[™]中谷電子計測技術振興財団

年

報

vol. 24

Annual Report 2010

Nakatani Foundation of Electronic Measuring Technology Advancement

24 号

年 報

24 号

	目	次		
設立の趣意・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・		وتورث والمراجعة	************	2
役員・評議員および事業の	の概要	*******		3
平成 21 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	び提供・・・・・・		5
V 中谷賞に対する表彰事	業			5
平成 21 年度贈呈式 · · · · ·				7
平成20年度(第1回)中	谷賞研究成果	设告 …		11
平成 19 年度 (第 24 回) 2	支術開発助成成	果報告		19
平成 20・21 年度技術交流	助成成果報告.	*******	والمتراكية والمتراكية والمتراكية	109
技術開発に対する助成状法	兄			124
調査研究に対する助成状法	兄	********	******	141
技術交流に対する助成状法	兄	********		142

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亞医用電子株式会社(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。

> 脚中谷電子計測技術振興財団 ^{族人}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 医療法人社団神鋼会神鋼病院膠原病リウマチセンター長

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)

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 当財団は平成21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21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が続いております。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の課題も多く、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 21 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 查

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31件(開発研究23件、奨励研究8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11件(開発研究7件、奨励研究4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11名の研究者に対して、平成22年2月26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。

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年度からの 継続調査研究であり、平成22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
野口填三郎	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21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
有光百合子	Biomechanics Laboratory	2009 年アメリカ手の手術の	アメリカ合衆	平成21年
	Mayo Clinic	外科・ハンドラセラピー学会	国サンフラン	9月
			シスコ州	

2. 招聘

氏 名	所属機関・職名	被招聘者	会議名	開催地	時期
福井 康裕	東京電機大学理工学部 電子情報工学科 教授	Rita Paradiso Ph.D R&D Manager, Smartex	第48回日本生体医工学会	東京江戸川区 タワーホール船堀	平成 21 年 4月
倉智 嘉久	大阪大学大学院医学系研 究科 分子・細胞薬理学 講座 教授	Denis Noble PhD	第 36 回国際 生理学会世 界大会	国立京都国際会館	平成21年 7月~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昨年から設け、その対象者を公募した結果3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2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)
橋本	守	大阪大学大学院基礎工学研究科 機械創成専攻生体工学領域 准教授	コヒーレントラマン散乱顕微鏡による生 体分子の無染色な高解像・高速観測	300

第26回(平成21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	助成金額
上原	宏樹	群馬大学大学院工学研究科 応用化学・生物化学専攻 准教授	伸縮性を有するシリコーン・ナノポーラス 膜の創製と生体デバイスへの応用	200
藤田	克昌	大阪大学大学院工学研究科 精密科学・応用物理学専攻 准教授	細胞内タンパク機能の無標識イメージング	200
萩山	満	東京大学医科学研究所 人癌病因遺伝子分野 大学院生(D2)	フェムト秒レーザーと原子間力顕微鏡の応 用による細胞間接着力測定法の開発	200
武田	淳	横浜国立大学大学院工学研究院 知的構造の創生部門 教授	反射型エシェロンを用いた生体光反応の時間・周波数実時間マッピング装置の開発	200
片山	建二	中央大学理工学部 応用化学科 准教授	マイクロチップ用動的光散乱法を用いたリ ポソームの反応速度解析法の開発	200
長谷川	川寛雄	長崎大学大学院医歯薬総合研究科 病態解析・診断部門 臨床検査医学 助教	フローサイトメトリーによる細胞死識別マ ーカー計測系の確立	200
尾野	恭一	秋田大学大学院医学系研究科 細胞生理学講座 教授	新生児用ピエゾセンサー方式心拍呼吸モニ ターシステムの開発	200

奨励研究助成

氏	名	所属機関·職	研 究 題 目	助成金額
吉木	啓介	兵庫県立大学大学院工学研究科 機械系工学専攻 助教	3次元立体配向SHG顕微鏡を用いた応力 負荷に伴う繊維状タンパク質のマイクロ力 学試験	100
崔	森悦	新潟大学工学部 電気電子工学科 助教	光コムと正弦波位相変調法による光コヒー レンス・トモグラフィーの開発	100
田中	一生	京都大学大学院工学研究科 高分子化学専攻 助教	MR I による定量性を持った機能イメージ ング剤の開発	100
西村	智	東京大学大学院医学系研究科 循環器内科学 システム疾患生命科 学による先端医療技術開発拠点 特任助教	二光子生体分子イメージングを用いた生活 習慣病の病態解析	100

技術開発研究助成金総額

1,800万円

平成 21 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、吉木、佐藤、長谷川、藤田、西村、萩山、片山(郁)、片山(建) 下段左から、上原、鈴木、橋本、菅野、家次、田中、崔

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



















平成20年度(第1回)中 谷 賞 研 究 成 果 報 告

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



東北大学 大学院工学研究科 電子工学専攻 大学院医工学研究科 医工学専攻 教授 金井 浩

1. はじめに

医用超音波診断装置が開発されて 40 余年間、日本を中心に多くの研究と技術開発が行われてきた。体表から体内へ送信した超音波パルス(数 MHz の縦波超音波)が、体内で音響的インピーダンスの変化する部位から返ってくる反射波・散乱波の振幅を輝度に変換して描く 2 次元断層像、赤血球からの散乱波の超音波周波数が血流速度に応じてドップラ効果を受け偏移することを利用した血流速度計測が開発され、それらの簡便さ・安全性から臨床現場で多大な貢献をしている。

心臓は心臓壁を構成する心筋が電気信号を受けて 収縮し血液を拍出しているが、そのポンプ機能の評 価のため、上記の血流速度計測を心筋の局所ごとに 適用した心筋の収縮機能・拡張特性の計測も近年行 われている。

また心臓疾患の初期には、収縮機能よりも弛緩特性の方に心筋の特性変化が先行して現れることも知られており、弛緩特性に対応する心筋自体の機械的特性(硬さ軟らかさを表す弾性特性)を計測する試

みもある。上記の超音波断層像に用いられる縦波超音波の音速(体積弾性率に対応)は、心筋梗塞による病変部において高々数%程度の変化しかないがり、横波の伝搬速度は生体軟組織が異なれば約3桁程度の大きな変化を示すため²¹、横波の伝搬特性によってずり弾性率を計測することには大きな利点がある。

弾性特性の計測には、相手に力(応力)を与えて その変形(歪み)を計測する方法と、振動を伝搬さ せて伝搬速度の計測から、密度を仮定して弾性率を 算出する方法に大別できる。皮下組織などには前者 が適用できるが、心臓では実際に加えた応力の大き さを計測すること自体が難しい。さらに心臓では、 応力を胸壁から的確に印加することが容易ではない。 そこでわれわれば、(聴診器で聞くことができる)心 音の源になっている心臓壁の振動(横波)の伝搬を、 後者の弾性率計測に利用しようと考えた。

一方、急性心筋梗塞などの循環器疾患は、動脈硬 化の進行にともなって動脈の壁の内側にできた病変 (粥腫)の壁(図1)が破れ、病変内部の(お粥状 の)脂質が血管の中に流れ出て血栓をつくり、血管 内腔を一時的に狭くしたり塞いだりすることで、下流側の組織に栄養や酸素が十分行き渡らなくなることで発症する。この病変の破裂が頸動脈や脳内で起きれば急性脳梗塞になり、心臓の筋肉に栄養を送る冠動脈で起きれば急性心筋梗塞・不安定狭心症となる。一旦こうした重篤な病気が起きると、後遺症のため長期にわたる治療が必要となり、医学的にはこうした病変が、破裂しやすいか(易破裂性)あるいは病変部を覆う線維性の膜が硬くて安定であるか(安定性)を診断することが重要となる。もし破裂し易い状態にあれば外科的措置が可能である。そのため血を見ずに(非観血的に)病院の外来で手軽に診断できる技術や装置が切望されてきた。

頸動脈は皮膚から浅いところにあるため、市販の 医用超音波装置で断層像を診ることはできるが、現 状では病変の安定性の判断までは難しい。冠動脈は、 細いことと心臓の拍動が複雑なことから、体外から 超音波で調べることは難しいが、冠動脈の動脈硬化 は頸動脈の動脈硬化との相関が高いことが確認され ている。

従来、病院などで計測されてきた血管の硬さには、 心臓から全身に血液が送り出されるときに出る圧力 (脈)が体を伝わる速度(脈波伝搬速度)や、そう した圧力の変化によって血管が拡張するときの直径 変化の計測がある。しかしこれらは、血管の軸に沿った方向や断面の円周方向での平均的な硬さにしか 対応しないため、粥腫病変の内部の物性にまで踏み 込んでは把握できなかった。そこで我々は市販の医 用超音波装置を改造し、特別な処理によって動脈の 壁や病変内部の硬さに関する断層像を求める方法を 開発した。さらに硬さ分布からそこにある組織の種 類もある程度決められることも分かった。3。

2. 超音波による動脈壁 1 拍内での厚み変化の 計測

血液は、ほぼ1秒1拍の割合で心臓から全身に送り出されているが、そのとき出る圧力(脈)によって、血管の内部は、(普通の血圧測定で得られる)

最低血圧から最高血圧に上昇する。さらに内圧の上 昇にともなって血管の直径が広がる。一方、生体組 織は、圧力変化を受けたときに、その形は変化して も体積は変化しないこと(非圧縮性)が知られてい る。この性質を血管壁の輪切り断面で考えると、内 圧の上昇によって内腔が広がると同時に血管壁が薄 くなる。我々は、1 拍の中で生じる最高血圧と最低 血圧の差(脈圧)により、血管の壁が僅かに薄くな る度合い(厚み変化)を、超音波を駆使して体の外 から測ろうと考えた。

しかし、市販の医用超音波装置で血管の断層像を 眺めると、確かに1拍の中で生じる直径の変化は分 かるが、厚みの変化までは分からない。頸動脈は、 内直径が約6mm、壁の厚さが約1mmで、1拍の中 での直径の変化は約300~400ミクロンあるのに対 し、壁の厚みの変化は約30ミクロン程度しかない。

そこで我々は、皮膚表面から動脈に送信した超音 波パルスが、動脈壁で反射してまた皮膚まで戻って くるまでの時間(伝搬時間)から、動脈までの距離 を高い精度で計測するための工夫を行った。電気信 号を超音波に変えて血管に送信する超音波プローブ (図1)から、複数の超音波ビームが順番に出てい る。血管に達した超音波は、まず血管の前壁の外側・ 内側で一部分が反射し超音波プローブに戻る。さら に後壁の内側・外側でも反射する。それら反射して きた超音波を同じ超音波プローブで受け、再び電気 信号に変換し、各々の伝搬時間を計測する。我々は この計測を高い精度で行うことができるように工夫 を行ったところ 4)、市販の医用超音波装置を用いて (超音波の周波数は約 7~10MHz)、対象物の変位 や厚み変化を 0.5 ミクロンという高い精度で計測で きるようになった。

さらにこの計測技術を心臓壁にも適用し、拍動に 伴って動く心臓の壁上にある振動の計測に成功して いる。聴診器で「ドッキン・ドッキン」と聞こえる 心臓の音(心音)は主として心臓の弁の閉鎖によっ て発生するが、この技術によってその音に対応する 横波振動が、心臓の壁を伝わる様子を描出できるよ うになった。その伝搬速度から、後述するように心 臓の筋肉(心筋)の硬さなどの情報も得られる。

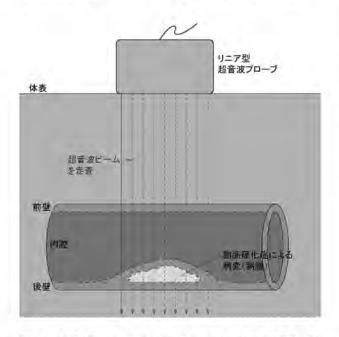


図 1. 超音波によって動脈壁に 1 拍内で生じる僅かな厚み変化を皮膚表面から計測する。

3. 動脈壁の1拍内での厚み変化の計測結果

図2は、健康な青年の頸動脈に本方法を適用した 結果である。横軸は時間を表し4拍分を示している。 図 2 (a) は縦軸が皮膚からの距離 (深さ) で、濃淡 は戻ってきた反射波の振幅を表しており、血管の前 壁と後壁から大きな反射波が戻ってきている。図 2(b) の心電図のパルス (R波) のタイミングの直後 に血液が心臓から送り出され、図2(a)の前壁が上 (皮膚表面) 方向へ、後壁が下方向へ移動し、その 後また元に戻る様子が分かる。これが内圧の上昇に 伴う血管内腔の拡張である。この拡張は、図2(c) の心音に見られる大きなパルス(大動脈弁の閉まる 時に発生する振動)の時刻まで継続する。また図 2 (a) 中の 2 本の横線は、上述の方法で追跡した、 血管の前壁の表側と裏側に設定した2点の動きで、 血管の拡張にともなう距離の変化(変位)が現れて いる。

一方、図 2 (d) と (e) には、図 2 (a) の 2 本の線上の点の速度を波形で示す。心電図 R 波の直後に

上向きの速度が生じている。しかも図2(d)と(e)の速度波形の振幅に差がある。2点が単に平行移動だけしていれば同じ速度をもつが、図2(d)の外側の点の速度が図2(e)の内側の点の速度より僅かに小さいことは、この2点間に厚み変化があることを意味する。この速度差を時間積分して変位の次元にし、2点間の厚み変化を図2(f)のように算出できる。1拍の中で30ミクロンという非常に僅かの厚み変化を再現性良く計測している。現在のところ、こうした微小な厚み変化は、他のいかなる非観血的手法によっても計測できない。

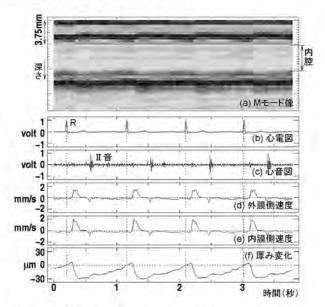


図 2. 頸動脈の壁の厚み変化の計測例。(a)血管壁の前壁と後壁から戻ってきた超音波の反射波の振幅を濃淡で表示。さらに、前壁の表側と裏側に設定した 2 点の変位の追跡結果を線で重ね表示。(b)心電図。(c)心音波形。(d)前壁の外側の点の速度波形。(f)算出した前壁の厚み変化波形。1 拍内で約 30 ミクロン薄くなっていることが計測されている 3)。

ここまでは血管壁の表と裏の厚み変化を示したが、 図 2 (a) では、壁内の組織の不均一性により血管壁 の内部からも反射波が戻って来ている。そこで1本 の超音波ビーム上で、血管壁の表と裏の間に多数の 点を設定し、各々の2点間の変位の差から厚み変化 を計測できる。しかし、送信している超音波パルスの長さが約400ミクロンであり、そのパルス長より薄い層の厚み変化は計測出来ない。そこで、1本の超音波ビーム上で375ミクロン離れた2点において、図2(d)と(e)のような速度波形の計測を行い「その間が均一に厚み変化を起こした」と仮定し、これら2点間からなる層の厚み変化を計測しその中心での厚み変化としている。この層設定を血管の表から裏まで順番に75ミクロンずつ移動させ、各々厚み変化を計測する。さらに図1のように超音波ビームを血管の軸方向に沿って150ミクロン間隔で順に約60本走査する。血管壁の軸方向 20mm、深さ方向10mmの領域に、約7,500個の微小領域を設定し、各微小領域での厚み変化を計測する。

4. 壁と病変部の硬さの計測

得られた厚み変化の1拍中での最大値を、層の元の厚み(375ミクロン)で割ることで歪みを求める。さらに最高血圧と最低血圧の差(脈圧)をこの歪みで割ることによって、設定した微小領域の硬さ柔らかさ(弾性率)を算出できる。ただ、ここで血管壁が薄くなることは、内圧の上昇で壁が外側に押される半径方向の縮みと、内腔の広がりとともに直径が増すことによる円周方向の伸びが起因する。そこで各微小領域内で、円周方向と半径方向での伸縮における硬さが等しい(弾性率の等方性)と仮定し円周方向の弾性率を算出した。こうして「硬さ(弾性率)に関する断層像」をイメージングできる。評価実験から、計測誤差は元々の弾性率の8%程度であることを確認している30。

5. 超音波による組織同定

患者から摘出した動脈の粥腫病変部を含む 9 例に 関し、各々人工心臓によって患者とほぼ同じ血圧変 化を与え、本手法で「弾性率に関する断層像」を計 測した。計測後に染色して顕微鏡で観察した画像で 「脂質」と「線維組織」の領域を指定し、各々の組 織に属する微小領域ごとに、弾性率の分布(ヒスト グラム)を調べた図3(a)。「脂質」(黄色)と「線維組織」(水色)の分布は、横軸の弾性率で0.3MPaを境に分類できることが分かる。すなわち、硬さの計測によってその組織が「脂質」と「線維組織」のいずれかであるかの識別(組織同定)ができる(この処理を電子染色と名付けた)。

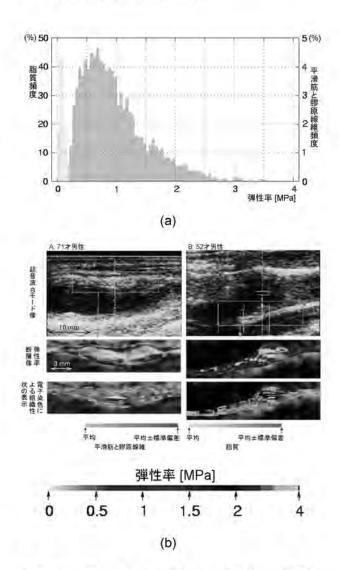


図 3. (a)摘出血管 9 例の硬さの計測によって作成した「脂質」の分布(黄色)と「線維組織」の分布(水色)。 (b)頸動脈(2 名高脂血症患者)を計測した例。病変部の市販の医用超音波装置による断層像(上段)、弾性率の断層像(中段)、超音波による組織同定の結果(下段)³⁾。

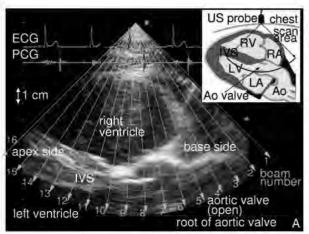
図 3 (b) の上段の左右は、高脂血症患者 2 名の頸 動脈にみられた粥腫病変を、市販の医用超音波装置

で観察した断層像を示している。これらでは病変内 の組成あるいはその易破裂性に関する推定は難しい。 この画像内の緑の四角内に設定した各点について、 上述の手法で得られた弾性率の断層像を図3(b)の 中段に示す。この「弾性率断層像」は、まるで病変 にメスで割を入れたように内部の弾性値を像に表し ている。さらに図3(a)で得られた約0.3MPaの境 界値をもとに、図3(b)の中段の各点での弾性率を、 (1)「脂質」、(2)「線維組織」、「それ以外の組織」に分類 し、(1)と(2)の領域に関しては各々黄色と水色で着色 した。こうして得られた「超音波による組織同定」 の結果を図3(b)の下段に示す。図3の左右の症例 はいずれも粥腫病変があるが、この弾性率断層像お よび組織分類の結果から、粥腫の内側に非常に柔ら かいもの(黄色の脂質に分類)が存在し、内腔面と の境界を硬い層 (水色の線維層に分類) が覆ってい るという分類結果が得られている³⁾。

6. 心臓壁の振動波形の計測

図 4 (上) は、通常の医用超音波診断装置で得られた健常者の心臓の断層像である。その右上の図は、超音波ビームの扇状の走査範囲を示す。医用超音波診断装置では、このような断層像が毎秒30~60枚リアルタイムで表示され、形態上の変化や肉眼で確認できるゆっくりした動き(振幅 1mm 以上、周波数30Hz以下)を診断に役立てている。われわれは、心音が聞こえる以上は、さらに高い周波数成分や微小な振幅の振動があるのではないか、という観点から、超音波を用いて心臓壁の振動を波形として計測する方法を開発してきたう。

図4(下)の上から3段目と4段目の波形は、図4 (上)の心室中隔壁の両側(右心室側・左心室側) の2点の振動を示している。連続する6拍分を、1 段目の心電図をもとに拍ごと切り出し重ねて表示している。拡張期(diastole)の長さは1拍ごとに変化しているが、収縮期(systole)から等容性弛緩期(isovolumic relaxation period)に関しては、速い成分も含め高い再現性がある。2段目の波形は、胸壁上 のマイクで計測された心音で、等容性弛緩期直前 (T_0) の第 II 音は大動脈弁の閉鎖によって発生する と言われるが、3 段と 4 段の振動波形には、その閉鎖時刻 (T_0) において鋭いパルスが観察できる。



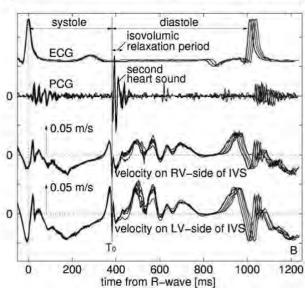


図4(上) 通常の医用超音波診断装置で得られた健常者の心臓の断層像。(下) 図(a)中の 13 番目の超音波ビームと中隔壁(IVS)と交差した領域の, 右心室(RV) 側と左心室(LV)側の 2 点における振動波形 v(t)の計測結果(3 段目と 4 段目)。6 拍重ねてあるが再現性が高い 6 。

7. 壁振動波形の空間分布

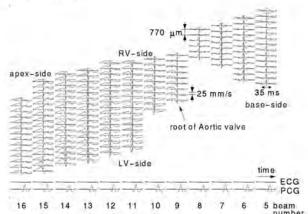
超音波ビームの送信方向を 16 方向に実時間で制御し、各々の超音波ビームに沿って中隔壁内に770 μ m 間隔で複数の点を設定し、総計約数百点における振動速度 $\nu(t)$ をほぼ同時に計測した。図 5 (上)は、こうして中隔壁内の各点で計測した振動波形 $\nu(t)$ に関して、大動脈弁閉鎖時刻 T_0 の前後±35 μ m の区間における波形の空間分布を示している。各波形の縦軸が T_0 を表す。大動脈弁根 (root) 付近の波形には、鋭いノッチパルスが、ちょうど時刻 T_0 に観察される(図 4 (下)の T_0 での成分に対応)。このノッチの生じる時刻は、大動脈弁が中隔壁と接触している弁根で最も早く、心尖部寄り(図左側)では徐々に遅れている。

この伝搬遅延は高々数 ms とごく僅かであるため、空間分解能を上げる必要がある。しかし、計測したパルス状振動の波長は30Hz 成分に関し約100mm であり、心臓全体の大きさに匹敵する。したがって、図 5 (上)で得られたパルスの振幅の空間分布を表示しても、空間分解能が悪く振動の伝搬の把握は難しい。

8. 振動の心臓壁の伝搬の可視化

一方、波形の位相は1波長の中で360度変化する。 そこで、v(I)に短区間フーリエ変換を施して得られた 複素スペクトルから、数十Hz成分の位相を求める。 この処理を、中隔壁内に設定した複数点すべてで計 測された振動波形 v(I)に適用することで、振動波形 v(I)の位相の2次元空間分布が得られる。さらに短区 間フーリエ変換を施す時刻を約2msずつ移動するこ とで、位相の2次元空間分布の時間的変化が図5(下) のように得られる⁶。位相の値(0~360°)は、図5 (下)の右上の図を用いて色に変換している。ここ で求めた位相は、周波数解析を行う35msの時間窓 の中で、窓の中心時刻からのパルスの遅延時間を表 している。

1 時刻の空間分布だけでは、パルスの生起時刻に 単なる遅延があるだけか、確かに振動が伝搬してい るか区別できないが、図 5 (下) のように 2ms 間隔 で連続的に得られた位相の 2 次元空間分布の時間的 変化 (あるいはその動画) から、大動脈弁閉鎖時に 数個のパルス状波形が、大動脈弁根で生起し、心尖 部 (図左) と心基部 (図右) へ伝搬していることが 確認できる。



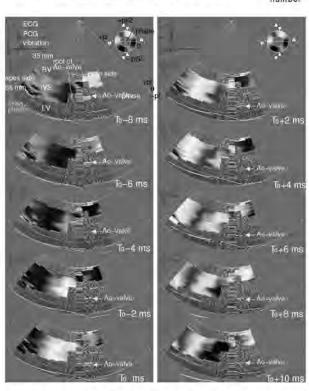


図 5 (上) 心室中隔壁(IVS)に沿って設定した約 160 点で計測した振動波形 v(t)を、心音 II 音のタイミング T_0 の周辺 70ms だけで切り出して並べたもの。 (下) 図(上)の波形の周波数解析によって得られた 60Hz 成分の位相値を色付けして空間分布を求めたもの。大動脈弁閉鎖時刻 T_0 の周囲を 2ms 間隔で表示して伝搬現象を表している 60 。

9. 伝搬速度の周波数特性

図 5 (下) に示す位相の空間分布を解析することで、大動脈弁閉鎖時刻 T_0 の前後 (-8ms から+10ms) の各時刻、10Hz から 90Hz までの各周波数成分に関して得られた位相速度を図 6 (下) に点で示す。周波数分散性があるとともに、大動脈閉鎖時刻 (T_0) 周辺の短時間に位相速度が急激に減少していることが分かる。

粘弾性板(中隔壁)に沿って伝搬する波動現象として3種類の板波がある。SH ずり弾性波、対称モードのラム(Lamb)波、非対称モードのラム波である。図 5 (上)に示すように、右心室側・左心室側の振動はほとんど同相である。また、健常者の中隔壁の厚みは約 10mm であり波長よりも十分薄い。別途計測した中隔壁に沿った振動成分が、中隔壁に沿ってほぼ同じ速度で伝搬していることを合わせると、図5 で伝搬している中隔壁の振動は、非対称モードのラム波でモデル化できる。

中隔壁の両側の右心室と左心室内腔の血液を考慮し、血液に浸けられた粘弾性板を伝搬するラム波でモデル化を行った 0 。90Hzまでの周波数帯域で1要素フォークト(Voigt)モデルを導入し、ラーメ(Lamé)の定数 (λ, μ) を複素数として扱う。生体の非圧縮性のために、体積弾性率 λ は、ずり弾性率 μ よりも 10^{3} 倍大きい。これらの条件を波動方程式に入れる 0 。こうしてモデル化されたラム波の位相速度は、心室中隔壁のずり粘弾性率 $\mu=\mu_1+i\omega\mu_2$ に依存する。

10. 心筋粘弾性の推定

上述のモデル化に基づき、位相速度の分散性の計 測値に近いラム波の位相速度の理論値を瞬時ごとに 決定することによって、心室中隔壁のずり弾性率μι とずり粘性率μ2を各時刻ごとに推定できる。得られ たモデルの位相速度を図 6 (下)に実線で表わす。 高い周波数ほど誤差は大きいが、70Hz 以下では位相 速度をほぼモデル化できることが分かる。

この結果、図 6 (下)の被験者に関するずり弾性 率 μ_1 は $24\sim30$ kPa であり、大動脈弁閉鎖時刻 T_0 周囲

での変化は小さかった。一方、ずり粘性率μ2は、この区間において 400Pa·s から 70Pa·s まで急激に減少していた。他の若い健常者 4名に関しても同様な粘性の遷移が得られている ⁶⁾。この区間において左心室内腔の血圧が 120mmHg から数 mmHg まで急激に減少しており、それが心筋を弛緩させ、粘性の変化に繋がったものと考えられる。

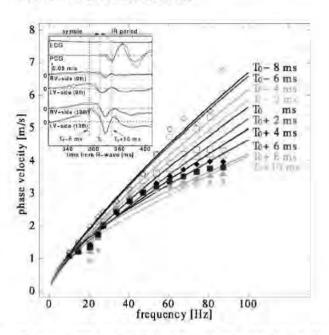


図 6 (上) 図 4(上)の振動波形と心電図(ECG)と心音 波形(PCG)とともに、大動脈弁閉鎖時刻 T_0 の周囲で 拡大表示した波形。(下) 位相速度の分散特性の計測 値(点)とそれに整合したモデルによる理論値(実 線)。⁶⁾

11. あとがき

本稿では、心音に対応する振動が心臓壁にあること、計測された振動パルスが心臓壁上を伝搬すること、その伝搬速度の周波数特性から心筋の粘弾性特性を推定できることを示した。これら振動パルスが自発的に発生し心臓壁を伝搬する現象は初めて見出された結果である。幾つかの幸運にも恵まれたが、周波数解析を適用できる十分な精度で心臓壁の振動波形の計測が可能になった点、しかも、数百点でほぼ同時に振動波形を計測できる点は、通常の超音波エコー装置、CT、MRI装置などでは得られない長所

と言える。また、この方法によって電気的興奮の伝導によって生じる心臓壁の微小振動を観察できるという結果も得られており⁷⁾、疾患による組織の電気的な傷害などを多角的に検出できる可能性がある。

さらに、同じ計測手法を動脈硬化の組織性状の診断を目指して動脈壁の弾性率に関する断層像のイメージングにも適用した³。従来の動脈病変の計測は、主として形態計測が中心で、粥腫病変に関する破裂の危険性を十分な精度で評価し得る計測法は未だに報告されていなかった。ここで紹介した計測法と組織分類法は、病変内部の物性などを非観血的に測定し、組織同定を行う方法であり、高齢者や重篤な患者に対して安全に繰り返し適用し得るものであり、今後、装置化や臨床応用が大いに期待されている。

参考文献

- (1) Y. Saijo, M. Tanaka, H. Okawai, H. Sasaki, S. Nitta, F. Dunn, "Ultrasonic Tissue Characterization of Infarcted Myocardium by Scanning Acoustic Microscopy," Ultrasound in Medicine and Biology Vol. 23, No. 1, pp. 77–85 (1997).
- (2) A. P. Sarvazyan, A. R. Skovoroda, S. Y. Emelianov, J. B. Fowlkes, J. G. Pipe, R. S. Adler, R. B. Buxton and P. L. Carson, "Biophysical Bases of Elasticity Imaging," Acoustical Imaging, Vol. 21, pp. 223–240 (1995).
- (3) H. Kanai, H. Hasegawa, M. Ichiki, F. Tezuka, Y. Koiwa, "Elasticity Imaging of Atheroma with Transcutaneous Ultrasound -Preliminary Study-," Circulation Vol. 107, No. 24, pp. 3018–3021 (2003).
- (4) H. Kanai, H. Hasegawa, N. Chubachi, Y. Koiwa, M. Tanaka: "Noninvasive Evaluation of Local Myocardial Thickening and Its Color-Coded Imaging," IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control, Vol. 44, No. 4, pp. 752–768 (1997).
- (5) H. Kanai, M. Sato, Y. Koiwa, N. Chubachi, "Transcutaneous Measurement and Spectrum Analysis of Heart Wall Vibrations," IEEE

- Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control, Vol. 43, No. 5, pp. 791-810 (1996).
- (6) H. Kanai, "Propagation of Spontaneously Actuated Pulsive Vibration in Human Heart Wall and In Vivo Viscoelasticity Estimation," IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control Vol. 51, No. 11, pp. 1931–1942 (2005).
- (7) H. Kanai, "Propagation of Vibration Caused by Electrical Excitation in the Normal Human Heart," Ultrasound in Medicine and Biology, Vol. 35, No. 6, pp. 382–394 (2009).

平成19年度(第24回) 技 術 開 発 助 成 成 果 報 告

	1.	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	
		(慶應義塾大学 岡浩太郎) ————————————————————————————————————	20
	2.	赤外分光による非侵襲的細胞解析装置の開発	
		(大阪大学 栗津邦男) ————————————————————————————————————	32
	3.	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	
		(国立循環器センター 上村和紀) ――――	39
	4.	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	
		(大阪府立大学 堀中博道) ————————————————————————————————————	51
	5.	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	
		(東京理科大学 鳥越秀峰) ————————————————————————————————————	58
	6.	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	
		(防衛医科大学校 守本祐司) ————————————————————————————————————	66
	7.	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	
	-	(独立行政法人情報通信研究機構 南哲人) ————————————————————————————————————	7 1
	8.	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	
	0.	(防衛医科大学校 大森努) ————————————————————————————————————	78
	ο	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	10
	9.		0.0
		(大阪大学 有光小百合) ————————————————————————————————————	86
1	0.	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	
		(静岡県立静岡がんセンター 永岡隆)	92
1	1.	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	
		(京都大学 小野宗範)	104

- 注1 顔写真は研究責任者です。
- 注2 本成果報告は平成19年度の助成金の贈呈に基づき、平成20年度に実施され、平成21年9月までに執筆された研究成果です。

細胞機能解析のための新規マルチカラー蛍光イメージング装置の開発



研究責任者 慶應義塾大学理工学部生命情報学科 教 授 岡 浩 太 郎 共同研究者 慶應義塾大学理工学部生命情報学科 専任講師 堀 田 耕 司

1. はじめに

細胞内で起きているイベントをリアルタイムに 計測し、複雑なシグナル伝達過程と生理機能を対 応づける研究は基礎研究として重要であるのみ ならず、創薬研究等の基礎技術として大いに注目 されてきている。

これまでに我々は神経細胞を中心に種々のイ メージングを用いた研究を行ってきた。そのよう な一例として、無脊椎動物感覚神経細胞の情報コ ーディングを細胞内カルシウムイメージングに より解析し、慣れに伴う神経活動変化、シナプス 可塑性について言及した1)、2)。最近では神経樹 状突起のシナプス前後でのカルシウム応答のま ったく新しい計測方法を提案した3)。一方培養 細胞を用いた研究も進めており、例えば神経伝達 物質として知られているセロトニンを PC12 細胞 に投与した際の細胞のカルシウム応答を調べ4)、 また細胞骨格系とその制御タンパク質の動態を 蛍光共鳴エネルギー移動法(以下 FRET)により 可視化することにも成功した。。また新規な蛍 光タンパク質の開発とそれを用いたイメージン グの可能性について論じてきた6)。

また定量計測ができなかった細胞内 Mg イオン

動態を定量計測するための新規プローブの開発も進めている^{7)、8)}。特に単一蛍光プローブにより Ca および Mg イオンの双方を定量計測可能な新規プローブの開発に成功し、実際に細胞内でこの双方のイオン動態を初めて同時可視化した⁹⁾。またミトコンドリア内部の Mg を選択的に計測するためのプローブの開発に成功した(Komat su et al. 投稿準備中)。これらの研究は生理的に重要なイオンであると認識されているものの Ca イオンと比較してその詳細な動態が明らかでなかった Mg イオンの生理作用について厳密な議論を可能にするものと期待される。

これらイメージングの研究は、近年特に注目されてきている「計算機を利用した生物学研究」にも大いに資するものである。そのような「システム生物学」研究として、細胞内のシグナル伝達のクロストークに関しては計算機を用いた研究を進めてきている。中枢神経系の記憶生成に関わるプロセスについて計算機シミュレーションによるタンパク質リン酸化の検討を行った¹⁰⁾。またイメージング技術と計算機シミュレーションの重要性について指摘し、新たな研究の方向性を提示した¹¹⁾・1²⁾。

このように細胞内のシグナル伝達過程を種々の蛍光プローブを利用して定量的に調べる研究は盛んになってきている。特に蛍光タンパク質型プローブの開発は国内外で激しい競争が行われている分野であり、細胞内カルシウムイオンの計測を皮切りに、サイクリックヌクレオチド、NOや活性酸素種、細胞膜電位等の計測用プローブの提案が行われてきている¹³⁾。

また観察方法としては共焦点レーザ顕微鏡の 利用が考えられる。市販されている共焦点レーザ 顕微鏡には多波長励起で多蛍光を取得できるも のがあるが、同時性という点では問題があり、例 えば心筋などのように単時間で大変形する細胞 にこの光学系を適用することは難しい。

そこで本提案の研究は、装置開発(ハードウェ アとソフトウェアの双方を含む) と分子生物学的 な方法を利用した蛍光タンパク質プローブの開 発の双方から新規な細胞内シグナル伝達イメー ジング技術を開発することを特徴とする。計測方 法の開発はハードウェアとソフトウェアの双方 のバランスが重要であるが、細胞での応答を可視 化する研究においてはそれ以外にセンサープロ ーブ自身の性質を計測系にあわせて最適にチュ ーニングする必要がある。本提案の研究ではこれ らを調和させて進め、複数の細胞内情報伝達を定 量的に計測する新規な方法を提供することを目 標として研究を進めた。このような研究は分子生 物学、計算機科学との境界領域に位置するもので あり、個別の研究者が単独で行うのが難しい領域 である。

