ISSN 0914-2487

財団法人中谷電子計測技術振興財団

年　報 vol. 23

Annual Report　2009

Nakatani Foundation of Electronic Measuring Technology Advancement

23　号

財団法人中谷電子計測技術振興財団

年　報

23　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 20 年度事業概要 …… 4
Ⅰ 技術開発に対する助成事業 …… 4
Ⅱ 調査研究に対する助成事業 …… 5
Ⅲ 技術交流に関する支援事業 …… 5
Ⅳ 電子計測技術に関する情報の収集及び提供 …… 5
Ⅴ 表彰事業 …… 5
平成 20 年度贈呈式 …… 7
平成 18 年度（第 23 回）技術開発助成成果報告 …… 11
平成 20 年度技術交流助成成果報告 …… 128
技術開発に対する助成状況 …… 136
調査研究に対する助成状況 …… 152
技術交流に対する助成状況 …… 153

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

役員

理 事 長
菅　野　剛　史　浜松医科大学名誉教授
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　早稲田大学理工学術院教授　東京大学名誉教授
輕　部　征　夫　東京工科大学学長　東京大学名誉教授
熊　谷　俊　一　神戸大学大学院医学系研究科教授
中　谷　　正
和　歌　光　雄
監　　事
秋　山　純　一　多摩大学名誉教授（公認会計士）
國　生　　肇　國生肇弁護士事務所（弁護士）

評議員

川　越　裕　也　東大阪市立中央病院名誉院長
齋　藤　正　男　東京大学名誉教授
八　幡　義　人　川崎医科大学名誉教授
戸　川　達　男　早稲田大学人間総合研究センター客員研究員
渡　辺　清　明　NPO 法人東京臨床検査医学センター所長　慶應義塾大学名誉教授
佐　藤　俊　輔　藍野大学医療保険学部教授　大阪大学名誉教授
雪　本　賢　一　シスメックス株式会社取締役・専務執行役員
林　　正　好　シスメックス株式会社取締役・常務執行役員

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して支援します。
■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。
■電子計測技術分野における技術開発に顕著な業績をあげた研究者の表彰
　電子計測技術分野における技術開発の飛躍的な発展を期して、顕著な業績をあげた研究者の表彰を行います。

特定公益増進法人　当財団は 2009 年 2 月に経済産業大臣より「特定公益増進法人」の認定を受けています。

平成 20 年度事業概要

我が国の経済は、世界的な経済悪化の中で、これまでにない不況状態となっております。また社会の構造的な問題として、少子化や高齢化、そして階層化の拡大など、大きな課題も多く、閉そく感がただよっています。このような状況に対応していくためには、経済社会全体の拡大と変革を同時に達成していくことが必要ですし、そのためにも、新たな先導的産業を創出する科学技術の促進は、ますますその重要性が増してきております。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は大変重要であります。

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 20 年度においても次の諸事業を実施いたしました。

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ります。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ました。

１．募　　集

電子計測技術は極めて広汎な分野に亘りますが、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おります「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いました。また、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ました。

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（鈴木良次委員長他 7 名で構成）の委員により、各大学等から応募のあった 22 件（開発研究 16 件、奨励研究 6 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 13 件（開発研究 8 件、奨励研究 5 件）を選出いたしました。

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 13 名の研究者に対して、平成 21 年 2 月 27 日（金）世界貿易センタービル浜松町東京會舘において技術開発助成金（総額 1,800 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いたしました。

第25回（平成20年度）技術開発研究助成金贈呈者（敬称略・順不同）

開発研究助成　　単位：万円

氏　名	所 属 機 関・職	研 究 題 目	助成金
桂　　進司	群馬大学大学院工学研究科 環境プロセス工学専攻　教授	ＤＮＡ修復反応の１分子観察系の構築	２００
冨永　昌人	熊本大学大学院自然科学研究科 複合新領域科学専攻　助教	細胞内活性評価のための酵素固定化ナノセンサ電極の開発	２００
角田　直人	九州大学大学院工学研究院 エネルギー量子工学部門　准教授	細胞への物質注入と電位測定のためのマイクロピペット電極の作製と応用	２００
木竜　　徹	新潟大学大学院自然科学研究科 人間支援科学専攻　教授	マルチ時間スケールな自律神経調整機能から観た一人称視点映像効果の評価	２００
丸　　浩一	群馬大学大学院工学研究科 電気電子工学専攻　助教	石英系ガラス平面光波回路を用いた生体計測用反射型屈折率センサの開発	２００
吉見　靖男	芝浦工業大学工学部 応用化学科　准教授	分子インプリント高分子を用いた血糖値監視用グルコースセンサ	１００
飯室　勇二	兵庫医科大学 消化器外科・肝胆膵外科　准教授	流体シミュレーションとドップラーエコーからの肝循環圧測定法の開発	１００
西山　道子	創価大学工学部 情報システム工学科　助教	ヘテロコア光ファイバによる脈拍や呼吸の無拘束・無意識生体計測	１００

奨励研究助成

氏　名	所 属 機 関・職	研 究 題 目	助成金
伊野　浩介	東北大学大学院環境科学研究科 自然共生システム学講座　助教	誘電泳動を用いたマイクロロッド回転による腫瘍マーカー検出用小型デバイスの開発	１００
荒船　龍彦	独立行政法人産業技術総合研究所 人間福祉医工学研究部門治療支援技術グループ　特別研究員	低温除細動における点電極通電刺激誘発興奮伝播現象の解析	１００
吉本　則子	山口大学工学部 応用化学科　助教	水晶振動子によるヒドロキシアパタイト粒子の環境応答型生体分子認識機構の解析	１００
中山　仁史	高松工業高等専門学校 電気情報工学科　助教	加速度センサを用いた騒音に頑健な骨伝導ー音声マイクロフォンの開発	１００
富丸　慶人	大阪大学大学院医学系研究科 外科学講座消化器外科学 大学院生	蛍光蛋白標識による骨髄由来幹細胞の発癌および癌幹細胞ニッチ形成への関与の同定	１００

技術開発研究助成金総額　　１，８００万円

Ⅱ．調査研究に対する助成事業

生体に関する電子計測技術分野には様々な課題が存在しており、その調査研究を実施して得た成果を広く社会で活用するための助成事業は重要な意義を有しております。下記の研究は平成 20 年度から実施することになりましたが、予算措置の関係で贈呈式では平成 21 年度の助成金を授与しました。

氏　名	所属機関・職名	研究題目	研究期間
野口 眞三郎	大阪大学大学院医学系研究科 乳腺内分泌外科　教授	OSNA 法による乳癌センチネルリンパ節転移診断の臨床的意義に関する調査研究	平成 20～22 年度

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てきております。平成 20 年度は、技術交流に関して以下の事業について助成を行いました。

１．派遣

氏　名	所属機関・職名	会議名	開催地	時期
望月　精一	川崎医療福祉大学・医療技術学部・臨床工学科　教授	第 13 回国際バイオレオロジー学会・第 6 回国際臨床ヘモレオロジー学会	米国ペンシルベニア州ステートカレッジ	平成 20 年 7 月

２．招聘

氏　名	所属機関・職名	被招聘者	会議名	開催地	時期
浅野 茂隆	早稲田大学理工学術院先端システム医生物工学研究室　教授	Willem Fibbe 欧州血液連合会長(ｵﾗﾝﾀﾞ)他、ﾄﾞｲﾂ１名、ｼﾝｶﾞﾎﾟｰﾙ１名、ﾀｲ１名、韓国２名	第 5 回アジア血液学連合総会	神戸ポートピアホテル会議場	平成 21 年 2 月

３．会議等

氏　名	所属機関・職名	会議名	開催地	時期
前川 真人	浜松医科大学医学部・臨床検査医学　教授	第 48 回日本臨床検査化学会年次学術集会	静岡県浜松市	平成 20 年 8 月

Ⅳ．電子計測技術に関する情報の収集及び提供

生体に関する電子計測技術関連の情報について広汎な利用をはかるため、当財団の研究助成事業および技術交流事業による成果等、財団の事業活動を取りまとめて年報を作成し、広く関係機関に提供しました。

Ⅴ．表彰事業

生体に関する電子計測技術分野における技術開発の飛躍的な発展を期し、顕著な業績をあげた研究者の功績を讃えることを目的とした中谷賞を新たに設け、その対象者を公募した結果 6 名の推薦を受け、厳正に審査を行って表彰候補者を決定し、贈呈式にて第１回中谷賞を授与いたしました。

氏　名	所属機関・職名	研究題目	賞金(万円)
金井　　浩	東北大学大学院工学研究科 電子工学専攻　教授	超音波マイクロスコープの開発と生体組織性状診断への応用に関する研究	３００

平成 20 年度贈呈式

ご挨拶をする菅野理事長

審査経過を報告する鈴木審査委員長

贈呈書の授与

研究の発表

上段左から、丸、吉見、中山、富丸、角田、桂、冨永
下段左から、飯室、吉本、鈴木、菅野、金井、家次、西山、荒船、伊野

記念懇親会

ご挨拶をする家次専務理事

ご祝辞をのべられる谷情報通信機器課課長補佐

乾杯の音頭をとられる川越評議員

sysmex
第1回 中谷賞
東北大学大学院工学研究科
教授 金井浩殿
あなたは「超音波マイクロスコープの開発と生体組織性状診断への応用に関する研究」において優れた成果を上げられ、我が国の生体計測技術の発展に顕著な貢献をされましたここにその功績を讃えるため新たに創設した中谷賞を授与いたします
平成21年2月27日
財団法人中谷電子計測技術振興財団
理事長 菅野剛史

第１回中谷賞の楯

平成１８年度（第２３回）
技 術 開 発 助 成 成 果 報 告

１． 耐ノイズ性を考慮した高精度な表面筋電位計測システムの研究
（公立はこだて未来大学　戸田真志）――――――――――――――――――――――――――――――――――12

２．磁気トルク負荷を用いた細胞活性の低侵襲診断法の開発
（千葉大学　岩坂正和）――23

３．圧電マイクロ３次元振動デバイスによる生体細胞の内部ストレス計測と損傷治療法
（山形大学　小沢田正）――30

４．real-time PCR 法を用いた迅速な敗血症起因菌同定システムの構築に関する研究
（富山大学附属病院　仁井見英樹）――――――――――――――――――――――――――――――――――42

５．超音波による組織粘弾性３Ｄマイクロスコープの開発
（筑波大学大学院　椎名毅）――――――――――――――――――――――――――――――――――――――57

６．マイクロ波イメージングによる初期乳癌検診法の確立
（静岡大学　桑原義彦）――65

７．インピーダンス測定法を用いた新しい骨癒合判定法の確立と携帯型測定器の開発
（京都府立医科大学大学院　金郁喆）――――――――――――――――――――――――――――――――79

８． ＭＲＩを用いた生体インピーダンスの非侵襲・高分解能画像計測
（東京大学大学院　関野正樹）――――――――――――――――――――――――――――――――――――84

９．SPring-8 放射光を用いた小動物用４次元ＣＴシステムの開発
（理化学研究所　世良俊博）――――――――――――――――――――――――――――――――――――95

１０．レーザー変位計を用いた皮膚表面振動測定による力調節能力評価
（大分県立看護科学大学　吉武康栄）――――――――――――――――――――――――――――――――101

１１．医用材料の迅速評価に用いる表面因子アレイチップの作製とその測定システムの開発
（広島大学大学院　平田伊佐雄）――――――――――――――――――――――――――――――――――111

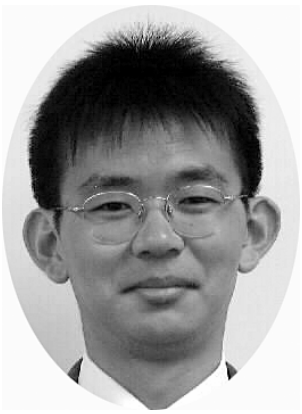
１２．磁性フラーレンとデンドリマーポルフィリンの複合化による高機能ＭＲＩ造影剤の設計
（東京大学大学院　田代健太郎）――――――――――――――――――――――――――――――――――118

１３．ウエアラブル化学センサを用いた非侵襲生体情報モニタリングに関する研究
（東京医科歯科大学　工藤寛之）――――――――――――――――――――――――――――――――――123

注１　顔写真は研究責任者です。

注２　本成果報告は平成 18 年度の助成金の贈呈に基づき、平成 19 年度に実施され、平成 20 年９月までに執筆された研究成果です。

耐ノイズ性を考慮した高精度な表面筋電位計測システムの研究



研究責任者　公立はこだて未来大学　システム情報科学部
准教授　戸田真志
共同研究者　金沢大学　工学部　准教授　秋田純一
公立はこだて未来大学　システム情報科学部
准教授　櫻沢繁

１．はじめに

生体情報の継続的な取得は、ウェアラブルコンピュータシステムの有効な応用分野の1つであると期待されている[1]。生体情報の中でも、特に皮膚表面にとりつける電極によって測定される表面筋電位信号（以下、筋電位信号と記す）は、ユーザの動作と密接に関連することから、ユーザインタフェース[2, 3, 4, 5]、運動の解析[6, 7, 8, 9, 10, 11]、福祉機器[12, 13, 14] 等への幅広い応用が期待されている。一般に筋電位信号は微弱であるため、その測定では、特にハムノイズなどの外来ノイズの除去が極めて重要である。このノイズ除去には、通常は人体を回路の基準電位（GND）に接続する人体アース法が用いられるが、この方法ではノイズを完全に除去することは困難であり、例えば「ユーザが動こうとする」瞬間を捉えるために必要な、指が数mm動く動作のような微弱な筋電位の測定は事実上不可能である。

一方、複数の箇所の筋電位信号を同時に計測する多点同時計測は、ユーザインタフェースへの応用の観点から有用であると考えられる。特に筋電位信号の高精度かつ多点同時計測技術は、多様な応用分野への展開が期待できる。例えば、人間の手と同程度の複雑さや精密さを有する筋電義手の実現や、運動生理学分野で要望の大きい、筋の個々の運動単位（MU:Motion Unit）の分離と機能解析といった課題[15] に対しても有効であると考えられる。

しかし従来の筋電位計測システムでは、測定信号を伝送する煩雑なケーブル、あるいは無線通信装置を用いる場合でもバッテリの交換の問題が必然的に存在するために、筋電位信号をユーザの行動を制限しない状態で継続的に測定することが困難であり、結果として筋電位信号の応用分野が制限されることとなる。

著者らは従来より、導電性をもつ布を用いた衣服（導電性衣服）をユーザが着用し、これを平面電極として用いることで、ウェアラブルコンピュータシステムの本質的な問題点である、煩雑なケーブルと、装着するデバイスへの電力供給方法の両者を解決することができるシステム TextileNet を提案してきた[16]。しかし TextileNet システムで用いる導電布は、その高い電気導電率から静電シールドの効果をもつことが期待される。

本稿では、導電性衣服を用いることでケーブルと電力供給の問題を解消しつつ、さらにその静電シールド効果によって、筋電位信号を低ノイズ・

高精度に、同時に多点で計測することができるシステムを提案し、その実装について述べる。またそのノイズ除去効果と多点計測に関して評価を行った結果を述べる。

２．導電性衣服を用いた筋電位計測システム

２．１　導電布と外来ノイズ除去効果

一般に筋電位などの微弱な生体信号の計測は、商用電源に由来するハムノイズなどの外来ノイズの影響を受けやすく、これらの除去は生体信号の高精度な計測のために極めて重要である。ハムノイズ除去のためには、一般に人体の一部を回路の基準電位（GND）に接地（アース）する方法が一般的であり、例えば腕の筋電位測定では、筋電位の影響を受けにくい手首の骨（尺骨茎状突起）付近に接地電極をとりつける方式がよく用いられる[17]。しかしこの方式では、接地電極と筋電位測定箇所との間の人体が拾うハムノイズを除去することは不可能であり、例えば指を数mm 動かすだけの運動に伴う筋電位や、体を動かさずに力を入れた状態での筋電位のような微弱な筋電位信号を測定することは不可能である。このような微弱な筋電位の測定には、従来は銅網などを用いた静電シールドルームを用いる[18] のが一般的であった。しかし静電シールドルームは可搬性が低いために、実験室での固定した環境での計測に制限され、例えばスポーツ選手がフォーム改善のために実際の運動中の筋電位情報を取得することは不可能である。

一方、ハムノイズの周波数をカットオフ周波数とする帯域阻止フィルタ（ノッチフィルタ）を用いる方法は、ハムノイズを除去するために有効であるが、測定対象の筋電位信号の中のその周波数成分も除去されてしまい、またカットオフ周波数の前後で信号の位相がほぼ180 度変化するため、時間領域での信号の波形が崩れてしまう。これは表面筋電位信号から、筋自体の活動を独立要素解析（ICA）などの信号処理によって求める[19] 際には問題となる。

一方、TextileNet システムで用いる導電布は、その小さい表面抵抗から、静電シールド効果をもつと考えられる。すなわち導電性衣服を着用したユーザは、いわば全身に密着するシールドルームを着用している状態とみなすことができ、微弱な筋電位の測定が可能であると考えられる。さらにTextileNet システムが本来もつ、煩雑なケーブルの解消、および個々の機能デバイス（筋電位測定おける筋電位アンプ等）のバッテリの交換が不要、という特長は保たれるため、高精度な多点筋電位測定システムが実現可能であると考えられる。

２．２　システム構成

本稿で提案する、導電性衣服を用いる高精度・多チャンネル筋電位計測システムの構成を図1に示す。本システムは、利用者が着用する導電性衣服と、導電性衣服上に装着された複数の筋電位取得装置EAQ、および1 つのデータ収集装置DAQからなる。

導電性衣服は2 枚の導電布で絶縁布を挟んだ構造をとり、両面の導電布には裏面の人体側をGNDとして5V 程度の直流電圧が印加され、これが後述の筋電位取得装置EAQ への供給電力となる。筋電位取得装置EAQ は筋電位アンプEAMP と無線通信部COMM からなり、導電布から電力供給を受けて動作する。導電性衣服の裏面に位置する筋電位アンプEAMP は、人体表面に接する2 つの電極から取得する筋電位の差分を4000 倍に増幅する。無線通信部COMM は筋電位アンプからの信号を1k[sample/s] で取得し、無線機（2.4GHz 帯・最大伝送速度1Mbps）を用いて送信する。

データ取得装置DAQ は、各筋電位取得装置EAQからの信号を記録・処理する。

以上のような構成により、筋電位取得に必要な各装置への電源供給は導電性衣服を通して行うことができるため、各装置は個別にバッテリを持つ必要がなく、また身体上にはケーブルをおく必要がないため、運動時にも有効な筋電位測定システムとなる。

なお従来のTextileNet システムを用いることで、原理的には筋電位信号の送受信を導電性衣服上の通信によって行うことが可能である。しかし現行のTextileNet システムが試作段階であるためにデータ通信速度が9600[bps] と低速であり、多点の筋電位信号を収集する通信速度を確保できない。またTextileNet システムにおける導電性衣服上での通信は、導電性衣服表面の電位変化によって行われるが、これが筋電位計測の際の新たにノイズ源となる可能性がある。以上の2 点の理由から、本システムでは導電性衣服を電力供給とノイズ除去シールドにのみ用い、筋電位信号の送受信を無線で行う方式を採用した。なお筋電位信号の送受信を導電性衣服上で行う方式に関する議論は4 節で行う。

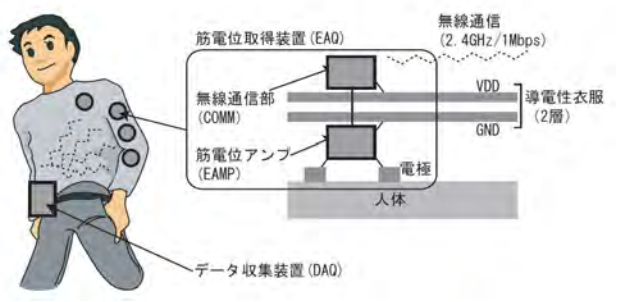


図 1 筋電位測定システムの構成

２．３　導電性衣服

導電布による静電シールド効果を高めるためには、導電布の皮膚への密着度は高い方が望ましいと考えられる。そこで導電布を構成する導電糸を筒状に編むことで、図2 のような、伸縮性のあるサポータ状の袖部分の導電性衣服を試作した。この導電性衣服が人体側（裏面）の電極となり、この上に絶縁布、および表面の導電布を重ねて装着することで、本システムで用いる袖部分の導電性衣服が完成する。ユーザの装着時の圧迫感を低減するため、絶縁布と表面の導電布は、伸縮性のない布を面ファスナーによって固定する構造とした。

図 2 試作した袖部分の導電性衣服の裏側

２．４　筋電位取得装置 EAQ

筋電位取得装置EAQ は、筋電位アンプEAMP と無線通信部COMM からなる。

試作した筋電位アンプEAMP の回路を図3 に示す。安全性の点から筋電極を装着する皮膚表面との電気的絶縁を確保する必要があるため、入力段は入力インピーダンスの高い計装アンプ回路構成とした。これに続いて、人体の動作などに由来する極めて高周波のノイズを除去する低域通過フィルタ（LPF、1 次・遮断周波数5Hz）、低周波ノイズ成分を除去する高域通過フィルタ（HPF、2 次ベッセル・遮断周波数300Hz）、及び非反転増幅回路が接続される。2 つのフィルタの遮断周波数は、筋電位信号に一般に含まれる周波数成分から決定した。入力インピーダンスは2[GΩ]、全体の増幅率は4000 倍である。この筋電位アンプには、導電性衣服から供給される正の電圧から、アンプ・フィルタ回路が必要とする±3.3[V] の電源電圧を生成する電源回路も含まれる。なお筋電位アンプEAMP に接続する筋電極には、日本光電（株）の脳波用皿電極NE-155A を用いた。なお近年は筋電位計測の際に、電極の直近に増幅率が低く出力インピーダンスが小さいヘッドアンプをもつ、いわゆるアクティブ電極を用いる方法が一般的である。上述の筋電位アンプEAMP は、電極と増幅回路との距離が十分短く、アクティブ電極に差動増幅回路を組み合わせたものと同等の特性を持つと考えられる。

また、試作した無線通信部COMM の回路を図4に示す。コントローラ（MCU）にはSilicon Laboratories社のC8051F320 を用いた。動作周波数は24MHz であり、内蔵の8 ビットA/D 変換機によって筋電位アンプEAMP の出力を1[ksample/s]で取得し、それを無線通信機を制御して送信する。

無線通信機には、SparkFun Electronics 社のuMiRF を用いた。主な仕様は、キャリア周波数2.4GHz、通信速度250kbps（direct mode）または1Mbps（shock-burst mode)、電源電圧3.3V、消費電流13mA（送信時）~18mA（受信時）である。この2 つの通信モードのうちshock-burst モードは、データ送信バイト数の制限があるものの、短時間に大量のデータを送信する場合に有用である。

実際に試作した筋電位取得装置EAQ を図5 に示す。外形寸法は筋電位アンプEAMP、無線通信部COMM 共に19[mm]×23[mm] である。

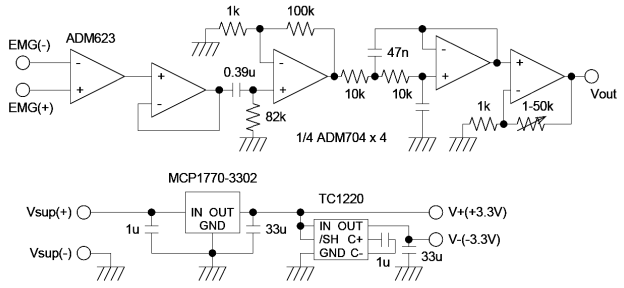


図 3 筋電位アンプ EAMP の回路図

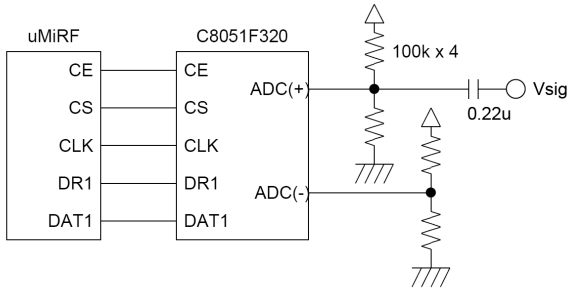


図 4 無膳通信部COMMの回路図

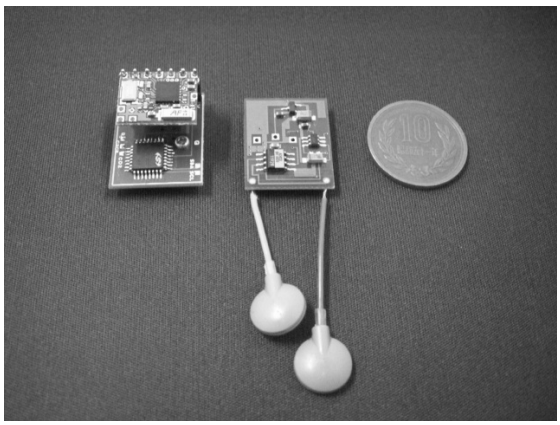


図 5 試作した筋電位取得装置。筋電位アンプ EAM（中)と無線通信部 COMM(左）

２．５　データ収集装置 DAQ

試作したデータ収集装置DAQ の回路を図6 に示す。筋電位取得装置EAQ の無線通信部COMM で用いたものと同じMCU C8051F320 と無線通信機uMiRF を用いる。用いた無線通信機uMiRF による通信は、単一チャンネル・半二重通信方式であることから、データ取得装置DAQ と筋電位取得装置EAQ との通信手順を図7 のように時分割のマスタ・スレーブ方式として設計した。まずデータ取得装置DAQ が、1 点目の筋電位取得装置EAQ1 へデータ要求REQ1 を出し、それを受けて1 点目の筋電位取得装置EAQ がデータDAT1 を返す。次に、2 点目の筋電位取得装置EAQ2 へのデータ要求REQ2 を出し、データDAT2 を受ける。以下、最後のn 番目の筋電位取得装置EAQn まで、この手順を繰り返す。

無線通信機uMiRF の動作タイミングとshock-burst モードのデータ送信量の制約から、データ取得装置DAQ からの送信要求に対する筋電位取得装置EAQ からの筋電位信号の送信は24サンプル単位で行うこととした。筋電位取得装置EAQ の筋電位信号の取得周期は1[ksample/s] であることから、データ取得装置DAQ は、1点の筋電位取得装置EAQ あたり、24[ms] ごとに送信要求を発する必要があることになる。このデータ収集装置で取得した筋電位信号は、シリアル通信(115.2kbps)を通してPC へ送られ、記録される。

実際に試作したデータ収集装置（PC 以外の部分）を図8 に示す。外形寸法は27[mm]×23[mm]である。

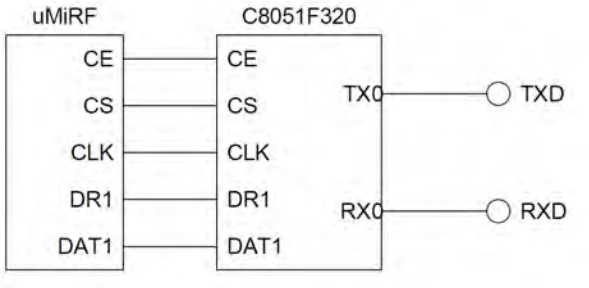


図 6 データ収集装置 DAQ の回路図

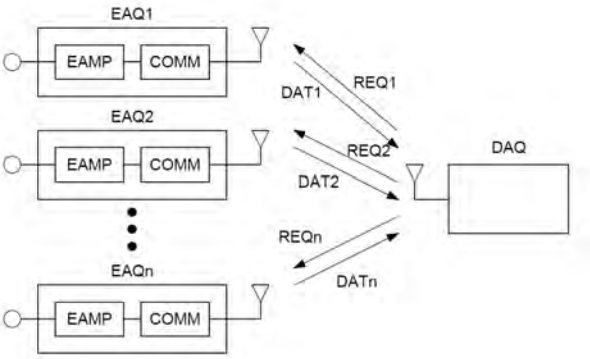


図 7 筋電位データの取得手順

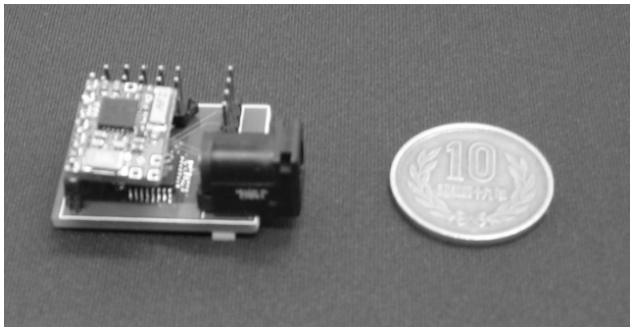


図 8 試作したデータ収集装置DAQ のPC 接続モジュール

３．筋電位の測定結果

３．１　筋電位の単点測定

まず導電性衣服が用いる本システムがもつ外来ノイズ除去性能を評価するため、筋電位信号の単点測定を行った。試作した筋電位アンプEAMPに対してケーブルを用いて電源を供給し、それを用いて筋電位測定を行う際のノイズ除去方法として、図9(a) のような従来の人体アースと、本システムのノイズ除去方法である、図9(b) のような腕全体を覆う導電布シールド（以下、これを導電性衣服と呼ぶ）の両者の比較を行った。それに加えて、導電布の面積による静電シールド効果を評価するため、筋電位アンプEAMP 部と電極部を10×10cm、および15×15cm の2 種類の面積の導電布（GND 接続あり）で覆った状態も、安静時の筋電位測定の比較対象とした。また導電布がもつ静電シールド効果を評価するため、図9(b) において、導電布を筋電位アンプEAMP のGND（基準電位）に接続しない条件でも同様に筋電位計測を行った。筋電位信号の測定は、筋電位アンプEAMPの出力をオシロスコープ（Tektronix 社・TDS2024）で観測・記録することで行った。

まずハムノイズ除去効果を評価するため、安静時に観測される筋電位信号のスペクトルを計測した。ハムノイズ対策として、人体アース、導電性衣服（GND 接続あり）、2 種類の面積の導電布（GND 接続あり）、導電性衣服（GND 接続なし）の5 つの条件のそれぞれに対して、左腕の同一の箇所に電極と筋電位アンプEAMP を装着し、机の上に左腕を脱力して置いた状態での筋電位アンプEAMP の出力のスペクトルを図10 に示す。なお2 種類の面積の導電布を用いる条件では、導電布を、ほぼ全体が皮膚に密着するように装着した。

人体アースをとった場合の安静時の筋電位信号のスペクトルである図10(a) では、-25[dBV]のハムノイズ（60Hz）、およびその高調波成分がみられる。一方、GND に接続された導電性衣服を着用した場合の安静時の筋電位信号のスペクトルである図10(b)では、ハムノイズ成分が-41[dBV]

であり、人体アースの場合と比較して-16[dB]（約1/6 倍）低減されていることがわかる。また図10(c) から、筋電位アンプEAMP と電極をGND に接続した10×10[cm] の導電布で覆った状態でのハムノイズ成分は-35[dBV] であり、導電性衣服を着用した場合と比較して6[dB]（約2 倍）のハムノイズ成分が見られる。一方、図10(d) から、筋電位アンプEAMP と電極をGND に接続した15×15[cm] の導電布で覆った状態でのハムノイズ成分は-39[dBV] であり、導電性衣服を着用した場合と同程度の効果を得ることができることがわかる。なお導電性衣服を着用した場合でも、それをGND に接続しない場合には図10(e) のようにハムノイズの振幅は0[dBV] 以上の電源電圧（3.3V）程度に振り切れ、筋電位計測は不可能であることがわかる。

続いて、指の動作に伴う筋電位信号の計測を行った。左手中指の屈伸運動に対応する筋繊維上に25[mm] 間隔で電極を配置し、またハムノイズ対策として、人体アース、導電性衣服（GND 接続あり）、導電性衣服（GND なし）の3 つの条件のそれぞれに対して、それぞれ表1 に示す動作を行った際に測定された筋電位信号を図11 に示す。なお表1 に示す動作のうち、指の運動は手のひらを下に向けた自然の状態から、中指を上に指先が5mm あるいは50mm 程度動かす屈伸動作を表し、また握る動作は、すべての指を曲げて握る動作を表す。

人体アースをとった場合の図11(a) では、ハムノイズに由来するノイズ成分が0.1[Vp-p] 程度あり、5mm 程度の微小な指の運動に対する筋電位信号を分離・判別・認識することは困難であると考えられ、また動作の直前に発生する筋電位信号などのさらに微弱な筋電位信号を計測することは不可能であると考えられる。一方、GND に接続された導電性衣服を着用した場合の図11(b) ではハムノイズ成分が大幅に低減され、5mm 程度の微小な指の運動に対する筋電位信号も明確に現れているため、これを分離・判別・認識することは可能であると考えられる。なお導電性衣服を回路のGND に接続しない場合の図11(c) では、ハムノイズが増幅されて筋電位アンプEAMP の出力は電源電圧近くまで振り切れており、筋電位計測は不可能であることがわかる。

以上から、導電性衣服を回路のGND に接続する本システムにより、指先が5mm 動く程度の微小な運動の筋電位信号の計測が可能であることが示された。また十分なハムノイズ除去のためには、筋電位アンプと電極部分を15×15cm 程度以上の面積の導電布で覆うことが必要であることが示されたが、これは皮膚との接触抵抗を小さく保ちつつ、筋電位アンプや電極とGND との距離を短くする効果によるところが大きいと考えられる。

表 1 計測時に行った動作

時刻[sec]	動作
1.0	指先を5mm動かす
2.0	指先を5mm動かす
3.0	指先を5mm動かす
4.0	指先を50mm動かす
5.0	指先を50mm動かす
6.0	指先を50mm動かす
7.0	軽く握る

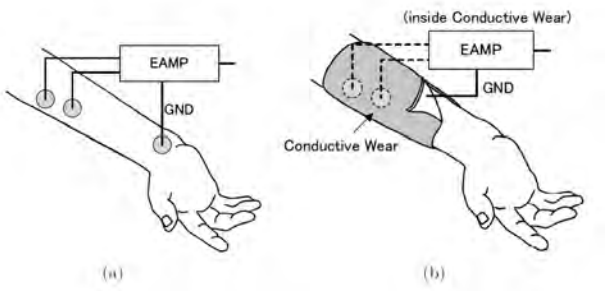


図 9 筋電位の単点測定の方法。(a) 従来の人体アース法、(b) 導電布を用いる方法（図中の筋電位アンプEAMP は導電性衣服内に置く）。

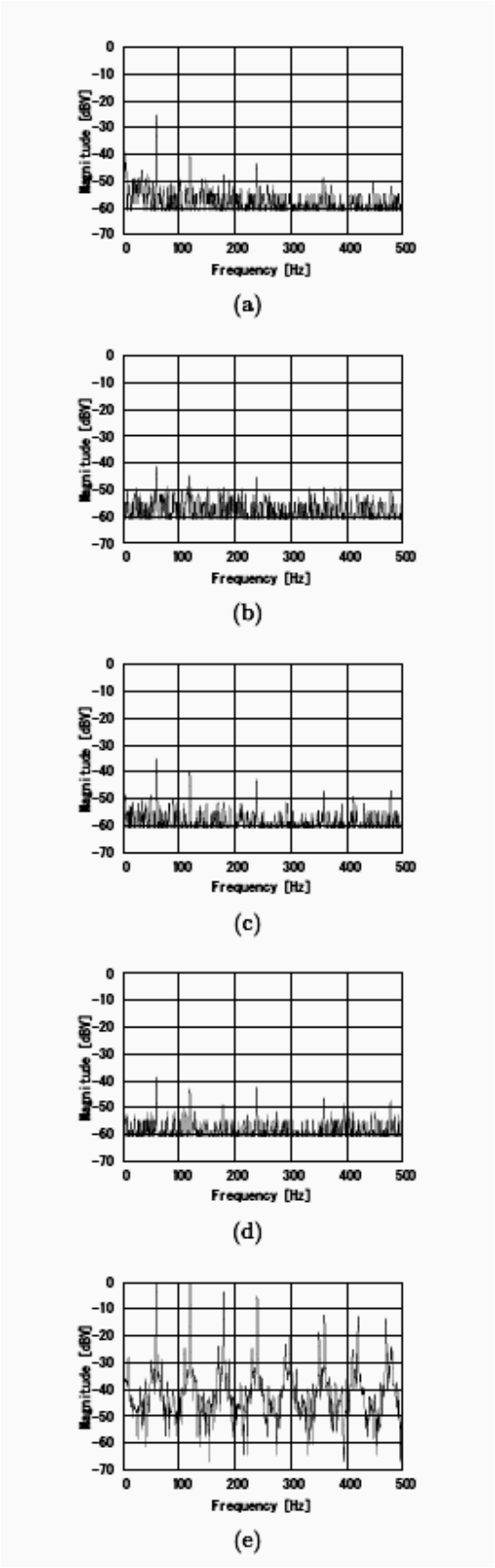


図 10 計測された安静時の筋電位信号のスペクトル。(a) 人体アースの場合、(b) 導電性衣服を回路の GND に接続する場合、(c) 10×10cm の導電布で覆った場合、(d) 15×15cm の導電布で覆った場合、(e) 導電性衣服を回路の GND に接続しない場合。

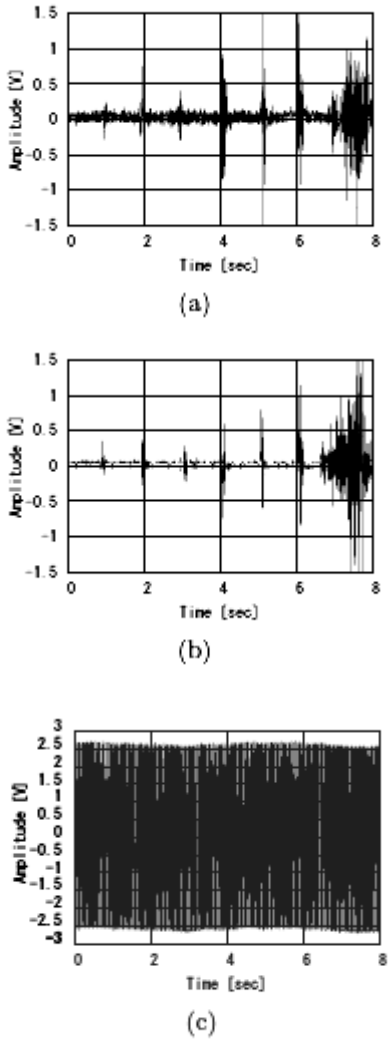


図 11 計測された筋電位信号。(a) 人体アースの場合、(b) 導電性衣服を回路の GND に接続する場合、(c) 導電性衣服を回路の GND に接続しない場合。

３．２　筋電位の多点測定：無線による計測

続いて、試作した無線通信部、データ収集装置を含む本システム全体の動作を実証するため、試作したシステムを用いて筋電位の多点計測を行った。図12 のように、袖部分の導電性衣服に5 個の筋電位取得装置EAQ を装着し、またデータ収集装置DAQ はユーザの腰部分に装着してPC と接続した。

今回試作した無線通信装部COMM は、無線データ通信の誤り検出・再送機構が不十分であったた

め、5点に対する安定な筋電位計測は困難であった。そこで2点に対してのみ筋電位計測を行った結果を、PC上のデータ表示プログラムの画面として図13(a)に示す。この測定においては、2点の筋電位アンプの筋電極を、異なる指に対応する筋繊維上に装着し、それぞれの指を交互に動かす動作を行った。この結果から、安静時のハムノイズは0.03[Vp-p]程度であることがわかる。

比較対象として、導電性衣服を装着せずに人体アースのみをとった状態で、同一部位に対して筋電位取得装置EAQを用いて無線通信により筋電位を測定した結果を図13(b)に示す。なおこの測定では、筋電位取得装置EAQへの電源供給はケーブルによって行った。この結果から、無線通信部COMM を用いる場合での安静時のハムノイズは0.2[Vp-p]程度と、3.1節の有線測定の場合よりもやや大きくなることがわかる。

以上の結果から、無線通信や導電性衣服を通した電力供給によってハムノイズ除去効果は多少低下するものの、本システムにより高精度・多チャンネルの筋電位計測が可能であることが示された。

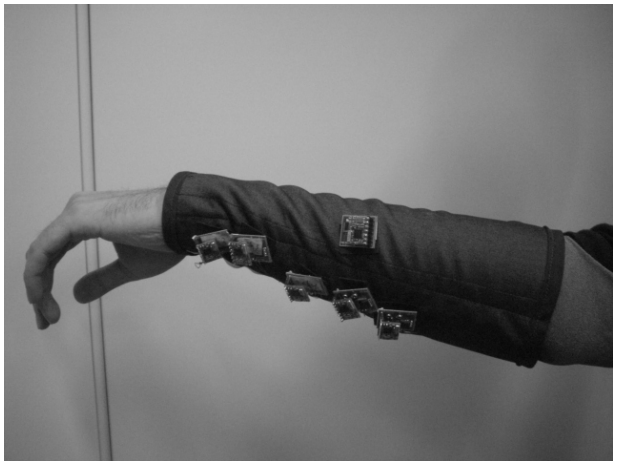
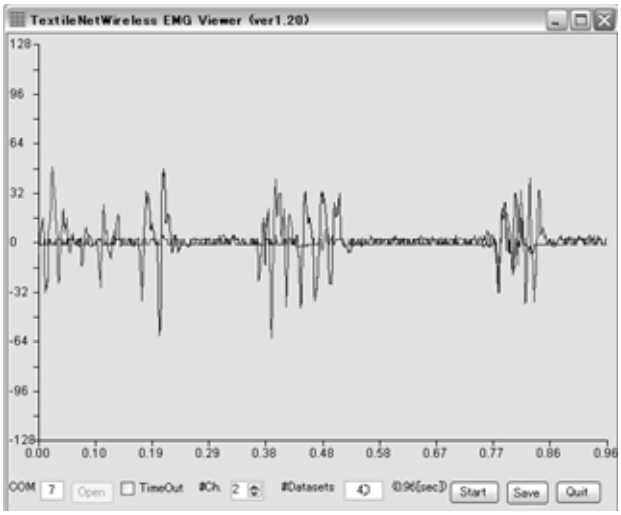
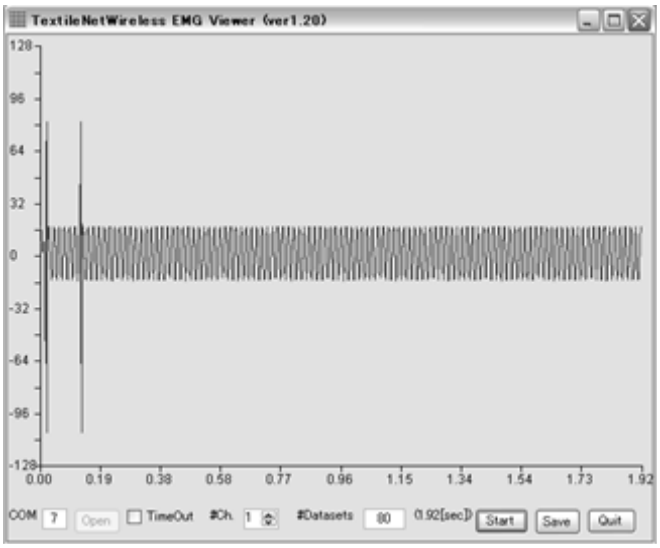


図 12 導電性衣服に装着した筋電位取得装置 EAQ



(a)



(b)

図 13 本システムを用いて無線通信により取得された2点の筋電位(a)と、人体アースのみの条件で無線通信により取得された筋電位(b)。

４．議論

本稿で述べたシステム構成・測定結果に関する考察を、以下の 2 点に関して述べる。

４．１　導電性衣服上での通信方式とノイズ耐性

本システムでは、筋電位取得装置EAQ で取得した各点の筋電位信号を無線通信によって収集す

る構成をとった。筆者らが既に提案・実装・検討している、導電性衣服上での電圧変化を用いて通信を行うTextileNet システム方式では、原理的には1[Mbps] 程度の通信が可能であることが見積もられている[16] ので、TextileNet システムの改良によって十分な通信速度を確保することができれば、導電性衣服上の通信によって各点の筋電位信号を収集することも可能である。

しかしこの場合、導電性衣服の表面に、通信に伴う電圧変化を生じるため、これが筋電位計測の際の新たなノイズ源となる可能性がある。ただし最も外来ノイズの影響を受けやすい筋電位アンプEAMP とこの電圧変化を伴う導電性衣服の表面の間には、基準電位（GND）に接続されている人体側の導電布があるため、この人体側の導電布がもつ静電シールド効果により、電圧変化の筋電位信号の計測に対する影響は非常に小さくなると考えられる。またこの導電性衣服の表面のノイズ源の問題は、導電性衣服上での通信のための電圧変化を小振幅化する方法により、ある程度解消することが可能であると考えられる。100mV 程度の小振幅電圧変化によって導電性衣服上の通信を行う方式は現在検討中[20] であるが、その筋電位測定に対するノイズ源としての影響の定量的な評価は今後の課題である。

本論文で述べたような、筋電位信号の送信を無線通信で行う方式には、伝送路である空間の電気的特性が安定であるために、原理的には通信速度を高速化しやすいという利点がある。一方、ここで述べたような導電性衣服上の通信を用いる方式には、原理的には伝送に要する消費電力の低減が可能であり、また信号が導電性衣服上で閉じるために秘匿性に優れ、ユーザ間の干渉が起こりにくいという利点がある。すなわち測定した筋電位信号の送信を、無線通信で行う方式、導電性衣服を用いて行う方式は、それぞれに特長があり、アプリケーションに応じて使い分けるのが現実的であると考えられる。

４．２　無線通信による多チャンネル計測の安定化

本稿で述べたシステムで用いた無線通信機は、キャリア周波数である2.4GHz帯がIEEE802.11b/g規格の無線LAN やBluetooth などと同一であるため、無線LAN などが利用されている実験室内では無線通信時のエラーが多く、実効的な通信速度が低くなっていた。またエラー時の再送制御の実装が不十分であったことから、3 点以上に対する筋電位測定を安定に継続して行うことは困難であった。

しかし筋電位アンプの設置数を制限する要因は導電性衣服の電源供給能力と、電極や筋電位アンプの物理的寸法のみであり、多くのアプリケーションにおいて十分な数の筋電位アンプを設置することが可能であると考えられる。また計測した筋電位信号の伝送の点からは、計測点数を制限する要因は通信路の帯域のみであると考えられる。今回は多点の筋電位信号の収集を、時分割多重(TDMA) により行う方式をとったが、符号分割多重(CDMA)・周波数分割多重(FDMA) などの多重通信機能をもつ無線通信機を用い、かつエラー時の再送制御を厳密に実装することにより、安定な通信システムを構築することは十分可能であると考えられる。また高速通信が可能な無線通信機を用いたり、あるいは取得した筋電位信号を送信前に圧縮して通信データ量を削減することで、計測点数を増加させることが可能であると考えられる。

５．まとめ

本稿では、導電性衣服を用いることでケーブルと電力供給の問題を解消しつつ、筋電位信号を低ノイズ・高精度に多点で同時に計測することができるシステムを提案した。また本システムのノイズ除去効果と多点計測に関して実験と評価を行い、有効性が示された。今後は、筋電位の高精度・多チャンネル計測を活用したアプリケーションシステムの構築と評価を進める。

参考文献

1) Binkley, P.: Predicting the Potential of Wearable Technology, *IEEE Eng. in Med. and Bio. Mag*, Vol. 22, No. 3, pp. 23-27 (2003).
2) 西川大亮，兪　文偉，横井浩史，嘉数侑昇：表面筋電位からの動作識別システムにおけるオンライン型学習データ管理機構，電子情報通信学会論文誌D-II， Vol. J84-D-II, No. 12, pp. 2634-2643 (2001).
3) 小谷賢太郎，堀井　健：ペン入力システム使用時の習熟過程における生理的特性と作業効率，日本生理人類学会誌， Vol. 6, No. 4, pp. 19-25 (2001).
4) 吉川雅博，児島宏明，三河正彦，田中和世：サポートベクターマシンを用いた筋電位信号からの日本語母音の識別，電子情報通信学会技術研究報告SP2006-69， Vol. 106, No. 332, pp. 1-6 (2006).
5) 永井秀利，中村貞吾，野村浩郷：自然言語インターフェースのための無発声音声認識への活用を目的とした表面筋電波形の分析，電子情報通信学会技術研究報告TL2002-52, Vol. 102, No. 688, pp. 25-32 (2002).
6) 稲葉　洋，瀧　剛志，宮崎慎也，長谷川純一，肥田満裕，北川　薫：トレーニングのための人体センシング情報の可視化，電子情報通信学会技術研究報告MVE2005-52, Vol. 105, No. 433, pp. 37-42 (2005).
7) 為井智也，柴田智広，石井　信：筋電信号に基づいた示指によるピアノ打鍵時の脱力度評価，情報処理学会研究報告2005-MUS-61-(8), Vol. 205, No. 82, pp. 47-52 (2005).
8) 伊東明彦，丸山剛生：筋電位のオンライン解析によるランニング中の下肢筋疲労の評価，日本機械学会ジョイントシンポジウム（スポーツ工学シンポジウム）講演論文集，pp. 143-146(2003).
9) Hakkinen, K., Komi, P. and Alen, M.: Effect of explosive type strength training on isometric force- and relaxation-time, electromyographic and muscle fibre characteristics of leg extensor muscles, *Acta. Physiol. Scand.*, Vol. 125, No. 4, pp. 587-600 (1985).
10) 盛田明子，中沢文子：ゼラチン・寒天・カラギーナンゼリーの摂食時における口蓋圧と筋電位の同時測定，日本家政学会誌， Vol. 53, No. 1, pp. 7-14 (2002).
11) 関根紀夫，伊藤彰義：摂食嚥下障害の診断・評価支援システムの構築，電子情報通信学会論文誌D-II， Vol. J84-D-II, No. 6, pp. 1231-1239 (2001).
12) 廣瀬真哉，阿波啓造，岩壺卓三：パワーアシストロボットの開発: 表面筋電位を用いた負荷トルクの推定，日本機械学会2005 年度年次大会講演論文集，pp. 493-494 (2005).
13) 森田　聡，柴田克成，鄭　心知，伊藤宏司：ニューラルネットワークを用いた人間-筋電義手インタフェース，電子情報通信学会技術研究報MBE-99-167， Vol. 99, No. 688, pp. 37-42(2000).
14) 河野貴弘，平塚雅人，門林豊和，堀越謙伸，阿波啓造，白木万博：初動負荷理論による筋電位を用いたトレーニング機器の開発，日本機械学会関西支部講演会講演論文集，pp. 43-44 (2002).
15) 前川　聡，有本隆彦，小谷　学：多チャンネル表面筋電図からのブラインドデコンボリューションによる運動単位の分離，電子情報通信学会論文誌D-II, Vol. J88-D-II, No. 9, pp. 1963-1970(2005).
16) 秋田純一，戸田真志：空間配置自由度が高いウェアラブルコンピュータ向けネットワークシステム，情報処理学会論文誌， Vol. 47, No. 12, pp. 3402-3413 (2006).
17) 木塚朝博，木竜　徹，増田　正，佐渡山亜兵：表面筋電図，東京電機大学出版局(2006).

18) 福元剛智，神口達也，大庭茂男，二見亮弘，田中治雄，星宮　望：経穴ととの周辺における皮膚インピーダンス軌跡の多点同時測定，生体医工学，Vol.41,No.4,pp.262-272(2003).
19) Tanaka, J., Kimura, M., Hosaka, N., Sawaji, H., Sakakura, K. and Magatani, K.: Development of the EEG measurement technique under exercising, *Proceedings of IEEE Eng Med Biol Soc.*,Vol.6,pp.5971-4 (2005).
20) 導電性衣服を用いた給電機能を持つネットワークシステム向け送受信回路の設計と評価：村上知倫，修士論文，金沢大学(2006).

