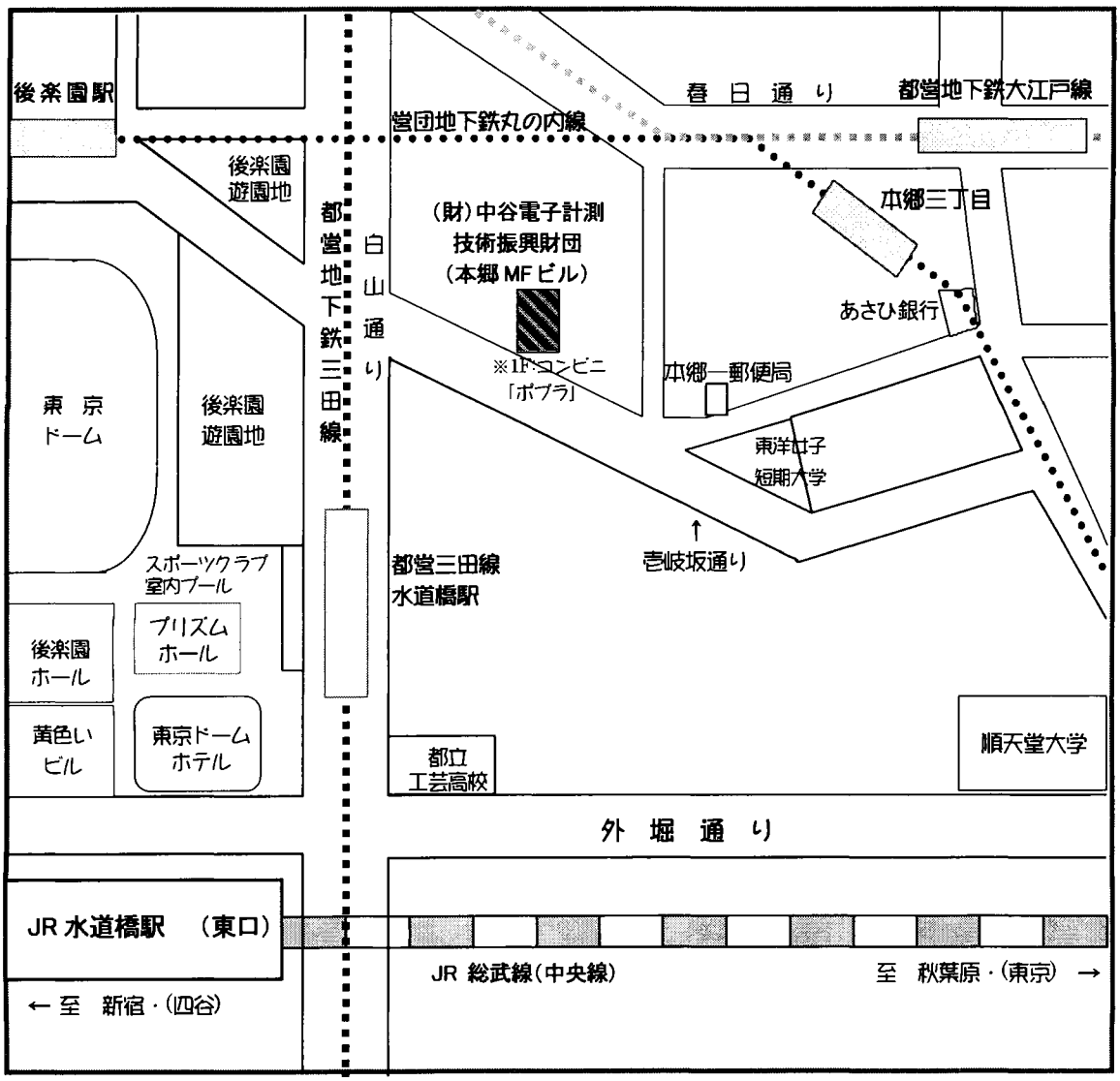
氏　名	所属機関・職名	会議名	開催地	時期
原　　宏	兵庫医科大学輸血部 教授　細胞移植部長	第43回日本臨床血液学会総会	神戸	平成13年 11月
内山　明彦	早稲田大学理工学部電子情報通信学科　教授	第15回日本エム・イー学会秋季大会	東京	12月
上野　照剛	東京大学大学院医学系研究科　教授	第6回ＭＥフォーラム	東京	平成14年 1月
軽部　征夫	東京大学先端科学技術研究センター　教授	バイオエレクトロニクス及びバイオテクノロジーに関する国際会議	東京	3月

平成14年度技術交流（会議等）助成対象

氏　名	所属機関・職名	会議名	開催地	時期
土肥　健純	東京大学大学院情報理工学系研究科　教授	第5回医用画像工学及びコンピュータ外科国際会議	東京	平成14年 9月
前川　真人	浜松医科大学医学部 教授	国際酵素学会浜松会議	浜松	10月
野瀬　善明	九州大学大学院医学研究院　教授	第16回日本エム・イー学会秋季大会	神戸	11月

財団法人中谷電子計測技術振興財団　御案内図

JR 水道橋駅東口から徒歩約 10 分、都営地下鉄三田線・水道橋駅 A6 出口から徒歩 5 分、
営団地下鉄丸の内線・後楽園駅から徒歩約 7 分、本郷 3 丁目駅から徒歩約 8 分、
都営大江戸線・本郷三丁目駅から徒歩 12 分



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 1 丁目 24 番 1 号　本郷ＭＦビル

電話　０３－５６８９－３９３３

ＦＡＸ　０３－５６８９－３９３６

財団法人 中谷電子計測技術振興財団　年報

18号(二十周年)

平成16年8月15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　村　上　浩　一

印刷　(有)盛光印刷