なお本報告書の内容の一部はすでに学術論文 として掲載されている¹⁴⁾。

2. 本研究の背景

2.1 研究の必要性

本研究の目的は、神経科学、細胞生物学等の広 範な生命科学研究に利用可能な「細胞内情報伝達 過程を可視化するための装置の開発」である。現 在、これらの生命現象を解明するために大規模かつ網羅的な研究が広く行われてきている。また前述したように、それらの研究から得られた成果を用いて、生命現象をシステムとして理解することを目標とした「システム生物学」の重要性が指摘されている。しかしながらこれらの研究では、例えば生命現象の静的な性質(タンパク質のアミノ酸配列、遺伝子の塩基配列等)については多くの情報が得られてきているものの、生命現象のダイナミクスに迫る、大規模かつ網羅的な研究は十分行われているとは言いがたい。本提案は、生命現象のダイナミクスを定量的に調べるための新規な計測方法の開発に関わるものである。

2.2 解決しようとする課題と研究の現況

細胞内の情報伝達過程を個別に計測するための方法としては FRET を利用したものが多く提案されてきている。このようなプローブ作製のアイディアは共通であり、FRET を起こす 2 種類の蛍光タンパク質の間に、計測対象物質と結合するタンパク質部位をはさむような融合蛍光タンパク質を細胞内に遺伝子導入により誘導することが基本である。プローブ作製に関しては本研究でも同様な方法を用いるが、2 種類以上の細胞内情報伝達物質の計測のためには、少なくとも 4 種類の蛍光を細胞から直接計測する必要がある。そのような研究は従来まったく報告されていない。

本提案の研究は、特に細胞及び細胞下レベルでの生命活動についてのイメージング技術の提案であり、実時間で複数の細胞内情報伝達過程を可視化する方法に対する実験的なアプローチである。具体的には、新規な蛍光タンパク質をベースとしたプローブを開発し、細胞で起きているさまざまな生理的なイベントをその場定量観察する方法を提供することを目的とする。例えば神経様に分化することが知られている PC12 細胞や、ニワトリ後根神経節初代培養細胞、マウス中枢神経培養細胞等を試料として、複数の細胞内情報を時

間遅れなく蛍光プローブにより計測するための 方法論を、プローブ開発と機器開発の双方から進 める。これにより、従来まったく得ることができ なかった情報伝達物質間のクロストークをリア ルタイムに可視化することが可能となる。さらに 細胞周期や発癌のメカニズム解析、神経細胞にお ける記憶の素過程の追跡など広く細胞生物学に 利用可能な新規な知見を得ることができるだけ でなく、創薬研究に資するツールを研究者に提供 することが可能となる。

3. 実験方法

3.1 ハードウェア開発

時間遅れなく蛍光像を取得するためには、励起 と蛍光のフィルターを切り替えるような光学系 は適当ではない。例えば単一波長で異なる2蛍光 分子を励起し、それから得られる蛍光を分割して 同時に取得する必要がある。そのような光学系と しては例えば浜松ホトニクスより商品化されて いる double-view 光学系がよく知られている。し かしながら、この光学系では蛍光2波長しか同時 に取得することができないため、例えば FRET 計 測では一つの細胞内セカンドメッセンジャー動 態しか取得できないという問題がある。そこで少 なくとも 4 つの蛍光を同時に取得するような光 学系を開発する必要がある。具体的には高感度 CCD カメラを 4 分割するようにダイクロイックミ ラーと蛍光フィルターを配置する光学系の構成 を検討した。またこのような光学系をさらに工夫 することにより 6 色蛍光 (3 種類の FRET タイプ のプローブを利用するイメージング) への拡張も 図った。

3.2 ソフトウェア開発

細胞内に複数の蛍光プローブを導入し、個別 に定量的なデータを取得するためのソフトウェ アを開発する。本研究では単一波長で蛍光タンパ ク質型細胞内セカンドメッセンジャー計測用プ ローブを励起し、4種類の蛍光を新規な装置を利用して同時に観察する。このような計測に特化した、蛍光を分離取得し、分離した蛍光イメージから細胞内セカンドメッセンジャーの定量評価を行うためのソフトウェアを作成する。具体的には蛍光励起波長した際の4つの計測チャネルへのそれぞれの蛍光のかぶりを事前に実験的に見積り、神経細胞から得られた蛍光画像の画素ごとに、個々の色素の蛍光シグナルを逆算することを行った。

また FRET イメージを構成するためには、画像位置のずれなどを細かに修正する必要が生じる(これは市販されている double-view 光学系より困難で、アファイン変換などが必要となる)。そのため、本計測に特化した画像解析アルゴリズムを作成し、画像計算プログラムを計測系に実装させる必要があった。

3.3 多重蛍光観察用の新規タンパク質蛍光プローブの開発

上記 3.1 で述べるような光学系を利用するためには、その光学系に特化したような蛍光タンパク質を FRET ペアとして採用する必要がある。その一例は蛍光タンパク質 CFP/YFP (これはそれぞれシアン色と黄色の蛍光を発するタンパク質の略号)と、T-sapphire/RFP(これは青と赤の蛍光を発するタンパク質の略号)の FRET ペアである(この蛍光タンパク質の組み合わせは図1の光学系で理論上は計測可能である)。この2種類のFRET ペアを用いることにより、細胞内セカンドメッセンジャーのうち2つの同時計測が可能となることが期待される。これら計測系の健全性を判断するために、まず PC12 細胞にカルシウムとサイクリック AMP の計測が可能なセンサペアを遺伝子導入し、性能評価を行った。

4. 結果

4.1 ハードウェア開発

本研究では FRET 型センサーを用いることにより、細胞内から少なくとも 2 種類のセカンドメッセンジャー (cAMP, cGMP, Caイオンのうちから 2 種類)を計測することを考えた。FRET が起きる

蛍光タンパク質の組み合わせは種々考えることができるが、本研究では CFP/YFP と Sapphire/RFP の FRERTペアをハードウェア制約 (入手可能な光学フィルターとダイクロイックミラーの組み合わせによる) とこれら蛍光タンパク質の蛍光波長等を考慮して決定した(図 1)。

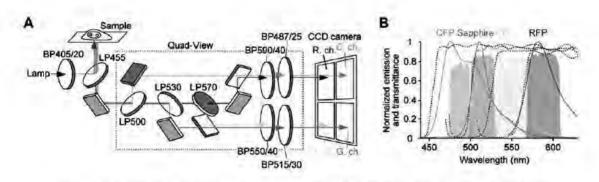


図1 蛍光観察系と蛍光タンパク質蛍光と種々の光学素子パラメータとの関係141

図1Aには光学系の構成を示している。励起光を405nmの単一波長として、これによりアクセプタ蛍光タンパク質(CFPと sapphire)の双方を同時に励起できる。また細胞からの蛍光は4枚のダイクロイックミラーと4枚の蛍光フィルターにより高感度CCDカメラ上に、R,C,Y,Gの4種類の蛍光が得られる。B図には用いた蛍光タンパク質の蛍光スペクトルとダイクロイックミラー、蛍光フィルターの特性を描いている。この図よりわかる

ように、4色の蛍光は重なりを持ってCCDカメラ 上にイメージを作っていることとなり、これを波 長ごとに分解するためのソフトウェア上の工夫 が必要となった。

4.2 ソフトウェア開発

4.1 でも述べたように、CCD カメラ上に作られた 4枚の蛍光をスペクトル分解することを試みた(図2)。

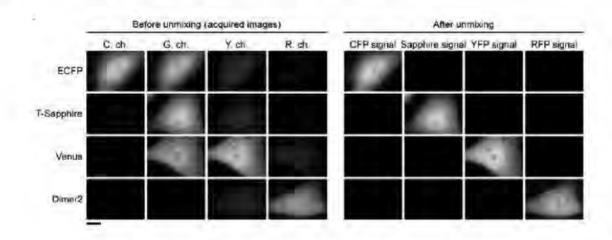
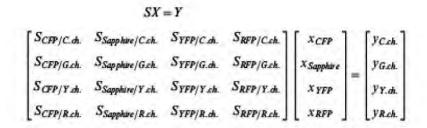


図2 ソフトウェアによる蛍光漏れこみの補正方法 14)

図2の左の図は4種類の毛稿タンパク質をそれぞれ発現させた細胞について、上述した光学系により取得される蛍光像を示している。一番上の行を例にとると、CFPの蛍光はCとGチャンネルでほぼ同じくらいの蛍光強度のイメージとして検出されており、Yチャネルにも僅かに蛍光が漏れこんでいることがわかる。このように得られた蛍光画像をシグナル分離するために、我々はlinear

unmixing という手法を用いることにした。この方法では、事前に個別の蛍光タンパク質からの蛍光が、どのチャネルにどれくらい漏れこむのかを調べておく。その漏れこみ状態を行列表現し、その漏れこみ行列の逆行列を用いることにより、蛍光シグナルを完全に分離する手法である。数式でそれを表現すると下記のようになる。



ここで行列Sの成分はどの蛍光タンパク質からの蛍光がどのチャネルに漏れこむのかを示しており、Xはそれぞれの蛍光タンパク質の蛍光強度、Yは実際に得られたそれぞれのチャネルの蛍光強度を示している。上式よりSの逆行列を求め、X行列を実際に演算すると図2右のようになる。こ

の図からわかるように、それぞれの蛍光タンパク 質からの蛍光強度が4つの蛍光チャネルそれぞれ に完全に分離されている。

またスペクトル分解以外にも、本光学系では蛍 光画像のずれと光ムラについて修正する必要が あった(図3)。

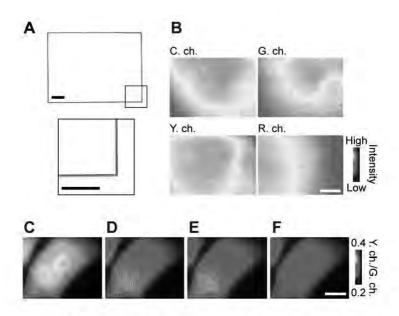


図3 蛍光画像の位置づれ補正と光ムラ補正14)

図 3A に示したように、4 つのチャネルの画像は わずかにずれていた(拡大図も参照のこと)。こ の画像のずれは、通常にイメージング観察を行う 場合には問題はないのだか、FRET による定量的イ メージングを行う場合にはピクセルごとに完全 に画像が重なることが要求される。そのためアフ ァイン変換を画像それぞれに関して行い、ピクセ ルレベルで個々の画像が完全対応するプログラ ムを作製した。また画像がずれること以外にも、 光ムラの問題があることがわかった(図3B)。蛍 光タンパク質の混合液を顕微鏡視野において蛍 光観察したところ4つのチャネルの像の蛍光強度 分布を示している。これについても補正プログラ ムを作成して対応した。これにより目視では明ら かでない (図 3C) 光ムラ(図 3D、E)を細胞画像に おいても補正することが可能となった(図3F)。

4.3 多重蛍光観察用の新規タンパク質蛍光プローブの開発

まず cGMP 計測用に構成した蛍光タンパク質センサーについて説明する(図 4)。このセンサーは phosphodiesterese の cGMP 結合ドメインの N 末側に T-sapphire を、C 末側に赤蛍光を出すdimer2 蛍光タンパク質を接続した融合タンパク質である(図 4A)。HEK293T 細胞中にこのタンパク質センサーを発現させて、回収後 200 μM の cGMP 存在下で蛍光波長を計測したところ、500 nm 近傍で蛍光変化することが明らかとなった(図 4B)。そこで cGMP 濃度に対する FRET ペアの蛍光強度比をグラフに描いてみたところ 40 nM を中心に、蛍光強度比から cGMP 濃度を見積もることが可能であることがわかった(図 4C)。またこのセンサーは同じ濃度範囲において cAMP に関してはほとんど応答しないことも確認できた。実際に

HEK293T 細胞にこのセンサーを発現させ、cAMP 濃度を増大させることが知られている Adenosine/IBMX 刺激(この刺激は細胞内の cAMP 濃度上昇を亢進させるとともに、分解を抑制するため、細胞内 cAMP 濃度を急上昇させることが知られている)を行ったところ、全く応答しなかったが、一方で細胞内 cGMP 濃度上昇を誘導する SNAP (この薬物は一酸化窒素を遊離し、その一酸化窒素が細胞内での cGMP 濃度上昇を誘引する) では一過的な濃度上昇を検出することができた(図 4D,E)。また結果として、この cGMP センサーは既存のセンサーより 10 倍程度感度が高いことが明らかとなった。

次に我々は既存の cAMP センサーとこの新規 cGMP センサーを併用し、細胞内サイクリックヌク レオチド濃度を個別計測可能であるかを、PC12 細 胞を用いて検討することにした(図5)。図5Aに はこの 2 種類のセンサーを PC12 細胞に導入し、 種々の薬物で刺激した際の細胞応答を示してい る。Adenosine/IBMX による刺激により細胞内 cAMP 濃度は上昇し、また SNAP 刺激により cGMP 濃度の 顕著な増加を細胞イメージとしてとらえること に成功した。このような同時イメージングの試み は従来行われていない。また図 5B には Dual-FRET 時と single FRET 時における蛍光変化を、蛍光ス ペクトル画像を linear unmixing した結果を比較 して示している。この結果は、本スペクトル分離 方法が Dual-FRET 計測系でも有効に働いているこ とを示している。

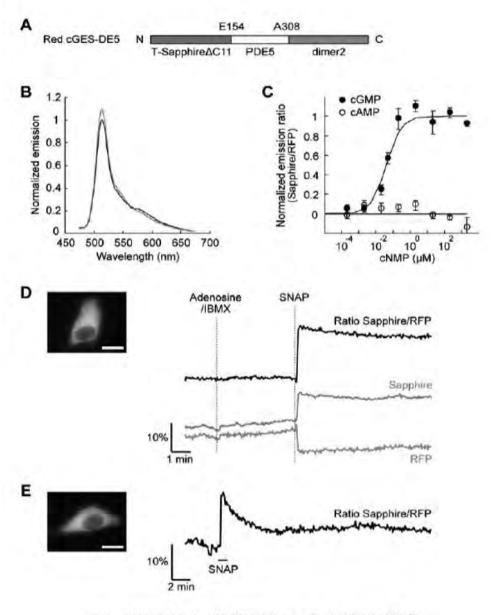


図 4 新規開発した cGMP 計測用センサーとその特性 14)

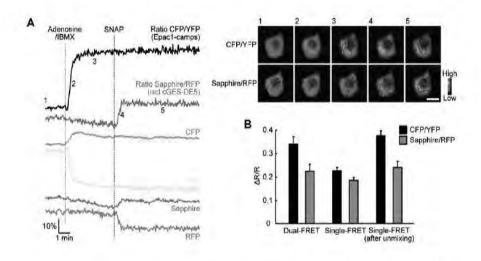


図 5 cAMP および cGMP センサ—による PC12 細胞内同時計測の例 14)

次に新規なCaセンサーの開発を行った(図6)。 このセンサーは先に述べた cGMP センサーと同 じ蛍光タンパク質の FRET ペアを用いており、この 2 つの蛍光タンパク質に挟まれるように Calmodulin のCaイオン結合部位が挿入されている(図6A)。 このセンサーも 500 nm 付近の蛍光が Caイオン濃 度 (10-8M - 10-3M) に応答することが、 *in vitro* のセンサー評価から明らかとなった(図 6B,C)。 また同様な Ca センサーを Sapphire と DSRed の蛍 光タンパク質の組み合わせでセンサーとして細

胞内に発現させてみたところ、我々が今回開発し

た T-Sapphire/dimer2 との組み合わせの方が有意に明るいことが判明した(図 6D)。さらにこの両者の Ca イオンセンサーをそれぞれ HeLa 細胞に発現させ、ATP 刺激(今回用いた細胞の細胞膜にはATP を受容するレセプターが存在することが知られており、この受容体が刺激されると、細胞外および細胞内小器官からの Ca イオンの細胞質への導入が引き起こされる)に対する Ca イオン応答を比較してみたところ、T-Sapphire/dimer2 のセンサーの方が大きな蛍光変化を示すことが明らかとなった。

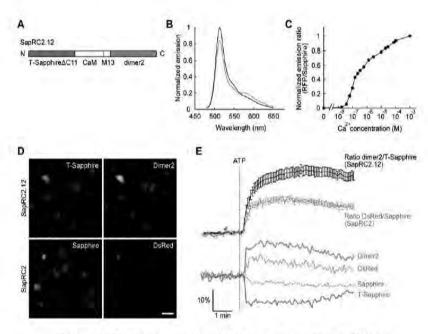


図 6 新規細胞内 Ca イオン計測用センサーとその特性 14)

これらセンサーのセンサーにより、薬物刺激と は異なる生理的な応答が検出できるかを心筋細 胞で調べた(図 7)。

その結果、高速に伸縮をくりかえすラットの心筋細胞内で起きている、Ca濃度の激しい変化と、cAMPの濃度上昇を、世界で初めて同時計測することに成功した。Dual-FRET イメージングにより、心臓の収縮力を高める薬(isoproterenol)の刺激により細胞内 cAMP 濃度は急激に上昇し(一番上のグラフ)、それに応じて心拍上昇に伴う Caイオン濃度変化(上から2番目のグラフ)が計測

されている。また下図では単一細胞で cAMP 濃度変化と Ca イオン濃度変化がイメージとして得られていることが示されている。心筋細胞ではカルシウム濃度は収縮に伴って振動しているのに対し、cAMP 濃度は振動せず、刺激により徐々に上昇している。また Ca イオン濃度の振動周波数は刺激直後に上昇していることがわかった。図7では心筋刺激作用により心臓の収縮力を高める薬(イソプロテレノール)が、どのようにして心拍数を上げるのか、実際に細胞内で起こっている現象を明らかにすることができた。

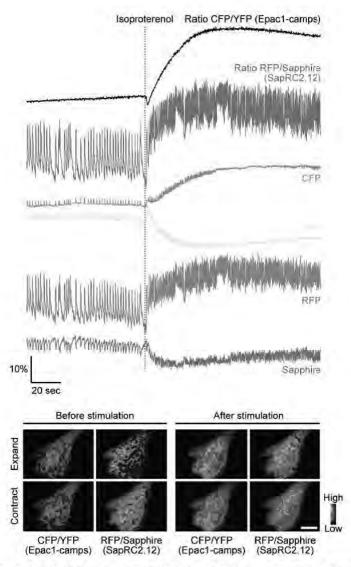


図 7 拍動する心筋細胞における細胞内 Ca イオンと cAMP 濃度の同時計測例 14)

4.4 培養神経細胞成長円錐内でのセカンドメッセンジャー応答の解析例

最後にこれらセンサーを利用して、神経細胞成長円錐について最近行っている研究について紹介する。培養神経細胞について、本観察系を適用し、複数の細胞内セカンドメッセンジャシグナルの計測を行った。Dual-FRET 法は細胞形態が大変形しても、蛍光比のイメージングを行うために、正確なシグナル検出が可能であると考えられる。そこで本研究には形態が大きく変形することが知られている神経線維先端の成長円錐をターゲットとした。

神経細胞の突起先端に位置する成長円錐は糸

状仮足 (Filopodium)、葉状仮足 (Lamellipodium) よりなる運動性の高い部位である。この先端部分はアクチンが、また基部には微小管が主要な細胞 骨格となっており、神経発生の初期過程に神経を特定なターゲットに誘導する役割を果たすだけでなく、障害を受けた神経においての神経再生などに重要な働きを担っており、その機能を理解することは重要である。成長円錐は細胞外マトリックスや神経成長・誘導因子の濃度勾配を検出する高度なセンサー機能としての役割の他に、極めて運動性の高い細胞部位として、神経線維を特定の方向に誘導する重要な機能を有している。成長円錐の誘導を考える際に、成長円錐はどのように外

界を認識するのかという問題に関心が集まっている。

このような研究には、古くは神経成長因子 NGF の濃度勾配に成長円錐が応答し、濃度勾配を上る 方向を検出していることが知られている。その後 この神経成長因子には種々のものが知られるよ うになり、その濃度勾配検出については1分子イ メージングの手法を利用して成長円錐表面に露 出している NGF レセプターに NGF が結合し、細胞 内に取り込まれ、さらに核まで輸送されるメカニ ズムの実験的な研究が行われている¹⁵⁾。また一 方で濃度勾配を検出するための物理化学的な理 論解析も行われてきている。また細胞外の成長因 子の濃度勾配が成長円錐内のセカンドメッセン ジャー濃度変化に変換されることも明らかにな ってきているものの、その制御機構は複雑である。 例えば細胞内のサイクリックヌクレオチド (cGMP と cAMP) の濃度比が成長円錐先端の伸長と退縮を 決めているという主張がある¹⁶⁾。この研究では 神経誘引物質である Netrin-1 の成長円錐ガイダ ンス機能が、細胞内のサイクリックヌクレオチド

比によって制御されているという結果が示され ている。この結果は細胞内の状態(この場合は cAMP と cGMP の濃度比) が誘引と忌避を制御して いるということを示しており、一概に特定の化学 物質を「誘引性」、「忌避性」と区別できないと いう点が興味深い。しかしながらこの研究では細 胞内のサイクリックヌクレオチド比を制御する ために、細胞膜透過型のサイクリックヌクレオチ ド類似物質が用いられている点で生理的とは言 えず、また誘引と忌避を決める濃度比がおおよそ 10:1であるという結論も、果たして生理的環境下 でそのようになっているのかについては疑問が ある。そのため、生理的環境下で成長円錐内のサ イクリックヌクレオチド濃度変化を連続的に計 測する方法論の確立が当該研究の展開には必須 である。

そこで我々は成長円錐のイメージングによく 用いられてきたニワトリ後根神経節細胞に本研 究で開発した Ca イオンと cGMP 計測用の FRET セ ンサーを同時に導入し、Dual-FRET イメージング を行った(図 8)。

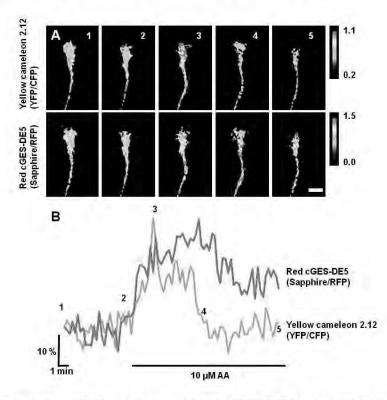


図8 ニワトリ後根神経節細胞に Ca イオンと cGMP 計測用センサーを導入した例14)

成長円錐先端部は厚みが薄く、イメージングが難しい部位であるが、ウィルスベクターを利用することによりセンサー導入に成功した(図 8A)。成長円錐を刺激するために arachidonic acidにより刺激したところ、急速な細胞内 Ca イオンおよび cGMP 濃度上昇を同時計測することに初めて成功した。この応答は僅かに cGMP 濃度上昇が先行しているように観察されている(図 8B)。このことから、本手法によりシグナル伝達の順番について議論することも可能になるものと期待される。

5. まとめ

本提案のDual-FRET 法は、従来調べることができなかった細胞内での情報伝達物質のクロストークを解析することができる画期的なバイオイメージング技術である。分子レベルの細胞生物学研究は多数の細胞の平均的な値として、細胞内タンパク質のリン酸化などのシグナル伝達を調べてきた。こられの研究では時間、空間の双方において十分な研究が展開できているとは言いがたい。最近になって蛍光顕微鏡と高感度カメラ、共焦点レーザ顕微鏡の普及により細胞内で「いつ、どこで、何が」を調べる手立てができてきた。次のステップとして期待されるのが、細胞内で起きているイベントの相互作用をその場でリアルタイムに調べる方法論の確立であり、本提案はそれを可能とするものである。

本提案手法により複数種類の細胞内セカンドメッセンジャー動態をリアルタイム計測することが可能となる。例えば cAMP と Ca イオン、cGMPと cAMP 等種々の組み合わせでのリアルタイムイメージングを実行できるため、シナプス可塑性、神経成長円錐での軸索ガイダンス等のセカンドメッセンジャークロストークが想定される生理現象の解明に用いることができる。さらにこの技術を、例えばメタボローム解析と併用することにより、基礎生物学、医学における一般的なパスウ

エイ解析に適用できる。また創薬研究のための候補薬物スクリーニングにも活用でき、従来知られていない新しい細胞内シグナル伝達過程を発見することも可能と考えられる。

謝辞

本研究は財団法人中谷電子計測技術振興財団からの援助により行われた。ご援助いただいたことに感謝いたします。

参考文献

- Ogawa H, Baba Y, Oka K. Direction of action potential propagation influences calcium increases in distal dendrites of the cricket giant interneurons. J Neurobiol. 2002 Oct;53(1):44-56.
- 2) Ogawa H, Baba Y, Oka K. Directional sensitivity of dendritic calcium responses to wind stimuli in the cricket giant interneuron. Neurosci Lett. 2004 Apr 1;358(3):185-8.
- 3) Ogawa H, Cummins GI, Jacobs GA, Oka K. Dendritic design implements algorithm for synaptic extraction of sensory information. J Neurosci. 2008 Apr 30;28(18):4592-603.
- 4) Homma K, Kitamura Y, Ogawa H, Oka K. Serotonin induces the increase in intracellular Ca²⁺ that enhances neurite outgrowth in PC12 cells via activation of 5-HT3 receptors and voltage-gated calcium channels. J Neurosci Res. 2006 Aug 1;84(2):316-25.
- 5) Homma K, Niino Y, Hotta K, Oka K. Ca²⁺ influx through P2X receptors induces actin cytoskeleton reorganization by the formation of cofilin rods in neurites. Mol Cell Neurosci. 2008 Feb;37(2):261-70. Epub 2007 Oct 10.
- 6)新野祐介、岡浩太郎、マルチカラーイメージング法による細胞機能の可視化、日本レーザ医学会会誌、V.26/P.338-345、2005.
- 7) Suzuki Y, Komatsu H, Ikeda T, Saito N, Araki S,

- Citterio D, Hisamoto D, Kitamura Y, Kubota T, Nakagawa J, Oka K, Suzuki K. Design and synthesis of Mg²⁺-selective fluoroionophores based on a coumarin derivative and application for Mg²⁺ measurement in a living cell. Anal Chem. 2002 Mar 15;74(6):1423-8.
- 8) Komatsu H, Iwasawa N, Citterio D, Suzuki Y, Kubota T, Tokuno K, Kitamura Y, Oka K, Suzuki K. Design and synthesis of highly sensitive and selective fluorescein-derived magnesium fluorescent probes and application to intracellular 3D Mg²⁺ imaging. J Am Chem Soc. 2004 Dec 22;126(50):16353-60.
 - 9) Komatsu H, Miki T, Citterio D, Kubota T, Shindo Y, Kitamura Y, Oka K, Suzuki K. Single molecular multianalyte (Ca²⁺, Mg²⁺) fluorescent probe and applications to bioimaging. J Am Chem Soc. 2005 Aug 10;127(31):10798-9.
- 10) Kikuchi S, Fujimoto K, Kitagawa N, Fuchikawa T, Abe M, Oka K, Takei K, Tomita M. Kinetic simulation of signal transduction system in hippocampal long-term potentiation with dynamic modeling of protein phosphatase 2A. Neural Netw. 2003 Nov;16(9):1389-98.
- 11) 岡浩太郎、機能応答性蛍光プローブの開発と バイオイメージングへの応用 -システム生 物学のためのバイオイメージング技術-、慶應 医学、V.81/No.2/P.79-84; 2004
- 12) 岡浩太郎 システム生物学-ウェットバイ オロジーと計算機科学の接点、情報処理学会 雑誌 、V.46/No.3/P.246-253; 2005
- Miyawaki A. Visualization of the spatial and temporal dynamics of intracellular signaling. Dev Cell. 2003 Mar;4(3):295-305.
- 14) Niino Y, Hotta K, Oka K. Simultaneous live cell imaging using dual FRET sensors with a single excitation light. PLoS One. 2009 Jun 24;4(6):e6036.

- 15) Tani T, Miyamoto Y, Fujimori KE, Taguchi T, Yanagida T, Sako Y, Harada Y. Trafficking of a ligand-receptor complex on the growth cones as an essential step for the uptake of nerve growth factor at the distal end of the axon: a single-molecule analysis. J Neurosci. 2005 Mar 2;25(9):2181-91.
- 16) Nishiyama M, Hoshino A, Tsai L, Henley JR, Goshima Y, Tessier-Lavigne M, Poo MM, Hong K. Cyclic AMP/GMP-dependent modulation of Ca²⁺ channels sets the polarity of nerve growth-cone turning. Nature. 2003 Jun 26;423(6943):990-5.

赤外分光による非侵襲的細胞解析装置の開発



研究責任者 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 粟 津 邦 男 共同研究者 大阪大学大学院工学研究科環境・ エネルギー工学専攻 助 教 石 井 克 典

1. はじめに

1.1 赤外分光分析の再生医療への応用

再生医療が次世代の有望な治療法として注目を集めており、日本の国家戦略として重点的に研究開発を行うターゲットの1つにもなっている。再生医療の実用化においては、細胞・スキャホールド・これらの複合材料などの安全性を保証することが重要視されており、これらの有効性、妥当性、安全性の確認や評価方法の確立が、早期の実用化を図る上で極めて重要である。光分析の非侵襲性は、抗体標識を利用しない評価手法としての特性を併せ持ち、移植前の細胞および細胞材料の品質分析技術及び再生治療による組織再生過程の術後診断技術において、その力を発揮できる可能性がある。

赤外分光分析は、分子振動由来の情報から生体分子を同定することができることから、細胞や組織の特徴的な分子に関する振動や発色団に関する波長の情報を得ることで、抗体標識を利用しない非侵襲的な分析手法として有用である。

我々は、赤外分光分析を再生医療に利用される 細胞、スキャホールドなどの生体材料の評価手 法に適応するため、生体材料に化学修飾した官 能基 (リン酸基等)、組織前駆細胞の分化 (脂肪 分化等)、間葉系幹細胞の分化(骨芽細胞分化等) など、赤外分光を用いて低侵襲に、かつ従来法 との相関を利用して定量的に解析する手法につ いて研究を進めてきた。図1に間葉系幹細胞の 骨芽細胞分化における赤外吸収スペクトル変化、 図 2 に骨芽細胞分化に特徴的な波数 1032 cm⁻¹ (リン酸カルシウムのリン酸基 P·O 結合由来) の赤外吸収ピーク変化及び従来法との相関を示 す。これらの研究より、分化により変化する幹 細胞を赤外吸収スペクトル解析することにより、 細胞の分化の程度(細胞の移植時期)を評価・ 最適化できることを確認した。

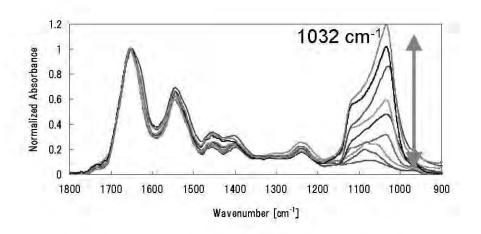


図 1 間葉系幹細胞の骨芽細胞分化における赤外吸収スペクトル変化

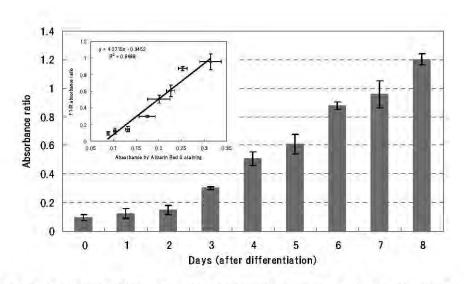


図 2 骨芽細胞分化に特徴的な波数 1032 cm⁻¹ の赤外吸収ピーク変化及び従来法との相関

1.2 光学特性算出の現状と課題

市販の分光分析装置で計測される透過率(吸光度)・反射率などの数値は、試料の厚みに依存するため定数ではない。生体組織の光学特性(光学定数)とは、吸収係数 μ a、散乱係数 μ s、非等方性散乱パラメータ g(g パラメータ)などで表わされる。一般にマクロな散乱現象はその強度を表わす μ s と散乱された光の方向に関する強度分布を表わす散乱の位相(角度 θ)の関数 $p(\theta)$ によって表わされる。ここで μ s は、散乱によって光の強度が 1e となるまでに進む距離の逆数で定義される。生体組織によるマクロな光

の散乱の位相関数 $p(\theta)$ は強い前方散乱を示す。 散乱の方向性を表わすパラメータとして $p(\theta)$ の 平均余弦を取った非等方性散乱パラメータ g が よく用いられる。g は-1~1 までの値を取り、-1 で純粋な後方散乱を、0 で等方散乱を、1 で純 粋な前方散乱を表わす。生体組織は強い前方散 乱特性を持つことから、g は 0.9 程度の値を取 ると理解されている。非等方性が強い散乱であ っても、散乱を多数回繰り返すことでマクロに は等方散乱で近似することが可能である。この ときの等価的な μ s は換算散乱係数 μ $s'=\mu$ s(1-g)で表わす。一方、吸収現象はその強度を表 わす μ aで表わすことができる。 μ aは吸収によって光の強度が 1le になるまでに進む距離の逆数で定義される。細胞・組織の場合、近赤外域より短い波長域は、一般的に μ aよりも μ sの方が大きい。一方、近赤外域より長い波長、中赤外域では散乱が無視できるほど μ aが大きい。すなわち、細胞・組織の中赤外域の μ sに関しては研究報告がほとんどないのが現状である。生体組織の光学特性を定量的に把握すること(光学定数を決定すること)は容易ではない。しかしながら、生体組織中の光の吸収・散乱は、光医療において非常に重要な要素である。光学技術や計算技術の進歩により、1990年代から生体組織の光学特性に関する研究が行われているが、未だ発展途上の段階である。

光学特性値算出の研究において、積分球という光学機器を用いる場合が多い。積分球とは球の内部表面を光があらゆる方向に散乱するように加工した装置であるり。通常いくつかの窓が設けられており、この窓に試料を設置して測定を行う。試料に入射した光は試料内部で散乱された後に入射面から(=反射)あるいは反対側の面から(=透過)出て行くことになる。反射光および透過光はあらゆる方向に向いており、積分球はそれらを全て集めて反射率Rと透過率Tを測定することができる。

RとTの測定結果から得られる物理量は、試料内部を均質としたときの試料の μ_s と μ_a である。 μ_s と μ_a は次のような手順で繰り返し計算によって求めることができる。まず μ_s と μ_a を推定し、その推定値を用いて吸収を含む散乱の計算を行い、RとTを求める。次に、「計算によって得られたRとTの値」が「測定したRとTの値」と一致しなければ μ_s と μ_a を推定しなおし、再び計算を行って新たなRとTの組を求めることを繰り返す。最終的に、「計算によって得られたRとTの値」が「測定したRとTの値」と一致したときに推定した μ_s と μ_a を解とする。これらの計算の数学モデルとしてはい

くつかの手法が確立されているが、統計的手法 である Monte Carlo 法 2)や、数値的解法である Adding Doubling 法3)などが現在の主流である。 これまで各種の分光測定法と物理計算 (Inverse Monte Carlo (IMC)法 4)、Inverse Adding Doubling (IAD)法 5), 6)、空間分解法 7)、 時間分解法 8など) とを組み合わせた様々な手 法によりその光学特性値を決定する試みがなさ れてきた。従来の研究では、可視・近赤外域の 離散的な波長における報告が多く 9 10 その対 象は特定の組織 (血液 11)・12)、皮膚 13)・14)、脳 15)、16)、肝臓 17)、18)など) である。すなわち、生 体組織の中赤外域の光学特性値算出は未踏の領 域である。実際、対象が生体組織以外であって も、中赤外域の光学特性値算出に関する研究は 非常に少ない 19、20。つまり、中赤外域の正確 なTとRの測定システムの確立から、TとR を用いて中赤外域のμαとμs が算出できるか、 その物理計算手法まで研究の余地がある。さら に、対象が再生医療に用いる細胞の場合は、細 胞試料を低侵襲に分析可能なサンプルホルダー の開発も求められる。

2. 研究内容・目的

そこで研究では、中赤外域の正確な光学特性値を算出するための要素技術として、T および R が測定可能な積分球光学系を開発することを目的とし、積分球光学系の開発および細胞試料の測定を行った。本研究により試作される積分球光学系を用いた分析により、細胞・組織の μ a を (将来的には μ s も) 決定することができると期待される。細胞の移植最適時期などを非侵襲かつ定量的に評価可能な新たな知見を得ることができる。

3. 積分球光学系を用いた赤外分光分析装置の 開発

まず、積分球光学系の開発を行った。中赤外 波長域を拡散反射可能な反射面を持つ金コート の積分球(カスタムメイド 3 インチインフラゴールド積分球、Labsphere Inc., USA)を 2 つ使用した。反射球の入射側および出射側のポート直径はそれぞれ 5 mm および 10 mm、透過球の入射側のポート直径は 10 mm とした。フーリエ変換型赤外分光光度計(Magna 550, Thermo Fisher Scientific Inc., USA)の光源、光学系、マイケルソン干渉計を利用し、双積分球光学系を備えた赤外分光システムを構築した。検出器には液体窒素冷却型 MCT 検出器 (MCT-13-4.0, InfraRed Associates Inc., USA)を使用した。