磁気トルク負荷を用いた細胞活性の低侵襲診断法の開発

研究責任者　千葉大学大学院工学研究科
准教授　　岩　坂　正　和

１．はじめに

本研究は、細胞内部の骨格タンパク質の重合能などの細胞活性を、細胞を透過する磁力線を用いて測定するための、低侵襲な手法開発を行うことを目的とする。外部磁場が細胞骨格に反磁性磁気トルクを与えたときの細胞応答として、細胞骨格の磁場配向[1)－6)]、細胞形態変化が考えられる。この細胞応答を磁場中での顕微観察・分光計測にて検出し、細胞を生きたまま壊さず内部の骨格タンパク質の活性度・老化を評価するための基礎技術開発を推進することを目的とした。

近年の再生医学・細胞組織工学において、細胞の足場であるマトリックスの形態を制御し細胞の成長・増殖および機能を制御する技術の進歩は目覚しい。一方、細胞の中身にまで計測・制御の手を伸ばし、細胞機能のコントロールや細胞内で生じている様々なプロセスのリアルタイム検出が可能となれば、ますます迅速な細胞機能診断を行う時代に到達することが期待される。その際、細胞を壊さず生理的に本来ある姿のまま、低侵襲の状態での細胞活性、つまり“生きのよさ”を迅速に計測する手段が望まれる。既に、細胞内に導入し発現させることの可能な蛍光物質などを用い、細胞外から中へ積極的に物質導入することによる計測手法の進展がなされており、細胞膜および細胞内部の成分の動態や機能・特性の計測方法として様々な新技術の登場が待ち望まれていると考えられる。

光と磁場を用い細胞内成分（細胞骨格）への反磁性磁気トルク作用負荷の応答計測を行った場合、このトルク作用は、細胞周囲の水や細胞成分を貫いた磁力線が主に高分子に生じさせる局所的に増幅された効果であり、細胞にダメージを与えず元気のよさを検診する“細胞のための聴診器”の働きをする。細胞周期における細胞骨格などの高分子のダイナミックな再構築プロセスにおいて、外部磁場が高分子内に誘起する反磁性磁気トルクが高分子に力学作用を与える[7, 8)]。このトルク作用に対する細胞応答として、細胞骨格の磁場配向、細胞形態変化および細胞分裂・融合の促進や抑制が考えられる。これらの細胞応答を磁場中で検出し細胞内部の骨格タンパク質の活性度・老化を評価する手法の検討を進めた。

２．磁場下での細胞光計測および細胞観察システムの開発

強磁場発生装置（超伝導磁石）の室温ボア空間において、顕微観察装置および光透過計測シ

ステムを構築し、細胞の形態および細胞骨格の再配置による透過偏光計測を進めた。培養細胞および人工細胞（ベシクル系）へ適用し、細胞の状態に対応する透過偏光の時間変動ダイナミクスの計測を行った。

３．細胞の透過光および形態に及ぼす強磁場影響

３．１　細胞の透過偏光磁場効果

図１に示す磁場下での細胞の透過偏光をリアルタイムで計測するシステムを構築した。細胞層を挟みクロスニコル設置での透過偏光を計測した。

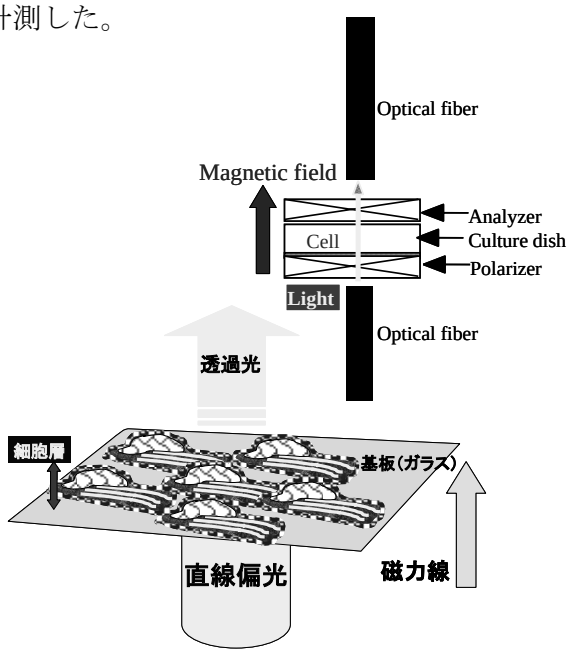


図1　超伝導磁場下での細胞透過偏光計測システム

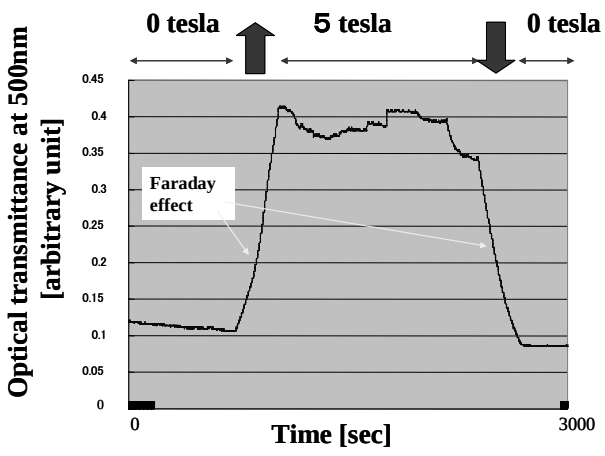


図2　鉛直方向磁力線（5T）における細胞透過偏光の時間的変化の例

鉛直方向磁力線下（５Ｔ）での平滑筋細胞（A7r5）の透過偏光の時系列データの例を図２に示す。0T～５T の間での超伝導電流変化による磁場増減の際、光磁気効果（Cotton-Mouton および Faraday 効果（図３））が生じたと見られる。磁場を５T で保持している時間帯において、細胞透

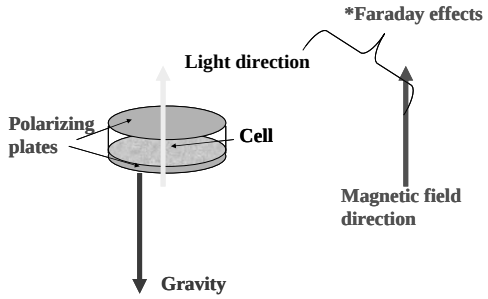


図3　磁場増減中に生じる透過偏光に大きな影響を及ぼすファラデー効果

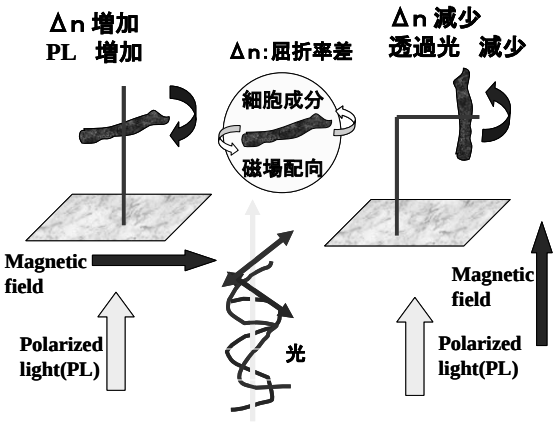


図4　磁場一定の期間に生じたと推定される磁場配向による透過光変化（磁気複屈折効果）

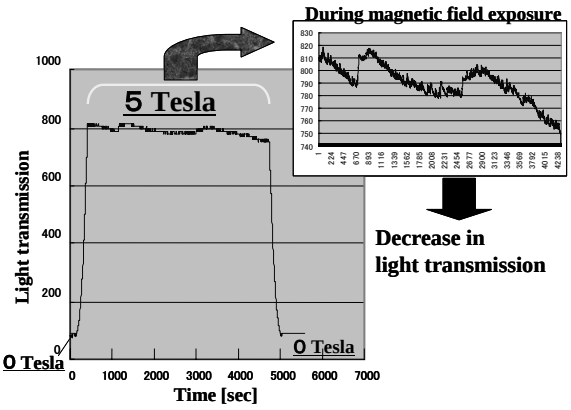


図5　鉛直方向磁力線（5T）における細胞透過偏光減少中に発生したリバウンド的増加（図中では顕著な2回のリバウンドが存在）。

過光（クロスニコルでの直線偏光）のダイナミックな変化が観測された。この磁場を一定（５T）に保っている期間の初期から生じたなだらかな透過光減少は、細胞成分（特に脱重合/重合過程の骨格タンパク）の磁場配向による光複屈折の減少が検出されたものと考えられた（図４）。一方、図２および図５に見られるように、５T 保持中の数千秒の間に透過光増加が数回発生した。この光応答特性は磁気的な刺激に対する細胞のリバウンド的な応答と考えられた。このリバウンド応答的な約千秒領域での透過光増加が５T磁場曝露中に5000秒あたり何回発生したかをカウントした結果を図６に示す。血管平滑筋細胞、骨芽細胞、HeLa 細胞、PC12 細胞について、各細胞株の入手後最も元気な培養時期（１ヶ月）と、以後５ヶ月培養後の時期の２つの時期において、細胞透過偏光計測を５T 磁場中で行った際のリバウンド数の grand total を示した。１ヶ月目で高いリバウンド発生数が得られたのに対し、５ヶ月目では発生数の減少が明らかであった。

次節で述べる磁場中での細胞リアルタイム観察では、鉛直方向磁力線を曝露開始した直後、磁力線方向すなわち接着面の法線方向へ細胞が伸び上がることを示唆する挙動が観察された。前述の透過光リバウンド増加は、磁力線のトルク作用による細胞剥離に対する細胞の抵抗によるものと考えられた。すなわち、“生きのよい” １ヶ月期の細胞のほうが、５ヶ月期の細胞よりも、接着面に対する接着能力が高いことが、磁場中での透過偏光計測により検出できたと考えられた。

３．２　細胞形態の磁場中でのリアルタイム観察

顕微観察に用いる現有のモノズーム・レンズの焦点距離を磁石内部で調節可能な手法の開発を行い、この手法を培養細胞および人工細胞（ベシクル系）へ適用した。

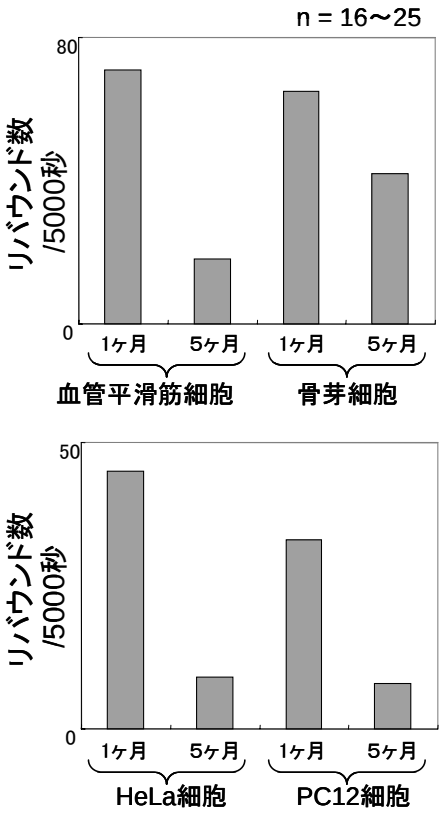


図6　細胞透過偏光計測を5T 磁場中で行った際のリバウンド数の grand total。

培養付着細胞（血管平滑筋細胞、骨芽細胞、HeLa 細胞）の超伝導磁場中リアルタイム観察を進めた結果、磁場印加なしの状態での細胞は繊維芽細胞状の紡錘形状（または不定形の形態）で培養ディッシュの底に付着していたが、鉛直方向（重力に平行）な５T 磁場を印加するに伴い、細胞の偽足の消失および球状の形態への変化が観測された。観測領域内の細胞の中には磁力線の侵入に従い、２次元平面に付着した状態から、付着面から浮き上がりバルーン状の形態へ変化したとみられる細胞が存在した。推定される原因として、細胞内部の骨格タンパクが磁力線方向へ磁場配向したことおよび細胞膜成分が磁力線方向へ配向したことが挙げられる。

この細胞膜成分による磁場誘起形状変化を詳細に検討するため、細胞膜成分のみで構成されるチューブ状ジャイアントベシクル（人工細胞膜）の５T鉛直方向磁力線による形態変化に

ついて実験を進めた。

リン脂質の反磁性磁化率の異方性は、その分子長軸が磁力線に垂直に配置する際に安定になると推定された。これまでの研究では、リン脂質集合体の中に埋没させたタンパク質とリン脂質との相互作用により新奇な分子集合体の形成を期待し、コラーゲン内包ベシクルの形態に対する直流強磁場効果の観察を行った。その結果、２種類の分子集合体がブレンドされつつ高次集合体を形成する過程で、磁化率異方性の形成に一種の競合が生じ、様々なチューブ・エラスティカ・パターンが創出されることが明らかとなった。

本研究では、あらかじめ基板上に横たわった状態で形成された、長さ 100 ミクロン・オーダーの巨大なチューブ状ジャイアント・ベシクルの長軸に対し直交する方向（鉛直方向）に磁力線を侵入させた際（図７）、どのような形態変化が生じるかに関し、磁場中顕微観察装置を用いたリアルタイム観察法にて研究を行った。２種類のリン脂質(DOPC(1,2-Dioleoyl-sn-Glycero-3-Phophocholine)と POPG(1-Palmitoyl-2-Oleoyl-sn-Glycero-3-[Phospho-rac-(1- glycerol)])) をそれぞれクロロホルム溶解させた後、１：１の比率で混合、乾燥させリン脂質薄膜を得た。この薄膜にリン酸緩衝液を浸して POPC /POPG 混合のリン脂質集合体（ベシクル）のサスペンションを得た。このベシクル・サスペンションをフレーム・シールチャンバーに封入し、室温下、薄層内にてベシクルを自己組織化形成させた。

鉛直方向ボアを有する超伝導磁石（５テスラ）の磁場空間にモノズームレンズ型の低倍率（175 倍）顕微鏡ＣＣＤカメラヘッドヘッドを鉛直方向に挿入し、先端部にベシクル封入フレーム・シールチャンバーを設置し、磁場を上下させつつチューブ状ジャイアント・ベシクルの形態をリアルタイムで観察することを可能とした。観察中、マグネットボア内部は循環水ジャケットを用いて外部気温（室温）と差を生じないよう温度調整した。

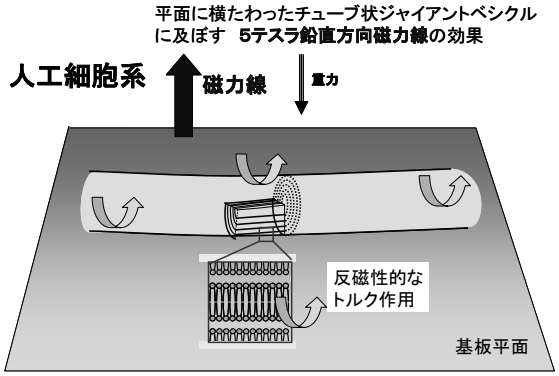


図7　人工細胞系（チューブ状ジャイアント・ベシクル）の長軸に対し直交する方向（鉛直方向）に磁力線を侵入させた際の反磁性磁気トルクの作用。

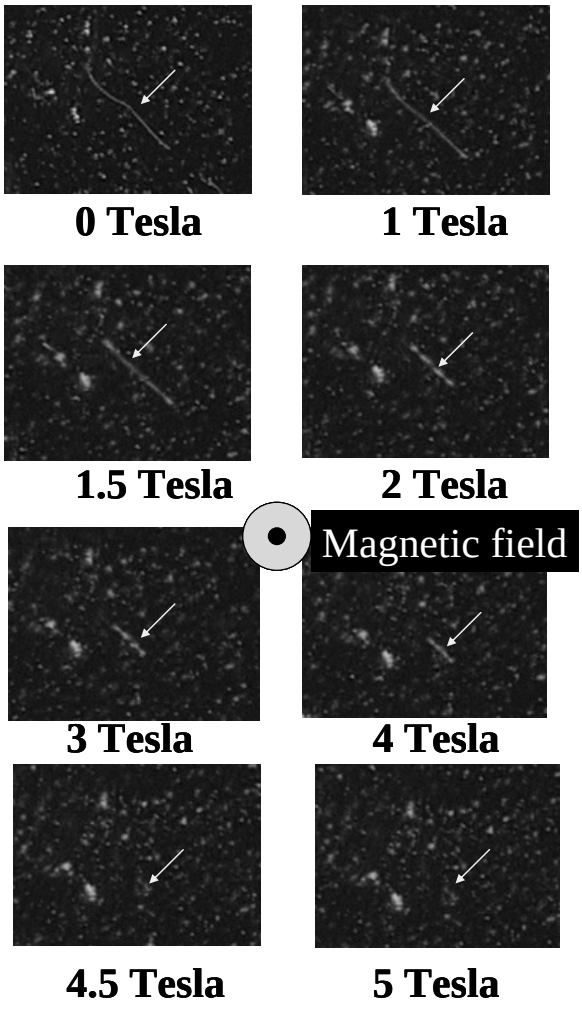


図8　磁場を環境磁場（地磁気レベル）から5テスラまで上昇させる間の観察されたチューブ状ジャイアント・ベシクルの形態変化の例。

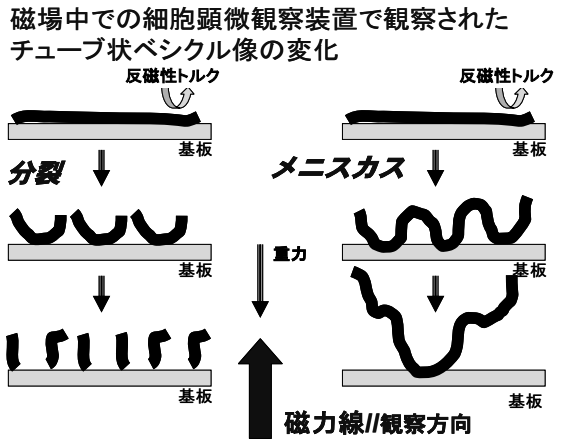


図9　チューブ状ジャイアントベシクルに対する磁場効果のメカニズム。

磁場を環境磁場（地磁気レベル）から５テスラまで上昇させる間、観察されたチューブ状ジャイアント・ベシクルの形態変化の例を図 8 に示す。磁場増加とともに徐々にチューブの端から像が消え、２テスラ近傍では４本のチューブに分裂し、その後全体的に短くなる様子が観察された。各観察実験における CCD カメラでの観察領域において、チューブの分裂・消滅の観察された物体は１～２個であった。図８においては丸い物体および長さが 10 ミクロンオーダの物体は磁場増加中に変化を示さなかった。チューブの分解・消滅と画面上で見られる現象を示したものは、長さが 100 ミクロン程度のチューブであった。この観察条件は他の 3 例の観察条件でも同じであった。4 例とも、ベシクルの形態変化は最初の磁場上昇の際のみの変化であり、磁場を下げた際に元の形態に戻ることは観察されなかった。

最も可能性の高いメカニズム（図９）として、チューブ状ベシクルの端の部分が磁力線に並行に立ち上がったことがあげられる。なぜならば、磁力線に垂直に配向するリン脂質がチューブ長軸に沿って並んだ構造になっているからである。チューブの両端が磁力線に沿って持ち上がりつつ分解していくことで、チューブが次第に短くなっていったと考えられる。今回の結果において興味深いのは、磁束密度が２Ｔ近傍のときに４分割されたような分断面が観測されたことである。別の推測として、チューブ内部の密度あるいは磁化率勾配により、図の法線方向（磁石ボア内での鉛直方向）に存在する空間磁場勾配に起因した反磁性磁気力がチューブをメニスカス状に吊り上げたとする見方も可能である。

３．３　細胞の磁場中分光による様々な細胞機能の計測

今回の研究ではさらに、磁場通過型サイトフロー計測システムによる実験も進めた。流体ポンプを用いて細胞浮遊サスペンションを磁場内のカラムへ流入させ、その出力からの液体の流れを分光系へ導入し、超伝導磁石の磁場をオン/オフした場合をそれぞれ比較した。その結果、超伝導磁石ボア外にて計測した細胞サスペンションの光透過スペクトルでは特に顕著な磁場効果は現在まで確認できていない。

次に、磁場通過型サイトフロー計測システムに磁場空間内部でのリアルタイム計測ユニットを付与し、血小板細胞凝集能に対する磁場効果計測を進めた。細胞サスペンション透過光（波長 600nm）の時系列パターンは、磁場中（最大５テスラ）において、そのピーク値が（磁場印加なしに比較して）低下する傾向を示した。これまでに観測された直流強磁場での血小板凝集促進効果[9)]によるものか、あるいは血小板と流路（チューブ）の壁との相互作用促進等によるものと考えられたため、今後メカニズムの分類解明が必要となる。

一方、細胞の融合・分化能に対する磁気トルク負荷効果に関し、破骨細胞形成過程における磁場効果計測を行った。破骨前駆細胞間の融合により形成される多核性の破骨細胞形成プロセスに鉛直方向磁場（磁力線方向が地球重力に平行でかつ、重力の減少を伴う磁場空間）あるいは水平磁場を一昼夜曝した際の、破骨細胞の

多核部分のサイズを計測した結果、水平/鉛直磁場双方においてサイズの縮小傾向が示された。このメカニズムを検証するため、破骨細胞を有する魚類（金魚）のウロコの磁場中透過光計測を５テスラ鉛直磁場下で行った（図 10）。620～690㎚の透過光（細胞接着面にほぼ垂直）の 50,000 秒での変化を、磁力線が細胞接着面に平行な場合と垂直な場合で比較することにより、破骨細胞・骨芽細胞の成分に対する反磁性磁気トルクの作用を時系列的に捉えることに成功した。

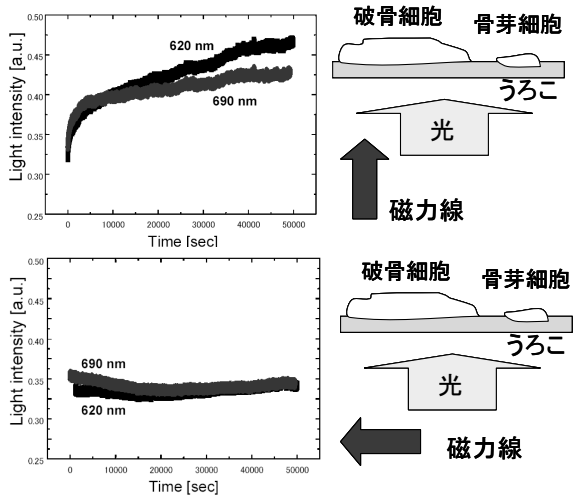


図 10 破骨細胞を有する魚類（金魚）のウロコの透過光に対する5テスラ磁力線の影響。

４．むすび

今後、細胞の老化に伴う活性低下を反磁性磁気トルク負荷によって計測する手法のニーズ探索が望まれる。そのためには、培養細胞の継代数増加に伴う細胞の老化を評価するパラメータとして、細胞骨格に反磁性磁気トルクを作用させた際の細胞の透過偏光を用いることの有用性を、さらに検証する必要がある。反磁性磁気トルクにより高分子集団が特定の方向へ配向すると複屈折が変調されるため、この変調の度合いを磁気トルクに対する細胞骨格の力学的応答性・柔軟性として検出可能であることの実証を、さらに展開していく所存である。

謝辞

本研究はその一部を中谷電子計測技術振興財団 第 23 回（平成 18 年度）技術開発助成によりました。ここに深く感謝の意を表します。

参考文献

1) Denegre JM, Valles JM Jr, Lin K, Jordan WB, Mowry KL., Cleavage planes in frog eggs are altered by strong magnetic fields., Proc Natl Acad Sci U S A. 1998, 95(25):14729-14732.

2) Torbet J, Dickens MJ., Orientation of skeletal muscle actin in strong magnetic fields., FEBS Lett. 1984;173(2):403-406.

3) Valles JM Jr., Model of magnetic field-induced mitotic apparatus reorientation in frog eggs., Biophys J. 2002 Mar;82(3):1260-1265.

4) Iwasaka M, Miyakoshi J, Ueno S., Magnetic field effects on assembly pattern of smooth muscle cells., In Vitro Cell Dev Biol Anim. 2003;39(3-4):120-123.

5) Bras W, Diakun GP, Díaz JF, Maret G, Kramer H, Bordas J, Medrano FJ., The susceptibility of pure tubulin to high magnetic fields: a magnetic birefringence and x-ray fiber diffraction study., Biophys J. 1998 Mar;74(3):1509-1521.

6) Higashi T, Yamagishi A, Takeuchi T, Kawaguchi N, Sagawa S, Onishi S, Date M., Orientation of erythrocytes in a strong static magnetic field., Blood. 1993 Aug 15;82(4):1328-34.

7) Iwasaka M, Ueno S, Detection of Intracellular Macromolecule Behavior under Strong Magnetic Fields by Linearly Polarized Light, Bioelectromagnetics, (2003) 24, 564-570.

8) Iwasaka M, Ueno S, Polarized light transmission of smooth muscle cells during magnetic field exposures, Journal of Applied Physics, (2003) 93, 6701-6703.

9) Iwasaka M, Takeuchi M, Ueno S, Aggregation of Blood Platelets in Static Magnetic Fields, IEEE

Transactions on Magnetics, (2000) 36(5), 3721-3723.

発表論文および学会

1) Iwasaka M, Suzuki K, Sugawara T, Observations of cellular responses to diamagnetic forces acting on cell components, Sci. Technol. Adv. Mater. (2008) 9, 024216

2) 岩坂正和、 強磁場下での細胞透過偏光による細胞活性・機能評価、第２回日本磁気科学会年次大会論文集、31-32, 2007.

3) Iwasaka M, Evaluation of cellular activities utilizing diamagnetic forces acting on cell components, International Conference on Magneto-Science, (Hiroshima, 2008) 1I-05.

4) 岩坂正和、磁場中での細胞透過光計測法を用いた細胞活性評価、第23回日本生体磁気学会大会論文集、2008.

5) 岩坂正和、豊田太郎、鈴木健太郎、菅原正、強磁場中計測による細胞構造ダイナミクスに関する研究、電気学会全国大会講演論文集、2009.

圧電マイクロ 3 次元振動デバイスによる生体細胞の内部ストレス計測と損傷治療法

研究責任者　山形大学大学院理工学研究科
機械システム工学専攻
教　授　　小沢田　　正
共同責任者　山形大学医学系研究科生命環境医科学専攻
教　授　　中　村　孝　夫
山形大学医学部解剖学　組織細胞生物学
教　授　　後　藤　　薫
山形大学大学院理工学研究科
応用生命システム工学専攻
准教授　　馮　　忠　剛

１．はじめに

生命の最小単位は細胞であり、その生死は臓器の不全のみならず、最終的には個々の生命体の健康・生死、ひいては種の存亡に直結する点で、近年各方面から注目されている[1)]。特に、事故、疾病あるいは種々の治療操作などによって損傷した細胞あるいは組織の再生回復メカニズムの解明や再生治療の具体的手法の開発は、その医学的重要性から焦眉の急である[2),3)]。もし、損傷した細胞・組織の安全で確実な再生治療法が実現されれば、再生医療や体外受精による不妊治療に代表される医学系分野のみならず、生命科学の数多くの分野に、計り知れないインパクトをもたらすものと見られる。

しかし、医学的、生物学的にも工学的にも未知の点が多く、格段の進展をもたらすためのブレイクスルーが切望されている。生体細胞は外界から何らかの刺激を受けると、防衛、適応、情報伝達等の機能発現のために膜張力の変化、細胞内の応力分布や外力に対する変形能の変化、細胞自身の移動などの力学的現象を示す。この現象を細胞外部から無侵襲で計測することができれば、細胞生理機能に関する多くの重要な情報が得られる[4),5)]。さらに、適度な力学的刺激はむしろ細胞の持つ自然な潜在的再生能力を助長して、細胞さらには組織の損傷回復を促す可能性があることが指摘されており、現在種々の実験が内外で精力的に試みられている。

以上の背景および基礎概念に基づき、本研究では、生きている生体細胞の内部力学状態を外部から無侵襲で計測・モニターし、かつ細胞の増殖、分化などの活性化を促進する最適な力学刺激を付加・コントロールし得る手法の開発をめざす。これは、損傷細胞のみならず組織の再生治療という革新的技術への道を開くことにつながる。具体的には、

１）超微小はり状振動子の屈曲インパルス微小振動を利用し、表面から接触スキャンすることにより、あたかも指でやわらかい物体を触診するごとく、無侵襲で生きているマイクロレベルの細胞の力学特性をセンシングできるマイクロセンサーの構築を提案する。

２）超小型にも拘わらず、３次元方向に任意の動的力学刺激を与えうるマイクロ３次元振動アク

チュエータシステムの構築手法を提示する。このコンパクトなシステムにより、従来不可能とされてきた培養細胞への種々の３次元的力学刺激付加などの定量的かつ組織的操作・コントロール手段を実現する。上記マイクロセンサーと統合し損傷治療システムを開発する。

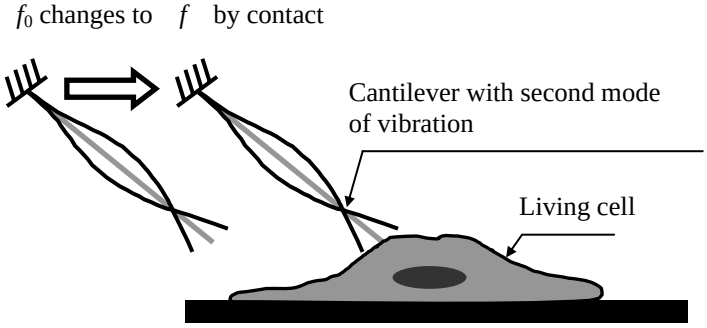


Fig. 1 Principle of the method. The frequency of the cantilever changes from f_0 to f by contact against a living cell. This frequency difference, Δf, is proportional to the compliance of the living cell.

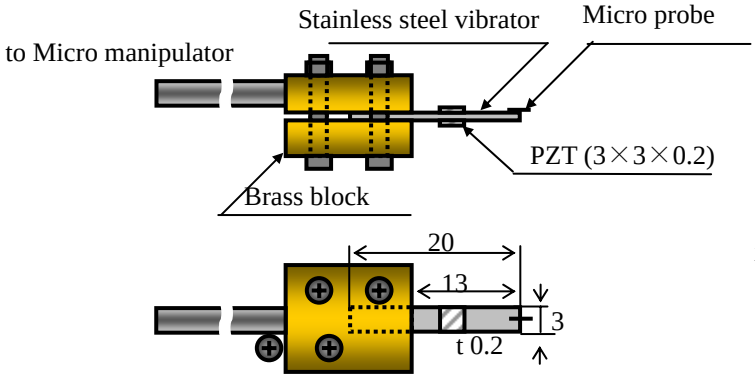


Fig. 2 Construction of the sensor based on the proposed principle.

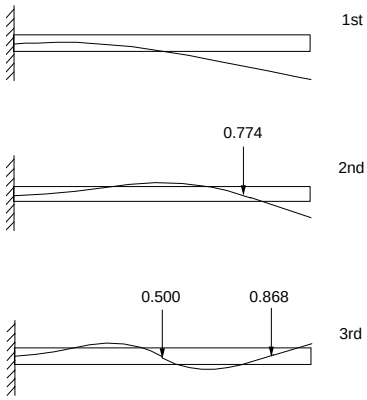


Fig. 3 Modes of vibration of a beam with clamped-free boundary condition.

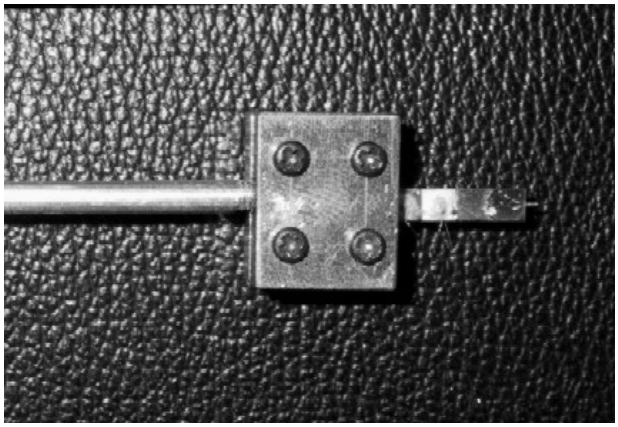


Fig. 4 Close up of the real sensor.

２．細胞組織の力学特性評価マイクロセンサー

弾性体振動子を励振させると、１次、２次、３次、…等の固有振動数が現れる。いま、一端が自由、他端が固定の境界条件を有するはり状振動子に曲げ振動を励振させるものとする。固定端の境界条件や振動モードによって大きさは異なるが、自由端には振動変位が生じる。Fig.1 のようにその先端を試料に接触させた場合、自由端境界における拘束条件の変化により固有振動数が f_0 から f へと変化する。その固有振動数の変化 Δf は、試料被接触部の硬さに関係し、接触部の移動性及びその周辺の振動伝搬性に起因するコンプライアンスと考えることができる。この考えに基けば試

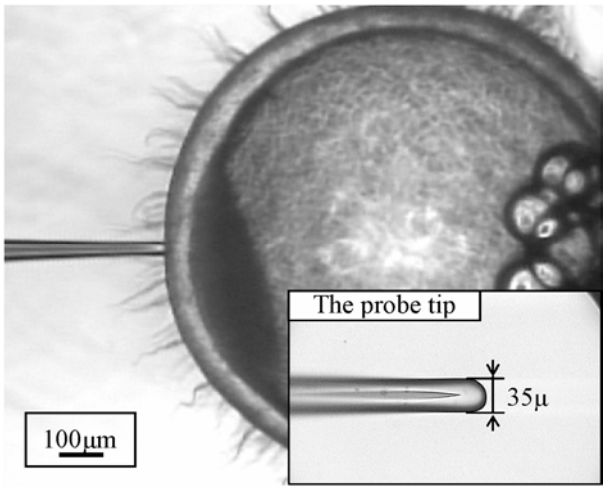
料の硬さ、やわらかさを⊿ｆの測定によって評価できる[4),5)]。この原理は試料が十分軟らかい場合には有効であるが、そうでない場合には⊿ｆとコンプライアンスが対応しないことが予想される。よって被測定物は金属などよりも十分やわらかいものに限定されるが、生体細胞・組織などには有効な手法である。

上述の動作原理に基いて設計されたカンチレバー型マイクロセンサーの図をFig.2に示す。センサー振動子は、ステンレス板（20mm×3mm×0.2mm）の両面に加振用と振動数測定用の圧電セラミクス（3mm×3mm×0.2mm）をそれぞれ接着して製作する。Fig.3は、一端固定他端自由境界条件の場合の１次～３次振動モードである。これらのうち２次振動を積極的に励振させるために、２次振動の腹の位置に加振用圧電セラミクスを取り付ける。また、振動数測定用の圧電セラミクスも同様の位置に取り付けることで、振動数の測定精度向上を図っている。固定端側は、強固な固定条件を実現するために、振動子の端7mmを２つの真鍮ブロックで挟み４本のネジで固定する。自由端側にはマイクロプローブを取り付ける。このプローブは接触試料の特性と、振動子の振動を相互に伝える役目を果たしているので、その形状・材質は高感度のセンサーを製作するための重要な要素である。またプローブは試料と直接接触する部分であり、生細胞・生体組織に悪影響とならないような大きさ・先端形状にすることも求められ、対象となる試料に応じて適宜選別し差し替える必要がある。

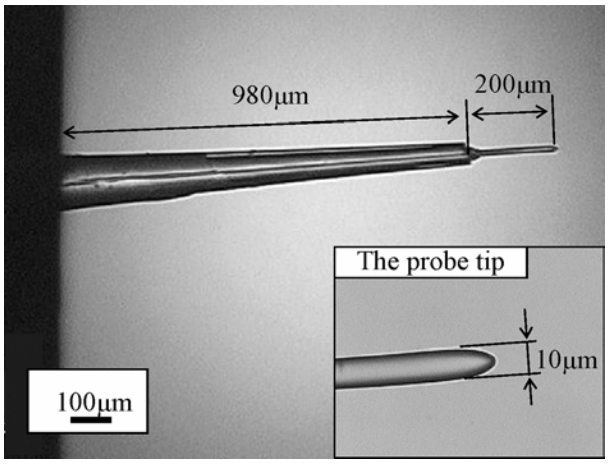
実際に製作したセンサーをFig.4に示す。各圧電セラミクスに接続する導電線は振動子の振動に影響を与えないよう直径 0.06mm の極めて細いポリウレタン線を用い、圧電セラミクスとの結線には導電性塗料を使用した。振動子自由端側先端には、実際に測定対象となる試料と接触するマイクロプローブを取り付けた。生細胞や生体組織など生きているものを測定対象とする場合、プローブの接触に起因して応答・反応してしまう恐れがある。従ってこれらに対するコンプライアンス測定は非侵襲的に行う必要がある。具体的には、測定対象とのプローブ接触面積を小さくする、あるいはプローブの測定対象への押し込みを小さくする、などが挙げられる。一方センサーのプローブの微細化は、その剛性の低下によってセンサーの測定精度の低下を招くと予想される。以上を考慮し製作した２種類のガラス製マイクロプローブをFig.5に示す。これらの製作手順は、まず直径 1mm のガラス管を熱伸展装置（SHIMADZU、MPT-1）にて加熱しながら伸長させる。これにより非常に細く長い形状のガラス針の先端を局所加熱装置（SHIMADZU、 MPF-1）にて加熱し任意直径の球状に丸める。これを適度な長さで切断してセンサー振動子先端に接着する。Fig.5 (a) は比較的大きめの細胞や組織を対象としたプローブであり、先端部直径は35μmである。Fig.5 (b) はより小さい細胞の測定を目的としており、先端部直径は10μmと微細であるものの、プローブの太さを２段階にして全体が微細化しないよう工夫することでセンサー測定精度低下の回避を狙っている。

製作したセンサーの性能を評価するため、硬さが既知のシリコンゴムブロックを用いて測定を行った。測定方法は、FFTアナライザ（ONOSOKKI、CF-360Z）の信号出力機能を利用し100kHzまでの周波数帯域でswept sine波を１フレーム発信し、その信号をアンプ（NF社、 4015高速パワーアンプ）を介して励振用セラミクスに出力、振動子を励振させる。このときの応答信号を、検出用セラミクスからFFTアナライザ（ONOSOKKI、 CF-5220）に出力してパワースペクトルを解析し、センサー振動子の振動数を求める。Fig.6(a)はセンサー振動子に Fig.5(a)で示したプローブを取り付けたもの、Fig.6(b)は同じくFig.5(b)で示したプローブを取り付けたセンサーの実験結果である。グラフ横軸はシリコンゴムブロックに対するプローブの押し込み深さ、縦軸は振動数応答（コンプライアンス）を示している。Fig.6(a)、(b)ともシ

ョア硬さ[6]で示されている硬さの違いを検出できていることがわかる。ただしFig.6(a)は20～80HS、Fig.6(b)は5～20HSと硬さの測定域は異なっている。プローブの押し込み深さに関しては、Fig.6(b)は深い押し込みに対して振動数があまり変化せず、むしろ浅い押し込みによる測定に適していることが確かめられた。

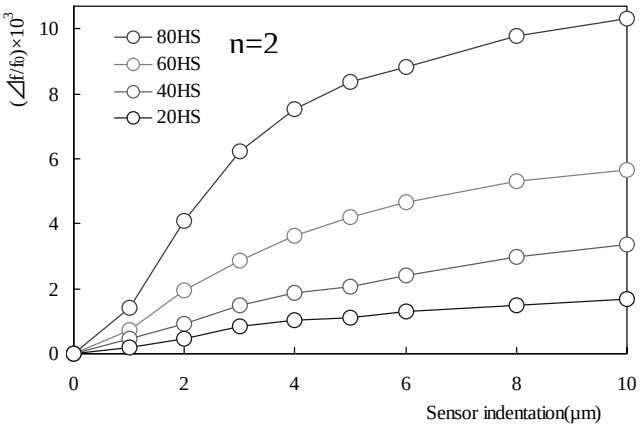


(a) Micro probe with uniform diameter for large cells and tissues.

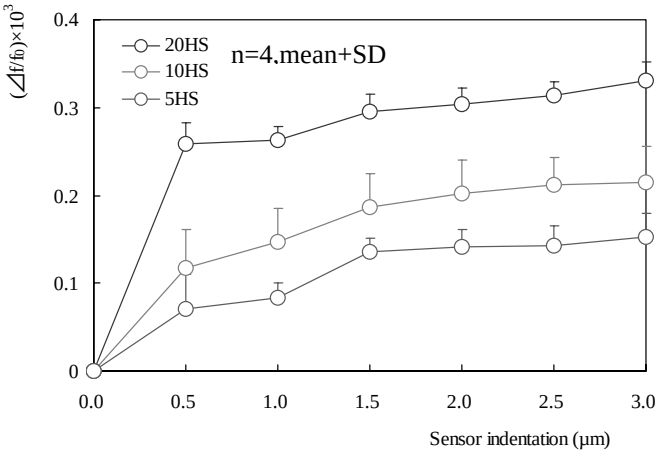


(b) Micro probe with stepped diameter for minute cells.

Fig. 5 Developed glass micro probes



(a) Micro probe with uniform diameter attached sensor.



(b) Micro probe with stepped diameter attached sensor.

Fig. 6 Frequency responses of silicone rubber blocks.

３．３次元マイクロアクチュエータの開発

細胞・組織に力学刺激を付加するための３次元アクチュエータの概略図をFig.7に示す。ダブル立体Ｌ型構造を有する振動子の一端を２つの真鍮ブロックではさんで固定端とする。自由端側先端はセンサーの場合と同様マイクロプローブを取り付ける。振動子には３枚の圧電セラミクス（図中、緑、青、赤でそれぞれ表示）を図の位置に取り付ける。ここで圧電セラミクスに電圧を加えることで、圧電効果によって振動子の圧電セラミクス取り付け部に曲げ変形が生じ、振動子自由端側において任意の変位を得ることができる。振動子はダブル立体Ｌ型構造を有しているため、電

圧を加える圧電素子によって変位が生じる向きが異なる。図中赤の圧電セラミクスに電圧を加えれば変位は鉛直（Z 軸）方向、青ならばプローブ押し込み（X 軸）方向、緑ならプローブ水平移動（Y 軸）方向、といった仕組みである。この動作原理に従って３次元アクチュエータを構築する。厚さ 0.2㎜ のステンレス板を加工し、ダブル立体Ｌ型振動子とする。この振動子には３枚の圧電セラミクス（3㎜×3㎜×0.2㎜）をそれぞれの位置に貼り付ける。振動子固定端側は２つの真鍮ブロックではさんで把持、自由端側にはマイクロプローブを取り付ける。

細胞や生体組織に力学刺激を付加し、その影響を力学的手法によって評価しようとしたとき、本章の３次元アクチュエータと第２章で述べたカンチレバー型センサーとの併用は非常に有効である。しかし両者の効率的使用のためには、センサーとアクチュエータが一体化されていたほうが便利である。実際に製作した一体型センサー・アクチュエータを Fig.8 に示す。一体化することによって、センサー、アクチュエータ双方の振動子に接続されている導電線の総数が７本と煩雑になり、相互インダクタンスなどの電気的悪影響が発生する恐れがあったため、真鍮製固定部位の後方にウレタンスポンジを取り付けてそのなかに導電線を通し、それぞれの導電線間に一定の距離が保たれるようにした。

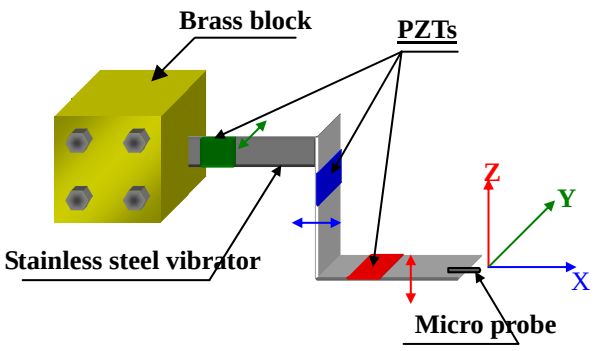


Fig. 7　Principle of three-dimensional movement of the 3D micro actuator.

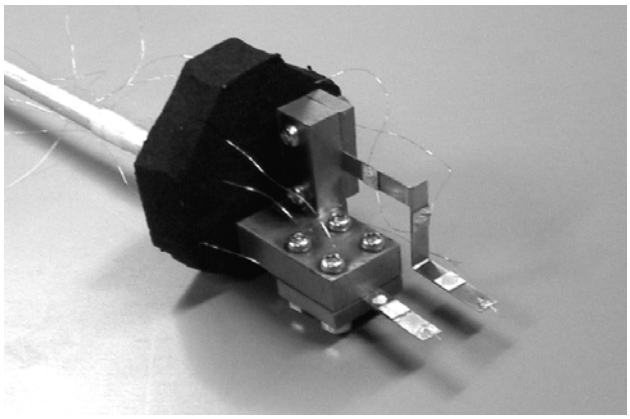


Fig. 8　Close-up of the real sensor and 3D actuator complex.

４．細胞への力学刺激付加・影響評価実験

４．１　メダカ受精卵を用いた力学刺激付加実験

メダカ（killifish、学術名：Oryzias latipes）は優れたモデル生物であり、これに関する研究も多い。本研究では、被験試料としてメダカの受精卵を利用した。この理由として、発生期の構造の変化が視覚的に顕著、かつ卵がほぼ透明で観察が容易であることが挙げられる。また遺伝学・発生学的研究が多くの研究者によってなされ、詳細な生態が解明されており、継代飼育が容易で３～５ヶ月程度で世代交代が可能であるため、基礎遺伝学的、生物学的情報を得やすいことも挙げられる。さらにメダカは、水温２６℃、日照時間を昼１４時間、夜１０時間の状態にすることで産卵を促すことができ、季節を問わず年中容易に受精卵を入手することができる[7)]。

メダカの卵は通常、産卵から８～１０日目には孵化に至る。医療・畜産の現場で遺伝子診断を行う際には受精後間もない卵細胞を使用しているという実際に則し、受精後６時間以内のメダカ受精卵を実験に供した。メダカ受精卵を用いた力学刺激付加実験で使用する実験装置構成図を Fig.9 に示す。倒立型位相差顕微鏡（Olympus、 IX70）にはマイクロマニピュレータシステム（Shimadzu、MMS-77）が装備されており、左右それぞれのマイクロマニピュレータは電子制御で 1μm 単位の操

作が可能である。この左腕に、第３章で開発した一体型センサー・アクチュエータを取り付ける。センサーによる測定方法は、FFT アナライザ（Ono-sokki、 CF-360Z）の信号出力機能を利用し 100kHz までの周波数帯域で 50V の swept sine 波を励振用セラミクスに１フレーム発信し、振動子を励振させる。その時の応答信号を、検出用セラミクスから FFT アナライザ（Ono-sokki、CF-5220）に出力してパワースペクトルを解析し、センサー振動子の振動数を求める。一方、連続 sine 波を３次元アクチュエータに出力することで細胞に力学刺激を付加するアクチュエーションが可能である。メダカ受精卵の固定にはセルインジェクター（Shimadzu、 CIJ-1）を使用する。セルインジェクターは本来細胞内へのマイクロインジェクションによる遺伝子導入や人工授精などに使われる装置であるが、機能の一つとして -80～200kPa の圧力をマイクロピペットに印加できる。この機能を利用し、マイクロピペットに -15kPa の負の圧力を印加することでメダカ受精卵を吸い付けて固定し、右腕のマイクロマニピュレータにマウントする。実験中のメダカ受精卵は、Flow chamber と Lab bath（Taitec、 LB-21 JR）によって温度を一定に保つこともできる。また、実験中の動画、静止画を、CCD カメラ（Sony、DXC-107A）経由でコンピュータ上に記録することができる。センサーのプローブは、Fig.5(a)を使用する。実際の実験装置の写真を Fig.10 に、センサーで受精卵のコンプライアンス測定している様子を Fig.11 に示す。

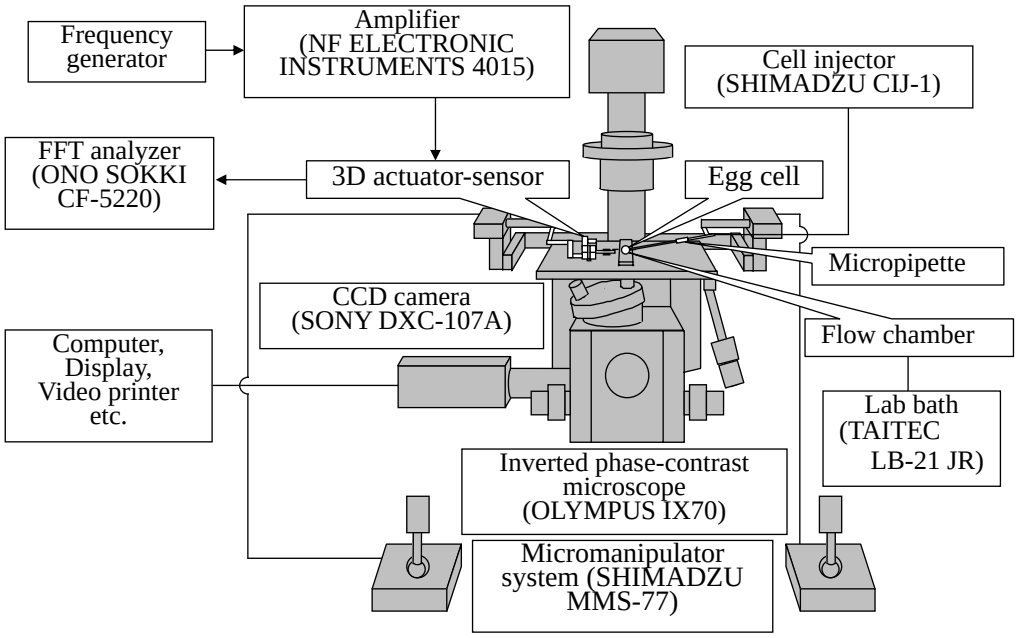


Fig. 9　Schematic diagram of experimental setup for fertilized egg cell.

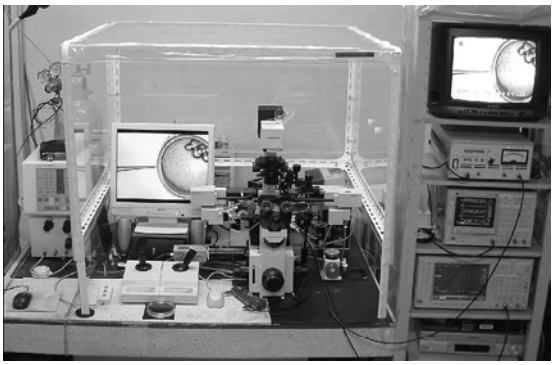


Fig. 10　Overall view of the experimental setup for fertilized egg cell.

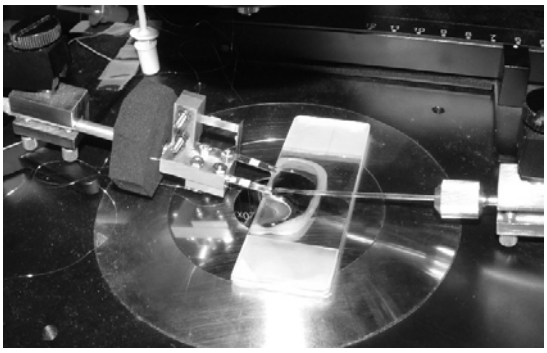


Fig. 11　The sensor-3D actuator complex mounted on micro manipulator and a fertilized egg cell.