生体試料の赤外分光分析では試料の厚みを非常に薄く (μ m オーダー) しなければならない。また、正確な μ a の算出には正確な厚み(光の通過する距離)が必要である。そこで我々は、試料厚みを正確に設定可能なサンプルホルダーの開発を独自で行った。窓材に厚さ 1 mm の BaF2を用い、厚み調整幅が~13 mm で $0.5\,\mu$ m 単位で可変制御可能なサンプルホルダーの開発に成功した。開発した積分球赤外分光システムの積分球光学系(図 3)およびサンプルホルダー(図 4)を示す。



図3 開発した積分球赤外分光システムの 積分球光学系



図 4 開発した積分球赤外分光システムで 細胞・組織試料を分析するためのサンプル ホルダー

4. 間葉系幹細胞を用いた実験

開発した積分球赤外分光システムおよびサンプルホルダーを使用し細胞試料の総透過率の測定を行った。細胞にはマウス骨髄由来間葉系幹細胞株 Kusa-A1 (Cell Bank、RIKEN BioResource Center)を用いた。FBSを10%含む DMEM 培地でコンフルエントまで培養した未分化の Kusa-A1 細胞をセルスクレーパー

で回収し、赤外透過性結晶 BaF₂ 基板上に滴下 し薄膜状の試料とした。波長域 2.5~12.5 μ m (波数域 4000~800 cm⁻¹)、分解能 4 cm⁻¹、積 算回数 1024 回で測定を行い、S/N 比の良い拡 散透過率スペクトルを得ることに成功した。間 葉系幹細胞の総透過率スペクトル(図 5)を示 す。

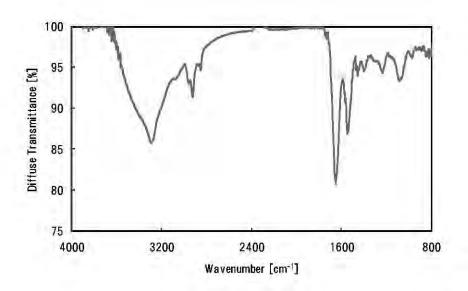


図 5 開発した積分球赤外分光システムで得られた間葉系幹細胞株 Kusa-A1 の 総透過率スペクトル

5. おわりに

本研究では、正確な試料厚みを設定可能な積分 球赤外分光システムの開発を行い、間葉系幹細 胞試料の総透過率スペクトル測定を達成した。 中赤外域の正確な光学定数に関する知見は非常 に少ないため、細胞・組織の光学定数算出に向 けてシステムを改良し、様々な細胞・組織の中 赤外域の正確な光学特性値広帯域スペクトルを 決定し、細胞・組織別で網羅的なデータベース 化を目指す。本研究の最終目的は、赤外分光分 析技術を利用し、細胞を生細胞(溶液状態)の まま、抗体標識を利用せずに低侵襲的に計測可 能な非侵襲的細胞解析装置を開発することであ る。本研究により、移植細胞の信頼性・安全性 の確保が可能となり、細胞移植治療の実用化加 速に貢献できると考えている。

本アイデアにおいて、評価のパラメータは T や R ではなく物理定数である光学特性値(μ a や μ s)の適応を検討している。しかしながら、現状いくつかの課題を抱えている。具体的には、①赤外白色光源を利用する場合、正確な拡散反

射率測定のために光源の高出力化が必須、②細胞試料の分析形態(サンプルホルダーの改良)、③散乱の小さい中赤外域で従来の物理計算プログラムが適応できるかどうかである。今後は赤外波長可変レーザーの導入(広帯域を高安定度で発振可能なレーザーの開発)を含めて光源強度を上げることに取り組むほか、中赤外域における μ aおよび μ s算出のための理論および計算プログラムについて検討を行っていく予定である。

謝辞

本研究は、財団法人中谷電子計測技術振興財団平成 19 年度研究助成の支援のもとに行われた。ここに深く感謝申し上げる。本助成研究の内容を含む研究テーマは、平成 20 年 10 月より科学技術振興機構の先端計測分析技術・機器開発事業要素技術プログラム「高度光診断治療に向けた生体組織の光学定数計測技術開発」の採択を受け、現在も進行中である。

参考文献

- D. G. Goebel, "Generalized Integrating-Sphere Theory," Applied Optics 6(1), 125-128 (1967).
- L. Wang, S. L. Jacques, L. Zheng, "MCML – Monte Carlo modeling of light transport in multi-layered tissues," Computer Methods and Programs in Biomedicine 47, 131-146 (1995).
- S. A. Prahl, A. J. Welch, M. J. C. van Gemert, "The adding-doubling method," Optical Thermal Response of Laser Irradiated Tissue 101-129 (1995).
- 4) I. V. Yaroslavsky, A. N. Yaroslavsky, T. Goldbach, H. J. Schwarzmaier, "Inverse hybrid technique for the determination of the optical properties of turbid media," Applied Optics 35, 6797-6809 (1996).
- 5) S. A. Prahl, M. J. C. van Gemert, A. J. Welch, "Determining the optical properties of turbid media by using the adding-doubling method," Applied Optics 32(4), 559-568 (1993).
- J. W. Pickering, S. A. Prahl, N. van Wieringen, J. F. Beek, et al., "Doubleintegrating-sphere system for measuring the optical properties of tissue," Applied Optics 32(4), 399-410 (1993).
- R. M. P. Doornbos, R. Lang, M. C. Aalders, F. W. Cross, et al., "The determination of in vivo human tissue optical properties and absolute chromophore concentrations using spatially resolved steady-state diffuse reflectance spectroscopy," Physics in medicine and biology 44, 967–981 (1999).
- A. A. Oraevsky, S. L. Jacques, F. K. Tittel, "Measurement of tissue optical properties by time-resolved detection of laser-induced transient stress," Applied Optics 36 402-415 (1997)
- 9) R. Marchesini, A. Bertoni, S. Andreola, E.

- Melloni, A. E. Sichirollo, "Extinction and absorption coefficients and scattering phase functions of human tissues in vitro," Applied Optics 28(12), 2318-2324 (1989).
- 10) J. F. Beek, P. Blokland, P. Posthumus, M. Aalders, J. W. Pickering, et al., "In vitro double-integrating-sphere optical properties of tissues between 630 and 1064 nm," Physics in medicine and biology 42, 2255–2261 (1997).
- 11) M. Friebel, A. Roggan, G. Müller, M. Meinke "Determination of optical properties of human blood in the spectral range 250 to 1100 nm using Monte Carlo simulations with hematocrit-dependent effective scattering phase functions," Journal of Biomedical Optics 11, 034021 (2006).
- 12) M. Meinke, G. Müller, "Optical properties of platelets and blood plasma and their influence on the optical behavior of whole blood in the visible to near infrared wavelength range," Journal of Biomedical Optics 12(1), 014024 (2007).
- 13) A. N. Bashkatov, E. A. Genina, V. I. Kochubey, V. V. Tuchin, "Optical properties of human skin, subcutaneous and mucos tissue in the wavelength range from 400 to 2000 nm," Journal of physics D: Applied Physics 38, 2543-2555 (2005).
- 14) C. R. Simpson, M. Koh, M. Essenpreisk, M. Cope, "Near-infrared optical properties of exvivo human skin and subcutaneous tissues measured using the Monte Carlo inversion technique," Physics in medicine and biology 43, 2465–2478 (1998).
- 15) H. J. C. M. Sterenborg, M. J. C. Van Gemert, W. Kamphorst, J. G. Wolbers, et al., "The spectral dependence of the optical properties of human brain," Lasers in Medical Science

- 4(4), 221-227 (1989).
- 16) S.C. Gebhart, W.C. Lin, A. Mahadevan-Jansen, "In vitro determination of normal and neoplastic human brain tissue optical properties using inverse adding-doubling," Physics in medicine and biology 51, 2011-2027 (2006).
- 17) P. Parsa, S. L. Jacques, N. S. Nishioka, "Optical properties of rat liver between 350 and 2200 nm," Applied Optics 28(12), 4939-4950 (1989).
- 18) A. M. K. Nilsson, C. Sturesson, D. L. Liu, S. Andersson-Engels, "Changes in spectral shape of tissue optical properties in conjunction with laser-induced thermotherapy," Applied Optics 37(7), 1256-1267 (1998).
- D. J. J. Fraster, P. R. Griffiths, "Effect of Scattering Coefficient on Diffuse Reflectance Infrared Spectra," Applied Spectroscopy 44(2), 193-199 (1990).
- 20) W-D. Ho, C-C. M. Ma, "Mid-infrared reflectance of silicone resin coating on metal substrates: Effect of polymeric binders' absorption," Infrared Physics & Technology 38, 123-131 (1997).

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



研究責任者 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 血行動態研究室員 上 村 和 紀 研究責任者 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 部 長 杉 町 勝

1. はじめに

心筋梗塞後や心臓外科手術後に、動脈圧低下・ 心拍出量低下・左心房圧上昇などの急性心不全を 呈する症例の循環管理において、これらの指標を 好適な範囲に正常化することが患者救命に必要 不可欠である10。動脈圧は動脈カテーテルにより 連続的に計測できるが、心拍出量と左心房圧は、 現状では肺動脈カテーテルにより間歇的かつ侵 襲的にしか計測できない。循環器医療において、 心拍出量・左心房圧を連続的かつ低侵襲に計測で きる方法が求められていた。また研究責任者(上 村) らはこれまで、このような急性心不全患者に おいて、複数の心臓血管作動薬投与を、コンピュ ータ制御により完全に自動化し、異常な動脈圧・ 心拍出量・左心房圧を目標とする正常値へ自動的 に回復する血行動態自動制御システム 1)を開発し てきた。基盤開発では、実験動物を開胸し心拍出 量・左心房圧を直接計測していた。しかしこれで は臨床適用できない。このシステムを臨床応用す るためには、心拍出量・左心房圧を連続的・低侵 襲に計測できることが求められていた。

2. 過去の連続測定システムの問題点

過去に開発された心拍出量連続測定法として、 肺動脈カテーテルによる心拍出量測定を単に連 続化した方法があるが、実際の心拍出量変化に迅 速に追随できず、カテーテル留置に伴う合併症も ある²⁾。動脈圧波形を用いる方法も報告されてい るが、圧波形信号のみに基づいており対象動脈の 機械的特性について多くの仮定を必要とした。こ のため動脈硬化・大動脈瘤や重度心不全症例など の、動脈機械特性が大きく変化する症例には仮定 が成り立たず、心拍出量推定精度は低下する^{3,4)}。 左心房圧の連続測定もこれまで試みられている。 肺動脈カテーテルを留置し、肺動脈圧波形から推 定する方法は、肺動脈自体の機械的特性の非線形、 また呼吸による胸腔内圧変動の影響を強く受け るため推定精度は低い。

このように、臨床使用に耐えうる心拍出量と左 心房圧の連続的かつ低侵襲な測定法はいまだ存 在しなかった。

3. 一回拍出量、心拍出量の推定

大動脈の入口部(左心室と大動脈の接合部)に おける動脈圧と血流の関係を再現する数学的モ デルとして、図1に示されるウインドケッセルモ デルが確立されている 50。最も基本的なタイプが 図に示す特性インピーダンス、末梢動脈抵抗と動 脈コンプライアンスからなる3要素モデルである。 このモデルでは、動脈圧(P)と血流(Q;すなわち

このモデルでは、動脈圧(P)と血流(Q:すなわち 心拍出量)の関係は微分方程式により次式で表さ れる。

$$\frac{dP}{dt} = \frac{R_p + R_c}{R_p C} Q + R_c \frac{dQ}{dt} - \frac{P}{R_p C} \qquad \text{et 1}$$

動脈血圧波形は一般的に図 2 のような形をとる。 ここで A_s と A_d はそれぞれ収縮期(駆出期)および 拡張期における動脈圧の積分である。拡張期には 流入する血流 Q=0 であるので、式1 の両辺を拡張 期積分することにより $R_p C$ は以下のように表され る。

$$R_pC = \frac{A_d}{P_{es} - P_{ed}} \qquad \text{ at } 2$$

式1を収縮期積分すると、Qを収縮期積分した値は一回拍出量(SV)に等しいので、

$$P_{es} - P_{ed} = \frac{R_p + R_c}{R_p} \frac{SV}{C} - \frac{A_s}{R_pC}$$
 #3

式2のRpCを式3へ代入すると、

$$(P_{es} - P_{ed}) \times (1 + \frac{A_s}{A_d}) = (\frac{R_p + R_c}{R_p}) \cdot \frac{SV}{C}$$
 $\equiv 4$

式4の左辺は動脈圧波形から求められ、これを△Pとおく。右辺のカッコ内は特性インピーダンスと末梢動脈抵抗の比により決定されるが、この比は同一個体内では一定であると報告されているので⁶⁾、これを 1/k とおくと、式4は以下のように変形できる。

$$\frac{SV}{\Delta P} = k \cdot C$$
 = ₹ 5

式5より動脈のコンプライアンス: C が分かれば $\triangle P$ は血圧波形から算出できるので、相対的 SV が わかり、SV が分かれば心拍数を掛け合わせること で心拍出量(CO) は算出できる。 C を推定する方法を検討した。

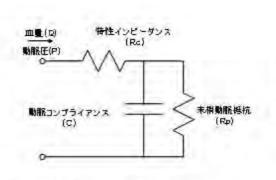


図1:3要素ウィンドケッセルモデル

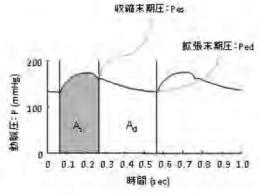


図2:動脈血圧波形の解析

4. 電気的コンダクタンス信号を用いた。動脈横 断面積推定法の限界

動脈コンプライアンスの大部分が大動脈(胸部 −腹部)レベルの血管に依存するという前提でのも とに、大動脈の血圧と溶積の関係からコンプライ アンスを求めることを試みた。大動脈の縦方向の 長さは一定と仮定できる。横断面積がわかれば容 積に相関する信号が得られる。胸部大動脈断面積 を推定する方法として経食道心臓エコーがある ものの侵襲的であり覚醒状態では使用できない。 今回まず、電気的コンダクタンスにより胸部大動 脈断面積を推定できるかについて、麻酔下雑種成 犬(3 頭)を用い検討した ⁸⁾。インピーダンス測定 器(AI-601G、日本光電)でインピーダンスを求め コンダクタンスに変換(=1/インピーダンス)し た。血圧は高精度カデーデル血圧計 (PC-751, Millar)で計測。図 3 にあるように、胸部下行大 動脈内にカテーデル4電極を経度的に留置する と、図4のようなコンダクタンス信号が得られた。 図 44 に示すようにコンダクタンス信号は心臓周 期に一致した周期性変化を伴い、図 48 に示すよ うに血圧信号と比較的良好に相関していた。図 48 中の回帰直線の傾きが相対的な動脈コンプライ アンスに一致し、動脈圧波形とコンダクタンス信 号から動脈コンプライアンスが推定しらること が示唆された。

しかしながら中枢大動脈レベルの血管内に電 極力テーテルを留置することは感染・血栓・動脈 損傷などの合併症があり実際的ではない。

より末梢の動脈血管内にカテーテル電極を留置することにより、図4で得られたようなコンダクタンス信号が採取可能か検討した。4 電極のうち、電流往入と感電極2個ずつを冠したカテーテルを図5Aのように、それぞれ胸腔内動脈に配置するかぎりは、血圧信号に相関するコンダクタンス信号が図5Bのように得られた。

しかしながら、図 5A の 2 本の電極力デーテルをそれぞれ上肢・梯骨動脈および下肢・大腿動脈レベルまで引き抜くと、コンダウタンス信号の心周期に一致した変化は消失し、図 4B のように血圧信号に有意に相関するコンダクタンス信号は得られなかった(データ非表示)。往入されるコンダクタンス測定電流が、胸腔動脈以外に、胸壁などへ漏れ出て流れるためと考えられた。

血管内に留置する以外に、食道に電極を留置し、 並走する大動脈の電気的コンダクタンスを得る 方法^別が報告されている。自検例でも検討したが、 安定したデータは得られなかった(データ非表 示)。

以上より、電気的コンダクタンスにより大動脈 断面積および動脈コンプライアンスを推定する 方法を断念し、まったく異なった新しい方法によ り動脈コンプライアンス:C を推定することを検 討した。



図3 大動脈コンダクタンスの測定

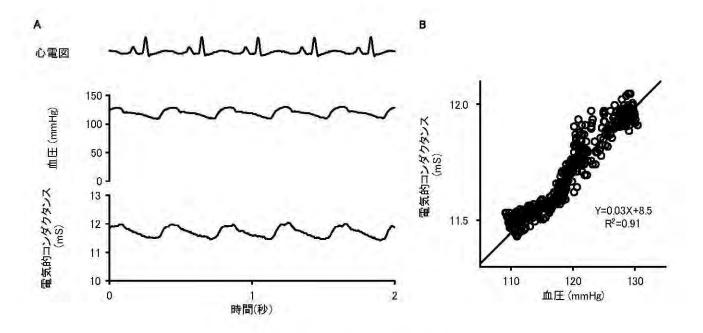


図 4: 大動脈コンダクタンスと大動脈血圧

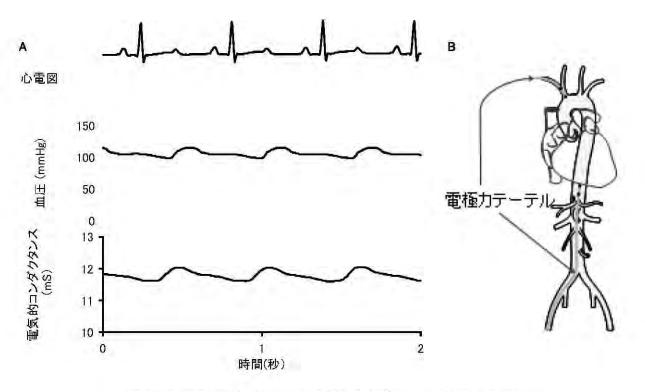


図 5:胸腔内に電極がある限り大動脈コンダクタンスとは計測可能

5. 大腿動脈血流波形を用いた相対的動脈コンプライアンスの推定

式5の動脈コンプライアンス:Cを、非侵襲的に 計測されるパラメータから推定する方法を検討 した。推定に使用するパラメータには、血流に関 連するパラメータが必要と考えられた。表在動脈のドップラー流速・流量は、臨床的に計測することが容易である。表在動脈のなかでも比較的動脈径が大きくドップラー信号のサンプリングが安定して行え、仰臥位の患者にも安定してプローブ

が固定可能と考えられたのが大腿動脈である。大動脈血圧値と大腿動脈血流量値、およびそれぞれの時間微分値を式1に近似し算出される大腿動脈レベルのコンプライアンス C_f と、動脈コンプライアンス:Cが相関すると仮定、その関係から動脈コンプライアンス:Cが逆算推定可能か検討した。

5.1. 実験方法

雑種成犬計 16 頭を用い実験した。実験は「研 究機関等における動物実験等の実施に関する基 本指針(平成18年文部科学省告示第71号)」 に則って行った。麻酔(静脈麻酔+吸入麻酔)下に、 犬は気管内挿管し人工呼吸管理を行った。

犬の大腿動脈のドップラー流速を、ドップラー 流速計(SCPD-10, プライムテック)を用いて計測 し、大腿動脈血流量を算出した。

臨床で急性心不全を呈する症例の循環管理を 行う際、血圧は一般的に橈骨動脈にカテーテル挿 入し連続的に計測する。今回の実験で血圧は、高 精度カテーテル血圧計を、下行大動脈、橈骨動脈に留置し計測した。胸部正中切開により心臓に到達し、上行大動脈に超音波流量計(Transonic)を装着し大動脈血流量を計測した。表面心電図を採取し心拍数を計測した。時系列信号(図 6)はプレアンプで増幅した後、200Hz/12 bit でアナログーデジタル変換し、データ解析用コンピュータ(PANASONIC: CF-W7)に保存し、Off-lineで解析した。

13 例の犬において、①低分子デキストラン投与による容量負荷・脱血による容量減少、②特異的徐脈薬投与と心房ペーシングにより心拍数を広範囲に変化、③血管拡張剤(SNP)投与による後負荷減少、④強心剤(Dobutamine)投与による心機能増強、⑤血管収縮剤(Nor-adrenarine)投与による後負荷増加、⑥ベータ遮断薬(Inderal)投与・冠動脈塞栓による心機能低下、を施行して心拍出量を大きく変化させデータを採取した。

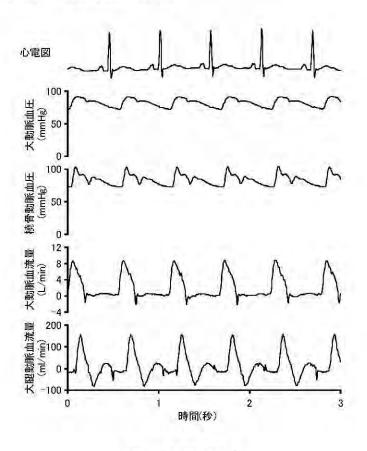


図6:時系列データ

5.2. データ解析方法

式 5 左辺の分子 SV は、時間平均大動脈流量を 心拍数で除して算出した。

式5左辺の分母△Pは、血圧波形から、式1-4を用いて算出される。実際の臨床現場では、図1のウインドケッセルモデルに規定される大動脈入口部の大動脈血圧は得られず、橈骨動脈血圧のみとなる。しかしながら図7上にあるように大動脈血圧波形と橈骨動脈圧波形は大きく異なっていることが知られている¹ロ゚。よってまず橈骨動脈血圧から中枢大動脈圧を推定するアルゴリズムを確立した。アルゴリズムは先行研究¹ロ゚で用いられた ARX モデルに準拠し、線形回帰モデルにより作成した。AD サンプリングは 200Hz で行っている(5 ms)ので、各時点の中枢大動脈圧: AoP(t)と、その前後 10 時点の橈骨動脈圧: RaP(t)を以下の式6で関係づけた。

AoP(t) = C(0) · RaP(t - 10) + C(1) ·
RaP(t - 9) + ··· + C(19) · RaP(t + 9) + C(20) ·
RaP(t + 10) =
$$\sum_{i=0}^{i=20}$$
 C(i) · RaP(t + i - 10)

式6

各時点の係数 C(i) は、図 7 上のように同時に記録される大動脈圧波形および橈骨動脈圧から最小二乗法を用い、図 7 右に示すように求めることができる。この係数を用い橈骨動脈圧から推定された大動脈圧は、図 7 下に示すように、実測された大動脈圧とほぼ重なっており、高い精度で中枢大動脈圧波形を推定し得る。

臨床では、個々の例で大動脈圧と橈骨動脈圧を 同時記録し係数 C(i)を決定することはできない。 係数 C(i)は、個体間の平均的係数を用いても個々 の例において比較的良好な推定精度で中枢動脈 圧を推定しうることが先行研究 ¹⁰⁾でも示されて いる。犬 9 頭において C(i) の平均値を図 8 右のように算出し、その平均係数を用いて図 7 上の橈骨動脈圧波形から大動脈圧波形を推定すると、図 8 左に示すように推定値は実測された大動脈圧とほぼ重なっており、良好な精度で中枢大動脈圧波形を推定し得ることを確認した。

9 例における推定大動脈圧と実測値の誤差の平均値は $0.02\pm4.23~\text{mmHg}$ であり、平均的係数 C(i) を用いることとした。また 9 例においてこのようにして橈骨動脈圧波形から算出された大動脈圧波形から式 1-4 を用いて算出される ΔP は、実測大動脈圧波形から算出した ΔP と図 9 のように良好に一致していた。

以上より、SVと△Pは算出することができ、相対的動脈コンプライアンス:kCが得られる。

榜骨動脈血圧波形から推定される大動脈血圧値と大腿動脈血流量値、およびそれぞれの時間微分値を最小二乗法により式1に近似し 11 、大腿動脈レベルのコンプライアンス $C_{\rm f}$ を算出した。

6 例において、心拍数は 73-157 bpm の範囲で変化させ (平均値 100±15bpm)、橈骨動脈圧は 58-179 mmHg の範囲で変化させ (平均値 107±17 mmHg)、心拍出量は 1712-5454 m1/min の範囲で変化させた (平均値 3001±635 m1/min)。時系列データは 30 秒間を一区切りとし、それぞれのパラメータは心電図 R 波に基づき同期加算し△P、SV、C_fを算出した。1 例あたり平均 105 個のデータセットで解析した。最終的な CO の推定精度は、B1and-A1tman解析 12)を用い検討した。横軸に推定されたCO(COest)と実測 CO の平均値、縦軸に推定誤差(CO-COest)をプロットした。平均 CO に対する、誤差の標準偏差の 2 倍 (2SD) の割合 (%error)を算出し、推定精度の尺度とした。

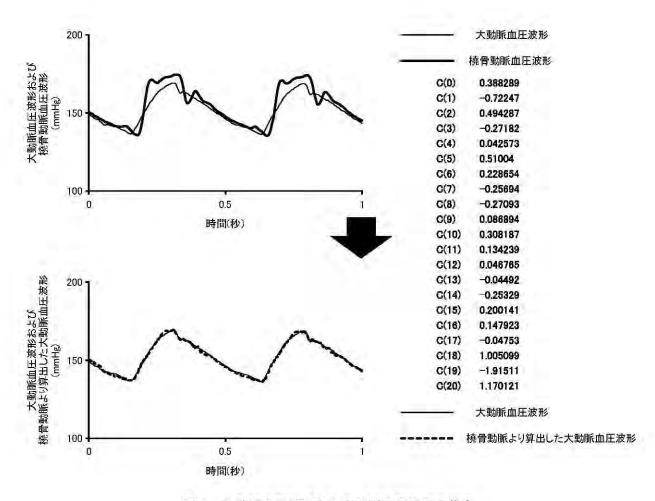


図7:骨動脈血圧波形から大動脈血圧波形の推定

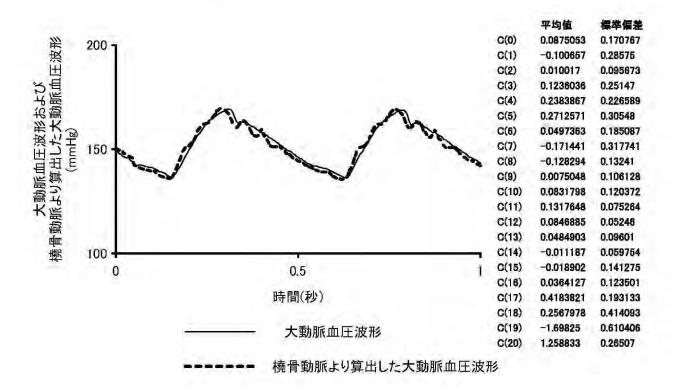


図8:平均的係数から大動脈血圧を推定できる

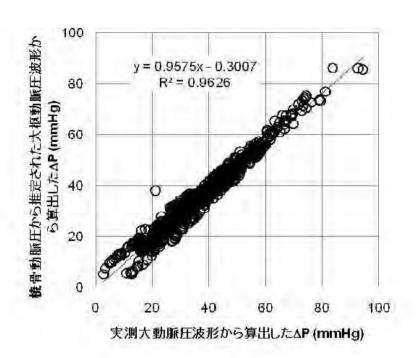


図9:骨動脈血圧波形から推定した△P

5.3. データ解析結果

6例において、 $SV/\Delta P(=k \cdot C)$ と C_f の関係を図 10に示す。両者は全例で良好な相関を示し、対数関数により近似できたていた。コンプライアンスの圧依存性⁷¹から、 C_f を収縮末期圧(Pes)で補正すると、有意ではないが相関係数は図 11に示すように改善した。

 $SV/\triangle P(=kC) \ge C_f/P_{gg}$ の関係は6例において、以下の標準対数関数で近似し得た。

$$\frac{\text{SV}}{\Delta P} = A \cdot (\ln \left(\frac{C_f}{P_{es}}\right) + 11.648) \quad \text{ } \vec{x}$$

これより、1 時点において CO そして SV を実測し、個体固有の定数 A を較正すれば、 ΔP 、 C_F 、 P_{es} は実測していけるので SV は推定され、CO を算出できる。

図 12 に以上のようにして推定された SVest と、 実測した SV の関係を示す。両者は全例において 比較的良好に線形相関していた。図 13 に、CO の 推定精度を検討した Bland-Altman 解析結果を示 す。1 例 Dog5 において推定誤差が大きかったもの の、平均誤差は-20ml/min で、平均%error は 27% と良好で、CO の基準%error である 30%以下であ った。

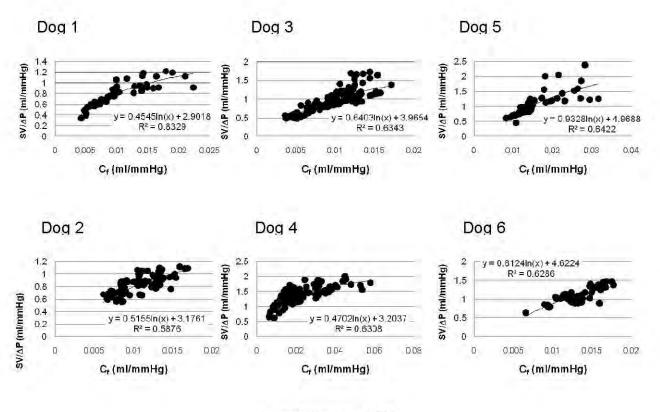


図10:SV/APとCfの関係

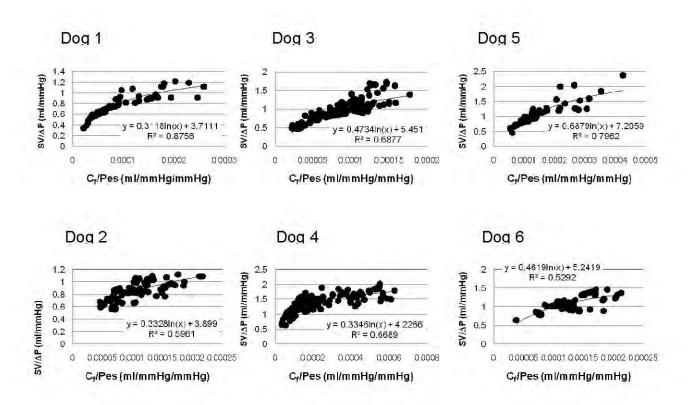
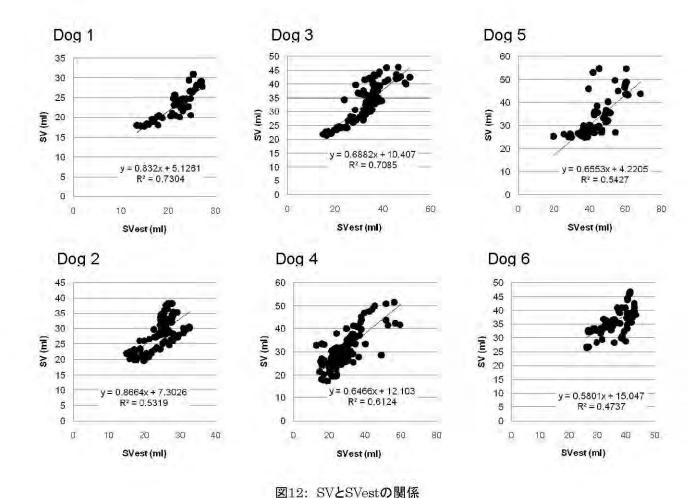


図 11: $SV/\triangle P$ と C_f/P_{es} の関係



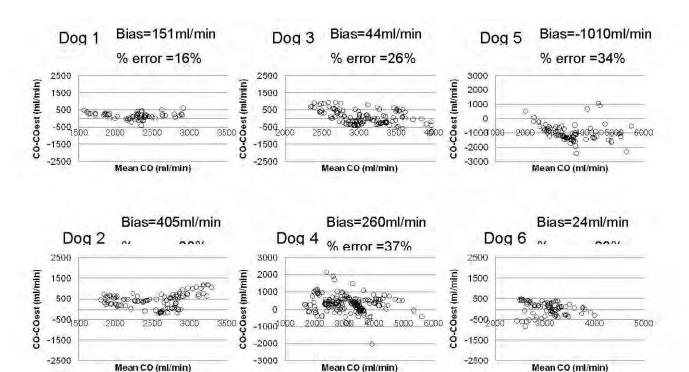


図13:Bland-Altman解析

6. まとめと今後の展望

今回、これまで過去に報告されていない、まったく新しい方法で心拍出量を推定することを試みた。今回の方法は大動脈圧と大腿動脈流量の時系列データから、大動脈コンプライアンスを推定し心拍出量を推定した。用いる信号は、橈骨動脈血圧と大腿動脈のドップラー血流量であり臨床でも一般的に用いられている、あるいは非侵襲的に採取することができる。推定精度は概ね良好であり、すぐにでも臨床応用可能と考える。

これまでにも、大動脈コンプライアンスを経食 道エコーで計測し、心拍出量モニターに用いる方 法が報告されている ¹³⁾。しかしながら侵襲性や利 便性に限界があり臨床現場に普及されるに至っ ていない。今回の方法は、低侵襲性、利便性、心 拍出量推定精度のいずれも満足のいくものであ る。今後の臨床応用が期待できる。またこの心拍 出量モニターシステムの導入により、我々が従来 開発してきた血行動態自動制御システム ¹⁾の臨床 応用も加速されていくと期待される。

今回、左心房圧の推定方法の検討は時間的な制 約があり行えなかった。今後は、今回開発した心 拍出量モニターシステムを統合した、心拍出量・ 左心房圧モニターシステムの開発を推進してい きたい。

謝辞

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

参考文献

1.Uemura K, Kamiya A, Hidaka I, Kawada T, Shimizu S, Shishido T, Yoshizawa M, Sugimachi M, Sunagawa K. Automated drug delivery system to control systemic arterial pressure, cardiac output, and left heart filling pressure in acute decompensated heart failure. J Appl Physiol. 2006;

100: 1278-1286.

- 2.Siegel LC, Hennessy MM, Pearl RG. Delayed time response of the continuous cardiac output pulmonary artery catheter. Anesth Analg. 1996; 83:1173-1177.
- 3.Gunn SR, Kim HK, Harrigan PW, Pinsky MR.
 Ability of pulse contour and esophageal Doppler to estimate rapid changes in stroke volume. Intensive Care Med. 2006; 32: 1537-1546.
- 4.Compton FD, Zukunft B, Hoffmann C, Zidek W, Schaefer JH. Performance of a minimally invasive uncalibrated cardiac output monitoring system (Flotrac/Vigileo) in haemodynamically unstable patients. Br J Anaesth. 2008; 100: 451-456.
- 5.Westerhof N, Elzinga G, Sipkema P. An artificial arterial system for pumping hearts. J Appl Physiol. 1971; 31: 776-781.
- 6.Westerhof N, Elzinga G. Normalized input impedance and arterial decay time over heart period are independent of animal size. Am J Physiol. 1991; 261: R126-R133.
- 7.Langewouters GJ, Wesseling KH, Goedhard WJ. The static elastic properties of 45 human thoracic and 20 abdominal aortas in vitro and the parameters of a new model. J Biomech. 1984;17: 425-435.
- 8.Hettrick DA, Battocletti J, Ackmann J, Linehan J, Warltier DC. In vivo measurement of real-time aortic segmental volume using the conductance catheter. Ann Biomed Eng. 1998; 26: 431-440.
- 9.Balestra B, Malacrida R, Leonardi L, Suter P, Marone C. Esophageal electrodes allow precise assessment of cardiac output by bioimpedance. Crit Care Med. 1992; 20: 62-67
- 10.Chen CH, Nevo E, Fetics B, Pak PH, Yin FC, Maughan WL, Kass DA. Estimation of central aortic pressure waveform by mathematical transformation of radial tonometry pressure. Validation of generalized transfer function. Circulation. 1997; 95: 1827-1836.

- 11.Toorop GP, Westerhof N, Elzinga G. Beat-to-beat estimation of peripheral resistance and arterial compliance during pressure transients. Am J Physiol. 1987; 252: H1275-H1283.
- 12. Critchley LA, Critchley JA. A meta-analysis of studies using bias and precision statistics to compare cardiac output measurement techniques. J Clin Monit Comput. 1999; 15: 85-91.
- 13.de Vaal JB, de Wilde RB, van den Berg PC, Schreuder JJ, Jansen JR. Less invasive determination of cardiac output from the arterial pressure by aortic diameter-calibrated pulse contour. Br J Anaesth. 2005; 95: 326-331.

発表論文

<u>Uemura K.</u> Sunagawa K., Sugimachi M. Computationally managed bradycardia improved cardiac energetics while restoring normal hemodynamics in heart failure. Ann Biomed Eng. 2009 Jan;37(1):82-93.

<u>Uemura K,</u> Zheng C, Li M, Kawada T, Sugimachi M. Early short-term vagal nerve stimulation attenuates cardiac remodeling after reperfused myocardial infarction. J Cardiac Fail. 2010; 16,689-699.

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



研究責任者 大阪府立大学大学院工学研究科電子物理工学分野 教 授 堀 中 博 道 共同研究者 大阪府立大学大学院工学研究科電子物理工学分野 准教授 和 田 健 司

1. はじめに

生体組織の代謝情報や機能情報を画像化するために、生体物質の近赤外吸収スペクトル特性の利用が期待され、光 CT(Computed Tomography)の研究が一時盛んに行われていた。しかし、生体組織は光に対して極めて強い散乱を示すので、生体深部で光断層画像を得ることは困難であった。そこで、生体の中で光は拡散するものと考え、光吸収情報を超音波でマッピングする方法を模索し、光照射による吸収領域の温度上昇に伴う弾性定数の変化を超音波の速度変化として検出する方法を考案した。「3)この方式は、光が完全に拡散した状態でも信号強度や空間分解能を維持できるので、実用性が高いと考えられ、「光アシスト超音波速度変化イメージング法」と名付けた。

光アシスト超音波速度変化イメージング法は、 生体組織の状態の無侵襲画像だけではなく、癌の 診断や治療のためのドラッグデリバリーシステ ムに用いられるナノ粒子分布の検出への応用が 期待される。ナノ粒子や抗がん剤を含むリポソー ム、デンドリマーなどを癌組織に選択的に堆積さ せるために、癌による新生血管を利用するパッシ ブターゲッティングと呼ばれる方式と抗原抗体 反応などを利用するアクティブターゲッティングと呼ばれる方式がある。4⁴ これらの医療診断、治療を効果的に行うためには、生体におけるナノ粒子の堆積状態や堆積領域の温度分布の画像装置が必要とされている。5⁵

現在、PAT(Photo-Acoustic Tomography)が光吸収分布の測定やナノ粒子分布のモニターとして盛んに研究されている。のしかし、現在の報告は表面から数 mm 以下での測定に限られている。また、多数の音源の信号から画像を構築するために特別なアルゴリズムが必要である。

光アシスト超音波速度変化イメージング法を用いて、既に、高散乱媒質や鶏肉中で光吸収断層画像を得ている⁷⁾。本研究では、まず、波長の異なる複数の光源をもつ装置を作製する。ドラッグデリバリーシステムにおいて堆積状態の標識として用いられる薬剤を内包する試料に対して光吸収断層画像、および、分光画像情報の測定を行い、モニターとしての有用性を調べる。最後に、生体への適用のための問題点を検討し、装置を改良する。

2. 超音波速度変化による光吸収画像情報の検出 原理

生体組織に光を照射すると、光吸収領域で温度 が上昇し、弾性定数の変化が生じ、超音波の速度 が変化する。光照射の前後で超音波を走査して、 超音波速度の変化領域を検出すれば、温度変化領 域が検出でき、光吸収分布画像を得ることができ る。

超音波の速度変化として光断層画像を得るのに2つの方式が考えられる。一つは、連続波の超音波を試料に対して平行、回転移動させて得られた光による速度変化を投影データとして保存し、CTアルゴリズムを用いて速度変化分布画像を構

築し、光吸収分布を得る方式である。 もう一方は、超音波パルスを用いて、組織境界からの反射パルスの到達時間と光照射による到達時間の変化を測定することで、吸収領域の位置情報と吸収情報を得る方式である。後者の方式は、片側から吸収領域の位置情報と光吸収情報を得ることができるので、医療診断装置としてより実用性が高いと考えられる。また、市販の超音波エコー診断装置が適用できると考えられ、超音波アレイトランスデューサーをプローブとした高速光断層画像装置が実現できると考えられる。 7

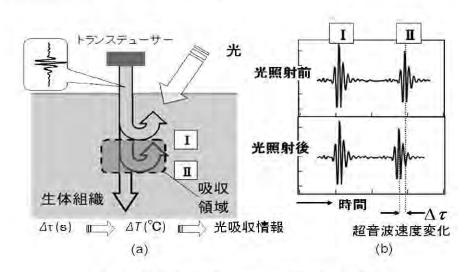


図1 超音波速度変化による光情報検出の原理

図1(a)に示すように、超音波アレイトランスデューサーから送信された超音波パルスは試料中の音響インピーダンスの各境界から反射される。通常のBモードイメージは、個々の超音波パルス波形の振幅から構築される。試料に光を照射する前のエコー波形を図1(b)の上図に示す。試料に光を照射すると、図1(b)の下図のように光吸収領域の背後の境界から反射されるパルスは、光吸収による温度上昇によってシフトする。例えば、伝播媒質が水であり、吸収体厚さが1cmの場合、1℃の温度変化に対して約18nsの超音波パルスのシフトが予想される。

吸収領域の境界間を距離をdとし、光照射による伝播時間の変化を Δ τ とすると、光照射による境界間の速度変化 Δv は次の式で示される。

$$\Delta v = \frac{v^2}{2d} \Delta \tau$$

水などでは超音波速度の温度依存性の実験式が既に報告されているので、超音波の速度変化 Δν が求められれば、光照射による局所的温度変化を求めることができ、さらに、局所的温度分布から光吸収分布を推定することができる。

本方式では、片側からの照明によって試料内部 に光が拡散していることが必要である。生体の光 散乱は非常に強く、片側からの照明でも生体内で 光は充分拡散し、吸収領域の背後にも廻りこんで いることを、生体の散乱係数、吸収係数を用いた モンテカルロシミュレーションや報告されてい る生体組織の散乱係数に類似した特性をもつ散 乱媒質中の実験で確認している。吸収係数は、光 散乱領域を小さくするように作用する。

3. 試作装置

超音波エコーパルスの速度変化によって光吸 収断層画像を得るために、市販の超音波エコー装 置を改造し、装置を試作した。図2示すように、 信号処理ボードが取り付けられ、RF信号を外部 に取り出すことができる。光源としてNd:YVO4の 第2高調波(532nm)と波長の異なる3種類の半導 体レーザー (660nm、813nm、912nm) を用いた。 さらに、波長を連続的に変化できるチタンサファ イアレーザー (740-850nm) を用いた。図 2 のよう に、レーザー光が光ファイバーによって超音波ト ランスデューサーの傍に導かれ、超音波エコーの 検出箇所を照射するようになっている。

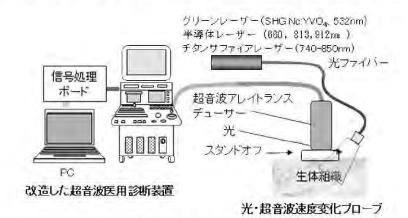


図2 光アシスト音波速度変化イメージング装置

光照射前後の超音波アレイトランスデューサーのエコーパルスの波形が信号処理ボードを通じて外部のパーソナルコンピューターに取り込まれる。用いた超音波アレイトランスデューサーの中心周波数は 13MHz である。超音波画像は 356 ラインからなりフレーム周波数は 34Hz である。

図3に超音波速度変化イメージ構築の手順を示す。エコーパルスの波形を内挿によってサンプリング点を増加し、送信パルスの波形を基に適切な長さに分割する。光照射前後の波形の対応する部分の相互相関演算を行い、光照射によるパルス間隔の変化を求める。各ラインの波形のシフト部分とシフト量を求めることで、超音波速度変化の二次元分布を得ることができ、温度変化画像、光吸収画像が求められる。

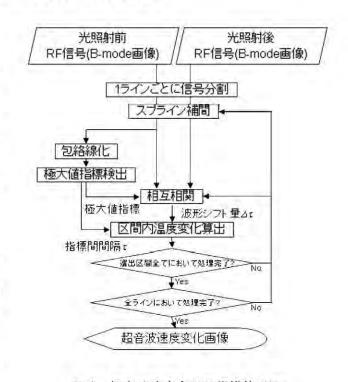


図3 超音波速度変化画像構築手順

4. 生体疑似試料中の薬剤分布の検出

4.1 半導体ナノ粒子分布の検出

散乱体としてIntralipid水溶液と寒天を用い、報告されている生体の散乱係数に調整した試料を作製し、図4(a)に示すように、その内部(深さ1cm)に半導体ナノ粒子(Q dots 605)を吸収体として分布させた。試料の外部から撮影した写真を図4(b)に示す。外部からは半導体ナノ粒子の存在を観測することはできない。図2の試作装置を試料に適用し、Bモード画像(超音波振幅画像)、超音波速度変化画像を測定した。図4(c)に示したBモード画像では半導体ナノ粒子の分布

は観測できない。図4 (a) のように、外部から532nm の波長の光を照射したときの超音波の速度変化 画像を図4 (d) に示す。超音波速度変化画像では、分布領域が明瞭に現れている。比較のために小動物での実験によく用いられる蛍光イメージング法を同じ試料に適用し、532nmの波長の光を照射し、外部から蛍光画像を測定した。蛍光イメージング法では、光散乱のために吸収体の位置は不明瞭であり、深さ情報も得られない。本方式は生体深部で光吸収断層画像を得ることができ、深さ方向の情報も得られている。

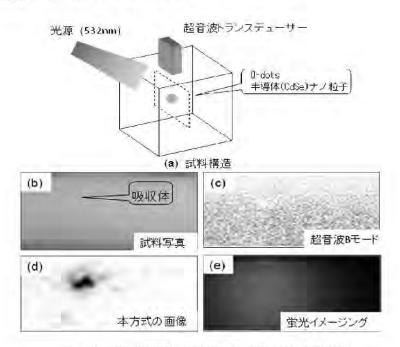


図 4 散乱媒質中の半導体ナノ粒子の分布計測

4.2 金ナノロッドの分光画像測定

4.2.1 高散乱媒質を用いた実験

金ナノロッドは、棒状の金ナノ粒子であり、そのアスペクト比によってプラズモン共鳴周波数を近赤外領域に設定できる。生体組織の光吸収の少ない波長域で吸収ピークを示すために生体深部に適用でき、ドラッグデリバリーシステムに用いられるリポソームやデンドリマーの標識やフォトサーマル材料としての研究が行われている。8) Intralipid 水溶液と寒天を用いて散乱媒質を 作製し、内部に寒天粉と混合した金ナノロッド領域を作製した。光源として半導体レーザー(発振波長912 nm)、チタンサファイアレーザーを用いた。アッテネーターを使用し、どの波長においても試料表面における照射光強度が0.3W/cm²になるように調整した。各波長において光照射を行い、光照射開始前後に取得したRF波形から超音波速度変化画像を構築した。

図5に超音波速度変化から換算した温度変化画 像をグレイスケールで示す。いずれも光照射開始 30 秒後の画像である。光吸収分布を確認することができ、照射光波長依存性も観測される。

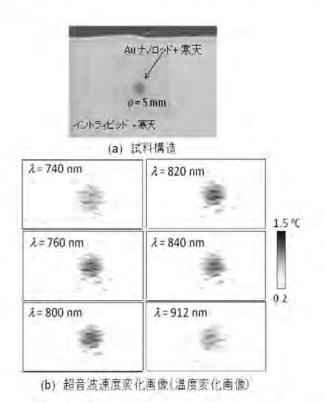


図5 金ナノロッドの超音波速度変化画像

4.2.2 鶏肉を用いた実験

金ナノロッドを寒天に混ぜ、散乱媒質の中に挿入した。4.2.1の実験と同様に半導体レーザー(発振波長912 nm)、チタンサファイアレーザーを用いて光照射を行い、光照射開始前後に取得したRF波形から超音波速度変化画像を構築した。

Bモード画像を図 6(a)に示す。Bモード画像では、鶏肉の境界が現れているだけで薬剤の分布箇所は特定できない。各波長における超音波速度変化画像を求めた。図 6(b)に 740、820、912nmの照射光に対する超音波速度変化画像(温度変化画像)を示す。鶏肉内の他の物質の吸収による背景ノイズと考え、0.7℃以上の分布を示した。金ナノロッド分布領域における速度変化の平均値を温度変化に換算して照射光の波長に対してプロットし、図 6(c)に示す。図中の実線の曲線は、実験に使用した金ナノロッド水溶液を分光器で

測定した吸収スペクトルである。超音波の速度変化から換算した温度変化は、金ナノロッドの光吸収スペクトルに対応していることがわかる。

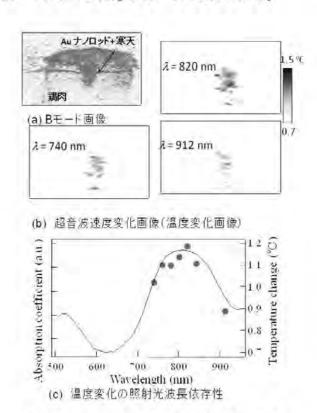


図 6 鶏肉中の金ナノロッドの分光画像測定

4.3 ICG(インドシアニングリーン)の分光画 像計測

ICG は血管異常などの診断用近赤外蛍光造影剤として用いられており、腫瘍組織に長時間滞在することも報告されている。鶏肉の中に ICG を溶かした寒天を挿入した。試料に対して図2の装置を用いてBモード画像と光照射による超音波速度変化を求めた。図7(a)にBモード画像を示す。光による超音波速度変化画像は、3種類の波長の半導体レーザー(660、813、910nm)を用いて測定した。光ファイバーを出た光は拡散し、試料表面では、皮膚の安全基準である0、3W/cm²になるようにした。図7(b)に、それぞれの半導体レーザーを照射したときの超音波速度変化画像(温度変化画像)を示す。ICG 以外の鶏肉中の他の物質による光吸収も観測されている。ICG の分布領域における超音波速度変化の平均値から温度変化を

求め、照射光の波長に対してプロットし、図 7(b)に示した。超音波速度変化から求めた温度変化は、 測定に用いた ICG の吸収スペクトルによく対応していることが示された。

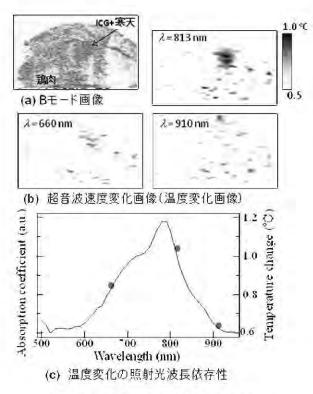


図7 鶏肉中の ICG の分光画像測定

5. 生体組織への適用のための検討

図2の装置を用いて、マウスに適用して in vivo 測定を行おうとしたが、心臓の鼓動、振動のため に信頼できる超音波速度変化画像を得ることが できなかった。心臓の鼓動、振動への対策として、

1) 高速走査ができる超音波プローブを選び、鼓

動に同期して超音波速度変化画像を検出する、 2) 測定中の移動を検出し、補正するプログラム を開発する方法が考えられる。本研究では、後者 について検討を行い、光照射中の試料の移動方向、 大きさを検出し、それを反映して超音波速度変化 画像を構築するプログラムを作成した。このプログラムは、1. "光照射前後の超音波振幅画像でエリア間の相関を取ることで、空間的なずれの方向、量を検出する"、2. "対応するエリア間でずれの 補正を行う"、3. "補正したエリア間で図 3 の手順で超音波速度変化画像を求める"、の 3 つのステップからなる。

作成したプログラムの有効性を確認するための実験を行った。超音波プローブと光ファイバーを一体化し、微動機によって試料に対して移動できるようにした。鶏肉内の一部を着色した試料を用いた。図8は、断層画像の横(深さ)方向に光照射中に相対的に移動させた場合の実験結果を示す。図8(a)は20秒の光照射のみを行って得られた超音波速度変化画像であり、図8(b)は、光照射中に0.5mm,1mm移動した場合の超音波速度変化画像である。図8(c)は、作成したプログラムを適用して得られた超音波速度変化画像である。

(b) に比較すると(a) に近い画像が得られており、効果が認められる。同様に、断層画像の横方向に相対的に移動した場合についても検討を行っており、プログラムの効果を確認している。

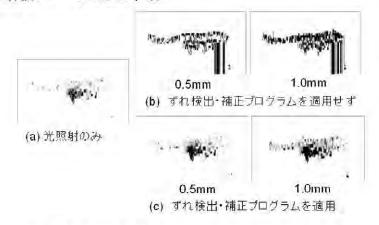


図8 超音波速度変化画像における移動の影響と対策

6. まとめ

光アシスト超音波速度変化イメージング法を 高散乱質中の半導体ナノ粒子分布の検出に適用 し、光吸収分布が検出できることを示した。蛍光 イメージングと比較し、深部の空間分布情報が得 られることを示した。作製した装置を癌の診断や 治療への応用が期待される金ナノ粒子やICGに適 用し、動物組織中で分布画像が得られることを示 した。さらに、複数の波長の光源を用いることで、 分光画像情報も検出できることを示した。実際の 生体組織の光吸収断層画像には、目的とする物質 以外に多くの生体物質による光吸収分布が現れ ると予測される。分光画像情報は、目的とする物 質の分布を抽出するために有効であると考えら れる。in vivo での実験のために、鼓動、振動の 影響を補正するプログラムを作成し、実験を行っ to

謝辞

本研究は、財団法人中谷電子計測技術振興財団の助成により行われました。ここに深く感謝の意を表します。また、金ナノ粒子の提供と作製法のご指導を頂きました大阪府立大学工学研究科の河野教授と研究室の皆様に感謝いたします。

参考文献

- H. Horinaka, K. Wada, A. Okasaka, Y. Cho, T. Matsunaka and S. Saimi: "Optical Computed Tomography Imaging of Absorbers Hidden in Scattering Medium by Detection of Ultrasonic Phase-Shift Caused by Laser Illumination," Proc. 2000 IEEE Ultrasonic Symp. (Puerto Rico, 2000), pp.1709-1712
- 2) H. Horinaka, T. Matsunaka, T. Iwade, T. Masumura, T. Kobayashi, T. Kiuchi, K. Wada and Y. Cho: "Optical Imaging in Scattering Medium by Detection of Ultrasonic Phase Shift Due to Light Illumination", Jpn. J. Appl.

- Phys. 41 (2002) pp.3555-3558.
- 3) H. Horinaka, T. Iwade, Y. Kanetaka, F.
 Ogushi, T. Matsuyama, K. Wada, T.
 Matsunaka and Y. Cho: "Imaging of
 Ultrasonic Velocity Change Corresponding to
 Optical Absorption Distribution," Jpn. J.
 Appl. Phys. 42 (2003) pp.3287-3288.
- 4) M. Pernot, M. Tanter, J. Bercoff, K. R. Waters, M Fink: "Temperature estimation using ultrasonic spatial compound imaging," IEEE Trans. Ultrason. Ferroelec. Freq. Control,51 (2004) pp. 606-615.
- 5) T. M. Allen and P. R. Cullis: "Drug Delivery Systems: Entering the Mainstream," Sience, 303 (2004) pp. 1818-1822.
- 6) M. Eghtedari, A. Oraevsky, J. A. Copland, N. A. Kotov, A. Conjusteau, and M. Motamedi: "High Sensitivity of In Vivo Detection of Gold Nanorods Using a Laser Optoacoustic Imaging System," Nano Lett., 7(7) (2007) pp. 1914-1918.
- 7) H. Horinaka, T. Matsunaka, N. Nakamura, T. Mukaiyama, S. Kawakami, K. Wada, Y. Hirano, C. Kojima, K. Kono, "Gold Nanoparticle Distribution Monitor for Drug Delivery System based on Optically Assisted Ultrasonic Velocity-change Imaging," Electronics Letters, 43 (2007) pp. 1254-1255.
- 8) T. Niidome, M. Yamagata, Y. Okamoto, Y. Akiyama, H. Takahashi, T. Kawano, Y. Katayama, Y.Niidome, "PEG-modified gold nanorods with a stealth character for in vivo applications," J. control. Release, 114 (2006) pp. 343-347.

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



1. はじめに

メタボリックシンドロームの言葉に代表される ように、生活習慣病である糖尿病の発症が社会問 題となっている。また、ヒトゲノムの解析が進行 し、個人ごとに遺伝子の塩基配列が異なる1塩基 多型(SNP)が、糖尿病など生活習慣病の発症と密 接に関連することが明らかであるリール。II型糖尿 病の発症には、インシュリン遺伝子とアディポネ クチン遺伝子の SNF が密接に関連する 50.60。具体 的には、インシュリン遺伝子の開始コドンの 23 塩基上流の SNP が相同染色体で T/T の場合には、 インシュリンの分泌量が正常であるが、T/A 及び A/A の場合には、インシュリンの分泌量が低く、 II 型糖尿病の発症の危険率が高い5。また、アデ ィポネクチン遺伝子の開始コドンの11377塩基上 流の SNP が相同染色体で G/G の場合には、アディ ポネクチンの分泌量が正常であるが、C/C及び C/G の場合には、アディポネクチンの分泌量が低く、 II 型糖尿病の発症の危険率が高い。この糖尿病 発症の危険因子であるインシュリン遺伝子とア ディポネクチン遺伝子の SNP を効率的に検出する 新規の診断方法を開発できれば、遺伝子由来の糖

尿病発症の危険性を被験者が容易に知ることができ、自らの食生活・食習慣を改善し、糖尿病発症の予防に役立てることができると考えられる。

SNP 検出方法としてヘテロデュプレックス法が 知られている(図 1)。SNP に該当する塩基対がタ イプ I(ex.T:A)である 2 本鎖 DNA とタイプ II(ex.A:T)である2本鎖 DNA を混合・加熱して、 1本鎖にほどいた後、徐冷して2本鎖を再形成す ると、元の2本鎖以外に、互いの鎖を交換したミ スマッチ塩基対(ex.T:T, A:A) を含む2本鎖を生 成する(図1)。この新たに生成したミスマッチ塩 基対の種類を同定できれば、元の2本鎖の SNP を 検出できる。T:T ミスマッチ塩基対に Hg2+が 1:1 のモル比で高い親和性で特異的に結合すること (図 2)¹⁰⁻⁹⁾、C:C ミスマッチ 塩基対に Ag⁺が 1:1 のモル比で高い親和性で特異的に結合すること (図 2) 10)~10)を、申請者は世界で初めて見つけてい る。本研究では、このミスマッチ塩基対と金属イ オンの特異的結合を利用して、糖尿病発症の危険 因子である上記のインシュリン遺伝子とアディ ポネクチン遺伝子の SNP を効率的に検出できる、 新規の診断方法を開発することを目的とした。

図1 ヘテロデュプレックス法の原理

糖尿病発症の危険因子である上記のインシュリン遺伝子とアディポネクチン遺伝子のSNPを含む2本鎖DNAを金基板上に固定化し、電気化学的検出を行う(図3,図4)。Watson Crick塩基対のみを含む2本鎖DNAの片鎖の5'末端を電子授受可能なアントラキノン誘導体で標識し、3'末端をチオール化して金基板に固定化する(図3(a),図4(a))。この軸方向に電圧を加えると、アントラキノン誘導体から放出された電子がDNA塩基のπ共役を介して2本鎖内を伝達し、電流値を観測できる。Hg²¹及びAg¹を添加しても2本鎖に結合せず、2本鎖構造は不変であるので電流値は変化しない。一方、

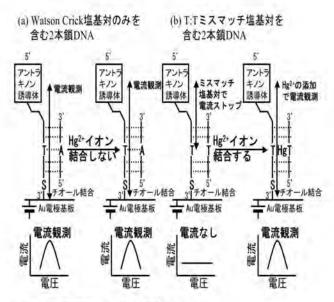


図3 電気化学的検出の原理

(a) T:A Watson Crick 塩基対の場合

(b) T:T ミスマッチ塩基対の場合

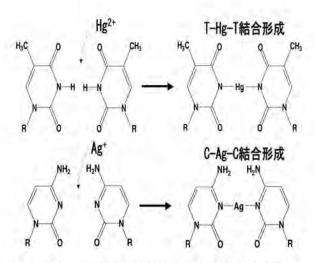


図2 ミスマッチ塩基対と金属イオンの特異的結合

T:T 及び C:C ミスマッチ塩基対を含む 2 本鎖 DNA も同様に、金基板に固定化する(図 3(b),図 4(b))。この軸方向に電圧を加えても、ミスマッチ塩基対の部位で電子伝達が断絶されるため、電流値を観測できない。しかし、Hg²+及び Ag*を添加すると、申請者が世界で初めて発見した T-Hg-T と C-Ag-C 結合形成によりミスマッチ塩基対の部位での電子伝達が可能になり、電流値を観測できる。以上のように、Hg²+及び Ag*添加前後の電流値の変化の有無より、T:T 及び C:C ミスマッチ塩基対を簡便・正確・迅速に同定でき、SNP を効率的に検出できる、新規の診断方法を開発することを目指した。

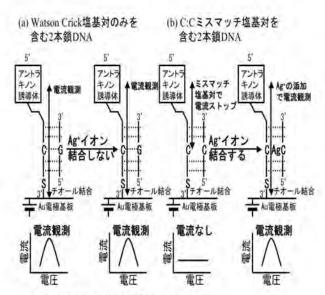


図4 電気化学的検出の原理

(a) C:G Watson Crick 塩基対の場合

(b) C:C ミスマッチ塩基対の場合

2. 材料と方法

2.1 5' 末端と 3' 末端を標識したオリゴヌクレオチド DNA の合成

5'末端をアミノ基で標識し、3'末端をチオール基で標識した、インシュリン遺伝子の SNP を含む領域のオリゴヌクレオチド DNA, Am-INS-F25T-Thio: 5'-GCCCTGCCTGTCTCCCAGATCACTG-3'とアントラキノン誘導体(AQ)を反応させ、5'末端を電子授受可能なアントラキノン誘導体で標識し、3'末端

をチオール基で標識した AQ-Am-INS-F25T-Thio を 調製した(図 5)。また、5'末端をアミノ基で標識し、 3'末端をチオール基で標識した、アディポネクチン遺伝子の SNP を含む領域のオリゴヌクレオチド DNA, Am-APM-F25C-Thio: 5'-CTCAGATCCTCCCCTTCAAAAACAA-<math>3'とアントラキノン誘導体(AQ)を反応させ、5'末端を電子授受可能なアントラキノン誘導体で標識し、 3'末端をチオール基で標識した AQ-Am-APM-F25C-Thioを調製した(図 5)。

図 5 方末端を電子授受可能なアントラキノン誘導体で標識し、3 末端をチオール基で標識したオリゴヌクレオチド DNA の合成

2.2 オリゴヌクレオチド DNA の還元とアニーリング

チオール基で標識されたオリゴヌクレオチドDNAは、分子同士がS-S結合で結びついているため、ジチオトレイトールで還元した。還元した AQ-Am-INS-F25T-Thioと、相補鎖である通常のオリゴヌクレオチド DNA、INS-R25T: 5'-CAGTGATCTGGGTGACAGGCAGGGC-3', INS-R25A: 5'-CAGTGATCTGGGAGACAGGCAGGGC-3'を等モル混合後、混合溶液を 90°C で 5 分間煮沸した後、室温まで徐冷してアニーリングし、2 本鎖 DNAを形成した。同様に、還元した AQ-Am-APM-F25C-Thioと、相補鎖である通常のオリゴヌクレオチド DNA、APM-R25C: 5'-TTGTTTTTGAAGGGCAGGATCTGAG-3', APM-R25G: 5'-TTGTTTTTGAAGGGCAGGATCTGAG-3'を等モル混合後、混合溶液を 90°C で 5 分間煮沸した後、室温まで徐冷してアニーリングし、2 本

鎖 DNA を形成した。

2.3 金雷極の研磨

金電極(外径 6 mm、内径 1.6 mm) [BAS(株)]を電極ホルダーに差し込んで固定化した後、精密研磨機:低周速ドクターラップ ML-180SL[マルトー(株)]により水溶性ダイヤモンドスラリー(6 μm)を用いて、10 分間、80 回転/分で研磨した。水溶性ダイヤモンドスラリー(1 μm)を用いて、10 分間、70 回転/分で研磨した。水溶性ダイヤモンドスラリー(0.125 μm)を用いて、10 分間、70 回転/分で研磨した。次に、蒸留水で電極を水洗した後、アルミナスラリー(0.05 μm)を用いて 10 分間、60 回転/分で研磨した。金電極を電極ホルダーからはずして蒸留水で金電極を水洗した。金電極を蒸留水に浸して超音波洗浄を5分間ずつ計3回行

った。金電極を 0.5 M 硫酸中に浸して、以下の条件 (表 1)で電気化学アナライザーModel 620C [BAS(株)]により電解研磨を行った。更に、金電 極を蒸留水に浸して超音波洗浄を 1 分間行った。 金電極表面に窒素ガスを吹き付けることにより 乾燥させた。

表1 電解研磨におけるサイクリックボルタンメトリーの条件

初期電位(V)	0
高電位 (V)	1.5
低電位 (V)	-0. 2
最終電位 (V)	-
初期スキャン/極性	Positive
スキャン速度 (V/s)	0.1
スイープセグメント	40 (= 20 cycle)
サンプル間隔 (V)	0.001
静止時間 (sec)	2
感度 (A/V)	1. e-004

2.4 研磨した金電極への2本鎖 DNA の固定化

緩衝液に溶解したアニーリングした、 $2 \mu M$ の 2 本鎖 DNA (AQ-Am-INS-F25T-Thio:INS-R25A, AQ-Am-INS-F25T-Thio:INS-R25T, AQ-Am-APM-F25C-Thio:APM-R25C, AQ-Am-APM-F25C-Thio:APM-R25G) $3 \mu L$ を、研磨した金電極上にディップした。蒸留水を含ませたキムワイプなどで保湿したタッパー内にこの金電極を入れ、 $37 \,^{\circ}$ C で終夜インキュベートした。チオール基により研磨した金電極上に 2 本鎖 DNA を固定化した。金電極を緩衝液に浸すことで洗浄した後、金電極表面に窒素ガスを吹き付けることで乾燥させた。

2.5 金電極表面のマスキング処理

1 mM の 6-メルカプトへキサノール 1 μL を、2 本鎖 DNA を固定化した金電極上にディップした。 6-メルカプトへキサノールで金電極表面をマス

キングした。蒸留水を含ませたキムワイプなどで 保湿したタッパー内にこの金電極を入れ、45 ℃ で1時間インキュベートした。金電極を緩衝液に 浸すことで洗浄した後、金電極を軽く振って水分 を除去した。

2.6 電気化学測定

電気化学測定装置として、電気化学アナライザーModel 620C[BAS(株)]を用いた。作用電極として上記で調製した金電極を、参照電極としてEE008 Miniture Ag/AgCl 参照電極[CYPRESS SYSTEMS(株)]を、対極として白金ワイヤーを用いた。電解液組成として、Hg²⁺を添加する場合に、10 mM カコジル酸ーカコジル酸ナトリウム、100 mM 過塩素酸ナトリウム(pH 6.8)を、Ag⁺を添加する場合に、10 mM カコジル酸ーカコジル酸ナトリウム、400 mM 硝酸ナトリウム(pH 6.8)を用いた。以下の条件(表 2)で電気化学測定を行った。

表2 電気化学測定における矩形波ボルタンメトリーの条件

初期電位 (V)	-0. 1
最終電位 (V)	-0.8
電位増加分(V)	0.01
振幅 (V)	0.05
周波数 (Hz)	10
静止時間 (sec)	2
感度(A/V)	測定ごとに異なる

3. 成果

3.1 インシュリン遺伝子の SNP の電気化学的検出

AQ-Am-INS-F25T-Thio: INS-R25A または AQ-Am-INS-F25T-Thio: INS-R25T を固定化した金 電極に Hg²⁺を添加する前と添加した後の矩形波ボルタンメトリーを、-0.8 V--0.1 V の範囲で測定した。T:T ミスマッチ塩基対で電子伝達が断絶されるため電流を観測できないが、Hg²⁺を添加すると、申請者が見つけた T-Hg-T 結合形成により T:T ミスマッチ塩基対で電子伝達が可能になり、電流を観測できると期待された。これに合うように、AQ-Am-INS-F25T-Thio: INS-R25Tに Hg²⁺を添加する前は電流を観測できなかったが(-0.7 V 付近のビ

ークはアーティファクト)、 Hg^{2+} を添加すると -0.67 V 付近に電流を観測できた(図 6)。一方、Watson Crick 塩基対では電子伝達により電流を観測でき、 Hg^{2+} を添加しても 2 本鎖に結合せず、2 本鎖構造は不変であるので電流値は変化しないと期待された。AQ-Am-INS-F25T-Thio:INS-R25Aに Hg^{2+} を添加する前は、理由は不明だが、電流を観測できず(-0.7 V 付近のピークはアーティファクト)、 Hg^{2+} を添加すると -0.66V 付近でわずかではあるが、電流を観測できた(図 7)。 Hg^{2+} 添加に伴う電流変化が、AQ-Am-INS-F25T-Thio:INS-R25Aと <math>AQ-Am-INS-F25T-Thio:INS-R25Aと

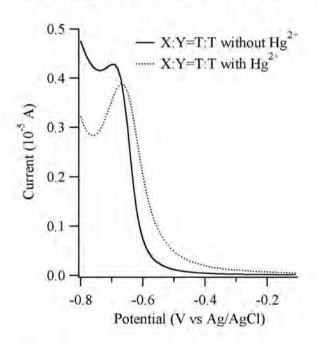


図 6 Hg²*非存在下および存在下における AQ-Am-INS-F25T-Thio:INS-R25Tの 矩形波ボルタンメトリー

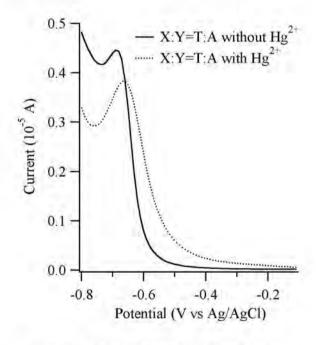


図7 Hg²⁺非存在下および存在下における AQ-Am-INS-F25T-Thio: INS-R25A の 矩形波ボルタンメトリー

3.2 アディポネクチン遺伝子の SNP の電気化学的 検出

AQ-Am-APM-F25C-Thio: APM-R25C または AQ-Am-APM-F25C-Thio: APM-R25G を固定化した金電極に Ag'を添加する前と添加した後の矩形波ボルタンメトリーを、-0.8 V〜-0.1 V の範囲で測定した。C:Cミスマッチ塩基対で電子伝達が断絶されるため電流を観測できないが、Ag'を添加すると、申請者が見つけた C-Ag-C 結合形成により C:Cミスマッチ塩基対で電子伝達が可能になり、電流を観測できると期待された。これに合うように、AQ-Am-APM-F25C-Thio: APM-R25C に Ag'を添加する前は電流を観測できなかったが(-0.7 V 付近のビ

ークはアーティファクト)、Ag を添加すると-0.4 V 付近でわずかではあるが、電流を観測できた(図8)。一方、Watson Crick 塩基対では電子伝達により電流を観測でき、Ag を添加しても2本鎖に結合せず、2 本鎖構造は不変であるので電流値は変化しないと期待された。AQ-Am-APM-F25C-Thio: APM-R25Gに Ag を添加する前は、理由は不明だが、電流を観測できず(-0.7 V 付近のピークはアーティファクト)、Ag を添加すると-0.4 V 付近でわずかではあるが、電流を観測できた(図9)。Ag 添加に伴う電流変化が、AQ-Am-APM-F25C-Thio: APM-R25C とAQ-Am-APM-F25C-Thio: APM-R25G の間で、あまり差がなかった。

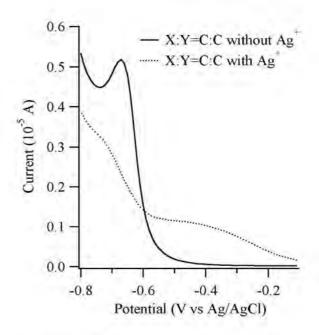


図 8 Ag⁺非存在下および存在下における AQ-Am-APM-F25C-Thio:APM-R25C の矩形波ボルタンメトリー

4. まとめ

II 型糖尿病の発症に関連する、インシュリン遺伝子とアディポネクチン遺伝子の SNP を含む領域の 2 本鎖 DNA の片鎖の 5 末端を電子授受可能なアントラキノン誘導体で標識し、3 末端をチオール

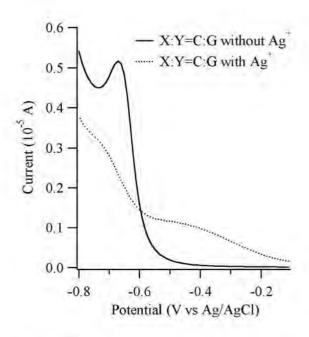


図 9 Ag*非存在下および存在下における AQ-Am-APM-F25C-Thio:APM-R25Gの 矩形波ボルタンメトリー

基で標識し、金電極上に固定化した。この金電極上に Hg²または Ag を添加する前と添加した後の電流を矩形波ボルタンメトリーで解析し、SNP の電気化学的検出方法に関する基礎的知見を得ることができた。

謝辞

本研究は、中谷電子計測技術振興財団の研究助成金を受領して実施したものであり、同財団に深く感謝する。

参考文献

- 1) Kwok, P.-Y., Chen, X., Detection of Single Nucleotide Polymorphisms, *Curr. Issues Mol. Biol.*, **5**, 43-60 (2003).
- 2) Chen, X., Sullivan, P. F., Single Nucleotide Polymorphism Genotyping: Biochemistry, Protocol, Cost and Throughput, *Pharmacogenomics J.*, 3, 77-96 (2003).
- 3) Twyman, R. M., Primrose, S. B., Techniques Patents for SNP Genotyping, *Pharmacogenomics*, 4, 67-79 (2003).
- 4) Wang, L., Luhm, R., Lei, M., SNP and Mutation Analysis, *Adv. Exp. Med. Biol.* **593**, 105-116 (2007).
- 5) Le Stunff, C., Fallin, D., Schork, N. J. and Bougneres, P., The Insulin Gene VNTR is Associated with Fasting Insulin Levels and Development of Juvenile Obesity, *Nature Genetics* **26**, 444-446 (2000).
- 6) Vasseur, F., Helbecque, N., Dina, C., Lobbens, S., Delannoy, V., Gaget, S., Boutin, P., Vaxillaire, M., Lepretre, F., Dupont, S., Hara, K., Clement, K., Bihain, B., Kadowaki, T., and Froguel, P., Single-Nucleotide Polymorphism Haplotypes in the Both Proximal Promoter and Exon 3 of the APM1 Gene Modulate Adipocyte-Secreted Adiponectin Hormone Levels and Contribute to the Genetic Risk for type 2 Diabetes in French Caucasians, Hum. Mol. Gen., 11, 2607-2614 (2002).
- 7) Torigoe, H., Ono, A., and Kawahashi, K., Thermodynamic Analyses of the Specific Interaction between T:T Mismatch Base Pair

- and Mercury (II) Cation, Nucleic Acids Symp. Ser., 48, 275-276 (2004).
- 8) Torigoe, H., Kozasa, T., and Ono, A., Detection of T:T Mismatch Base Pair by Fluorescence Spectral Change upon Addition of Mercury (II) Cation, *Nucleic Acids Symp. Ser.*, **50**, 223-224 (2006).
- 9) Torigoe, H., Miyakawa, Y., Kozasa, T., and Ono, A., The Specific Interaction between Two T:T Mismatch Base Pairs and Mercury (II) Cation, Nucleic Acids Symp. Ser., 51, 185-186 (2007).
- 10) Torigoe, H., Ono, A., and Takamori, A., Silver (I) Cation Specifically Stabilizes Heteroduplex with C:C Mismatch Base Pair, Nucleic Acids Symp. Ser., 48, 101-102 (2004).
- 11) Torigoe, H., Kozasa, T., Takamori, A., and Ono, A., Thermodynamic Analyses of the Specific Interaction between C:C Mismatch Base Pair and Silver (I) Cation, *Nucleic Acids Symp. Ser.* 49, 217-218 (2005).
- 12) Torigoe, H., Kozasa, T., and Ono, A., Detection of C:C Mismatch Base Pair by Fluorescence Spectral Change upon Addition of Silver (I) Cation, *Nucleic Acids Symp. Ser.*, **50**, 89-90 (2006).
- 13) Torigoe, H., Kozasa, T., and Ono, A., The Specific Interaction between Two C:C Mismatch Base Pairs and Silver (I) Cation, Nucleic Acids Symp. Ser., 51, 183-184 (2007).