本実験は、損傷回復に与える動的力学刺激の影響を検証することを目的として、以下の手順で実験を行った（Fig.12)。一般の不妊治療操作を念頭におき、受精後６時間のメダカ受精卵を先端直径 2μm 以下のガラス針で穿刺して損傷を付与した（Fig.13)。損傷は、ハッチング操作を想定し卵膜を 4/5 ほど穿刺した場合と、顕微授精を想定し卵黄内に達するまで 300μm 程度穿刺した場合の２種類とし、損傷量による受精卵への影響の差異をみることとした。損傷付与直後にそれらの細胞に対し３次元アクチュエータを用いて動的力学刺激を５分間、１２時間毎に３日間与えた。ただし、動的力学刺激が傷口を広げる結果とならぬよう、損傷を与える点と動的力学刺激を付加する点は別とした。付与した動的力学刺激は、前の実験で大きな反応がみられた押込み 30μm、振幅 15μm、5Hz で押し込み（Y 軸）方向の連続 sine 振動とした。この実験の結果を Fig.14 に示す。横軸は損傷を付与してからの経過時間、縦軸はコンプライアンスを示している。未操作の受精卵に着目すると、測定値は受精後 30 時間まで徐々に下がり、その後は徐々に増加していることが確認できた。これは受精卵の成長の過程で起こる律動性収縮運動によるものと考えられる。損傷を付与した受精卵に着目すると、損傷直後は力学刺激の有無に関わらず Deeply damaged、Slightly damaged 共にコントロールと比較して値が有意に低下している。その後力学刺激を付加しなかった受精卵の値は低いまま推移した。それに対して力学刺激を付加した受精卵は、損傷から 24 時間以降測定値が徐々に上昇、48 時間後に未操作の細胞とほぼ等しい値となり、刺激を与えていない細胞との有意な差が確認できた。損傷に対する防御反応によって軟化した受精卵が、その後の力学刺激によって回復が促進され、正常化したことを示していると考えられる。

Fig.15 は、Fig.14 の 0 hour、48 hours における比較であり、Student の t 検定で $p<0.05$ であったものを＊印で表示している。0 hour では局所損傷の影響が、48 hour では力学刺激付加の影響が有意にあらわれている。Fig.16 は損傷付与から７日後の受精卵の生存率を示したグラフである。コントロールの卵細胞と比較して、損傷を与えた細胞の生存率は低下しており、特に Deeply damaged の生存率は大きく低下している。これに対して動的力学刺激を付加した場合、Deeply damaged の生存率が改善しており、Fig.14 結果と併せて、動的力学刺激が損傷回復に有効であることが示された。これらの結果は、畜産分野における卵細胞のローカルダメージに起因する受胎率・生存率低下による経済的損失の低減に資する新たな損傷回復手法開発への応用が期待できる[8)]。

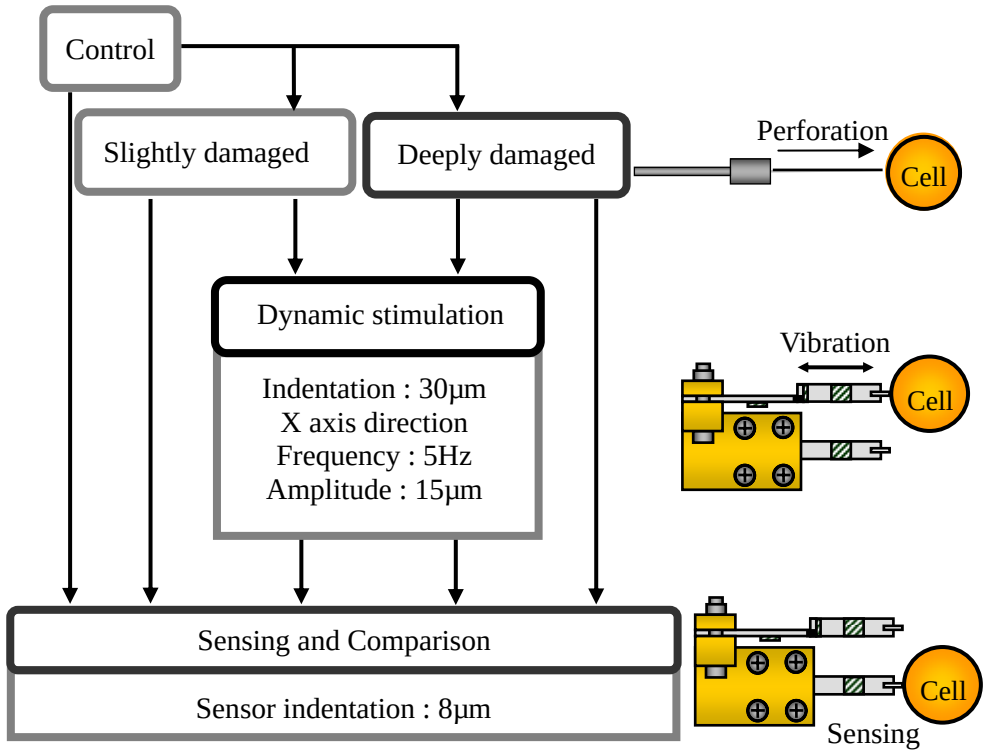
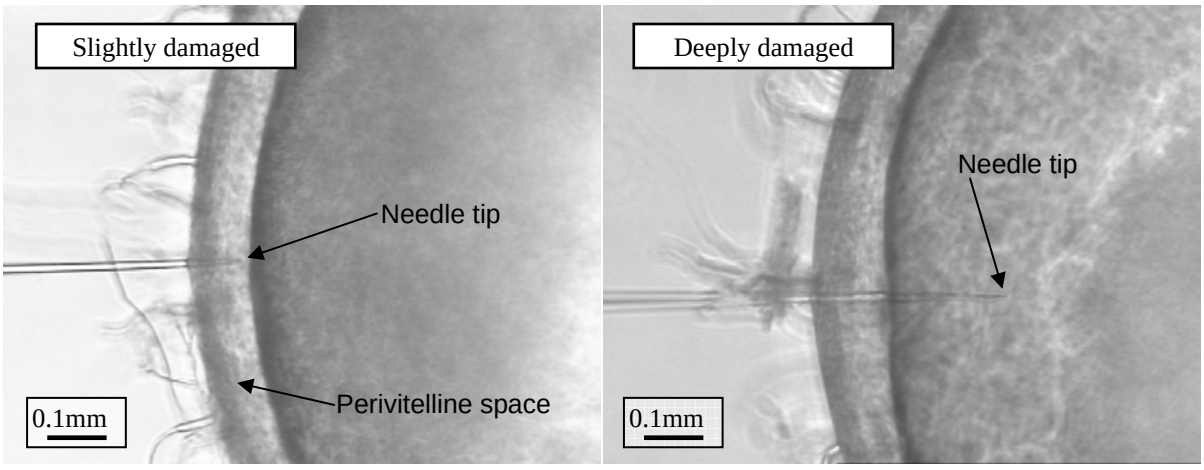


Fig. 12 Experimental procedures for the locally damaged cell.



(a) (b)

Fig. 13 Local damage to the fertilized egg cell by perforation with micro glass needle.

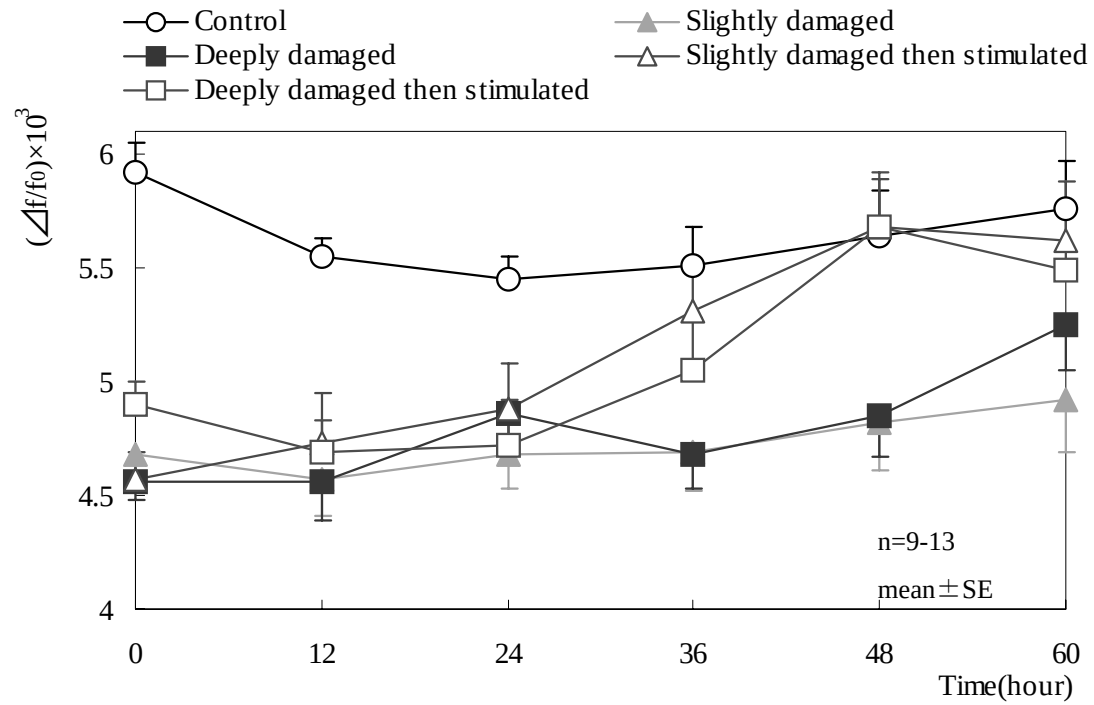


Fig. 14 The influences of local damage and dynamic stimulation(5Hz, 30μm probe indentation, indenting vibration, 15μm amplitude).

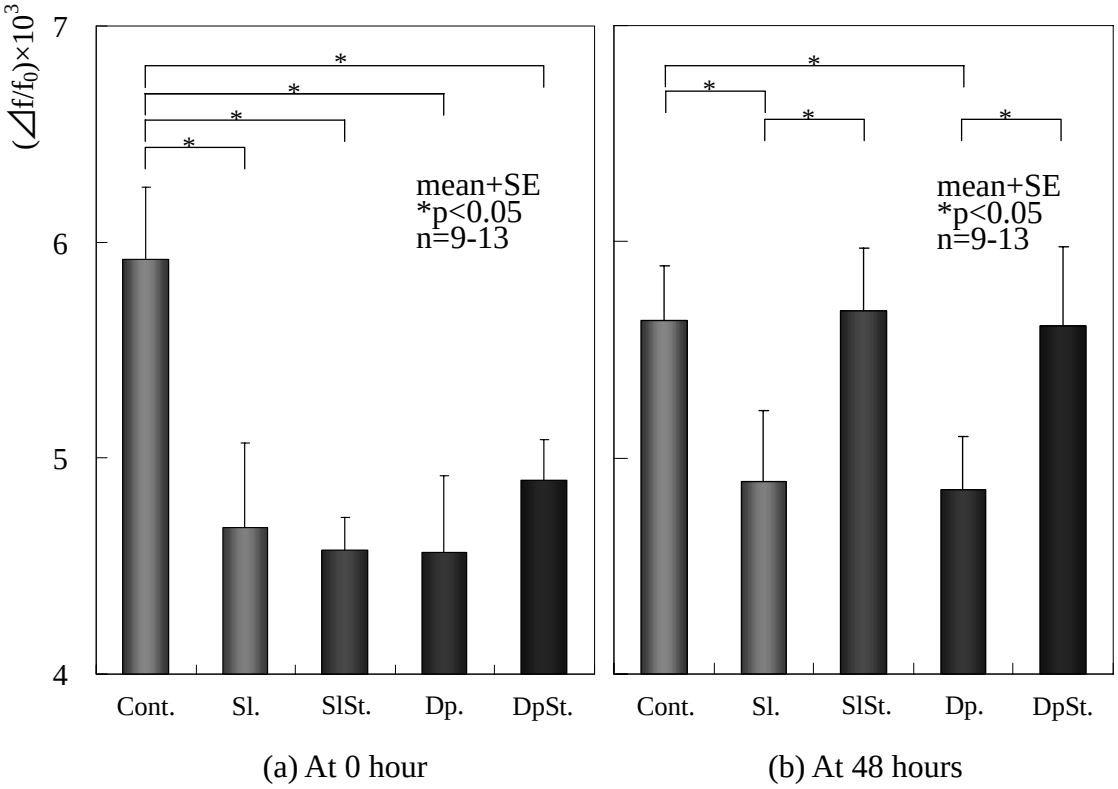


Fig. 15 Comparisons in compliance at 0 and 48 hours in Fig. 5.8. Abbreviations are introduced as the control (Cont.), slightly damaged (Sl.), slightly damaged then stimulated (SlSt.), deeply damaged (Dp.), and deeply damaged then stimulated (DpSt.).

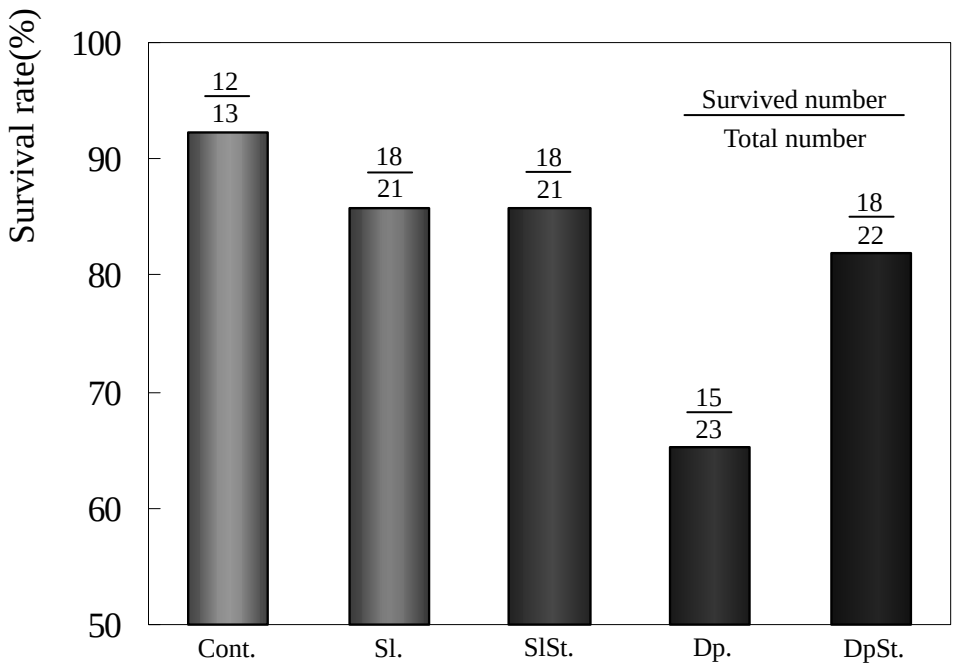


Fig. 16　Survival rate of the experimented egg cells mentioned in Fig. 8 at the time of 7 days after the experiment started.

４．２　正常ヒト骨芽細胞を用いたマイクロセンサーによる力学刺激付加実験

第２の例として本研究では、外部からの力学刺激に敏感であると同時に活発な増殖能を持つ骨芽細胞に注目した。骨芽細胞は骨に存在する骨細胞（osteocyto）の１つである。骨は通常、生体内で体を支える役割を果たすのと同時に骨の主成分であるカルシウムの貯蔵や供給を担っている。また、骨組織は静的にみえるが、外部からの機械的刺激に応答して骨量の見直しおよび空間的再構築が絶えず行われている。これらの機能を調整しているのが骨表面に存在する骨芽細胞（osteoblast）や破骨細胞（osteoclast）などである。骨芽細胞は接着性細胞（adherent cell）で、細い形状を有して多くの葉状仮足(lamellipodia)や糸状仮足（filopodia)がみられ、絶えず細胞移動（cell migration）などの細胞運動（cell motility）を行なっている[9)]。生体内に存在する細胞が持つ特徴、もしくは細胞の老化現象をより忠実に捉えるため、株化細胞ではなく正常細胞である正常ヒト骨芽細胞（Normal Human Osteoblast: NHOst、インフォームドコンセント下にてドナーの組織から摘出した細胞を単離･培養したものを Cambrex 社より入手､Lot No. 5F0582）を実験対象とした。培養には、α-MEM (alpha-minimum essential medium, COSMO BIO Co., LTD.）＋ 10 % FBS (fetal bovine serum, Invirtogen, Lot No: 915045) + 1 % antibiotic substance (penicillin - streptomycin solution stabilized, SIGMA-Aldrich)を用いた。

正常ヒト骨芽細胞（NHOst）を用いたマイクロセンサーによる力学刺激付加実験の様子を Fig.17 に示す。実験装置の基本的な構成はメダカ受精卵を用いた実験と同様であるが、大きく異なる点はマイクロマニピュレータが３次元水圧式（Narishige、MLW-3、動作精度：0.04μm）に変更されている。このマイクロマニピュレータにセンサーをマウント、振動子先端のプローブは Fig.5(b)を使用する。なお、NHOst への力学刺激付加は第３章の３次元アクチュエータではなく、センサーへの連続 sine 波入力による強制曲げ振動により行う。一体型センサー・アクチュエータ

では培養ディッシュ内での取り回しが窮屈であるなどの理由による処置である。培養細胞のコンプライアンス測定は 2V の swept sine 波による非常に微細なセンサーの振動を利用するため、倒立型位相差顕微鏡（OLYMPUS、IX71）を除振台（Kurashiki Kako、 Micro-g）上に設置し、環境からの振動を遮断した。

センサーのマイクロプローブ接触による振動刺激が継代数６の NHOst のコンプライアンス変化に与える影響を調べた結果を Fig.18 に示す。Control は刺激付加前、Stimulated は刺激付加直後の NHOst のコンプライアンスであり、それぞれ Student の t 検定で $p<0.05$ であったものを*印で表示している。付加した振動刺激は 1～20Hz、振幅約 0.5μm でそれぞれ３分間、プローブの細胞に対する押し込み距離は振動刺激付加・コンプライアンス測定ともに 1μm としている。ただし、光学顕微鏡画像上で細胞とプローブの接触点を探すことは難しい。そのため、細胞内情報伝達物質である Ca^{2+}イオンと反応して蛍光する指示薬、Fluo-4 を 3μM、60 分で予め細胞内に導入しておく。その後、センサーを真下に 1μm ずつ下ろしていき、Fluo-4 が発光したところを接触点としている。この実験の結果、付加した振動刺激の振動数に関わらずプローブ接触部においてコンプライアンスの上昇、つまり細胞の硬化がみられた。刺激付加時間はわずか３分であり、この間に細胞骨格の大幅な再構成が行われたかは疑問であるが、細胞が振動刺激を感知し局所的に硬化する反応を示した可能性は残される。またこの反応は、振動数が低いほど大きくなる傾向が示された。

以上の結果が得られたことで、本センサーは細胞の力学刺激受容によるコンプライアンスの変化を検知できる性能を有していることが確かめられた。今後様々な条件で実験を重ねることで、例えば細胞内メカノセンサーの局在性や刺激受容特性などメカノセンシング解明に資する情報の提供が可能となるはずである[10)]。

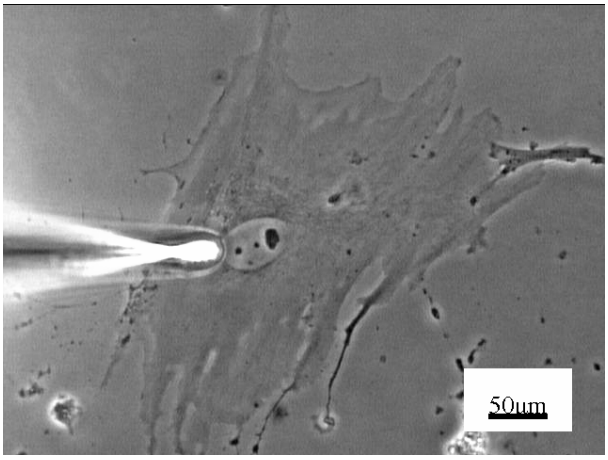


Fig. 17　A normal human osteoblast.

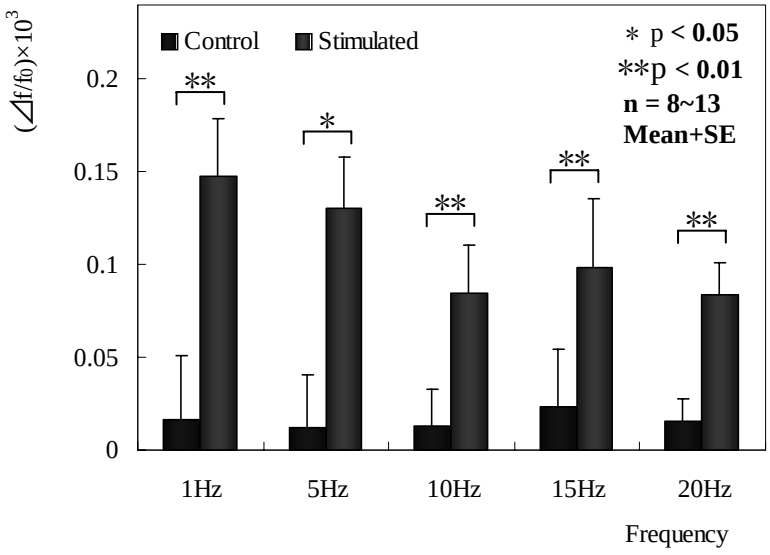


Fig. 18　Cell response to vibration stimulation.

５．まとめ

1）カンチレバー型マイクロセンサーのプローブの形状・材質を最適化することにより、細胞などの微小な物体のコンプライアンスを無侵襲的に測定可能なセンサーを開発した。

2）ダブル立体Ｌ型構造を有する３次元動作が可能なアクチュエータを開発した。またこれをカンチレバー型マイクロセンサーと一体化し、細胞・組織に対して力学刺激の付加およびそれによるコンプライアンスの変化を検出可能な一体型センサー・アクチュエータを開発した。

3）培養細胞のような微小な細胞に対して局所的力学刺激を付加し、それによるコンプライアンスの変化を一種の細胞応答あるいは内部ストレスとして評価する方法を提案した。

4）体外受精などによる局所損傷を模擬した、局所損傷メダカ受精卵を用いた実験の結果、動的力学刺激付加によって損傷回復が促進され受精卵の生存率に大きな改善がみられた。

5）培養正常ヒト骨芽細胞に局所振動刺激を付加した結果、細胞は短時間のうちにコンプライアンスを変化させ（相対的に上昇、すなわち硬化の方向）刺激に敏感に適応していることが検証された。

謝辞

本研究は、財団法人中谷電子計測技術振興財団の開発研究助成（第 23 回，平成 18 年度）により行われました。ここに深く感謝の意を表します。

参考文献

1) Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K. and Walter, P., Molecular biology of the cell, 4th ed., Garland Science, New York (2002), pp. 583-1027.
2) Mow, V.C., Guilak, F., Tran-Son-Tay, R. and Hochmuth, R.H., (eds) Cell mechanics and cellular engineering, Springer, Berlin Heidelberg New York (1994).
3) Atala, A. and Lanza, R.P., Methods of tissue engineering, Academic Press (2002).
4) Kosawada, T., Sato, H. and Nishida, H., Development of a softness sensing system by using dynamic response of piezoelectric vibrator and its application to detect mechanical properties of living cells, JSME International Journal C43(4) (2000), pp. 772-779.
5) Kosawada, T., Konno, K., Yamamura, S. and Kanazawa, T., Piezo micro probe sensor system to detect environmental stresses induced in living cells and tissues, Microsystem Technologies, 11(2005), pp. 943-949.
6) Shore hardness test - Test method, JIS Z 2246-2000 (in Japanese).
7) Yamamoto, T., Medaka (Killifish) Biology and strains, Keigaku Pub. Co., (1975), pp. 30-72.
8) Konno K., Kosawada T., Akutsu M., Three-dimensional micro actuator and sensor system for dynamic stimulations and evaluations of mechanical properties of minute living cells, Journal of biomechanical science and engineering Vol.1 No.1 (2006), pp. 147-158.
9) Rosenberg, N., Levy, M. and Francis, M., Experimental model for stimulation of cultured human osteoblast-like cells by high frequency vibration, Cytotechnology, 39 (2002), pp.125-130.
10) Ken-ichi Konno, Tadashi Kosawada, Hiroshi Yamazaki, Yasukazu Hozumi and Kaoru Goto: Development of Three-Dimensional Micro Vibration Stage and Its Application to Control Device for Cell Culture, Journal of Biomechanical Science and Engineering, Vol. 3, No. 1, pp. 38-49, (2008).

real-time PCR 法を用いた
迅速な敗血症起因菌同定システムの構築に関する研究

研究責任者　富山大学附属病院　検査部
助　教　　仁井見　英　樹
共同研究者　富山大学附属病院　検査部
部　長　　北　島　　勲

１．はじめに

敗血症は重篤な全身感染症で、確定診断には血液中の起因微生物の検出が必須である。近年、がん治療や臓器移植など医療の高度化に伴い、敗血症発症のリスクの高い重症患者が増えている[1)]。また、院内感染の観点からメチシリン耐性黄色ブドウ球菌（MRSA）をはじめとする多剤耐性菌が敗血症の起因菌となることも多く、適切な抗菌薬を選択し患者を救命するためには、血液中の起因菌を可能な限り迅速に検出・同定することが臨床上重要である。しかし現在の細菌学的検出法では、血液培養ボトルの提出から細菌の同定までに少なくとも18時間はかかるため、結果が判明するまでの間は経験に基づく治療（empiric therapy）を施行せざるを得なく、盲目的に抗菌薬の選択を余儀なくされていることが臨床的現状である。

本研究は敗血症の早期治療実現のため、起因菌を２時間以内に同定するシステム構築を目的とする。具体的には敗血症が疑われる入院患者において血液一般検体（静脈採血）を用い、微生物のDNAを抽出し、これを鋳型として細菌（MRSA含む）・真菌に特異的なprimerを組み合わせてreal-time PCR を行う。その結果、起因菌に特異的な melting temperature(Tm)値の組み合わせを解析することにより、迅速に菌の検出・同定を行うことを目指す。

今回、起因菌の検出に使用する real-time PCR には今までの検出機器に無い幾つかの優れた特徴がある。その中でも最も特徴的な点は、融解曲線分析により PCR 増幅産物の Tm 値を計算出来ることである[2)]。本研究のシステムは、この Tm 値を主に利用するものである。本システム開発に至った背景を以下に示す。①細菌の 16S ribosomal RNA は、ほぼ全ての細菌に共通の塩基配列領域(20～40 base 程)を 10 ヶ所程もつ[3)]。そこで我々はそのうちの７ヶ所に forward と reverse の primer をそれぞれ設定することにより、７つの PCR 増幅領域を作成することが出来ると想定した。②PCR 増幅領域は、約 150～200 base であり、primer を設定した共通保存領域以外は、それぞれの細菌に固有の塩基配列を持つ。従って、Tm 値も塩基配列の違いを反映して固有の値を示すため、細菌毎に７種類の特徴的な Tm 値を持つことが推定できる。そこでその結果、細菌の種類に応じた７つの Tm

値を調べて、データベース化することにより未知の細菌の同定が期待できる。③更に、真菌に固有の primer、 MRSA 同定の為の spa、mecA の primer を併用すると、未知の起因菌に対し、細菌感染とその種類（MRSA 含む）、或いは真菌感染を同定出来ることを計画し、これらの診断は１０種類の primer 対を並べることで可能となることが期待される。④非特異的な PCR 産物が生じ、目的の Tm 値に近い値を示す場合、false positive のリスクが生じる。そのような場合、real-time PCR 後の増幅産物をアガロース・ゲルに流してバンドの大きさを確認することで、結果を二重にチェックすることが出来る。つまり従来の PCR による検出法で二重チェックするシステムを採用することで検査精度の向上を目指すことが出来る。⑤real-time PCR のもう一つの利点として、定量性が挙げられる。つまり、菌量を治療前後で相対定量することが出来るため、治療効果のモニタリングに役立てることが出来ると考えられる。

以上、本研究の目的は、今までに全く報告の無い、独自の起因菌同定システムを構築することにより、臨床現場で役立つ迅速な敗血症治療に貢献することである。

２．実験材料と方法

２．１　実験材料と DNA 抽出

使用菌株は 2004 年 4 月 1 日から 2005 年 3 月 31 日までの 1 年間に、富山大学附属病院検査部細菌検査室に提出された 1323 検体中陽性となった 160 株（保存菌株）を使用した。

通常の分離培養法は、全自動血液培養検査装置 Bact/Alert（日本ビオメリュー）を用いて培養した。使用ボトルは専用の SA 培養ボトル（好気性菌用）、SN 培養ボトル（嫌気性菌用）、PF 培養ボトル（重篤な小児疾患病原菌検出用）を組み合わせた。分離同定は定法に従った。

DNA の抽出は保存菌株を Mueller-Hinton 寒天培地（日本 BD）、羊血液寒天培地（日水製薬）およびサブロー寒天培地（日本 BD）で分離培養後、その 1colony を滅菌生食水 1ml の入ったマイクロチューブに浮遊させ、12,000 rpm で 2 分間遠心し上清を捨て菌の pellet を残す。次に、InstaGeneMatrix を 200μl 加え、56℃で 15～30 分間加温する。その後、マイクロチューブを激しくボルテックスして、100℃のヒートブロックで 8 分間ボイルする。最後に、12,000 rpm で 2 分間遠心しその上清を DNA 抽出液とした。

２．２　primer の設計

本研究では primer の設計領域として、bacteria の 16S ribosomal RNA, および真菌の 18S ribosomal RNA を対象とした。16S ribosomal RNA は、生命の最も原始的な機能であるリボゾーム上の蛋白の translation 機能に関わっており、全ての生物が欠かすことなく保持している分子である[4]。Carl R. Woese[5] による 16S ribosomal RNA のシークエンスを比較・分類した系統発生樹(図 1)では、細菌は種により幾つかに枝分かれしてはいるが、一つの大きな系統に括られる。しかし真菌は別の大きな系統に位置し、より動物に近い特徴がある。この系統樹から考えると、真菌に独自の primer を設定すると細菌には反応せず、逆に細菌に共通の primer は真菌を除外できると考えられる。つまり、細菌と真菌はそれぞれ別の primer 設計が必要となる。

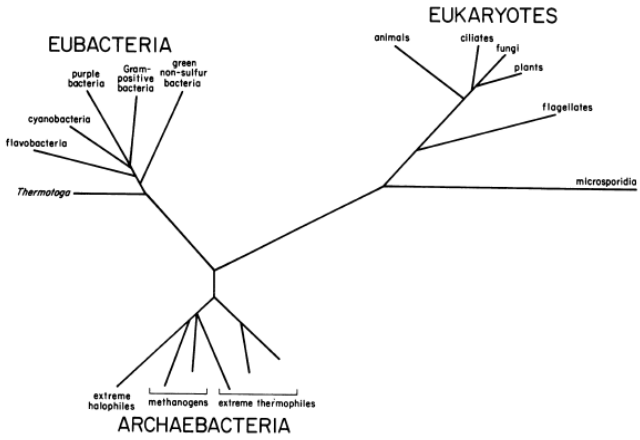


図 1　16S (18S) ribosomal RNA シークエンスの比較による全生物の系統発生樹
CARL R.WOESE, Bacterial Evolution,
MICROBIOLOGICAL REVIEWS, June 1987

真菌共通の保存領域は、多数の真菌で BLAST search を繰り返した結果、150 base 程の極めて保存された領域があることが判明したため、今回設計した primer はこの領域内に設定した。

細菌の primer は、ほぼ全ての細菌に保存された共通の塩基配列領域があることに注目した。この領域は今迄、細菌の 16S ribosomal RNA のシークエンス目的で PCR 増幅する primer 領域として使用され、既知種の細菌の塩基配列は既にほぼ決定された。我々はこれらの既知領域とその周辺を含む領域について多種の細菌で BLAST search を繰り返し、ほぼ全ての細菌に高度に保存された塩基配列領域 7 ヶ所に絞って primer を設計した。

(表 1)は、設計したそれぞれの primer である。bacteria の primer 4 や真菌の primer 領域はほぼ完全に保存されているが、その他の primer は菌によって 1 塩基程度の不一致を生じることがあるため、敢えて Tm 値を 60℃より高めに設定し、1～2 塩基の不一致で primer の Tm 値が下がっても問題なく PCR が施行出来るようにした（PCR の annealing temperature は 55℃に設定している)。

(表 2)は、これらの primer で増幅される PCR 産物の増幅長である。 False positive のリスクに対し、アガロース・ゲルに流し二重チェックする時に必要な値となる。real-time PCR では、迅速性や SYBR green Ⅰの消費量を考慮して、一般に増幅長を 300 base 以内に留めるように primer を設計する。真菌、spa 遺伝子、mecA 遺伝子の増幅領域はそれぞれほぼ完全に保存されているため、長さに多様性は生じないが、細菌の 4 つの増幅領域の長さはそれぞれ数塩基程度の多様性がある。この多様性に対して、我々は、アガロース・ゲルに流して判定する目的においては無視できる範囲の差であると判断した。

表１. Primer Design

name	sequence	length	CG%	Tm
bacteria forward-1	5'-AGAGTTTGATCATGGCTCAG-3'	20	45.0	59.4
bacteria reverse-1	5'-CGTAGGAGTCTGGACCGT-3'	18	61.1	60.3
bacteria forward-2	5'-GACTCCTACGGGAGGCA-3'	17	64.7	61.4
bacteria reverse-2	5'-TATTACCGCGGCTGCTG-3'	17	58.8	63.6
bacteria forward-3	5'-AGCAGCCGCGGTAATA-3'	16	56.3	60.5
bacteria reverse-3	5'-GGACTACCAGGGTATCTAATCCT-3'	23	47.8	60.1
bacteria forward-4	5'-AACAGGATTAGATACCCTGGTAG-3'	23	43.5	58.9
bacteria reverse-4	5'-AATTAAACCACATGCTCCACC-3'	21	42.9	62.4
bacteria forward-5	5'-TGGTTTAATTCGATGCAACGC-3'	21	42.9	66.6
bacteria reverse-5	5'-GAGCTGACGACAGCCAT-3'	17	58.8	60.1
bacteria forward-6	5'-TTGGGTTAAGTCCCGC-3'	16	56.3	59.5
bacteria reverse-6	5'-CGTCATCCCCACCTTC-3'	16	62.5	60.0
bacteria forward-7	5'-GGCTACACACGTGCTACAAT-3'	20	50.0	60.2
bacteria reverse-7	5'-CCGGGAACGTATTCACC-3'	17	58.8	61.4
Fungi forward	5'-ATACCGTCGTAGTCTTAACCA-3'	21	45.0	57.7
Fungi reverse	5'-GTCAATTCCTTTAAGTTTCAGCCT-3'	24	37.5	62.4
spa forward	5'-TAAACGATGCTCAAGCACCAA-3'	21	42.9	65.4
spa reverse	5'-GGTTTAACGACATGTACTCCG-3'	21	47.6	60.8
mecA forward	5'-CAAACTACGGTAACATTGATCGC-3'	23	43.5	64.1
mecA reverse	5'-ATGTATGCTTTGGTCTTTCTGC-3'	22	40.9	61.9

表 2. 各 primer の PCR による増幅長、および E.Coli 中の塩基配列部位

Bacteria area 1；338 bases,　8～345

Bacteria area 2；199 bases,　336～534

Bacteria area 3；287 bases,　519～805

Bacteria area 4；181 bases,　780～960

Bacteria area 5；120 bases,　951～1070

Bacteria area 6；109 bases,　1084～1192

Bacteria area 7；166 bases,　1220～1385

Fungi area；146 bases,　989～1134　(Candida Albicans)

spa area；298 bases,　mecA area；122 bases

２．３　real-time PCR 法

real-time PCR 法とは、サーマルサイクラーと分光蛍光光度計を一体化した装置を用いて、PCR での増幅産物の生成過程をリアルタイムでモニタリングし、解析する方法である[6)]。本法は、電気泳動が不要、かつ、増幅が指数関数的に起こる領域で産物量を正確に定量出来る利点がある。我々は real-time PCR 機器として LightCycler 1.5 (Roche Diagnostics) を使用している。本機は約 40 分で 40 cycle を施行できる real-time PCR 機器の中では最速である為、迅速性が要求される本研究システムに最適であると考える。

real-time PCR 用試薬は FastStart DNA Master^{PLUS} SYBR Green I (Roche Diagnostics) を用いる。 PCR の component は、genomic DNA template 量5μl、PCR primers 10×conc. 2μl（最終濃度は1μM)、Master Mix 5×conc. 4μl、Water PCR grade 9μlで、total 20μlの系で行った。real-time PCRのプログラム設定を以下に示す。尚、extension 時間は、300 base長までの増幅を可能にする最短時間である12sec.に設定した。

real-time PCR のプログラム設定

Program	Analysis Mode	Cycles	Segment	Target Temperature	Time	Fluorescence Acquisition Mode
Pre-incubation	None	1	1	95℃	10 min	None
Amplification	Quantification	40	Denaturation	95℃	10 sec	—
			Annealing	55℃	10 sec	—
			Extension	72℃	12 sec	Single
Melting Curve Analysis	Melting Curves	1	Denaturation	95℃	0 sec	—
			Annealing	65℃	15 sec	—
			Melting	95℃ 0.1℃/sec.	0 sec	Cont
Cooling	None	1	1	40℃	30 sec	—

２．４　融解曲線分析によるTm値データ解析法

real-time PCRを施行後の、Tm値の具体的解析法は、先ず、Quantification curveをチェックし、それぞれのprimerが量的に立ち上がっているかどうかを確認する。他のprimerの立ち上がりcycle数に比較し、極端にcycle数の低い立ち上がりはprimerが掛かっていないと判断する。

次に、melting curveの形状をチェックする。急激にPCR産物が一本鎖に解離し始める“崖”の形状（急激な低下所見）が確認できなければ、そのTm値は信用出来ない。

上記2項目を確認した後、Tm値をmelting curveの“山”から計算する。ManualでTm値を合わせる場合、線引きは山の裾野からの距離がそれぞれ同じになる場所に引かなければならない。山のpeakに線引きを合わせると、しばしば不正確な結果を招くので注意が必要である。

３．結果

３．１　起因菌Tm値データベースの作成

未知の敗血症起因菌を同定するシステムを構築する為には、先ずデータベースの作成が必要である。データベースに登録する起因菌を決定するため、富山大学医学部附属病院検査部にて2004年4月1日から2005年3月31日までの1年間、血液培養検査で陽性となった有効株160株についての検出菌頻度を調べた。結果を(表3)に示した。データベース作成にあたり、(表3)のそれぞれの検出菌株からDNAを抽出し、設計した10種類のprimerでreal-time PCRを行い、菌毎に10のTm値を測定した。

表３　富山大学医学部附属病院における血液培養ボトルからの検出菌頻度表

	name	16S rRNA access #	検出株数
1	Escherichia coli	J01859	19
2	Staphylococcus epidermidis	D83362	18
3	Klebsiella pneumoniae Subsp. pneumoniae	U33121	11
4	Pseudomonas aeruginosa	X06684	11
5	Staphylococcus aureus (MRSA)	L37597	10
6	Staphylococcus aureus (MSSA)	L37597	8
7	Corynebacterium species	Y13427	5
8	Enterococcus faecalis	Y18293	5
9	Staphylococcus capitis. Subsp. ureolyticus	L37599	4
10	Enterobacter cloacae	DQ089673	4
11	Staphylococcus hominis Subsp. hominis	X66101	4
12	Streptococcus pneumoniae	AF003930	4
13	Bacillus species	L29507	3
14	Enterobacter aerogenes	AF395913	3
15	Enterococcus faecium	AY172570	3
16	Serratia marcescens	M59160	3
17	Acinetobacter species	Y11464	2
18	Campylobacter gracilis	L04320	2
19	Candida albicans	AF114470	2

20	Candida krusei	AY964117	2
21	Candida parapsilosis	AY055857	2
22	Citrobacter freundii	AJ233408	2
23	Haemophilus influenzae	M35019	2
24	Klebsiella oxytoca	U78183	2
25	Listeria monocytogenes	X56153	2
26	Propionibacterium acnes	AB097215	2
27	Staphylococcus capitis Subsp. capitis	L37599	2
28	Streptococcus bovis	M58835	2
29	Streptococcus mitis	AM157440	2
30	Aerococcus viridans	M58797	1
31	Bacillus cereus	DQ207729	1
32	Bacteroides thetaiotaomicron	L16489	1
33	Clostridium bifermentas	X75906	1
34	Eubacterium lentum	AF101241	1
35	Enterococcus avium	AJ301825	1
36	Enterococcus gallinarum	AJ420805	1
37	Glucose non fermenter	*	1
38	Kluyvera ascorbata	Y07650	1
39	Morganella morganii	AJ301681	1
40	Peptostreptococcus prevotii	D14139	1
41	Pseudomonas species	AJ295234	1
42	Rhodotorula rubra	AB021668	1
43	Sphingomanas paucimobilis	X94100	1
44	Staphylococcus auricularis	L37598	1
45	Staphylococcus warneri	L37603	1
46	Stenotrophomonas maltophilia	AF017749	1
47	Streptococcus oralis	AF003932	1
48	Streptococcus serogroup G	*	1

全 48 種（検出株数≧1）　＊未登録

（富山大学医学部附属病院検査部 2004.04.01～2005.03.31　有効株 160 株）

まず、Tm値を決定するにあたり、各primerの検出感度を事前に測定した。検出感度を評価するため、菌株から取り出したgenomic DNAを順次希釈し、real-time PCRにて検出の有無を確認した。それぞれのprimerの検出感度には差が生じたが、システムとして評価するには検出感度の最も低いbacteria primer 1 と mecA primerを基準に決め、システムとしての感度をgenomic DNA 1ng/μlと設定した。

本研究において、(表3)の中の嫌気性菌と幾つかの菌については菌株の入手が困難であった為、計35種の起因菌についてデータベースを作成し

た(表4)。表はグラム陽性・陰性、球菌・桿菌に分けて分類し、検出頻度の高い順に並べたものである。この表では、菌からTm値を探すツールとして利用できる。

表 4. Tm 値データベース

グラム陽性球菌

name	Fungi	bac.1	bac.2	bac.3	bac.4	bac.5	bac.6	bac.7	spa	mecA
S. aureus (MRSA)	—	82.94	82.39	82.39	83.87	80.66	81.51	80.87	81.07	(76.21)
S. epidermidis (MRSE)	—	83.22	82.33	83.05	83.70	80.87	81.47	80.30	—	(75.88)
Staphylococcus capitis. Subsp. ureolyticus	—	83.78	82.50	83.05	83.75	80.77	81.43	81.17	—	(76.13)
S. capitis. Subsp. capitis	—	83.65	82.37	83.10	83.64	80.12	81.31	80.24	—	—
Staphylococcus auricularis	—	83.18	82.57	83.14	83.87	80.56	81.86	80.96	81.90	(76.14)
Staphylococcus warneri	—	83.49	82.16	83.11	84.20	80.50	81.66	81.55	—	—
Staphylococcus hominis	—	83.05	82.92	83.00	83.77	79.87	81.44	80.79	—	—
Streptococcus bovis	—	82.75	83.20	82.80	84.30	79.53	80.84	82.58	—	—
Streptococcus mitis	—	83.36	82.60	82.93	83.36	81.60	81.43	83.31	—	—
Streptococcus oralis	—	83.42	82.65	82.83	83.47	81.91	81.43	83.37	—	—
Streptococcus pneumoniae	—	83.47	82.42	83.00	83.26	81.27	81.20	83.10	—	—
Enterococcus faecalis	—	84.75	82.78	84.20	84.24	80.71	82.16	83.63	—	—
Enterococcus faecium	—	(—) 84.28	82.14	83.96	83.97	81.36	81.32	83.06	—	—
Enterococcus avium	—	(—) 83.87	81.88	83.85	84.02	81.22	81.76	82.66	—	—
Enterococcus gallinarum	—	83.67	82.10	84.08	84.20	(—) 81.22	81.90	82.17	—	—

グラム陽性桿菌

name	Fungi	bac.1	bac.2	bac.3	bac.4	bac.5	bac.6	bac.7	spa	mecA
Corynebacterium species	—	85.33	85.86	84.76	(—) 84.27	81.82	84.41	84.18	—	—
Listeria monocytogenes	—	84.44	81.74	84.27	83.71	81.46	81.95	81.77	—	—
Bacillus cereus	—	84.02	83.21	83.40	83.30	81.30	81.49	82.15	—	—

グラム陰性球菌

name	Fungi	bac.1	bac.2	bac.3	bac.4	bac.5	bac.6	bac.7	spa	mecA
Acinetobacter species	—	84.11	82.65	82.40	83.47	80.26	(—) 80.63	81.88	—	—

グラム陰性桿菌

name	Fungi	bac.1	bac.2	bac.3	bac.4	bac.5	bac.6	bac.7	spa	mecA
Escherichia coli	—	84.62	83.76	84.60	85.06	81.50	83.03	82.64	—	—
Klebsiella pneumoniae	—	85.02	84.48	84.85	84.29	81.20	81.84	81.14	—	—
Klebsiella oxytoca	—	84.84	83.46	84.43	83.84	81.08	81.42	81.21	—	—
Pseudomonas aeruginosa	—	84.59	82.49	83.53	83.94	81.52	(—) 83.14	82.96	—	—
Enterobacter cloacae	—	84.85	84.39	84.84	84.27	81.41	81.81	81.15	—	—
Enterobacter aerogenes	—	84.71	83.36	84.78	84.74	80.74	82.46	81.16	—	—
Haemophilus influenzae	—	84.01	82.34	82.85	83.36	80.65	81.58	81.81	—	—
Citrobacter freundii	—	85.03	84.14	84.96	84.91	81.12	82.32	81.75	—	—
Morganella morganii	—	84.42	83.38	83.94	84.54	80.90	82.80	81.46	—	—
Sphingomanas paucimobilis	—	—	83.06	83.47	83.56	81.87	81.67	83.58	—	—
Serratia marcescens	—	84.76	83.82	84.27	84.01	80.92	82.48	81.65	—	—
Kluyvera ascorbata	—	83.70	82.41	83.27	83.89	80.85	81.84	80.67	—	—

真菌

name	Fungi	bac.1	bac.2	bac.3	bac.4	bac.5	bac.6	bac.7	spa	mecA
Candida albicans	79.79	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Candida krusei	81.11	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Candida parapsilosis	79.62	—	—	—	—	—	—	—	—	—

３．２　起因菌同定早見表の作成

未知の敗血症起因菌を解析した場合、得られるデータは10のTm値の組合せである。(表5)は菌による分類を重視したものである為、Tm値から検索するには不向きと判断した。よってTm値から起因菌を容易に同定するために、起因菌同定早見表を作成した(表5)。

横の並びは先ず、Fungi primerが陽性となる真菌を見極めの最優先事項として最上段に並べた。次にspaが陽性となる菌が少ないことを考慮して、2番目の優先次項においた。3番目にはmecAをおいたが、この理由は単純にMRSAとMSSAとの見極めのためである。Staphylococcus epidermidisや他のStaphylococcus種の一部はmecAを持つ可能性がある（早見表の()で囲んだ部分）が、陰性であった場合の判断が困難となるため、敢えて次のルールに合わせることにした。上記の優先次項を除いた残りの菌について、bacteria primer 1から７までTm値の高い方から順に並べることにした。このように並べることで、容易な検索が可能となった。

更に、早見表のbacteriaのTm値に差異のパターンが分かるよう、差異の数値を加えた。左隣のTm値に対する変動幅の大小間系を±の数値で表し、**大きな変動**は**赤**色、**小さな変動**は**青**色を加え視覚的にも判り易くした。これにより、多少Tm値全体がばらついても、bacteria の７つのTm値の差異パターンにより判別することが可能となる。

表 5. 起因菌同定早見表

fungi	spa	bac.1	bac.2	bac.3	bac.4	bac.5	bac.6	bac.7	mecA	name
81.11	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Candida krusei
79.79	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Candida albicans
79.62	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Candida parapsilosis
—	81.90	83.18	82.57 -0.61	83.14 +0.57	83.87 +0.73	80.56 -3.31	81.86 +1.30	80.96 -0.90	(76.14)	Staphylococcus auricularis
—	81.07	82.94	82.39 -0.55	82.39 0	83.87 +1.48	80.66 -3.21	81.51 +0.85	80.87 -0.64	(76.21)	S. aureus (MRSA)
—	—	85.33	85.86 +0.53	84.76 -1.10	(—) 84.27 -0.49	81.82 -2.45	84.41 +2.59	84.18 -0.23	—	Corynebacterium species
—	—	85.03	84.14 -0.89	84.96 +0.82	84.91 -0.05	81.12 -3.79	82.32 +1.20	81.75 -0.57	—	Citrobacter freundii
—	—	85.02	84.48 -0.54	84.85 +0.37	84.29 -0.56	81.20 -3.09	81.84 +0.64	81.14 -0.70	—	Klebsiella pneumoniae
—	—	84.85	84.39 -0.46	84.84 +0.45	84.27 -0.57	81.41 -2.86	81.81 +0.40	81.15 -0.66	—	Enterobacter cloacae
—	—	84.84	83.46 -1.38	84.43 +0.97	83.84 -0.59	81.08 -2.76	81.42 +0.34	81.21 -0.21	—	Klebsiella oxytoca
—	—	84.76	83.82 -0.94	84.27 +0.45	84.01 -0.26	80.92 -3.09	82.48 +1.56	81.65 -0.83	—	Serratia marcescens
—	—	84.75	82.78 -1.97	84.20 +1.42	84.24 +0.04	80.71 -3.53	82.16 +1.45	83.63 +1.47	—	Enterococcus faecalis
—	—	84.71	83.36 -1.35	84.78 +1.42	84.74 -0.04	80.74 -4.00	82.46 +1.72	81.16 -1.30	—	Enterobacter aerogenes
—	—	84.62	83.76 -0.86	84.60 +0.84	85.06 +0.46	81.50 -3.56	83.03 +1.53	82.64 -0.39	—	Escherichia coli
—	—	84.59	82.49 -2.10	83.53 +1.04	83.94 +0.41	81.52 -2.42	(—) 83.14 +1.62	82.96 -0.18	—	Pseudomonas aeruginosa
—	—	84.44	81.74 -2.70	84.27 +2.53	83.71 -0.56	81.46 -2.25	81.95 +0.49	81.77 -0.18	—	Listeria monocytogenes
—	—	84.42	83.38 -1.04	83.94 +0.56	84.54 +0.60	80.90 -3.64	82.80 +1.90	81.46 -1.34	—	Morganella morganii
—	—	(—) 84.28	82.14 -2.14	83.96 +1.82	83.96 0	81.36 -2.60	81.32 -0.04	83.06 +1.74	—	Enterococcus faecium

—	—	84.11	82.65 -1.46	82.40 -0.25	83.47 +1.07	80.26 -3.21	(—) 80.63 +0.37	81.88 +1.25	—	Acinetobacter species
—	—	84.02	83.21 -0.81	83.40 +0.19	83.30 -0.10	81.30 -2.00	81.49 +0.19	82.15 +0.66	—	Bacillus cereus
—	—	84.01	82.34 -1.67	82.85 +0.51	83.36 +0.51	80.65 -2.71	81.58 +0.93	81.81 +0.23	—	Haemophilus influenzae
—	—	(—) 83.87	81.88 -1.99	83.85 +1.97	84.02 +0.17	81.22 -2.80	81.76 +0.54	82.66 +0.90	—	Enterococcus avium
—	—	83.78	82.50 -1.28	83.05 +0.55	83.75 +0.70	80.77 -2.98	81.43 +0.66	81.17 -0.26	(76.13)	Staphylococcus capitis. Subsp. ureolyticus
—	—	83.70	82.41 -1.29	83.27 +0.86	83.89 +0.62	80.85 -3.04	81.84 +0.99	80.67 -1.17	—	Kluyvera ascorbata
—	—	83.67	82.10 -1.57	84.08 +1.98	84.20 +0.12	(—) 81.22 -2.98	81.90 +0.68	82.17 +0.27	—	Enterococcus gallinarum
—	—	83.65	82.37 -1.28	83.10 +0.73	83.64 +0.54	80.12 -3.52	81.31 +1.19	80.24 -1.07	—	S. capitis. Subsp. capitis
—	—	83.49	82.16 -1.33	83.11 +0.95	84.20 +1.09	80.50 -3.70	81.66 +1.16	81.55 -0.11	—	Staphylococcus warneri
—	—	83.47	82.42 -1.05	83.00 +0.58	83.26 +0.26	81.27 -1.99	81.20 -0.07	83.10 +1.90	—	Streptococcus pneumoniae
—	—	83.42	82.65 -0.77	82.83 +0.18	83.47 +0.64	81.91 -1.56	81.43 -0.48	83.37 +1.94	—	Streptococcus oralis
—	—	83.36	82.60 -0.76	82.93 +0.33	83.36 +0.43	81.60 -1.76	81.43 -0.17	83.31 +1.88	—	Streptococcus mitis
—	—	83.22	82.33 -0.89	83.05 +0.72	83.70 +0.65	80.87 -2.83	81.47 +0.60	80.30 -1.17	(75.88)	S. epidermidis (MRSE)
—	—	83.05	82.92 -0.13	83.00 +0.08	83.77 +0.77	79.87 -3.90	81.44 +1.57	80.79 -0.65	—	Staphylococcus hominis
—	—	82.75	83.20 +0.45	82.80 -0.40	84.30 +1.50	79.53 -4.77	80.84 +1.31	82.58 +1.74	—	Streptococcus bovis
—	—	—	83.06	83.47 +0.41	83.56 +0.09	81.87 -1.69	81.67 -0.20	83.58 +1.91	—	Sphingomanas paucimobilis

３．３　Blind Test によるシステムの検証

Blind Testで本システム検査精度を検証するために、起因菌をブラインドにして7つのprimerでreal-time PCRを行い、Tm値解析の結果を利用した、菌の同定を試みた。（表6）に結果を示した。計12回施行した結果、12回の全てに正解を得ることが出来た。

表６．Blind Test の結果

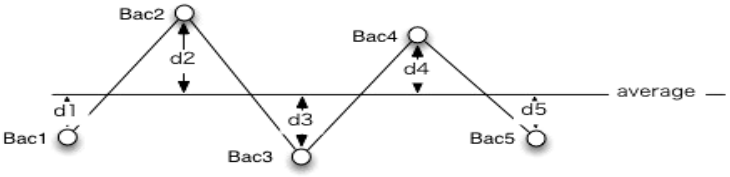
試験 No.	同定結果	解答	判定
1	Pseudomonas aeruginosa	Pseudomonas aeruginosa	○
2	Escherichia coli	Escherichia coli	○
3	Rhodotorula rubra	Rhodotorula rubra	○
4	Enterobacter cloacae	Enterobacter cloacae	○
5	Klebsiella pneumoniae	Klebsiella pneumoniae	○
6	S. aureus (MRSA)	S. aureus (MRSA)	○
7	S. aureus (MSSA)	S. aureus (MSSA)	○
8	Enterococcus faecalis	Enterococcus faecalis	○
9	Candida parapsilosis	Candida albicans	○
10	Bacillus species	Bacillus species	○
11	Corynebacterium species	Corynebacterium species	○
12	Enterobacter aerogenes	Enterobacter aerogenes	○

３．４　データベース型起因菌同定 IT システムの開発

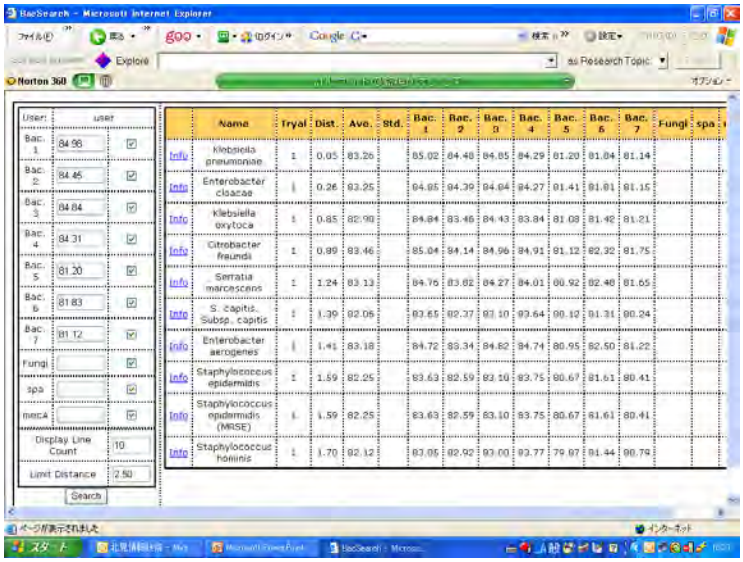
今後の Tm 値データベースの拡大を見込み、起因菌同定検索の自動化とインターネット上でのオンライン化を目的として、データベース型起因菌同定 IT システムを開発した。ソフトウェアの同定アルゴリズムとしては、７つの Tm 値の平均値と、それぞれの Tm 値との距離を取り、その距離の差がデータベースの値と最も近いものを、起因菌として同定する。これにより、機器の測定誤差を打ち消すことが可能となる。

ソフトウェアの同定アルゴリズム：

距離の差＝ $(d1_{db}-d1_{ref})^2+(d2_{db}-d2_{ref})^2+...+(dn_{db}-dn_{ref})^2$



以下に実際の起因菌同定 IT システムのネット上画面を示す。

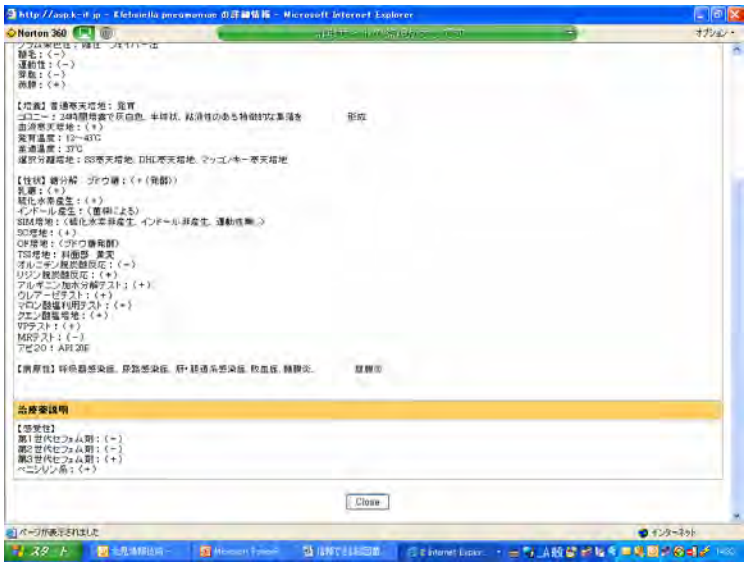


起因菌同定 IT システムには ID, PASSWORD, 更に日本語、英語の選択後にアクセスすることが出来、未知の起因菌の Tm 値の組合せを入力すると、距離の差の最も近いものから順に表示する。
つまり、距離の最も近いものが起因菌として同定される。更にインフォメーションボタンをクリックすると、起因菌の基本情報と選択すべき抗菌薬の種類の情報を同時に得ることが出来る。

（以下に菌基本情報画面を示す）インフォメーションボタンのクリック時に表れる菌の基本情報画面。クレブシエラ・ニューモニエを例に示す。

クレブシエラ・ニューモニエに関する基本情報全てを知り得ることが出来る。

スクロールダウンすると抗菌薬選択情報を参照できる為、適切な抗菌薬の選択を行うことができる。



抗菌薬情報を同時に得ることが出来るため、同定結果を直ぐに臨床に生かすことが可能となる。

具体的なソフトウェアの機能としては、

１）データベースは書き込みして順次拡大することができる

２）Tm 値の組合せを用途に応じて細菌で１～７つ、真菌で１～６つに変更出来、更に多剤耐性遺伝子用の Tm 値を適宜追加できる

３）Tm 値からだけでなく、菌名からも逆引きできる

４）菌名と共に、選択すべき抗菌薬や菌の詳細情報、コメントなどを同時に表示できる

５）各病院の抗菌薬一覧を事前に入力しておけば、最適な抗菌薬を自動的に提示することができる

６）オンライン化により、外部からアクセスして Tm 値を打ち込むことで、起因菌の同定検索ができる

以上をソフトウェア開発の条件とし、期間内に１）、２）、３）、４）、６）の事項を達成した。

４．考察

４．１　本研究の独創性

本研究で構築した起因菌同定システムとは、real-time PCR法が融解曲線分析によりPCR増幅産物のTm値を計算できる特性と、全ての菌がprimerを設定できるだけの共通保存領域を持ちながら、その他の領域は菌特異的な塩基配列を持つことの事実を融合し、Tm値の組合せを菌の“finger print”として利用する全く新しい細菌同定法である（PCT/JP2007/053078）。

４．２　本研究におけるTm値の概念と組合せの多様性

本研究で言うTm値とは、PCR産物の50％がその相補鎖と解離する時の温度である[9]。一般的にTm値とは、primerのオリゴがその相補鎖と2本鎖を形成する理論的な限界温度として使用されている[10]為、本研究でいうPCR産物のTm値と、一般的なprimerのTm値とは、別の概念である。

次に、Tm値は以下の条件で変化する。①高塩濃度では上がる。②高オリゴ濃度では下がる。③GC richな配列では上がる。④変性剤存在下では下がる。以上まとめると、バッファー組成などが異なる実験条件下ではTm値も変化する。この対策として、$MgCl_2$濃度の固定されたSYBR Greenを反応バッファーとして使用することで、実験誤差を生じないように工夫した。また、同定ソフトウェア中のアルゴリズムはこれらの変動を打ち消すことが出来る。

Tm値の計算法には、GC%法、Wallace法、nearest neighbor法などがあるが、一般的にはnearest neighbor法が最も信頼性が高いとされている[11]。nearest neighbor法のモデルとは次の考え方に基づいている。すなわち、核酸の塩基対形成に最も影響を与えるのは、既に形成されている隣接した塩基対であるという考え方を基本とし、２本鎖の安定性は逐次塩基対形成の総和として20種類足らずのパラメータのみによって求めることができるというものである。この計算方法は極めて煩雑であるが、要はTm値とは塩基配列の長さとGC%のみで決まる訳ではなく、塩基配列の並びそのものが影響すると考えられている[12]。従って、本研究で設定したbacteria primerで増幅した７つの領域は、それぞれ独自の塩基配列を持つ故に、独自のTm値の組合せを持つ。逆に言えば、同じ種で塩基配列の相同性が近い程、Tm値も近い値の組合せとなる。

４．３　本研究システムの利点

本研究の起因菌同定システムを使うことにより、以下の３つの利点が考えられる。①データベースからの検索により、10種類のprimerのみで、抗菌薬選択に必要な起因菌の同定が出来る。もし1回のreal-time PCRの施行により本研究のシステムを使用せずに細菌の同定を施行した場合、ほぼ無限に菌特異的primerを用意する必要があり、実用的には不可能に近い。また、本研究のシステムは、敗血症の起因菌同定に限らず、一般の血液培養からの菌株の同定にも十分役立つと考えられる。②迅速診断が可能となる。我々は菌からのDNA

の抽出に自動核酸抽出装置（MagNA Pure LC）を使用しているが、核酸抽出装置か市販の抽出キットかに関わらず、1時間以内にDNAの抽出が可能である。real-time PCRの施行は40 cycleで40分程であるので、準備時間を含めても約2時間で同定が可能となる。③相対定量が可能である。PCR施行前にDNAを抽出する全血検体の量を一定に定めれば、菌量の相対定量が可能となる。従って、抗菌薬投与後の治療効果のモニタリングが可能である。

その他、現行法との比較による本システムの利点を(表7)に示す。

５．まとめ

今回、我々は迅速な敗血症起因菌同定システムを構築した。また、web 上で誰でも使える同定ソフトウェアを開発し、迅速・簡便・安価な起因菌同定 IT システムの実用化を目指している(図２)。今後、患者検体を用いたシステム評価と更なる改良に努める計画である。

表7　迅速性および検査費用の比較

	現行の細菌検査	本同定システム
同定時間	グラム陰性桿菌; 8 時間 グラム陽性球菌; 22 時間 グラム陽性桿菌; 42 時間 グラム陰性球菌; 42 時間 嫌気性菌; 90 時間 真菌; 90 時間 カンピロバクター; 138 時間	全ての細菌･真菌を 2時間以内に同定
検査費用 （収支）	起因菌が検出されない場合、 350円の黒字 一菌種の検出結果で、 850円の赤字 二菌種の検出結果で、 2000円の赤字	起因菌が検出されない場合、 850円の黒字 一菌種の検出結果で、 1950円の黒字 二菌種の検出結果で、 2350円の黒字

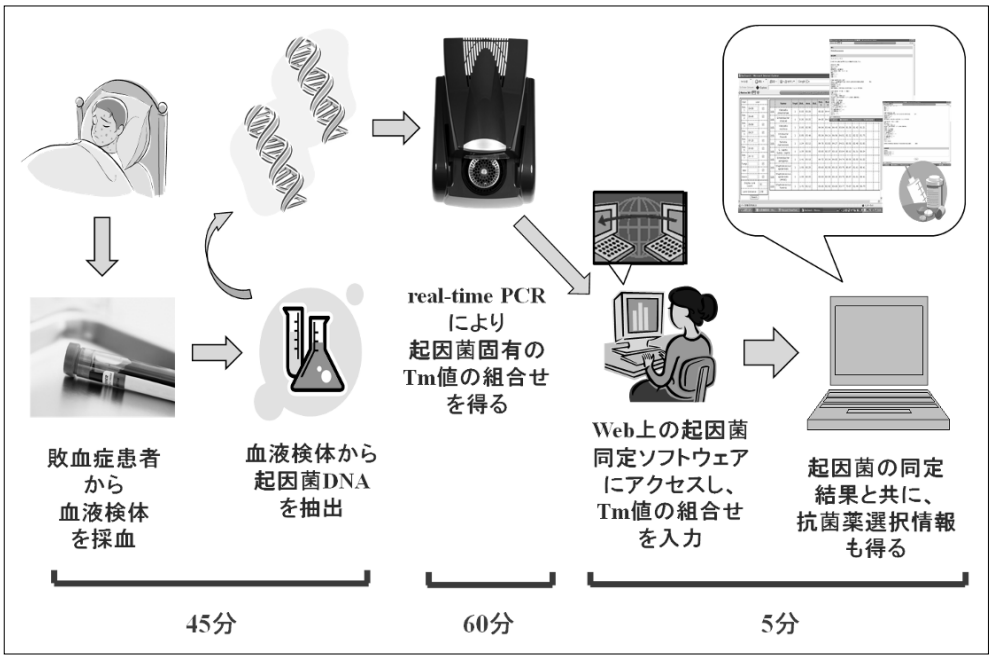


図2　敗血症起因菌同定 IT システムの流れ

謝辞

今回の研究成果は、富山大学附属病院検査部の北島部長をはじめ、細菌室および遺伝子・先進医療支援部門スタッフの多大なご協力により為されたものであり、心より感謝の意を表します。

参考文献

1）Jean-Michel Lacroix,Keith Jarvi,Sukhsatej D. Batra,Dianne M.Heritz,Marc W.Mittelman.(1996) PCR-based technique for the detection of bacteria in serum and urine.J.Microbiol.Methods 26,61-71.

2）Nele Wellinghausen,Beate Wirths,Axel R.Franz,Lothar Karolyi,Reinhard Marre,Udo Reischl.(2004) Algorithm for the identification of bacterial pathogens in positive blood cultures by real-time LightCycler polymerase chain reaction(PCR) with sequence-specific probes.Diagn Microbiol Infect Dis 48,229-241.

3）Beverley C.Millar,Xu Jiru,John E.Moore,John A.P.Earle.(2000) A simple and sensitive method to extract bacterial,yeast and fungal DNA from blood culture material.J.Microbiol Methods 42,139-147.

4）中村明子、小寺恵美子、森口洋子、松島佳子、西岡淳二、森下芳孝、桜井洋至、藪泰宣、和田英夫、上本伸二、登　勉．生体肝移植症例での PCR による真菌感染症の早期診断ならびに鑑別診断の試み．臨床病理　2005；53：686-691.

5）奥住捷子、米山彰子、中原一彦．mecA 遺伝子と Spa 遺伝子の同時増幅による MRSA・MR-CNS・MSSA の検査材料直接検出の検討．機器・試薬　1998；21;1:85-89.

6）Consuelo Ferrer,Francisca Colom,Susana Frases,Emilia Mulet,Jose L,Alio.(2001) Detection and Identification of Fungal Pathogens by PCR and by ITS2 and 5.8S Ribosomal DNA Typing in OcularInfections.J.Clin. Microbiol.39:2873-2879.

7）Dirk M.Leinberger,Ulrike Schumacher,Ingo B. Autenrieth,and Till T.Bachmann (2005) Development of a DNA Microarray for Detection and Identification of Fungal Pathogens Invasive Mycoses.J.Clin. Microbiol.43:4943-4953.

8）A.Karakousis,L.Tan,D.Ellis,H.Alexiou,P.J. Wormald (2005) An assessment of the efficiency of fungal DNA extraction methods for maximizing the detection of medically important fungi using PCR. J.Microbiol Methods Aug 12.

9）P.Lewis White,David W.Williams,Tomoari Kuriyama,Shamim A.Samad,Michael A.O.Lewis,and Rosemary A Barnes. (2004) Detection of Candida in Concentrated Oral Rinse Cultures by Real-time PCR. J.Clin.Microbiol.42:2101-2107.

10）Mangala A.Nadkarni,F.Elizabeth Martin, Nicholas A.Jacques and Neil Hunter. (2002) Determination of bacterial load by real-time PCR using a boad-range (universal) probe and primers set..Microbiology.148:257-266.

11）L.Louie、J.Goodfellow、P. Mathieu,A.Glatt, M.Louie(2002)Rapid Detection of MethiciIlin-Resistant Staphylococci from Blood cullture Bottles by Using by using a Multiplex PCR assay. Diagn Microbiol Infect Dis 40, 2786-2790.

12）Anna-Maria Costa(2005)Rapid detection of mecA and nuc genes in staphylococci by real-time multiplex polymerase chain reaction.Diagn Microbiol Infect Dis 48,229-241

超音波による組織粘弾性３Ｄマイクロスコープの開発

研究責任者　京都大学大学院医学研究科人間健康科学系
教　授　　椎　名　　毅
共同研究者　京都大学大学院工学研究科
准教授　　山　川　　誠
産業技術総合研究所人間福祉工学部門
研究員　　新　田　尚　隆
筑波大学大学院人間総合科学研究科
准教授　　植　野　　映

１．はじめに

組織の質的な変化を捉える組織性状診断は、組織形態の病変が顕在化する前の早期診断や良悪性の鑑別診断を可能とするものとして重要視されている。その中でも、組織の硬さは、がん、肝硬変、動脈硬化症などの病態を敏感に反映することから、組織弾性を画像化する組織弾性イメージングの研究が進められている。

我々は、超音波を用いて非侵襲的かつ実時間で組織弾性像を描出する、超音波組織弾性イメージング技術を開発してきたが、近年、企業との共同研究で乳がん診断を目的した装置の製品化を実現した。[1] これまでの多数の乳腺腫瘍を対象とした臨床評価の結果から、組織弾性像を用いることで、従来の超音波像による診断に比べより簡便な診断基準にて、高精度ながん診断が可能なことが示されている。[2]

一方で、このような新しい診断情報としての組織弾性に基づく診断基準を確立し、疾病の進行度の把握や、良悪性鑑別等を可能にするためには、組織の粘弾性の変化の病理学的な意味付けが重要となる。しかし、工業材料と異なり生体組織に関する計測例は乏しく、Krouskop[3]やSamani[4]らが、摘出した乳腺と前立腺組織の弾性の計測を試みている例が僅かにある程度であり、特に疾病との対応を定量的に把握できる基礎データは皆無に近い。これらは、工業材料試験と同様、微小な円盤で押した際の変形から組織弾性を求める機械的な手法を用いるため得られるのは二次元的な分布のみであり、空間分解能も十分でない。

また、米国ミシガン大学のグループは、高周波の超音波を用いて顕微鏡的に組織弾性の分布の測定を試みている。[5] しかし、これらは、高分解能を得ることを重視しているため、高周波で減衰が大きくなることから、組織を薄切片にして測定することになる。しかし、体内における組織の力学的な特性を正確に把握するには、３次元的な構造を保った状態で計測する必要性がある。

このため、本研究では、組織性状診断技術の向上の観点から、組織粘弾性と病理組織との対応関係を解明する手段として、超音波により組織切片における粘弾性の三次元分布を高分解能かつ定量的に計測可能な、超音波組織粘弾性３Ｄマイクロスコープの開発を試みた。

２．組織の粘弾性パラメータ

組織弾性イメージングの手法としては、これまでに様々なものが提案されてきたが、その中でも、近年、実用化されものは、プローブで体表から軽く圧迫を加えることで組織を変形させ、そのときに生ずる変形率（ひずみ）を計測して弾性分布を求める static method と分類されるものである。これは、診断に際して通常の超音波探触子に加えて新たに装置を付加する必要がなく、また容易に高い空間分解の組織弾性像を得られるなどの利点がある。また、データ取得のための時間は、基本的には超音波像を得るための時間と同等であるため、３次元の組織弾性像を求める場合に適している。

臨床計測で得られる組織弾性イメージから病理学的診断をすることが目的なので、摘出組織での計測法も臨床計測と同等な手法であることが望ましいと言える。そこで、本研究で目指す組織粘弾性３Ｄマイクロスコープについても、static method を適用した。

まず、組織弾性については、組織に応力σを加えてながら、生じるひずみεとの関係を測ることで応力－ひずみ曲線が得られるが、式（１）のように、その勾配としてヤング率Eが得られる。

$$E(\varepsilon)=\frac{\partial\sigma(\varepsilon)}{\partial\varepsilon} \qquad (1)$$

この軟組織の応力―ひずみ曲線は、次式のように指数関数で近似できることが知られている。

$$E(\varepsilon)=E_0\cdot e^{\beta\cdot\varepsilon} \qquad (2)$$

ここで、E_0はひずみεが小さく応力σと比例する線形な範囲でのヤング率、βは弾性の非線形性を示すパラメータである。式（２）の両辺の対数を取ることで次式が得られるので、直線近似することで、その勾配と切片から、これらのパラメータが求めることができる。

$$\log E(\varepsilon)=\log E_0+\beta\cdot\varepsilon \qquad (3)$$

一般に、応力―ひずみ曲線は、図１に示すように圧迫時と弛緩時では異なる軌跡をたどるヒステリシス特性を示すが、このループの面積 H は組織の粘性に対応するものと考えられる。例えば、靭帯組織では比較的 H の値は小さく、平滑筋では大きな値を示す。組織弾性と併せて粘性も、組織の性状を表す指標であることから、この H の値が、正常組織とがん等の疾病の識別に役立つことが期待される。しかし、このヒステリシスループの面積自体は、圧縮－弛緩の折り返し点となるひずみの値ε_0に依存する。そこで、われわれは、次式で示すヒステリシスパラメータ HP を導入した。[6)]

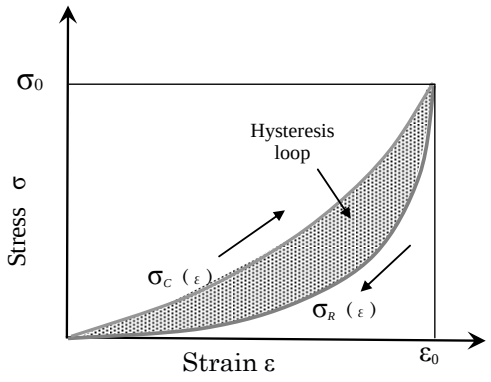


図１　軟組織の応力－ひずみ曲線に
おけるヒステリシス特性

$$HP=\frac{\int_0^{\varepsilon_0}\sigma_c(\varepsilon)d\varepsilon-\int_0^{\varepsilon_0}\sigma_R(\varepsilon)d\varepsilon}{\int_0^{\varepsilon_0}\sigma_c(\varepsilon)d\varepsilon} \qquad (4)$$

ここで、$\sigma_c(\varepsilon)$ と $\sigma_R(\varepsilon)$ は、それぞれ応力－ひずみ曲線の圧迫時と弛緩時の部分を示す。HP は、0 から 100％の値を取り、HP の大きな値の組織は粘性が大きいことを意味する。

３．測定システム

３．１　システムの構成

組織切片において３次元的分布の計測を可能とするための、図２に示すシステム（３Ｄ組織粘弾性マイクロスコープ）を構築した。

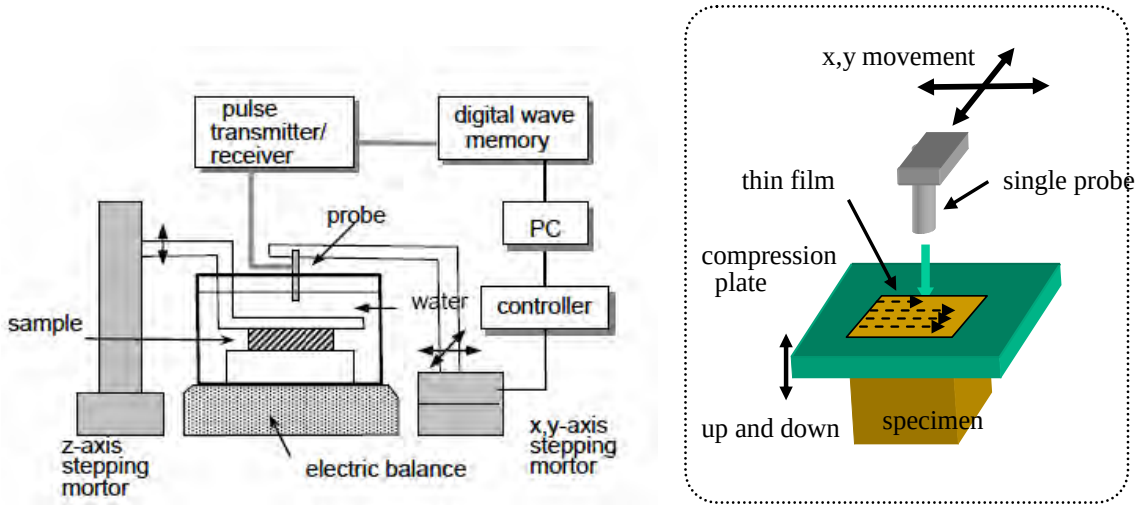


図2　3D組織粘弾性マイクロスコープ

力学的な特性を保持できる範囲として、5ｍｍ程度の組織切片に対して粘弾性の３次元分布を計測できることを想定した。このため、透過深度を考慮し超音波周波数を 20MHz に設定した。組織片は、脱気水を入れた水槽内に設置され、中央に窓を開けて薄膜を張り付けた圧縮板により、組織の上方からステッピングモータの制御で圧迫、弛緩を行った。また、水槽自体は電子天秤の上に置かれ、圧迫による加重から組織表面での応力が算出された。超音波プローブは、ステッピングモータによりｘｙ平面内の走査を行い、組織からのエコー信号のボリュームデータを取得した。

３．２　データ計測とパラメータの算出

組織切片を圧縮板で加圧する際、応力＝０を起点とした。まず、図３に示すように、プローブをｘｙ平面内で走査し、エコー信号のボリュームデータを記録し、次に圧縮板で僅かに加圧した状態で、同様にエコー信号のボリュームデータを記録し、これを繰り返しながら、圧縮―弛緩における、各応力値での、エコー信号のデータを収集した。組織切片内での応力の分布は一様で、組織表面すなわち電子天秤から得られる値に等しいと仮定した。これは、圧縮板の面積が組織片の厚みに比べ十分大きいので妥当と考える。

まず、１ステップ異なる応力値の２つのボリュームデータに対して、各点における式(3)を用いて、各点におけるビーム方向（ｚ方向）の変位分布を求めた。この際、組織弾性イメージング用に我々が開発したＣＡ法（複合自己相関法）を用いた。次に、ｚ方向に沿って、変位分布の空間微分を行いひずみ(ｚ成分)の分布を求めた。さらに、これらより、各点において応力－ひずみ曲線を得、式(３)を用いてE_0を算出した。また、式（４）を用いてＨＰの分布を求めた。

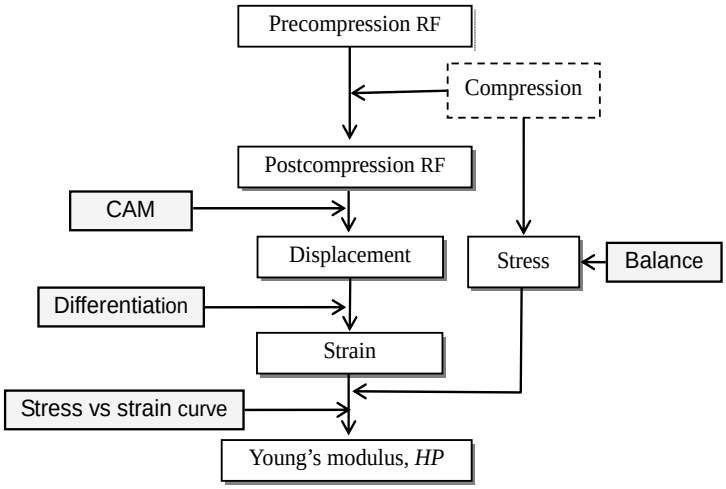


図3　データ収集とパラメータ算出の手順

４．空間分解能の解析

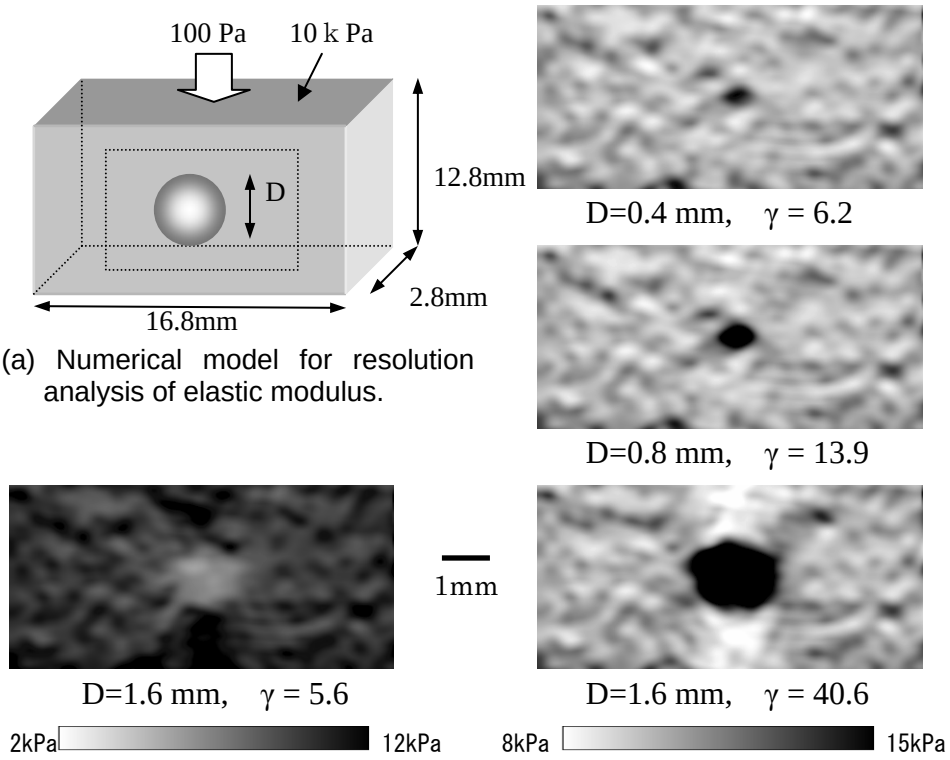
弾性イメージの分解能は、波長、ビーム幅など測定系や、相関窓幅などの信号処理の様々なパラメータに依存する。このため、3 次元の組織モデルを用いて、弾性イメージの空間分解能について検討した。

組織片は、図 4 に示すように大きさ 12.8㎜ｘ16.8㎜ ｘ2.8㎜で、ヤング率 10kPa であり、その中に球状の内包物を含むモデルを考えた。上方から、平均１％のひずみを生じさせるため 100Pa で圧迫した。各部の変形は 3 次元の有限要素法で計算した。次に各点からのエコー信号を生成した。超音波は 20MHz とし、パルス幅は 0.108㎜、焦点でのビーム幅は 0.32㎜、走査線間隔は、ｘ方向、ｙ方向ともに 50μｍとした。エコー信号は 240MHｚ、11bits でサンプリングされた。パラメータとして、内包物の直径とヤング率を様々に変え、弾性イメージ（ヤング率分布）を得た。

弾性イメージの評価指標として、次式を用いた。

$$\gamma = \frac{\Delta E_{\max}}{\sigma_{sur}} \qquad (5)$$

ここで、$\Delta E_{\max}$ は、内包物と周囲とのヤング率の差の最大値、σ_{sur} は、周囲のヤング率の標準偏差を示す。一般に、γが大きくなると視認性が高まるが、ここでは事前に主観評価のテストを行った結果に基づき、γ＝2.5 を閾値としてそれ以上の場合に、内包物が識別可能とし、その時の直径Ｄ



(a) Numerical model for resolution analysis of elastic modulus.

(b) Young's modulus image for different values of γ

図4　空間分解能およびコントラスト分解能のシミュレーション解析

を空間分解能とした。空間分解能は、内包物のヤング率E_{in}と周囲とのヤング率E_{sur}の差に大きく依存する。例えば、図４(b)では、内包物がE_{in}=100ｋPaで周囲E_{sur}＝10kPaの10倍の場合であるが、空間分解能は0.4mm程度であることがわかる。一方、内包物がE_{in}＝１ｋPaと周囲E_{sur}＝10kPaの1/10で軟らかい場合はコントラストが下がり、識別が難しくなるのが示されている。内包物の硬さを様々に変えて評価した。例えば、内包物がE_{in}＝30kPa、周囲E_{sur}＝10kPaでは、空間分解能は、0.8mmとなった。

５. 実験と結果

５．１　ファントム実験による空間分解能の評価

実際に構築したシステムの特性を評価するため、ファントムによる実験を行った。

ファントムはゼラチンをベースにして、内包物としては微小な球形のものは作成が難しいので、棒状のものとして様々な太さ(0.4、0.6、0.8 mm)のスパゲッティを茹でたものを用いた。図５は、機械的に測定したゼラチンのヤング率とひずみ曲線である。これから、10%のひずみでは、ヤング率16ｋPaであることが分かる。また、同様にして測定したスパゲティのヤング率は、139kPaであった。

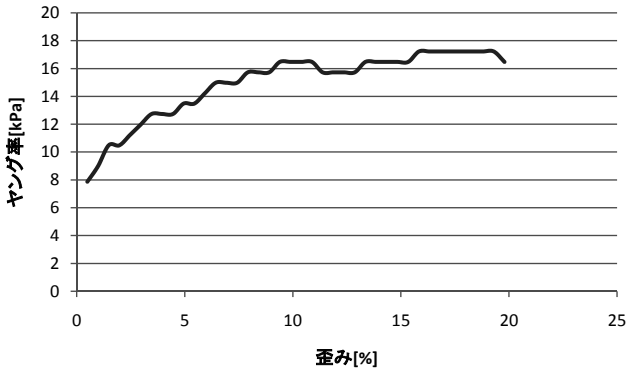


図5　機械的に計測したゼラチンのヤング率

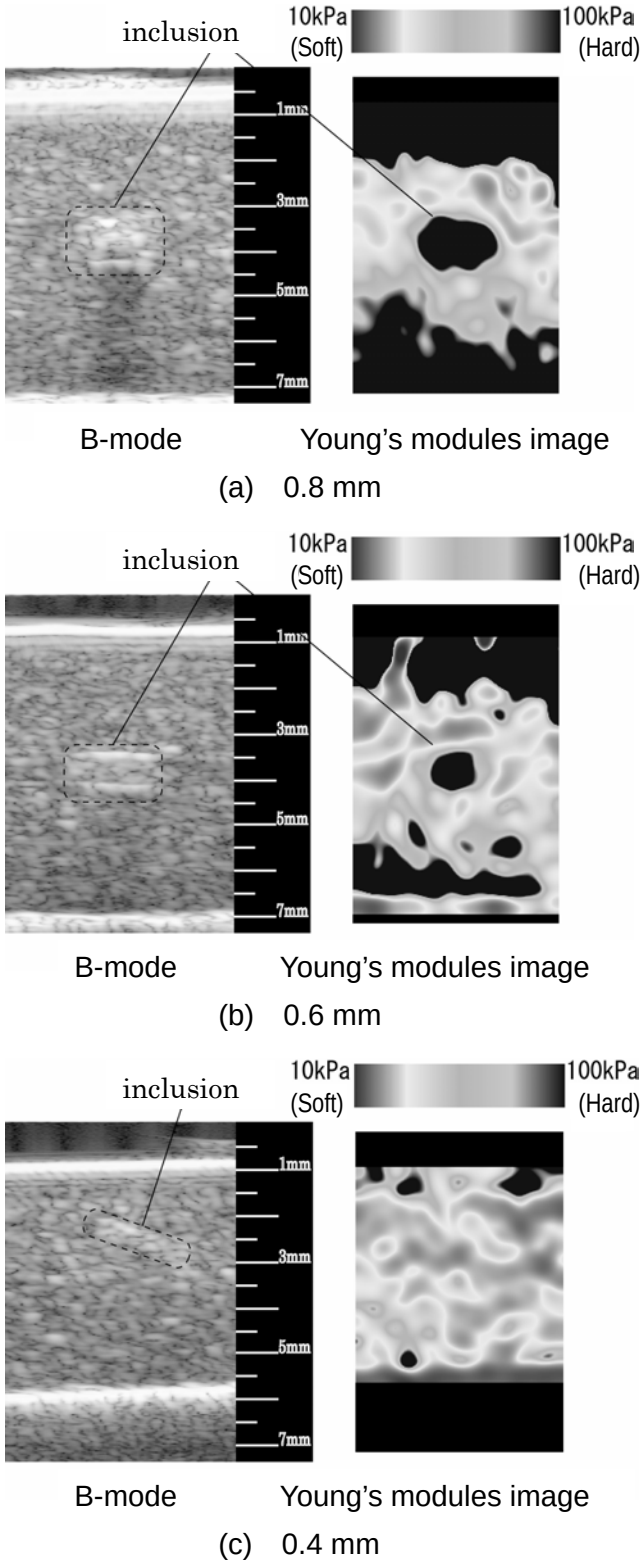
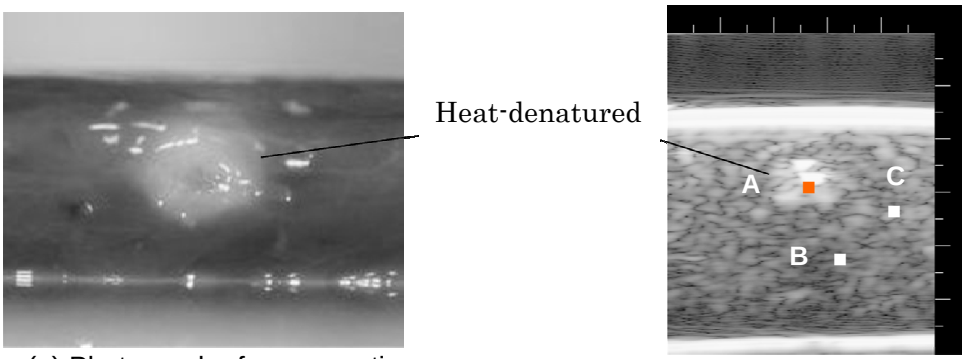


図6　ファントム実験による空間分解能の評価

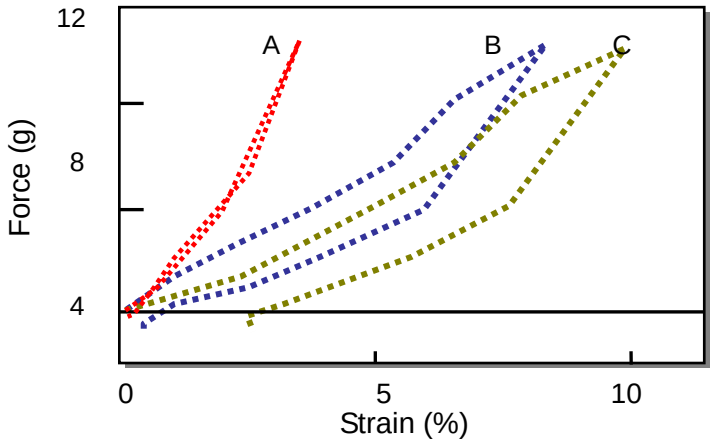
ファントムの計測は、４．で行ったシミュレーション解析と同等の条件で行われた。中心周波数 20MHｚのプローブを 0.1㎜の走査線間隔で移動して、250MHｚ、11bits でサンプリングしたエコーデータを収集した。

図６は、太さの異なる内包物に対して、弾性イメージを構成した結果である。これから、内包物 E_{in}＝139kPa、周囲 E_{sur}＝16kPa の場合の、空間分解能は 0.6㎜程度であることがわかる。シミュレーションの場合の E_{in}=100ｋPa、E_{sur}＝10kPa で、空間分解能は 0.4mm 程度より、やや低めの値ではあるが、球形と棒状などの幾つかの条件の違いや、ファントム計測の場合の減衰の影響を考慮すればほぼ同等の結果が得られたと言える。



(a) Photograph of cross section : white spot near center is heat – denatured using nichrome wire.

(b) B-mode image



(c) Hysteresis loop of stress-strain relation at different areas denoted by A, B and C

図7　組織サンプル(豚の肝臓)と機械的計測で得られた応力－ひずみ曲線

表1　豚肝臓のサンプルについて測定されたヤング率 E_0 とヒステリシスパラメータ *HP*

Location	Raw		Heat-denatured	
	E_0 (kPa)	*HP*(%)	E_0(kPa)	*HP*(%)
1	2.9	57.2	7.4	50.0
2	2.6	55.1	17.5	50.1
3	3.7	62.6	12.8	49.0
average	3.1	58.3	12.6	49.7

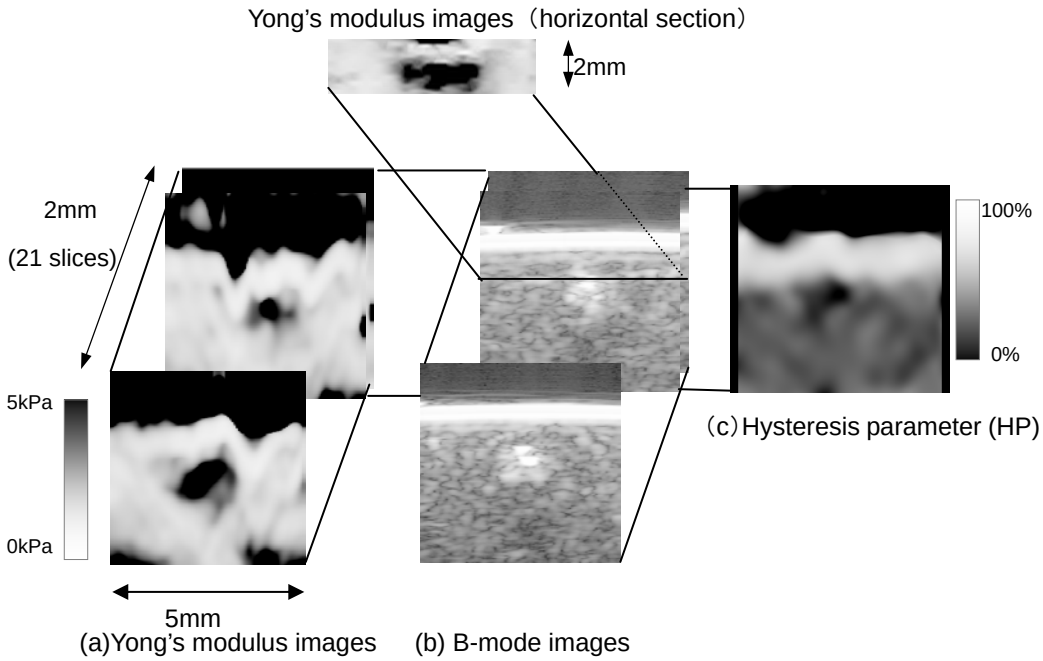


図8　組織サンプル（豚肝臓）での3D計測例

５．２　組織サンプルの計測結果

次に、組織片の計測を試みた。図７(a)(b)は、それぞれ 4㎜厚に切り出した豚の肝臓の断面の写真およびＢモード像である、中央に見える白い部分は硬い内包物に相当する部分として作成したもので、ニクロム線を通して加熱による熱硬化を生じさせた。計測範囲は、5㎜ｘ5㎜ｘ2㎜ で、圧縮と弛緩は 10μｍ間隔で行った。組織片は、ファントム実験と同様に、0.1㎜ 間隔で走査してエコーデータを収集した。図 7(c)は、図 7(b) 内の 3 点（A、B、C)において、機械的な計測で得られた応力－ひずみ曲線である。点Ａでのヒステリシスループは、点Ｂや点Ｃに比べ小さく、熱変性により粘性が低下したことを示唆している。表１は、正常組織と熱凝固した部分のそれぞれについて、3 回測定を行って得られた、ヤング率 E_0 とヒステリシスパラメータ *HP* を示す。熱凝固により E_0 は約 3 倍増加し、*HP* は約 10%減少しているのが分かる。

次に、この組織サンプルをファントム実験で用

いたシステムで測定した結果を図８に示す。ヤング率 E_0 の３Ｄ分布では、Ｂモード像に比較して熱変性による硬化部がより明瞭に描出され、また表1 に近い値であることが示されている。また、図8(ｃ)は、指定した断面内でのヒステリシスパラメータ HP の分布を示すが、熱変性部分は、機械的計測の結果と一致して、粘性の低い部分として描出されている。

６．結　論

我々は、超音波により組織の弾性を示すヤング率と、粘性を示すヒステリシスパラメータの３次元分布を高分解能で計測可能な組織粘弾性３Ｄマイクロスコープを構築した。シミュレーション解析においては、開発したシステムの空間分解能を評価し、20MHz の超音波を用いて、比較的厚い組織切片の計測についても、実用的な空間分解能を有することを検証した。また、ファントムや組織切片を用いた計測でも、シミュレーション解析結果と同等の分解能と、定量的な粘弾性の分布が得られることを実証した。

今後、実際の摘出組織の計測に適用可能とするためには、操作性の点でより簡便なものとし、また恒温槽などの温度管理など、より正確な計測が可能となるようシステムを改良していく必要がある。さらに、今回は応力分布は一様と仮定しているが、今後は不均一媒質での応力分布の推定を行いその影響を検討する必要があろう。これらの検討結果を反映したシステムを用いて、多くの症例について計測データを蓄積することにより、粘弾性値と組織病理との関連づけについて検討を進めたい。

謝辞

本研究の推進に際し、研究助成を受けた財団法人中谷電子計測振興財団に、深く感謝の意を表したい。

参考文献

1) T. Shiina, N. Nitta, E. Ueno, J. C. Bamber : Journal of Medical Ultrasonics **29** (2002) 119.

2)A. Itoh, E. Ueno, E. Tohno, H. Kamma, H. Takahashi, T. Shiina, M. Yamakawa, T. Matsumura : Radiology, **231** (2006) 341.

3) T. A. Krouskop, T. M. Wheeler, F. Kallel, B. S. Garra and T. Hall: Ultrason. Imag. **20** (1998) 260.

4) A.Samani,J.Bishop,C.Luginbuhl and D.Plewes, : Phys.Med.Biol.,Vol.48,pp.2183-2198,2003.

5) N.A.Cohn, S.Y.Emelianov, M. A. Lubinski and M. O'Donnell : IEEE Trans. Ultrason. Ferroelect., Freq. Contr. **44** (1997) 1304.

6) N. Nitta and T. Shiina: Jpn. J. Appl. Phys. **41** (2002) 3572.

7)T. Shiina, M. Yoshida, M. Yamakawa, N.Nitta: Proc. of the 2007 IEEE International Ultrasonics Symposium (2007) 2046.