発表論文

 Kozasa, T., Miyakawa, Y., Ono, A., and Torigoe, H., The Specific Interaction between Metal Cation and Mismatch Base Pair in Duplex RNA, *Nucleic Acids Symp. Ser.*, 52, 197-198 (2008).

- 2) Torigoe, H., Miyakawa, Y., Fukushi, M., Ono, A., and Kozasa, T., Development of a Novel Device to Trap Heavy Metal Cations: Application of the Specific Interaction between Heavy Metal Cation and Mismatch DNA Base Pair, Nucleic Acids Symp. Ser., 53, 23-24 (2009).
- 3) Kozasa, T., Miyakawa, Y., Fukushi, M., Ono, A., and Torigoe, H., Development of a Novel Method to Determine the Concentration of Heavy Metal Cations: Application of the Specific Interaction between Heavy Metal Cation and Mismatch DNA Base Pair, Nucleic Acids Symp. Ser., 53, 179-180 (2009).

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



研究責任者 防衛医科大学校分子生体制御学講座 准教授 守 本 祐 司 共同研究者 防衛医科大学校分子生体制御学講座 助 教 松 尾 洋 孝 防衛医科大学校分子生体制御学講座 教 授 四ノ宮 成 祥

1. はじめに

近年、GFPや量子ドットといった蛍光色素プローブの出現により生細胞中での一分子観察が身近なものになってきた。しかし、蛍光プローブの退色は速く、観察可能時間は数十秒内と短い。また、S/N 比が低いため、高時間分解能の画像取得が困難である。量子ドットの登場により、これらの問題が軽減しつつあるが、毒性等、克服すべき課題は多い。別の問題として、蛍光色素による分子標識の場合、基本的には分子の位置情報しか捉えられない。すなわち、被標識分子の代謝状況や細胞膜における挙動(通過、結合、破壊)、あるいは他の分子との結合・解離といったことを知るのはきわめて困難である。

我々は、長時間かつ高時間分解能で細胞内外の 複数情報を取得する、非蛍光細胞標識による分子 イメージング法の確立を目指している。基盤技術 の確立のため、金ナノ粒子(Gold nanoparticle: GNP)のプラスモン共鳴による散乱光を利用する ことによって、上記条件を満たす一分子追跡技術

の開発に着手した。可視光波長よりもはるかに小 さい (<~100 nm) GNP に白色光をあてるとプ ラスモン共鳴によって一部の波長域が吸収され、 特異な波長スペクトラムをもったレイリー散乱 光が励起される。したがって、GNP を分子標識 マーカーとして機能させ、レイリー散乱光を捕捉 すれば、蛍光標識によらない分子イメージングが 可能となる。また、プラスモン共鳴現象の特性よ り、散乱光スペクトラムは、GNP の形状、大き さ、界面の誘電率、粒子相互間距離などによって 大きく変化すること[参 2.3]が知られていて、これ らの特性により、蛍光色素標識では取得困難な、 分子動態に関する情報を得ることができる。換言 すると、GNP 標識分子の、代謝や細胞膜への結 合、あるいは他分子との結合といった挙動は、 GNP 界面の誘電率や粒子相互間距離を変化させ、 散乱光スペクトラム変化を誘導するため、散乱光 を分光分析することによって、これらの分子挙動 を空間的、時間的に把握することができる。

2. 金ナノ粒子のプラスモン共鳴による散乱光を 観察するシステム

GNP 標識された分子の、分子挙動に応じた散 乱光スペクトラム変化に関しては少しずつ報告 され始めているが[参 4]、これらの変化を ms オー ダーで、イメージ化あるいは分光測光するところ までは到達されていない。その原因は複合的であ る。ナノメートルサイズ粒子の散乱光を観察する には、背景光(ノイズ)と GNP 散乱光(シグナル)のコントラストを大幅に向上させた暗視野光 学系が必要であり、そのためには、強力な光源、 背景光を低減させた光学系、高時間分解能・高感 度カメラなどを必要とする。さらに、信頼性の高い分光測光のためには、光量が可視全域 (400-800 nm) にわたって平坦な特性を有する光源、高速・高波長分解能分光システムなども必要とする。これらの諸問題にたいして我々は、300W キセノンランプを基にした高光量ブラット服射波長光源系を開発し、また、光学系として全反射照明による暗視野顕微鏡システムを新たに考案・構築した。さらには、分光分析のために3CCD カメラによるGNP イメージより分光情報を算出できるアプリケーションを新規作製した。

金ナノ粒子のプラスモン共鳴による散乱光のイメージング

3.1. GNP 散乱光のライブイメージ上述のシステムにより、GNP からの散乱光を

30 frames/sec の時間分解能で取得できた。図1 は、生理的緩衝液(PBS)中に懸濁させた直径 40 nm の GNP である。プラウン運動で動きまわる GNP(白色斑点)が観察できた。



Fig. 1 Live-image of gold nanoparticles. 40-nm gold colloids (10º / uL-PBS), 30 frames /sec

3.2. 細胞近傍での GNP 挙動の解析

細胞(肺がん細胞、A549)存在下のGNPの挙動について観察を行った。図2に示すように、細胞の偽足(Pseudopod)近傍にGNPが近づくと、ブラウン運動の速さは低下する様子が観察された。さらに定量的解析を加えたものを図3に示す。GNPが細胞から5 μm 以上遠隔にある場合

(Extracellular)、GNP のブラウン運動の速度
(Diffusion coefficient)は、約2.4 µm²s であり、
静止時間(Stationary time)は、約0.6 s であった。一方、GNP が細胞表面上(Cellular surface)
や偽足(Pseudopod)近傍1 µm 以内に存在する
ときは、ブラウン運動の速度が遅くなり、静止時間が延長することがわかった。



Fig. 2. Gold colloids adhering to cellular pseudopod. 3 frames /sec

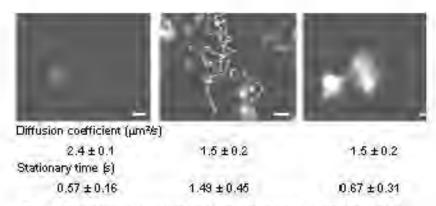


Fig. 3 Brownian movement of gold nanoparticles in the vicinity of cells. 40-nm gold colloids (10⁸ / μL-PBS), 30 frames /sec, Bar = 1 μm.

3.3. トランスフェリン - GNP 結合体のがん細胞への結合

がん細胞では、鉄運搬タンパクであるトランス フェリンと結合するトランスフェリン受容体の 発覚が、細胞膜上において認められる。そこで、 がん細胞と GNP を特異的に結合させることを目 的に、トランスフェリンーGNP 結合体(TcGmp) を合成して、これをがん細胞に添加した。その結 果、図4に示すように、トランスフェリン受容体 の発現を亢進させた細胞では(DFX-treated cells)、無処理細胞(DFX-untreated cells)に比 べて、GNP との結合量が有意に大きくなった。

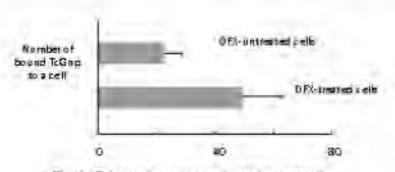


Fig. # Enhanced expression of transferm receptors

3.4. GVP 同士の近接によるスペクトラム変化

ToGrap が細胞腫上にあって運動する際、2つの ToGrap 間の距離が近づくことがある。GNP 同士 が粒子怪より短い距離にまで近づくと、近接効果 として、散乱光のスペクトラムが長波長側にシフトする残象が知られている[参 1]。我々が開発した観察解析システムによりその様子をリアルタイムに構捉することができた。図5 上段は、2つの GNP が近づく様子を示したものである。左端 写真に2つの GNP が見られるが(緑色と橙色 白黒写真だと、右上と左下)、右端写真ではこれ らが近づいて一つの球として観察された。図5 下 酸は、上腺の各 GNP からの散乱光強度と波長ス ペクトラムを示したものである(図5 上腺の棒が 図5 下腺の Y 軸方向と一致するように描いてあ あ)。 2つの GNP 間の距離が近づくにつれて、 散乱光スペクトルが長波長にシフトするととも に、散乱光強度が増大するのが見て取れる。

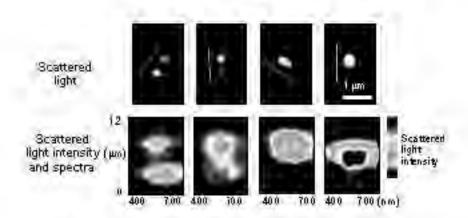


Fig. 5 Enhanced intensity and spectral shift of scattered light from TcGipps due to proximity effect.

3.5. GNP 南辺環境におけるスペクトラム変化 GNP 表面の競勵率の違いにより、数乱光スペ

クトラルが変化することが知られている[参 5]。 この場合の誘電率は、屈折率のことを指す。我々 が開発した観察解析システムにより、波長分解能 ~2 nm で GNP 由来の散乱光スペクトルを計測 することができた。図 6 は、細胞度上にある ToGnp (図 6 左側写真の右四角内) と細胞外にある る ToGnp (図 6 左側写真の左四角内) と細胞外にある る ToGnp (図 6 左側写真の左四角内) それぞれの 散乱光スペクトルを示したものである。GNP が 細胞度にある場合、その散乱スペクトラルビーク は 538 nm に見られたが、GNP が細胞外にある ときは、550 nm にピークが観察された。すなわち、GNP が細胞外から移動して細胞膜に結合すると、散乱光スペクトルが12 nm 短波長にシフトすることがわかった。細胞外での屈折率は水のそれと同等で、約1.33 であるが、細胞膜の屈折率は、約1.37 であるので、この屈折率差が散乱光スペクトルの差に反映されていると推定される。細胞膜上と細胞膜外と間で、GNP 由来の散乱光スペクトルピークの差が計測できたことで、このシステムが、GNP の細胞膜への結合する様子をリアルタイムモニタリングできる潜在的能力があることを示せた。

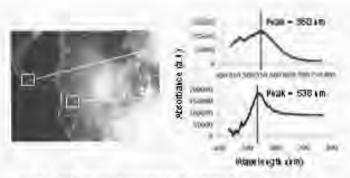


Fig. 6. Shift of peak absorbance of TcGnps due to binding of TcGnps to cellular membrane.

4 まとめ

本研究では、標的分子のリガンドと結合した GNP を、白色光源による暗視野頭微鏡系を用い て可視化することにより、細胞膜上での GNP 挙 動観察、さらには、GNP の細胞膜への結合をモ ニタリングすることができるようになった。GNP 由来の散乱光をイメージングする手法は、蛍光イ メージング法よりも光強度が大きく、光服射によ る退色は原理上ゼロであることより、利用価値は 高い。また、GNPは、生体に対する毒性が低い こと、粒子がナノサイズで生体観和性を確保しや すいことなどから、生細胞へも適用しやすい。 我々は、本技術を進化させ、さらに高度なイメー ジング法の確立を目指している。GNP の非常に ユニークな光学諸特性より、本手法は新しいパイ オイメージング技術への架け橋になると確信さ れる。

神話年

本研究は、財団法人中谷電子計測技術提興財団 の開発研究助成(平成 19 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.] Su K.H., Wei Q.H., Zhang X., Mock JJ., Smith DR., Schultz S. Interparticle Coupling Effects on Plasmon Resonances of Nanogold Particles. Nano Lett 2003, 3:1087-1090.
- [2.] Schultz S, Smith DR, Mock JJ, Schultz DA. Single-target molecule detection with nonbleaching multicolor optical immunolabels. Proc Natl Acad Sci U S A 2000; 97:996:1001.
- [3.] Kalyuzhny G, Vaskevich A, Schneeweiss M, Rubinstein I Transmission surface plasmon resonance (T-SPR) measurements for monitoring adsorption on ultrathin gold island films. Chemistry 2002; 8:3849:3857.
- [4.] El-Sayed IH, Huang X, El-Sayed MA. Surface plasmon resonance scattering and absorption of anti-EGFR antibody conjugated gold nanoparticles in cancer diagnostics: applications in oral cancer Nano Lett 2005; 5:829-834.
- [5.] Tam F, Moran C, Halas N. Geometrical parameters controlling sensitivity of nanoshell plasmon resonances to changes in dielectric environment. J Phys Chem B 2004; 108:17290 - 17294.

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



研究責任者 豊橋技術科学大学 特任准教授 南 哲 人

1. はじめに

インターネットの普及などで大量の情報が氾濫する中で、情報の受け手側であるヒトに優しい通信技術の開発が望まれている。そのような技術の開発のためには、ヒトが、どのように情報を理解しているかの脳システムの理解と共に、ヒトの理解度や意識した内容を、脳活動から抽出する技術の開発が不可欠となってきている。

これまでにおこなった研究では、知覚闘争において、主観的意識の切り替わりに関係する脳活動を調べてきた。知覚闘争とは、たとえば、左下のような図を見ると、「壷」と「人の横顔」のどちらかに見えるように、同じ入力に対して、脳は異なる「見え」、主観的体験をし、かつそれら複数

の解釈は競合し、さらに、その見えは固定化されることなく、時間的に遷移する現象のことであり、ヒトの意識を調べる現象として近年、非常に注目されている現象である。最近、非侵襲の脳計測手法を用いて、主観的情報を読み取る技術開発(BCI=Brain-Computer Interface 技術)に関する研究が進められている中で^{1)~4)}、現在行っている研究が、このような BCI 技術に貢献できるのではないかと考えた。主観的意識の切り替わりを脳活動から読み取る、つまり、被験者の見えがいつ切り替わったかを脳活動だけから抽出する技術の開発である(図 1 参照)。そこで、本研究では、多義的な情報を理解するときのヒトの脳活動を測定し、その活動の時空間周波数パターンに着目



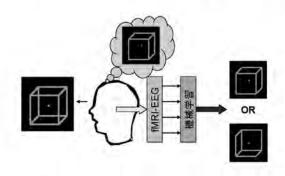


図1 研究概念図

して、ヒトが意識している内容を復元・抽出する技術の開発を目指す。前述の研究も含めて、BCI研究は、単一の非侵襲脳計測法に頼ってきた。しかしながら、核磁気共鳴機能画像法(fMRI)は、空間分解能は非常に高いが、時間分解能は悪い。一方では、脳磁場計測(MEG)、脳波(EEG)は、時間分解能は非常に高いが、空間分解能は悪いというように、脳活動計測法は、それぞれの特長を持つ。そこで、複数の脳機能計測手法を組み合わせることにより、より時間精度の高いBCI技術の開発を目指した。

2. 研究方法・研究内容

本研究では、ヒトの自然・不自然の感覚を脳波 から抽出できるかを検討するとともに、空間分解 能の高い核磁気共鳴機能画像法(fMRI)と時間分 解能の高い脳波(EEG)を組み合わせることにより、 両方の特長を生かした精度の高い脳活動を計測 して、その情報から、主観的知覚の切り替わりの 時間変化の情報を抽出する。

2.1 実験1

まずは、脳波だけで高次な知覚情報が引き出す ことが可能かどうかを検討するため、オドボール 課題における P300 成分の判別を行った。本研究 ではオドボール課題における P3 振幅と刺激対と の関係に着目した。具体的には、2種類の刺激 A、 Bに対し、Aを標的刺激(Bを標準刺激)に設定 した場合と、 Bを標的刺激(Aを標準刺激)に設 定した場合について、P3 振幅を比較する。もし、 P3 振幅が刺激頻度のみによって決まっているの であれば、それは刺激の役割を入れ替えることで 変化しないはずである。逆に、刺激頻度のみでは なく、いわゆる実世界における頻度、すなわち見 慣れているか、あるいは自然かによっても P3 振 幅が変化するのであれば、標的刺激と標準刺激の 質の違いを反映した P3 非対称性が現れることが 期待される。実験刺激として、顔画像、オレンジ

画像、ポーズ画像の不自然画像と自然画像(図 2) を使用した。顔の不自然画像は青い色をした顔で あり、オレンジの不自然画像は、果実の色が灰色 になっており、実生活において一般に見ることの ない色で表される。ポーズの不自然画像は人間が 行うことが出来ない、関節が折れ曲がった形とな っている。実験の結果、2 種類の画像で、オドボ ール課題を行い、その画像の役割を交代させるこ とで ERP に非対称性が現れる画像(顔画像、身体 ポーズ画像、記憶色)があることがわかった(図 3)。特に、身体ポーズ画像に対しては、倒立さ せた場合には、そうした P3 非対称性が消失し、 倒立効果(倒立させることによって対象物の不自 然さを知覚しにくくなる現象)との相関が認めら れた。また、顔色などの記憶色に関わる反応から も、P3 非対称性が認められた。このように、オド ボール課題における P300 成分が、呈示刺激画像 に対する「自然」、「不自然」という感性に強く 影響を与えていることをわれわれば、報告したり。

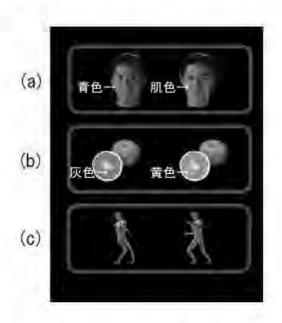


図2 実験に用いた視覚刺激

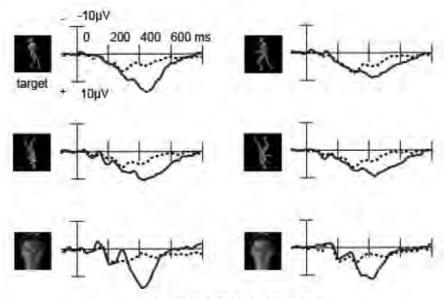


図 3 P3 非対称性の結果の例

この結果をうけて、P3 に着目することにより、ヒトがある刺激に対して、不自然に感じているか、自然に感じているかの意識情報が、脳活動から抽出できないかと考えて、その検討を行った。生体アンプ (Polymate、TEAC製)を用いて、課題遂行中の被験者の脳波を計測した。エレクトロキャップ (日本光電製)を用いて被験者に装着し、国際10-20 法に基づく、19 チャンネルの電極から計測した。 測定された脳波データから、不自然画像を標的刺激、自然画像を標準刺激としたオドボール課題の標的刺激と、自然画像を標的刺激、不自然画像を標準刺激としたオドボール課題の標的刺激と、このタスクでは人が「自然」、

「不自然」と感じている認知状態がオドボール課題の標的刺激の P300 から推定できるか検証する。 それぞれの標的刺激の試行回数はほぼ同等のため、可能な限り学習データとして使用した。

オドボール課題におけるP300は頭頂の電極Fz、Cz、Pzで強く観測され、潜時300-500[ms]で出現することが一般的に知られている。そこで、P300が強く観測されていると思われる電極Fz、Cz、Pzの3電極と刺激呈示後250-500[ms]をセグメンテーションした。また、P300以外の成分が判別において強く関係している可能性を考慮し、(図4)の

19 チャンネルの電極と刺激呈示後 0-600 [ms]でのセグメンテーションを行った。また、本研究では空間的主成分分析として、チャンネルの次元を減少させた。チャンネル方向に主成分分析を適用し、各チャンネル間で ERP の特徴を抽出し、次元を減少させることで SVM における、計算量の減少が目的である。本研究では、主成分分析によって得られた成分から、第一成分のみをと第三成分までの成分を使用した。それぞれ、累積寄与率がおよそ60%と 90%となっている。

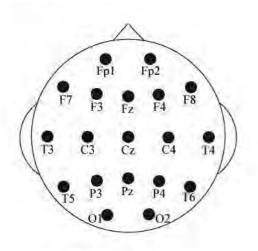


図4 国際10-20法

近年、サポートベクタマシンと呼ばれる分類手 法が注目を浴びている。データを2つに分類する ための、マージン最大化という考え方により従来 の線形判別システムより、未学習のデータ郡をよ り高精度で判別することを可能にしている。この マージン最大化とは、超平面とトレーニングデー タの隙間を出来る限り大きく取ろうと試みるこ とである。このマージン最大化により、データの 特徴量の次元が大きくなっても分類精度を高く 保てるという利点を有する。主成分分析から得ら れた時間成分データを正規化したデータに SVM を 使用して、オドボール課題で得られた単一試行脳 波データから人の認知状態判別を行った。SVM は Suykens ら ⁶⁾により提案された最小自乗サポート ベクタマシン Least Squares Support Vector Machines (LS-SVM) を使用した。カーネルは線形 カーネルを使用した。SVM のトレーニングは交差 確認法により、すべての単一試行で行った。

2.2 実験 2

次に、研究では、空間分解能の高い核磁気共鳴機能画像法(fMRI)と時間分解能の高い脳波(EEG)を組み合わせることにより、両方の特長を生かした精度の高い脳活動を計測して、その情報から、主観的知覚の切り替わりの時間変化の情報の抽出を目指した。

被験者には、EEG キャップをかぶった状態で、 FMRI スキャナの中に入ってもらう。その中で、多 義図形(双安定性仮現運動)(図 5)を観察し、主 観的な見えの切り替わりをボタン報告するとい うタスクを行う。そのときの脳活動について、 fMRI-EEG 同時測定(10 試行)した。

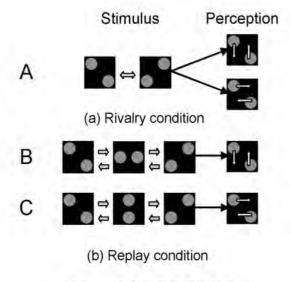


図 5 双安定性仮現運動刺激

fMRI 計測は、NiCT にある Siemens 製 3.0TMRI 装置(Siemens MAGNETOM Trio)を用いた。EEG 計測 には、同じく NiCT にある Brainamp、Braincap MR64 (Brain Products 社)を用いた(図 6)。



EEG(脳波)計測



fMRI-EEG同時計測

図6 fMRI-EEG 同時計測

fMRI 信号は SPM5 (http://www.fil.ion.ucl.ac. uk/spm/software/spm5/)によって解析を行った。 脳波信号は、Brainanalyzer2 を用いて、MRI のスキャンによるスキャンアーチファクトと心拍によるパルスアーチファクトを除去し、EOG 信号を利用して、眼球運動によるアーチファクトも除去した。それらの信号を、被験者のボタン押しに関連してセグメンテーションした後に、複素モレットウェーブレット変換を用いて、4Hz~51Hz の周波数パワー信号に変換した(ベースラインはボタン押し後50~450ms とした)。

これらのパワーデータを用いて、被験者が、 双安定性仮現運動の縦・横どちらの方向を知覚 しているかを判別した。判別には、libsvmパッ ケージを使用した。カーネルは線形カーネルを 使用した。SVM のトレーニングは交差確認法に より、すべての単一試行で行った。

3. 実験結果

3.1 実験 1

それぞれのオドボール課題の標的刺激を呈示したときに誘発された脳波から認知状態推定を行った。図 7 の結果から、19 チャンネル、Epoch0-600msの解析条件において最も精度よく状態判別できた。3 チャンネル、Epoch250-500msの条件結果と比較すると、ポーズ画像の判別はほぼ同じとなっているが、顔画像とオレンジ画像において大きく精度が異なっている。本タスクでは、どちらの状態もオドボール課題の標的刺激で得られたデータであるため、P300 成分は似たような波形となっている。標的刺激同士の判別においてP300 成分だけを比較して判別することは困難であるといえる。そのため、頭頂以外のチャンネル、幅広い時間幅も含めたトレーニングデータが状態判別において大きく関わっていると考えられる。

被験者全体の平均では、状態推定率 64%と充分に判別できているとはいえない。しかし、個々の被験者の結果では最も高い確率で 91%の精度で判別できた。本タスクでは、ERP における微細な変化から認知状態推定を行っているため、測定時における被験者の体調や、個人差により推定結果の分散が大きくなったと思われる。

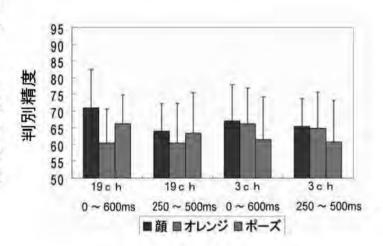
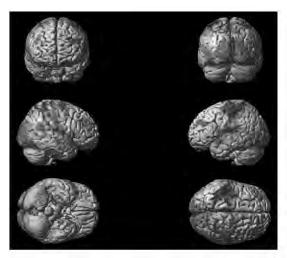


図7 各条件における判別結果

3.2 実験 2

次に、知覚闘争中の fMRI による脳活動結果を図 8 に示す。同時計測した脳波データに関して、知覚方向の判別を行うと、被験者平均で、54%の判別精度しか得られなかった。原因としては、実験1の課題と異なり、刺激事態の変化はないという判別タスク自体の難易度や、MRI 関連のアーチファクトがうまく取り除けていない可能性がある。今後は、fMRI シグナルも特徴量に加えるとともに、事前処理や判別手法などを検討することにより、判別精度を上げていきたい。



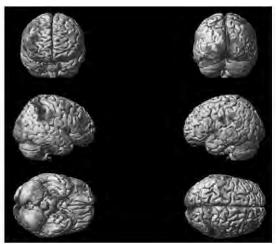


図8 知覚闘争中の fMRI による脳活動結果

4. まとめ

日常身体活動におけるヒトの意図抽出という 観点からは、fMRIという巨大な装置に頼っている 限りは、実用化は困難であると考えられる。しか しながら、本研究によって、fMRI-EEG 同時測定に よるBCI技術の有効性が示されれば、fMRIと同様、 脳活動に伴う血流量変化をとらえるが、可搬性の 高い近赤外分光法 (NIRS) と EEG を組み合わせた 小型の計測装置の開発につながると考えられる。 本研究における基礎技術の開発は、コミュニケ ーションが不自由になってしまった患者に対す る補助器具の開発や、車などのドライバーの注意 力の低下を検出する運転補助装置の開発、消費者 の心理を分析するようなマーケティング分野で の応用など幅広い分野への波及効果が考えられ る。

謝辞

今回の研究は、中谷電子計測技術振興財団の助 成によってサポートされました。関係者の方々に 深く感謝申し上げます。

参考文献

- 1. Haynes, J.D. and G. Rees, *Decoding mental* states from brain activity in humans. Nat Rev Neurosci, 2006. **7**(7): p. 523-34.
- 2. Kamitani, Y. and F. Tong, Decoding the visual and subjective contents of the human brain. Nat Neurosci, 2005. 8(5): p. 679-85.
- 3. Kamitani, Y. and F. Tong, Decoding seen and attended motion directions from activity in the human visual cortex. Curr Biol, 2006. 16(11): p. 1096-102.
- 4. Haynes, J.D., J. Driver, and G. Rees, Visibility reflects dynamic changes of effective connectivity between V1 and fusiform cortex. Neuron, 2005. 46(5): p. 811-21.
- 5. Minami, T., et al., Asymmetry of P3 amplitude during oddball tasks reflects the unnaturalness of visual stimuli.

 Neuroreport, 2009. 20(16): p. 1471-6.
- 6. Suykens, J.A., J. Vandewalle, and B. De Moor, Optimal control by least squares

support vector machines. Neural Netw, 2001. 14(1): p. 23-35.

1. 発表論文および学会発表

- 1. Minami, T., et al., Asymmetry of P3 amplitude during oddhall tasks reflects the unnaturalness of visual stimuli. Neuroreport. 2009. **20**(16): p. 1471-6.
- 2. 横田悠右,後藤紀美子,南哲人,中内茂樹, 視覚刺激における P300 からの高次認知状態の推 定,第 23 回生体・生理工学シンポジウム論文集 (BPES2008),pp. 27-30 (2008)

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



研究責任者 防衛医科大学校医用工学講座 助 教 大 森 努

1. はじめに

著者は現在光熱分光法を利用して生体材料ま たは組織へ適用できる測定技術の開発に携わっ ている。光熱分光法とは、主に光吸収または光反 応によって発生した熱の作用によって発生する 物理量の変化をとらえる。光音響法では瞬間的な 熱膨張によって発生した音響波をとらえ、光熱レ ンズ法では熱によって変化した屈折率がレンズ 効果を起こして、別途入射した参照光の広がり・ 収束として検出される。光熱分光法は時間分解測 定を行うことにより、物質量の熱の分布が平衡に 達するまでの時間変化をとらえることができる。 そのため、検出された情報は動的物性(熱拡散・ 分子拡散・粘性・弾性)といった量と深く関連す る。特に粘性・弾性といった物理量は生体材料・ 組織の診断としても重要な物理量であるため、光 熱分光法は生体材料の動的物性を非破壊・非接触 で評価する手法として注目されている。

著者は光熱分光法の一つとして過渡回折格子法(Transient Grating 法,以下TG法)^山に着目した。 TG 法は熱の拡散や分子の拡散を非常に幅広い時間スケール(ナノ秒から秒単位)まで測定可能な 手法である。また TG 法は主にナノ砂より短いパルスによる光誘起によって音波を検出することができ、また、界面に適用すれば表面張力波なども検出可能である。したがって、動的物性値を知るために生体材料および組織への利用できれば、強力なツールとなりうる。

本報告書では財団助成期間中において、生体材料および組織に対してTG法の適用可能性について、色素を導入したゲル模擬試料に対して検証した結果について、報告する。

2. TG 法による測定

2.1. TG 法の原理

TG 法は 2 つのレーザー光を交差させて発生する「光の干渉縞」を使って対象を励起する。すると、光吸収は干渉縞の光の強いところだけで生じるから、それによって発生する熱や反応分子は、干渉縞と同じパターンで生成する。この熱や分子の縞が、過渡的な回折格子となる性質を用いた分光法である。このようにして生じた回折格子にBragg 角を満たすように別の光(プローブ光)を入射すると、光が回折され、これが TG 信号光と

して検出される。この TG 信号光は、熱や分子が 拡散していくと徐々に強度が弱くなっていくか ら、信号光の減衰時定数が拡散係数を表すパラメ ータになる(図1)。

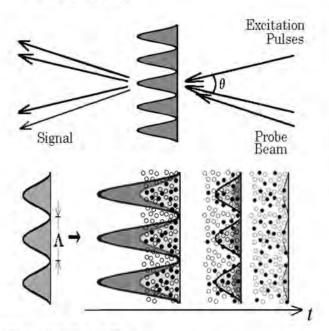


図1 TG法の原理。

光の干渉縞で励起された分子が反応し「熱の縞」と 「生成物の縞」ができる。各々の縞の緩和寿命(熱拡 散および分子拡散)に伴い、信号としての回折光は減 少する。

TG法によって得られる回折強度 I_{TG} は光励起後に発生する屈折率変化 Δn によって決まり、熱による屈折率 Δn_{th} と分子による屈折率 Δn_{sp} との寄与に分割して記述すると、熱拡散係数 D_{th} , 分子の拡散係数 D_{sp} , 励起光の交差角で決まる格子定数を q として、

と記述される(実際は複素屈折率であるが、虚部 は吸収に対応する。ここでは無視できる)。

2.2. Bragg 角の条件

波長 λ_{ex} の励起光を角度 θ_{ex} で交差したときにできる干渉縞の間隔 Λ は、

$$\Lambda = 2\pi/q = \lambda_{ex}/2\sin(\theta_{ex}/2) \qquad \cdots (2)$$

である。光励起によってこの長さをもつ間隔の回 折格子が過渡的に生じるから、波長 λ_{pr} の検出光 を強く回折する入射角度 θ_{pr} は、Bragg 角の条件

$$2\Lambda \sin(\theta_{pr}/2) = \lambda_{pr}$$
(3)

である。式(2),(3)より最終的には

$$\frac{\lambda_{pr}}{\lambda_{ex}} = \frac{\sin(\theta_{pr}/2)}{\sin(\theta_{ex}/2)} \sim \frac{y_{pr}}{y_{ex}} \qquad \cdots (4)$$

を満たせばよい。ここで y_{ev} 、 y_{pr} は図 2 に示す距離であり、角度 θ_{ex} 、 θ_{pr} が十分小さいとした。図 2 のような配置を満たすような間隔 3 つの平行光線を、1 つのレンズで集光すればよい。

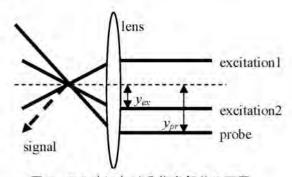


図2 TG 法における集光部分の配置

2.3. 装置

励起光としてはNd:YAGナノ秒パルスレーザー (Continuum, Minilite, 8-10 ns)の2倍波(532nm)を、検出光としては830nmのダイオードレーザー (NewPort, LPM830-30E, CW)を光源とした。励起光はビームスプリッタで2つに分割して、等距離の光路をたどり、なおかつ検出光と共に3つの平行光線となるようミラーで調整し、レンズで集光した(光学配置は図3)。TG信号光(回折光)は試料通過後、ピンホールを通したのち、光センサモジュール(浜松ホトニクスH6780-20MOD)によって検出した。なお、TG信号光は条件が整えば肉眼でも確認できることがあるが、一般的には非常に弱い。特に今回は近赤外光を利用しているため、視認は困難である。

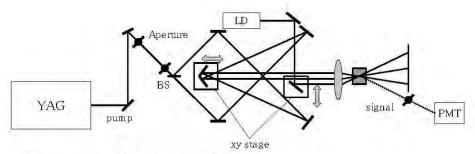
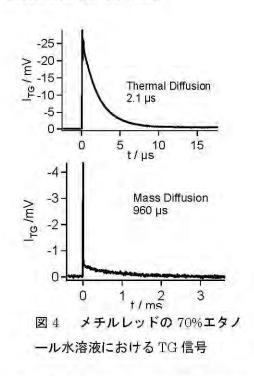