マイクロ波イメージングによる初期乳癌検診法の確立

研究責任者　　静岡大学工学部電気電子工学科
教　授　　桑　原　義　彦

１．はじめに

日本では成人女性の30人に1人の割合で乳癌が発生し、女性の癌の中では最も罹患率が高い。現在、癌検診法としてX線マンモグラフィーが用いられている。しかし、

(1) 石灰化を伴わない癌を見つけることが困難
(2) 検査・診断に時間がかかり検診コストが高い
(3) 若年層についてはＸ線被曝の影響が無視できない

などの問題点が指摘されている。

本研究はX線マンモグラフィーと比較し、安全・確実・低コストのUWBレーダを用いた初期乳がん検出装置を実現することを目的とする。

近年、高速無線通信の1手法として、UWB(Ultra Wide Band)通信が注目されている。UWBは通信のほかレーダにも応用でき、欧米では初期乳癌検診技術に関する研究が活発に行われている。電磁波による癌検診システムの基本原理は、癌と周辺組織の電磁気学的性質の顕著な差[1]である。この差はX線トモグラフィーに比較すると10倍以上大きく、より鮮明な画像を得ることが期待できる。

複数のアンテナから乳房にUWBパルスを照射し、時空間ビームフォーミングによって散乱波エネルギーの分布画像を構築する方法が提案され、計算機シミュレーションにより数mm程度の初期癌が発見できることが報告されている[2]。この方法では0.1ns程度の短パルスを送信し、散乱波を50GHz程度の標本化周波数でデジタル信号に変換する必要があるが、そのようなAD変換器は実現できていない。このため、周波数掃引信号を用い、時間領域の代わりに周波数領域で受信信号処理を行う方法が用いられる[3]。しかし、最初の研究発表から8年を経ているがいまだに生体画像は得られていない。

本研究の目的は、これまで発表されている手法を実験的に検証してその問題点を明らかにし、その解決手法を提供することにある。このため、次の事項について検討を行った。

(1) 基礎実験装置の構築
(a) 層ファントムの試作

水槽に大豆油を張って乳房組織を、水を満たした円筒容器で腫瘍を、グラスファイバ基板で皮膚

を模擬する。

(b) XY ステージによるアンテナ機械走査システムの構築

(a)の水槽の上に UWB アンテナを取り付けた XY ステージを設置し、アンテナの位置を PC 制御する。アンテナは媒質とのインピーダンス整合のため大豆油の中で走査される。

(c)広帯域アンテナの試作

大豆油の中で広帯域動作可能なアンテナを試作する。

(d)ネットワークアナライザを用いた反射応答計測システムの構築

アンテナの位置と連携し、ネットワークアナライザで S_{11}(反射応答)を記録する測定プログラムを作成する。

(2) S_{11} より診断画像を再構成するプログラムを開発する。

(3) ファントム、XY ステージ、広帯域アンテナ、ネットワークアナライザ、プログラムを組み合わせ、ファントム中の腫瘍が検出できることを確認する。

２．基礎実験装置の構築

図 1 は、層ファントムと計測装置の概念図である。

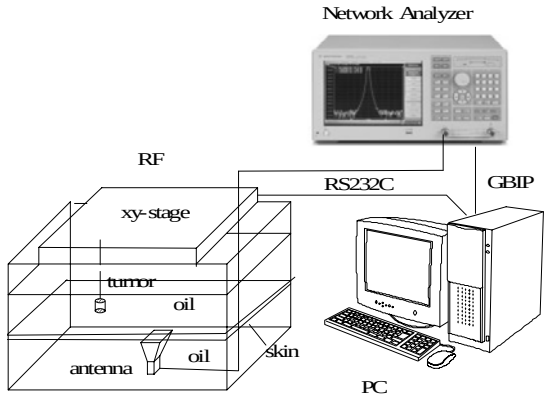


図１　層ファントムと計測装置

２．１　層ファントム

乳房は 90%が脂肪組織なので、正常組織を大豆油(ε_r=2.6, σ=0.05S/m)で模擬する。油を満たす水槽の大きさは(40×24.5×28cm)である。腫瘍のファントムは直径 6mm、長さ 10ｍｍのビニール管に水を満たし、両端を樹脂で封印したものである。これを 10cm 四方の木枠に 0.2mm のナイロン糸で取り付け木枠の位置を XY ステージで設定する。アンテナの位置を変えるとケーブルが変形し、測定信号の位相が変化するので、今回の測定では腫瘍のファントムを動かすことにした。図 2 は木枠に取り付けられた腫瘍のファントムである。皮膚は電子回路用の 1.6mm 厚ガラスエポキシ基板(ε_r=4.3, tanδ=0.016)で模擬し、油面から 9cm の位置に固定する。ガラスエポキシ基板とアンテナの距離は 5mm とした。図 3 は層ファントムの写真である。

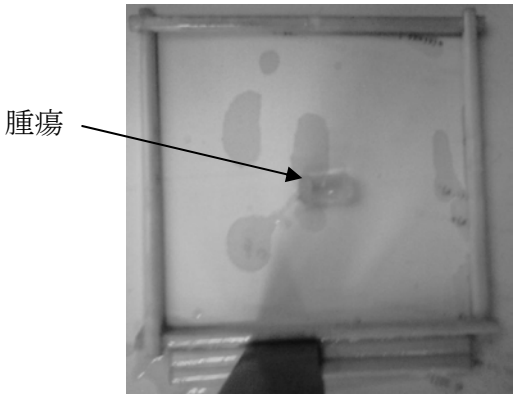


図２　木枠に取り付けられた腫瘍のファントム

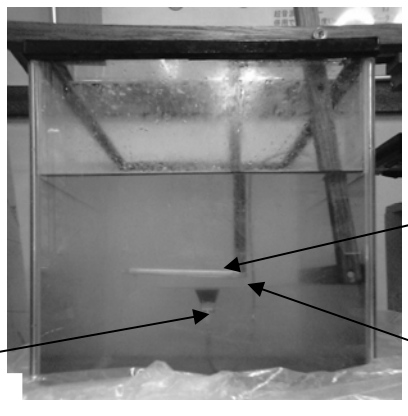


図３　層ファントム

２．２　測定システム

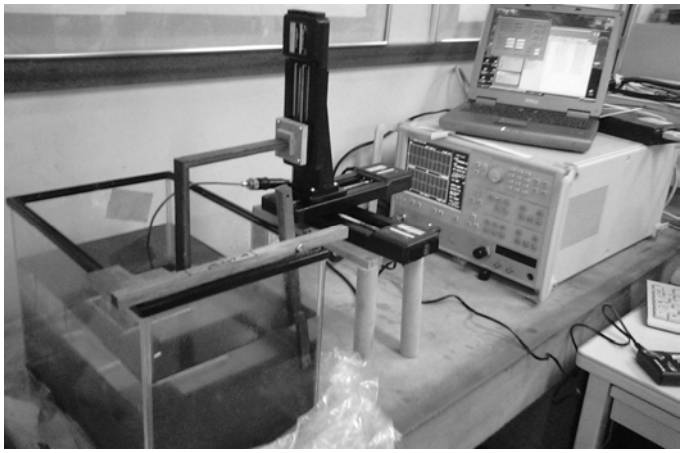


図 4　測定システム

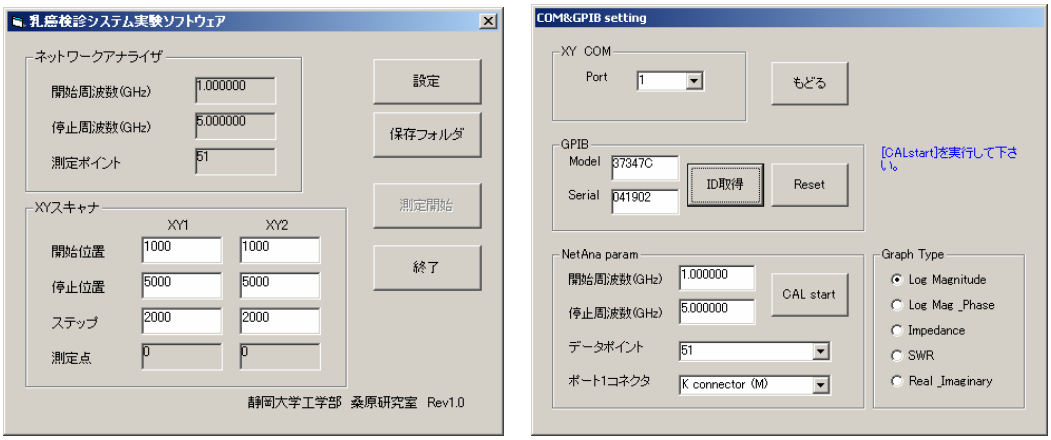


図 5　実験ソフトウェアの設定画面

測定システムはネットワークアナライザ（アンリツ 37347C)、XY ステージ（シグマ光機 SGSP20-85(XY))、2 軸ステージコントローラ（シグマ光機 SHOT-602）、PC から構成される。PC には実験ソフトウェアがインストールされ、GPIB でネットワークアナライザ、RS232C で 2 軸ステージコントローラと通信が行われる。

最初に反射電力測定のためネットワークアナライザを所要の周波数帯域（4-14GHz）で校正する。反射電力測定では、測定点に接続するケーブル端に OPEN、 SHORT、 LOAD 負荷を接続して校正するが、ここでは LOAD の代わりにアンテナを接続し、アンテナのインピーダンス特性の影響を測定から除外する。

実験ソフトウェアで、周波数範囲、周波数間隔、XY ステージの可動範囲、移動ステップを設定し自動計測する。すなわち、腫瘍のファントムを移動しながら、指定の帯域、ステップで反射電力が測定される。測定結果はテキストファイルに保存され、後述する画像再構築プログラムによって診断画像を生成する。

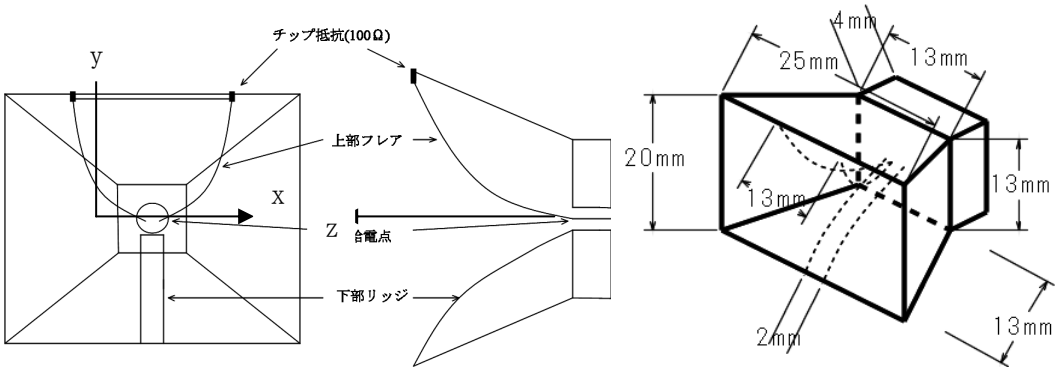
図 4 は測定システムの写真、図 5 は実験ソフトウェアの設定画面である。

２．３　広帯域アンテナの試作

変形ダブルリッジホーンアンテナ [4] を試作し、油中でのインピーダンスと伝送特性を測定した。

(1)設計

図 6 は変形ダブルリッジホーンアンテナの構造である。



正面　　断面　　寸法

図 6　変形ダブルリッジホーンアンテナ

変形ダブルリッジホーンアンテナは、角錐ホーンの上下にリッジを取り付けた構造を持つ。試作アンテナでは広帯域性をえるため、上部リッジを金属フレアに置き換え、その終端 2 か所に 100Ω 抵抗を介してホーンに接地する構造としている。給電のため、SMA コネクタの中心導体が上部フレア、外皮がホーン導体に接続されている。上部フレア、下部リッジの曲線は、給電点からホーン開口に向かう軸を z 軸、これに直交する軸を y 軸とすれば、次の式で表わされる。

$$y = c_1 e^{R_a z} + c_2$$

ここで、

$$c_1 = \frac{y_2 - y_1}{e^{R_a z_2} - e^{R_a z_1}} \qquad c_2 = \frac{y_1 e^{R_a z_2} - y_1 e^{R_a z_1}}{e^{R_a z_2} - e^{R_a z_1}}$$

R_a は曲率である。表 1 の設計指標を満足するようアンテナの寸法、曲率 R_a を、FDTD 法によるシミュレーション解析 [5] によって決定した。

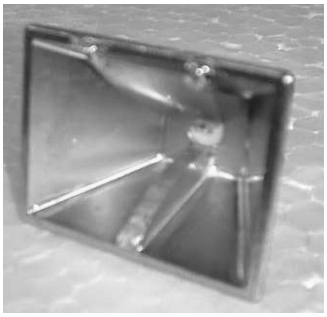
表 1　設計指標

使用環境	比誘電率 2.6 の媒質で動作
周波数	3-10GHz
VSWR	2 以下
指向性	ビーム幅が広く、正面方向に指向性のヌルがないこと

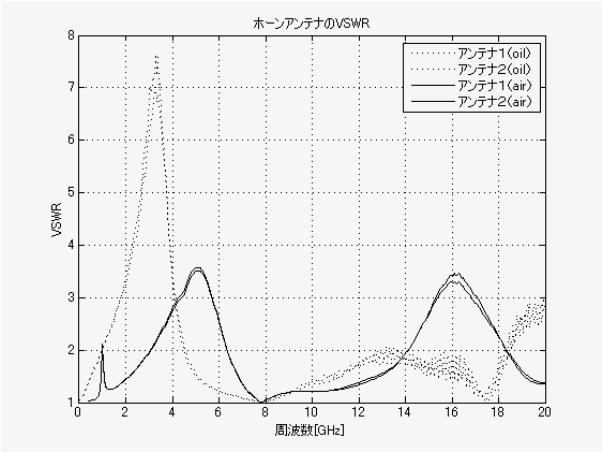
油中での動作を評価するためホーン内部に誘電率 2.6 の誘電体を充填した。設計寸法を図 6 に示す。 R_a は上部フレアが xz、zx 平面とも 0.1、下部リッジが 0.2 である。

(2)試作・評価

図 7 は試作したアンテナの外観と VSWR の測定結果である。アンテナは 2 台試作し、油中に沈めた場合(図の点線)と空気中においた場合の VSWR を測定した。VSWR<2 の帯域は 4.6-18GHz で、設計目標より帯域が少しずれている。



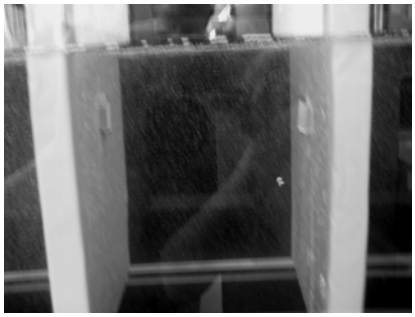
外観



VSWR

図 7　試作アンテナ

図 8 に示すように 2 つの試作アンテナを対向させ、油中と空気中における伝送損失をアンテナ間距離を変えて測定した。油中での伝送損失は空気中に比較すると大きくなるが、アンテナ間距離が 10cm より小さい時、4-14GHz で伝送損失の変動は比較的小さい。



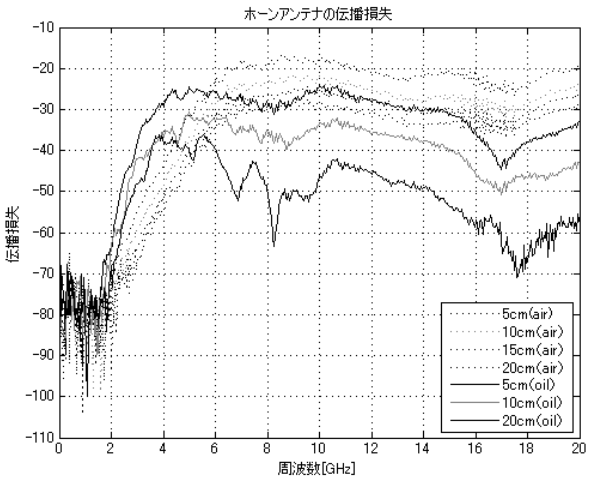


図 7　試作アンテナの伝送測定

図 8 は、図 7 の伝送損失特性を逆フーリエ変換してえた油中のパルス伝送特性である。

距離が離れるにつれ遅延時間が増すとともに振幅が小さくなることがわかる。図 9 は対向したアンテナのうち 1 つを回転させ水平面指向性を測定した結果である。アンテナの主放射方向には指向性のヌルが発生していないことを確認した。
試作したアンテナの測定結果から、実験で使用する周波数帯域を 4-14GHz とした。

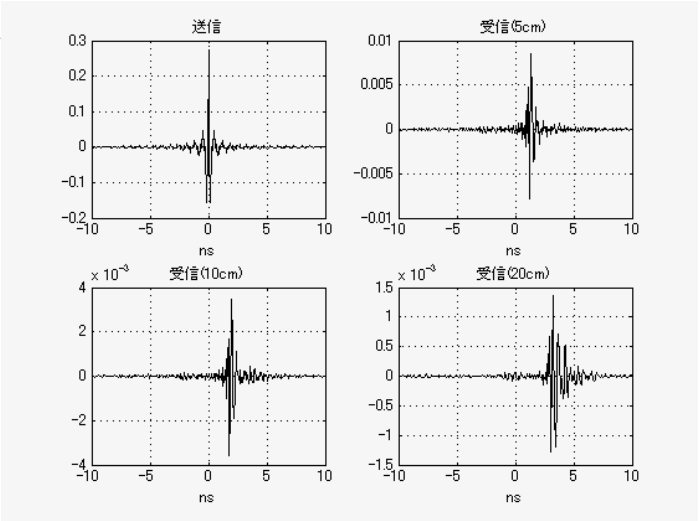
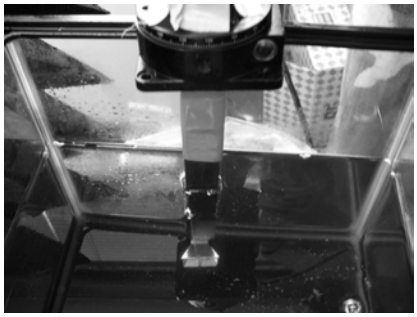


図 8　油中のパルス伝送特性

３．診断画像生成アルゴリズム

３．１　前処理

診断画像生成処理に先立ち、腫瘍以外の不要信号(特に皮膚からの反射)を取り除く前処理を行う。アンテナからの応答を平均して校正信号とし、各アンテナの応答との差を取る。この処理によって各アンテナからの応答に同じように含まれる皮膚からの反射が取り除かれる。



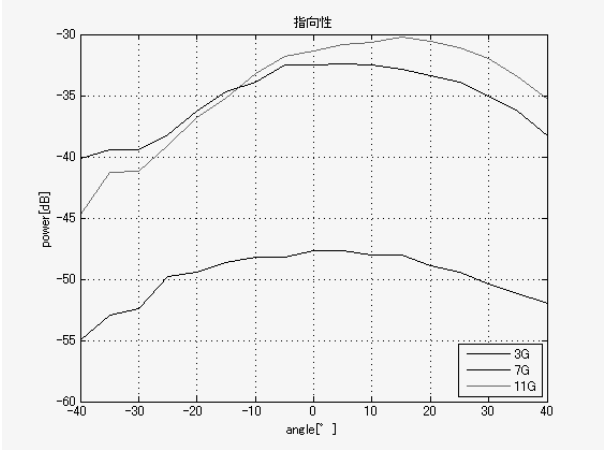


図 9　アンテナの水平面指向性

３．２　Delay and Sum (DAS)

DAS は、図 10 に示すように、アンテナと診断領域にある任意の点の距離に応じた伝搬遅延だけ各アンテナの反射応答時間を前に戻して加算するアルゴリズムである。その点に腫瘍があって散乱波が放射されている場合、各アンテナからの応答信号の時間がそろい、加算すると大きな応答が得られる。その点に腫瘍がなければ応答信号の時間はそろわず、加算しても大きな応答は得られない。診断領域全体について以上の処理を行い、3 次元の散乱エネルギー分布画像を生成する。

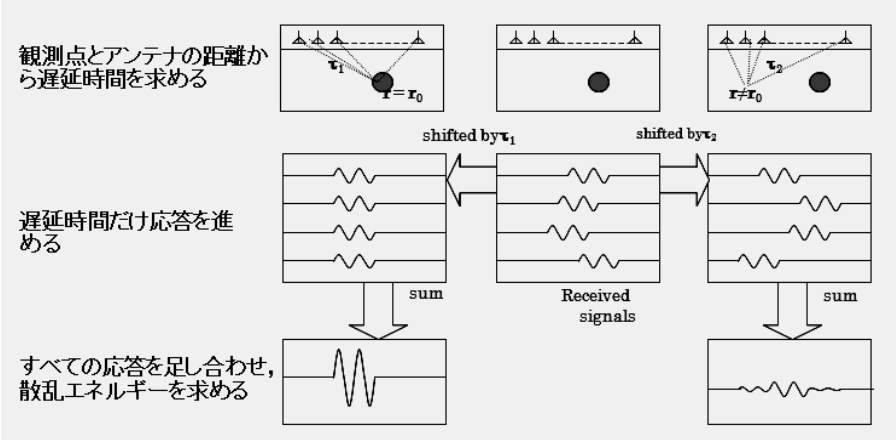


図 10　DAS の原理

３．３　MIST

(1)　アルゴリズム

DAS は媒質の周波数特性が考慮されていない。媒質の周波数特性を考慮して各アンテナからの応答信号を同相合成する手法が MIST(Microwave Imaging via Space-Time beamforming)である。診断領域の位置 r_0 での処理手順を示した図 11 を参照して MIST の処理を説明する。

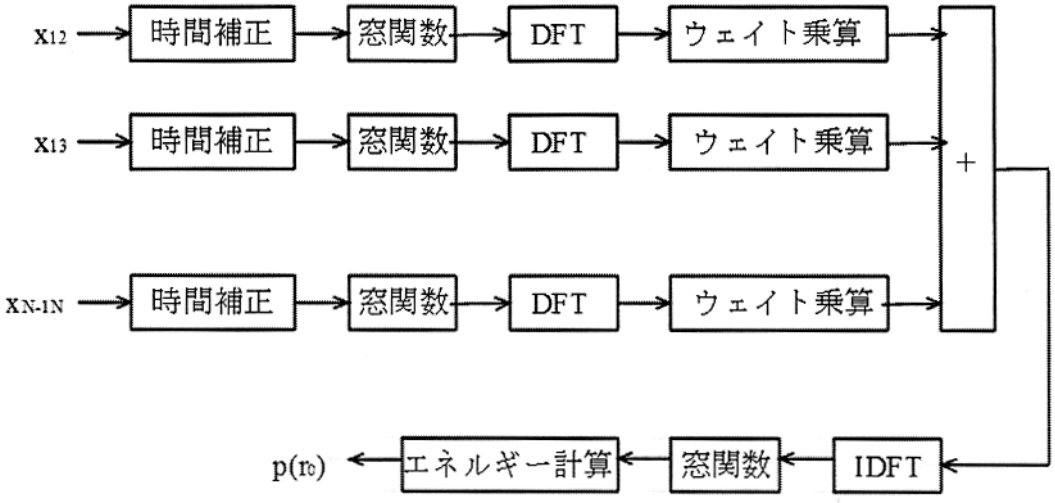


図 11　MIST の処理

前処理されたi番目のアンテナの受信信号を$x_i[n]$とする。nは離散時間を表す。$x_i[n]$を整数倍サンプル$n_i(r_0)=n_a-\tau_i(r_0)$だけ遅らせる。ここで$\tau_i(r_0)$はi番目のアンテナのr_0での位置の往復伝搬遅延(サンプル間隔単位)、

$$n_a=\max_{i,r_0}\tau_i(r_0) \qquad (1)$$

で、診断領域での最大伝搬遅延である。n_aより前にあるクラッタを除くため次の窓関数をかける。

$$g[n]=\begin{cases}1:n>n_a\\0:otherwise\end{cases} \qquad (2)$$

この信号を周波数領域に変換して、周波数・空間領域でビームフォーミングする。

$$X_i[l]=I[\omega_l]S_{ii}(r_0,\omega_l) \qquad 1\le i\le M,1\le l\le N \qquad (3)$$

ω_lはl番目の周波数、$I[\omega_l]$は送信パルスのスペクトル、$S_{ii}(r_0,\omega_l)$はi番目のアンテナのl番目の周波数のr_0の位置でのモノスタティックレーダ応答である。Mはアンテナ素子数、Nは離散周波数の数である。

単一振幅応答と線形位相応答を持つビームフォーマのウェイト$W_i[l]$は次の条件を満足する。

$$I(\omega_l)\sum_{i=1}^{M}S_{ii}(r_0,\omega_i)e^{-j\omega_l n_i(r_0)T_s}W_i^*(l)=$$
$$I(\omega_l)\sum_{i=1}^{M}\hat{S}_{ii}(r_0,\omega_i)e^{-j\omega_l\tau_i(r_0)T_s}e^{-j\omega_l n_i(r_0)T_s}W_i^*(l)=$$
$$e^{-j\omega_l(r_0+n_a)T_s} \qquad (4)$$

$\hat{S}_{ii}(r_0,\omega_i)$は往復の伝搬遅延に関する位相シフトを除いた周波数応答、$\tau_0=(N-1)/2$はビームフォーマの平均伝搬遅延である。$n_a=\tau_i(r_0)+n_i(r_0)$より(4)式の条件を簡単化すると

$$I(\omega_l)\sum_{i=1}^{M}\hat{S}_{ii}(r_0,\omega_i)W_i^*(l)=e^{-j\omega_l r_0T_s} \qquad (5)$$

これをベクトル表記する。

$$\tilde{\mathbf{S}}(r_0,\omega_l)=I(\omega_l)\left[\hat{S}_{11}(r_0,\omega_l)\hat{S}_{22}(r_0,\omega_l)\cdots\hat{S}_{MM}(r_0,\omega_l)\right]^T$$
$$\mathbf{W}(l)=\left[W_1(l)W_2(l)\cdots W_M(l)\right]^T$$
$$\mathbf{W}^H(l)\tilde{\mathbf{S}}(r_0,\omega_l)=e^{-j\omega_l\tau_0T_s} \qquad (6)$$

このとき、周波数ω_lでのビームフォーマの出力は

$$z(\omega_l)=e^{-j\omega_l(r_0+n_a)T_s} \qquad (7)$$

となる。ビームフォーマの出力を逆フーリエ変換して時間領域信号z(n)に戻され、クラッタを除くため窓関数h(r_0、n)をかけて合成する。r_0での出力エネルギーは

$$p(r_0)=\sum_n\left|z(n)h(r_0,n)\right|^2 \qquad (8)$$

ビームフォーマのウェイト$\mathbf{W}[l]$は次の式で表わされる

$$\mathbf{W}[l]=\frac{\tilde{\mathbf{S}}(r_0,\omega_l)e^{j\omega_l\tau_0T_s}}{\tilde{\mathbf{S}}^H(r_0,\omega_l)\tilde{\mathbf{S}}(r_0,\omega_l)} \qquad (9)$$

$\tilde{\mathbf{S}}^H(r_0,\omega_l)\tilde{\mathbf{S}}(r_0,\omega_l)$が小さいと(9)式で求めたウェイトは大きくなる。特に、高い周波数では$S_{ii}(r_0,\omega_l)$が小さく、深い位置を探索するとき雑音に弱くなる。このため、次のペナルティ付き最小2乗問題を考える。

$$\mathbf{W}[l]=\arg\min_{\mathbf{W}[l]}\left[\left|\mathbf{W}^H[l]\tilde{\mathbf{S}}(r_0,\omega_l)-e^{j\omega_l\tau_0T_s}\right|^2+\sum_{i=1}^{M}\lambda_i[l]\mathbf{W}^H[l]\right]^2 \qquad (10)$$

この解は$\Lambda[l]=diag[\lambda_1(l)\lambda_2(l)\cdots\lambda_M(l)]$とすれば

$$\mathbf{W}[l]=\frac{\Lambda^{-1}[l]\tilde{\mathbf{S}}(r_0,\omega_l)e^{j\omega_l\tau_0T_s}}{1+\tilde{\mathbf{S}}^H(r_0,\omega_l)\Lambda^{-1}[l]\tilde{\mathbf{S}}(r_0,\omega_l)} \qquad (11)$$

$\lambda_i[l]$を小さくすれば(10)式の第1項は小さくなるがウェイトが大きくなってロバスト性が失われる。妥協案として$\lambda_i[l]=\left|\hat{S}_{ii}(r_0,\omega_l)\right|$とすれば

$$W_i[l]=\frac{I(\omega_l)\hat{S}_{ii}(r_0,\omega_l)e^{j\omega_l\tau_0T_s}}{\left|I(\omega_l)\hat{S}_{ii}(r_0,\omega_l)\right|\left(1+\left|I(\omega_l)\right|\sum_{j=1}^{M}\hat{S}_{jj}(r_0,\omega_l)\right)} \qquad (12)$$

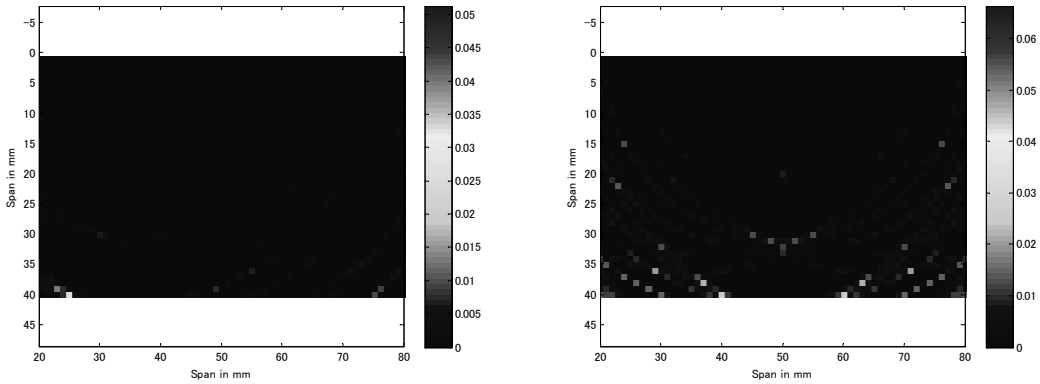
(2)　シミュレーション例

MIST ビームフォーミングにより散乱応答は送信パルススペクトルに等化され、観測点とアンテナの位置に対応する媒質の周波数応答を考慮した伝搬損失と遅延が保証される。MIST の高分解能を検証するためのシミュレーションを次に示す。シミュレーション条件を表 2 に示す。

表 2　シミュレーション条件

媒質	比誘電率	9。8
	導電率	0。5S/m
送信アンテナ数		7
送信アンテナ位置	x 方向	35－65mm まで 5mm おき
	y 方向	すべて 2mm
周波数	範囲	4－14GHz
	間隔	400MHz
パルス		差動ガウシャン
画像生成領域	x 方向	2－40mm
	y 方向	20－80mm
1 ピクセル		1mm 角

(x,y)=(30,30)、 (50,20)mm に散乱源を置いた時の散乱エネルギー分布を図 12 に示す。図 12 に示すようにMIST ビームフォーミングではきわめて高分解の診断画像が期待できる。



(30,30)　　(50,20)

図 12　MIST による点波源の散乱エネルギー分布

4　層ファントムを用いた診断画像の生成

4．1　実験条件

アンテナとガラスエポキシ基板までの距離を 5mm とし、腫瘍の位置を変えて診断画像を再構

築した。使用するアルゴリズムとして DAS と MIST を用いた。アンテナを固定しているので腫瘍の水平方向の位置の変化は図 13 に示すように走査範囲の変化に相当する。

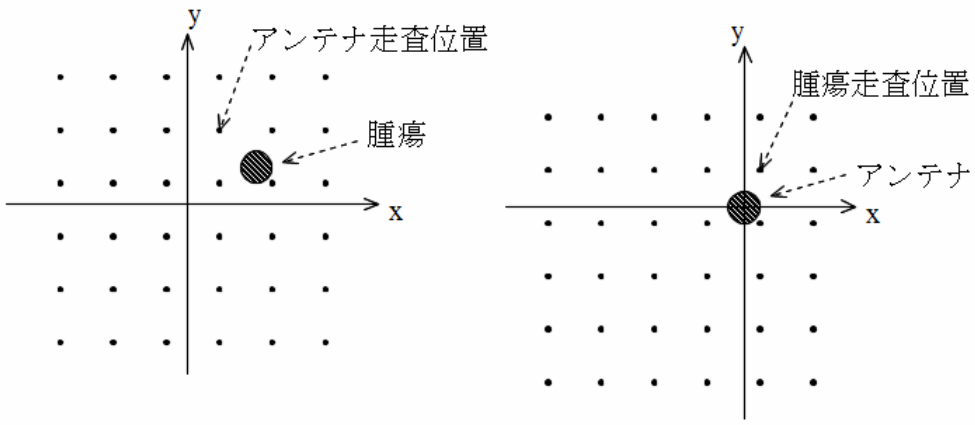


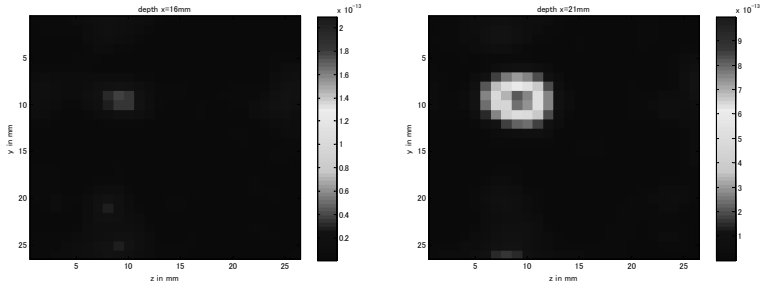
図 13 腫瘍の走査

アンテナ(腫瘍)の走査範囲は 25mm×25mm、走査ステップは 5mm、周波数範囲は 4－14GHz で周波数ステップは 400MHz である。

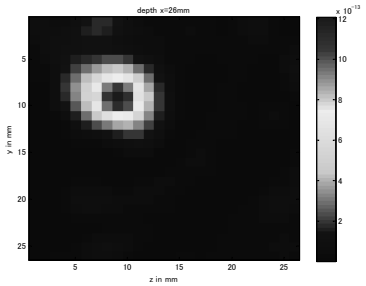
腫瘍の深さを皮膚より 20mm 下とし、水平方向の位置を変えて散乱エネルギー分布を計算した。MIST による診断画像、DAS による診断画像を図 14 と図 15 に示す。いずれのアルゴリズムでも所定の位置にある腫瘍のファントムが検出されている。しかし、図 14 と図 15 の比較から明らかなように、MIST を用いた方が解像度の高い鮮明な診断画像が得られる。

図 16 と図 17 は、腫瘍の水平方向の位置を(10, 10)mm とし、皮膚からの深さを変化させた時の散乱エネルギー分布の計算結果である。MIST では深さの変化に応じた散乱エネルギー分布が得られるが、DAS では腫瘍の位置が深くなると異なった位置での散乱エネルギーが高くなる。これは腫瘍が深くなると散乱信号が小さくなり、DAS では腫瘍応答より前にあるクラッタでの散乱が現れるためと考えられる。

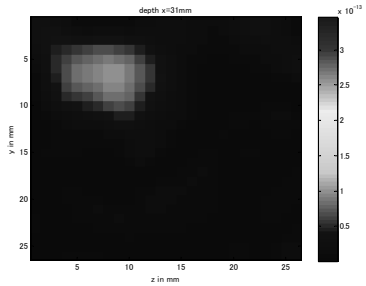
腫瘍位置(10,10)mm



深さ 16mm　　深さ 21mm

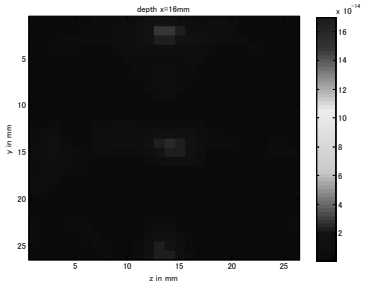


深さ 26mm

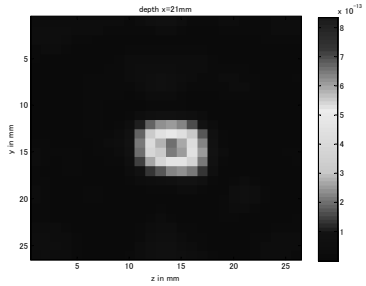


深さ 31mm

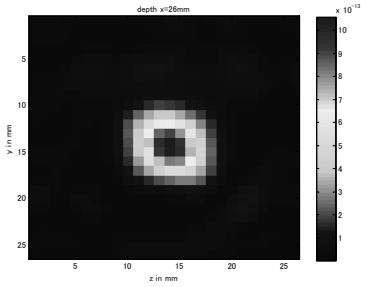
腫瘍位置(20,20)mm



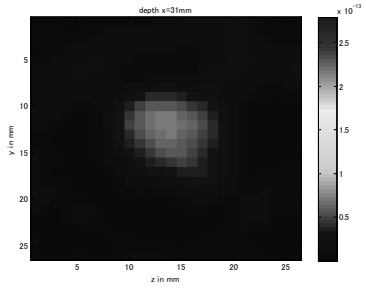
深さ 16mm



深さ 21mm



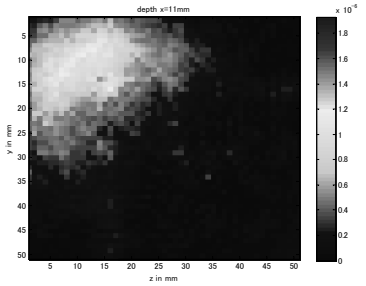
深さ 26mm



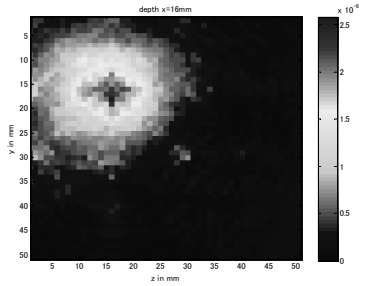
深さ 31mm

図 14　MIST による診断画像(腫瘍を水平方向に移動)

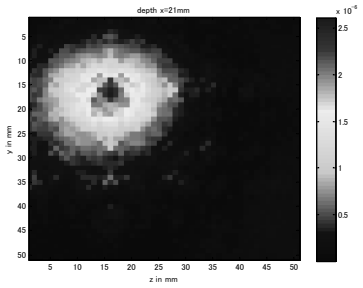
腫瘍位置(10,10)mm



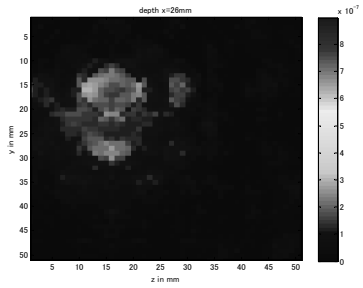
深さ 16mm



深さ 21mm

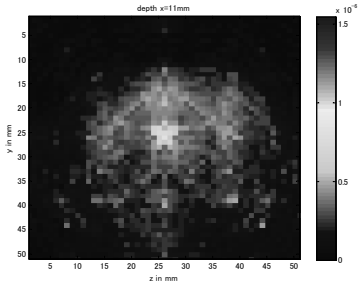


深さ 26mm

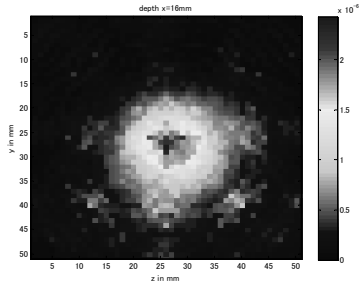


深さ 31mm

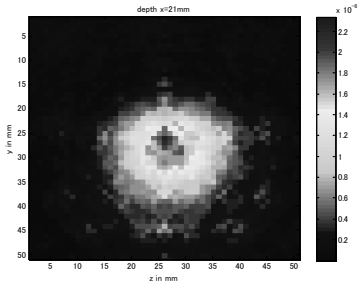
腫瘍位置(20,20)mm



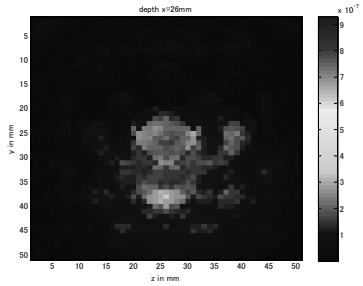
深さ 16mm



深さ 21mm



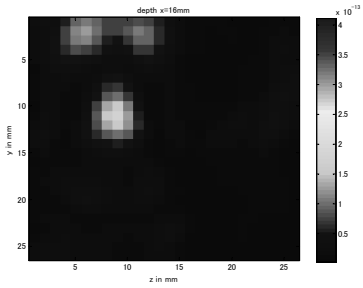
深さ 26mm



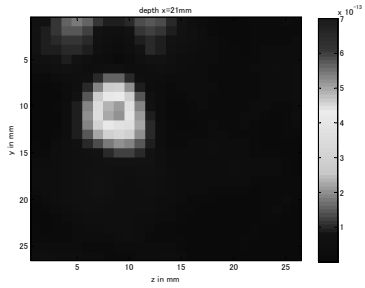
深さ 31mm

図 15 DAS による診断画像(腫瘍を水平方向に移動)

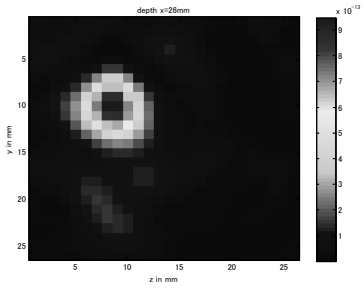
皮膚下 15mm



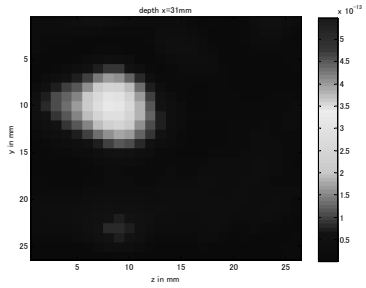
深さ 16mm



深さ 21mm

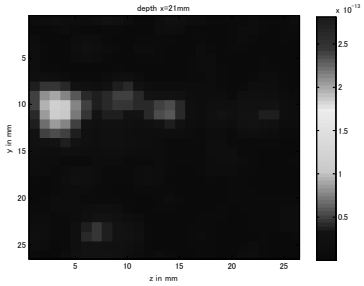


深さ 26mm

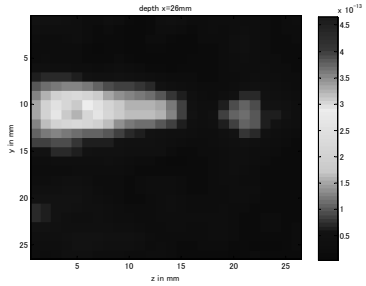


深さ 31mm

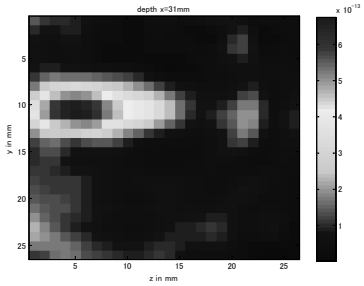
皮膚下 25mm



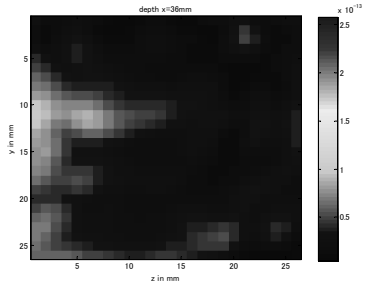
深さ 21mm



深さ 26mm



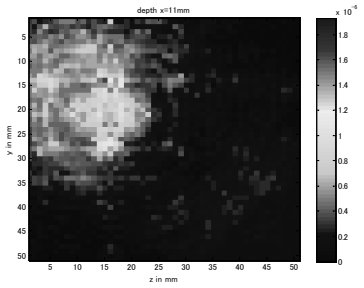
深さ 31mm



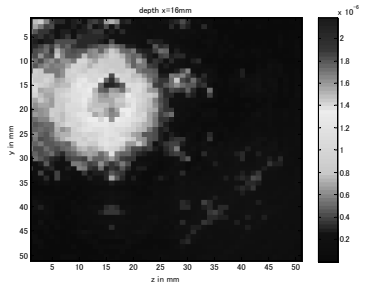
深さ 36mm

図 16　MIST による診断画像(腫瘍を垂直方向に移動)

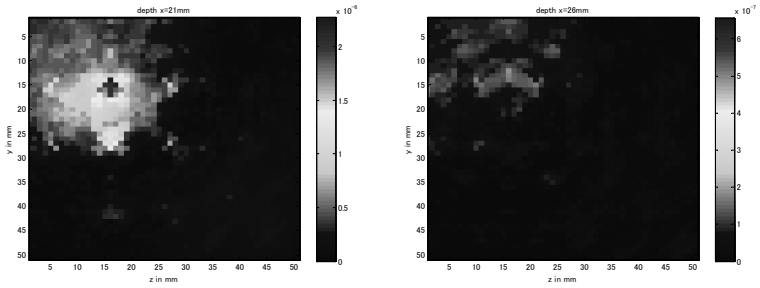
皮膚下 15mm



深さ 16mm

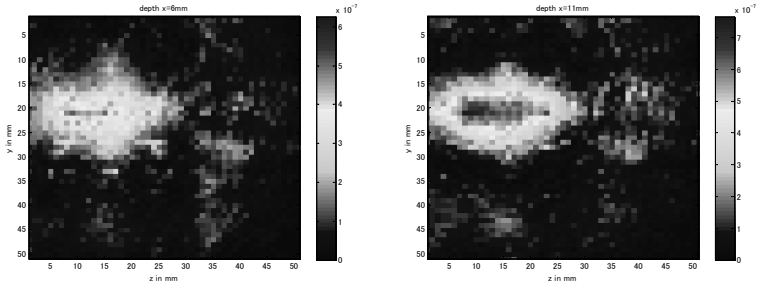


深さ 21mm

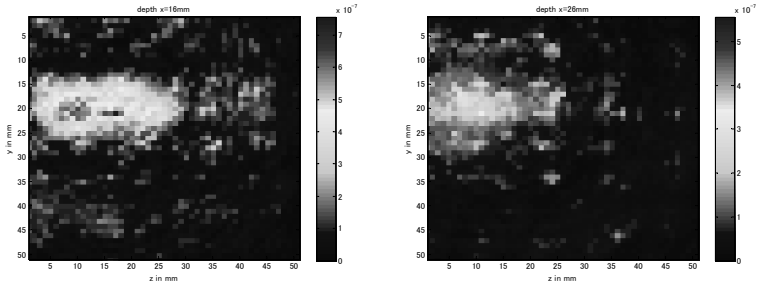


深さ 26mm　　深さ 31mm

皮膚下 25mm



深さ 6mm　　深さ 11mm



深さ 16mm　　深さ 21mm

図 17　DAS による診断画像(腫瘍を垂直方向に移動)

５．　まとめ

X 線マンモグラフィーに代わるマイクロ波イメージングによる初期乳がん検診技術の確立のための基礎実験を行った。広帯域変形リッジホーンアンテナを試作し、4－14GHz の油中での伝送・反射特性を確認した。ネットワークアナライザと XY スキャナーを統合制御してモノスタティックレーダ応答を自動計測するソフトウェアを開発した。画像再構築アルゴリズムとして DAS と MIST を用い、散乱エネルギー分布を求めるプログラムを開発した。大豆油(脂肪組織)とガラスエポキシ基板(皮膚)と水を満たしたビニールチューブ(腫瘍)で層ファントムを構築して実験を行った。MIST により鮮明に腫瘍ファントムからの散乱エネルギーをとらえることができた。今後、生体に適用して実験を行い、実用化を図っていく所存である。

謝辞

今回の研究は、中谷財団の研究助成を受け実施した。関係各位に深謝します。

参考文献

1)A.J.Surowiec, S.S.Stuchly, J.R.barr,and A. Swarup, Dielectric properties of breast carcinoma and surrounding tissues, IEEE trans. Biomed. Eng. Vol.35, pp.257-263, Apr.1988.

2)E.J.Bond, Xu Li, S.S.Hagness, and B. D. Van Veen, Microwave Imaging via Space-Time Beamforming for Early Detection of Breast Cancer, IEEE trans. Antennas and Propagat. Vol.51, pp.1690-1705, Aug. 2003.

3) S.K.Davis, J.Bond, Xu Li, S.S.Hagness, and B. D. Van Veen, Microwave Imaging via Space-Time Beamforming for Early Detection of Breast Cancer: Beamformer Design in the Frequency Domain, J of Electromagn. Waves and Appl., Vol.17, No.2, pp357-381, 2003.

4) Xu Li, S.S.Hagness, Min K. Choi and D. W.van der Weide, Numerical and Experimental Investigation of an Ultrawideband Ridged Pyramidal Horn Antenna with Curved Launching Plane for Pulse Radiation, IEEE Antennas and Wireless Propagat. Letters, Vol.2, pp.259-262, 2003.

5)Fidelity Users Manual Release 5, Zeland Software, Inc.,2007.

インピーダンス測定法を用いた新しい骨癒合判定法の確立と携帯型測定器の開発

研究責任者　京都府立医科大学大学院医学研究科
運動器機能再生外科学（整形外科）　准教授　金　郁詰
共同研究者　京都府立医科大学大学院医学研究科
運動器機能再生外科学（整形外科）　大学院　吉田隆司
大学院　岡　佳伸

1. はじめに

創外固定法は、開放骨折や長管骨の変形矯正、脚長差の補正、偽関節の治療など、整形外科臨床の場において広く普及している。骨折部や損傷した周囲軟部組織に侵襲を加えることなく比較的強固な固定ができる利点があるのに対し、長期にわたる治療もまれではなく、固定ピン周囲の感染や深部感染による骨髄炎、近傍の筋萎縮や関節硬縮、あるいは関節症の進行をきたすことがあり、早期の骨癒合評価と創外固定抜去時期の判定が重要である。しかし、依然として骨癒合評価は、X 線学的検査や臨床所見に委ねられており、創外固定抜去後に再骨折や変形の再発など合併症を生じることもまれでなく、臨床の現場において非侵襲的でより正確なデータの得られる評価法が切望されている。

２．インピーダンス測定法について

今日まで骨癒合評価法として、Bending stiffness test、骨密度測定法、超音波法、CT 法、音響伝導法、音響抵抗法などが報告されているが、臨床応用にいたっていない。その理由として評価方法の煩雑さや、放射線被爆量が高いことがあげられる。より非侵襲的な評価法確立のため、われわれは、創外固定に刺入された鋼線を電極として交流電気刺激を行うことにより計測されるインピーダンス値（Z 値）に着目した。インピーダンス測定法は、現在生体で体脂肪率測定などに応用され、非侵襲的で簡易に測定できる点から広く普及している。また、この測定法を用いてスポーツ競技者を対象とした四肢の筋容積を評価する試み[1) 2)]も施行されている。創外固定法では、鋼線がすでに骨内に刺入されているため、追加の侵襲がなく、数μA の微弱な交流電流であるため組織障害を生じない。また、皮膚を接点とする間接式の体脂肪率や筋容積測定計と比較しても、直達式により正確な骨成熟過程の Z 値の測定が可能である。

３．１　仮骨延長モデルの実験

既設の骨折モデル測定法を仮骨延長モデルに応用した。生後 5 週の日本白色家兎 24 羽を用い静脈麻酔および局所麻酔下に、径 2.0mm のステンレススチール性ねじ切り鋼線 4 本を近位と遠位にそれぞれ 2 本ずつ刺入し、Orthofix M100 創外固定器で固定した。遠位鋼線から 5mm 近位部に骨切

りを加え、1 週間の待機期間の後、1 日 1mm の仮骨延長を 10 日間行った。単純 X 線撮影と Z 値の計測は延長終了後 1 週間隔で行った。24 羽を延長終了後 2、4、6、8 週の 4 群（各群 n=6）に分類し、静脈麻酔下に骨膜まで剥離した状態を作製し、骨抵抗率を測定した。その後安楽死させ脛骨を摘出し、延長仮骨部の断面積と、仮骨の最大破断曲げ応力の測定を行った。

３．２　実験結果

単純 X 線像では、延長終了後 2 週で延長仮骨内の石灰化像が中央部で癒合し、4 週で管状構造が形成された。以降髄腔化と皮質骨化が進行し、6-8 週時には骨成熟が得られた（図 1）。

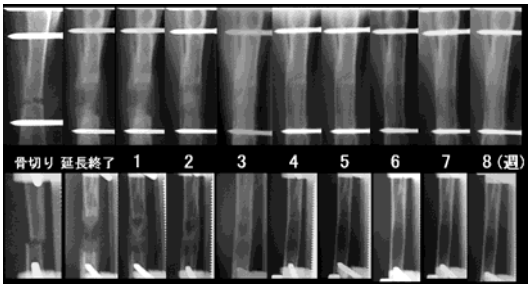


図 1　単純 X 線像の変化

Z 値は、延長終了早期に軽度減少したが、以降経時的に上昇し、7 週以降ほぼ一定化した（図 2）。

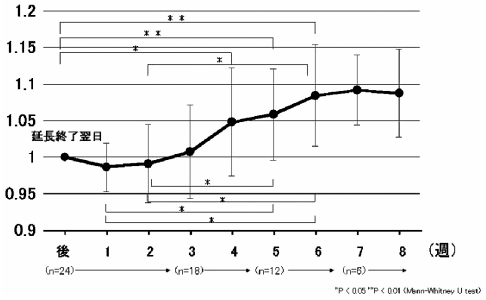


図 2　Z 値比の経時的変化

骨抵抗率は 4 週まで減少後、ほぼ一定化した（図 3）。仮骨断面積は、6 週まで減少し、以降一定化した（図 4）。曲げ応力は、経時的に上昇し 6 週以降は上昇率が減退した（図 5）。延長仮骨断面積と曲げ応力との間には、有意な負の相関関係を認めた（$p<0.001$、相関係数 -0.79、$R^2=0.57$）（図 6）。

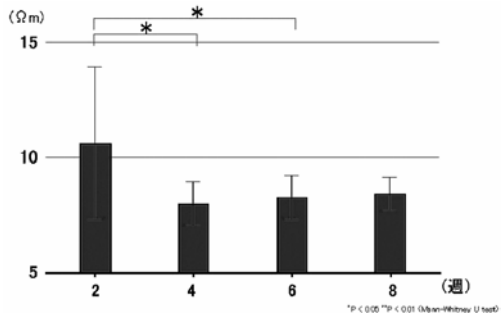


図 3　抵抗率の経時的変化

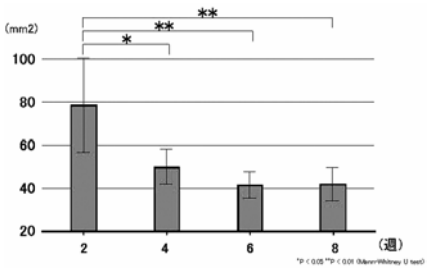


図 4　断面積の経時的変化

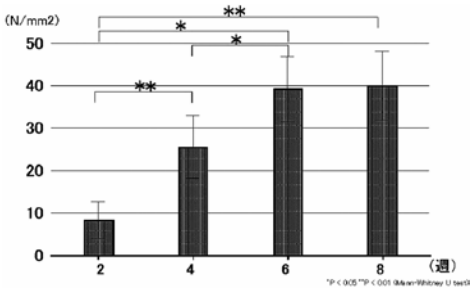


図 5　曲げ応力の経時的変化

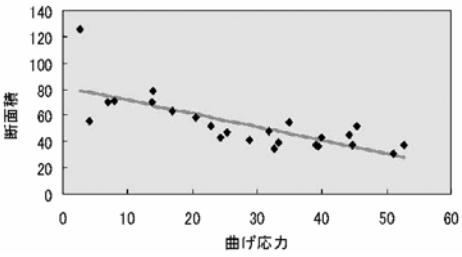


図 6　断面積と曲げ応力の相関

３．３　考察

測定鋼線間の電気的特性は、鋼線間距離と抵抗率、および伝導路の変化で決定される。鋼線間距離は延長終了後 35mm の一定であるが、抵抗率と伝導路は延長仮骨の成熟過程で変化する。4 週までの抵抗率の減少で、延長終了早期には Z 値が軽度減少したが、以降の伝導路の変化（狭小化）により Z 値が経時的に上昇した。この伝導路の変化

は仮骨成熟を表し、曲げ応力とも強い相関を示した。以上の結果から、Z 値を経時的に捉えることにより、骨成熟を電気生理学的に評価することが可能と考えた。

４．１　骨髄内抵抗の測定実験

創外固定装着下でのインピーダンス測定法は，創外固定の鋼線を電極として骨成熟過程の電気的特性の変化を評価する手法である。われわれは，実験的骨折モデルや仮骨延長モデルで骨成熟に伴い経時的に Z 値が上昇すると報告した。しかし、この上昇の要因に関しては未だ不明な点が多い。本研究では、創外固定の刺入鋼線の髄内埋入部以外を絶縁処理し、in vivo での髄内のインピーダンス値（Zm 値）の変化を測定することにより、髄外のインピーダンス値（Zo 値）を算出した。Zm と Zo 値の変化から Z 値の上昇の要因を検討した.
【対象および方法】生後 5 週の日本白色家兎 16 羽を用いた。右脛骨内側面に 4 本の鋼線を刺入し、Orthofix M100 創外固定器で固定した。Zm 値測定用の電極は、髄内に埋没する幅 1mm 以外は絶縁処理し、測定間距離 25mm で創外固定器の鋼線間に固定した。16 羽を脛骨遠位 1/3 での骨折群（F 群: n=8）と対照群（C 群: n=8）に分類し、術後 8 週までの単純 X 線撮影と経時的な Zm 値の変化を計測した。さらに得られた Zm 値と Z 値から Zo 値を算出し，経時的変化を検討した。

４．２　実験結果

単純 X 線像で骨切り部は，術後 2 週に外仮骨による連続性が得られた後骨成熟が進行し、6 週時には骨癒合が得られていた。C 群の Zm 値は，術後 1 週から 7 週まで経時的に減少した。F 群の Zm 値は、術後 1 週から 2 週時に上昇した後減少し、術後 6 週以降ほぼ一定化した。両群間では、1、3、5-7 週で有意差を認めた。Zm 値が減少したのに対し、F 群の Zo 値は、Z 値の変化と同様に経時的に上昇した。

４．３　考察

Z 値は，仮骨の形成やリモデリングに伴う抵抗率と伝導路の変化、軟部組織の修復変化、および鋼線周囲との接触抵抗を合わせた鋼線間の Total インピーダンス値である。細胞増殖や仮骨期には、Zm 値の変化から髄内の細胞増殖性変化により Z 値が上昇し、以降のリモデリング期には、Zm 値が減少するのに対し Zo 値が上昇することから、髄内以外の伝導路の変化により Z 値が上昇すると考えた。

５．イリザロフ創外固定での絶縁法

Ilizarov 法は、ロシアで開発された治療法で、貫通ピンやハーフピンを骨内に刺入し、これを創外からリング状の固定器に固定し、骨折部を安定化する手法である。また、このリング間の距離や角度を調節することにより、脚延長や変形矯正が可能で、小児の先天性疾患や外傷後の変形矯正、および骨欠損や偽関節治療など、整形外科領域では世界中で頻用されている。しかし、この固定法は刺入鋼線も固定リングも金属製であるため、Z 値の測定にはピンクランプの絶縁が必要である。そこで、今回絶縁クランプを開発し、Z 値の経時的変化と延長仮骨成熟との関係を調査する臨床応用を開始した。

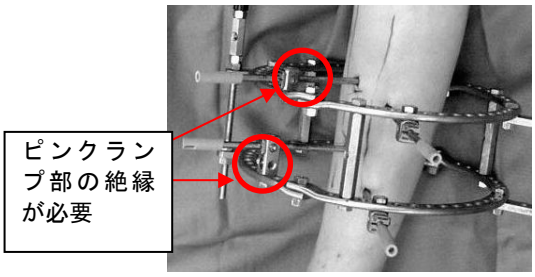


図 7　イリザロフ創外固定

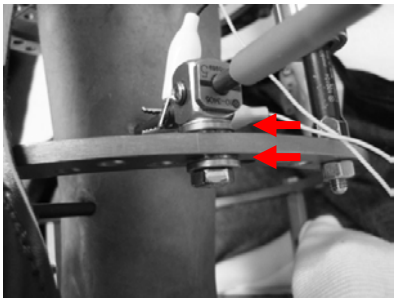
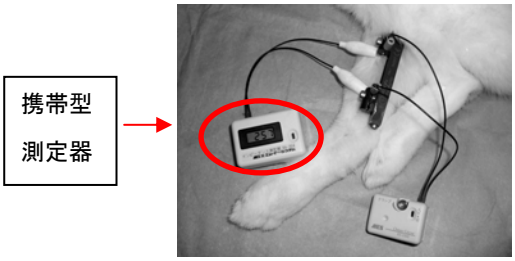


図 8　絶縁ピンクランプ

６．携帯型測定器の開発

これまで、家兎を用いた実験的創外固定モデルや、橈骨遠位端骨折の創外固定治療下での経時的なＺ値測定は、デジタルオシロスコープを用いて行ってきた。Ｚ値の測定手技は容易であるものの機器が大きくかさばるため、多施設にわたる患者の定期的測定は容易でなかった。そこで、軽量化された携帯型の測定器を（株）エム・イー・システム（MES 社）と共同で開発した。



これにより、主治医のみならず患者個人でも簡便に測定することが可能となり、Ｚ値測定による骨癒合判定法確立の一助になるものと期待される。また、これまでのＸ線による仮骨成熟評価だけでなく、患者も容易にＺ値を数値として認識することが可能で、骨折治療に対する意識向上にも寄与するものと期待される。

７．まとめ

インピーダンス測定法を整形外科領域における骨成熟度判定に応用した。家兎を用いた実験的仮骨延長モデルでは、Ｚ値は仮骨成熟過程に伴い有意に上昇し、その後一定化した。同時期に仮骨の力学的強度もほぼプラトーに達し、創外固定抜去可能と考えられた。骨髄内抵抗を測定した研究では、細胞増殖や仮骨期には、髄内の細胞増殖性変化によりＺ値が上昇し、以降のリモデリング期には、髄内以外の伝導路の変化によりＺ値が上昇することが明らかとなった。

Ilizarov 創外固定器のピンクランプの絶縁や携帯型測定器を開発し、臨床応用の適応が拡大した。小児疾患や橈骨遠位端骨折症例で用いられる小型の創外固定器や、四肢長管骨に用いられる大型の創外固定器、さらに Ilizarov 創外固定器まで含めてＺ値測定がさらに簡便となり、経時的変化をより詳細に評価することが可能である。また、患者がその測定値を認知することにより、患者参加型の骨折治療に寄与することが期待できる。

８．発表学会

a) 吉田隆司、金　郁喆、岡　佳伸、他。インピーダンス測定法を用いた延長仮骨の骨成熟度評価。第 20 回日本創外固定・骨延長学会、弘前、2007．4．28.

b) Yoshida, T., Kim, W-C. , Oka, Y., et al. Assessment of Regenerate Callus Using Measurement of Impedance in Rabbits. 15th Triennial Congress of Asia Pacific Orthopaedic Association, Seoul, Korea, 2007. 9. 13.

c) 吉田隆司、金　郁喆、岡　佳伸、他。延長仮骨成熟過程におけるインピーダンス値の変化の解析。第 22 回日整会基礎学術集会。浜松、2007．10．25-26.

d) Yoshida, T., Kim, W-C. , Oka, Y., et al. Assessment of Fracture and Distraction Callus by Monitoring Bone Electrical Impedance in Rabbits (poster). 54th Orthopaedic Research Society, San Francisco, USA, 2008.3.2-5.

e) 吉田隆司、金　郁喆、岡　佳伸、他。骨折治癒過程における髄内インピーダンス値の変化。第 35 回日本生体電気・物理刺激研究会、新潟、2008．3．8.

f) Measurement of Bone Electrical Impedance in Fracture Healing.

発表論文

Yoshida, T., kim,W-C. ,kawamoto,K.,et al. Measurement of Bone Electrical Impedance in

Fracture Healing. J or thop Sci. 2009. 14(3):320-9.

謝辞

今回の研究は、財団法人中谷電子計測技術振興財団の多大な援助により遂行されたもので、ここに記して深く感謝申し上げます。

参考文献

1) Miyatani M, Kanehisa H, Fukunaga T., 2000. Validity of bioelectrical impedance and ultrasonographic methods for estimating the muscle volume of the upper arm. *Eur J Appl Physiol*. 82, 391-396.
2) Miyatani M, Kanehisa H, Masuo Y, et al., 2001. Validity of estimating limb muscle volume by bioelectrical impedance. *J Appl Physiol*. 91, 386-394.

SPring-8 放射光を用いた小動物用４次元 CT システムの開発

研究責任者　独立行政法人理化学研究所
生体シミュレーションチーム
研究員　　世　良　俊　博

１．　はじめに

近年、遺伝子治療や再生医療が注目されさまざまな新薬の開発が行われているが、その過程で実際にヒトに投与する臨床試験の前に行われる動物実験はきわめて重要である。このような動物実験では、実験動物として扱いやすいだけでなく遺伝子配列がすでに解読されて特定遺伝子の操作が容易なラットやマウスなどの小動物がよく用いられる。薬剤効果を経時的に追跡するためには、サンプルを生きたまま撮影することは必須である。さらに、心臓や肺などの一定のリズムで大きく運動する臓器については、その動きを捕らえることは重要である。つまり、空間３次元情報だけでなく、時間情報を加えた４次元情報が必要である。なかでも、微細な薬剤効果を捉えることができる、高分解３次元動態観察が重要である。

一方、肺の空気は、肺自身が膨らんだり縮んだりすることによって流れるため、呼吸に伴う肺の複雑な大変形が、気道内の空気の流れ（換気）に大きな影響を及ぼす。すなわち、肺の変形とガス交換機能には密接な関係がある。直径の太い中枢気道では、気管支壁の一部に軟骨が存在し、呼吸の際にそれほど変形しないが、気道末梢部位では軟骨が消滅しているため、大きく変形することが予測される。しかし、この部位は、これまでに登場しているさまざまな可視化装置では観察ができず、実際にどのように変形しているかについても、報告がない。また、気道末梢部位は、肺疾患がよく発症する部位としても知られており、高分解能 X 線 CT と動物実験を組み合わせた気道末梢部位の動態観察は、呼吸生理学の分野でもその実現が待ち望まれていた。

そこで、本研究では、小動物（ラット、マウス）を生きたまま測定できる､心臓＆肺用の４次元 CT システムの開発を行い、３次元動態観察を行った。

２．　小動物用 4 次元 CT システムの開発

生きた小動物の心臓や肺を撮影する場合、最も重要なことは、リズムが速い心拍と呼吸によるモーションアーチファクトを軽減することと放射線線量を減らすことである。そこで、本研究では、心電図＆呼吸圧と同期して撮影を行うことによってモーションアーチファクト減らし、また X 線シャッターを導入して露光時以外には X 線シャッターを閉じることによって放射線量をできるだけ減らす撮影システムを開発した。

２．１　4 次元 CT システムの開発

図１（A）に概要を示す。本システムは、X線源、サンプルステージ、人工呼吸器、心電図測定装置、画像検出器、撮影制御用 PC、画像収集用 PC、吸入麻酔システムで構成されている。本実験は、後述する大型放射光施設 SPring-8 で実験を行ったため、X線源として放射光と分光器を組み合わせたものを用いた。撮影中は、心電図と気道内圧を常時モニターし、それぞれの信号を撮影制御 PC に取り込み、設定したタイミングで X 線シャッター、回転ステージ、画像検出器に信号を送り、撮影を行う。撮影した投影像は、画像収集 PC に蓄積され、サンプルが 180 度回転し測定終了後に再構成演算を行う。スキャン時間と投影枚数、投影間角度などの撮影パラメータは任意に設定できるソフトウェアを自作した。同様に、撮影後の CT 画像再構成、さらに 3 次元再構成ソフトウェアもオープンソースのライブラリを使用して自作した。

２．２　人工呼吸器

呼吸は、心臓と異なって、短時間であれば止めることが可能であり、この間は気道内の圧力は一定となるため、巨視的には肺は動いていない。この時に撮影することができれば、呼吸によるモーションアーチファクトを効果的に軽減することができるはずである。しかし、小動物は自発的に息を止めないので、任意のタイミングで息を止める、つまり気道内の圧力が一定となるような人工呼吸器を作成した。

人工呼吸器は、電源、基板、コンプレッサー（NMP830KNDC, KNF）、電磁弁（VK332, SMC）、比例制御電磁弁（SCE202,ASCO）、気道内の圧力を測定する圧力計（AP-C40, KEYENCE）、流量計（RK1250, KOFLOC）で構成されている。基板には、主に、電磁弁用にメカニカルリレー、比例制御電磁弁用にオペアンプとトランジスタを配置した。吸気・呼気回路のそれぞれに電磁弁は２個、比例電磁弁は１個配置し、外部制御（トリガー信号とアナログ電圧）によって任意の圧力息止めと流量が制御できるようにした（図１（B））。

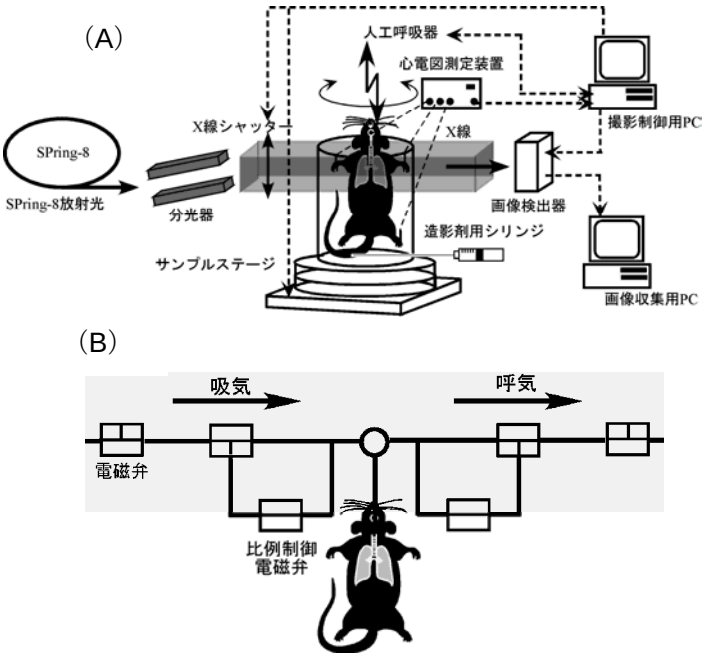


図1　実験装置概略図
（A）実験装置全体、（B）人口呼吸器の回路

３．　実験

実験は、大型放射光施設 SPring-8（http://www.spring8.or.jp）の医学・イメージングⅠビームライン BL20B2[1)]で行い、X線源として放射光を分光した単色 X 線を用いた。近年、フラットパネルなどの検出器が登場し、ピクセル分解能を 5 ミクロン前後としたマイクロ CT が発表されている。マイクロ CT はもともと産業用の非破壊検査として開発されたが、最近では生体観察用に応用されている。しかし、発生する X 線フラックスが低いためコントラスト分解能が低い。生体臓器のように組織内に密度差がほとんど存在しない場合は、ただ単純にピクセルサイズを小さくして空間分解能を上げるだけでなく、もともとの X 線のフラックスを上げてコントラスト分解能をあげる必要がある。本実験で用いた大型放射光施設 SPring-8 で発生される放射光は世界最高輝度であり、臨床用 CT やマイクロ CT に用いられている X 線に比べて約 1 億倍明るい。そのため、高空

間分解能検出器と組み合わせることによって、マイクロ CT 以上の高空間分解能な画像を取得することが可能である。検出器には、蛍光体（P43、厚さ:10－50 ミクロン)と CCD カメラ(C4880-41S、浜松ホトニクス）を組み合わせた可視光変換型を用い、空間分解能は 1 ピクセル＝12 ミクロン（マウス)、48 ミクロン（ラット）であった（図２)。

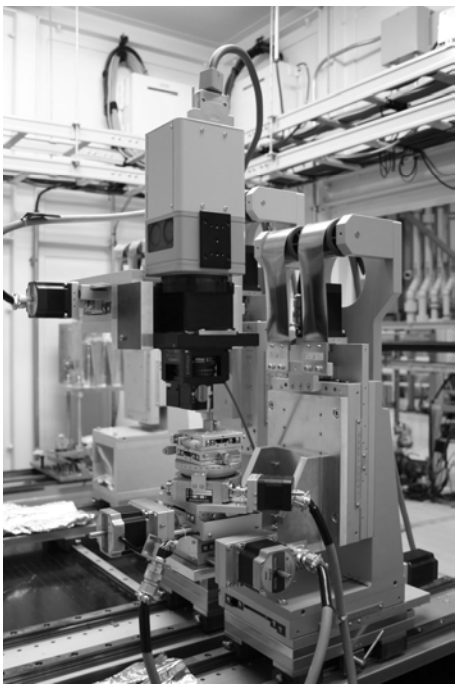


図2　画像検出器

３．１　サンプル

実験試料には、マウス（C3H/HeJ、オス、8 weeks）とラット（SD、オス、8 weeks）を用いた。ネンブタールで麻酔後、回転ステージ上に固定した。実験中は、1-2 %のイソフルランで麻酔状態を維持した。心臓を撮影する場合は、尾静脈から造影剤（ Fenestra VC, ART Advanced Research Technologies Inc., Canada）を投与した。

３．２　呼吸＆心拍によるモーションアーチファクト

図３に撮影シークエンスを示す。この場合は、気道圧が低い呼気終了時と心電図が T－P 波間で露光を行うように設定し、サンプルが 180° 回転終了するまで露光を繰り返した。この場合は、１

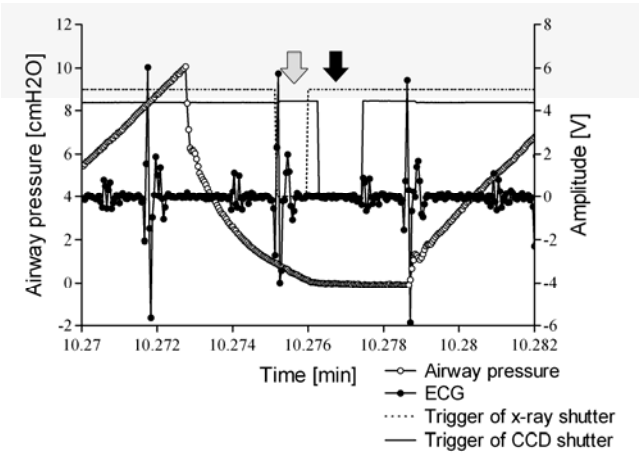


図3　撮影シークエンス（ラット）
白矢印：X 線シャッターが開く時間（50 ms）
黒矢印：露光（70ms）

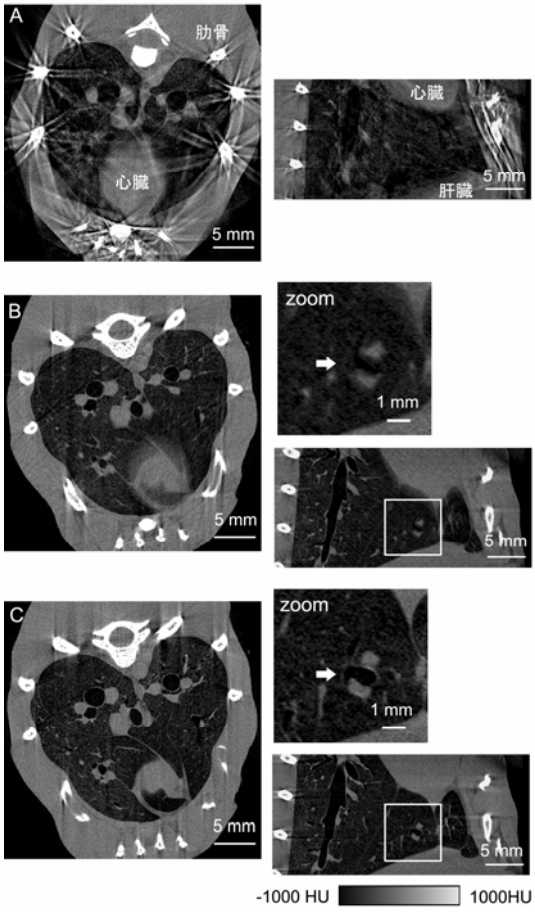


図4　モーションアーチファクトの軽減（ラット）
A：同期なし、B：呼吸同期のみ、
C：呼吸＆心電同期

呼吸に１回露光を行い、大体 15 分のスキャンで 900 枚の投影像を取得できる。図４にモーションアーチファクトの様子を示す。同期を行わない場合は、モーションアーチファクトは大きく、胸部の様子は全くわからない。呼吸のみ同期を行った場合は、横隔膜や心臓から離れていて比較的直径の太い気管支のエッジは明瞭であるが、心臓や直径の小さい末梢気道のエッジは不明瞭のままである。それに対し、心拍＆呼吸同期を行った場合は、末梢気道も心臓も明瞭に可視化することができ、本撮影シークエンスでモーションアーチファクトが軽減できることを確認した。

３．３　心臓の撮影

次に、心臓の３次元動態観察を行った。心臓を撮影する場合は、ヨード系の造影剤を用いているため、X線エネルギーはヨードの吸収端を利用した 33.4 keV とし、露光時間は 10 ms とした。撮影シークエンスを図５（A）に示す。具体的な撮影シークエンスは、呼気終了時（acquisition window）を気道内圧ピークの 100 ms 後から 300 ms 間と設定し、その期間で最初に現れる心電図のピーク（R 波）に注目した。その R 波から任意の時間遅れを毎スキャン変化させることによって、心臓の動態観察を行った。その結果を図７（ラット）と８（マウス）に示す。それぞれのタイミングにおける心臓や大動脈弁の変形だけでなく、特にマウスの場合は冠動脈の変形も確認することができた。

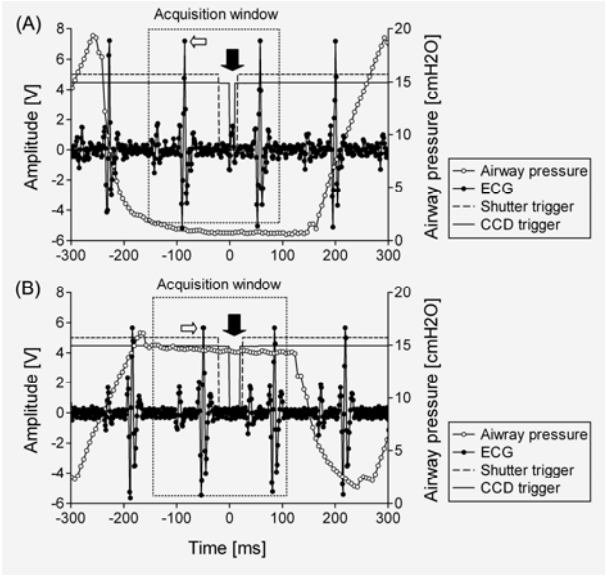


図5　撮影シークエンス
(A) 心臓の撮影、(B) 肺の撮影
白矢印：注目した心電図のピーク（R 波）
黒矢印：露光（A:10ms、B:40ms）

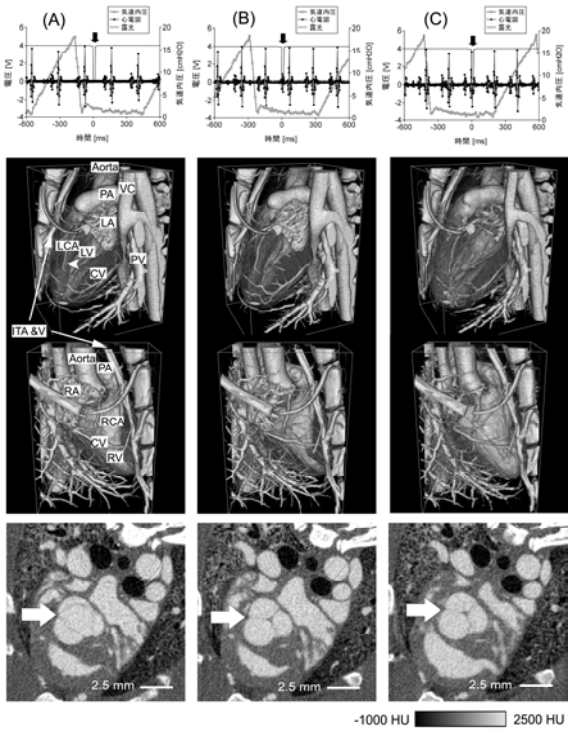


図7　心臓の3次元動態観察（ラット）
それぞれ、R 波から 70 (A)、145 (B)、205 ms (C) 後の三次元ボリュームと大動脈弁（白矢印）

３．４　肺の撮影

次に、肺の３次元動態観察を行った。X線エネルギーは、マウスの場合は 20 keV、ラットの場合は 25 keV とし、露光時間は、40 ms とした。撮影シークエンスを図５（B）に示す。具体的な撮影シークエンスは、新しく作成した人工呼吸器で設定した気道内の圧力が一定である期間（300 ms）を acquisition window と設定し、その期間で最初に現れる心電図のＴ波とＰ波の間に注目した。今回

の実験では、気道内の一定圧力を 0, 5, 15 cmH2O と変化させて、肺の動態観察を行った。結果を図９（マウス）を示す。直径１２５ミクロンの末梢気道の変形まで確認することができた。

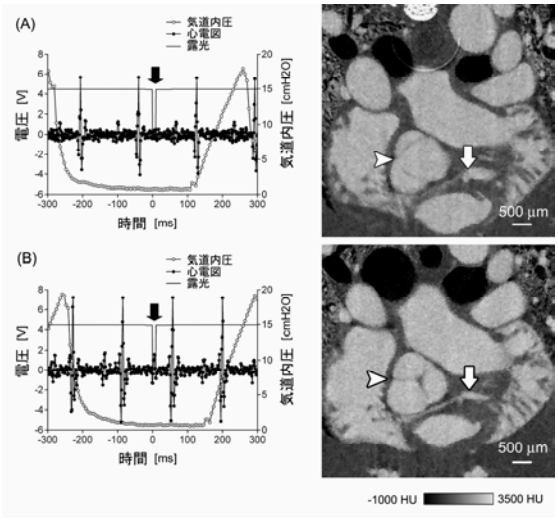


図8　大動脈弁（矢頭）と冠動脈（矢印）の3次元動態観察（マウス）
R 波から 45 (A)、 95 ms (B)後

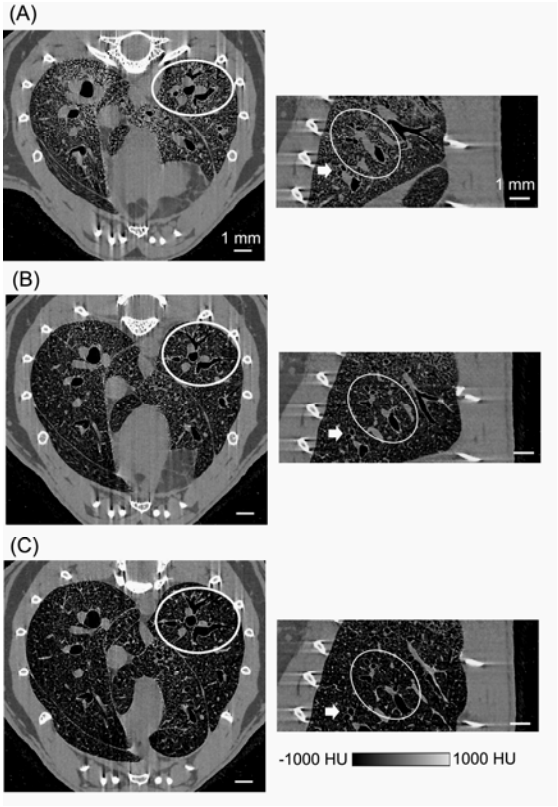


図9　肺の 3 次元動態観察（マウス）
0 (A)、5 (B)、15 (C) cmH2O

４．まとめ

最近、本研究のように、生きた小動物の心臓や肺をターゲットとした in vivo-CT が提案・開発されている。サンプルが生きている場合は心拍と呼吸によるモーションアーチファクトの軽減が最も大きな問題であり、大きく分けて２種類の撮影方法が提案されている。１つは、本撮影システムのようにある特徴的なイベントから任意の時間遅れを設定して心拍＆呼吸同期で撮影する方法[2), 3)]、もう 1 つは、とりあえず投影像を撮影して撮影終了後の再構成時に位相ごとに分割するという方法[4), 5), 6)]である。後者のほうが、短時間でたくさんの動態観察データが取得できるが、逆に高分解能の画像を取得することは困難である。逆に、前者は、測定時間がかかるが、高分解能の画像が期待できる。薬理反応などの動物実験を想定した場合、微小な生体反応を正確に把握することは非常に重要である。そのため、本研究では、可能な限り高分解能な画像を取得することを目標として、本撮影システムには前者の撮影システムを採用し、さらに息止め可能な人工呼吸器を新たに製作し、撮影は心拍＆呼吸を同期させることによって、モーションアーチファクトをできるだけ減少させた。本実験では、高分解能の画像を取得するために高フラックスの放射光を X 線源として用いたが、撮影用ソフトウェアおよび再構成用ソフトウェアは自作であるため、汎用のX線源と組み合わせることも可能である。

謝辞

本研究は、財団法人中谷電子計測技術振興財団の奨励研究助成もとで行われました。また、SPring-8 実験課題 (Proposal Number: 2007A1273, 2007B1229)のもとに実施した。ここに記して、深い感謝の意を表します。

参考文献

1) Goto S, Takeshita K, Suzuki Y, Ohashi H, Asano Y, Kimura H, Matsushita T, Yagi N, Isshiki M,

Yamazaki H, Yoneda Y, Umetani K. and Ishikawa T 2001 Construction and commissioning of a 215-m-long beamline at SPring-8 *Nucl. Instr. and Meth.* A **467-468** 682-685

2) Ford N L, Wheatley A L, Holdsworth D W, and Drangova M 2007b Optimization of a retrospective technique for respiratory-gated high speed micro-CT of free-breathing rodents Phys. Med. Biol. 52 5749-5769

3) Drangova M, Ford N L, Detombe S A, Wheatley A R, and Holdsworth D W 2007 Fast retrospectively gated quantitative four-dimensional (4D) cardiac micro computed tomography imaging of free-breathing mice *Invest Radiol.* **42(2)**, 85-94

4) Badea C, Fubara B, Hedlund L W, and Johnson G A 2005 4-D Micro-CT of the Mouse Heart *Mol Imaging.* **4(2)** 110-116

5) Ford N L, Nikolov H N, Norley C J, Thornton M M, Foster P J, Drangova M, and Holdsworth D W 2005 Prospective respiratory-gated micro-CT of free breathing rodents *Med Phys.* **32(9)**, 2888-2898

6) Ford N L, Martin E L, Lewis J F, Veldhuizen R A, Drangova M, and Holdsworth D W 2007a In vivo characterization of lung morphology and function in anesthetized free-breathing mice using micro-computed tomography *J Appl Physiol.* **102(5)**, 2046-55

発表論文

(1) Toshihiro SERA, Hideo YOKOTA, Kazuhiro FUJISAKI, Hiroyuki TACHIBANA, Kentaro UESUGI, Naoto YAGI, Ryutaro HIMENO, Development of high resolution 4D in vivo-CT for visualization of cardiac and respiratory deformations of small animals. Physics in Medicine and Biology 53(16), 4285-4301, 2008

レーザー変位計を用いた皮膚表面振動測定による力調節能力評価

研究責任者　大分県立看護科学大学人間科学講座
助教（申請時）
鹿屋体育大学スポーツパフォーマンス系
講　師（現在）　吉　武　康　栄
共同研究者　ジョージア工科大学応用生理学部
准教授　　篠　原　　稔

１．はじめに

ヒトの日常生活においては、箸でモノを掴む、歩行中に段差で躓かないように爪先を上げる、本のページを捲る、など、四肢を詳細にかつ精確に動かすことを要求される場面が多い。しかし、超高齢者やパーキンソン病などの神経系疾患者では、意志通りに四肢を動かし力を発揮することが困難であり、それは自立した生活活動に支障をきたすことを意味している。つまり、ヒトが意図した力を精確に調節する能力（力調節能力）の低下の要因を解明することや、その予防法を開発することは、高齢社会の我が国において社会的要請であろう。

神経生理学分野において力調節能力は、目標値に一致するように力を調節する課題中において、目標値に対する実際の力の誤差もしくは変動（force fluctuations）の大小（標準偏差もしくは変動係数）によって評価されている。健康成人においては、力変動は疲労、加齢、不活動により増加する[1)~3)]。逆に、筋力トレーニングや学習によりこれらの力変動の増加は抑制される[4)]。つまり、力調節能力は可塑性があり、日常生活活動量に依存されるといえる。

現在の所、力調節能力の評価値は力変動の大小のみで決定されている[1)]。しかし、たとえば、膝伸展運動や足関節底屈など多くの身体動作は、複数の筋（協働筋）が収縮しそれらの力が合力となって発現しており、最終的な外部出力である力の変動のみで力調節能力を評価することは、各々の筋の力発揮動態を見過ごしていることになる。このことは、将来的に力調節能力の低下防止プログラムを作成する場合、どの筋が要因となって力調節能力に不具合が生じさせているのか、そしてどの筋を対象に主に処方を施せば良いのか、という情報が得られず、結果的にプログラム立案が困難であろう。現実的には、各筋から出力された力を別々に測定するのは方法論上不可能であるため、新しい力調節能力の評価法の開発が望まれる。

そもそも力というものは、活動している運動単位の単収縮が加算されたものである。運動単位の収縮時には筋線維の短縮および腱の伸張がともなうため、筋形状変化が起こる。その筋形状変化は皮膚表面上にて変位センサを用いて測定することができる。筋内に直接ワイヤ電極を挿入し電気刺激によって誘発した筋（線維）収縮時においては、マイクロフォンで取得した筋表面の変位（振動）は力の加重（強縮）状況（＝力変動）に非常に類似していた[5)]。複数の筋線維が非同期的

に活動する随意的筋収縮時においても筋表面振動が力変動と類似しているかは未だ定かではないものの、力が増大すると筋表面は拡大、逆に力が減少すると筋表面は縮小することから、力と筋表面振動の波形には密接な関係性があることが示唆される。ここで、単一の筋のみが収縮する場合、「筋音図の波形と力の波形の間に時間空間的に類似性がある」と仮定すると、複数の筋（協働筋）収縮においても各筋から筋表面振動測定を行えば、各筋の力の変動動態が推定可能となり、力調節能力の生理学的規定因子の解明に応用できると考えられる。

これまで筋表面振動測定は、筋腹の皮膚表面に接触型の加速度計や変位計を直接貼り付けて測定されてきたが、皮膚表面の動きが縦方向だけではないため、S/N 比が低いなど精度に問題があった。そこで、我々は「高精度レーザー方式の変位計」を用いて非接触的に筋表面の振動を測定することによって、精度の向上を計るとともに、汎用性を図ることを試みることにした。本研究の目的は、これらの実験機器設置により、骨格筋収縮の際に生じる筋表面振動と力変動の波形類似性を明らかにすることとした。

２．方法

対象者は 8 名の健康な成人（男 5 名、女性 3 名、平均 ± 標準偏差: 23.9 ± 5.4 歳; 範囲: 20-33 歳）であった。全ての対象者は過去および現在において神経・筋関連の疾患の経験がなく、利き腕は右であった。実験の概要を説明した後、大分県立看護科学大学倫理委員会の指針に沿い、全被検者から実験参加への同意文書を得た。

２．１　実験設定（図 1A）

実験は、右手の第一背側骨間筋を対象に行われた。対象者の 1m 前方には 21 インチのモニタを設置した。右肩はおおよそ 45 度屈曲し、 肘関節は約 150 度、手首は完全回内位とした。不必要な四肢の動きを防ぐため、腕は吸引式の固定用パッドを用いて厳重に固定した。

人差し指は第一および第二関節を完全伸展位にてテーピングで固定を行った。親指は伸展位でプレートにて固定した。残りの 3 指については、半円柱様のグリップを握らせ、その形状のままストラップを用いて固定した。人差し指においては、第 2 関節の側位部が力測定用トランスデューサの測定部に接触するよう位置を調節した。

２．２　最大随意収縮（MVC）課題

まず、各対象者の第一背側骨間筋の屈曲動作における MVC 課題をおこなった。対象者には力を直線的に増加させ 3〜4 秒後に最大の力発揮に達し、その後 2 秒間程度維持するよう指示した。検者は 1 秒ごとに秒数をカウントし、力発揮が最大に近づいた頃から対象者を励ました。各対象者は 3 回 MVC 課題を行い、そのうちの最大値を MVC とした。

２．３　力調節課題

力調節の目標値は、MVC の 2.5、5、10、20、40、60%とした。目標値と実際に発揮した力はモニタ上に水平な線表示するよう設定した。対象者は、目標値とされた線に対して実際に発揮した力を示す線ができるだけ一致するよう力発揮を行った。ここで、力変動そのものの周波数帯域は非常に低周波数（< 2Hz）である [6), 7)]。よって、波形の類似性を統計学的に検証するためには、データ長にある程度の長さが必要となる。しかしながら、目標値が高強度の場合は、長時間の課題では疲労が生じ本研究の目的とは逸脱してしまう。そこで、本研究においては、10% MVC 以下の目標値の場合は 20 秒間、一方 20% MVC 以上の目標値の場合は 10 秒間課題動作を行うことにした。つまり、本研究で 60% MVC より大きい強度での課題を行わなかったのは、先の予備実験において疲労などの要因により対象者が 10 秒間の力調節課題を遂行できなかったからである。各目標値における力調節課題の前には必ず練習課題を数回行った。

また、課題動作間には最低 1 分の休息をはさんだ。なお、各目標値となる課題の順番はランダムとした。なお、実験プロトコルは我々の先行研究を参照している [8)、9)]。

２．４　測定（図 1A）

人差し指による屈曲力は人差し指の第 2 関節の側面に設置したストレンジゲージトランスデューサ（LUR-A-100NSA1、共和電業社製 ; 0.19V / N）を用いて測定した。屈曲力は、DC 増幅器（DPM 700、共和電業社製）を用いて増幅およびローパスフィルタリング（< 100 Hz）を行った。

人差し指屈曲動作の主働筋は、第一背側骨間筋である。その第一背側骨間筋の筋表面振動は、非接触型の高精度レーザー変位計（LK-G155、キーエンス社製; 周波数応答= DC - 5 kHz; 変位の分解能: 0.5 μm）とそのコントロールユニット（LK-G3000V、キーエンス社製）を用いて測定した。

力および筋表面振動は 16 ビットのアナログ・デジタル変換器（Power 1401、Cambridge Electronic Design 社製）を用いて 1 kHz にてサンプリングを行い、パーソナルコンピュータに保存した。

２．５　解析

力調節課題においては、10% MVC 以下の課題では中央 16.384 秒を、20% MVC 以上の課題では中央 8.192 秒を解析区間とした。まず、力および筋表面振動の平均値および標準偏差を算出した。次に、双方の周波数特性を明らかにするために、高速フーリエ変換によるパワースペクトル密度を算出した。その際の周波数分解能は、10% MVC 以下の課題で 0.061 Hz、20% MVC 以上の課題で 0.122 Hz であった。パワースペクトル密度は各々のデータにおける最大値を基準に正規化を行った。

次に、力および筋表面振動の波形類似性の有無を検証した。まず、時間空間的波形類似性の検証として、相互相関係数（CCF）の算出を以下のように行った。まず、データは時間ずれ無し（a zero phase lag）の 10 次バターワースフィルタ（< 50 Hz）を施した [10)]。時間分解能はすべての負荷での課題において、0.001 秒であった。相互相関係数（CCF）においては、時間ずれが 0 に近い明らかなピークの値を算出し、その値が得られた時間ずれも導出した。なお、時間ずれはフェイズスペクトルからも算出した。

周波数空間的な波形類似性を検証するために、コヒーレンスとフェイズスペクトル解析を用いた [11)]。ここで、力信号の行列を x、筋表面振動の行列を y と定義した場合、この 2 行列のコヒーレンススペクトル $Coh^2(f)$ は以下のように算出される。

$$Coh^2(f) = \frac{|S_{xy}(f)|^2}{S_x(f)S_y(f)}$$

ここで、f は周波数のことである。$S_{xy}(f)$ は x と y のクロスパワースペクトル、$S_x(f)$ と $S_y(f)$ はそれぞれ x と y の自己パワースペクトルである。

フェイズスペクトル $\theta_{xy}(f)$ は次のように定義される。

$$\theta_{xy}(f) = \tan^{-1}\frac{\cos S_{xy}(f)}{\sin S_{xy}(f)}$$

2 信号間の時間ずれはコヒーレンスが有意な周波数帯域におけるフェイズスペクトルの傾きで算出した。以上の解析は、すべて MATLAB（The Mathworks 社製）上にて行われた。

２．６　統計処理

CCF のピーク値における力調節の目標値による違いに関しては、繰り返しのある 1 元配置の分散分析を行った。CCF のピークが発現する時間ずれに関しては、繰り返しのある 2 元配置の分散分析（解析方法 × 力調節の目標値）を行った。必要の際には、ボンフェローニ検定によりその後の検定を行った。これらの検定においては 有意水

準は 5%とした。一方、コヒーレンス解析における有意検定は、99%信頼区間にて評価を行った[12),13)]。文中は平均値 ± 標準偏差、図中は平均値 ± 標準誤差で表記した。

３．結果

３．１　力変動および筋表面振動の振幅値変化

人差し指の屈曲動作における最大随意筋力（MVC）は、34.1 ± 10.3 N であった。図 1B および図 1C からも明らかであるように、力調節課題において力は必ず変動し、同時に筋表面も振動していた。それらの変動（振動）の振幅値は収縮（目標値）強度の増加にともない増加していた（図 2）。

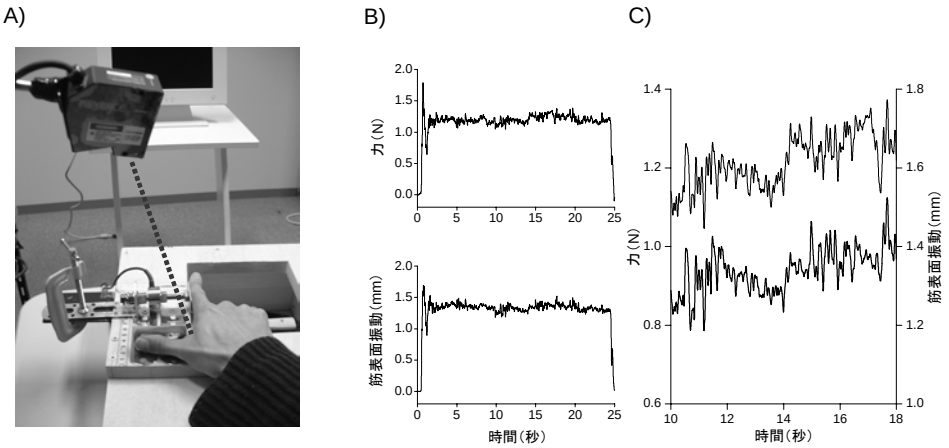


図 1　A）実験設定状況。B）5% MVC 力調節課題中の力および筋表面振動の例。C）B）の拡大図（8 秒間）。

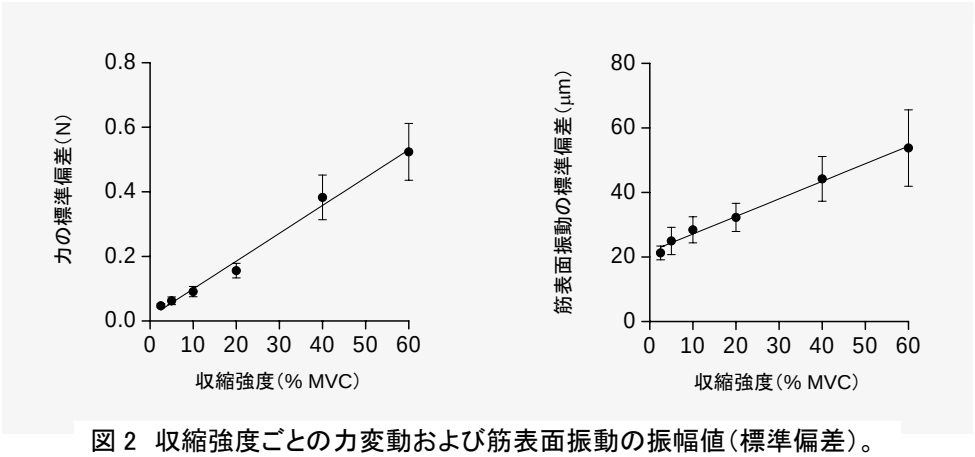


図 2　収縮強度ごとの力変動および筋表面振動の振幅値（標準偏差）。データは平均値 ± 標準誤差を示している。

３．２　力変動と筋表面振動波形の時間空間的波形類似性

力変動と筋表面振動が波形的に類似していることは、図 1B および図 1C より明白である。相互相関係数（CCF）は、すべての力調節の目標値において、明白な正のピークが認められた（図 3）。そのピーク値は、0.49～0.59 であった。また、そのピークが発現するのは、2 信号が-0.6～-3.9 ms の時間ずれが生じた時であった。その時間ずれは有意に負の値を示したが（$P < 0.05$）、これは筋表面振動が力変動よりも時間的に先行して波形が生じていることを意味している。なお、CCF のピーク値および時間ずれは、力調節課題の目標値の大きさには影響を受けていなかった（$P > 0.05$）。

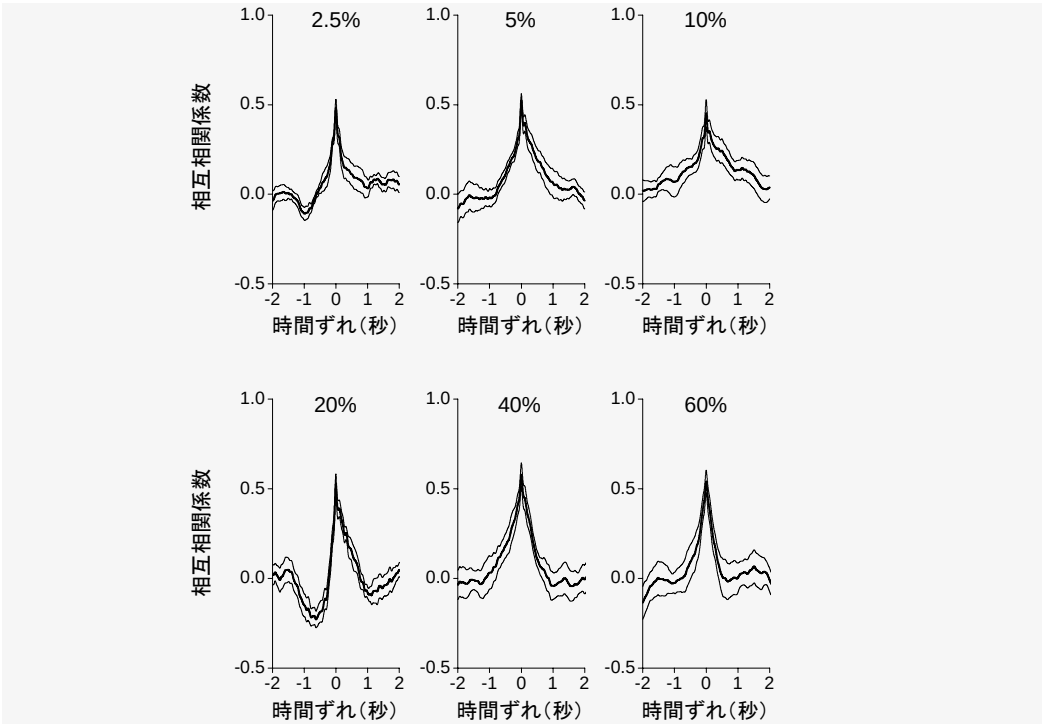


図 3　第一背側骨間筋収縮における収縮強度ごとの力変動と筋表面振動の相互相関係数。太線は全被検者の平均値、細線はその標準誤差を示している。

３．３　力変動および筋表面振動波形の周波数特性

力変動および筋表面振動の周波数特性を検証するために、それぞれの信号に対し高速フーリエ変換によるパワースペクトル密度を算出した。両信号ともに、主なパワー値は 5Hz 以下であり（力変動；88.1 ± 7.7%、筋表面振動；89.0 ± 8.2%）、両信号とも類似した周波数帯域を呈した（図 4）。

力変動の平均周波数は収縮強度（目標値）の増加とともに低下した（0.14 ± 0.03 Hz @ 2.5% MVC ～0.07 ± 0.01 Hz @ 60% MVC ; $P < 0.05$）。同様に、第一背側骨間筋の筋表面振動も収縮強度（目標値）の増加とともに低下した（0.094 ± 0.05 Hz @ 2.5% MVC～0.062 ± 0.033 Hz @ 60% MVC ; $P < 0.05$）。

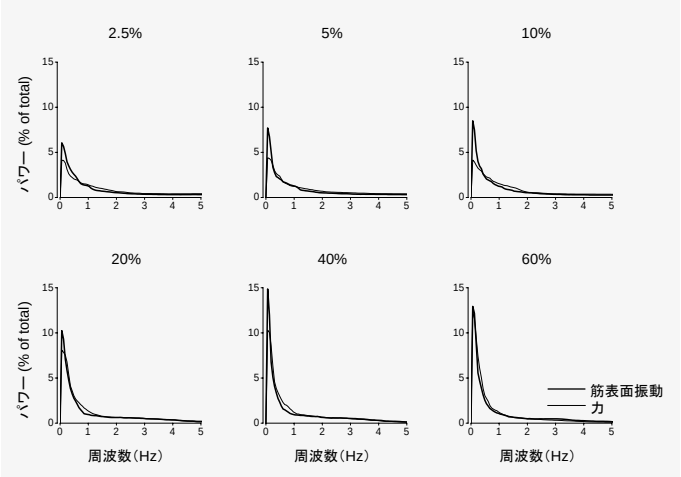


図 4　第一背側骨間筋収縮における収縮強度ごとの力変動（細線）および筋表面振動（太線）のパワースペクトルの全被検者の平均値。パワー値（縦軸）は全パワー値のパーセンテージで算出した。

３．４　力変動および筋表面振動波形の周波数空間的波形類似性

力変動と筋表面振動の周波数空間的波形類似性を検証するために、コヒーレンスおよびフェイズスペクトルを算出した。力変動と筋表面振動のコヒーレンスはどの力調節の目標値においても低周波数帯域において有意な値を呈した（図 5A)。加えて、全目標値において、有意なコヒーレンスを示した割合を周波数軸でプロットしたところ、やはり低周波数帯域において高い割合を示した（図 5B)。スペクトル解析により明らかとなった（図 4）両信号の主な成分である 5Hz より低い周波数帯域では、90%以上のデータが有意なコヒーレンスを示した。加えて、15Hz までは、おおよそ 80%のデータが有意なコヒーレンスを示した。

フェイズスペクトル解析から算出した力変動と筋表面振動の時間ずれは、有意に負の値を呈した（$P < 0.05$)。先に記述したように相互相関係数のピーク値が有意に負の値を示した結果と併せて考慮すると、筋表面振動が力変動よりも先行していることは間違いない。また、相互相関係数とフェイズスペクトル解析それぞれの方法から算出した時間ずれの値には、ばらつきが認められたが、有意な違いは生じていなかった。

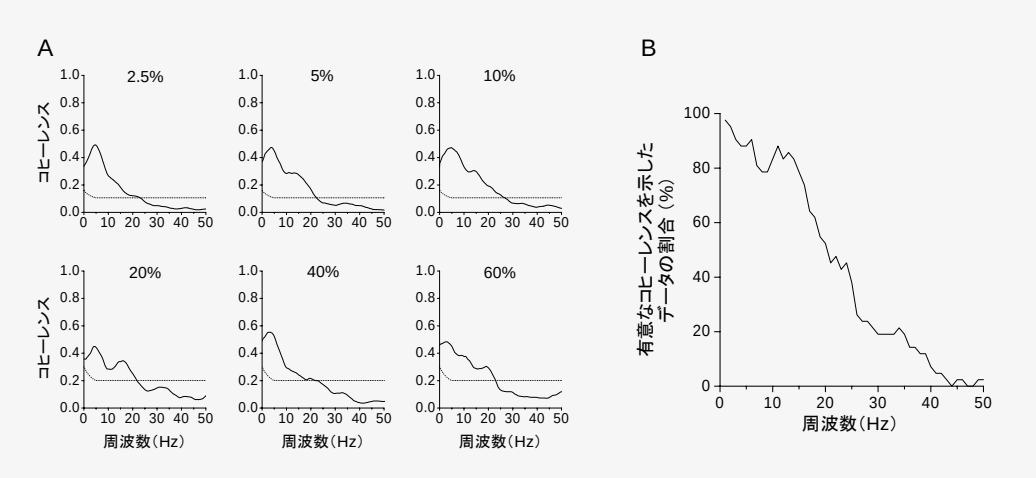


図 5　A)一背側骨間筋収縮における収縮強度ごとの力変動と筋表面振動のコヒーレンススペクトル。データは全被検者の平均値を示し、点線は 99%信頼区間を表している。B)被検者および収縮強度を含めた全データのうち、各周波数において有意なコヒーレンスを示したデータの割合。