図 3 TG 信号測定光学配置図の一例 LD=ダイオードレーザー、BS=ビームスプリッタ、PMT: 光センサモジュ

2.4. TG 法による測定の結果

まずメチルレッドの 70%エタノール水溶液を 1cm 角の光学セルに封入し、参照試料として TG 信号の検出を試みた (図 4)。メチルレッドは通常 trans 型の配置をした分子であるが、光異性化反応 によって cis 型に変化する。そのため、trans メチルレッドと cis メチルレッドの分子の屈折率差に よる TG 信号により、メチルレッドの分子拡散を 示す遅い減衰信号が観測されることがこれまで の研究でわかっている [2,3]。 既知の熱拡散係数 (水:1.4×10⁻⁷ m²/s, エタノール:8.1×10⁻⁸ m²/s) から 70%エタノール水溶液の熱拡散係数は 1.0×10⁻⁷ m²/s と推定され、これと減衰時定数から求めたメチルレッドの分子拡散係数の値は、2.2×10⁻¹⁰ m²/s であった。この値は、溶媒の異なるメチルレッドの分子拡散係数[2]から考えても妥当な値である。

そこで、生体模擬試料として、メチルレッドを 混入した 5% 豚皮由来ゼラチン水溶液をそれぞれ 電子レンジにて加熱して沸騰・溶解させた後、室 温および 4℃にて 30 分間以上冷却して約 5 mm 厚 の試料を作製した。容器は細胞培養用の dish また は 1cm 角光学セルである。この試料に対して TG 信号の検出を試みた結果、得られた信号は小さい だけでなく、100μs − 1 ms 単位の遅い減衰を示す 形状には再現性があるものの、不安定な信号形状 を伴い、解釈は困難であった(図 5)。このゼラチ ン試料は目視する限り、透明度が保たれているも のの、ところどころわずかに不均一な物理散乱に よる透過像の屈折が見られる。原因はゼラチンが 冷却によりゲル化する時の部分的な収縮の違い によるものである。この影響を排除しようと試料 の冷却時間を長くしてより均一性を保とうとし たり、レンズを入れるなどして散乱されている信 号光の集光に努めたりしたが、議論可能になるま での改善は見られなかった。



これは研究提案時からの懸案事項ではあったが、TG 法の弱点は信号光を回折現象によってえることから原理的に散乱に弱い。生体材料および組織に利用するためには困難が当初から予想さ

散乱性をもつ素材においても、TG 法の適用に障 害となることが明らかとなった。

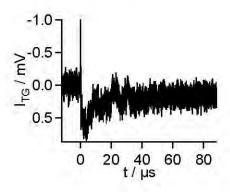


図 5 メチルレッドの 5%ゼラチ ン試料における TG 信号

3. 近接場へテロダイン過渡回折格子法の適用

計画書段階では特に挙げていなかったが、著者 は TG 法を散乱の強い生体材料に応用する現実的 な方法として、近接場へテロダイン過渡回折格子 法(以下、NF-HD-TG法)を想定していた。通常 の TG 法が予想以上に散乱に影響される見通しと なったため、この NF-HD-TG 法の構想を前倒しす ることとした。

NF-HD-TG 法は片山らによって発案された分光 法である[4]。光学系が一般に複雑となるTG法を、 透過型回折格子の利用によって非常に安定かつ 簡便に測定することができる手法である。この手 法は以下に示すように、散乱に対して比較的強い 分光法であり、目視で白濁しているような試料に おいても測定を行った実績がある[4,5]。

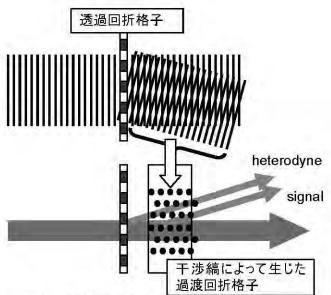
そこで、実際に中央大学の片山建二准教授、永 徳丈助教の助言を得て、NF-HD-TG 法の光学系を 構築して、生体材料に適用できる可能性を検証し to

3.1. NF-HD-TG 法の原理

基本的な光学系は、試料直前に透過回折格子を 配置し、励起光と検出光の2つの光を同軸に入射

れたが、現実的に、ゼラチンのようなかなり弱い し、試料後方で回折格子からの1次回折光を検出 する。この1次回折光がすでに(ヘテロダイン) TG 信号としての意味を持つ。それは以下のよう なメカニズムである。

> 図 6 に原理の概略を示す。入射した励起光は、 透過回折格子により0次光である直進光と、1次、 2次…の回折光が発生する。この回折光は透過型 回折格子の直後では、隣接する透過光と交差して 干渉する。この干渉効果は近接場(フレネル場) だけで起きる。したがって、試料は透過回折格子 の直後に置く必要があるが、透過型回折格子の格 子間隔 A が長ければ、回折角が小さくなり、比較 的長い距離までフレネル場は広がっているため、 条件によっては十数 cm ほど後方に試料を置くこ とができる。この干渉によって発生した(0次光 と1次回折光による) 干渉縞は、格子から $2\Lambda^2/\lambda_{ex}$ の距離 (Talbot 距離) ごとに周期的に生じ、その 格子間隔は透過型回折格子の格子間隔 Λ と同じ である (図 6 上図)。この光の干渉縞によって励 起された過渡回折格子に対して検出光を入射す れば、TG信号が回折光として得られる。



NF-HD-TG 法の原理 透過型回折格子は過渡回折格子の発生とヘテ ロダイン計測の両方を担う。

ところが、検出光を同軸入射すれば、透過型回 折格子を通過するので 0 次、1 次、…の回折光が 同様に発生する。このとき見かけの 1 次回折光に は2種類の光が入ることになる。すなわち、透過 回折格子による単なる検出光の 1 次回折光と、検 出光の 0 次直進光が試料中の過渡回折格子で回折 された光(つまり通常の TG 信号)が重なってい る。この双方の光は互いに試料と格子の距離 d だ

けずれたところで回折したものであり(図 6 下図)、その光路差 $\mathcal{S}=d(1-\cos\theta_D)$ に対応する位相のずれを反映する。すなわち、見かけの 1 次回折光は、TG 信号光の光へテロダイン計測をしていることになる。

そのときの光強度Iは、1次回折光の電場を E_D 、TG 信号光の電場を E_{TG} としたとき、

$$I = E^{2} = (E_{D} + E_{TG}(t) \exp(-2\pi i \delta/\lambda_{pr}))^{2}$$

$$\sim E_{D}^{2} + E_{D}E_{TG}(t) \exp(-2\pi i \delta/\lambda_{pr})$$

$$= E_{D}^{2} + E_{D}\sqrt{I_{TG}(t)} \exp(-2\pi i \delta/\lambda_{pr})$$

$$= E_{D}^{2} + E_{D} \exp(-2\pi i \delta/\lambda_{pr}) \times \{\Delta n_{th}^{0} \exp(-D_{th}q^{2}t) + \Delta n_{sp}^{0} \exp(-D_{sp}q^{2}t)\}$$

 $\cdots (5)$

となる。式変形には(1)式を考慮した。

(5)式の時間関数の部分は単純な減衰関数として記述されるため、(1)式に類似している。(1)式と異なる NF-HD-TG 信号の特徴として、ヘテロダイン光強度による増強効果や、信号が屈折率変化の2乗に比例するのではなく、1乗に比例するという性質がある(通常の TG 信号は屈折率変化の2乗に比例するため、微小な信号は他の信号に比べ相対的に小さくなる)。これが散乱に強い一因ともなっている。

しかしヘテロダイン計測は一般に光の位相に 応じて、信号形状が変わる。式(5)は光の位相が変 わると信号の正負が完全に入れ替わるほどの大 きな影響を示している。これはサブマイクロメー トル単位の非常に精度のよい位置制御が必要に

なることを意味する。しかし実際には、回折角 θ_D が十分小さければ NF-HD-TG 信号の測定は、非 常に安定する。例えば、検出光が 830 nm のとき には光路差 415 nm で信号が逆位相となる。この 距離をステージで直接制御することは困難だが、 実はこの光路差は $\theta_D = 1.7^{\circ}$ のときには、格子から 1 mm 試料位置を動かしてようやく実現する光路 差である。この θ_D は本稿 2-3 で行った測定での励 起光の交差角と同程度であり、無理のある値では ない。また $\theta_D = 1.7$ を与える透過型回折格子の格 子間隔は29 µm (約35 本/mm) である。この程度 の格子間隔を持つ透過回折格子は入手が困難で ある(通常、回折格子は分光で利用されるため、 通常格子数 100 本 / mm 以上のものが量産されて いる)が、これは単に市場ニーズが低いためであ り回折格子作製技術に特別な困難はない。

したがって、NF-HD-TG 法を適用するための技術的なハードルはさほど高くないため、簡便に利用することが可能である。これは本研究におけるイメージング応用の方向性に十分かなっている。

3.2. 装置

概略入りの実験配置写真を図7に示す。通常の TG 信号測定用の光学配置よりも簡便であること が一見してわかるであろう。光源は2-3と同じも のを利用した。励起光(532 nm)と検出光(830 nm) はほぼ同軸と見なせる程度(約0.3%)に交差させ た。2 光線の交差した箇所に透過型回折格子 (Edmund 製, 70本/mm, 片回折, 0次光:1次光=4:3 at 633 nm) を置き、直後に試料を置いた(回折格 子と光学セルは接触した状態でもセルの壁圧約1 mm 離れている)。この透過型回折格子は量産され ている製品のうち、著者が知りうる最も格子本数 の少ないものであったが、TG 信号の位相が入れ 替わる probe 光に対する半 talbot 距離 $\Lambda^2/\lambda_{pr} = 0.24$ mm であったため、なんとか安定した信号や制御 が可能であると判断した。なお、この測定に適し た透過型回折格子の作製依頼を財団予算で形状 し、注文作製したが、量産品と特別異なる結果を 得なかったため割愛する。信号光(見かけの1次 回折光)は試料通過後、誘電多膜ミラー(シグマ 光機)で励起光を遮光して信号検出した。信号検 出器にはアバランシェフォトダイオード(浜松ホ トニクス、C5331-04)を用いた。この検出器により (5)式の時間変化しない低周波成分を除去可能で あり、信号光の時間変化のみを検出できる。



図 7 NF·HD·TG 測定系の写真および光学 配置概略

3.3. NF·HD·TG 法による参照試料測定の結果

参照試料として、メチルレッドの70%エタノール水溶液を1 cm 角の光学セルに封入した試料に対する NF-HD-TG 信号を示す (図 8)。図では試料位置を変えたときに信号位相が逆転した様子を振幅の絶対値が正負それぞれで最も強かった位置で計測した結果である。図 8 上図の速い減衰時定数はそれぞれ、55μsで、1 %以下の違いであった。減衰信号においては時定数を変えずに振幅が変わっていくことが NF-HD-TG 信号の証明ともなる。実際、手動ステージを用いて試料を透過回折格子から徐々に離していくと、ほぼ同じ減衰時定数を保ったまま、振幅が減少、やがて0になり、負の振幅が成長、ピークを迎えると、やがて

振幅が減少、0 となり、正の振幅が成長……という過程を繰り返していく様子も観測され、半talbot 距離(0.24 mm)にほぼ対応していた。実際には、距離を離していくほど振幅のピークは減少していき、1 mm 以上試料が格子から離れると信号はほとんど見えなくなった。フレネル干渉の領域から徐々に外れていったものと考えられる。

遅い時間領域も含めた信号を示す(図8下図)。 この遅い時間領域においても振幅の位相が逆転 している様子を示している(減衰時定数 1.0 ms, 違いは7%以下)。

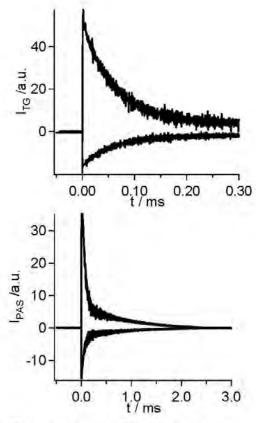


図 8 メチルレッドの 70%エタノール 水溶液中における NF·HD·TG 信号

早い時間の減衰時定数は透過回折格子で決まる格子定数 $q=2\pi/\Lambda=4.4\times10^5~\mathrm{m}^{-1}$ より、熱拡散係数 $D_{th}=1/\tau q^2=9.4\times10^{-8}~\mathrm{m}^2\mathrm{s}^{-1}$ と求められ、妥当な値を得た。一方、遅い方の減衰時定数は分子拡散とすると、2-4 で求めた値より 10 倍ほど大きな値

を与えた。このため遅い減衰信号は、分子の拡散を反映したものとは考えにくい。しかし、信号形状が図 1 に非常に類似していることを考えると、メチルレッドの cis-trans 光異性化後に起きた過渡格子は拡散現象よりも先に、メチルレッドが異性化の戻り反応によって緩和したものと考えられる。これは TG 法が過渡的な反応を観測している上では、q が小さいとき(格子間隔 Λ が大きいとき)には起こりうる。逆にこのことをもって、メチルレッドの cis 体から定常状態の trans 体への戻り反応が 1.0 ms であるという結果を得た。

3.4. NF-HD-TG 法によるゲル試料測定の結果

2-4 と同様の方法で作製した 10%ゼラチンについて測定した結果を示す (図 9)。NF-HD-TG 信号は 2 つの寿命をもつ減衰信号であった。図の上下の信号は試料位置を変えることによる位相の反転であり、2 つの減衰は両者とも TG 信号であることが明らかである。なお t=0 付近の負のスパイク状の信号には反転がないため、迷光と帰属した。

早く減衰する信号は 35µs 前後で、水の熱拡散係数で概ね説明できる。一方で、遅い減衰信号は参照試料(図 8)を参考にすると分子拡散はもちろん否定されるが、減衰時定数は参照試料よりもさらに 1/10 程度であるため、かなり速い過程となっている。

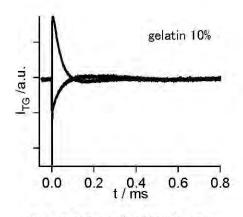
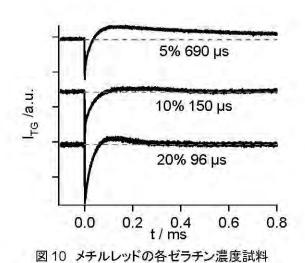


図 9 メチルレッドの 10%ゼラチン 試料中における NF-HD-TG 信号

そこで、この遅い信号の帰属について検討するためゼラチンの濃度を変えたときの測定を行い、信号を比較した(図 10)。すると、速い減衰信号はほとんど変わらないが、遅い減衰信号はゲル濃度が大きいほど減衰時間が速いことがわかった。参照試料を参考に考えられるメチルレッドの光異性化戻り反応は分子の構造が回転することから、周囲の粘性に関わる可能性がある。しかしゲル濃度が大きければ粘性など、分子の束縛は増えるため、傾向とは全く逆が想定される。ゲル架橋に伴って異性化後の構造がより不安定になって、異性化戻り反応が早くなっているのかもしれない



4. まとめ: NF-HD-TG **法の**生体材料および組織 への適用展望

中における NF-HD-TG 信号

ゲルのような媒体での NF-HD-TG 法の適用に成功した。この成果によって、生体材料などの適用の可能性が示されたと考えている。しかしながら、散乱による信号取得も限界があるため、今後はよりターゲットを絞る必要性があると考えている。当面は比較的透明度が高い試料・薄い生体材料(角膜・硝子体など)が評価の対象となるだろう。また、強散乱体には反射測定も想定されるが、現装置での適応は難しいことを確認した。現

実的にはより強いパルスを表面に照射して、強く 吸収し、表面に発生する応力波検出が妥当なとこ ろと考えている。軟骨材料などは表面の粗さなど もさほど悪くなく、コラーゲンの紫外吸収もある ことから適用の候補となるだろう。

また、イメージング装置構築も本財団申請での 内容ではあったが、TG 法の構築と基礎的な調査 に時間がかかったため、助成研究期間内に融合に は至らなかった。しかしながら、ステージシステ ムとオシロスコープを接続し、PC 上のソフトウ ェア(MATLAB)で制御したシステムは助成期間後 も作製を進めて、現在はより簡便な時間分解測定 (光音響法)での動作保証をえている。この技術 を生かし、NF-HD-TG 法のイメージング構築を進 めていきたいと考えている。

謝辞

本研究の推進にあたりまして、研究助成を受けました財団法人中谷電子計測技術振興財団に深く感謝いたします。研究開発スタートの段階で助成をいただいたことは非常に価値の高いものでした。

また、NF-HD-TG 光学系の構築について助言を 頂いた中央大 片山建二准教授、永徳丈博士に感 謝いたします。

参考文献

- [1] M. Terazima et al., J. Chem. Phys. 95, 6490 (1991).
- [2] M. Terazima et al., J. Phys. Chem. 97, 5188 (1993).
- [3] D. R. Spiegel et al., J. Chem. Phys. 109, 267 (1998).
- [4] K. Katamaya et al. Appl. Phys. Lett. 82, 2775 (2003).
- [5] 片山建二、分析化学 57, 314 (2008).

学会発表実績

近接場へテロダイン過渡格子法による生体材料 の物性評価~第一報・模擬試料への適用の可能性 第48回日本生体医工学会大会・ポスター発表

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



研究責任者 Mayo Clinic Biomechanics Laboratory Research Fellow 有 光 小百合 共同研究者 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 講師 村 瀬 剛 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 助教 森 友 寿 夫

1. はじめに

病的な骨の変形を3次元的に正しく理解するこ とは、これまでの X 線、CT を用いた画像解析技 術では限界があった。さらに、骨・関節を中心と する運動器は3次元的に「動く」臓器であるが、 従来のほとんどの医療画像検査は単純X線、CT、 MRI など、動きのない2次元画像であり、3次元 的に動く生体の骨関節運動をリアルに表現する ことはできず、もちろん3次元的な動きを定量化 する方法もなかった。我々は 2000 年より生体 3 次元関節運動解析システムの開発に取り組み、人 体の関節運動を解析する3次元バーチャルリアリ ティ装置の基本システムを完成させた。我々の開 発したシステムでは3次元空間上での骨・関節の 高精度の形態評価・動態解析が可能である。また CT データから作成した骨モデルをコンピュータ 一上で自由な方向から見たり、関節の動きをアニ メーションとして観察したりすることが可能で、 それは3次元パーチャルリアリティ(仮想現実)の ひとつである。これまで2次元画像から想像する しかなかった人体の関節の動きを、骨モデルの「3 次元動画」として観察できる技術を提供した。

我々はまず本システムを用いて正常の生体の 骨・関節の形態評価、運動解析を行い、control を 得た。今回我々はこの技術を病的な骨・関節の評 価に応用することを考えた。

病的な骨にはどのような3次元的な変形があるか、変形した関節がどのような動きをするのか、正常の骨・関節とどの様に変化しているのかは明らかにされていない。さらに、手術加療を必要とする疾患の場合、手術後の関節の機能評価はこれまで臨床所見および X線、CTを用いた 2次元画像によって評価されるのみで、3次元的な機能評価までには至っていなかった。上肢、中でも手関節は8つの手根骨の実に精巧な動きによってそのフレキシビリティーを発揮する関節であり、我々は臨床医の立場からその異常を3次元的観点から見直すことは病態の解明に不可欠であると考えた。さらに現存する手術法が術後の関節の機能回復に十分に寄与しているのか、3次元的観点から改めて見直す必要性も実感していた。

我々は、関節リウマチ (RA) に注目し、その3 次元的動態解析を行った。複雑に変形した手関節 の術前術後の動態解析、さらには3次元的観点か ら現存する手術方法(手術手技)における改善点を考察し、推奨される効果的な手術方法を提案した。これら病的骨・関節の3次元的な変形評価、動態解析および治療法への提言は、今後の関節リウマチの治療に大いに貢献し、総合的に低侵襲で理想的な医療へつながるものと期待される。

2. 研究結果

2.1 背景

リウマチ手関節、中でも手関節(ここでは橈骨 手根関節を指す)の脱臼・亜脱臼による変形・疼 痛・不安定感のある症例、橈骨遠位背側縁での伸 筋腱断裂の予防あるいは再発予防に対して適応 される手術に、手関節全固定術・手関節部分固定 術がある。手関節全固定術は手根部全体を固定し、 固定性には優れるが術後可動域は大幅に低下す る欠点がある。一方手関節の一部のみを橈骨に固 定する手関節部分固定術には、主に橈骨月状骨固 定(以下 RL 固定) と橈骨舟状骨月状骨固定(以 下RSL 固定)があげられるが、術後手関節可動域 がある程度保たれるので、適切な手術手技を施せ ば臨床上非常に有効な術式である。しかしながら、 部分固定術特に RSL 固定においては手根骨同士 を適切な位置で固定しなければ術後手関節の可 動性を著明に低下させる危険があり、固定位置に 十分な配慮が必要である。これまで、手関節部分 固定術後手関節の動態を3次元的に評価した報告 はなく、また手術手技における3次元的考察もな されていない。そこでわれわれは手関節部分固定 術前後のリウマチ手関節を3次元的に動態評価す るとともに、十分な外科的治療の効果を得るため に必要な3次元的知見を見出すことを目的とした。

2.2. 対象

対象は、単純X線上手根骨の尺側偏位や掌側亜 脱臼を呈しているが手根中央関節が比較的保た れている 10 例 10 手関節、平均 54 歳の女性 10 名 とした。手術から術後 CT を撮影するまでの追跡 期間は約18ヶ月であった。

手術適応は、橈骨手根関節の亜脱臼の程度が軽度な6症例にRL固定を、脱臼程度が強い、あるいは骨破壊が進行している4症例にRSL固定術を行った。

2.3. 方法

a. 画像取得

手関節最大背屈位・中間位・掌屈位の 3 ポジションで 0.625mm スライス(Light Speed Xtra; GE healthcare, Waukesha, Wisconsin)の 3D-CT 撮影を行った。

b. 骨成分の抽出(セグメンテーション)

得られた 2 次元 MRI 画像の Digital Imaging and Communications in Medicine (DICOM)形式のデータを研究室のワークステーションに転送し、Virtual Place[©](AZE, Ltd., Tokyo, Japan)を用いて橈骨、手根骨の骨領域を抽出した。

c. 骨表面モデルの作成

多値 Marching cubes 法 ¹⁾により、CT の場合対象となる骨の 3 次元骨表面モデルを作成した。

d. 撮影各肢位間での骨の重ね合わせ (レジストレーション)

異なる肢位での骨モデルを automatic に重ねあわせることによって、橈骨と手根骨間の 3 次元的な空間移動量をそれぞれ計算した。本工程も Virtual Place により行い、その精度は過去の報告に示されているように $1 \text{mm} \cdot 1$ 度以下であった。2)

e. 手関節の3次元動態解析(回転軸の算出)

レジストレーションによって得た各骨の2肢位間での相対的な空間移動を、瞬間回転軸(screw axis concept)を使って表した。^{2)、3)}つまり、各肢位間での対象骨の3次元的な移動方向とその量を、回転軸とその周りの回転角度として表した。

我々の開発した vtk ベースの独自のソフトウェアを用いて、術前術後の手関節の回転軸^{2)、3)} を算出した。(図 1) 回転軸の方向は、手関節の axial面に回転軸を投影し、投影した回転軸と掌背屈の軸のなす角として示した。³⁾ これにより純粋な手関節掌背屈方向とどの程度違う方向に手関節が動いているのかを知ることができた。

今回対象としたRL固定を施行された6手関節、RSL固定を施行された4手関節それぞれについて、術前術後の手関節の動きおよびその方向を評価した。具体的には、RL固定を施行された手関節では、手関節全体(橈骨有頭骨間)・手根中央関節(有頭骨月状骨間)そして舟状月状骨間の術前術後の動きと方向を評価した。RSL固定を施行された手関節では、手関節全体(橈骨有頭骨間)・手根中央関節(有頭骨月状骨間)の術前術後の動きと方向を評価した。





図1 手関節掌背屈の回転軸

2.4. 結果

a. 橈骨月状骨 (RL) 固定手術前後の手関節動態 手関節全体(橈骨有頭骨間)の動きは、術前 59±4 度 (平均値と標準偏差)、術後 48±21 度で、術 前の 81%の可動域が保たれていた。またその方 向は純粋な掌背屈方向と比較し、術前は 5±13 度、術後 25±10 度であり、術前純粋な掌背屈方 向に近かった手関節の動きが、術後は有意に橈 背側から掌尺側へ純粋な掌背屈から斜めに傾 斜したつまりダーツを投げるダーツスローの 方向(図 2)に動いていた。(p=0.01) (図 3) 手根中央関節(有頭骨月状骨間)の動きは、 術前 44±8 度、術後 48±21 度で、術前の 109%の 可動域が保たれており、むしろその可動性は拡 大していた。またその方向は純粋な掌背屈方向 と比較し、術前は 8±13 度、術後 25±10 度であ り、術前純粋な掌背屈方向に近かった手関節の 動きが、やはり術後は有意に橈背側から掌尺側 へ純粋な掌背屈から斜めに傾斜したつまりダ ーツスローの方向に動いていた。(p=0.03)

舟状月状骨間の動きは術前 30±8 度、術後 30±15 度で、術前と同等の可動域が保たれてお り、手関節全体の可動性に貢献していた。



図2 ダーツスロー手関節運動 橈背側から掌尺側へ、純粋な手関節の掌背屈方向か ら斜めに傾斜した方向の関節運動

b. 橈骨舟状骨月状骨 (RSL) 固定手術前後の手 関節動態

手関節全体(橈骨有頭骨間)の動きは、術前83±24度、術後47±14度で、可動域は術前の56%に低下していた。またその方向は純粋な掌背屈方向と比較し、術前は-2±5度、術後19±11度であり、術前純粋な掌背屈方向に近かった手関節の動きが、術後は有意に橈背側から掌尺側へ純粋な掌背屈から斜めに傾斜したつまりダーツスローの方向(図2)に動いていた。(p=0.02)(図4)手根中央関節(有頭骨月状骨間)の動きは、術前53±21度、術後47±14度で、術前の88%の可動域が保たれていた。またその方向は純粋な掌背屈方向と比較し、術前は2±6度、術後19±11度であり、術前純粋な掌背屈方向に近かった手

関節の動きが、やはり術後は有意に橈背側からまりダーツスローの方向に動いていた。 掌尺側へ純粋な掌背屈から斜めに傾斜したつ (p=0.02)

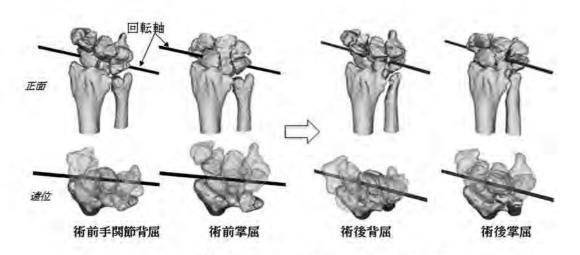


図3 橈骨月状骨 (RL) 固定手術前後の手関節動態

術前純粋な掌背屈方向に近かった手関節の動きが、術後は橈背側から掌尺側へ純粋な掌背屈から斜めに傾斜 したつまりダーツスローの方向に動いていた。

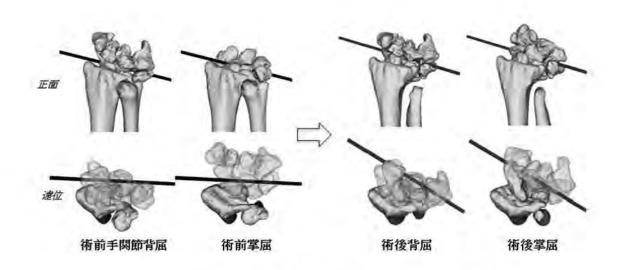


図 4 橈骨舟状骨月状骨 (RSL) 固定手術前後の手関節動態

術前純粋な掌背屈方向に近かった手関節の動きが、術後は橈背側から掌尺側へ純粋な掌背屈から斜めに傾斜 したつまりダーツスローの方向に動いていた。

2.5. 考察

今回我々は、リウマチ手関節の動態が術前から 術後でどの様な変化をするのか3次元的に評価し、 十分な外科的治療の効果を得るために必要な3次 元的知見を見出した。

橈骨月状骨(RL)固定手術後の手関節全体の動 きは術前の81%に、橈骨舟状骨月状骨(RSL) 固 定手術前後の手関節の動きは術前の 56%に低下 していた。しかしながら、これらの結果はいずれ も過去の報告と比較し良好に保たれていた。4) 手 根中央関節の可動域に関しては、これまで報告は ないが、術後それぞれ 109%、88%と非常に良好 に保たれていた。これまで手関節部分固定術とく に橈骨舟状骨月状骨(RSL)固定術後は術後成績が 不良と報告され、否定的に捉えられていた。4) 今 回我々はまず、RL 固定か RSL 固定かの術式選択 と、特に RSL 固定における手術手技において手根 中央関節の可動性を保つよう十分な注意を払っ た。これまで術式の選択は術者の経験と2次元的 な画像評価によっていたが、我々は3次元骨モデ ルを用いて橈骨舟状骨関節の十分な関節適合性 を術前に十分評価したうえで術式を決定した。も ちろんすべての臨床医が3次元的な画像評価を行 えるわけではないので、たとえ Xp や CT のよう な2次元的評価と手術中の術者の直接的な観察評 価であったとしても、橈骨舟状骨関節の評価の重 要性を認識し、そのうえで最適な術式を選択する べきであると我々は考えている。また、これまで のバイオメカニクス研究で、有頭骨月状骨関節の 動きは純粋な掌背屈方向からダーツスロー方向 までは比較的柔軟性があるが、有頭骨舟状骨関節 の動きは橈背側から掌尺側へのダーツスロー方 向に限定されていることが分かっている。3) その ため手根中央関節の動きを温存するためには舟 状骨月状骨間の位置関係が重要である。我々はそ の点に十分注意を払い、舟状骨月状骨間を中間位 同士で固定して手術を行ったので、術後の手関節

の可動域が過去の報告よりも良好であったと考 察した。

今回の3次元的な動態解析を行って、手関節部 分固定術後の手関節はいずれも橈背側から掌尺 側へのダーツスロー方向であることが分かった が、これまで臨床的に行われてきた手関節の可動 域評価は純粋な掌背屈方向の評価であり、術後手 関節の潜在的な可動性が十分に評価されていな かった可能性があるとも考えられた。

また、正常における手根中央関節は橈背屈から 掌尺屈へ、つまりダーツスロー方向に動くことは すでに明らかにされているが、これは電話などを とる、髪をとく、包丁を使うなど日常生活におい てむしろ純粋な掌背屈の動きよりも頻用される 有用な動きであると言われている。^{5)、6)} 手関節部 分固定術を行った手関節の動きの方向は、正常手 関節における手根中央関節の動きをよく温存し、 その意味で手関節全固定術に代用できる治療に なりうると考えた。

2.6. まとめ

リウマチ手関節において、手関節部分固定術、 橈骨月状骨固定と橈骨舟状骨月状骨固定いずれ も、日常生活上手関節の最も有用な機能のひとつ であるダーツスロー方向の動きをよく温存し、患 者 QOL を向上させる有効な治療手段になりうる ことが示唆された。同時に、個々の手関節の状態 に合わせた最適な術式選択と、手根骨の3次元的 位置を十分に配慮した手術手技が、極めて重要と 考えられた。

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研究援助により可能となりましたことを、ここに深く感謝申し上げます。

引用文献

- Lorensen WE, Cline HE. Marching cubes: a high resolution 3D surface construction algor -ithm. Computer Graphics 1987; 21: 163-169.
- Goto A, Moritomo H, Murase T, Oka K, Sugamoto K, Arimura T, et al. In vivo three-dimensional wrist motion analysis using magnetic resonance imaging and volume-based registration. J Orthop Res 2005; 23: 750-756.
- Moritomo H, Murase T, Goto A, Oka K, Sugamoto K, Yoshikawa H. In vivo three-dimensional kinematics of the midcarpal joint of the wrist. J Bone Joint Surg 2006; 88A: 611-621.
- Ishikawa H, Murasawa A, Nakazono K. Long -term follow-up study of radiocarpal arthrodes -is for the rheumatoid wrist. J Hand Surg 2005; 30A: 658-666.
- Li ZM, Kuxhaus L, Fisk JA, Christophel TH. Coupling between wrist flexion-extension and radial-ulnar deviation. Clin Biomech (Bristol, Avon). 2005 Feb; 20(2):177-83.
- Palmer AK, Werner FW, Murphy D, Glisson R. Functional wrist motion: a biomechanical study. J Hand Surg [Am], 1985 Jan; 10(1):39-46.