４．考察

４．１　Main findings

本研究では、以下のことが明らかとなった。(1) 力変動および筋表面振動の振幅値は収縮強度の増加に伴い増加した、(2) 力変動と筋表面振動は正の相互相関関係が認められた、(3) 両信号の周波数帯域は同一であった、(4) 両信号間には、5Hz より低い周波数帯域で有意なコヒーレンスが認められた。

４．２　２信号の周波数特性

筋疲労のない場合、力変動は 1Hz 近辺の低周波数帯域が主な成分であるが、本研究においても同様の周波数帯域を呈した [7), 14), 15)]。また、力変動の平均周波数は収縮強度の増加によって低下する [7)]。本研究においても同様の結果が得られたが（図 4)、この傾向について筋表面振動について示したのは本研究が初である。

本研究と同様に等尺性の第一背側骨間筋収縮時における筋表面振動は、加速度計による測定では 1～250 Hz という広周波数帯域を呈した [16)]。加

えて加速度計測定では、平均周波数は 20〜30 Hz と本研究の結果よりも非常に高い周波数を示していた[16]。このような違いは、文字通り加速度計測定で得られる信号は皮膚表面振動の「加速度」であり、一方、本研究で用いた測定機器（変位計）は「加速度」を 2 階積分した「変位」であるためであると考えるのが妥当であろう。逆に言えば、変位を 2 階微分した加速度においては変位の比較的高周波数帯域が強調して増幅されたものを主に表していることになる。したがって、力変動という非常に低周波数（< 5 Hz）成分で構成されている信号を筋表面振動から推定する場合には、筋表面振動の測定には加速度計は不向きかもしれない。

４．３　波形類似性

力変動と筋表面振動の信号間の強い類似性は、時間空間および周波数空間的解析によって明らかとなる。相互相関係数において有意でかつ明確な正のピークが認められ（図 3)、またコヒーレンス解析によって、2 信号の主成分である 5Hz 以下の周波数帯域で有意なコヒーレンスが認められた（図 5)。また、力調節の全目標値における課題において、相互相関係数のピークが発現する負の時間ずれは、筋収縮の時系列変化と一致する。つまり、筋の収縮および腱の伸張という筋形状変化（筋表面振動）を経て力（変動）が発生するということである。

このような筋形状変化と力の発生の強い関連性については、近年、単収縮中における筋束長や腱組織の伸張変化を超音波 B モード法により定量化した研究からも示唆される[17、18]。たとえば、78 フレーム / 秒の画像によって解析処理された筋束および腱の長さ変化は、力波形と類似した特性を示す[18]。つまり、筋収縮にともなう筋表面の変位は筋束や腱の長さ変化にともなう筋形状変化を反映しているのであろう。

４．４　2 信号間の時間ずれ

筋表面振動と力変動の時間ずれは、本研究で対象とした第一背側骨間筋においては非常に短い（< 10 ms)。一方、前脛骨筋を対象とした研究においては[17]、筋束の短縮および腱の伸張と力の発生の間には 10〜30 ms のずれがあった。このような大きな時間ずれは、筋のたるみ（slack）の有無によるものであると考えられる[19、20]。たとえば、単収縮においては、筋・腱が完全に弛緩（安静）状態から筋収縮を誘発する。そのため、力が発生するためには、緩んだ腱を筋（線維）が収縮して引き伸ばす必要性がある。そのため、時間ずれが比較的大きいと考えられる。一方で、ネコを対象とした実験においては、連続した電気刺激によって誘発された筋収縮中の筋表面振動と力の時間ずれは、わずか 9.6〜16.2 ms であった[21]。 つまり、筋収縮開始直後と筋収縮中においては、筋の形状そのものが違うため、時間ずれにも違いが生じるのであろう。本研究においては、1）対象となった第一背側骨間筋の腱の体積自体が非常に小さいこと、2）人差し指と親指の設置位置により筋長が予め引き伸ばされている状態であること、3）解析区間が筋収縮中であるため予め slack が少なかったなどの理由により、時間ずれが非常に短いものだったと考えられる。

４．５　振幅値

筋表面振動および力変動の振幅値は、ともに収縮強度の増加にともなって直線的に増加した（図 2)。力変動の振幅値の直線的な増加は、同一の筋および同一の収縮強度での測定結果でも報告されている[7、22]。ヒトがある一定の目標値に力をできるだけ精確に合わせようとしても、力には変動が必ずともなう。この力が変動する起源は、運動単位プールの活動様相、特に、運動単位の発火頻度の変動である[7、23]。よって、筋表面振動の起源も間接的に運動単位の発火頻度の変動であることが示唆されるが、これまで報告されてきた結果はいささか複雑である。たとえば、同様に第一背側骨間筋を対象とした結果では、筋表面振動の振

幅値変化は 21% MVC までは緩やかな増加、そして 41% MVC までは急激な増加を示し、それ以上の収縮強度においては急激な低下を示すことが加速度計を使った研究で報告されている [16]。 よって本研究との結果の相違は、 前述した通り測定機器の違いによるものであることが予測されるため、更に詳しく考察を行ってみた。

４．６　加速度計と変位計測定の違い

測定機器の違いによる筋表面振動の波形特性は、単刺激および連続刺激による電気刺激誘発筋収縮において明らかにされている [5), 24~27)]。たとえば、連続電気刺激による筋収縮中において、コンデンサマイクロフォンによる測定では筋表面振動の平均周波数は刺激頻度と一致している [5),28),29)]。一方、加速度計による測定では筋表面振動の平均周波数は刺激頻度よりも高い傾向であった [30), 31)]。

随意筋収縮において、接触型コンデンサマイクロフォン、接触型ピエゾセンサ、そして非接触型レーザー変位計による皮膚表面振動測定では、平均周波数は 20 Hz 以下である。一方、加速度計を用いた測定時には 20-40 Hz の範囲の周波数帯域である [32)~34)]。このような周波数特性の違いは、接触型コンデンサマイクロフォン、接触型ピエゾセンサ、そして非接触型レーザー変位計が皮膚表面振動の変位を測定しているのに対し、加速度計は文字通り皮膚表面振動の加速度を測定しているためであることに疑いはない。

これまで加速度計を用いた皮膚表面振動特性については数多くの研究報告がなされており、特に、運動単位の活動様相、つまり運動単位の発火頻度や動員様式について考察が行われている [16), 35), 36)]。しかしながら、加速度計は皮膚表面振動の変位、（本研究の結果をもって）言い換えれば、力変動の 2 階微分値を表している。随意収縮中の力変動は、各運動単位固有の単収縮波形を同期的もしくは非同期的に合計した結果発生する。つまり、力変動には、特に主な周波数帯域である 20 Hz 以下の成分には確実に運動単位の発火頻度や発火頻度の変動成分が多く含まれていることになる [7), 37)]。一方で、 現時点において力変動の高周波数成分（もしくは力変動の 2 階微分値）と運動単位活動様相との関連性に関する直接的なエビデンスはない。よって、加速度計測定による皮膚表面振動測定の評価および考察は充分に留意する必要があり、本研究の結果からは、非接触型の変位計測定がより筋表面振動の生理学的機序を理解できやすいと考えられる。

４．７　まとめと今後の展望

本研究の結果より、等尺性の第一背側骨間筋背側収縮においては、比較的高強度まで力変動と筋表面振動は波形類似性があることが確認できた。今後、咀嚼筋や脊柱起立筋収縮など比較的力測定が困難である部位への応用が期待できる。また、ヒトの日常生活における動作を考慮すると、やはり「動的」な動作での力変動を対象にする必要性があり、今後は本研究の結果を基にその技法の開発に着手する。

謝辞

本研究は平成 18 年度（財）中谷電子計測技術振興財団の奨励研究助成を受けて行われた。ここに記して深謝いたします。また、実験に関し品川佳満氏、平池みぎわ氏（大分県立看護科学大学）およびデータ解析に関し政二慶氏（トロント大学）の協力を得た。ここに記して謝意を表します。

参考文献

1) **Enoka RM, Christou EA, Hunter SK, Kornatz KW, Semmler JG, Taylor AM and Tracy BL**. Mechanisms that contribute to differences in motor performance between young and old adults. *J Electromyogr Kinesiol* 13: 1-12, 2003.

2) **Maluf KS and Enoka RM**. Task failure during fatiguing contractions performed by humans. In: *J Appl Physiol*, 2005, p. 389-396.

3) **Shinohara M, Yoshitake Y and Kouzaki M**. Alterations in synergistic muscle activation impact fluctuations in net force. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 2008.

4) **Kornatz KW, Christou EA and Enoka RM**. Practice reduces motor unit discharge variability in a hand muscle and improves manual dexterity in old adults. *J Appl Physiol.* 98: 2072-2080. Epub 2005 Feb 2073., 2005.

5) **Yoshitake Y, Shinohara M, Ue H and Moritani T**. Characteristics of surface mechanomyogram are dependent on development of fusion of motor units in humans. *J Appl Physiol* 93: 1744-1752, 2002.

6) **Yoshitake Y, Kouzaki M, Fukuoka H, Fukunaga T and Shinohara M**. Modulation of muscle activity and force fluctuations in the plantarflexors after bedrest depends on knee position. *Muscle Nerve* 35: 745-755, 2007.

7) **Taylor AM, Christou EA and Enoka RM**. Multiple features of motor-unit activity influence force fluctuations during isometric contractions. *J Neurophysiol* 90: 1350-1361, 2003.

8) **Shinohara M**. Effects of prolonged vibration on motor unit activity and motor performance. *Med Sci Sports Exerc* 37: 2120-2125, 2005.

9) **Shinohara M, Keenan KG and Enoka RM**. Fluctuations in motor output during steady contractions are weakly related across contraction types and between hands. *Muscle Nerve* 31: 741-750, 2005.

10) **Winter DA**. *Biomechanics and Motor Control of Human Movement*. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, 2004.

11) **Bendat JS and Piersol AG**. *Random Data: Analyis and Measurement Procedures*: Wiley-Interscience, 2000.

12) **Rosenberg JR, Amjad AM, Breeze P, Brillinger DR and Halliday DM**. The Fourier approach to the identification of functional coupling between neuronal spike trains. *Prog Biophys Mol Biol* 53: 1-31, 1989.

13) **Timmer J, Lauk M, Pfleger W and Deuschl G**. Cross-spectral analysis of physiological tremor and muscle activity. I. Theory and application to unsynchronized electromyogram. *Biol Cybern* 78: 349-357, 1998.

14) **Christou EA, Jakobi JM, Critchlow A, Fleshner M and Enoka RM**. The 1- to 2-Hz oscillations in muscle force are exacerbated by stress, especially in older adults. *J Appl Physiol* 97: 225-235, 2004.

15) **Vaillancourt DE and Newell KM**. Aging and the time and frequency structure of force output variability. In: *J Appl Physiol*, 2003, p. 903-912.

16) **Akataki K, Mita K, Watakabe M and Itoh K**. Mechanomyographic responses during voluntary ramp contractions of the human first dorsal interosseous muscle. *Eur J Appl Physiol* 89: 520-525, 2003.

17) **Oda T, Himeno R, D CH, Chino K, Kurihara T, Nagayoshi T, Kanehisa H, Fukunaga T and Kawakami Y**. In vivo behavior of muscle fascicles and tendinous tissues in human tibialis anterior muscle during twitch contraction. *J Biomech* 40: 3114-3120, 2007.

18) **Oda T, Kanehisa H, Chino K, Kurihara T, Nagayoshi T, Fukunaga T and Kawakami Y**. In vivo behavior of muscle fascicles and tendinous tissues of human gastrocnemius and soleus muscles during twitch contraction. *J Electromyogr Kinesiol* 17: 587-595, 2007.

19) **Muraoka T, Muramatsu T, Fukunaga T and Kanehisa H**. Influence of tendon slack on electromechanical delay in the human medial gastrocnemius in vivo. *J Appl Physiol* 96: 540-544, 2004.

20) **Ito M, Akima H and Fukunaga T**. In vivo

moment arm determination using B-mode ultrasonography. *J Biomech* 33: 215-218, 2000.

21) **Orizio C, Baratta RV, Zhou BH, Solomonow M and Veicsteinas A**. Force and surface mechanomyogram frequency responses in cat gastrocnemius. *J Biomech* 33: 427-433, 2000.

22) **Burnett RA, Laidlaw DH and Enoka RM**. Coactivation of the antagonist muscle does not covary with steadiness in old adults. *J Appl Physiol* 89: 61-71, 2000.

23) **Hamilton AFDC, Jones KE and Wolpert DM**. The scaling of motor noise with muscle strength and motor unit number in humans. *Exp Brain Res* 157: 417-430, 2004.

24) **Barry DT**. Vibrations and sounds from evoked muscle twitches. *Electromyogr Clin Neurophysiol* 32: 35-40, 1992.

25) **Barry DT, Hill T and Im D**. Muscle fatigue measured with evoked muscle vibrations. *Muscle Nerve* 15: 303-309, 1992.

26) **Bichler E**. Mechanomyograms recorded during evoked contractions of single motor units in the rat medial gastrocnemius muscle. *Eur J Appl Physiol* 83: 310-319, 2000.

27) **Petitjean M, Maton B and Fourment A**. Summation of elementary phonomyograms during isometric twitches in humans. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 77: 527-535, 1998.

28) **Stokes MJ and Cooper RG**. Muscle sounds during voluntary and stimulated contractions of the human adductor pollicis muscle. *J Appl Physiol* 72: 1908-1913, 1992.

29) **Yoshitake Y and Moritani T**. The muscle sound properties of different muscle fiber types during voluntary and electrically induced contractions. *J Electromyogr Kinesiol* 9: 209-217, 1999.

30) **Vaz MA, Herzog W, Zhang YT, Leonard TR and Nguyen H**. Mechanism of electrically elicited muscle vibrations in the in situ cat soleus muscle. *Muscle Nerve* 19: 774-776, 1996.

31) **Vaz MA, Herzog W, Zhang YT, Leonard TR and Nguyen H**. The effect of muscle length on electrically elicited muscle vibrations in the in-situ cat soleus muscle. *J Electromyogr Kinesiol* 7: 113-121, 1997.

32) **Watakabe M, Itoh Y, Mita K and Akataki K**. Technical aspects of mechnomyography recording with piezoelectric contact sensor. *Med Biol Eng Comput* 36: 557-561, 1998.

33) **Watakabe M, Mita K, Akataki K and Ito K**. Reliability of the mechanomyogram detected with an accelerometer during voluntary contractions. *Med Biol Eng Comput* 41: 198-202, 2003.

34) **Watakabe M, Mita K, Akataki K and Itoh Y**. Mechanical behaviour of condenser microphone in mechanomyography. *Med Biol Eng Comput* 39: 195-201, 2001.

35) **Akataki K, Mita K, Watakabe M and Itoh K**. Mechanomyogram and force relationship during voluntary isometric ramp contractions of the biceps brachii muscle. *Eur J Appl Physiol* 84: 19-25, 2001.

36) **Orizio C, Gobbo M, Diemont B, Esposito F and Veicsteinas A**. The surface mechanomyogram as a tool to describe the influence of fatigue on biceps brachii motor unit activation strategy. Historical basis and novel evidence. *Eur J Appl Physiol* 90: 326-336, 2003.

37) **Jones KE, Hamilton AF and Wolpert DM**. Sources of signal-dependent noise during isometric force production. *J Neurophysiol* 88: 1533-1544, 2002.

医療材料の迅速評価に用いる表面因子アレイチップの作製と その測定システムの開発

研究責任者　広島大学大学院　医歯薬学総合研究科
助　教　　平　田　伊佐雄
共同研究者　広島大学大学院　医歯薬学総合研究科
教　授　　岡　崎　正　之
岡山大学大学院　医歯薬学総合研究科
教　授　　鈴　木　一　臣

１．はじめに

組織接着、炎症、免疫反応、血液凝固など医療材料と生体組織との様々な相互作用は、基本的に材料と生体分子とのバイオインターフェースでの反応により発生する。そのため、接着促進や癒着防止、抗血栓性、抗炎症性、組織再生など様々な目的に対応した生体適合性を医療材料表面に付与するためには、これらの反応を十分に理解する必要がある。

医療材料の生体反応性を決める因子は、表面の官能基の比率、相分離、可動性、粗さなど複数あり、それぞれの因子毎に細胞・生体分子との反応性が大きく変化する。また、表面因子が同じであっても細胞・組織ごとに接着･増殖・分化能が異なる。故に、医療材料と生体間の相互作用を調べる上では、生体内に存在するさまざまな細胞や生体分子ごとにおける表面因子との相互作用を解析する分析手法の開発が必要となる。（図１）

近年、多量の検体を一度の測定で短時間に求める手法として DNA チップやプロテインチップが用いられている。これらのチップはチップ上に数十～数万の試料をマイクロアレイ上に固定化し、光学イメージによりこれら大量の試料の反応を一網打尽的に測定している。本研究は､DNA チップやプロテインチップと並ぶ新たな検査用チップとして表面因子アレイチップを開発し､生体分子・細胞と様々な表面因子もしくは医療材料との相互作用の反応パターンを短時間で厳密に評価するシステムを確立することを目指している。

本研究では、生体適合性が高い医療材料として用いられているチタンの表面改質および細胞反応性を観察するアレイチップを作製し、測定装置として、表面近傍の物質の吸着・脱離をナノレベルかつリアルタイムで測定できるイメージング表面プラズモン解析装置(SPR Imaging)を用いた。

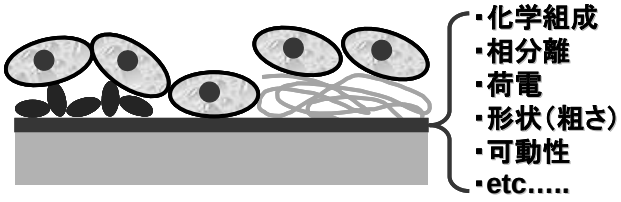


図１　表面因子と生体適合性

２．SPR 測定法とチタンセンサーチップ

２．１　SPR 測定法の原理と特徴

表面プラズモン(SP)波とは、金属表面上に存在する電子の粗密波のことである。SP 波の速度はプリズムを用いることによりエバネッセント場を介して光と SP 波を共鳴(Resonance)させることで求めることができる

(①：$k_{sp}(\omega)=k_{ev}(\omega)=n_{med}k_{light}(\omega)\sin\theta$)。

①式より、SP 波の速度は光の入射光に変換することができる。また、SP 波の速度は表面での物質の吸着量により変化する。この SP 波の共鳴(Resonance)する光の入射光角度(SPR)から表面吸着物質量を決定することができる。これにより SPR 測定法は、(1)表面に存在する薄膜の厚さを 0.1nm のオーダーで測定可能、(2)表面吸着物質量を ng~pg/mm^2 のオーダーで実時間測定可能、(3)空気中・水中での測定可能という優れた特徴を有する。

２．２　SPR Imaging の全体図

SPR Imaging の全体図を図２に示す。光源からレンズとピンホールと偏光板を用いて試料表面に対して p 偏光の平行光をつくり、プリズムを介して試料表面に広範囲の平行光を入射し、フィルターを通して 905 nm の波長での表面全体の SPR 情報を 2 次元画像として測定する。物質吸着・脱離量に対応した SPR 角度変化による反射光強度の変化は 2 次元像においては画像の明暗で測定される。これにより、異なる試料をスポット状に配列したマイクロアレイを併用することにより，多種類の試料を同時に解析することができる。本研究では、測定装置として Imaging SPR N1000（UBM Co. Ltd、京都）を用い、データ測定ソフトウェアは自己開発の SPR Imaging 装置用に作製したものを本装置用にカスタマイズして用いた。

２．３　SPR 用チタンセンサーチップ

本研究では第 20 回中谷技術開発助成「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」により達成された、大気中で酸化させた金属チタンを表面に有する SPR センサーを用いた。このチタンセンサーチップは最外表面に約 8nm の厚さの酸化チタン層を有する。

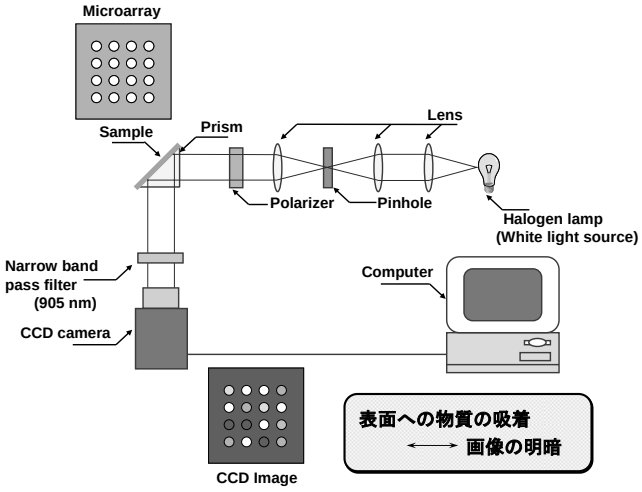


図 2　Imaging SPR の概略図

３．試料および実験方法

３．１　チタンセンサーチップのマイクロアレイ処理

チタンセンサーチップのマイクロアレイ処理法を図 3 に示す。SPR 用チタンセンサーチップに、直流型アルゴンプラズマ(SEDE/39N、メイワフォーシス、大阪)を 23 mA の条件で 90 秒間照射し、基板をアセトンに 5 分間、トルエンに 5 分間浸漬することで表面のコンタミネーション物質を洗浄した。2mM の octadecyl trichloro silane(ODTCS)のトルエン溶液を調整し、この溶液中に洗浄したチタン基板を 60 ºC の環境下で 24 時間浸漬し、チタン表面に OTDCS を被覆した。OTDCS 処理チタン基板はトルエンとアセトンを交互に用いて 3 回洗浄し、アセトン中で保存した。

OTDCS 処理チタン基板に、直径 1mm の穴が 1mm 間隔で 5 x 5 個並んだステンレスマスク板を

介してアルゴンプラズマを 10mA の条件で 10 分間照射することで、表面の OTDCS 層をエッチングし、アセトンで洗浄することでチタンマイクロアレイを作製した。

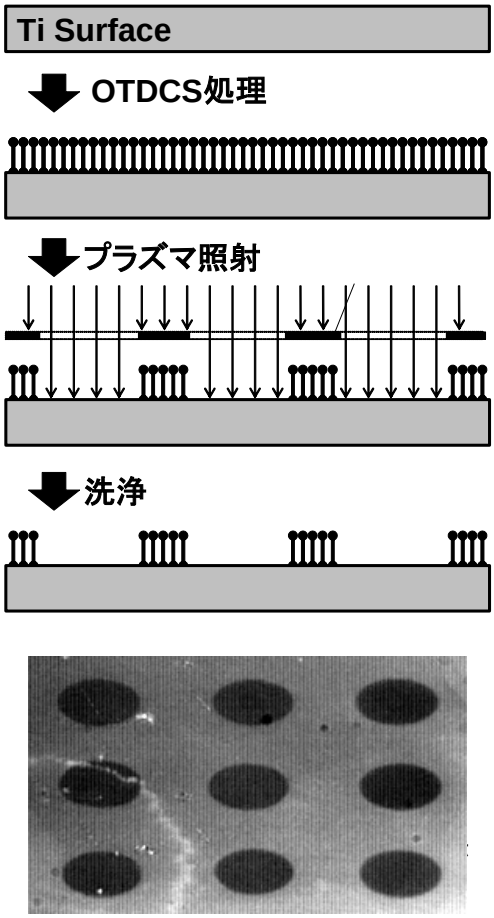


図 3　　チタンマイクロアレイの作製法

３．２　チタンマイクロアレイの高分子被覆

チタンマイクロアレイのスポットに、PBS(-)を 1μl ずつ滴下し、20 分間放置後取り除き、各スポットに PBS(-)を用いた 100ug/ml の濃度の polyethyleneimine (PEI)、gelatine (Gel)、純水を用いた 1wt%の polyphosphoric acid (PPAc)、そして未処理のチタンスポットとして PBS(-)を 0.5μl ずつ滴下し、20 分放置後、各スポットを PBS(-)で 5 回洗浄し、PEI-Gel-PPAc-Ti パターンチタンマイクロアレイを作製した。

３．３　高分子被覆マイクロアレイへの bFGF 吸着

高分子被覆チタンマイクロアレイを SPR Imaging に設置し、PBS(-)を 200 μl 滴下し、SPR 角度を調整後、bFGF の吸着過程の測定を開始した。PBS(-)中に濃度が 4μg/ml に調整した bFGF 溶液を 200 μl 加え、速やかにピペッティングし、20 分間静止状態にして SPR Imaging 測定を行った。

３．４　高分子被覆マイクロアレイへの細胞接着

高分子被覆チタンマイクロアレイを SPR Imaging に設置し、アルブミン非添加 PIPES 緩衝液を 300 μl 滴下し、SPR 角度を調整後、MC-3T3E1 細胞の接着過程の測定を開始した。$5x10^5$cells/ml の細胞懸濁液を 100 μl 加え、速やかにピペッティングし、60 分間静止状態にして SPR Imaging 測定を行った。

３．５　チタンマイクロアレイを用いた酸エッチング

水とエタノールを 1:1 の重量比で混合したエタノール水に、dodecyl phosphate (DDP)を 1 wt%の濃度で調整した。チタンマイクロアレイの各スポットに 1 wt%DDP 溶液とエタノール水を交互に 0.3μl ずつ滴下し、30 分放置後、アセトンで 3 回洗浄し、Ti-DDP-OTDCS パターンマイクロアレイを作製した。

このチタンマイクロアレイを SPR Imaging に設置し、pH 1.5 の HCl/KCl 緩衝液を 400 μl 滴下し、10 分間静止状態にして SPR Imaging 測定を行った。

４．結果及び考察

４．１　チタンセンサーチップの特徴

チタンは生体親和性に優れていることから、硬組織疾患に対するインプラント材料として多用されている。しかし、これらの材料自体は組織再生能を有しておらず、周囲骨再生能の向上を目指

し、チタン表層に物理的および化学的な修飾や処理を施す研究が数多く行われている[1-4]。本研究では、生体材料としてのチタンにおける表面での生体物質の相互作用を nm オーダーで解析するモデルとして、本研究室で開発した SPR 用チタンセンサーチップを用いた。インプラント用チタンは鋳造もしくは切削後、大気中で表面が酸化される。チタンセンサーチップも同様に、大気中で表面の金属チタンを酸化させた。これにより、インプラント用チタンとこのチタンセンサーチップの表面は同じ状態になると予想される。

４．２　チタンの高分子被覆とサイトカインの吸着

チタン表面改質とサイトカインの固定化技術は、チタンインプラントの組織接着性と骨再生能を著しく向上することが期待できる。そこで、チタン表面を高分子で被覆し、それを介してサイトカインの一種である bFGF の吸着過程を SPR Imaging で測定した。bFGF 吸着前の高分子被覆チタンマイクロアレイのパターンと SPR Imaging 強度を図 4 に示す。SPR Imaging 強度が、Ti が 289,000 に対して PEI:363,000 や Gel:351,000 になっているのは、チタン上にこれらのポリマーが被覆しているため、また PPAc が 264,000 と Ti より小さくなっているのは 1wt%PPAc 液により酸エッチングされたからと考えられる。

PEI-Gel-PPAc-Ti パターンチタンマイクロアレイでの bFGF の吸着過程の結果を図 5 に示す。このマイクロアレイでの bFGF 吸着量は PPAc>Ti>Gel>>PEI の順になり、特に PEI では bFGF の吸着量は少なかった。これは、PBS(-)中で、PPAc、Ti、Gel は負，PEI は正に帯電しており、このことから、正に帯電した bFGF は PEI に吸着しにくく、かつ bFGF の吸着量も負の帯電順(PPAc>Ti>ゼラチン)に従って変化したと考えられる。

このように、SPR Imaging を用いてこのチタンマイクロアレイはタンパク質のチタン表面への吸着過程を経時的にかつ多点同時に測定可能であることを明らかにした。

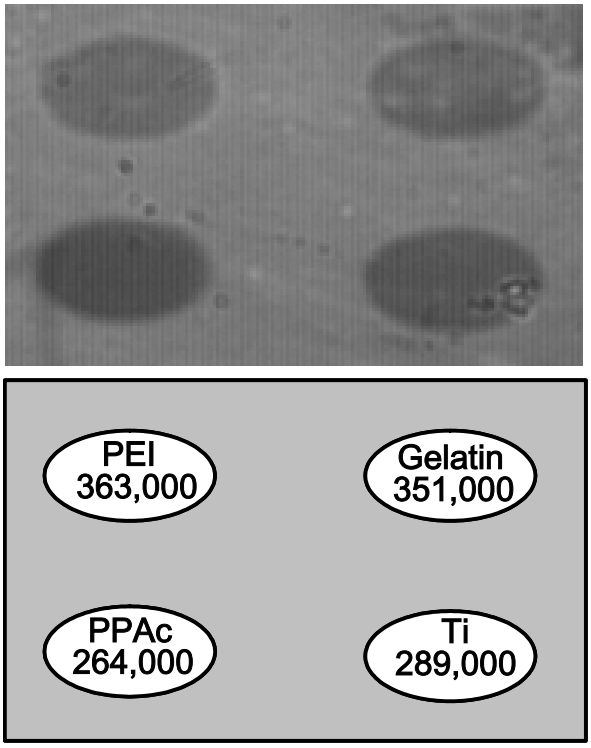


図 4　bFGF 吸着前の高分子被覆チタンマイクロアレイのパターンと SPR Imaging 強度

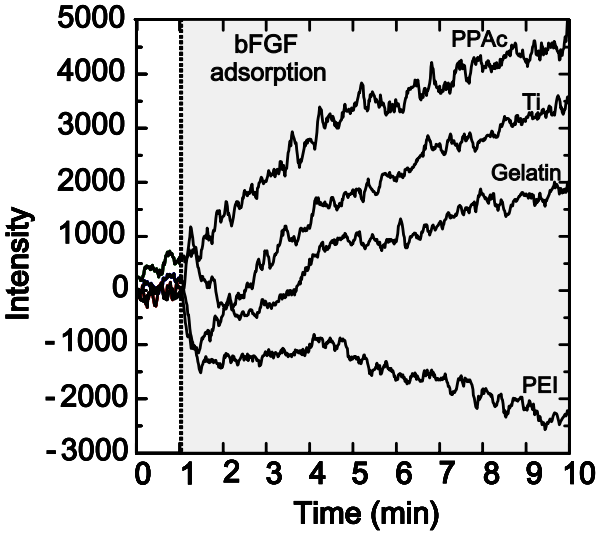


図 5　SPR Imaging を用いたチタン被覆高分子と非被覆チタンスポットでの bFGF の吸着過程

４．３　高分子被覆チタン表面への細胞接着

チタン表面を正もしくは負を有する高分子や、生分解性を有する細胞外マトリックス由来でもあるゼラチンを被覆することにより、チタン表面と比べて細胞の接着性や増殖速度、および分化能に差が出る可能性があると考えられる。そこで、特に初期細胞接着に注目してこれらの高分子で被覆したチタンマイクロアレイ上で 60 分間 MC-3T3E1 細胞を播種したときの SPR Imaging 強度を図 6 に示す。この結果より、MC-3T3E1 細胞が表面に強く接着しているのは、PPAc>Ti>PEI>Gel の順番となった。さて、チタンマイクロアレイ上に細胞を播種し、重力に従って各々のスポットに細胞が表面に沈殿していったのにもかかわらず、SPR Imaging において接着強度が変化した理由として、細胞沈着後の仮足の進展度合いによるものと考えられる（図 7）。

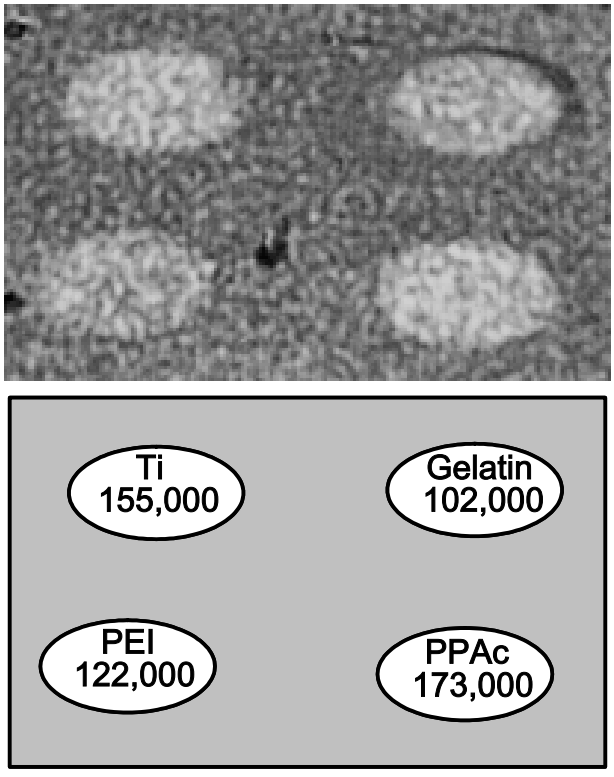


図 6　MC-3T3E1 細胞接着後の高分子被覆チタンマイクロアレイのパターンと SPR Imaging 強度

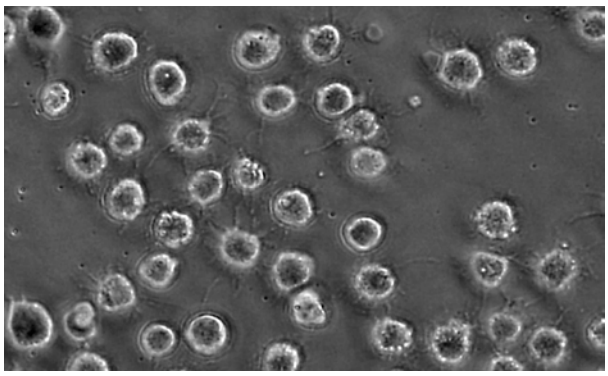


図7　PPAc 処理チタン表面上での MC-3T3E1 細胞の形態

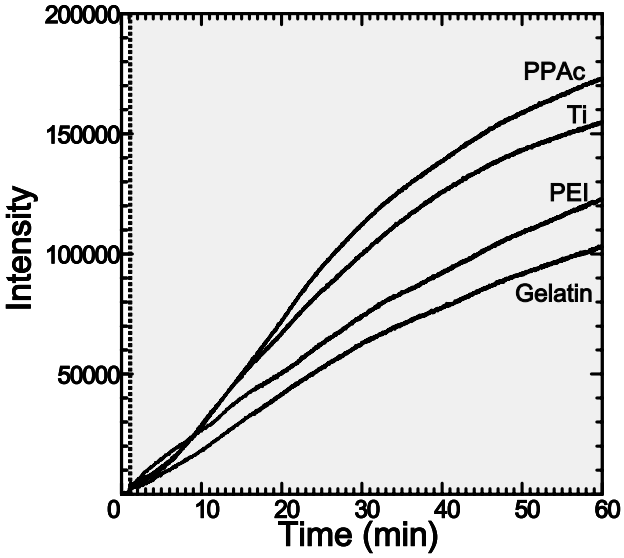


図8　SPR Imaging を用いたチタン被覆高分子と非被覆チタンスポットでの MC-3T3E1 の接着過程

PEI-Gel-PPAc-Ti パターンチタンマイクロアレイでの MC-3T3E1 細胞の接着過程の結果を図８に示す。この結果を見ると、細胞播種後 5 分ほどはどのスポットもさほど変化がない、強いていえば PEI が他のスポットに対して細胞接着強度が強いように見える。だが、5 分を過ぎると PEI と Gel はその後も順当に接着強度が上がっているように見えるのに対し、PPAc と Ti では急激に細胞接着強度が上昇している。これはおそらく、図 7 のように PPAc と Ti では他の PEI や Gel に比べ

細胞が仮足を伸ばしていっているからだと考えられ、実際に PEI と Gel では播種後 60 分たっても目立った仮足は進展していなかった。これらの結果自体は細胞と表面被覆チタン表面との様々な適合性を比較することは出来ない、しかしながら、細胞播種初期においての細胞の接着挙動を多点同時かつ経時的に測定できたことは重要なポイントである。

このように、SPR Imaging を用いてこのチタンマイクロアレイは細胞のチタン表面への接着過程を経時的にかつ多点同時に測定可能であることを明らかにした。

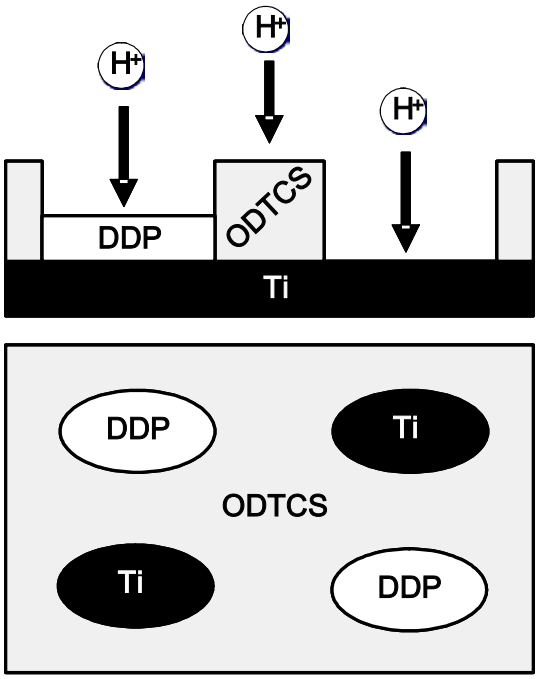


図9　DDP,OTDCS,未処理チタンマイクロアレイのパターンと酸エッチング

４．４　チタンの酸エッチング

チタンは生体親和性に優れ、硬組織に必要な諸性質を有した生体材料であることから、インプラント、人工関節、人工骨など医療の場で幅広く用いられている。しかし，チタンはその優れた低反応性のため表面改質が困難な材料でもある。この理由は、非常に安定な表面酸化皮膜によるものである。そこで、チタン表面の酸エッチングを用いた表面改質法に注目して、OTDCS や DDP で表面被覆もしくは未被覆のチタンマイクロアレイを酸処理したときの SPR Imaging を測定してみた。図 9 は本研究で被覆したチタン表面の概略図とパター図を示す。チタンは室温では非常に強い耐酸性を有するが、それでも OTDCS や DDP で被覆されている部分に比較して、酸耐性能が弱くなると考えられる。そこで実際に Ti-DDP-OTDCS パターンマイクロアレイ上に pH 1.5 の HCl/KCl 緩衝液を曝露したときの SPR Imaging の測定結果を図 10 に示す。この結果より、このチタンマイクロアレイ上において酸耐性能は OTDCS>>DDP>Ti の順になることが示された。これは図 9 でのチタン表面被覆図のように、OTDCS は 60℃で 24 時間のしっかりした条件でチタン表面に固定化されているのに対し、DDP は室温で 30 分と OTDCS と比べ明らかに被覆条件が悪いことが結果に反映されていると考えられる。Ti 自身は表面の酸化皮膜層分の耐酸性しか有していないため、一番低い結果となったと考えられる。

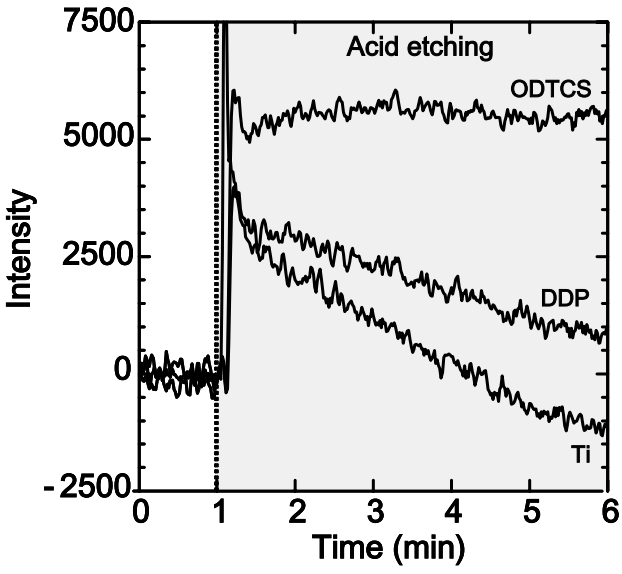


図 10　pH 1.5 の環境下での DDP,OTDCS,未処理チタンのエッチング過程

さて、未被覆のチタン表面が一番耐酸性の悪い結果となったが、これはチタン自体の優れた耐酸性を否定する結果とはなっていない。なぜなら、SPR Imaging よりも正確な測定が出来る一点型 SPR で同様の実験を行ったときに測定されたチタンのエッチング速度は 3.6 Å/hour 程だからである。この速度だと酸エッチングでチタンを 1 μm 溶かすのに 115 日、1mm 溶かすのには 315 年ほどかかる計算となる。このように、酸によるチタンの腐食は無視できるレベルであるが、チタンの表面改質にとっては、これぐらいのレベルで表面がエッチングされると、これにより化学的に活性な状態になったチタン表面に様々な物質を固定化できる足がかりとなるため、重要な結果である。

このように、SPR Imaging を用いてこのチタンマイクロアレイはチタン表面の酸エッチング過程を経時的にかつ多点同時に測定可能であることを明らかにした。

５．まとめ

表面因子アレイチップの一環として本研究で開発したチタンマイクロアレイチップは、医療材料によく用いられているチタンの表面改質法や細胞接着性の評価などを迅速に行えることが期待できる。

謝辞

本研究の研究成果は、（財）中谷電子計測技術振興財団の研究助成（奨励研究）により達成されたものであり、深く感謝します。

文献

1) Shibata Y, Hosaka M, Kawai H, Miyazaki T: Glow discharge plasma treatment of titanium plates enhances adhesion of Osteoblast-like cells to the plates through the integrin-mediated mechanism. Int J Oral Maxillofac Implants, 2002, 17, 771-777.

2) Takeuchi, Y. Abe, Y. Yoshida, Y. Nakayama, M. Okazaki, Y. Akagawa: Acid pretreatment of titanium implants. Biomaterials 24 (2003) 1821–1827.

3) Y. Ku, C.P. Chung and J.H. Jang, The effect of the surface modification of titanium using a recombinant fragment of fibronectin and vitronectin on cell behavior, Biomaterials 26 (2005) (25), pp. 5153–5157.

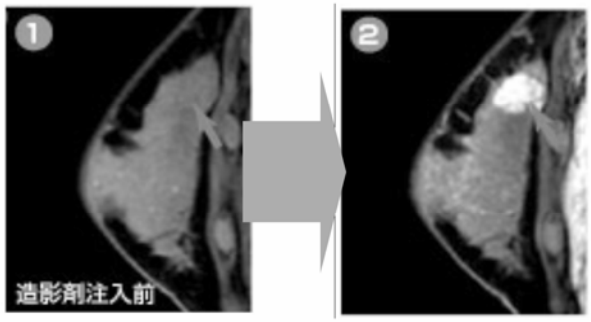
4) Abe Y, Hiasa K, Takeuchi M, Yoshida Y, Suzuki K, Akagawa Y. New surface modification of titanium implant with phospho-amino acid. Dent Mater J 2005; 24: 536-40.

5) Schuler M, Owen GRh, Hamilton DW, Wild M de, Textor M, Brunette DM, Tosatti, SGP. Biomimetic modification of titanium dental implant model surfaces using the RGDSP-peptide sequence: A cell morphology study. Biomaterials 2006; 27: 4003-15.

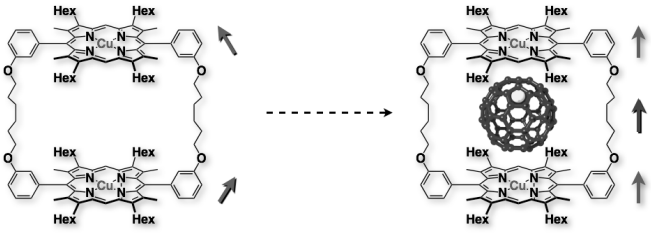
磁性フラーレンとデンドリマーポルフィリンの複合化による
高機能 MRI 造影剤の設計

研究責任者　　東京大学大学院工学系研究科化学生命工学専攻
助　教　　田　代　健太郎

１．はじめに



MRI は生体内を「生きたまま」画像化する計測技術であり、近年特に医療分野で大きな役割を果たしている。MRI 造影剤は高い解像度を実現するために、測定時に体内に注入する薬剤であり、安全性の観点からは、注入する量が少なければ少ないほど望ましい。また、特定の部位への選択性を有する造影剤は必要量の低減のみならず、病変の診断の上からも重要であるが、そのような造影剤の開発は始まったばかりである。このような状況を踏まえて、本研究では既存の薬剤に比べより高感度（必要量がより少ない）で、がん細胞への選択性を有する MRI 造影剤の開発に取り組む。「高感度化」と「がん細胞への選択性」の実現に向けて、それぞれ「常磁性金属ポルフィリンホスト／磁性フラーレンゲストの使用」と「水溶性デンドリマーの導入」を方法論とする取り組みを行う。



申請者は、金属ポルフィリンの環状二量体がフラーレンを強く包接することを見いだし、磁性フラーレンとある種の常磁性金属ポルフィリンからなる包接複合体においては、フラーレンと金属ポルフィリン上のスピン間に強磁性的な相互作用が働き、より高いスピン状態が形成できることを明らかにしている[1)、2)]。一方、水溶性デンドリマーで修飾した金属ポルフィリンが、適切な条件

で、がん細胞への選択的な輸送に有効な数十から100 nmの大きさのポリイオンコンプレックスミセルを形成することが確認されている[3]。以上の知見をふまえて、本研究では、水溶性デンドリマーで修飾した常磁性金属ポルフィリン環状二量体を設計し、磁性フラーレンと複合化させ、「がん細胞へ選択的に運ばれる高感度のMRI造影剤」の開発へとつなげる。

２．実験で用いる化合物について

２．１　磁性フラーレン[4]

炭素原子のカゴ状ネットワークの内部空間に金属イオンが封じ込められた構造の物質で、カゴや金属イオン上にスピン（磁性）を持つものが多い。今回の実験では、内部空間にLaあるいはGdを有するフラーレン（$La@C_{82}$、$Gd@C_{82}$）を用いた。

２．２　金属ポルフィリン[5]

大きなパイ共役系を持つ平板状分子であり、多種の金属イオンを中央の空孔に取り込むことができる。申請者は、この分子の環状二量体がフラーレンをきわめて強く取り込むことを見いだした。

２．３　デンドリマー[6]

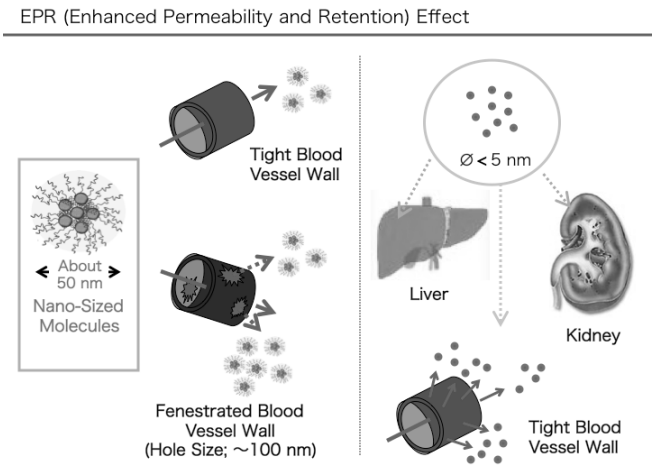
樹木状に規則的に分岐した構造を持つ新しいタイプの高分子。従来とは異なり、高分子でありながら、単一の分子量、分子構造を持つため、精密な分子設計が可能である。

２．４　ポリイオンコンプレックスミセル

それぞれ正、負電荷を帯びていた二種類の分子を混合し、両者の複合化によって静電中和が生じ、それが疎水部となって形成される安定なミセル。今回は、ポリエチレングリコールとカチオン性であるポリリシンのブロックポリマーにアニオン性デンドリマーを表面に有する金属ポルフィリン環状二量体を混合して作成している。

２．５　EPR効果

正常細胞に比べ、腫瘍の細胞壁は不完全であり、100 nm程度の穴があいている。このため、数十ー100 nm程度のサイズの物質は、正常細胞には取り込まれにくく、腫瘍に取り込まれやすい。これをEPR（Enhanced Permeation & Retention)効果といい、この効果を利用した腫瘍選択的な薬剤の輸送が試みられている。

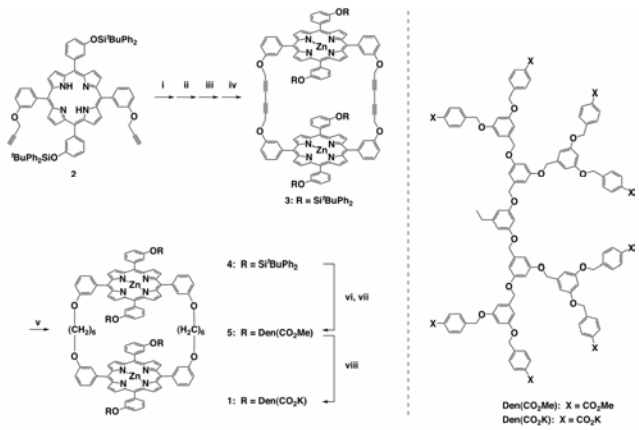


３．実験・結果

３．１　水溶性デンドリマー被覆常磁性金属ポルフィリン環状二量体の合成

目的とする種々の金属ポルフィリン環状二量体をScheme 1に従い合成した。まず、アセチレン末端を有する亜鉛ポルフィリンモノマーを合成し、銅触媒を用いた酸化的カップリングにより環化二量化した。生じたジアセチレン部位を水素添加したのち、表面にエステル基を導入した別途合成のデンドリマーとカップリングさせ、目的物の前駆体を得た。次に、必要に応じてポルフィリン

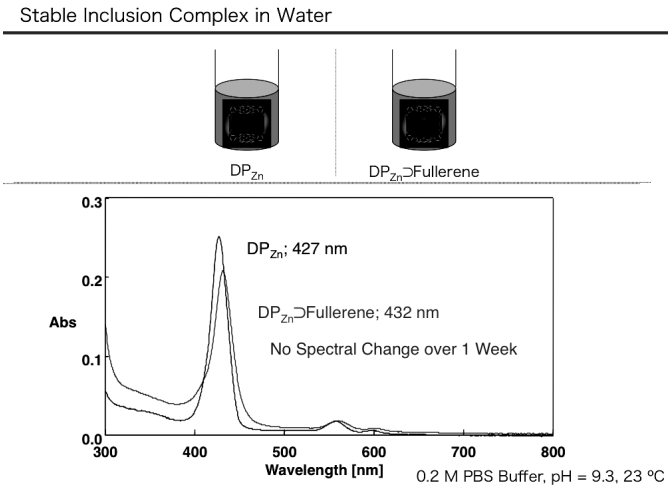
中心の金属イオンを Cu(II)や Mn(III)に置換し、最後にアルカリ条件でエステル部位の加水分解を行い、目的物（1-M; M = Zn, Cu, Mn）を得た。



Scheme 1. *Reagents and conditions*: (i) $Zn(OAc)_2$, $CHCl_3$/MeOH, 25 °C; (ii) TMEDA, CuCl, CH_2Cl_2, 25 °C; (iii) HCl, $CHCl_3$/MeOH, 25 °C; (iv) $Zn(OAc)_2$, $CHCl_3$/MeOH, 25 °C, 55%; (v) H_2, Pd/C, THF, 25 °C, 61%; (vi) Bu_4NF, THF, 25 °C; (vii) BrDen(CO_2Me), K_2CO_3, 18-Crown-6, THF, reflux, 9%; (viii) KOH, H_2O/THF/MeOH, 25 °C.