発表論文および学会

- Arimitsu S, Murase T, Hashimoto J, Yoshikawa H, Sugamoto K, and Moritomo H. Three dimensional Kinematics of Rheumatoid Wrists after Partial Arthrodesis. J Bone Joint Surg Am. 2009 Sep; 91(9):2180-7.
- 有光 小百合、村瀬 剛、岡 久仁洋、竹安 酉 佳倫、森友 寿夫 リウマチ手関節部分固定 術後の 3 次元的動態評価 第 51 回日本手の 外科学会学術集会 つくば
- 有光 小百合、森友 寿夫、村瀬 剛、橋本 淳。

- 冨田 哲也、菅本 一臣、吉川 秀樹 リウマ チ手関節における3次元的手根配列異常とそ のキネマティクス 第 52 回日本リウマチ学 会学術集会 札幌
- 有光 小百合、森友 寿夫、村瀬 剛、吉川 秀樹、菅本 一臣 リウマチ手関節部分固定術後の3次元的動態評価 第108回中部日本整形外科・災害外科学会 大津
- Arimitsu S, Moritomo H, Murase T, Tanaka H, Oka K, Yoshikawa H, Sugamoto K. 3-dim -ensional Kinematic Evaluation of Rheumatoid Wrists Before and After Partial Arthrodesis. 7th Congress of Asian Pasific Federation of Societies for Surgery of the Hand (APFSSH). 2008 Hong Kong
- Arimitsu S, Murase T, Hashimoto J, Yoshikawa H, Sugamoto K, and Moritomo H. The Choice and Effectiveness of Partial Arthrodesis for Rheumatoid Wrists based on In Vivo Motion Analysis. Residents and Fellow Conference of Annual Meeting of American Society for Surgery of the Hand (ASSH). 2009 San Francisco

がんの超早期診断に資するマルチスペクトルカメラの開発



研究責任者 静岡県立静岡がんセンター研究所 研究員 永 岡 隆

1. はじめに

メラノーマとは、皮膚などに存在するメラノサ イト由来の悪性腫瘍である。その厚みなどによっ て病期は異なり、初期段階のメラノーマは患部を 摘出することによってほぼ完治するが、悪性度の 高いメラノーマの予後は非常に悪いり。進行した メラノーマに対する有効な治療法はいまだ確立 されていないため、現在でも最良の治療は早期発 見・早期摘出であるとされている 2)。メラノーマ は患部の一部を摘出し、顕微鏡下で検査(生検) するだけで確実に診断することは困難であり、ま た一部のメラノーマでは生検によって予後が悪 化するとの報告もあり1)、診断は非侵襲・非接触 で行うことが望ましい。そのため、医師の主観的 な評価に頼らざるを得ない。皮膚科の診断に大き な変革をもたらしたものとして、Nachbarらが提 唱した ABCD ルール 3と Soyer らが開発したダー モスコピー4)が挙げられる。ABCD ルールとダー モスコピーを正しく利用することで、高い精度で メラノーマを診断できると報告されている 5。し かし高精度な診断には長い経験が求められ、ダー モスコピーに不慣れな医師の場合、メラノーマの 識別精度を悪化させてしまうという報告のもあり、

コンピュータなどを用いメラノーマを自動で鑑 別できるようなシステムへの期待は大きい。

従来のメラノーマ自動鑑別システムの一覧を表1に示す。これらのシステムの中枢技術は、カラー画像かマルチスペクトル画像に基づく画像処理技術の範疇にある。メラノーマを鑑別するための一連のパラメータは、"色"すなわち"壊されたスペクトル"に基づく画像から抽出されている。つまり、これらのパラメータは、組織病理学的に異なるものである。したがつて、最近では、非侵襲メラノーマ自動鑑別システムでは、組織病理学的な診断の再現は困難であると考えられているり。そのため、一般的には、これらの装置による診断は「セカンドオピニオン」として扱うような制限が必要と報告している論文もあるり。また、経験豊富な医師の主観による診断に敵わないとする報告もあるり。

非侵襲メラノーマ自動鑑別システムは、本来は 組織病理学的な視点で客観的に原発巣の悪性度 を示すことが理想であり、すくなくともそれに準 ずる分子レベルのパラメータに基づく客観的鑑 別が可能であるべきである。本研究では、光学的 に活性な分子種の変化ならびにそれら分子の濃 **度変化は光学スペクトルに反映されているとい** ノーマ鑑別システム実現を目指した。 う事実に注目し、光学スペクトルに基づいたメラ

製品名	計測データ	データ処理方法	感度	特異度
(国名)		(抽出されたパラメータ数)	SE(%)	SP(%)
SIAscope ¹⁰⁾	ディジタルカラ	一連の 4 波長バンド画像に対		
MoleMate	一画像+近赤外	する画像処理	96	83
(イギリス)	画像(廉価版)			
SolarScan ¹¹⁾	ディジタルカラ	各単一波長バンド画像に対す		
(オーストラリア)	一画像+近赤外	る画像処理	100	83
	画像	(少なくとも 12 パラメータ)		
SpectroShade ⁷⁾	マルチスペクト	各単一波長バンド画像に対す		
(スイス)	ル画像 a)	る画像処理	88	80
		(64 パラメータ)		1 %4
MelaFind ¹²⁾	マルチスペクト	各単一波長バンド画像に対す		
(アメリカ)	ル画像 ^{b)}	る画像処理	100	85
	1	(少なくとも 13 パラメータ)		7-1
ダーモスコープ皮膚	ダーモスコープ	画像処理		7
診察支援サイト ¹³⁾	画像(ディジタル	(72 パラメータ)	85	83
(日本)	カラー画像)			, Maria

表 1 従来のメラノーマ自動鑑別システム

2. 方法

専門医がメラノーマを診断する際に用いる ABCD ルールの一つに、"border irregularity" (Bに 相当)がある。これはメラノーマが浸潤性に富む 悪性腫瘍であることと、腫瘍細胞が活発にメラニ ン産生をしていることを認めれば、メラノーマ細 胞は浸潤しやすいところから浸潤していくと考 えられ、その結果腫瘍辺縁部のメラニン分布に "でたらめさ"が顕在化するであろうことを捕らえ ていると理解される。浸潤領域には血管新生も認 められると考えられる。ダーモスコピーを用いる 診断では、医師は病変辺縁部における色の変化で のみ"でたらめさ"を判断する。換言すれば、主観

で"でたらめさ"を判断していることになる。メラ ノーマに限らず、悪性腫瘍の本質は、その"でた らめさ"にあるといわれている。"でたらめさ"を定 量化できれば、悪性腫瘍をそれ以外と区別できる と考えられている。最近のメラノーマ自動鑑別シ ステム 13)では、腫瘍辺縁部を画像処理の技術を用 いて自動判定する試みがなされているが、判定さ れた辺縁の形状が正しいか否かの基準は、医師が 主観的に決定した辺縁形状によっているため、医 師の考え方に近い特性をシステムに持たせるこ とは可能であるが、その辺縁形状に物理的な意味 や定量性を持たせることは難しい。

メラノーマの辺縁部の"でたらめさ"を定量す

a) 485-950nm 範囲で、30nm ごとに 15 の単一波長バンド画像を計測

b) 430-950nm 範囲で、10 の単一波長バンド画像を計測

る手段の一つとして、フラクタル次元の利用がす でに提案されている。しかし、フラクタル次元を 鑑別指標とした、メラノーマ診断の感度と特異度 は、それぞれ、高々74%と75%にすぎない15。し たがって、それ単独で悪性腫瘍を鑑別できる状況 にはない。すなわち、鑑別指標の成分の一つとし て用いられているに過ぎない。何故フラクタル次 元が悪性鑑別指標足りえないのだろうか。問題の 本質は、フラクタル次元そのものではなく、それ を評価するまでの前処理にあると考えた。従来提 案されている技術で共通する前処理は、超音波画 像、PET 画像、X線輝度画像やカラー画像等の元 画像から、2次元面上の境界線を確定するという ものである。その方法はさまざまである。例えば、 白黒画像化 (2 値化)、ついで Gaussian および Laplacian フィルター処理を施す手法などである。 フラクタル次元は抽出された境界線の"でたらめ さ"を定量化する手法にすぎず、腫瘍鑑別能は境 界線抽出方法に依存してしまう。本研究で提案す る悪性腫瘍鑑別指標の導出方法は、分子レベルで の"でたらめさ"の起源を用いた前処理とフラク タル解析の組み合わせであり、これまでに存在し ない新しい方法である。

2.1 装置

我々が開発した装置の概観を図1に、光学系の概略図を図2に示す。また本装置の仕様を表2に示す。照明(A、 Luminar Ace LA-150FBU、HAYASHI、JAPAN)からの光は皮膚に投射され、その反射光は専用に設計された光学系装置(Mitaka Kohki、JAPAN)で受光される。光学系装置内ではまずスリット付のミラー(C)によって反射光が分割され、2つの CCD へ送られる。スリットを通過した光は透過型分光装置(D、V-10E; Specim、Oulu、Finland)を通過することで位置情報と波長情報に分解され、超高感度CCD(iXon、Andor、USA)に記録される。ミラーによって反射された光はそのままもう一つの

CCD(F、WAT-231S、Watec、JAPAN)に記録 され、計測部のモニタリングに用いられる。レー ザダイオード(B)からの単一波長光はオートフォ ーカス機構に用いられる。この光は常に自動焦点 機構用 CCD(E)に到達するように、対物レンズを 上下動することで調整される。この機構を動作さ せることで、対物レンズと皮膚の距離を常に一定 に保ち、画像のフォーカスを外さないようにする ことができる。レーザダイオードの波長は、計測 する波長域と重ならないよう、850 nm としてい る。図3に白色板を計測した際にCCD(D)に記録 される画像を示す。横方向が波長情報であり、縦 方向が位置情報である。ここでは照明光の強度に よって、輝度値に変化はあるが、白色板によって 幅広い波長域で照明光が反射されている様子が 観察される。図4にはCCD(F)に記録される画像 を示す。中央右よりの光点はオートフォーカス用 のレーザである。この CCD はスリット付ミラー (C)の反射光を記録している。したがって画面中央 部分の反射光はスリットから分光器へと進むた め、CCD(F)の画像では縦方向の黒い線状のよう に抜けてしまっている。

また、図2には示されていないが、照明光が皮膚に照射される直前と、直後に、一枚ずつ偏光板が挿入されている。両者は光路上で互いに垂直となるように設置されている。偏光板によって、振動方向が一直線上に整えられた光は、皮膚に含まれる散乱体に衝突する度に、わずかに振動方向を変化する。一方、皮膚表面の角質で反射された光はほとんど振動方向が変化しない。2枚の偏光板を互いに垂直になるように設置して計測することで、角質での乱反射による影響を抑え、皮膚内部の散乱体に十分に衝突し、皮膚の分子レベルの情報を得た光のみを計測することが期待される。

この装置のスキャン方法の概略図を図5に示す。 CCD カメラは1度に横640ピクセル、縦480ピクセルの画像を取得することができる。我々は横方向にスペクトル情報を、縦方向に位置情報を記 録することで、1回のスキャンにより、480ピク に移動させることで計測位置を変化させ、全ての セル分の位置情報と、640ピクセル分の波長情報 を同時に計測することができる。この装置は3軸 のステージ上に設置される。ステージを X 軸方向

点の波長情報を得ながら、皮膚の位置情報を得る ことができる。



図 1 装置の概観



図3 CCD (D)に記録される画像

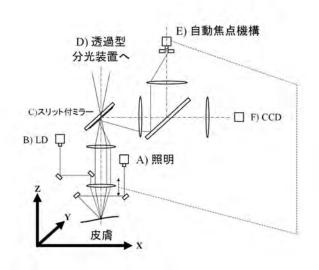


図2 光学系の概略図



図 4 CCD (F)に記録される画像

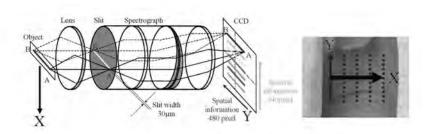


図 5 装置のスキャン方法

表 2 我々の開発した装置の仕様

Spectral range	322.77 – 939.48 nm	
Spectral resolution	2.418 nm	
Maximum of spatial range	11 x 11 mm	
Spatial resolution	12.31 μm	

2.2 スペクトルの計測

表 2 に示したとおり、我々の装置は 320nm から 940nm までの範囲のスペクトルを計測することが可能である。しかしながら、分光器や CCD の特性により、450nm 以下と 750nm 以上の範囲は SN 比が悪い。そこで本研究では 450nm から 750nm の間の計測値のみを採用する。波長 λ における反射率 R_{λ} は式 1 に従って導出される。

$$R_{\lambda} = \frac{count(\lambda) - black(\lambda)}{white(\lambda) - black(\lambda)}$$
(1)

ただし、count(A)は波長Aに対応する CCD のカウント値であり、black(A)は CCD に搭載されたシャッターを閉じた際の波長Aに対応する CCD のカウント値、つまり熱雑音である。white(A)は計測前に予め計測しておいた、標準白色板(硫酸バリウム)を計測した際の波長Aに対応する CCD カウント値である。本来であれば、皮膚に入射する光子の数と、皮膚に反射された光子の数の比で絶対反射率を定義すべきであるが、装置の構成上絶対反射率を測定することが困難であったため、標準白色板に対する皮膚の反射率の比 R,を用いる。black、white ともに極力皮膚を計測する直前に測定し、システムの時間による変動を抑える。

2.3 スペクトルの解析

本システムにおけるスペクトルの解析の流れを図6に示す。本解析アルゴリズムは2つのフェーズでメラノーマ特有の"でたらめさ"を定量化する。(1)ピクセルフェーズと(2)画像フェーズである。

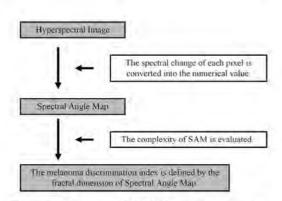


図 6 メラノーマ鑑別指標のフローチャート。 メラノーマ特有の"でたらめさ"はピクセルと 画像それぞれに着目して定量化される。

(1) ピクセルフェーズ:各ピクセルにおける基準スペクトルとの差異を数値化するフェーズである。事前に基準となるスペクトルを用意する。基準スペクトルは同一ハイパースペクトル画像内の非腫瘍部の平均スペクトルでも、他の健常者の皮膚の平均スペクトルでも構わない。ハイバースペクトル画像の各画素に含まれるスペクトルと、用意した基準スペクトルを多次元のベクトルとみなし、両者がなす角α_{xy}を式(2)により求め、両者の類似度の指標とする。

$$\alpha_{x,y} = \arccos\left(\frac{\vec{l} \cdot \vec{r}}{\|\vec{l}\| \cdot \|\vec{r}\|}\right) = \arccos\left(\frac{\sum_{i=1}^{n} t_{i} r_{i}}{\sqrt{\sum_{i=1}^{n} t_{i}^{2} \sum_{i=1}^{n} r_{i}^{2}}}\right)$$
(2)

ただし、x、y はハイパースペクトル画像上での 位置座標を示し、t は教師ベクトル、r は対象ベク トルを示し、n はスペクトルのバンド数を示す。 教師ベクトル・対象ベクトルともに、式(1)によっ て求められる反射率を各要素に持つ。 α_{xx} は基準 スペクトルと各画素のスペクトルとの質的な違 い、例えば、構成成分比の違いという分子レベル の差異を表している。この処理は Kruse らによって提唱された Spectral Angle Mapper(SAM)と 呼ばれる手法 16) である。例えば基準スペクトル に健常者の皮膚の平均スペクトルを用い、ハイパースペクトル画像の全画素に対して $\alpha_{x,v}$ を計算して得られる画像は、健常者の皮膚との類似度を示すマップとなり、ヘモグロビンやメラニンが健常者の皮膚より多く存在する領域が $\alpha_{x,v}$ の高い領域として現れる。以降、このマップのことを Spectral Angle Map と呼称する。

(2)画像フェーズ:前項の処理によって得られた Spectral Angle Map の "でたらめさ"を定量化す るフェーズである。本システムでは前述したとお り、"でたらめさ"の定量化にフラクタル次元を 用いる。メラノーマではメラニン領域とヘモグロ ビン領域が複雑に入り組んでいることが予想さ れるため、メラノーマの Spectral Angle Map の フラクタル次元は、メラノーマ以外の Spectral Angle Map のフラクタル次元に対して値が高く なることが予想される。Spectral Angle Map のフ ラクタル次元はボックス・カウンティング法 17) を採用した。通常、ボックス・カウンティング法 を用いたフラクタル次元の導出は2値画像に対し て行われるが、Spectral Angle Map は輝度値画像 となるため、そのままの手法ではフラクタル次元 を算出することができない。そこで、事前に Spectral Angle Map に対していくつかの画像処 理を施す。画像処理のフローチャートを図7に示 す。まず、Spectral Angle Map の画像サイズを拡 大する。ただしx 方向、y 方向の画像サイズは同一の値 L とし、必ず2 のべき乗とする。ただし、元の Spectral Angle Map に値が存在しない画素の値は全て0 とする。次に、各画素に含まれる輝度値情報を三次元の高さ情報に変換する。 Spectral Angle Map の輝度値は式(2)で求められる小数値 $\alpha_{x,y}$ であるが、これを整数値 $\beta_{x,y}$ に変換する。画像全体における $\alpha_{x,y}$ の最小値 α_{\min} と最大値 α_{\max} を調べ、式(3)にしたがって変換する。

$$\beta_{x,y} = INT \left[L \times \frac{\alpha_{x,y} - \alpha_{\min}}{\alpha_{\max} - \alpha_{\min}} \right]$$
(3)

ただし、INT は小数点第 1 位で四捨五入する関数を示す。得られた β_{xy} を各画素の高さに持つ三次元画像を作成し、三次元のボックスによるボックス・カウンティング法を適用する。

ボックス・カウンティング法による三次元画像のフラクタル次元は以下のように決定される。フラクタル次元の算出方法の流れを図8に示す。w=1、2、4、...、Lの長さを持つ立方体を用意し、それぞれの立方体で対象の三次元画像を埋め尽くす。埋め尽くした立方体の数CをX軸に、その時の立方体の長さwをY軸にプロットした散布図を作成する。ただし、両軸とも常用対数を用いる。次に最小二乗法を用い、得られた散布図を一次近似する。得られた直線の傾きを・1倍した値がフラクタル次元となる。この手法によって得られるフラクタル次元は2から3の間の値をとる。

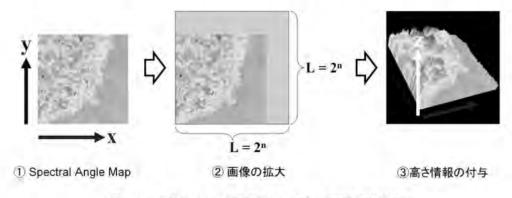


図7 フラクタル次元算出のための画像変換処理

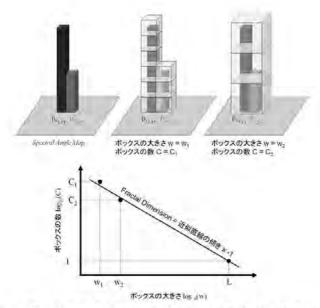


図8 ボックスカウンティングによるフラクタル次元の算出

2.4 メラノーマ鑑別能の評価

前節で得られたフラクタル次元の値をメラノーマ鑑別指標とし、設定した閾値以上であればメラノーマと判定する。病理診断の結果を真値とし、メラノーマ鑑別指標による判定の感度と特異度を算出し、本システムの評価を行う。また異なる閾値における本鑑別指標のパフォーマンスを確認するために、receiver operating characteristic (ROC) curve を描く。従来のメラノーマ自動鑑別システムとの比較には、ROCカーブの面積(AUC)を評価の指標として採用する。

3. 対象

2008/7/31~2009/3/25 の間に県立静岡がんセンター皮膚科を受診し、計測の同意が得られた患者の患部を、我々が開発したハイパー・スペクトル・イメージング装置を用い撮影した。実験参加者数は15病変・106 画像(ALM 2病変22 画像・LMM3病変24 画像・SMM1病変14 画像・脂漏性角化症5病変39 画像・母斑細胞母斑4病変7画像)であった。悪性黒色腫と脂漏性角化症の患者は、事前に経験のある医師によって目視で診断され、計測が行われているが、分類は摘出手術後の通常の病理診断によって確定した病名を使用し

ている。母斑細胞母斑の患者は、経験のある医師による目視のみで診断され、計測を行っている。 母斑細胞母斑の摘出と病理診断は倫理的問題か ち行っていない。

4. 結果

4.1 スペクトル計測結果の一例

本システムの計測結果の一例を図9に示す。本 症例は80歳女性、右類部の悪性黒子型メラノー マである。過去の報告 18,19)に似たスペクトルが得 られていることがわかるが、われわれの装置は細 かい波長分解能と画像分解能を併せ持っており、 過去の報告に比べ膨大なデータが一つの画像に 含まれているという違いがある。図 9(a)にはハイ パースペクトル画像の各画素が持つスペクトル を用い RGB の値を推定して再構成した擬似カラ 一画像を示し、図 9(b)には同じ場所をダーモスコ ピーを用いて撮影した画像を示す。擬似カラー画 像でもダーモスコピー画像でも、メラノーマ患者 ではメラニン濃度が高い黒いエリアの内部に、へ モグロビン濃度が高い赤いエリアが入り組んで いる様子が観察できる。図 9(c)に患部・辺縁部・ 正常部の平均スペクトルを示す。患部ではメラニ ンの吸収スペクトルに良く似た形状のスペクト ルが観察され、正常部では酸化ヘモグロビンの吸収と見られる双峰性のピークが観察された。辺縁部では両者の中間的なスペクトルが確認された。図10に健常者皮膚のスペクトルを示す。このスペクトルは皮膚疾患を持たないアジア人1名の二の腕の皮膚を用い、皮膚着色領域のないおよそ10mm四方の領域をハイパー・スペクトル・イメージング装置で撮影し、全画素に含まれるスペクトルを平均して得られたものである。このスペクトルが前述したSAM処理の際の教師ベクトルとし

て用いられた。図 2 (a)に示したハイパースペクトル画像に対し、図 10 に示した教師ベクトルを用いて SAM 処理を行った結果を図 9 (d)に示す。図 9(d)に示す画像に対して、ボクセル・カウンティングを施した結果を図 9(e)に示す。ボックスの大きさとボックスの数は高い相関を示した。図 9(e)に示したグラフの直線の傾きがフラクタル次元であり、この値をメラノーマ鑑別指標とした。本症例におけるメラノーマ鑑別指標は 2.78 である。

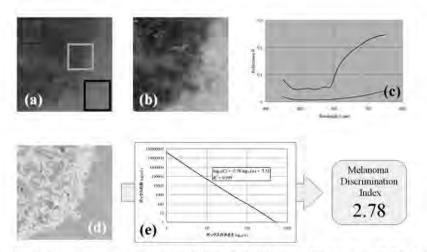


図 9 計測結果の一例。(a)ハイパースペクトル画像から再構成された擬似カラー画像。(b)同じ場所を撮影したダーモスコピー画像。(c)患部・辺縁部・正常部のスペクトルの変化。赤い線が患部を、緑の線が辺縁部を、青い線が正常部の平均スペクトルを示している。(d)Spectral Angle Map。暖色系が大きな角度を、寒色系が小さな角度を示している。辺縁部の値の分布が非常に複雑な形状をしていることが確認できる。(e) ボックスカウンティングの結果。ボックスが大きくなるに連れてボックスの数は減少する。両者の関係は非常に良い相関性を持っている。このグラフから得られるフラクタル次元をメラノーマ鑑別指標とし、その値は 2.78 と高い値を示した。

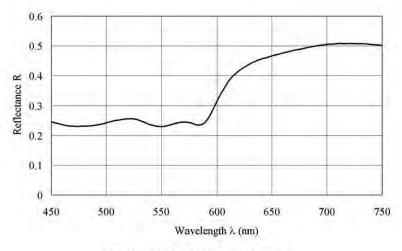


図 10 健常者皮膚のスペクトル

4.2 本システムのメラノーマ鑑別能の評価

得られた 15 病変・106 個の皮膚拡散反射スペ クトル画像全てについて 4.1 に示した結果と同様 の処理を行い、統計処理を行った結果を図 11 に 示す。予想通り、メラノーマ患者の Spectral Angle Map のフラクタル次元は脂漏性角化症患者や健 常者に比べ有意に高かった。また、脂漏性角化症 と健常者の Spectral Angle Map のフラクタル次 元には有意な差を認めることはできなかった。同 様に ALM、LMM、SMM といったメラノーマの 病態によるフラクタル次元の変化に有意な差を 認めることもできなかった。得られた 119 個の Spectral Angle Map のフラクタル次元値に対し て、ROC カーブを描いた結果を図 12 に示す。メ ラノーマとそれ以外を最も効率的に分類できる 閾値となる Spectral Angle Map のフラクタル次 元はおよそ 2.75 である。そのときの感度はおよ そ85%、特異度はおよそ91%である。図13は閾 値となる Spectral Angle Map のフラクタル次元 を変化させたときの感度と特異度の変化を図示 したものである。図 13 によると、Spectral Angle Map のフラクタル次元がおよそ 2.70 を下回れば ほぼメラノーマではないと言え、2.77を上回ると、 メラノーマである可能性が極めて高いと言える。

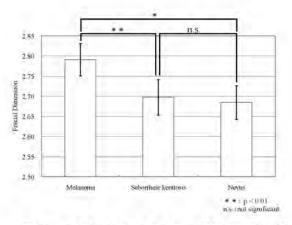
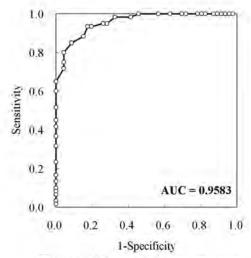


図 11 病態によるメラノーマ鑑別指標の変化



🗵 12 ROC curve for our system

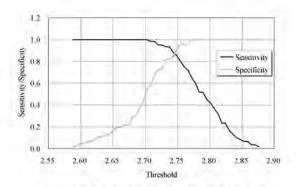


図 13 閾値による感度・特異度の変化

5. 考察

本研究結果はフラクタル次元を評価する前段 階の処理が重要であることを明らかにしている。 医用画像処理において、フラクタル次元と言うと きは、2次元の境界線画像に対して算出されるこ とが多い。本手法においても、例えばメラニン濃 度が濃い領域(ホクロ:母斑細胞母斑)とヘモグ ロビン濃度が濃い領域(皮膚)の境界線を何らか の手法で抽出し、その境界線のフラクタル次元を 算出することが可能である。その一例を図 14 に 示す。しかし、メラノーマ患部においては、メラ ニンが"でたらめ"に分布していることが多く、 通常の母斑などに比べ、その境界があいまいであ る。"でたらめさ"はメラノーマを含む悪性腫瘍 の特徴の一つである。したがって、従来の手法で 無理やりに境界線を引くと、その手法の出来不出 来によって、フラクタル次元が変動してしまう。 そればかりか、そのようなことをするとスペクト

ルがもっている情報を正しく利用できるという angle)と、立体的な角度地図と、従来めったに 保証は何もない。

スペクトルの持つ、分子種やそれらの濃度の変 である。そのため場所から場所へと変動するスペーたと考えている。 クトルを特徴付けるスカラパラメータ(spectral

利用されることがなかったボクセルカウンティ ング法を本研究では用いた。その結果得られるフ 化という情報、を損なうことなく、分子レベルで ラクタル次元を鑑別指標とすることで、単一指標 の"デタラメさ"を表現する指標の探索が不可欠 にもかかわらず高い鑑別性能を得ることができ

表3 入力パラメータ数と AUC による先行研究との比較

)	SIAscope M. Monerieff et al (2002)	$S_{max} \sim 0.8$
rl	SolarScan S. W. Menzies et al (2005)	S~0.88 (少なくとも12の入力パラメータ)
	SpectroShade M. Carrara et al. (2007)	S _{max} =0.96 (12の入力パラメータ)
	本研究	S=0.958 (パラメータ)

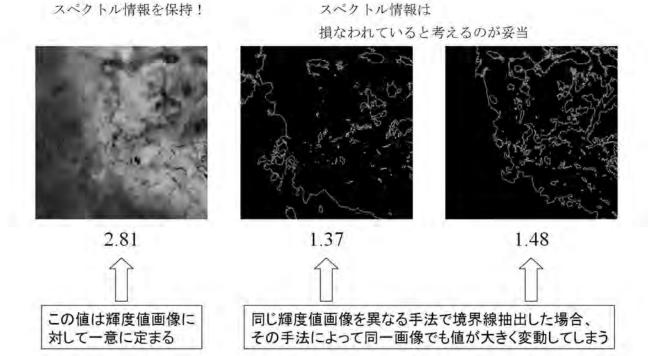


図 14 境界線の抽出手法の差異によるフラクタル次元の変化

表3に解析に用いるパラメータ数と AUC による先行研究と我々のシステムの比較を示す。従来のメラノーマ自動鑑別システムにおいては、高い水準での診断性能を実現するために、多数のパラメータを用いている。一方、提案している方法は、未だ症例数は少ないものの、たった一つの指標で高水準の鑑別性能を実現できている。このことから、ここで提案する鑑別パラメータは、スペクトルに立脚していることから、組織病理学的なパラメータに近い特徴を有していると考えられる。実用化へ向けての課題は、症例数を増やし、提案している鑑別指標のロバストネスを検証することである。そのなかで、現状では単一としている基準スペクトルを、身体の部位ごとに分けていくことも検討すべきと考えられる。

臨床で多くのデータを計測する中で、患部が小 さすぎるとフラクタル次元が低くなる傾向が認 められた。これは患部が小さいためにメラニン領 域とヘモグロビン領域の食い込みが明確に観察 できないことが原因であると考えられる。現在採 用している装置の画像分解能の限界であると考 えられ、あまりに微小な病変に対しては、本手法 は採用できないと考えられる。また、患部のメラ ニン濃度が極めて高い場合、正確な拡散反射スペ クトルを得られないことや、計測中に患者が動い てしまうと、Spectral Angle Map にシャープなず れが生じてしまい、正確なフラクタル次元を得る ことができないという問題点があった。これらは 計測後のスペクトルの補正で対応できる可能性 が高く、更なるスペクトル解析アルゴリズムの改 良が求められている。

参考文献

- [1] Ishihara, K., Saida, T., Otsuka, F., Yama zaki, N., "Statistical profiles of malignant melanoma and other skin cancers in Japan: 2007 Update", (2008) International Journal of Clinical Oncology, 13 (1), pp. 33-41.
- [2] Rigel D S and Carucci J A 2000 Malignant melanoma: prevention, early detection, and treatment in the 21st century CA Cancer J

Clin. 50 215-36

- [3] Nachbar, F., Stolz, W., Merkle, T., Cognetta, A.B., Vogt, T., Landthaler, M., Bilek, P., Braun-Falco, O., Plewig, G.: "The ABCD rule of dermatoscopy" (1994) Journal of the American Academy of Dermatology, 30 (4), pp. 551-559.
- [4] Soyer, H.-P., Smolle, J., Kerl, H., Stettner, H.: "Early diagnosis of malignant melanoma by surface microscopy" (1987) Lancet, 2 (8562), p. 803.
- [5] Argenziano, G., Soyer, H.P., Chimenti, S., Talamini, R., Corona, R., Sera, F., Binder, M., Cerroni, L., De Rosa, G., Ferrara, G., Hofmann-Wellenhof, R., Landthaler, M., Menzies, S.W., Pehamberger, H., Piccolo, D., Rabinovitz, H.S., Schiffner, R., Staibano, S., Stolz, W., Bartenjev, I., Blum, A., Braun, R., Cabo, H., Carli, P., De Giorgi, V., Fleming, M.G., Grichnik, J.M., Grin, C.M., Halpern, A.C., Johr, R., Katz, B., Kenet, R.O., Kittler, H., Kreusch, J., Malvehy, J., Mazzocchetti, G., Oliviero, M., O zdemir, F., Peris, K., Perotti, R., Perusquia, A., Pizzichetta, M.A., Puig, S., Rao, B., Rubegni, P., Saida, T., Scalvenzi, M., Seidenari, S., Stanganelli, I., Tanaka, M., Westerhoff, K., Wolf, I.H., Braun-Falco, O., Kerl, H., Nishikawa, T., Wolff, K., Kopf, A.W.: "Dermoscopy of pigmented skin lesions: Results of a consensus meeting via the Internet." Journal of Academy of Dermatology 48 (5): 679-693, 2003
- [6] Kittler H, Pehamberger H, Wolff K and Binder M 2002 Diagnostic accuracy of dermoscopy Lancet Oncol. 3 159–65
- [7] M Carrara, A Bono, C Bartoli, A Colombo, M Lualdi, D Moglia, N Santoro, E Tolomio, S Tomatis, G Tragni, M Santinami, R Marchesini, "Multispectral imaging and artificial neural network: mimicking the

- management decision of the clinician facing pigmented skin lesions", Phys. Med. Biol. 52 (2007) 2599–2613
- [8] Menzies S W 2006 Cutaneous melanoma: making a clinical diagnosis, present and future Dermatol. Ther, 19 32–9
- [9] Piccolo D, Ferrari A, Peris K, Daidone R, Ruggeri B, Chimenti S.: "Dermoscopic diagnosis by a trained clinician vs a clinician with minimal dermoscopy training vs computer-aided diagnosis of 341 pigmented skin lesions: a comparative study." Br J Dermatol. 2002;147;481-486.
- [10] http://www.molemate.com/apac/our-product/about-molemate/
- [11] Menzies, S. W., et al., Arch. Dermatol. 141(2005) 1388-1396
- [12] Elbaum, M. et al., J. Am. Acad. Dermatol. 44(2001) 207-18
- [13] H. Iyatomi et al., Computerized Medical Imaging and Graphics 32(2008) 566-579
- [14] M.Keefe, D Dick, and R.Wakeel.: "A study of the value of seven point checklist in distinguishing benign pigmented lesions from melanoma." Clin, and Exp. Derm., 15: pp.167-171, 1990.
- [15] E. Claridge, P.N. Hall, M. Keefe' and J.P. Allen, "Shape analysis for classification of malignant melanoma", J. Biomed. Eng. 1992, Vol. 14, May, pp.229-234
- [16] Kruse, F.A., Lefkoff, A.B., Boardman, J.W., Heidebrecht, K.B., Shapiro, A.T., Barloon, P.J., Goetz, A.F.H.: "The spectral image processing system (SIPS)-interactive visualization and analysis of imaging spectrometer data", (1993) Remote Sensing of Environment, 44 (2-3), pp. 145-163.
- [17] James Theiler, "Estimating fractal dimension," J. Opt. Soc. Am. A 7, 1055-1073 (1990)
- [18] M Carrara, A Bono, C Bartoli, A Colombo,

- M Lualdi, D Moglia, N Santoro, E Tolomio, S Tomatis, G Tragni, M Santinami and R Marchesini, "Multispectral imaging and artificial neural network: mimicking the management decision of the clinician facing pigmented skin lesions", Physics in Medicine and Biology, Vol. 52, pp. 2599-2613 (2007)
- [19] GEORGIOS N. STAMATAS, BARBARA Z. ZMUDZKA, NIKIFOROS KOLLIAS and JANUSZ Z. BEER, "Non-Invasive Measurements of Skin Pigmentation In Situ", PIGMENT CELL RES 17: 618–626. 2004

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



研究責任者 京都大学医学部神経生物学教室 研究員 小 野 宗 範 共同研究者 京都大学医学部神経生物学教室 教 授 大 森 治 紀

1. はじめに

現在、神経科学領域で神経細胞機能を解析する ための重要な手法として、

- a) 解剖学的手法および分子生物学的手法による生化学的特徴の解析、および
- b) 電気生理学的手法による神経細胞の電気活動記録が用いられている。

近年の分子生物学(a)の発展の大きな成果として、GFPを初めとした蛍光蛋白質を、遺伝子操作により特定の神経細胞に対して導入し、細胞内に発現させたマウスが多数作成されたことがある。これらのマウスを利用することで、神経細胞の形態、機能に関しての解析が格段に簡便かつ精度の高いものとなった。

一方、b)神経生理学一電気生理学実験は高い精度と信頼性があり、神経細胞の機能を明らかにする上で必要不可欠のものである。しかし現在、遺伝子改変マウスの利用は、行動実験、形態学に偏っており、b)電気生理学的研究への利用は、一部の例外を除き、in vitro の実験系に限られている。その理由は、脳実質内部に存在する神経細胞の蛍光を励起させ検出することが、技術的に困難であるためである。

神経細胞の機能をとらえるためには、どのような神経細胞が、どのような活動を示すか を明らかにする必要があるが、その場合、a),b)を生体内の単一細胞に対して同時に行う事が理想である。電気記録に際して神経細胞の生化学的な性質を知ることができれば、非常に高い能率で研究を進めることができる。

現在、蛍光物質によりラベルした神経細胞の光学的計測は盛んに行われている。しかし、レーザーの照射、励起光の検出の技術的限界から、in vivo の実験系では、脳表面に適用が限られている。そこで、本研究では特定の細胞を蛍光ラベルした遺伝子改変動物に対して、微小電極法と組み合わせて測光実験を行える手法の開発を目指した。

具体的には、金属線と共に光ファイバーを通したガラス電極を、脳実質内部に挿入し、蛍光ラベルされた神経細胞に対し、光ファイバーを通してレーザー照射することで、光計測を行う。これは、従来、神経科学領域では脳の切片標本もしくは脳表面においてのみ可能であった単一神経細胞の光学計測を、動物個体脳のあらゆる深部に拡張する技術である。さらに、光応答だけではなく神経細胞の電気活動を同時に計測することによって、

蛍光標識法による神経細胞の同定、光学測光法による Ca イオンなどの物質動態の解析、そして電

気信号による神経活動解析を総合して、脳の神経 細胞機能を解析することが可能となる。

2. 微小電極による蛍光測定システムについて

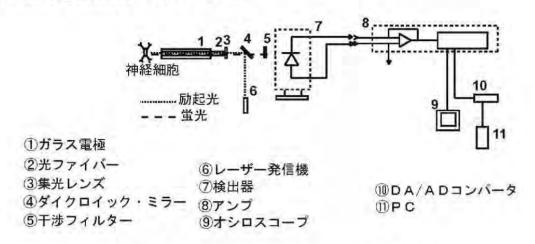


図1 蛍光ラベルされた神経細胞の光計測システム

図1は微小ガラス電極を用いた蛍光測定システムの概略図である。電極先端へ、励起光を送る光 経路は、以下(1)となる。

(1) レーザー発信器→ダイクロイックミラー (反射)→集光レンズ→光ファイバー→電極

レーザー照射によって神経細胞内の蛍光物質 が励起され、蛍光を放出する。放出される蛍光の うち一部は、電極を通過し光ファイバー中に入る。 蛍光検出の、光経路は以下(2)となる。 (2)電極先端→光ファイバー→集光レンズ→ダ イクロイックミラー(通過)→干渉フィルター→ 検出器

検出器としては冷却式フォトダイオードを用いた。フォトダイオードに入った蛍光信号は、電流信号に変換され、さらにアンプによって増幅、電流電圧変換を行われる。アンプからの、電圧出力は、オシロスコープに入力、またはDA/ADコンバーターを通し、PCに入力し、観察、記録を行う。

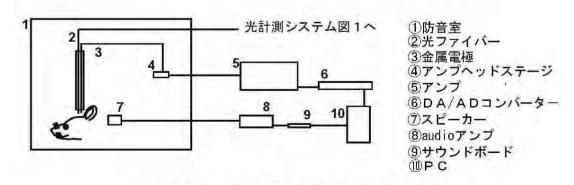


図 2 in vivoでの光記録、電気記録同時計測システム

図2は、in vivo で生体中の単一神経細胞からの光記録、電気記録同時計測システムの概略図である。 このシステムは、我々の研究対象である中枢聴覚神経経路における計測の場合を例としている。

脳実質内の神経細胞にアプローチするために、 マウスを、麻酔下で外科手術によって、頭蓋骨を 切開し脳を露出させる。手術を終えたマウスは、 音刺激に対する神経細胞の反応記録のために、防 音室中に設置した脳定位固定装置に拘束する。そ の後、プローブとなる、光ファイバーおよび金属 電極を通したガラス電極を、脳表面から挿入し、 モータードライブマニピュレーターによって脳 深部へ進める。

電極進入時には、マウスの外耳に設置したスピ ーカーからホワイトノイズパルスを断続的に聞 かせ続け、音刺激に対して反応する神経細胞を探 索する。音刺激は、信号を PC によって制御され たサウンドボード⑨から発生させ、audio 用アン プ⑧によって増幅する。 音刺激に対する反 応は、金属電極からの電気記録によってモニター する。

電気記録は、タングステン電極での電圧変化 を電気生理学記録用のアンプヘッドステージ①、 アンプを通し増幅した後、DA/ADコンバーター ⑥を通し、PC⑩に入力し記録観察を行う。

音刺激に対して反応する神経細胞に接近した 場合、タングステン電極からの電気記録上に活動 電位と呼ばれるスパイク状の電位変化が、音刺激

に対応して現れる。活動電位の大きさは電極が神 経細胞に近づくほど、大きくなるため、これを電 極の細胞への接触の指標とする。これとあわせ、 アンプから矩形波電流パルスを断続的に注入す ることで、電極抵抗をモニターし、接触の指標と する (細胞に接触した場合電極抵抗が上昇する)。

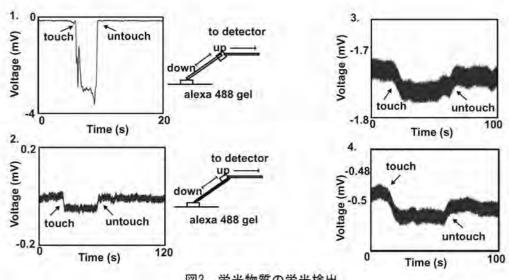
活動電位と電極抵抗の2つの指標から、細胞に 電極が接触したと判断した場合、マニピュレータ ーを止め、レーザー照射による光記録計測、様々 な音刺激に対する電気記録計測を行う。

今回の報告では、図1に示された蛍光測定シス テムの開発における実験結果を以下にあげる。

3. 結果

3.1 蛍光物質 (Alexa 488) からの蛍光検出

蛍光ラベルされた神経細胞を用いた実験に先 立ち、取り扱いの簡便さから、蛍光物質(Alexa 488) を溶解したアガロース (2 μg/ ml) を、蛍光 検出のための試料として用いた。その結果を図3 に示す。顕微鏡下で、プローブを油圧式マニピュ レータによって操作し、スライドガラス上に設置 されたアガロースに接触させたときの、信号の変 化を計測した。



蛍光物質の蛍光検出 図3

図 3. 1はガラス電極の代わりに先端部として、 先端径 2 mmのガラスロッドを用いた結果である。アガロース接触時に電圧信号が負の方向に変化し、アガロースからプローブを遠ざけた際に、もとの信号レベルに戻っているのが見て取れる。この結果により、ガラス管を用いて蛍光検出を行うことができることが、確かめられた。ただし、本研究の目的とする単一神経細胞(直径 10-30μm)からの蛍光検出のためにはより小さな構造からの微弱な信号検出が必要とされる。

そこで、神経細胞からの電気活動検出に用いるガラス管を micro pippete puller によって加工したプローブを用いて検出を行った(図 3.2-3)。図 3.2-4 はそれぞれ先端径の異なるプローブからの検出結果である。これらの実験においては、先端部以外を黒く塗装することで、先端部分以外での蛍光信号の透過を防いだ。先端径が小さくなるにつれて(先端径は 2 が 6 0 μ m, 3 が 1 0 μ m、4 が 2 μ m)検出される信号変化が小さくなるのが見て取れる。神経細胞からの電気活動検出に用いるプローブの先端径は 2 μ m 程度であることから、同様のプローブを用いても蛍光検出が可能であることが、確かめられた。

3.2 蛍光ラベルされた細胞からの蛍光検出

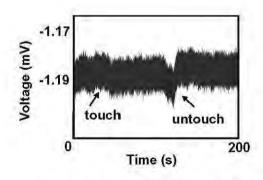


図4. GFP強制発現細胞の蛍光検出

以上の結果を踏まえ、蛍光ラベルされた細胞からの蛍光検出を行った。試料としては、GFPを強制発現した COS 細胞をホルマリン固定したものを使用した。

図4がその結果である。微弱ではあるが、GFP の蛍光信号の変化を捉えているのが、確認された。

4. まとめ

本研究では、単一細胞からの光、電気シダナルの同時計測のためのシステムを提案した。一連の基礎的実験から、我々が考案した計測システムにより、電気シグナル計測用のガラス電極を用いて、マイクロメートルオーダーの微小構造からの蛍光検出が可能であることが確かめられた。ただし、実際の生体の神経細胞からの検出のためには、さらなるS/N比の改善が必要とされる。このため現在、検出光路の伝達特性の向上に加えて、検出器の改良を計画している。

謝辞

今回の研究は、財団法人中谷電子計測技術振興 財団からの援助により遂行されました。ここに記 し、深く感謝申し上げます。

参考文献

- Yanagawa Y, Kobayashi T, Kamei T, Ishii K, Nishijima M, Takaku A, Tamura S. Structure and alternative promoters of the mouse glutamic acid decarboxylase 67 gene. Biochem J. 326:573-578, 1997
- 2) Ono M, Yanagawa Y, Koyano K. GABAergic neurons in inferior colic -ulus of the GAD67-GFP knockin mouse: electrophysiological and morphological study. Neurosci ence Res. 51(4): 475-492, 2005.
- 3) Holtmaat A, Bonhoeffer T, Chow DK,

Chuckowree J, De Paola V, Hofer SB, Hübener M, Keck T, KnottG, L ee WC, Mostany R, Mrsic-Flogel TD, Nedivi E, Portera-Cailliau C,Svobod a K, Trachtenberg JT, Wilbr-echt L. Long-term, high-resolution imagingin the mouse neocortex through a chronic cranial window. NatProtoc. 4(8):1128-1144, 2009.