３．２　磁性フラーレン包接複合体の構築

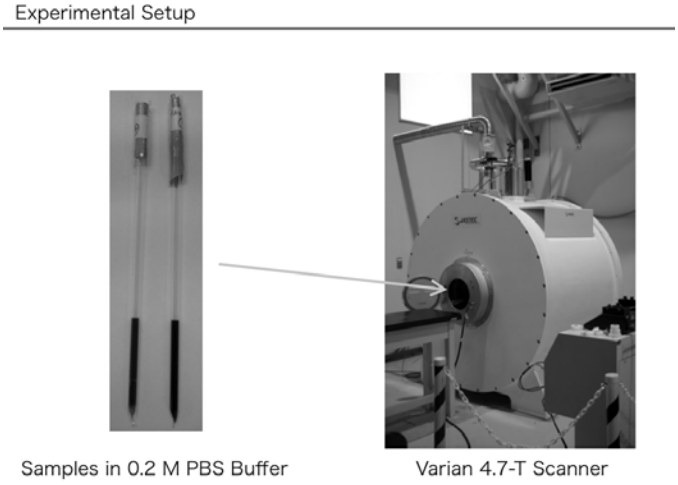
1-Zn を THF 中 Gd@C_{82} で滴定したところ、ホストの吸収の長波長シフト及び吸光度の減少が見られ、Gd@C_{82} の包接複合体形成が確認できた。重 THF 中、1-Zn⊃Gd@C_{82} の ^{1}H NMR を測定したところ、ポルフィリン骨格由来のシグナルのブロードニングが観測され、包接された Gd@C_{82} の磁気的影響がポルフィリン骨格に及んでいることが分かった。溶媒をリン酸バッファーに置換した後も、1-Zn 単独と比べて吸収スペクトルの長波長シフト（422→429 nm）及び吸光度の減少が保たれたことから、1-Zn が疎水性の Gd@C_{82} を包接し、それを水溶化することが示された。吸収スペクトルは波長、強度共に 1 週間後も変化せず、長期間安定に Gd@C_{82} を保持できることも明らかになった。同様の実験により、1-Mn および 1-Cu も Gd@C_{82} や La@C_{82} と安定な包接複合体を形成して水溶化できることを明らかにした。



３．３　ポリイオンコンプレックスミセルの形成

リン酸バッファー溶液で 1-Zn とポリエチレングリコール／ポリリシンからなるブロックコポリマーを両者の電荷数を揃えた量比で混合した。動的光散乱測定により、腫瘍へのターゲティングに適した直径 80 nm のミセルが形成されることを確認した。また、ゼータ電位測定から、ミセル表面の荷電状態が中性に近いことを明らかにし、生成したミセルがポリイオンコンプレックスミセルであることも実証した。同様の手法により、他の系についてもポリイオンコンプレックスミセルの形成を確認した。

３．４　緩和能の評価



1-M、1-M⊃Gd@C_{82}のリン酸バッファー溶液を調製し、小動物用 MRI 装置を用いて T1 緩和時間測定を行なった（表１）。常磁性の 1-Mn は単独で市販の造影剤（緩和能 3.7 $mM^{-1}s^{-1}$）と遜色のない高い緩和能を示した。一方、反磁性である 1-Zn は緩和能が検出されないのに対し、その Gd@C_{82}包接体は緩和能を示した。そこで 1-Mn においても緩和能向上を期待して Gd@C_{82}包接体を調製したが、1-Zn とは逆に緩和能が低下した。1-Cu は、常磁性であるにもかかわらず、Gd@C_{82}有、無ともに緩和能が検出されなかった。

表1．T1緩和能［$mM^{-1}s^{-1}$］

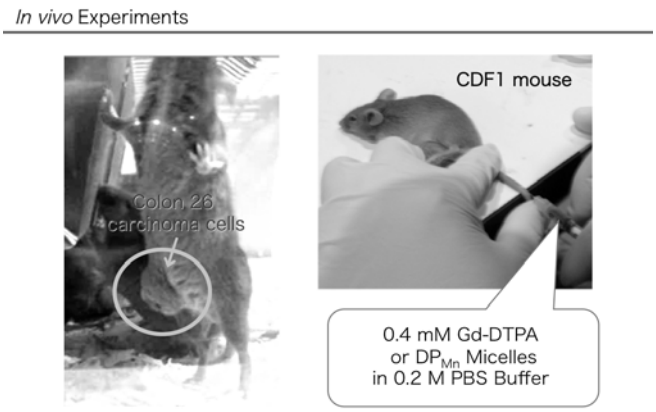
	1-Mn	1-Cu	1-Zn
1-M	3.8	*n.d.*	*n.d.*
1-M⊃Gd@C_{82}	2.8	*n.d.*	1.9

この結果から、本系で高い緩和能を実現するためには、常磁性体であることと共に、ポルフィリン中心金属が水分子の配位サイトを有することが必須であると言える。すなわち、1-Zn と 1-Mn ではアキシャル位への水分子の配位が可能なのに対し、1-Cu では不可能であり、これが緩和能に大きく影響したものと考えている。

さらに、1-Mn について、ミセル化による造影能の変化を調べたが、ブロックポリマーと複合化し、外部の水との接触が一見困難になっても造影能はほとんど変わらないことが分かった。

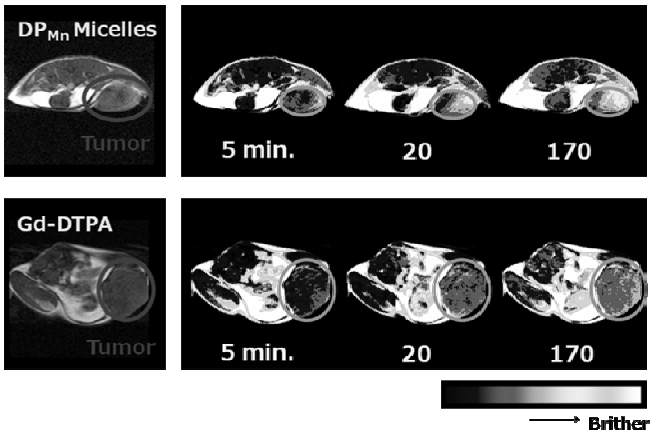
３．５　in Vivo 実験

今回開発した化合物を実際に生体に導入し、造影効果や腫瘍選択性について検討した。投与対象としては、人の大腸がんを移植したマウスを用いた。造影剤としては最も造影能の高かった 1-Mn を選び、さらに緩和能が同程度だが腫瘍選択性のない市販の造影剤を比較対象として用いた。



まず、ミセル化した 1-Mn の投与によって、腫瘍部位のコントラストの明確な向上が観測され、造影能を持つことが実証できた（上段）。さらに、その造影効果は緩和能が同程度だが腫瘍選択性のない市販の造影剤（下段）と比べ顕著であり、ミセル化した 1-Mn がより腫瘍部位へ集まりやすいことも示された。

尚、実験のタイムスケール（ー１日）において、薬剤の投与によるマウスの死亡は観測されず、今回開発した薬剤の毒性は現段階では検出されていない。



４．まとめ

アニオン性デンドリマーで被覆された新規な水溶性金属ポルフィリン環状二量体を設計し、磁性フラーレンの包接による水溶化に成功した。種々のホスト・ゲストの組み合わせについて緩和能を比較した結果、マンガン錯体のホストが市販

の薬剤に匹敵する緩和能を有することを見いだした。さらに、カチオン性ブロックポリマーとの混合により、安定なポリイオンコンプレックスを形成し、これが実際に造影能および腫瘍選択性を有することを、動物実験より明らかにした[7)]。

謝辞

今回の研究に関して、マウスへの造影剤の投与およびその画像化の実験においては、熊谷博士（東大）および関野博士（東大）に多大な貢献をしていただいた。ここに謝意を表したい。

参考文献

1) "Metalloporphyrin Hosts for Supramolecular Chemistry of Fullerenes" Kentaro Tashiro, Takuzo Aida, *Chem. Soc. Rev.* **2007**, *36*, 189.

2) フラーレン/金属ポルフィリン環状ダイマー超分子複合体:金属内包フラーレンとの相互作用による強磁性の発現、田代健太郎・相田卓三・西郷和彦・坂本 茂・山口健太郎・赤阪 健・大久保清吾・外山南美樹・加藤立久、日本化学会第 80 秋季年会

3) K. Kataoka and T. Aida *et al*., *Journal of Controlled Release* **2003**; *Bioconjugate Chem*. **2003**; *Angew. Chem. Int. Ed*. **2005**; *Nano Lett*. **2005**.

4) Endofullerenes: A New Family of Carbon Clusters, (Ed.: T. Akasaka, S. Nagase), Kluwer, Dordrecht, **2002**.

5) The Porphyrin Handbook (Ed.: K. M. Kadish, K. M. Smith, R. Guilard), Academic Press, San Diego, **1999**.

6) “Molecular Design of a Novel Dendrimer Porphyrin for Supramolecular Fullerene/Dendrimer Hybridization”, Tomoko Nishioka, Kentaro Tashiro, Takuzo Aida, Jian-Yu Zheng, Kazushi Kinbara, Kazuhiko Saigo, Shigeru Sakamoto, Kentaro Yamaguchi, *Macromolecules*, **2000**, *33*, 9182.

7) 水溶性デンドリマー被覆金属ポルフィリン環状二量体／金属内包フラーレン超分子複合体：MRI 造影剤への応用、吉崎さと子・田代健太郎・相田卓三・片岡一則・関野正樹、日本化学会第 88 春季年会

ウエアラブル化学センサを用いた生体情報モニタリングに関する研究

研究責任者　東京医科歯科大学生体材料工学研究所
システム研究部門計測分野　講　師　　工　藤　寛　之
共同研究者　東京医科歯科大学生体材料工学研究所
システム研究部門計測分野　教　授　　三　林　浩　二
東京医科歯科大学生体材料工学研究所
システム研究部門計測分野　助　教　　齊　藤　浩　一

１．はじめに

近年、各種情報デバイスや情報システムが「いつでも・どこでも利用可能」な環境やそのための技術を総称して、ユビキタス(ubiquitous)という言葉が広く使われるようになった。ユビキタス情報社会の到来に伴い、生体計測用のセンシングデバイスは医療の枠を超えて高付加価値の情報デバイスとして位置づけられ、注目されている。例えば、体重計や体温計など家庭での日常的なヘルスケアで用いられるものから、イオン感応性電界効果トランジスタ（ISFET)、触覚センサ [1,2]、各種の画像支援ナビゲーションシステム [3-6]に至るまで、センサは現代の医療に不可欠なものとなっている。これら各種の生体計測技術を通じて得られる生体情報は治療や診断といった医療のみならず、セキュリティ（個人認証)・娯楽（玩具)・美容など様々な分野で活用されている。すなわち、生体情報は我々の自然現象としての生命維持活動のみならず、社会的・文化的側面から生活の質（QOL: Quality of Life）をも向上させる上で必要不可欠なものへと役割を広げているのである。

生体計測においては単に感度や信頼性を上げるだけでなく、装着感や安全性といった機能も重要視される。センサが生体情報の利用範囲を拡大し、付加価値を向上させる高度情報システムのインタフェースとして重要性を高める上で、Microelectromechanical Systems（MEMS） 技術は極めて大きな役割を果たしてきた。特に、加速度やジャイロなどの物理センサの分野では、性能・信頼性共に優れたセンサが市販されている。一方で、臨床において必要とされる生体情報は運動などの物理情報よりも生体成分に関する情報（化学情報）の方が圧倒的に多い。しかし、化学センサではクラーク型酸素電極など、センサの構成要素

として水溶液や既存の MEMS 技術ではあまり取り扱われない材料を用いることがあり、成熟したプロセス技術をそのまま適用することが困難であるため、生体計測用の小型の化学センサは物理センサに比して実用化が立ち遅れている。また、生体計測においては単に感度や信頼性を上げるだけでなく、装着感や安全性といった機能も重要視される。このため、小型軽量なセンサであるとともに、柔軟性や生体適合性などを特徴とした各種センサが開発されている[7-14]。我々は MEMS 技術と機能性高分子材料を融合し、生体計測への応用を目的としたウエアラブル化学センサの研究を行っている。ウエアラブル化学センサは、従来の化学センサに柔軟性という機能を付加することにより装着感を高め、また長時間の装用にも配慮した生体適合性材料を用いている。本稿では、眼部に直接装着し、非拘束的・非侵襲的に涙液グルコースのモニタリングを行うことを目的とした、ウエアラブルバイオセンサの研究について紹介する。

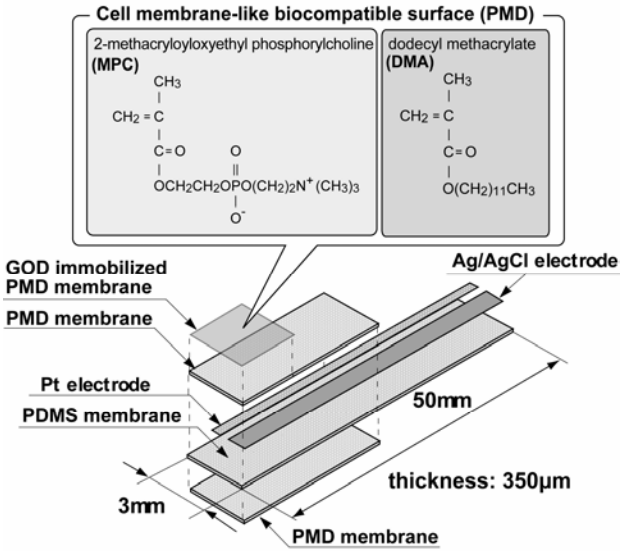


図 1 ウエアラブルバイオセンサの構造図
（*Nippon Rinsho.*, **65**, 753-61, 2007. Review. Japanese.）

２．ウエアラブルバイオセンサの構築

図 1 は眼部において涙液中のグルコース濃度を計測するためのウエアラブルバイオセンサの構造図である。本センサでは、構造材料としてポリジメチルシロキサン（PDMS）と、2-メタクリロイルオキシエチルホスホリルコリン（MPC）とドデシルメタクリレート（DMA）の共重合体（PMD）を用いている。これらの材料と Pt 及び Ag/AgCl の薄膜電極を、MEMS 技術を用いて積層形のデバイスとして構築し、感応部に PMD を用いて酵素を包括固定化することにより、後工程での被覆処理などを用いず、センサ自身に柔軟性と生体適合性を付与することが可能となった。ウエアラブルバイオセンサの寸法は、我々の眼部バイオモニタリングにおけるこれまでの実績[7,15]から取り扱い（ハンドリング）の容易さを考慮し、幅 3mm×長さ 5mm×厚さ 350μm とした。

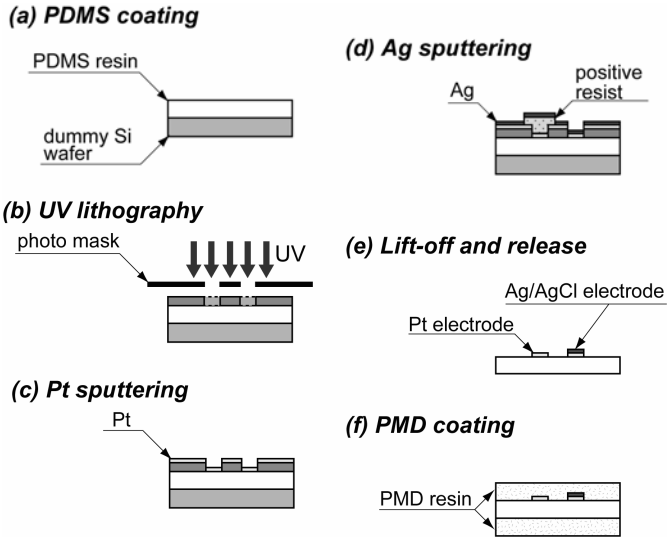


図 2 ウエアラブルバイオセンサの作製工程
（*Biosens Bioelectron*, **22**, 558-562, 2006）

センサの作製では、図 2 に示すようにダミーウエハ上に PDMS をスピンコーティングにて形成することで、柔軟な構造部材上にフォトファブリ

ケーション技術を適用した。PDMS 膜は、Dow Corning Toray 社製の SILPOT 184 を室温にて 24 時間硬化させて形成した。形成した PDMS 膜上にポジ型のフォトレジスト（Shipley S1818, Rohm and Haas Electronic Materials Co., USA）膜を形成し、フォトリソグラフィにより電極形状にパターニングした。その後、イオンビームスパッタ装置（EIS-220, Elionix Co., Ltd., Japan）を用いて、1900V の加速電圧にて 200nm 厚の Pt 薄膜を形成した。同様に厚さ 300nm の Ag 薄膜を形成し、アセトンを用いたリフトオフ法にて不要部分を除去し、Pt 及び Ag 電極をパターン形成した。その後、Ag 電極を塩酸中にて電気化学的に塩化処理することで、Ag/AgCl 電極とした。酵素の固定化では、感応部にエタノール溶媒にて希釈した PMD と、グルコース酸化酵素（GOD: Wako Pure Chemical Industries Ltd., Japan）の混合溶液を塗布し、低温（4℃）にて乾燥させることで酵素を包括固定化した。

以上の全てウエハレベルの工程にて、ウエアラブルバイオセンサを構築した。本バイオセンサでは、酸素の存在下にてグルコース酸化酵素の触媒反応により生成される過酸化水素を酵素固定化膜の下部にある電極にて電気化学的に計測することで、グルコースの定量を行う[12,15]。

３．ウエアラブルバイオセンサの特性評価

上記の作製工程にて、柔軟で装着性の高い短冊形状のバイオセンサが得られた。本バイオセンサは 20%程度の伸びも許容するため、眼部以外の様々な部位に装着した際にも、運動等による形状変化に追従できるものと考えられる。また、センサを伸縮させた後に元に戻したところ、電気的な特性の致命的な変化は見られなかった。

また、ウエアラブルバイオセンサのグルコース定量特性について評価を行った。本センサをポテンシオスタット(HAB-151, HOKUTO DENKO Co., Japan)に接続し、リン酸緩衝液を（pH 7.0, 50 mmol/l）満たした計測セル内にて 650mV の定電位を印加し、セルにグルコースを滴下し、濃度変化に伴う出力電流の変化をモニタリングした。この結果、最終濃度が 0.05-1.00mmol/l の範囲においてグルコース濃度に応じた著しい出力電流の上昇が観察された。この時、センサの出力電流を示す検量式は

output current (μA) = 0.006 + 0.947 [glucose(mmol/l)]

であり、相関係数は 0.999 であった（図 3）。また、センサ出力のバラツキを調べたところ、0.4mmol/l における変動係数は 11.2%であった（n=5）。本センサのグルコース定量範囲は健常者の涙液に含まれるグルコースの濃度[16-19]である 0.14mmol/l を含んでおり、涙液糖の連続モニタリングの可能性が示唆された。

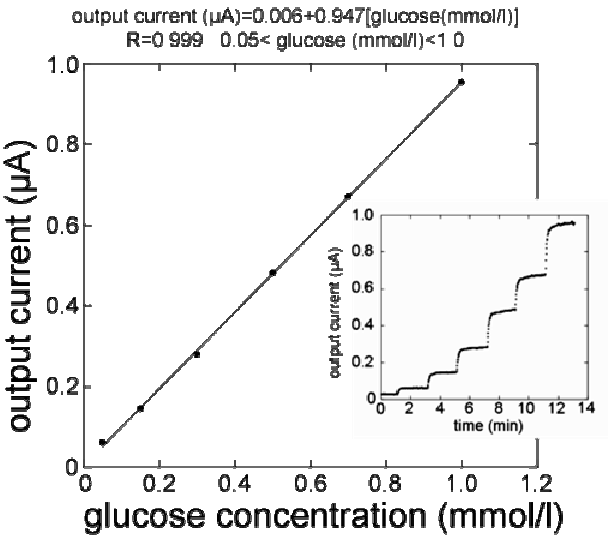


図 3 ウエアラブルバイオセンサのグルコース定量特性

４．まとめと今後の展望

機能性の高分子膜（PDMS 及び PMD）に MEMS 技術を適用し、生体適合性と柔軟性を特徴としたウエアラブルバイオセンサを開発した。本センサは血糖値のおよそ 10%程度といわれている涙液グルコースの濃度を計測する上で十分な感度を有しており、非観血・非侵襲的な血糖評価への応用が期待される。また、本センサはウエハレベルのプロセスにて構築可能であるため、容易に利用目的に応じた構造・材料の変更（小型化やマルチアレイ化）も可能である。現在は、眼部におけるバイオモニタリングの研究を進めると共に、本バイオセンサ技術を応用した涙液糖連続計測用のコンタクトレンズや皮膚に貼付して生体における各種の化学情報を同時並列的にモニタリング可能なマルチアレイ型ウエアラブルセンサなど、新規なバイオモニタリングデバイスへの展開を検討している。

謝辞

本研究は、中谷電子計測技術振興財団より助成を受けて行われました。この助成を得ることで多くの成果が得られました。厚くお礼申し上げます。

参考文献

1) S. Omata, Y. Terunuma: *Sens. Actuat. A.*, **3**,9–15, 1992 .
2) Murayama Y, Omata S: *Sens. Actuat. A*, **109**, 202–207, 2004.
3) 伊関　洋，高倉公朋，岡田芳和，他：先端医療シリーズ 6・脳神経外科，先端医療技術研究所，　p.269，　2000.
4) Fink C, Rosenberger RE, Bale RJ, Rieger M, Hackl W, Benedetto KP, Künzel KH, Hoser C: *Orthopade*, **30**, 59-65, 2001.
5) Fujita A, Nakamura M, Tamaki N, Kohmura E: *Neuroradiology*, **44**, pp.806-811, 2002.
6) DiGioia AM 3rd, Jaramaz B, Colgan BD: *Clin Orthop Relat Res.*, **354**, pp.8-16, 1998.
7) Iguchi S, Mitsubayashi K., Uehara T., Ogawa M: *Sens. Actuat. B.*, **108**, 733-737, 2005.
8) Mitsubayashi K., Suzuki M., Tamiya E., Karube I., 1994. *Anal. Chim. Acta*, **289**, 27-34.
9) Mitsubayashi K., Wakabayashi Y., Tanimoto S., Murotomi D.: *Biosens. Bioelectron.*, **19**, 67-71, 2003.
10) Yan XB, Chen XJ, Tay BK, Khor KA: *Electrochem Commun.*, **9**, pp.1269-1275, 2007.
11) Li C, Han J, Ahn CH: *Biosens. Bioelectron.*, **22**, 1988–1993, 2006.
12) Kudo H, Sawada T, Kazawa E, Yoshida H, Iwasaki Y, Mitsubayashi K: *Biosens Bioelectron.*, **22**, 558-562, 2006.
13) Manunza I, Bonfiglio A: *Biosens Bioelectron.*, **22**, 2775-9, 2007.
14) Matsuzaki R, Todoroki A: *Sens. Actuat.* A, **140**, 32-42, 2007.
15) Kudo H, Mitsubayashi K: *Nippon Rinsho.*, **65**, 753-61, 2007. Review. Japanese.
16) Chen R, Jin Z, Colon LA: *J. Capillary Electrophor.*, **3**, 243-248, 1996.
17) Jin Z., Chen R, Colon, LA: *Anal. Chem.*, **69**, 1326-1331, 1997.
18) Sen DK, Sarin, GS: *Br. J. Ophthalmol.*, **64**,

693-699, 1980.

19) March WF, Smith FE, Herbrechtsmeier P, Domschke A, Morris C: *Diabetes*. **50** (Suppl.), A125, 2001.

20) 三林浩二　監修：ユビキタス・バイオセンシングー健康モニタリング＆日常ケアのための計測技術ー，シーエムシー出版，p.206, 2006.

発表原著論文

1. **Kudo H**, Yagi T, Chu MX, Saito H, Morimoto N, Iwasaki Y, Akiyoshi K, Mitsubayashi K: Glucose sensor using phospholipid polymer-based enzyme immobilization method, *Anal Bioanal Chem*, **391**, 1269-1274, 2008
2. Iguchi S, **Kudo H**, Saito T, Ogawa M, Saito H, Otsuka K, Funakubo A and Mitsubayashi K: A flexible and wearable biosensor for tear glucose measurement. *Biomed Microdevices*, **9**, 603-609, 2007
3. **Kudo H**, Iguchi S, Yamada T, Kawase T, Saito H, Otsuka K and Mitsubayashi K: A flexible transcutaneous oxygen sensor using polymer membranes. *Biomed. Microdevices*, **9**, 1-6, 2007

学会発表

1. **Kudo H**, Chu MX, Saito H, Iwasaki Y, Akiyoshi K, Mitsubayashi K: Wearable biosensor for continuous glucose monitoring in tear fluids. *The Tenth World Congress on Biosensors, BIOSENSORS 2008*, Shang-Hai, China, May 2008.
2. Chu MX, Yagi T, **Kudo H**, Morimoto N, Iwasaki Y, Saito H, Akiyoshi K, Mitsubayashi K: Glucose sensor using enzyme immobilization by phospholipid polymer as biocompatible material. *Asianalysis*, Jeju island, Korea, Nov. 2007.
3. **Kudo H**, Chu MX, Yagi T, Saito H, Otsuka K, Morimoto N, Iwasaki Y, Akiyoshi K, Mitsubayashi K: Glucose sensor using phospholopid polymer-based enzyme immobilization. *Euroanalysis XIV*, Antwerp, Belgium, Sep. 2007.
4. **Kudo H**, Yagi T, Chu M, Saito H, Otsuka K, Mitsubayashi K: Enzymatic glucose sensor using phospholipid polymer based immobilization. *ICMAT (International Conference on Materials for advanced Technologies 2007*, Singapore, Jul. 2007.

受賞

Kudo H, Yagi T, Chu MX, Saito H, Otsuka K, Iwasaki Y, Mitsubayashi K, “Best Poster Award”, ICMAT2007 (4th Int. Conf. Materials for Advanced Technologies 2007), July 1-6, 2007, Singapore.

平成20年度
技 術 交 流 助 成 成 果 報 告

川崎医療福祉大学・医療技術学部・臨床工学科　生体医工学　教授
望月　精一

会議等名称　　第１３回国際バイオレオロジー学会・
第６回国際臨床ヘモレオロジー学会

開催地　　米国ペンシルベニア州ステートカレッジ

次　期　　平成２０年７月８日～７月１４日

１．会議又は集会の概要

米国ペンシルベニア州ステートカレッジにて、７月９日から１３日まで開催された 13th International Congress of Biorheology and 6th International Conference on Clinical Hemorheology（第１３回国際バイオレオロジー学会・第６回国際臨床ヘモレオロジー学会）に参加した。３年に一度の頻度で行われている血液のレオロジーを含むバイオレオロジー分野の研究者が世界各国から集う国際学会である。今大会の主なプログラムは、この分野での最も権威ある賞のポアズイユ賞受賞講演（南カリフォルニア大、Herbert J. Meiselman 教授)、招待講演６題、シンポジウム３５セッション、一般演題１１１題で構成されていた。シンポジウムは、４会場に分かれて開催され各分野において密度の濃い議論が展開された。ユニークと思われたのが、一般演題を全てポスター発表とし、大会期間中ポスターを掲示したままにして、休憩時間などにも見られるように配慮されていた。また、討論のコアタイムを大会初日の夕方６時から９時に設定し、軽い夕食をとりながら十分なディスカッションができるように配慮されていた。

臨床ヘモレオロジー学会との共催であったためか、臨床の血液関連の演題も多く、生活習慣病に関連した血液性状の異常や血液循環障害なども演題に含まれていた。その他、関連企業の展示もあり、血液粘度、血球の変形能評価などの計測機器などが出品されていた。

２．会議の研究テーマとその討論内容

今大会の主な発表分野は以下の通りである。Biorheology of cell-cell interactions（細胞間相互作用のバイオレオロジー)、Applications of micro/nano biotechnology（マイクロ／ナノテクノロジーの応用)、Molecular biomechanics and biorheology（分子レベルのバイオメカニクスとバイオレオロジー)、Biorheology of mechanotransduction（メカノ伝達のバイオレオロジー)、Biorheology of tissues and biomaterials（組織と生体材料のバイオレオロジー)、Microcirculation and hemorheology

(微小循環とヘモレオロジー)、Basic hemorheology（基礎ヘモレオロジー)、Clinical hemorheology（臨床ヘモレオロジー)、Thrombosis and coagulation（血栓症と血液凝固)、Rheology of stem cells（幹細胞のレオロジー)、Rheological issues in design of artificial organs（人工臓器デザインにおけるレオロジー)。

上記の通り、トピックスが多岐にわたり、今後の研究の参考になる多くの情報を得られた。中でも、様々な病態における血液性状の評価や薬剤による性状の改善、血流などのメカニカルストレス（物理的応力）の細胞へのシグナリング伝達メカニズムなどについての発表が目を引いた。

３．出席した成果

透析に関する演題もいくつかあり、透析による血液性状の変化、微小循環、物質透過性の変化、ある

いは生体内一酸化窒素（NO）の動態などについて、意見交換ができた。コメントの中には、今後実験項目として取り入れていきたいものをあり、大変参考になった。

以前からの共同研究先であるオランダのアムステルダム大学とマーストリヒト大学の研究グループ代表の Hans Vink 準教授も招待講演者の一人として参加されており、血管内皮機能を中心とした共同研究の可能性などについてのディスカッションができた。

日本においては、循環系（医学系）では血管機能、バイオレオロジー分野では血液や血流の特性を中心とした発表が多いが、今大会のように両面からの深い議論が同じ会場で行われることは、関連分野についての視野を広げられる良い機会であった。

４．その他のトピックス

ステートカレッジは、ペンシルベニア州のほぼ中央に位置している。通称 Penn State で知られる Pennsylvania State University のメインキャンパスのある町である。学生数は、大学全体では８万人あまり、ステートカレッジだけで４万２千人ほどいる。Penn State は多くのキャンパスを有しており、この町が最大のキャンパスとのことであり、その広大さと美しさが印象に残った。

既に夏休みに入っていたため、学生はあまり見かけなかったが、Central Pennsylvania Festival of the Arts の期間にかかっていたので、観光客らしい人たちを多く見かけた。大会３日目の午後はこの祭りのためのフリータイムとなっていた。４０年以上の歴史がある祭りだそうで、今大会の開催もこれに合わせていた。大学キャンパスの半分程度と隣接する町の一部が会場となっており、昨年はおよそ１３万人が集まったそうである。

また、私が留学時代（University of Delaware）の恩師である Andrew L. Zydney 教授が、Penn State の化学工学科の主任教授になっておられ、大学内の施設などを案内して頂き、先生の研究室を離れてからの bioseparation を中心とした研究の動向についても話をすることができ、さらに学科のマネジメントについての情報交換もできた。

最後に本学会への参加の機会を与えて頂きました中谷電子計測技術振興財団とご関係の皆様方に深謝申し上げます。

浜松医科大学医学部・臨床検査医学　教授
前川　真人

会議または集会名　　第48回　日本臨床化学会年次学術集会

開催地　　静岡県浜松市　静岡文化芸術大学

時　期　　平成２０年８月２９日ー３１日

１．会議の概要

「第 48 回日本臨床化学会年次学術集会」を平成２０年８月２９日から３１日までの３日間、静岡文化芸術大学キャンパスをお借りして開催した。

日本臨床化学会は、1961（昭和 36）年に発足し、40 年と長い歴史をもっているが、その後いろいろな分野に展開していた臨床化学分野を結集して、医療、健康へのサービスと関連産業界への学問的貢献をしてきた。最近では、健康食品など健康産業の分野も含んでいる。会員数は約 1500 人で、母体が大学・研究機関の臨床系、基礎系、病院系、産業学術系・その他の４つからなり、医療系を中心とした関連領域を幅広く網羅している。国際的にも国際臨床化学連合と歩調を合わせ、国内のみならず国外との連携も保っている。従来、日本臨床化学会は、秋に開催の年会と夏に開催の夏期セミナーからなっていた。そして、年会は最近、日本臨床検査医学会との連合大会が続いていた。しかしながら、今回は連合大会ではなく、単独で、年会と夏期セミナーの内容をまとめた形で行うこととなり、８月に開催することとした。

2. 会議の研究テーマとその討論内容

本会のテーマは、平成19年度の夏期セミナーの「臨床化学の原点への回帰ーNeedsからSeedsへー」を受け、「臨床化学　原点からの新たな展開」とした。抽象的なテーマをつけたのは、新たな多くの展開の種を蒔いて、それを花咲かせたいという意図をもりこんだつもりである。従って、教育講演やシンポジウムでは、種々の領域での現状や問題点を認識し、そこから展開していくための題材を提供できればと考えた。臨床化学という幅の広い学問をさらに幅広く展開していくことができれば、またその種を蒔くことができれば、臨床化学はどんどん発展していくと考えたからである。

一般演題は９６題集まり、満足できるものであった。

それ以外のプログラムを抜粋して示す（敬称略）。

特別講演　Mauro Panteghini　(University of Milan, Italy)

IFCC visiting lecture　「Impact of Traceability Concept in Laboratory Medicine」

教育講演１　小林典裕（神戸薬科大学）

「免疫測定法の実際：特異抗体の創製を中心に」

教育講演２　林崎良英（ゲノム科学総合研究センター）

「トランスクリプトーム研究の新展開」

教育講演３　曽我朋義（慶応義塾大学先端生命科学研究所）

「CE-MSによるメタボローム測定法と生命科学への応用」

教育講演４　寺川　進（浜松医科大学医学部光量子医学研究センター）

「メディカルフォトニクス」

教育講演５　香川靖雄（女子栄養大学）

「ニュートリゲノミクスと臨床化学」

教育講演６　渡辺　亨（浜松オンコロジーセンター）

「新時代を迎えたがん薬物療法　−毒から薬への展開、求められるものは何か？−」

シンポジウム１　「地場産業に学ぶ」

シンポジウム２　（臨床化学会東海北陸支部総会との共同開催）

「分析化学の進歩と応用」

シンポジウム３　　法人シンポジウム　「予防医療、新技術、そして検査への統合」

１）イメージング検査

２）IVD 治験の現状と問題点

シンポジウム４　　（臨床検査医学会東海北陸支部例会との共同開催）

「臨床検査医学　元気の出るヒント」

ワークショップ１　「正しい測定値を得るために　−機器・システムの活用方法−」

ワークショップ２　「外部精度管理調査−現状と利用法−」

３．会議のトピックス

イタリア、パンテギニ教授の特別講演はＩＦＣＣからの出張講演という様相で、トレーサビリティに関する世界的な動きについてリアルタイムな内容であった。教育講演６題はそれぞれが、イムノアッセイ、トランスクリプトーム、メタボローム、メディカルフォトニクス、ニュートリゲノミクス、がん薬物療法をテーマとした内容であり、多岐に渡って幅広く勉強できたと評判がよかった。浜松医科大学では寺川先生を中心に取得したCOEのメディカルフォトニクスを紹介してもらった。法人シンポジウムでは、日経BP社の宮田満氏をキーパースンとして予防医療や新技術についての鼎談を行った。新しい企画で、非常に興味深い内容であったとの評価であった。浜松近郊の企業にお願いした「地場産業に学ぶ」という特徴のあるシンポジウムも評価を得た。他にも、臨床化学会東海北陸支部との共催シンポジウム、臨床検査医学会東海北陸支部との共催シンポジウムも多くの参加者を迎えることができた。

大雨の中、新幹線を初めとする交通網が乱れ、講師の先生があわや来られないかと心配する中、何とか間に合い、大過なく全てのプログラムがスタッフも含めると６００人を越える参加者を迎え、盛況の中、終了した。

懇親会は２日目のプログラム終了後、学会会場に近い地ビールのレストラン「マインシュロス」で開催した。雨の中、レストラン内は熱気に包まれ、懇親会が一番盛り上がったという喜んでいいのか悲しむべきか、複雑な心境ではあったが、年次学術集会全体の評価として喜ぶこととした。

最終日の午後には、「メタボ健診と健康管理」と題した市民フォーラムも行った。静岡文化芸術大学の講師でもあり、バルセロナオリンピック柔道銀メダリストの溝口紀子先生にも登壇していただいた。

本年会、および市民フォーラムに関する記事は、中日新聞、静岡新聞に掲載された。

最後に、本年次学術集会の開催・運営にあたり、中谷電子計測技術振興財団からの助成が非常に役立ち、また、我が国の電子計測技術の向上にも大いに貢献したことをご報告し、本学会への助成に対して厚くお礼申し上げます。

開会の辞

法人シンポジウム（鼎談方式）

一般演題発表

特別講演

48th Annual Meeting of the Japan Society of Cli
ifcc
International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine
Scientific Division
Impact of Traceability C
in Laboratory Medic
Mauro Panteghini
University of Milan Medical S
for Metrological Traceability in
(
RME)
Chai
Scientific Divis

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
濱﨑　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

第２０回（平成１５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
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

氏　名	所　属　機　関・職　名	研　　究　　題　　目	助成金額
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

第２１回（平成１６年度）技術開発助成対象

開発研究

氏　名	所　属　機　関・職　名	研　　究　　題　　目	助成金額
小畠　英理	東京工業大学大学院生命理工学研究科　生命情報専攻　助教授	環境応答型高感度細胞バイオセンサの開発	２００
谷下　一夫	慶應義塾大学理工学部 システムデザイン工学科 教授	生体組織への極低侵襲計測を目的とする極微小一酸化窒素電極の開発	２００
竹下　明裕	浜松医科大学医学部 臨床検査医学　助教授	糖鎖結合を利用したリガンドのラベルと非放射性受容体定量法の確立	２００
和田　佳郎	奈良県立医科大学 生理学第一講座　講師	動体視力トレーニング法の確立を目指した頭部ー眼球運動計測システムの開発	２００
杉浦　清了	東京大学大学院新領域創成科学研究科　環境学専攻　教授	心筋細胞内の細胞骨格の力学特性の評価法の開発	２００
戸津健太郎	東北大学大学院工学研究科 ナノメカニクス専攻　助手	集積化３軸ＭＩセンサを用いた低侵襲検査治療ツール用３次元ナビゲーションシステムの開発	２００
久冨　信之	国立循環器病センター研究所 放射線医学部医薬品機構 派遣研究員	O-15 標識化合物を使った脳酸素代謝･血流超迅速 PET 検査法の確立	２００
合田　典子	岡山大学医学部　保健学科 助教授	イオン感応性電界効果トランジスタ（ISFET）を用いた迅速・簡便な細胞活性測定システムの開発	１５０
山家　智之	東北大学加齢医学研究所 病態計測制御研究分野　教授	熱電子局所冷却装置と術中脳波マッピングを用いた脳外科手術局所機能診断	１５０

奨励研究

氏　名	所　属　機　関・職　名	研　　究　　題　　目	助成金額
田邉　匡生	東北大学大学院工学研究科 知能デバイス材料学専攻 助手	半導体テラヘルツ電磁波光源を用いた生体内組織観察システムの開発	１００
野村　英之	金沢大学大学院自然科学研究科　電子情報科学専攻 助手	音声障害診断を目的とした声帯の力学的特性評価システムの開発	１００
福島修一郎	大阪大学大学院基礎工学研究科　機能創成専攻生体工学領域　助手	時間分解蛍光測定用カプセル化センサーチップの開発	１００

第２２回（平成１７年度）技術開発助成対象

開発研究

氏　名	所　属　機　関・職　名	研　　究　　題　　目	助成金額
石原　康利	長岡技術科学大学電気系 情報･通信システム工学講座 助教授	完全非侵襲がん治療を目的とした温度測定法に関する研究	２００
早崎　芳夫	徳島大学工学部 光応用工学科　助教授	２波長低コヒーレンス位相シフトデジタルホログラフィ	２００
吉信　達夫	東北大学大学院工学研究科 電子工学専攻　教授	半導体センサによるマイクロ化学チップ内部のイメージングに関する研究	２００
太田　善浩	東京農工大学大学院共生科学技術研究部　生命機能科学部門 助教授	単一ミトコンドリアの密度・体積変化の光計測	２００
酒井　康弘	東邦大学理学部 物理学科　助教授	イオン付着飛行時間法を用いた万能型呼気分析装置の開発	２００
和田　　仁	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	新生児中耳疾患スクリーニングのための診断装置の開発	２００
下村　美文	東京工科大学バイオニクス学部 軽部研究室　助手	生体内のダイオキシン類測定のための携帯用表面プラズモン共鳴バイオセンサの開発	２００
遠藤　恒介	川崎医科大学 生理学　助手	生体内使用のカテーテル型実時間連続計測スーパーオキサイドセンサの開発	１００
三谷　博子	杏林大学保健学部 臨床生理学教室　講師	SSR 検出電極を内臓した指先センサによる SAS の型判定検出装置の開発	１００

奨励研究

氏　名	所　属　機　関・職　名	研　　究　　題　　目	助成金額
宮田　昌悟	九州工業大学大学院 生命体工学研究科　生体機能専攻 助手	MRI による陰性電荷イメージングを用いた再生軟骨の非浸襲機能評価システム	１００
長谷川 英之	東北大学大学院 工学研究科 電子工学専攻　講師	広帯域超音波 RF 信号を用いた動脈壁ひずみ･弾性率分布の高精度計測	１００
富崎　欣也	東京工業大学大学院 生命理工学研究科　生物プロセス専攻 助手	金の異常反射特性を利用した分子間相互作用検出法に関する研究	１００
細川 賀乃子	弘前大学医学部附属病院 リハビリテーション部 助手	嚥下圧測定のための、多チャンネルでの圧同時測定センサーの開発	１００

第２３回（平成１８年度）技術開発助成対象

開発研究

氏　名	所　属　機　関・職　名	研　　究　　題　　目	助成金額
戸田　真志	公立はこだて未来大学システム情報科学部　情報アーキテクチャ学科 助教授	耐ノイズ性を考慮した高精度な表面筋電位計測システムの研究	１９８

氏　名	所　属　機　関・職　名	研　　究　　題　　目	助成金額
岩坂　正和	千葉大学工学部　メディカルシステム工学科　助教授	磁気トルク負荷を用いた細胞活性の低侵襲診断法の開発	２００
小沢田　正	山形大学工学部　機械システム工学科　教授	圧電マイクロ３次元振動デバイスによる生体細胞の内部ストレス計測と損傷治療法	２００
仁井見 英樹	富山大学附属病院　検査部　助手	real-time PCR 法を用いた迅速な敗血症起因菌同定システムの構築に関する研究	２００
椎名　　毅	筑波大学大学院システム情報工学研究科　コンピューターサイエンス専攻　教授	超音波による組織粘弾性３Ｄマイクロスコープの開発	２００
桑原　義彦	静岡大学工学部　電気電子工学科　教授	マイクロ波イメージングによる初期乳癌検診法の確立	１７０
金　　郁喆	京都府立医科大学大学院医学研究科　運動器機能再生外科学　助教授	インピーダンス測定法を用いた新しい骨癒合判定法の確立と携帯型測定器の開発	２００

奨励研究

氏　名	所　属　機　関・職　名	研　　究　　題　　目	助成金額
関野　正樹	東京大学大学院新領域創成科学研究科　先端エネルギー工学専攻　助手	ＭＲＩを用いた生体インピーダンスの非侵襲・高分解能画像計測	１００
世良　俊博	独立行政法人理化学研究所中央研究所　生体力学シミュリーション特別研究ユニット　協力研究員	SPring-8 放射光を用いた小動物用４次元ＣＴシステムの開発	１００
吉武　康栄	大分県立看護科学大学　人間科学講座　助手	レーザー変位計を用いた皮膚表面振動測定による力調節能力評価	１００
平田 伊佐雄	広島大学大学院医歯薬学総合研究科　生体材料学研究室　助手	医用材料の迅速評価に用いる表面因子アレイチップの作製とその測定システムの開発	１００
田代 健太郎	東京大学大学院工学系研究科　化学生命工学専攻　助手	磁性フラーレンとデンドリマーポルフィリンの複合化による高機能ＭＲＩ造影剤の設計	１００
工藤　寛之	東京医科歯科大学生体材料工学研究所　システム研究部門　助手	ウエアラブル化学センサを用いた非侵襲生体情報モニタリングに関する研究	１００

第２４回（平成１９年度）技術開発助成対象

開発研究

氏　名	所　属　機　関・職　名	研　　究　　題　　目	助成金額
岡　浩太郎	慶應義塾大学理工学部　生命情報学科　教授	FRET 型蛍光タンパク質プローブに特化した新規イメージング装置の開発	２００
栗津　邦男	大阪大学大学院工学研究科　環境・エネルギー工学専攻　教授	赤外分光による非侵襲的細胞解析装置の開発	２００
上村　和紀	国立循環器病センター研究所先進医工学センター循環動態機能部血行動態研究室　室員	動脈圧波形と電気的コンダクタンスを用いた心拍出量・左心房圧連続測定システム	１７９

氏　名	所　属　機　関・職　名	研　　究　　題　　目	助成金額
堀中　博道	大阪府立大学大学院工学研究科　電子・数物系専攻 電子物理工学分野　教授	光アシスト超音波速度変化イメージング法による生体深部における薬剤分布モニター	１７８
鳥越　秀峰	東京理科大学理学部第一部　応用化学科　准教授	糖尿病発症関連遺伝子の一塩基多型の電気化学的検出方法の開発	２００
守本　祐司	防衛医科大学校　分子生体制御学講座　講師	金ナノ粒子を用いた非蛍光細胞標識による生体分子動態測定	２００
南　　哲人	独立行政法人情報通信研究機構・未来 ITC 研究センター　認知科学　専攻研究員	マルチモーダル脳計測手法を用いた脳情報デコーディング技術の開発	１９７

奨励研究

氏　名	所　属　機　関・職　名	研　　究　　題　　目	助成金額
大森　　努	防衛医科大学校　医用工学講座　助教	過渡回折格子法による組織診断測定とイメージング技術の開発	１００
有光 小百合	大阪大学大学院医学系研究科器官制御外科学(整形外科学)　講座　　大学院生	３次元バーチャルリアリティ装置による病的関節の動態解析	１００
永岡　　隆	静岡県立静岡がんセンター研究所　診断技術開発研究　研究員	がんの超早期診断に資するマルチスペクトラルカメラの開発	１００
小野　宗範	京都大学大学院医学研究科　神経生物学　研究員	動物個体脳の単一神経細胞からの電気および光学シグナルの同時計測	９９

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
平成 16 年度	平成 17 年 2 月 25 日	12 件	2,000 万円
平成 17 年度	平成 18 年 2 月 23 日	13 件	2,000 万円
平成 18 年度	平成 19 年 2 月 23 日	13 件	1,968 万円
平成 19 年度	平成 20 年 2 月 29 日	11 件	1,753 万円
平成 20 年度	平成 21 年 2 月 27 日	13 件	1,800 万円
累計		243 件	48,481 万円

調査研究に対する助成状況

昭和６１年度調査研究助成対象

氏　名	所属機関・職名	研究題目	研究期間
戸川　達男	東京医科歯科大学　医用器材研究所　教授	無拘束生体電子計測に関する調査研究	昭和 61～63 年度

平成２年度調査研究助成対象

氏　名	所属機関・職名	研究題目	研究期間
赤澤　堅造	神戸大学　工学部情報知能工学科　教授	生体電子計測技術における可視化･知能化に関する調査研究	平成 2～4 年度

平成１４年度調査研究助成対象

氏　名	所属機関・職名	研究題目	研究期間
松浦　成昭	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　教授	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	平成 14～15 年度

技術交流に対する助成状況

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	弟 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	弟 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　　巖	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　MD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

平成 15 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
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

平成 16 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
井内　洋介	岡山大学医学部 保健学科放射線診療技術学講座　助手	American Heart Association Scientific Sessions 2004 （米国心臓学会）	アメリカ・ニューオリンズ	平成 16 年 11 月

平成 17 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
森本　太郎	岡山大学医学部歯学部付属病院　総合診療内科 内科医師	American Heart Association （米国心臓学会）	アメリカ・ダラス	平成 17 年 11 月

平成 18 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
前川　真人	浜松医科大学医学部臨床検査医学 教授	American Association for Clinical Chemistry, Annual Meeting （米国臨床化学会）	アメリカ・シカゴ	平成 18 年 7 月
片岡　則之	川崎医療短期大学 講師	5th World Congress of Biomechanics （第５回生体力学世界会議）	ドイツ・ミュンヘン	平成 18 年 7 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ﾃ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

平成 16 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
山越　憲一	金沢大学大学院自然科学研究科　教授	Niilo Saranummi 教授（ﾌｨﾝﾗﾝﾄﾞ）、Haldun Karagoz 博士(ﾄﾙｺ)	第 43 回日本エム･イー学会	金沢	平成 16 年 5 月

平成 18 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
熊谷 俊一	神戸大学大学院医学系研究科　生体情報医学講座　臨床病態免疫学分野　教授	Dr.Hardjoeno(Indonesia)他、Indonesia4 名、Korea2 名、Mongolia5 名、Taiwan3 名	第 9 回アジア臨床病理学会	神戸国際展示場	平成 18 年 10 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

平成 15 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
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

平成 17 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
辻岡　克彦	川崎医科大学生理学教室 教授	第 6 回アジア太平洋生体医工学会	筑波	平成 17 年 ４月

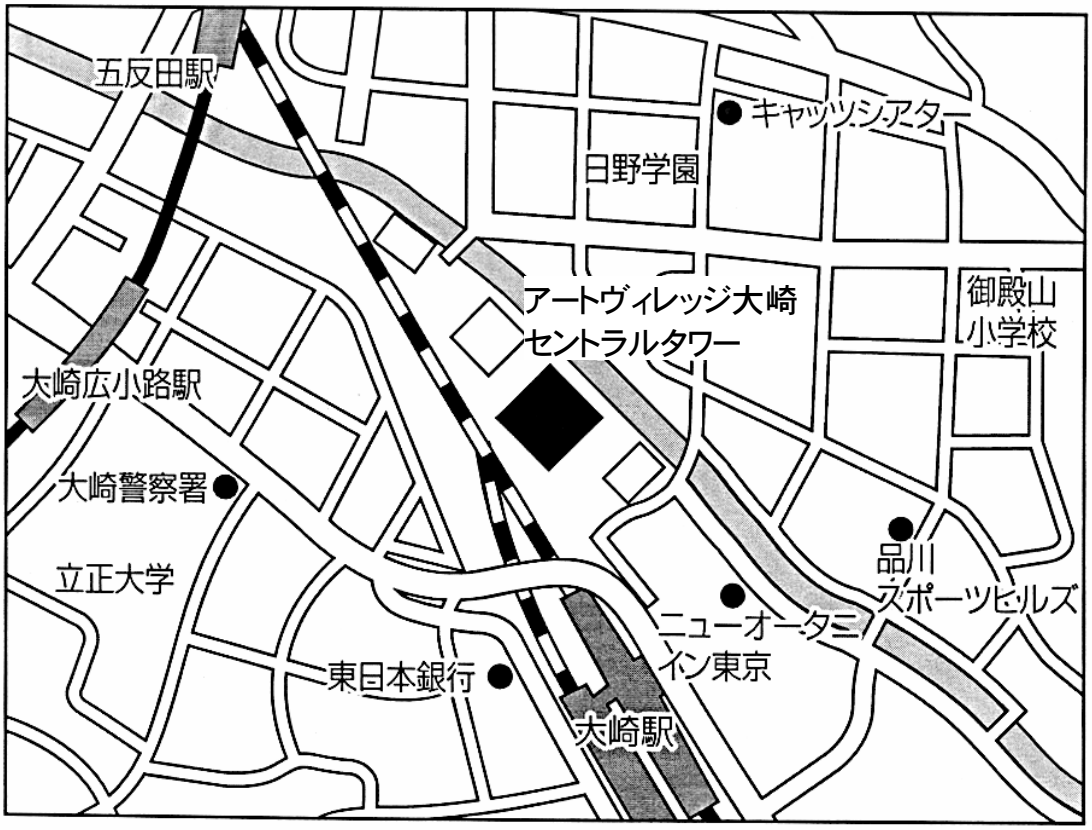
平成 18 年度技術交流（会議等）助成対象

氏　名	所属機関・職名	会議名	開催地	時期
前川　真人	浜松医科大学医学部臨床検査医学　教授	第 57 回日本電気泳動学会	アクトシティ浜松	平成 18 年 10 月

平成 19 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
日野田　裕治	山口大学大学院医学系研究科臨床検査医学分野　教授	第 58 回日本電気泳動学会	山口県宇部市	平成 19 年 11 月

財団法人中谷電子計測技術振興財団　御案内図



財団法人中谷電子計測技術振興財団

〒141-0032 東京都品川区大崎一丁目２番２号
アートヴィレッジ大崎セントラルタワー8 階
電　話：03-5719-5216(代)
ＦＡＸ：03-5496-9217
ＵＲＬ：http://www.nakatani-foundation.jp/
E-mail：info@nakatani-foundation.jp

財団法人 中谷電子計測技術振興財団　年報

23 号

平成 21 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

〒141-0032　東京都品川区大崎一丁目 2 番 2 号
アートヴィレッジ大崎セントラルタワー8 階

TEL(03)5719-5216　FAX(03)5496-9217

URL：http://www.nakatani-foundation.jp/

E-mail：info@nakatani-foundation.jp

編集・発行人　浜 野　実

印刷 (有)盛光印刷