平成20年度 技術交流助成成果報告

早稲田大学 理工学術院 先進理工学部 化学·生命化学科 特任教授 浅野 茂隆

会議等名称 アジア血液学連合

第五回総会,学術集会

開催地 神戸ポートピアホテル

国際会議場

時期 平成21年2月13日~2月14日

1. はじめに

医学・医療分野の開発研究の推進とそれを遂行するに必要な人材育成にあっては、地理的ならびに文 明的共通性を有する地域全体の結束と協調ならびに地域内に存在する民族的ならびに社会構造的な相 違点を相互に十分考慮することが多くの局面で要求される。血液学の領域においてアジア地区でのこの 要求に適正に対応していくためにアジア各国の血液学を専門とする有志が関連学会や企業などの合意 の下に集まって 2003 年に設立したのが、アジア血液学連合 (Asia Hematology Association-AHA-) で ある。この設立趣旨は、過去6年間、アジア主要都市(神戸、北京、ソウル、バンコック)で4回にわ たって開催されてきた総会と国際学術講演会を通じ意見交換を重ねることで多くの研究者に浸透した。 しかし、グローバル化が急速に進みアジア各国と欧米各国との2 国間連携も個々に進む中にあっては、 その活動は理想通りにはいかないのが現状である。そこで、今回は結成後5年の節目で、再度、国際医 療都市を目指す神戸で開催するということもあり、AHA の意義を再確認しその活性化に向けての組織体 制の強化をスローガンとして運営することになった。このため、今回はとくに、総会では AHA と同じ国 際学術団体階層に位置付けられる欧州血液学連合 (EHA) と欧州 LeukemiaNet の代表者を招聘し欧州に おける様々な地域的活動の現状を聞き討論を行い、その討論内容を参考に今後の AHA の運営などの在り 方を参加者の総意で決めることを目指し、また、同時に開催する学術講演会についてはアジアにおける 最新血液学の現状の出来るだけ多くを把握することできるように今後のAHAの発展を担う立場にある人 たちにプログラムを企画して頂いた。



2. 被招聘者の紹介

本支援金によって招聘された講演者は上記2に示した 4 人である。欧州血液連合(EHA)会長である Willem Fibbe 博士は高名で国際的にも信望の高い世界的な血液学臨床研究者である。主たる領域は細胞 移植であり、EHA を非常にうまく纏め実績を挙げていることでも高く評価されている。欧州 LeukemiaNet 会長である Rüdiger Hehlmann 博士は白血病研究の世界的主導者の一人であり、古くから欧州における 白血病の共同研究の必要性を唱え、それを実践してきた。他のアジアからの 3 人の招聘者のうち Lee Lai Heng 博士と Pantep Angchaisuksiri 博士は凝固・血栓、Jeong Ok Hah 博士はサラセミアを専門領域とし、国際ジャーナルにも優れた論文を発表するなど活躍中の血液学リーダーである。

3. プログラムの概要とその内容

ボードミーティング、メインセッション '国際臨床研究の現状と問題点'の講演と総合討論、総会は第1日目に、4つのセッション (1. Bioiron and Iron Overload、2. Platelet-Vessel Interaction and Coagulopathy、3. Genomics and Molecular Targeting、4. Stem Cell Biology and Cell Therapy) からなる国際シンポジウム '血液学の進歩—2009' は第2日目に開催された。

ボードミーティングならびに総会では、会長提案(添付資料)が審議された。主な提案概要は次の 4 項目であった。

- ・AHA の会員の増加のために、これまでの個人ベースではなくアジア各国の主要血液関連学会ベースの組織に変えること、
- ・AHA の活動方針と役員人事は各国の学会で選出された代表者の合議によって決めること、
- ・これまでの役員のうち65歳以上の人はアドバイザー委員会としてAHAの活動の支援を行うこと、

・事務機能の強化を図っていくために、今後しばらくの間は神戸ポートアイに AHA 国際事務局を 設置すること。

本支援金で招聘者のうちの Willem Fibbe 博士と Ruediger Hehlmanm 博士の 2人はメインセッションで講演した。それぞれの演題名は"The Role of EHA in Training, Education and Research in Hematology. An International Perspective"、"The Paradigm CML and the Integration of Leukemia Research in Europe"であった。前者の Fibbe 博士の講演では、EHA 総会には 7000 名の参加があること、ジャーナルやニュースレターの出版や若手研究者支援(特に旧東欧諸国の対象者を中心に)などの活発な組織活動の現状が、また、2011 年度より TR 教育事業が米国血液学会との共同で始ることなどについて紹介された。また後者の Hehlmann 博士の講演では、LeukemiaNet の歴史的背景の説明の後で、現在 LeukemiaNet には 28 各国 147 センターが参加、16 の臨床研究が行われていること、エントリーされている患者数は計数万人にも及ぶようになったことが紹介された。メインセッションこの 2 つの講演に続いて AHA からは代表として岡本真一郎教授が "International Clinical Studies in Asia -Barriers and the Future Role of AHA"の演題名で AHA でのアジア共同臨床研究の経験をもとにとくにアジアにおける問題点を指摘したのち総合討論が行われた。ドibbe 博士や Hehlmann 博士を加えてこれら問題点についての活発な質疑応答と総合討論が行われた。

血液学の進歩-2009 の 4 つのセッションは 2 会場同時並行で行われ、セッション 1 でのイスラエルの Chaim Hershko 博士による "Pathophysiology and Prevention of Iron Toxicity" の特別講演に加えて、それぞれのセッションで日本、韓国、中国、台湾、タイの 6-7 人による講演が行われた。このうち本支援金による招聘講演者の 4 人の講演内容はおよそ次のようなものであった。サラセミア、とくに β サラセミアにおける鉄過剰、とくに心臓や内分泌臓器への鉄沈着がなお重要な臨床課題であるがそれに対しては Deferairox の予防的投与の有用性に期待していること(Jeong 0k Hah 博士、セッション 1)、DIC の機序と P. falciparum 感染における血管内皮細胞由来 Tissue factor が病態発生学的に重要であること(Pantep Angchaisuksiri 博士、セッション 2)、香港とシンガポールにおいても入院患者における生前診断の困難な静脈血栓が増加傾向にあること(Lee Lai Heng 博士、セッション 2)、韓国では小児造血腫瘍性疾患は全症例を合わせても数は少なく多施設共同研究が必要であること、とくに頻度の低い疾患でのその必要性が大であること(Hoon Kook 博士、セッション 4)。いずれもそれぞれの国の現状を踏まえての講演であり、質疑応答も活発で参加者の相互理解を一層深めるのに役立った。

4. 会議ならびに学術集会がもたらした成果

参加者が神戸ポートアイの発展の実態を見聞出来たこと、AHA の現状や今後の AHA の発展の必要性について共通の認識が持てたこと、この共通認識の下に以下のように会長提案が全員一致で承認されたことは今回の大きな成果である。とくに AHA のヘッドクオーターを神戸ポートアイに設置することが決まったことの意義は神戸ポートアイにとっても大きいと考えられる。提案の実践に向けての今後の継続的なご支援をとくに期待している。

PRESIDENTIAL SUMMARY AND PROPOSALS

February 14, 2009

Shigetaka Asano, M. D., D. M. S., President of the AHA (Approved by the Management Board Meeting, February 13, 2009)

Summary

The Asian Hematology Association (AHA) was founded as an Asian-wide, individual-based, non-profit academic organization in 2003 by the voluntary cooperation with the aim to provide young hematologists a collaborative platform for promoting scientific exchange and cooperation for progress in advanced hematology, to develop and promote Asian harmonization properly by integrating the emerging advances in science and technology, and to cooperate with hematology societies in Asian regions. Since then such a geographic collaborative framework has become more and more important. However, it has not been grown up as we expected at the beginning although we have held General Assembly and Annual Scientific Meetings almost regularly. The problems might be poor management style, shortage of activity funds and insufficient awareness among the members as problems. In order to solve these problems, I would like to propose the followings as the President's duty and responsibility...

Proposals

- 1. The management board members be taken the place by 3-4 representatives elected by each country's major hematological societies.
 - (The definition of major hematological societies shall be defined.)
- The current active members aged older than 65-year-old shall act as advisory members supporting the management board.
- 3. A foundation based on membership fee be established within five years.

 (The fee structure shall be defined)
- 4. An international headquarter which does not belong to any academic societies in any countries and functions as a center of telecommunication network system be open first in Kobe by appointing a Secretary-General. The term of the first Secretary-General shall be three years as maximum.
- 5. The main flame of the AHA statutes shall be revised in details by the management board members.

平成21年度 技術交流助成成果報告



Mayo Clinic Biomechanics Laboratory Research Fellow MD, PhD 有光 小百合

会議等名称 2009年アメリカ手の外科・ハンドセラピィ学会

開催地 米国カリフォルニア州サンフランシスコ

時期 平成21年9月2日~9月5日

1. 会議の概要

「Annual Meeting of the American Society for Surgery of the Hand (ASSH)」「アメリカ手の外科学会」は、整形外科分野の手の外科の領域に焦点を絞り、年に一度世界で最もハイレベルの議論がなされる学術集会である。本年はカリフォルニア州サンフランシスコのダウンタウンの中心部に立地するMoscone West Convention Centerで、2009 年 9 月 2 日から 4 日間の日程で開催された。今回はアメリカ手の外科・ハンドセラピイ学会が合同の「2009 Combined Annual Meeting of the American Society for Surgery of the Hand (ASSH) and the American Society of Hand Therapists (ASHT)」として開催され、例年よりもさらに大きな規模で行われた。初日は若手臨床医・研究者による Resident and Fellow Conference に始まり、翌日からは世界各国からの経験豊富な臨床医・研究者による厳選された 60 の口演発表・120 のポスター展示・11 のビデオ発表が行われた。各セッションでは厳しくも実りある質疑応答、議論が重ねられていた。本学会の特徴として演者の発表と同時に、参加者の教育も大きな目的となっている。本年は 15 のシンポジウム、8 つのゲストレクチャー、14 のプレコース、42 のインストラクショナルコース、16 のケースレビュー、企業の主催する 26 のワークショップなど例年以上に多数のセミナーが企画され、非常に充実した内容となっていた。手の外科に携わる臨床医にとって、最新の知見を身につけるのにこれ以上はない機会であった。申請者は、学会初日の Resident and Fellow Conference で口演発表の機会を得た。

2. 会議の研究テーマとその討論内容

学会の中で最も注目すべき 15 のシンポジウムでは、世界屈指の Hand Surgeon・Researcher 達により、各分野における臨床・研究面の情報が update された。分野は、手関節不安定症・母指CM関節症・指末 梢神経のマネージメント・肘粉砕骨折・肘部管症候群・リウマチ手関節の再建・リハビリテーション・Tissue Engineering など多岐に渡った。中でも手関節不安定症のシンポジウムでは、新しい病態、そ

の推奨される検査法、治療法が数多く発表された。リウマチ手関節の再建のシンポジウムは、その内容が申請者の発表と一致するものであり、患者QOLを向上させる効果的な治療選択について検討がなされていたが、日本に比べて米国ではより人工関節を積極的に使用している点で依然違いが見られた。また Tissue Engineering のセッションでは、再生組織の上肢機能再建に果たす役割が討論され、組織培養に関する最新の情報が広く紹介された。

3. 出席した成果

申請者は、財団法人中谷電子計測技術振興財団の第 24 回奨励研究助成の多大な援助を受けて、大阪 大学発3次元パーチャルリアリティ装置を用いた病的関節の動態解析、中でもリウマチ手関節の動態解 析を行った成果を発表した。関節リウマチは全身の関節を侵す疾患であるが、とくに日常生活に影響の 大きい手指関節に多く罹患する。患者 QOL の向上を目的としてしばしば手術加療が必要とされるが、 その複雑かつ高度な変形ゆえに治療方法およびその選択に大きな課題が残されている分野である。申請 者は、術前術後のリウマチ手関節運動を 3 次元的に解析することを目的として、3 次元動態解析システ ムを用いた一連の研究「The Choice and Effectiveness of Partial Arthrodesis for Rheumatoid Wrists based on in Vivo Motion Analysis (生体 3 次元動態解析に基づくリウマチ手関節部分固定術の適応とその効果の検 討)」を行った。複数ポジションで撮影した 3 次元CTから骨表面モデル、アニメーションを作成、回 転軸を算出し、複雑に変形した手関節、そして術後手関節の3次元的な動態を明らかにした。これによ り、手術後手関節は手根中央関節の機能を発揮し、橈背側から掌尺側へダーツスロー方向に有意に変化 して動いていることが分かった。この手関節の動きは日常生活を行う上で最も有用な手関節の動きのひ とつであり、部分固定術の有用性を3次元解析から改めて示唆した。また、部分固定術における手術手 技上の注意点、とくに手根骨の固定方法について3次元的に考察し、推奨される効果的な手術方法を3 次元的観点から提案した。これら治療法への提言は、今後の関節リウマチの治療方針の決定および手術 加療成績に大いに貢献し、総合的に低侵襲で理想的な医療へつながるものと期待され、今回の学会でも 高く評価された。

現在本研究成果を生かして、米国 Mayo Clinic の Biomechanics Laboratory に留学中であり、手関節のバイオメカニクスにつき、さらに研究を重ねている。

4. その他、上記の会議又は集会以外の訪問先、トピックス

今回の学会に付属したワークショップのひとつに、25th International Wrist Investigators' Workshop (IWIW)があった。世界に先駆ける手関節の研究者が一同に会し、小規模であるものの最新のトピックスが議論されていた。とくに手関節特に手根中央関節を固定した手関節の動きを、表面マーカーを用いて動態解析した研究結果が発表され、上に述べたダーツスロー方向の動きが著名に抑制されていた点で大変興味深かった。その他留学先で行っている手関節のバイオメカ実験に関連するトピックスも含まれ、大変刺激になった。

最後に、先の第 24 回奨励研究助成に引き続きまして、今回も技術交流助成の援助を賜りました中谷 電子計測技術振興財団に、この場を借りまして深く感謝を申し上げます。



1. 会場入り口



2. 発表の様子



3. 展示ブース内



会議等名称 第 48 回日本生体医工学会大会

開催地 タワーホール船堀

時期 平成21年4月23日~4月25日

1. はじめに

超高齢社会の到来により、加齢や疾病により低下した高齢者の生活の質を向上させることが重要となっている。限りなく少ない拘束で長期間にわたる計測を行うことにより、より正確な健康状態の把握が期待される。長期計測のために体にセンサを装着するウェアラブルセンサの開発が進んでいる。その1つとしてシャツにセンサを埋めこむ方法やシャツの縫製を工夫することによって生体信号を取得する試みがある。今回、招へいした Rita Paradiso 氏は、EU におけるスマートシャツ開発の第一人者で、開発の最前線について講演をお願いした。

2. 被招聘者の紹介

Rita Paradiso 氏はイタリア、ジェノア大学の物理学を卒業、1991 年に生体工学の学位を取得した。1993 年より材料工学や MEMS の分野のポスドクとして研究に従事した。その後、2000 年に Smartex に主任研究者として入社して、スマートシャツの研究に従事し、EU の WELTHY、MYHEART などのプロジェクトで機能的衣服の開発に参画、さらに繊維の専門家として Biotex、Proetex, Healthwear などの開発を行っている。

3. 会議の概要

第48回日本生体医工学会は「いきることにやさしい ME をめざして」を主題として東京電機大学理工学部福井康裕教授を大会長に平成21年4月23日から25日まで東京都江戸川区タワーホール船堀で開催された。本公演は、特別講演、シンポジウム、オーガナイズドセッション、一般演題、ポスター演題から構成され、Rita Paradiso 氏の講演は4つの特別講演の1つとして開催された。

4. 会議の研究テーマとその討論内容

講演のテーマは

Smart Fabrics and Interactive Textile for Monitoring Systems

で講演の内容は以下の通りである。

スマートシャツは、シャツの縫製技術の進歩とインテリジェント材料の出現によって可能になった技

術である。スマートシャツの概念は、普通のシャツを着るのと同じ感覚で着用することができ、かつ生 理情報を得ることができることである。

スマートシャツの構成は、有機、無機材料の混合によるシャツの伸縮や歪から体の動きを検出する方法、すなわちシャツそのものをセンサとして利用することと、生地を電極として利用する2つの方法がある。

糸をセンサや電極として利用することは、低価格で、着用できる点にある。銀糸などの金属糸、ステンレスと普通の繊維を織り込んだ導電性糸、炭素を塗布した糸などを開発し実用化に成功した。これらの糸を有効に利用することで違和感のないセンサや電極を装着したシャツを作製することができた。

しかしながら、心電図計測では、皮膚との接触、皮膚インピーダンスの影響で必ずしも安定した心電 図信号を得ることは困難であった。そこで、水溶性のジェル膜を繊維電極に付着させ信号の安定化をは かっている。

ピエゾ抵抗電極は、繊維材料そのものの伸縮を利用して歪みを計測するものであるが、織り方により伸縮の度合いが異なることが示されている。さらにカシミヤ縫製に用いられる intersia 技術により弾性を有する seamless の材料も開発し伸縮性を利用したセンサを開発した。すなわち、この材料の伸縮性を利用して、胸部・腹部のインピーダンス計測に成功した。

心電図電極には水溶性ジェルを用いたが、体の動きによる雑音が計測に大きく影響されるため、3 次元運動解析装置を用いてヒトの動きを解析し、動きの影響の少ない服のデザインを行い、電極一皮膚のアーチファクトの除去につとめた。

さらに、炭素を含んだシリコーンを塗布した歪みセンサは、手袋型の位置センサにも応用されている。 グラスファイバータイプの位置センサに比較して、軽量、堅牢で、普及が期待できる。

WELTHY, MyHeart プロジェクトでは、このように工夫した心電図電極、インピーダンス電極、ピエゾ 抵抗電極や温度センサ(サーミスタの装着)より構成されるシャツを完成させた。

これらのシャツからの諸情報はデータロガーあるいは、リアルタイムで無線送信される。

スマートシャツで計測できる項目としては、脈拍、 胸部・腹部インピーダンス、バリストグラム、筋 電、心電、心音や関節角度があげられる。さらに繊維そのものはベッドシーツとして利用でき、心電図 や呼吸信号を計測できる。

これらのスマートシャツは、リハビリテーション時の生理情報の習得、高齢者、慢性疾患患者、移植 患者、回復期患者の健康状態把握、災害現場、火災現場で働くヒトの生理情報モニタとしての応用が期 待される。

5. 招聘した結果

Rita Paradiso氏の招へいは、我が国の超高齢社会において、負担をかけずに生理情報を計測できる機器として有用な情報を与えてくれた。リハビリテーション領域での応用も期待され、我が国においても、同様の技術が発展することが望まれる。











会議等名称 第36回国際生理学会世界大会

開催地 国立京都国際会館

時期 平成21年7月27日~8月1日

1. はじめに (招聘の概要)

近い将来の新しい生命科学においては、生命・生体機能をデータベース化し、生体シミュレーションに繋げる「総合的生命科学 System Biology」の発展が期待されている。これは、従来の基礎研究や臨床医学の成果に立脚した「予測医科学」〜即ち天気予報や地震予知の生命科学バージョン〜を構築し進歩させるものである。第 36 回国際生理学会世界大会において、最も主要な話題として取り上げられる予定であったため、当該分野の第一人者である、Denis Noble 教授の招聘を企画した。

2. 被招聘者の紹介

Denis Noble 博士は、オックスフォード大学ベイリオル・カレッジの名誉教授であり、同大学の e サイエンス・センターのセンター長も務められておられる。同時に、生理学分野の第一人者であり、且つ System biology の先駆者である。1960 年代に世界で初めて数理モデル化による心筋細胞の活動電位の in silico 再構成を成功させ、生命現象の理解にコンピューターシミュレーションの手法をいち早く導入した著明な研究者である。Noble教授は、循環器機能・病態生理のシミュレーションによる研究に加えて、更に近年、種々の臓器における生命現象のモデル化も積極的に推進されており、System Biology の国際的指導者として活躍されている。

3. 会議または集会の概要

2009 年 7 月 27 日から 8 月 1 日において、第 36 回国際生理学会世界大会が、国立京都国際会館で開催された。本大会は、4 年に 1 度の生理学の祭典であり、今回は、3,754 名が参集した。そのうち、海外からの参加者は 1,378 名であり、大変に国際色豊かな大会となった。

4. 会議の研究テーマとその討論内容

本大会は、テーマを「Function of Life:Elements and Integration」として開催され、向後 10 年、20

年の新しい生命科学を議論する場として、十二分に機能した。その中でも、上記の「統合的生命科学 System Biology」は、次世代の医科学にとって欠く事の出来ない研究分野として、熱心に討論された。特別講演者として来日された Noble 教授からは、プログラム初日にメインホールにおいて、「PRINCIPLES OF SYSTEMS BIOLOGY AND THE FUTURE OF PHYSIOLOGY」の題目にて、System Biology の最先端の研究と将来の展望についての話題を頂戴した。これは、いわば本大会の基調講演であり、次世代の生命科学の進展のために極めて重要な話題であった。遺伝子から種々の細胞・器官機能、そして生命現象まで、system Biology の手法で如何に研究を進め、如何に理解を深めていくか、実例を挙げて分かり易く提示された。特に心筋細胞の in silico シミュレーションについての内容は大変印象深いもので、心臓という生体で最も重要な器官の働きを、特定のイオンを透過させるイオンチャネルという超微小素子の機能から、心筋細胞や組織の解剖学的な情報、心筋細胞活動電位、刺激伝導系までを、数式化し、統合的に解明していく手法が順序よく紹介された。

5. 招聘した成果

今回、300人を超す国内外の研究者が、貴重な Noble 教授の講演に耳を傾け、System Biology の詳細と今後の応用・展望について理解を深めた。今回の Noble 教授の招聘により、コンピューターによる個体機能のマルチレベル・マルチスケールシミュレーションが、生命科学や医学の進歩に不可欠であることが広く認識された。この研究手法は、基礎的な分野のみならず、新しい治療法の開発や創薬の現場でも、恐らく中心的な役割を果たして行くと考えられた。また System Biology を効率的に進めるため、高速で正確な生体シミュレーションを行えるコンピューターの開発にも拍車がかかると予想された。事実、Noble 教授の講演後、何人かの研究者は、System Biology の上記のような応用の可能性について、積極的に議論を行っていた。

今回の Noble 教授の講演を通じて、「予測医科学」という新しい分野が、多くの医科学者に認識・理解されたことは、学会の大きな成果であった。講演後には、フロアにおいて、Noble 教授と観衆との自由な討論が行われ、特に若手の科学者は科学に対する大きなモチベーションを得ることができたようである。これは、次世代の医科学の発展に大変重要なことである。更に、講演では時間の関係で紹介されなかった、詳細で高精度な実際の生体パラメーターの計測技術や、効率的な測定データ解析のための計算技術についての提言も Noble 教授からなされ、その意見を基に、効率的な測定データ解析のための計算技術の開発や電子計算技術の進歩が期待される。また、本講演によって、器官機能のモデル化情報に立脚した次世代の疾患診断・治療機器や解析ソフトの開発などにも拍車がかかることは必至である。本招聘は、日本の医科学・コンピューター技術の発展のために、大変有意義な講演になったと確信している。



講演中の Noble 教授



特別講演後の System Biology シンポジウムで座長を務める Noble 教授

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 宪 題 目	助成金額
中谷	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 宪 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 宪 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 宪 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自内障予知シ 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 宪 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 一三次元空間での手の運動の最適制御問題へ の応用一	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	携帯用の人工心臓が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 宪 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 宪 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 宪 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	7	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 宪 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 一ずり応力負荷装置を用いた流体 力学的アプローチー	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 宪 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 宪 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/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 宪 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 一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	新鴻大学工学部 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 宪 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MR I 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 宪 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 一 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	1 5 0
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 宪 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 宪 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	アントラキノンー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 一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ーκ B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 プラズモン共鳴がイヤンサー用チップ	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	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 宪 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 宪 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 宪 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
和田住郎	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 一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
久富 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 4	死 題 目	助成金額
石原 康	長岡技術科学大学電気系 新 情報・通信システム工学 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	法 德島大学工学部 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	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	東京農工大学大学院共生 技術研究部 生命機能科 門 助教授		200
酒井 康	現上 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	東北大学大学院工学研究科 仁 バイオロボティクス! 教授	新生児中世界サスクリーニングのための診験に	200
下村 美	東京工科大学バイオニク 部 軽部研究室 助手	ス学 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	近介	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	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 宪 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 郁詰	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

學励研究

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 先端エネルギーエ 学専攻 助手	MR I 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MR I 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 宪 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 宪 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

第25回(平成20年度)技術開発助成対象

開発研究

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

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 一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

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
平成21年度	平成 22 年 2 月 26 日	11件	1,800 万円
累計		267 件	50, 281 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 研究所 教授	医用器材	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

	1.00		
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

平成20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
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

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

平成元年度技術交流(派遣)助成対象

氏	名	所属機関・職名	会 議 名	開催地	時 期
志賀	健	大阪大学医学部 教授	第7回国際バイオレオロジー 学会総会	フランス ナンシー	平成元年6月
川上	憲司	東京慈恵会医科大学 助教授	第17回国際医学放射線学会	フランス パリ	7月
幸道	秀樹	東京大学医科学研 究所 講師	国際実験血液学会総会	フランス パリ	7月
菊池	眞	防衛医科大学校 教授	第2回国際医用生体工学学会 (汎太平洋シンポジウム)	オーストラリア メルボルン	7月
只野	寿太郎	佐賀医科大学 教授	第2回国際健康と生命化学領域における質量分析学会	アメリカ サンフランシスコ	8月
八幡	義人	川崎医科大学 教授	赤血球膜および代謝に関する 国際シンポジウム	東ドイツ ベルリン	8月
岡田	正彦	新潟大学医学部 助教授	第11回 IEEE 医用生体工学国際 会議	アメリカ シアトル	11月
大西	昇	名古屋大学工学部 助教授	第11回 IEEE 医用生体工学国際 会議	アメリカ シアトル	11月

平成2年度技術交流(派遣)助成対象

氏	名	所属機関・職名	会 議 名	開催地	時 期
松本	元	電子技術総合研究	生物化学系における波動とパ	ソビエト	平成2年
		所 超分子部長	ターンに関する国際会議	モスクワ	5月
尾辻 省	省吾	鹿児島大学医学部	第24回世界スポーツ医学会議	オランダ	5月
		教授		アムステルダム	-
作間 芽	英一	計量研究所 量子	精密電気磁気測定国際会議	カナダ	6月
		計測研究室長		オタワ	
大城	巌	和歌山県立医科大	国際臨床化学総会	アメリカ	7月
		学中央検査部 主		サンフランシスコ	
		任技師		1_0.0	
桐生	召吾	電子技術総合研究	応用超電導国際会議	アメリカ	9月
		所基礎計測部 研		アスペン	11-2
		究員			
山本 往	恵則	川崎医科大学医用	超音波血流計測による動脈硬	イギリス	平成3年
		電子工学	化のメカニズムの解析に関す	ロンドン	2月
		1	る共同研究(インペリアル大学)		

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 回米国心臟病理学会	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	第 18 回国際化学療法学会	スェーデン ストックホルム	7月
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	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
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	、 医秀	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	佐賀医科大学輪血 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回ジョイントナノテクノロジーシンポジウム及び国際自動制御会議	イギリス ロンドン	9月
熊野	和雄	北里大学医学部 講師	第 15 回国際腹膜透析学会	アメリカ ボルチモア	平成7年 2月

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パワ ーエレクトロニクススペシャリスト	イタリア バベノ	6月
杉浦 清了	東京大学医学部 助手	ゴードンリサーチ会議	アメリカ ニューハンプシヤー	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	第1回国際パーオキシナイト	スイス	平成9年
		教授	ライト会議	アスコナ	5月
上塚	芳郎	東京女子医科大学	第 16 回国際血栓止血学会議	イタリア	6月
		講師		フローレンス	1 2
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	7月
		A 2000 A 2000 A 2000 A		アトランタ	100
豊田	英嗣	川崎医科大学	国際医用物理生体工学会議	フランス	9月
		大学院生		ニース	
秋山	修二	電子技術総合研究	第4回神経情報処理国際会議	ニユージーランド	11月
		所超分子部 主任研究官		ダニーデイン	133

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 1	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 ニユーオリンズ	平成 12 年 2月

平成12年度技術交流(派遣)助成対象

氏 名	所属機関・職名	会 議 名	開催地	時期
片岡 則之	川崎医療短期大学 臨床工学科 講師	実験生物学会 2000	アメリカ サンディエゴ	平成 12 年 4月
岩佐 章夫	電子技術総合研究 所基礎計測部 主任研究官	電磁気精密計測国際会議	オーストラリア シドニー	5月
ハッサン M Dモイヌディ ン	東京医科歯科大学 生体材料工学研究 所 大学院生	国際医用物理生体工学会議シカゴ 2000	アメリカ シカゴ	7月
谷口 慶治	福井大学 名誉教授	IEEE 信号処理部会主催 2000 年 度画像処理に関する国際会議	カナダ バンケーバー	9月
清島 満	岐阜大学医学部臨 床検査医学 教授	第73回米国心臟学会学術集会	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	A con- collection of the colle	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	American Heart Association	アメリカ・ニューオ	平成 16 年
	保健学科放射線診療技 術学講座 助手	Scientific Sessions 2004 (米国心臟学会)	リンズ	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 (米国心臟学会)	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

平成20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
望月	精一		第13回国際バイオレオロジ		A LINE OF BUILDING
		教授	ー学会・第6回国際臨床へモ レオロジー学会	M スプートカレック	ПА

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	暸	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
共	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、インドネシ 72名、韓国5名、フィリ ッピン2名、シンガポール1 名、タイ3名)	臨床検査の標準化に関する第2回アジア会議	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			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	1	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、シンガポール 1名、中国5名、韓国4 名、台湾5名		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	然科学研究科 教		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	a particular de la company	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

平成 20 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
浅野 茂隆	早稲田大学理工学	Willem Fibbe 欧州血	第5回アジア血液学連合	神戸ポ	平成 21
	術院先端システム	液連合会長(オランダ)他、	総会	ートピ	年2月
	医生物工学研究室	ドイツ1名、シンガポール1		アホテ	
	教授	名、外1名、韓国2名		ル会議	
	12.00	200000000000000000000000000000000000000		場	

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

The Control of the Co						
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 回日本ーポーランド医用 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

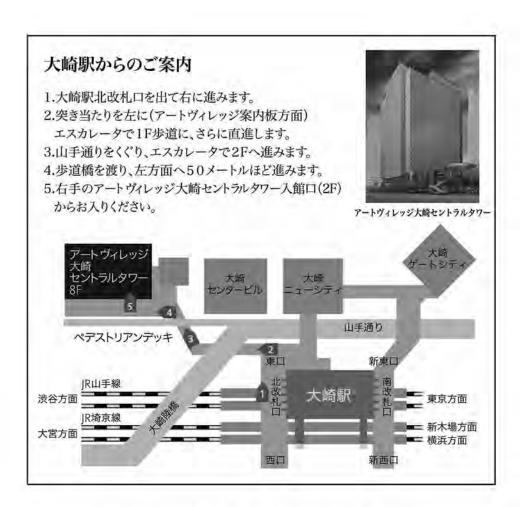
平成 19 年度技術交流(会議等)助成対象

-		1100	1111 - 41510 (1-1pse 1) - 7377 47 1-5.		-
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	第58回日本電気泳動学会	山口県宇部	平成 19 年
		臨床検査医学分野 教授		市	11 月

平成 20 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	第48回日本臨床検査化学会年	静岡県浜松	平成 20 年
	查医学 教授	次学術集会	市	8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 8F

電話 : 03-5719-5216 (代)

Fax. : 03-5496-9217

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

E-mail: info@nakatani-foundation.jp

財団 中谷電子計測技術振興財団 年報 24号

平成 22 年 8 月 20 日 発行

発行所 場 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· 新人 浜 野 実

印刷 (有)盛光印刷